

T. C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EPİDEMİK KERATOKONJUNKTİVİT ETKENİ OLAN
ADENOVİRÜS SEROTİP 19 VE 37 STANDART SUŞLARI ÜZERİNE
EL ANTİSEPTİKLERİNİN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hüseyin UZUNER

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Mikrobiyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ

KOCAELİ
2013

T. C
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EPİDEMİK KERATOKONJUNKTİVİT ETKENİ OLAN
ADENOVİRÜS SEROTİP 19 VE 37 STANDART SUŞLARI ÜZERİNE
EL ANTİSEPTİKLERİNİN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hüseyin UZUNER

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Mikrobiyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ

Bu Çalışma Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
(Proje No: 2012/106) Tarafından Desteklenmiştir.

KOCAELİ
2013

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: Epidemik Keratokonjunktivit Etkeni Olan Adenovirüs Serotip 19 ve 37 Standart Suşları Üzerine El Antiseptiklerinin Etkinliğinin Araştırılması

Tez Yazarı: Hüseyin UZUNER

Tez Savunma Tarihi: 26/ 06/ 2013

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ

İşbu çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
BAŞKAN:	Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ	
ÜYE:	Doç. Dr. Murat KASAP	
ÜYE:	Doç. Dr. Zeki YUMUK	
ÜYE:		
ÜYE:		

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../ .../ 2013

Prof. Dr. Tuncay ÇOLAK

Enstitü Müdürü

ÖZET

Epidemik Keratokonjunktivit Etkeni Olan Adenovirüs Serotip 19 ve 37 Standart Suşları Üzerine El Antiseptiklerinin Etkinliğinin Araştırılması

Adenovirüslerin neden olduğu epidemik keratokonjunktivit salgınlarının önlenmesinde el antiseptikleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada dünyada sıklıkla epidemik keratokonjunktivit etkeni olarak izole edilen Adenovirüs serotip 19 ve serotip 37 standart suşları üzerine etil alkol (EtOH), izopropanol (IPA), n-butanol (n-BuOH), klorheksidin diglukonat (CHDG) gibi antiseptiklerin ve bunların kombinasyonlarının 30, 60 ve 120. saniyedeki etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

European Committee for Standardization prEN 14476 rev:2011 (E) standart yönergesi temel alınarak kantitatif süspansiyon testi yöntemi uygulanarak bazı antiseptik maddelerin iki Adenovirüs standart serotipi üzerine etkisi araştırıldı. Virüsler A549 hücre dizisinde üretildi. TCID₅₀ değerlerine göre sayımları yapıldı. Yüzde on Fötal Dana Serum (FBS) içeren %70 EtOH, %70 IPA, %70 EtOH + %0,5 CHDG, %70 IPA + %0,5 CHDG, %60 EtOH+ %10 IPA, %60 EtOH+ %10 IPA + %0,5 CHDG, %60 EtOH+ %10 IPA + %1 n-BuOH kombinasyonları hazırlandı. Antiseptiklerin, miktarları bilinen virüslere karşı 30, 60 ve 120 saniyedeki etkisi araştırıldı. Aradaki farklar logaritmik olarak hesaplandı, bu miktarların % 95 güven aralığı değerleri belirlendi.

Çalışma bulgularına göre 120 saniyelik süre sonunda insan Adenovirüs 19'un miktarında en fazla azalmaya sebep olan antiseptik madde 3 log₁₀ ile %60 EtOH+ %10 IPA + %1 n-BuOH kombinasyonu oldu. En düşük azalma 1,625 log₁₀ ile %70 IPA'de gerçekleşti. İnsan Adenovirüs 37'de ise 120 saniye sonunda virüs miktarında en fazla azalma sağlayan antiseptik 2,5 log₁₀ ile %60 EtOH+ %10 IPA + %1 n-BuOH kombinasyonu oldu. En düşük azalmaya ise 1,625 log₁₀ ile %70 IPA ile %70 IPA + %0,5 CHDG kombinasyonu sebep oldu. Bu çalışmada, %60 EtOH + %10 IPA + %1 n-BuOH içeren kombinasyon her iki Adenovirüs serotipine karşı en etkili antiseptik olarak saptandı. Bu kombinasyonun virüsler üzerindeki etkinlik düzeyi uluslararası standartlara göre 4 log₁₀ düzeyinin altında bulundu.

El antiseptiklerinin EKK'in önlenmesi ve salgınların durdurulmasındaki önemli rolü nedeniyle, farklı antiseptiklerin ve kombinasyonlarının etkisini kapsayan yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Adenovirüs Serotip 19, Adenovirüs Serotip 37, Epidemik Keratokonjunktivit, Antiseptik.

ABSTRACT

Investigation of the Effectiveness of Hand Antiseptics on the Standard Strains of Adenovirus Serotype 19 and 37 That Are The Causative Agents of Epidemic Keratoconjunctivitis

Hand antiseptics are often used for the prevention of keratoconjunctivitis (EKC) epidemics caused by Adenoviruses. The aim of this study was to investigate the effectiveness of antiseptics e.g. ethanol (EtOH), isopropanol (IPA), n-butanol (n-BuOH), chlorhexidine digluconate (CHDG) and their combinations on the standard strains of Adenovirus serotype 19 and 37 which are often causative agents of epidemic keratoconjunctivitis. Antiseptics were applied for 30, 60 and 120 seconds.

The effect of the selected antiseptics were assessed by using the quantitative suspension test method according to the standard test method of the European Committee for Standardization prEN 14476 rev:2011 (E). Viruses were propagated in A549 cell line and were counted based on TCID₅₀ titers. Antiseptics were prepared in 10% FBS with the following combinations: 70% EtOH, 70% IPA, 70% EtOH + 0,5% CHDG, 70% IPA + 0,5% CHDG, 60% EtOH+ 10% IPA, 60% EtOH+ 10% IPA + 0,5% CHDG and 60% EtOH+ 10% IPA + 1% n-BuOH were prepared. Viruses were exposed to antiseptics for 30, 60 and 120 seconds and the effects of antiseptics against viruses which their amounts were known were investigated. The differences between two quantitations were calculated in log scale and their 95% confidence intervals were determined.

Based on the results, 60% EtOH+ 10% IPA + 1% n-BuOH combination was the most effective antiseptic agent that caused the maximum decrease of amount of Human Adenovirus Serotype 19 with 3 log₁₀ at the end of the 120 seconds. The minimum decrease was observed with 1,625 log₁₀ by 70% IPA. For Human Adenovirus Serotype 37, 60% EtOH+ 10% IPA + 1% n-BuOH combination was the the most effective antiseptic agent that causes the maximum decrease with 2,5 log₁₀ at the end of the 120 seconds. The minimum decreases were occurred with 1,625 log₁₀ by 70% IPA and 70% IPA + 0,5% CHDG combinations. In this study, combination of 60% EtOH+ 10% IPA + 1% n-BuOH was determined to be the most effective antiseptic agent against both Human Adenovirus Serotype 19 and 37. The level of activity of this combination on Human Adenoviruses were found under the 4 log₁₀ according to the international standards.

Because of the major role of the hand antiseptics preventing EKC and stopping the epidemics, new studies that including novel antiseptics and their combinations with other antiseptics are needed.

Keywords: Human Adenovirus Serotype 19, Human Adenovirus Serotype 37, Epidemic Keratoconjunctivitis, Antiseptic.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın tasarlanmasından sonlanmasına kadar geçen her aşamada bana yardımcı ve yol gösterici olan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, yüksek lisans öğrenimim boyunca akademik yönümün gelişmesinde büyük katkısı olan değerli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ'ye;

Çalışma sürecinde karşılaştığım sorunların üstesinden gelmemde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Fetiye KOLAYLI, Doç. Dr. Murat KASAP ve Yrd. Doç. Dr. Gülçin GACAR'a;

Yüksek lisans öğrenimim esnasında değerli bilgilerini benimle paylaşan Anabilim Dalı öğretim üyeleri Doç. Dr. Fatma BUDAK, Doç. Dr. Sema KEÇELİ, Doç. Dr. Zeki YUMUK, Doç. Dr. Gülden SÖNMEZ TAMER, Doç. Dr. Devrim DÜNDAR ve Yrd. Doç. Dr. Erdener BALIKÇI'ya;

Çalışmanın istatistiksel hesaplamaları için danışmanlık yapan Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Nilay ETİLER ve Doç. Dr. Çiğdem ÇAĞLAYAN'a;

Deneyselerim esnasında laboratuvarında benimle beraber defalarca sabahlayan dostum Biyolog Doğanhan Kadir ER'e;

Laboratuvar çalışmalarımında yardımları ile bana destek olan Dr. Agim OSMANİ, Moleküler tekniker Leyla ÖZDEMİR ve Dr. Serpil METİN'e;

E-posta ile sorularıma yanıt verme inceliğini gösteren Prof. Dr. Erhard Kaleta, Prof. Dr. M. Lindsay Grayson, Prof. Dr. Günter Kampf, Dr. Yutaka Nishihara ve Dr. David R. Macinga'ya;

Ve her şeyden öte, gösterdikleri sınırsız anlayış ve hoşgörülerini ile her zaman yanımda olan sevgili babam Mehmet Kamil, annem Gülsen, kardeşlerim Burak, Şeyma ve Şeyda UZUNER'e ve kız arkadaşım Hilal DEMİR'e;

TEŞEKKÜR EDERİM.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Adenovirüsler	2
2.1.1. Sınıflama	2
2.1.2. Yapısal Özellikler	3
2.1.3. Konak Hücreye Giriş ve Protein Sentezi	5
2.1.4. Hücre Kültür Ortamlarında Üretilmesi	7
2.1.5. Tiplendirilmeleri	8
2.1.6. Adenovirüslerin Oluşturduğu Enfeksiyonlar	9
2.2. Antiseptikler	11
2.2.1. Giriş	11
2.2.2. El Antisepsisinde Kullanılan Kimyasallar	13
2.2.2.1. Alkoller	13
2.2.2.2. Klorheksidin	15
2.2.2.3. İyodin ve İyodoforlar	16

2.2.2.4. Fenolik Bileşikler.....	17
2.2.2.5. Diğer kimyasallar.....	19
2.2.3. Kullanım Alanları.....	19
2.2.3.1. Cilt Hijyeni.....	19
2.2.3.2. Cerrahi Müdahale Öncesi Cilt Antisepsisi.....	19
2.2.3.3. Deri ve Yara Enfeksiyonları Tedavisi.....	20
2.2.3.4. Ağız ve Diğer Mukozaların Tedavisi.....	20
2.2.3.5. Antiseptik İçeren Malzemeler	20
2.2.4. Nozokomiyal Enfeksiyonlarda El Antisepsisinin Rolü.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Çalışmada Kullanılan Solüsyonların ve Besiyerlerinin Hazırlanması	22
3.1.1. Standart Sertlikte Su.....	22
3.1.2. Dulbecco's Modified Eagle's Medium + %2 FBS	22
3.1.3. Fosfat Tamponlu Tripsin / Versene.....	22
3.1.4. Penisilin / Streptomisin (100x).....	23
3.1.5. Hücre Pasajları İçin Besiyerlerinin Hazırlanması.....	23
3.1.5.1. Hücre çözme besiyeri.....	23
3.1.5.2. Hücre pasaj besiyeri.....	24
3.1.5.3. Hücre saklama besiyeri	24
3.1.5.4. Virüs üretme besiyeri.....	24
3.2. Hücrelerin Çoğaltılması	24
3.2.1. Hücrelerin Çözülmesi ve Ekim İşlemi	24
3.2.2. Hücrelerin Pasajlanması	25

3.2.3. Hücrelerin Saklamaya Alınması	26
3.3. Virüslerin Çoğaltılması.....	26
3.4. Virüslerin Miktarının Belirlenmesi	27
3.5. Antiseptiklerin Etkinliğinin Araştırılması.....	30
3.5.1. Virüslere % 70 EtOH'ün etkisinin araştırılması	31
3.5.2. Virüslere % 70 EtOH + % 0,5 CHDG'in etkisinin araştırılması	34
3.5.3. Virüslere % 70 IPA'ün etkisinin araştırılması.....	35
3.5.4. Virüslere % 70 IPA + % 0,5 CHDG'in etkisinin araştırılması.....	35
3.5.5. Virüslere % 60 EtOH + % 10 IPA'ün etkisinin araştırılması.....	35
3.5.6. Virüslere % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG'in etkisinin araştırılması....	36
3.5.7. Virüslere % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH'ün etkisinin araştırılması ...	36
3.6. Çalışmanın Kontrolleri	37
3.6.1. Sitotoksosite kontrolü.....	37
3.6.2. Hücre duyarlılığı kontrolü	37
3.6.3. Proteinli ortamdaki virüs miktarlarının kontrolü	38
3.7. Azalma Oranı ve % 95 Güven Aralığı Hesaplama.....	38
4. BULGULAR.....	40
4.1. Virüs Miktarları.....	41
4.2. Kontrol Çalışmaları Sonuçları.....	44
4.3. Antiseptik Maddeler İle Etkileşim Sonuçları.....	45
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	66
KAYNAKLAR.....	67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AdV:	Adenovirüs
EKK:	Epidemik Keratokonjunktivit
İnsan AdV:	İnsan Adenovirüs
TP:	Terminal Protein
CAR:	Coxsackie-Adenovirüs Reseptör
RNA:	Ribonükleik Asit
m-RNA:	Mesajcı Ribonükleik Asit
HEK:	İnsan Embriyonik Böbrek Hücresi
A549:	İnsan Akciğer Karsinoma Hücreleri
Hep-2:	İnsan Epidermoid Larinks Karsinoma Hücreleri
HeLa:	İnsan Servikal Karsinoma Hücreleri
İF:	İmmün Floresan
KF:	Kompleman Fiksasyon
EIA:	Enzim İmmun Assay
Hİ:	Hemaglutinasyon İnhibisyon
SN:	Serum Nötralizasyon
REA:	Restriksiyon Enzim Analizi
PZT:	Polimeraz Zincirleme Tepkimesi
SPE:	Sitopatik etki
FKA:	Faringokonjunktival Ateş
CDC:	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri, Amerika
APIC:	Enfeksiyon Kontrol Uzmanları ve Epidemiyoloji Derneği, Amerika
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü
MRSA:	Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
QAC:	Dört Değerlikli Amonyum Bileşikleri
PVPI:	Povidon-iyod
İnsan AdV-8:	İnsan Adenovirüs Serotip 8
İnsan AdV-19:	İnsan Adenovirüs Serotip 19
İnsan AdV-37:	İnsan Adenovirüs Serotip 37
TCID ₅₀ :	Doku Kültürünün Yarisını Enfekte Eden Doz
EtOH:	Etil alkol
IPA:	İzopropil alkol

CHDG:	Klorheksidin diglukonat
n-BuOH:	n-butanol
DMEM:	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
FBS:	Fötal Dana Serumu
DMSO:	Dimetilsülfoksit
ATCC:	Amerikan Kültür Koleksiyonu
PBS:	Fosfat Tamponlu Tuzlu Su
KCV:	Kedi Calicivirus
BSA:	Dana Serum Albümin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	AdV'e ait elektron mikroskobu görüntüsü	4
Şekil 2.2.	AdV proteinleri	5
Şekil 2.3.	A. Enfekte olmamış A549 hücre dizisi. B. AdV ile enfekte A549 hücrelerinde SPE görünümü	8
Şekil 2.4.	Bazı alkollere ait kimyasal yapılar	14
Şekil 2.5.	Klorheksidin'in kimyasal yapısı	15
Şekil 2.6.	Povidon-iyodin'in kimyasal yapısı	16
Şekil 2.7.	Triklosan'ın kimyasal yapısı	17
Şekil 2.8.	Kloroksilenol'ün kimyasal yapısı	18
Şekil 3.1.	Hücre dondurma-kırma işlemi	28
Şekil 3.2.	TCID ₅₀ değeri hesaplanması için virüs sulandırımalarının hücreler üzerine inokülasyonu	29
Şekil 3.3.	A. Virüs sayım işlemi; B. Hücrelerin inkübasyonu	30
Şekil 3.4.	Kullanılan sıvılar çalışma öncesinde oda ısısına getirildi	31
Şekil 3.5.	Virüs-Dezenfektan karışımının +20°C'de bekletilmesi	31
Şekil 3.6.	%70 EtOH'ün hazırlanması	32
Şekil 3.7.	EtOH'ün etkisinin 30 saniye sonra durdurulması ve seyreltme işlemi	33
Şekil 3.8.	Karışıma uygulanan işlemler 1. Vorteksleme 2. +20°C'de bekletme 3. Nötralizasyon 4. Seyreltme 5. Hücre kültürüne ekim 6. %5 CO ₂ içeren 37°C'lik etüvde inkübasyon	34
Şekil 3.9.	Virüs miktarı kontrolü için karışım hazırlanması	38
Şekil 4.1.	Tam tabaka halindeki A549 hücreleri	40
Şekil 4.2.	İnsan AdV'lerin SPE görüntüsü	41
Şekil 4.3.	A. Enfekte olmamış A549 hücre dizisi kültürü B. Adenovirüs ile enfekte A549 hücre dizisinde SPE	41
Şekil 4.4.	İnsan AdV-19'un SPE'si. (+) ile işaretlenenler SPE görülen kuyular, (-) ile işaretlenenler SPE görülmeyen kuyular	42
Şekil 4.5.	İnsan AdV-37 için SPE'si. (+) ile işaretlenenler SPE görülen kuyular, (-) ile işaretlenenler SPE görülmeyen kuyular	44
Şekil 4.6.	İnsan AdV-19'un antiseptik maddeler ile etkileşim süresine göre virüs miktarındaki değişim grafiği	50

Şekil 4.7.	İnsan AdV-37'nin antiseptik maddeler ile etkileşim süresine göre virüs miktarındaki değişim grafiği	52
Şekil 4.8.	İnsan AdV-19 ile yapılan çalışma sonrası oluşan virüs azalma oranları grafiği	54
Şekil 4.9.	İnsan AdV-37 ile yapılan çalışma sonrası oluşan virüs azalma oranları grafiği	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. İnsanları enfekte eden AdV grupları ve gruplara dahil olan serotipler	3
Çizelge 2.2. Adenovirüse ait bazı gen bölgeleri ve işlevleri	6
Çizelge 2.3. İnsan AdV'leri tarafından oluşturulan diğer enfeksiyonlar	11
Çizelge 3.1. Fosfat tamponlu tripsin / versene hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarları	23
Çizelge 4.1. Spearman - Karber Metodu'na göre insan AdV-19 için TCID ₅₀ değeri hesaplanması	43
Çizelge 4.2. Virüs sayısı kontrolü sonucunda saptanan SPE oranları	45
Çizelge 4.3. İnsan AdV-19 ile antiseptik maddelerin etkileşim süreleri sonunda saptanan SPE oranları	46
Çizelge 4.4. İnsan AdV-37 ile antiseptik maddelerin etkileşim süreleri sonunda saptanan SPE oranları	47
Çizelge 4.5. İnsan AdV-19 ile yapılan çalışma sonrası kalan virüs miktarları ve %95 güven aralığı değerleri	49
Çizelge 4.6. İnsan AdV-37 ile yapılan çalışma sonrası kalan virüs miktarları ve %95 güven aralığı değerleri	51
Çizelge 4.7. İnsan AdV-19 ile yapılan çalışma sonrası oluşan virüs azalma ve %95 güven aralığı değerleri	53
Çizelge 4.8. İnsan AdV-37 ile yapılan çalışma sonrası oluşan virüs azalma ve %95 güven aralığı değerleri	55

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Adenovirüslerin 50'den fazla serotipi vardır ve bunlar çeşitli klinik tablolara sebep olurlar (Rhee, 2010). Adenovirüslerin sebep olduğu epidemik keratokonjunktivit (EKK) nozokomiyal enfeksiyonlara yol açar (Takeuchi et al., 1999). Adenovirüsler çok bulaşıcıdırlar ve bulaştıkları yüzeylerde uzun süre enfektif kalabilirler. Göz polikliniklerinin geçici olarak kapatılmasına dahi yol açabilirler (Curtis et al., 1998, Cheung et al., 2003). Ortamların temizlenmesi ve etkin şekilde dezenfeksiyon uygulanması ile salgınların önlenmesinde el antiseptiklerinin kullanımı büyük önem taşır. El antisepsisi, ellerin su ve normal sabun veya alkol içeren susuz antiseptikler kullanılarak sağlanır (Nhung et al., 2007). Alkol içeren el antiseptiklerinin kullanımı kolaydır. Hızlı etki gösterirler ve kısa sürede enfeksiyonların azalmasına katkı sağlayabilirler (Pittet, 2001).

CDC ve WHO rehberlerinde el hijyeninin sağlanması için her zaman ilk tercih olarak ellerin yıkanması önerilmektedir. Bazı durumlar dışında ve ellerde gözle görünür kirlenme olmaması halinde alkollü el antiseptiklerinin kullanılabilmesi bildirilmiştir (Boyce and Pittet, 2002).

El antiseptiği olarak alkoller ve alkollere ek olarak klorheksidin, fenolik bileşikler, iyodin ve iyodoforlar ve benzalkonyum klorid gibi çeşitli kimyasallar kullanılır. Yapılan çalışmalar Adenovirüs serotiplerinin dezenfektanlara karşı benzer duyarlılığa sahip olmadığını göstermektedir (Sauerbrei et al., 2004).

Bu çalışmada, dünyada sıklıkla EKK etkeni olarak izole edilen Adenovirüs 19 ve 37 serotiplerine etil alkol (EtOH), izopropanol (IPA), n-butanol (n-BuOH), klorheksidin diglukonat (CHDG) antiseptiklerinin ve EtOH-CHDG, IPA-CHDG, EtOH-IPA, EtOH-IPA-CHDG, EtOH-IPA-n-BuOH gibi kombinasyonların 30, 60 ve 120 saniye gibi farklı sürelerde etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Adenovirüsler

Adenovirüsler ilk olarak 1953 yılında, Rowe ve arkadaşları tarafından, çocuk adenoidlerinde poliovirüslerin araştırılması sırasında tanımlanmıştır. Araştırmacılar poliovirüs bulunmayan dokuda sitopatik değişiklik oluşturan ve kültürlerin spontan dejenerasyonunu uyaran etkeni “adenoid dejenerasyon ajanı” olarak adlandırılmışlardır (Tony Walls, 2003). 1954 yılında Hilleman ve Wenner isimli araştırmacılar, askeri personelin solunum yollarından alınan örneklerde benzer bir etkeni üretmiş ve “RI-67” diye adlandırmışlardır. Sonrasında bu iki virüsün birbiriyle ilişkili olduğu gösterilmiş ve 1956'da, ilk kaynağını belirtmek üzere, “Adenovirüs” (AdV) terimi önerilmiştir (Günaydın, 2009).

AdV'ler balıklardan memelilere kadar çeşitlilik gösteren farklı konaklardan izole edilebilmektedirler. Bazı insan ve hayvan AdV'leri ölümlere sebep olabilmektedir ancak çoğu AdV serotipi bağışıklığı baskılanmamış sağlıklı kişilerde hastalık oluşturmaz (Harrach, 2008). İlk izolasyonlarından sonra yapılan epidemiyolojik çalışmalar AdV'lerin askerler arasında akut febril solunum sistemi hastalığı'na sebep olduğunu göstermiştir. İlerleyen yıllarda AdV'lerin erişkinlerde küçük oranlarda, çocuklarda ise %5 - %10 oranında akut solunum sistemi rahatsızlıklarına yol açtığı gösterilmiştir. Solunum sistemi hastalıklarının yanında AdV'ler epidemik keratokonjunktivite (EKK), çeşitli klinik olgulara ve özellikle çocuklarda gastroenterite sebep olmaktadır (Thomas, 2001).

Hastalık etkeni olması yanı sıra, moleküler biyolojik çalışmalarda model organizma olarak kullanılan AdV'ler, virüs tabanlı gen terapi ve aşılama yöntemleri için önemli bir vektör haline gelmiştir. AdV'lerin farklı konak türlerini enfekte edebilmesi ve oldukça korunmuş genom organizasyonuna sahip olması, bu organizmayı virüs evrimi çalışmaları için ideal bir model yapmaktadır (Harrach, 2008).

2.1.1. Sınıflama

Doğada yaygın olarak bulunan AdV'ler insanlardan ve çoğu hayvandan izole edilebilirler. AdV'ler, *Mastadenovirüs*, *Aviadenovirüs*, *Atadenovirüs* ve *Siadenovirüs* olmak üzere 4 cins tarafından temsil edilen *Adenoviridae* ailesine dahildirler. *Mastadenovirüs* ismi Yunanca meme anlamına gelen “mastos” kelimesinden gelir ve

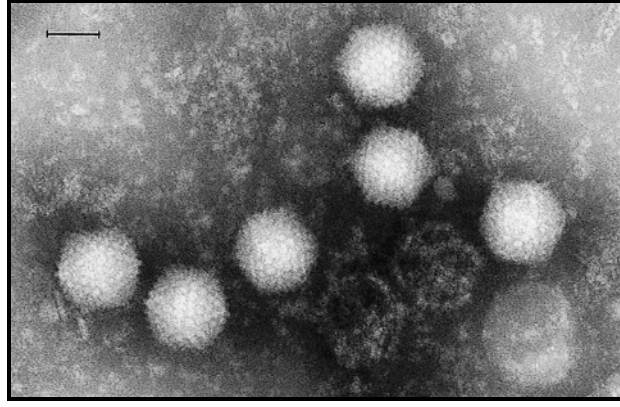
insan, sığır, köpek gibi memelileri enfekte edebildiği anlamını taşır (Echavarria, 2004). Yaklaşık 19 *Mastadenovirus* grubundan 6'sı insanları enfekte eder (Harrach, 2008). Bu gruplar immünolojik, biyolojik ve biyokimyasal özelliklerine, eritrositleri hemaglutine etme özelliklerine, kemiricilerdeki onkojenik özelliklerine ve genomlarındaki guanin + sitozin yüzdesine göre A'dan G'ye kadar sınıflandırılmıştır (Echavarria, 2004). Her bir İnsan AdV grubunun birçok serotipi vardır ve bugüne kadar toplam 51 serotip tanımlanmıştır (Rhee, 2010) (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. İnsanları enfekte eden AdV grupları ve gruplara dahil olan serotipler (Rhee, 2010).

Cins	Grup	Serotip(ler)
<i>Mastadenoviridae</i>	A	12, 18, 31
	B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50
	C	1, 2, 5, 6
	D	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33, 36-39, 42-49, 51
	E	4
	F	40, 41

2.1.2. Yapısal Özellikler

AdV'ler 70-90 nm çapında zarfsız virüslerdir (Şekil 2.1). AdV genomu 36 kDa boyutunda düz, çift zincirli DNA molekülünden oluşmaktadır. DNA'nın 5' ucunda kovalent bağlı bir terminal protein (TP) bulunmaktadır, bu protein DNA replikasyonunda görev almaktadır. Genomun sonunda, serotipe göre değişik uzunlukta olabilen, ters terminal tekrar dizileri bulunur. İnsan AdV'ler yüksek derecede korunmuş genom organizasyonuna sahiptir. Genomun merkezinde bulunan bu korunmuş alanda yapısal proteinler ve DNA'nın çoğalmasında işlev gören proteinler kodlanır (Harrach, 2008).

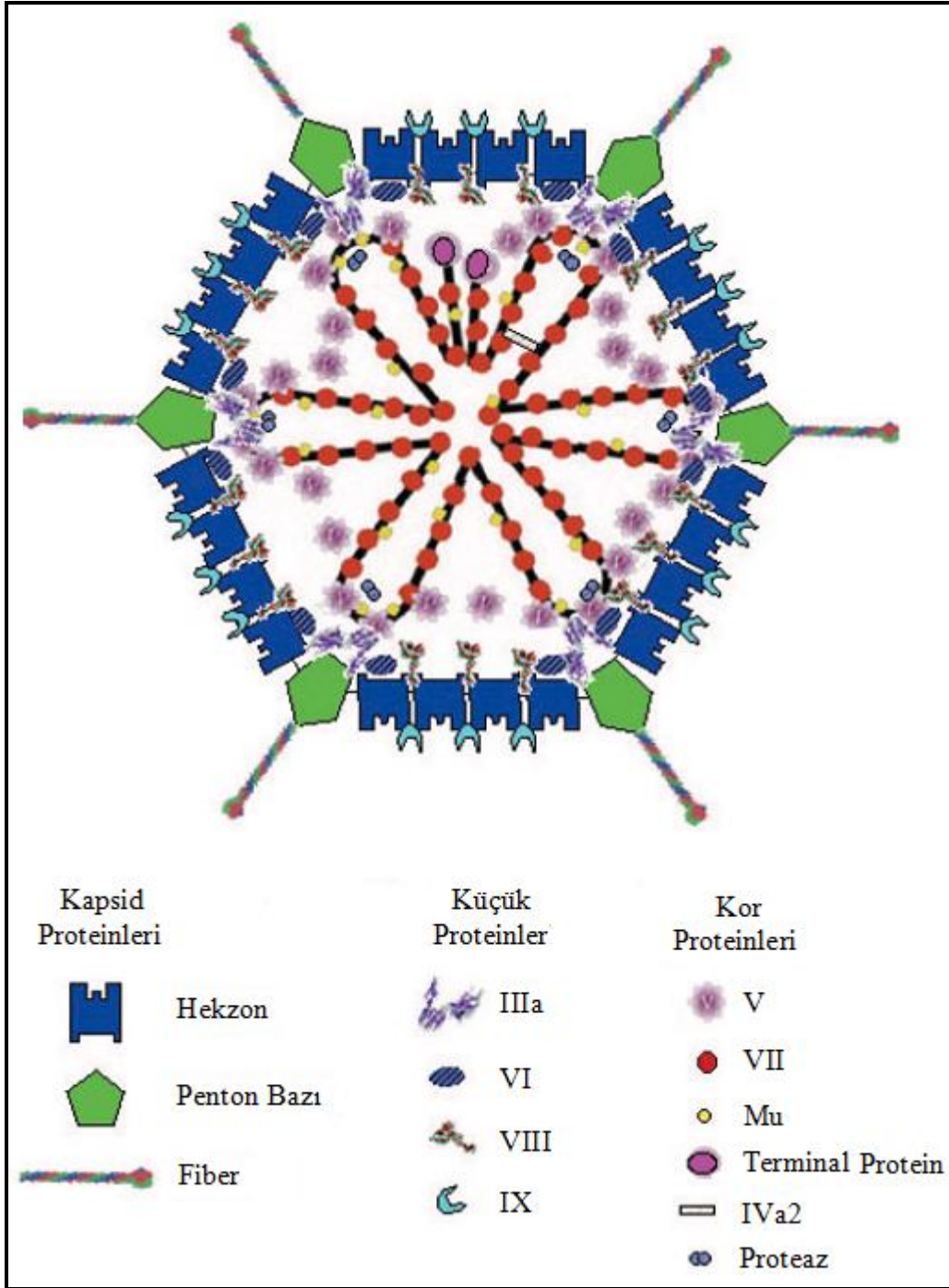


Şekil 2.1. AdV'e ait elektron mikroskobu görüntüsü. Ölçek = 50nm (Collier and Oxford, 2006).

AdV'ün protein kapsid kılıfı 252 kapsomerden meydana gelir. Bunlardan 12 tanesi kapsidin köşelerinde bulunur ve penton adını alır. Virüsün hücrelere tutunmasında ve hücre içine girmesinde önemli rol oynayan pentonlar, bir penton bazı ve bir fiber polipeptidi olmak üzere iki kısımdan oluşur. Kalan 240 kapsomer ise hekzon adını alır. Penton, fiber ve hekzonlar kapsid proteinlerini oluşturur (Harrach, 2008).

AdV'lerin dış yüzeyinde bulunan bu yapısal elemanlar şeklen oldukları gibi antijenik yapı olarak da birbirlerinden farklıdır. Hekzon proteininin tüm İnsan AdV'lerinde ortak olan antijenik bölgeleri vardır. Bu bölgeler kapsidin içinde kalırlar, bu yüzden nötralizan antikor oluşturmazlar (Russell, 2009).

Virüsün kor kısmında 6 adet yapısal bileşen bulunur. Bunlardan 5 tanesi (V, VII, Mu, IVa2 ve teminal protein) çift zincirli DNA genomu ile ilişkilidir, diğer bileşen, proteaz ise virion salınımında önemli rol oynar (Russell, 2009). Kapsid kılıf, bir kısmı kor ile kılıf arasında köprü görevi gören IIIa, VI, VIII ve IX proteinleri tarafından sağlamlaştırılır. Bu proteinler ise küçük kapsid proteinleri olarak adlandırılır (Harrach, 2008) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. AdV proteinleri (Russell, 2009).

2.1.3. Konak Hücreye Giriş ve Protein Sentezi

AdV'ler duyarlı hücre ile karşılaştıkları zaman ilk olarak fiber proteinin topuz kısımları ile hücreye yapışırlar. Çoğu insan AdV serotipi konak hücrede bulunan Coxsackie-Adenovirüs reseptör (CAR) proteinine bağlanır. Bazı AdV'ler CAR dışında

reseptörler kullanır. EKK etkeni olan insan AdV Serotip 8 (İnsan AdV-8), insan AdV-19 ve insan AdV-37 siyalik asit reseptörlerine bağlanırlar (Echavarria, 2004).

Hücre içerisine giriş için viral kapside ait penton proteinlerinin hücrenin integrinlerine ($\alpha\beta_3$ ve $\alpha\beta_5$) bağlanması gerekir. Bu bağlanma sonunda virüs endozom içerisinde hücreye alınır (Echavarria, 2004). Virüs endozom içerisine girdikten sonra soyunma evresi başlar. Fiber proteinleri dökülür, penton bazları açığa çıkar. Virüs içeren endozom içerisinde pH azalmaya başlar (Medina Kauwe, 2003). Endozomun asidifikasyonu sonucu virüs proteinlerinde (penton bazı vs.) bazı yapısal değişiklikler gerçekleşir ve virüs endozomdan dışarı salınarak sitoplazmaya geçer. Sitoplazmaya salınan genetik materyal hücredeki mikrotübüller vasıtasıyla çekirdeğe taşınır. Proteinlerin sentezi dışında virüse ait diğer tüm üreme aşamaları hücre çekirdeğinde gerçekleşir (Harrach, 2008).

Viral DNA konak hücre çekirdeğinde transkripsiyon için kalıp olarak kullanılır. Viral genom üzerinden erken (E) ve geç (L) m-RNA'lar sentezlenmeye başlar. Viral DNA replikasyonu öncesi beş farklı bölgeden (E1A, E1B, E2, E3 ve E4) erken m-RNA sentezlenir. Bu gen bölgeleri Çizelge 2.2'de görüldüğü gibi hücrenin S fazına girişini kolaylaştırmak, enfekte hücreyi İnsan AdV genlerini transkribe etmek ve çoğaltmak için uyararak, viral DNA replikasyonu için gerekli proteinleri kodlamak ve hücreyi reseptör-aracılı apoptozisten korumak gibi işlevler görür. E2 ve E4 gen ürünleri, aynı zamanda geç gen ürünlerinin (L1, L2, L3, L4 ve L5) üretilmesi için de gereklidir (Echavarria, 2004).

Çizelge 2.2. Adenovirüse ait bazı gen bölgeleri ve işlevleri (Echavarria, 2004).

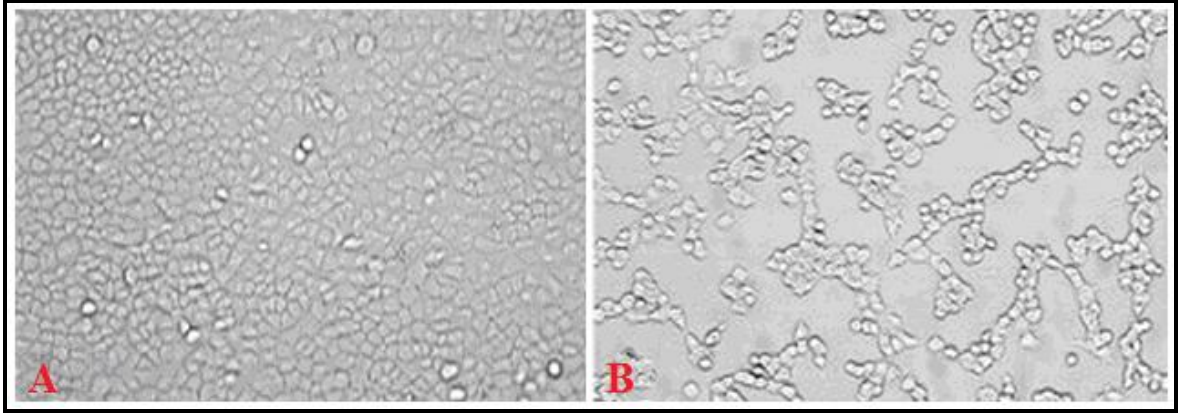
Gen Bölgesi	İşlevi
E1A	Hücrenin S fazına girişini kolaylaştırmak. Enfekte hücreyi İnsan AdV genlerini transkribe etmek ve çoğaltmak için uyararak.
E1B	Enfekte hücreyi İnsan AdV genlerini transkribe etmek ve çoğaltmak için uyararak.
E2	Viral DNA replikasyonu için gerekli proteinleri kodlamak.
E3	Hücreyi reseptör-aracılı apoptozisten korumak.
E4	Hücre gen ürünlerinin çekirdekte sitoplazmaya geçişini engelleyerek viral gen ürünlerinin sitoplazmaya geçmesine olanak sağlamak.

Bu beş erken m-RNA, viral DNA replikasyonundan önce üretilir ve bu şekilde DNA replikasyonu için gerekli proteinlerin sentezi gerçekleşir. Viral enfeksiyondan 5-6 saat sonra geç genlerden viral kapsid proteinleri sentezlenmiş olur. Çok sayıda üretilen viral proteinler ve DNA bir araya gelmek ve virüs partikülünü oluşturmak üzere çekirdeğe taşınır. Oluşan virüs partikülleri konak hücreden lizis ile salınır (Harrach, 2008).

2.1.4. Hücre Kültür Ortamlarında Üretilmesi

Adenovirüsle ilgili daha detaylı çalışmalar yapabilmek için virüsün hücre kültürlerinden izolasyonu gereklidir. Serolojik tiplendirme, virüslerin tiplendirilmesinde önemli bir yöntemdir. Serolojik tiplendirme ancak izole edilen virüs ile yapılabilir. Bu yüzden virüsün üretilmesi “altın standart” olarak kabul edilir. AdV’lerin bazı serotipleri çok yavaş replike olduklarından hücre kültürlerinde üretilmeleri zaman alır (David O. White, 1994). Günümüzde klinik örneklerden izolasyonları için insan kökenli hücre dizileri kullanılmaktadır. Enterik AdV serotip 40 ve 41 hariç tüm AdV’lerin, insan epitel hücrelerinden köken alan hücre dizilerinde kültürü yapılabilir. AdV’lerin çoğu İnsan Embriyonik Böbrek (HEK) hücrelerinde üretilirler. İnsan Akciğer Karsinoma Hücreleri (A549) de AdV’ler için uygun konak hücrelerdir. İnsan Epidermoid Larinks Karsinoma Hücreleri (Hep-2) ve İnsan Servikal Karsinoma Hücreleri (HeLa) de HEK hücreleri yerine de kullanılmaktadır (Echavarria, 2004). Enterik AdV 40 ve 41, HEK hücrelerinin bir dizisi olan Graham 293 hücrelerinde çok iyi ürerler. Diğer serotipler de bu hücrelerde replike olur. İnsan diploid fibroblastları diğer hücrelere göre daha az duyarlıdır. Vero gibi insan dışı hücreler düşük miktarda da olsa AdV üretebilirler (Günaydın, 2009).

AdV’ler duyarlı hücrelerde yuvarlaklaşma ve üzüm salkımı gibi kümelenme ile karakterize sitopatik etki (SPE) oluştururlar (Şekil 2.3). SPE önce tek tabaka hücrelerin kenarlarında görülür (Horwitz M, 2001). Enfeksiyon ilerledikçe hücrelerde yüksek oranda granüler görünüm ortaya çıkar ve hücreler yüzeyden tamamen ayrılabilir (Günaydın, 2009). SPE gözükme süresi AdV serotipine, örnekteki enfektif viral partikül konsantrasyonuna ve hücre dizisi duyarlılığına bağlı olarak 2 ile 28 gün arasında değişebilir (Echavarria, 2004). AdV’ler enfekte hücrenin çekirdeğinde morfolojik değişikliklere sebep olurlar ve inklüzyon cisimciği oluştururlar (Horwitz M, 2001).



Şekil 2.3. A. A549 hücre dizisi. B. AdV ile enfekte A549 hücrelerinde SPE (Leland and Ginocchio, 2007).

2.1.5. Tiplendirilmeleri

Adenovirüslerin tiplendirilmesi başlıca epidemiyolojik araştırmalar, patogenezi çalışmaları ve salgınlarda enfeksiyon nedenini saptamak için yapılır. Serolojik veya moleküler tiplendirme yöntemleri uygulanabilir. Serolojik tiplendirme için virüsün izolasyonu gerekir. Fiber geni ve hekson geni üzerinde bulunan epitoplardaki farklılık virüslerin moleküler olarak tiplendirilmesinde kullanılır (Robinson C, 2003). Moleküler tiplendirme, izolatlar üzerinde ve orijinal örnekte uygulanabilir (Karadenizli, 2012). Fiber geni ve hekson genindeki DNA sekans farklılıklarına göre de tiplendirilebilirler (Lynch et al., 2011).

Serolojik testler hücre kültürlerinde üretilen virüsler veya direkt hasta örneği kullanılarak yapılabilir. Kültürde üreyen virüslerin grupları (A-F) İmmün Floresan (IF) veya Kompleman Fiksasyon (KF) testleri ile belirlenir. Sonrasında Hemagglütinasyon İnhibisyon (HI) veya Serum Nötralizasyon (SN) testleri ile de gruplara ait serotipler (8, 19, 37 vs.) belirlenir. Hasta örneklerinden, tip spesifik monoklonal antikolar kullanılarak IF, Enzim İmmün Assay (EIA) veya Lateks Agglütinasyon testleri ile serotiplendirme yapılabilir (Horwitz M, 2001).

Son zamanlarda çeşitli vücut sıvıları ve doku örneklerinden Polimeraz Zincirleme Tepkimesi yöntemi kullanılarak Adenovirüs enfeksiyonları tanımlanmaktadır (Hierholzer et al., 1993). Serotipler arasında yüksek derecede homoloji gösteren hekson genine özgü primerler kullanılmaktadır. Klinik örneklerden izole edilen Adenovirüsler hibridizasyon ve Restriksiyon Enzim Analizi (REA) yöntemleri ile tiplendirilmektedir (Kemp et al., 1983).

Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PZT) ile tiplendirme son zamanlarda birçok laboratuvar tarafından tercih edilmektedir. Bu yöntem, saflaştırılmış virüs DNA'sının veya izolattan ekstrakte edilen DNA'nın, jenerik veya multipleks grup spesifik PZT ve hekzon geni veya fiber geni primerleri kullanılarak amplifikasyonu ile başlar. PZT ürününün restriksiyon enzimleriyle kesilmesinden sonra oluşan fragmentlerin uzunluğunun ölçülmesi veya DNA sekans analiziyle serotipler belirlenir. Önceleri analiz için yeterli ürün elde etmek amacıyla Nested-PZT gerekli olsa da yeni yöntemler doğrudan klinik örneklerle uygulanabilir (Allard et al., 2001).

2.1.6. Adenovirüslerin Oluşturduğu Enfeksiyonlar

AdV'lerin, 1953 yılında ilk defa etken olarak tanımlanmalarından bugüne kadar geçen zaman içinde göz, böbrek, solunum ve gastrointestinal sistemlerde etiyolojik ajan olduğu gösterilmiştir. Son zamanlarda da organ ve kemik iliği nakli sonrası bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerden de izole edilmişlerdir (Hayashi and Hogg, 2007). Adenoviral enfeksiyonların % 80'den fazlası 4 yaş altı çocuklarda görülmektedir. Çocuklarda, kapalı veya kalabalık yerlerde bulunan erişkinlerde adenoviral salgınlar meydana gelebilmektedir (Lynch et al., 2011). Bazı serotipler ise nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Takeuchi et al., 1999).

EKK ve Faringokonjunktival Ateş (FKA) Adenovirüslerin sebep olduğu göz enfeksiyonlarından biridir. EKK çok bulaşıcı ve ciddi bir enfeksiyondur. Tüm dünyada yaygındır ve kliniklerin geçici olarak kapatılmasına sebep olabilir. Dünya genelinde herhangi bir zamanda, tüm yaşta bireylerde görülebilir (Meyer-Rusenberget al., 2011). EKK genel olarak insan AdV-8, insan AdV-19 veya insan AdV-37 tarafından oluşturulur (Ford et al., 1987). Japonya'da insan AdV-4 de etken olarak saptanmıştır (Echavarria, 2004). İnsan AdV-8 1973 yılına kadar asıl etken olmuştur; 1973-1976 arası geçici olarak insan AdV-19 görülmüştür; insan AdV-37 aniden ortaya çıkmış ve insan AdV-8 ile günümüze kadar dünya genelinde EKK salgınlarına sıklıkla yol açmıştır (David O. White, 1994). Bu serotipler yenidoğan servisleri gibi yüksek riskli hastaların yattığı yerlerde de nozokomiyal enfeksiyonlara sebep olabilir (Karadenizli, 2012). EKK konjunktivit ile başlar, göz kapaklarında ödem, ağrı, ışığa duyarlılık ve gözlerde sulanma ile devam eder. Hafif olarak solunum yolu enfeksiyonu bunlara eşlik edebilir. Etkenin inkübasyon süresi 8-10 gündür. Konjunktivit 2 hafta sonra geçebilir, fakat görmede azalma, ışığa duyarlılık ve gözde yabancı cisim varlığı hissi aylarca sürebilir (Echavarria, 2004). Eller ve kontamine

nesneler AdV'lerin ana bulaş sebebidir. Bu yüzden ellerin ve yüzeylerin uygun dezenfeksiyonu en önemli korunma aracıdır. AdV'ler çoğu dezenfektana dirençlidir, sadece virüslere etkili dezenfektanlar kullanılabilir. Göz muayenelerinde tek kullanımlık tonometre başlarının ve hastaya özel göz damlalıklarının kullanılması önerilmektedir. Göz doktorlarının muayene esnasında her zaman eldiven kullanması, muayene sonrası el, cihaz ve yüzeylerin dezenfekte edilmesi tavsiye edilmektedir (Meyer-Rusenberget al., 2011). FKA foliküler konjunktivit, ateş, farenjit ve servikal adenit durumlarını içeren yaygın bir hastalık tablosudur. Çoğunlukla insan AdV-3 veya insan AdV-7 tarafından oluşturulur (Rhee, 2010). AdV serotip 1-7, 11-17, 19 veya 21'in sebep olduğu olgular da bildirilmiştir. FKA çocuklarda ve genç erişkinlerde görülür. Sporadik oldular tüm yaş grubunda görülebilir. Havuz sularının yetersiz klorlanması sonucunda kitlesel salgınlar görülebilir (Echavarria, 2004).

AdV'ler solunum sistemi enfeksiyonları olarak çocuklarda yaklaşık olarak % 5 oranında üst solunum yolu hastalıklarına, % 10 oranında da pnömoniye sebep olur (Brandt et al., 1969). Üst solunum yolu hastalıkları farenjit veya nezle ile eşlik eden trakea iltihabı şeklinde görülür. Bu hastalık belirtilerine genellikle insan AdV serotip 1, 2, 5 ya da 6, nadir olarak 3 veya 7 sebep olur (Edwards et al., 1985). İnsan AdV 1-5, 7, 14 veya 21 gibi birçok serotip çocuklarda pnömoniye yol açar (Rhee, 2010). Akut Solunum Yolu Hastalığı genel olarak insan AdV-4, 7, 14 veya 21 tarafından oluşturulur ve çoğunlukla askeri personelde görülür (Echavarria et al., 2003).

AdV'ler gastrointestinal sistemde de enfeksiyon oluşturmaktadır. Tüm dünyada pediatrik gastroenteritlerin önemli etiyolojik ajanlarıdır. grup A ve grup F serotipleri gastrointestinal sistem dışında nadiren enfeksiyon oluştururlar. Bunlar enterik Adenovirüsler olarak adlandırılırlar. Pediatrik gastroenterit ile ilişkili serotipler nadiren insan AdV-30, genellikle insan AdV-40 veya 41'dir (Brown et al., 1996). Bu serotipler çocuklarda ortalama % 2 - % 5 oranında akut gastroenterite sebep olurlar. Bunlar genelde toplum kökenlidir, fakat nozokomiyal enfeksiyonlar da bildirilmiştir (Rhee, 2010).

AdV'ler genitoüriner sistem enfeksiyonları olarak çocuklarda kendi kendini sınırlayan akut hemorajik sistit oluştururlar. Çoğunlukla insan AdV-11 veya 21 sebep olur, fakat insan AdV-7 serotipi de nadiren enfeksiyon oluşturur (Rhee, 2010). Penil ve labial ülserler ile üretrit cinsel ilişki ile bulaşan ve insan AdV-19 ve 37'nin sebep olduğu bulgulardandır (Hierholzer, 1992). İnsan AdV-37 servisit'e de sebep olmaktadır (David O. White, 1994).

AdV'ler merkezi sinir sisteminde sistemik veya solunum yolu enfeksiyonları komplikasyonları olarak, menenjit ve meningoensefalit ile ilişkilendirilmişlerdir. Yaygın olarak ağır pnömoni komplikasyonu olarak meningoensefalit bildirilmiştir. İnsan AdV-7 tarafından oluşturulmalarına karşın, insan AdV-1, 6 veya 12 ile de meydana gelen enfeksiyonlar bildirilmiştir (Rhee, 2010).

İmmün sistemi baskılanmış hastalarda grup A'ya dahil olan insan AdV-31 pnömoni, hepatit, diyare veya akut hemorajik sistit'e sebep olur. Grup B'de bulunan insan AdV-3, 7 veya 11 genel olarak, insan AdV-34 veya 35 ise nadiren pnömoni etkenidirler. Grup C'deki insan AdV-1, 2 veya 5 immün yetmezlikli çocuklarda solunum, hepatik ve gastrointestinal sistem hastalıklarına sebep olur (Hierholzer, 1992). AdV'ler primer ve sekonder immün yetmezlikli bireylerde çeşitli enfeksiyonlara oluşturabilirler (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. İnsan AdV'ler tarafından oluşturulan diğer enfeksiyonlar (Rhee, 2010).

Hastalık	Popülasyon	Etken İnsan AdV Serotip
Pertussis Benzeri Sendrom	Çocuk	5
Hemorajik Sistit	HSCT*	34, 35
Meningoensefalit	İmmün Yetmezlikli Birey	2, 6, 7, 12, 32
Hepatit	Pediyatrik Karaciğer Nakli	1 - 3, 5, 7
Nefrit	Böbrek Nakli	11, 34, 35
Dissemine Hastalık	İmmün Yetmezlikli Birey	1, 2, 5, 11, 31, 34, 35, 40

HSCT*, Hematopoetik Kök Hücre Nakli

2.2. Antiseptikler

2.2.1. Giriş

Dezenfeksiyon: Cansız yüzeyler üzerinde bulunan, bakteri sporları hariç tüm mikroorganizmaların etkisiz hale getirilmesidir.

Dezenfektan: Dezenfeksiyon işlemi için kullanılan maddelere verilen isimdir.

Antisepsi: Canlı doku üzerinde bulunan mikroorganizmaların öldürülmesi veya üremelerinin durdurulmasıdır.

Antiseptik: Canlı doku üzerinde bulunan mikroorganizmaları öldüren veya üremelerini durduran maddelere denir.

Biyosid: Mikroorganizmaları etkisiz hale getiren ve genellikle geniş etkiye sahip olan fiziksel veya kimyasal ajanlardır.

Bir grup mikroorganizmaya öldürücü etki gösteren kimyasal ya da biyolojik maddelerin sonuna sidal eki eklenir. Örneğin; bakterisidal etki, bakterileri öldürücü etki; virüsidal madde, virüsleri öldüren madde demektir.

Bakteriyostatik: Bakterilerin üremesinin engellenmesidir.

Dezenfektanlar hastalar ile temas eden tıbbi aletlerin ve cihazların temizlenmesinde, mikroorganizmalar ile kontamine olan yüzeylerin ve ortamların dezenfeksiyonunda kullanılır. Antiseptikler hastane ortamında nozokomiyal enfeksiyonların engellenmesinde oldukça önemli yer tutmaktadır. Hastane personelinin el hijyeninin sağlanması nozokomiyal hastalıkların önlenmesi için önem taşımaktadır (Bischoff et al., 2000). Sağlık personeli ve hasta arasındaki mikroorganizma bulaşını önlemede en önemli basamak el hijyeninin uygun yapılmasıdır. El hijyeni, ellerin su ve normal sabun gibi bir antiseptik ajan kullanılarak veya alkol içeren susuz antiseptikler kullanılarak sağlanır (Nhung et al., 2007).

Uzun yıllardan beri su ve sabun ile yapılan el yıkama işlemi kişisel temizlik için uygulanmaktadır. Ellerin bir antiseptik ajan ile temizlenmesi ise 19. yüzyılın başlarında gündeme gelmiştir. Fransız Eczacı Antoine Germain Labarraque 1822 yılında, kireç veya soda kloridi içeren sıvıların insan cesetlerinden kaynaklanan kötü kokuları engellemede kullanılabileceğini, yine aynı sıvılardan dezenfektan ve antiseptik olarak yararlanılabileceğini göstermiştir. Yine aynı araştırmacı 1825 yılında yayınladığı bir çalışmada, hekimlerin ve bulaşıcı hastalar ile temas eden personelin ellerini sıvı klorid ile nemlendirmelerinin yararlı olacağına dikkat çekmiştir (Boyce and Pittet, 2002). Bu ve daha sonra yapılan benzer çalışmalar, hastalıkların engellenmesinde el antisepsisinin önemine dikkat çekmiştir.

Birleşik Devletler Halk Sağlığı Servisi ile Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) 1961 ve 1985 yıllarında, sağlık çalışanları için el yıkama işleminin nasıl olması gerektiğini belirtmiş, hasta ile temas öncesi ve sonrasında ellerin 1-2 dakika boyunca yıkanması gerektiğini vurgulamışlardır. Aynı yayınlarda bir antiseptik ajan ile ellerin çalkalanmasının, el yıkama işlemine göre daha etkisiz olduğu ve lavabo bulunmayan yerler dışında bu ajanların kullanılmaması gerektiği belirtilmiştir. Enfeksiyon Kontrol Uzmanları ve Epidemiyoloji Derneği (APIC) 1995 yılında yayınladığı kılavuzda ise, önceki yayınların aksine antiseptik ajan içeren alkol temelli el losyonlarının kliniklerde daha yaygın olarak kullanılması gerektiğini vurgulamıştır. CDC ve WHO rehberlerinde el hijyeninin

sağlanması için her zaman ilk tercih olarak ellerin yıkanması önerilmektedir. Hastalara temas etmeden önce ve temas ettikten sonra, hastaya uygulanacak invaziv bir uygulama öncesinde, bir hastanın kontamine olduğu düşünülen vücut bölgesine temas ettikten sonra yine aynı hastanın farklı bir bölgesine temas edilecekse, hastaların vücut sıvıları veya sekresyonlarına temas edilmesinden sonra, hastaların yakınındaki cansız yüzeylere temas sonrası, steril olsun ya da olmasın eldiven çıkarılmasından sonra ellerin yıkanması vurgulanmaktadır. Bu durumlar dışında ve ellerde gözle görünür kirlenme olmaması halinde alkollü el antiseptiklerinin kullanılabilmesi bildirilmiştir (Boyce and Pittet, 2002).

Antiseptikler çok farklı formülasyonlarda olabilir. Bunlar başlıca antimikrobiyal el solüsyonları, cerrahi el yıkama solüsyonları, merhemler, kremler, eriyikler ve ağız yıkama solüsyonları gibi çeşitli şekillerde hazırlanabilirler. Tüm antiseptiklerin aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekir (McDonnell, 2007):

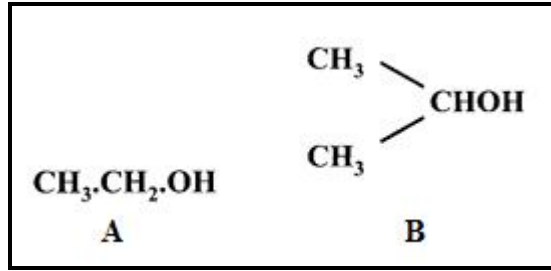
- Geniş spektrumlu özellikle bakteri, mantar ve virüslere karşı biyosidal etkili olmalıdır.
- Hızlı biyosidal etki göstermelidir.
- Çok az iritasyon ve dokuda toksisite göstermeli veya hiç göstermemelidir.
- Vücut tarafından çok az emilmeli veya hiç emilmemelidir.
- Mümkünse uzun süre kalıcı biyosidal etki göstermelidir.

2.2.2. El Antisepsisinde Kullanılan Kimyasallar

2.2.2.1. Alkoller

Alkoller, doymuş karbon atomuna bağlı bir hidroksil (-OH) grubundan oluşan bileşiklerdir. Birçok alkolün antimikrobiyal etkisi gösterilmiş olmasına karşın, etil alkol, izopropil alkol ve, özellikle Avrupa’da, n-propanol antiseptik olarak daha yaygın kullanılmaktadır (Block, 2000) (Şekil 2.4). Alkollerin antimikrobiyal aktiviteleri içeriklerindeki karbon sayısı arttıkça artar ve altı karbonluda en yüksek düzeye ulaşır. Alkoldeki alkil zincirin uzunluğu ve dallanma durumu da antimikrobiyal aktivitede etkilidir. Sudaki çözünürlükleri etanol ve propanolü diğer alkoller arasından tercih edilir kılmaktadır. Alkoller etkilerini protein denatürasyonu ve koagülasyonu yoluyla gösterirler. (Kampf and Kramer, 2004). İçerdikleri reaktif hidroksil grubu proteinler ile hidrojen bağı

meydana getirir ve bu bağ proteinin yapısını ve fonksiyonunu bozarak presipitasyona sebep olur (Kamm, 1921).



Şekil 2.4. Bazı alkollere ait kimyasal yapılar. A.Etanol B. İzopropanol (McDonnell, 2007).

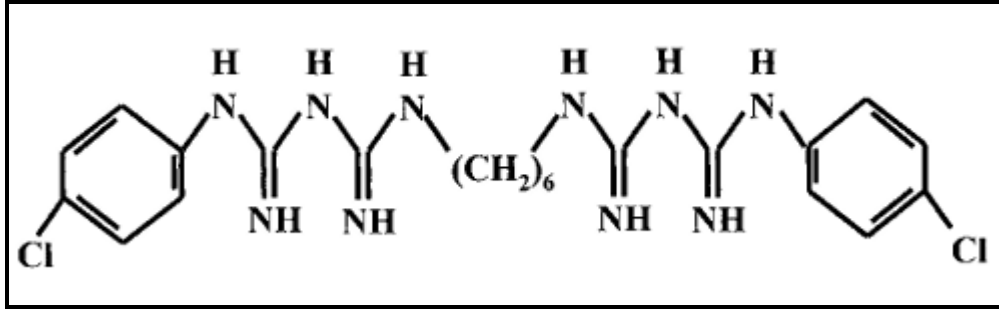
Etanol, % 30 ve daha üzeri konsantrasyonlarda güçlü ve çabuk bakterisidal etkiye sahiptir (Morton, 1950). Sporisidal etkileri ise yoktur (Best et al., 1994). Mantarlara ve mikobakterilere karşı da etkinliği gösterilmiş olan etanolün etki yelpazesi çok geniştir. Antiseptiklerde genellikle % 60 ve üzeri konsantrasyonlarda bulunur (Kampf and Kramer, 2004). Virüsler üzerine etkisi ise antiseptik içerisindeki konsantrasyonuna bağlıdır. Yüksek konsantrasyonları, düşük konsantrasyonlarına oranla özellikle zarfsız virüslere daha etkilidir (Eggers, 1990). Yüzde 85'ten daha düşük konsantrasyonlarda sadece etil alkol içeren antiseptikler genellikle daha az virüsidal etkiye sahiptir (van Engelenburg et al., 2002).

İzopropanol'ün bakterisidal etkisi % 30 konsantrasyonundan başlar ve konsantrasyonu arttıkça bakterisidal etki de artış gösterir, fakat % 90 üzerinde etkisi azalır. Tek başına sporisidal aktivitesi yoktur (Kampf and Kramer, 2004). Yüzde 50 ile % 70 arasında mikobakterilere karşı etkilidir (Frobisher and Sommermeyer, 1953). İzopropanol Enterovirüs, Ekovirüs ve Astrovirüs gibi zarfsız virüslere karşı kısıtlı aktiviteye sahiptir (Kurtz et al., 1980). N-propanol de izopropanol'e benzer etkilere sahiptir (Kampf and Kramer, 2004).

Alkol içeren dezenfektanların çoğu, düşük düzey dezenfektan madde olarak bilinen, dezenfektanın ciltteki etkisini uzatan ve aynı zamanda alkolün buharlaşmasını geciktiren diğer biyosidal kimyasallarla (örn. klorheksidin) ile birlikte kullanılırlar (McDonnell, 2007).

2.2.2.2. Klorheksidin

Klorheksidin bir katyonik biguanid'tir ve asetat (diasetat), glukonat (diglukonat) ve hidroklorid tuzları şeklinde bulunur (Russell, 1986) (Şekil 2.5). Klorheksidin'in ana hedefi sitoplazmik zarıdır. İç zarda yoğun hasara ve proteinlerde presipitasyona ve koagülasyona sebep olur (McDonnell and Russell, 1999). Klorheksidin glukonat sulu çözeltilerde % 0,5 ile % 0,75, bazı deterjan preparatlarında ise % 2 ile % 4 oranları arasında kullanılır (Lowbury et al., 1974). Aktivitesi organik madde varlığında büyük ölçüde azalır (Russell, 1986). Ciltte uzun süre kalıcı etkiye sahiptir, oluşturduğu yan etki ve toksisite çok sınırlıdır. Diğer biyosidal maddeler ile (örn. dört değerlikli amonyum bileşikleri, alkoller) kombinasyon halinde kullanılabilir. Klorheksidin, ameliyat öncesi ellere uygulanan cerrahi yıkama solüsyonlarında en fazla kullanılan antimikrobiyal ajandır. Düşük konsantrasyonlarda, < % 0.1, göz içine direkt damlatılarak da kullanılır. pH aralığı 5.5 ile 7 olmadığında etkisi azalır (McDonnell, 2007). Ciltte anyonik yüzey aktif losyon varlığı klorheksidin'in aktivitesini etkisizleştirir (Walsh, 1987).



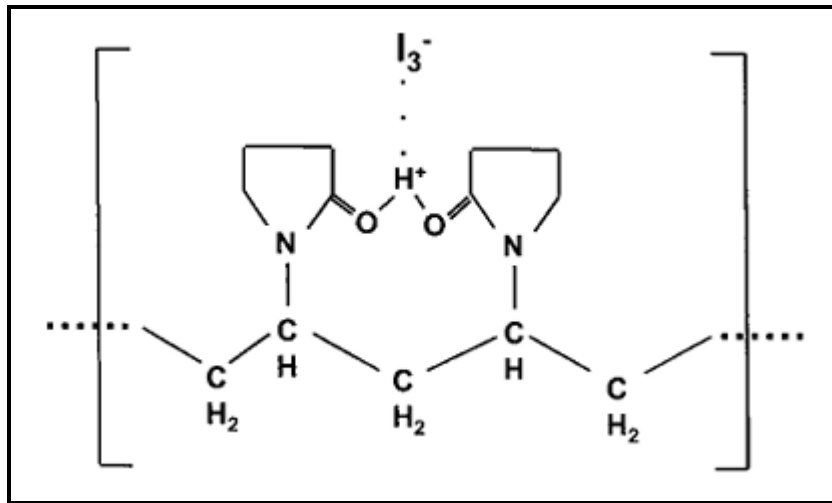
Şekil 2.5. Klorheksidin'in kimyasal yapısı (McDonnell, 2007).

Klorheksidin'in antimikrobiyal aktivitesi dezenfektandaki konsantrasyonuna bağlıdır. Düşük konsantrasyonda, 1µg/ml, bakterilere karşı bakteriyostatik etkilidir (Shaker et al., 1988). 20 µg/ml ve üzeri konsantrasyonlarda ise bakterilere ve mayalara karşı öldürücü etkiye sahiptir (Russell and Day, 1993). Bakteri sporlarına karşı ise aktivitesi yoktur (Shaker et al., 1988). Mikobakteriler üzerine olan etkisi kesin değildir (Best et al., 1988). Çoğu zarflı virüse karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Platt and Bucknall, 1985). Ancak zarfsız virüslere karşı aktivitesi düşüktür (Sattar et al., 1983). Zarflı virüslere olan etkisi, lipid viral zarfta parçalanma şeklindedir (Krillov and Harkness, 1993). Zarfsız virüslerde ise protein kılıf ve nükleik asit kor'u üzerine etkilidir (Sattar et al., 1983).

2.2.2.3. İyodin ve İyodoforlar

İyodin bir halojendir. Halojenler fiziksel olarak farklı ama kimyasal reaksiyon olarak benzer elementler grubudur. Florid, klorin, bromin, ve iyodin bu gruba dahildir. İyodin, kimyasal olarak yüksek derecede elektronegativiteye sahiptir, fiziksel olarak ise oda ısısında ve atmosferik basınçta katı haldedir. Dezenfektan ve antiseptik olarak kullanılır. İyodin organik çözücüler içerisinde (örn: alkol, kloroform) kolayca çözünmesine rağmen suda çok az çözülür. Kimyasal olarak farklı formlarda bulunabilen iyodin'in sadece iki formu antiseptik olarak kullanılır: serbest/moleküler iyodin (I_2) ve hipoyodöz asit (HOI). İyodin çözeltileri, cerrahi el yıkama işlemlerinde ve yanık ve yaraları tedavi edici uygulamalarda kullanılmaktadır (Block, 2000).

İyodin bakterisidal, fungisidal, tüberkülosidal, virüsidal ve sporisidal bir ajandır. Yüz elli yılı aşkın bir süredir antiseptik olarak kullanılmaktadır. İyodin'in sulu çözeltisi kimyasal olarak kararsız olduğundan, ciltte tahriş ve renk bozukluğuna yol açtığından, dezenfektan ve antiseptiklerde yaygın olarak povidon-iyot (PVPI) ve poloxamer-iyot şeklinde iyodofor (iyodin taşıyıcı - iyodin salan ajan) halinde kullanılmaktadır (Şekil 2.6). İyodoforlar, iyodin ve bir çözücü maddeden oluşan, aktif "serbest iyon" deposu olarak davranan komplekslerdir (Block, 2000). İyodofor'da bulunan serbest iyodin miktarı ne kadar fazla ise antimikrobiyal etki o kadar fazla olur. % 10'luk povidon-iyodin, % 1 oranında iyodin içerir (Anderson, 1989). İyodoforlar suda çözünürler, ciltte boya bırakmazlar ve kokuları yok denecek kadar azdır. İyodin solüsyonlarına göre çok daha kararlıdır (McDonnell, 2007).



Şekil 2.6. Povidon-iyot'un kimyasal yapısı (McDonnell, 2007).

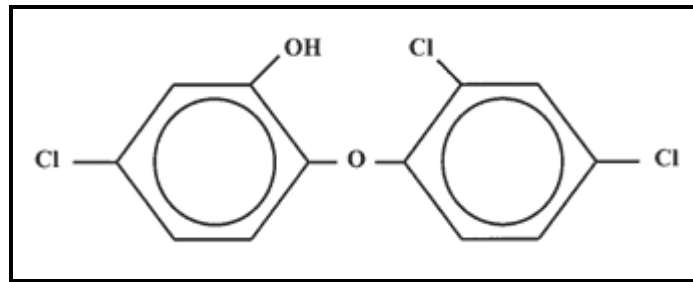
İyodin, düşük konsantrasyonlarda bile çabuk etki gösterir. Hızlıca mikroorganizma içine girer ve önemli protein gruplara, nükleotidlere ve yağ asitlerine etki eder ve sonuçta hücre ölümüne sebep olur (Apostolov, 1980). Zarflı virüslerde yüzey proteinleri ile etkileşime girer. Zarfsız virüsler, zarflı virüslere oranla iyodin ve iyodoforlara daha az duyarlıdır (Block, 2000).

2.2.2.4. Fenolik Bileşikler

Fenolikler, aromatik hidrokarbon halkasına bir veya daha fazla hidroksil grubu bağlanmış olan alkol bileşikleridir. Çeşitli fenolikler yüzey dezenfeksiyonu, antisepsi ve koruyucu olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal özelliklerinin yanında ağrı kesici ve herbisit olarak da kullanılmaktadırlar. Günümüzde cilt dezenfeksiyonunda kullanılan fenolikler genellikle bisfenoller (triklosan, heksaklorofen), kloroksilenol ve salisilik asittir (Regos and Hitz, 1974, Russell and Furr, 1977).

Triklosan, iyonik olmayan, renksiz, bisfenol grubundan bir fenol türevidir (Jones et al., 2000). Bisfenoller, çeşitli köprülerle bağlanmış iki fenolik grubunun hidroksi-halojenlenmesiyle oluşurlar (Block, 2000) (Şekil 2.7). Triklosan, % 0.2 ile % 2 konsantrasyonları arasında antimikrobiyal etki gösterir (Jones et al., 2000). Antimikrobiyal sabunlarda genellikle % 1 oranında bulunur (Kampf and Kramer, 2004). Genelde sağlık personelinin el yıkama solüsyonlarında ve cerrahi el dezenfektanlarında kullanılır (McDonnell, 2007).

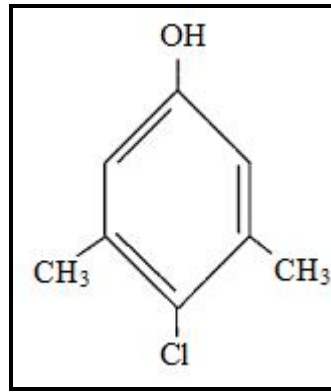
Önceden triklosan'ın bakteri hücre zarına etkili olduğu düşünülmekteydi. Yapılan çalışmalarda, böyle olmadığı ve triklosan'ın yağ sentezinde rol oynayan enzimleri etkisizleştirerek yağ sentezini bloke ettiği gösterilmiştir (McMurry et al., 1998). Triklosan, ciltte uzun süre kalıcı etki gösterir. Ciltte nemlendirici, yumuşatıcı ve yüzey aktif madde varlığında etkisi zayıflar (Jones et al., 2000).



Şekil 2.7. Triklosan'ın kimyasal yapısı (McDonnell, 2007).

Triklosan düşük konsantrasyonlarda bakteriyostatik, yüksek konsantrasyonlarda ise bakterisidal etki göstermektedir (Vischer and Regos, 1974). Gram pozitif bakterilere olan etkinliği, gram negatiflerinkinden daha fazladır. (Jones et al., 2000). Mikobakterilere ve dermatofitlere kısıtlı etkiye sahipken, mayalara daha iyi etki gösterir (Kampf and Kramer, 2004).

Kloroksilenol, paraklorometaksilenol olarak da bilinir, halojenlenmiş fenolik bir bileşiktir (Şekil 2.8). Dezenfektan ve antiseptik olarak kullanılır. Kloroksilenol özellikle hem yüksek riskli (örn: cerrahi el dezenfeksiyonu) hem de genel kullanım alanlarında (örn: antimikrobiyal sabun) tercih edilen sabun temelli el yıkama solüsyonlarında tercih edilir. Diğer fenolik bileşiklerle ve alkollerle kombinasyon halinde ve % 0.5 ile % 4 konsantrasyonları arasında kullanılır. Derinin epidermis tabakasına tutunmasına rağmen, göstermiş olduğu çok düşük tahriş ve toksisite dolayısıyla antiseptik olarak kullanılabilir (Kampf and Kramer, 2004).



Şekil 2.8. Kloroksilenol'ün kimyasal yapısı

Kloroksilenol, bakteriyel enzimleri inaktive ederek ve hücre duvarını hasara uğratarak etkisini gösterir (Boyce and Pittet, 2002). Hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere bakterisidal etkilidir. Maya ve bazı küflere karşı da geniş etki mekanizmasına sahiptir. Lipid zarfı hasara uğrattığından zarflı virüslere karşı antimikrobiyal etki göstermektedir. Bazı zarfsız virüslere karşı etkin olduğu da gösterilmiştir (McDonnell, 2007).

2.2.2.5. Diğer kimyasallar

Dört değerlikli amonyum bileşikleri (QAC) en iyi bilinen antimikrobiyal etkili ajandır. Kontak lens dezenfektanı, hastane dezenfektanı, genel antiseptik, kozmetik gibi alanlarda kullanılır. En sık kullanılanlar benzalkonyum klorid, benzotonyum klorid ve setilpridinyum kloridtir (Caillier et al., 2009).

Oksitleyici ajanlar, mikroorganizmaların proteinlerini ve lipidlerini denatüre ederek etki gösteren geniş spektrumlu ajanlardır. Hidrojen peroksit yaraların temizliğinde kullanılan, doku veya kan ile bir araya geldiğinde su ve oksijene parçalanarak etki gösteren, renksiz ve kokusuz bir antiseptiktir (Wasserbauer et al., 2008).

2.2.3. Kullanım Alanları

2.2.3.1. Cilt Hijyeni

Cilt, özellikle el hijyeni patojen mikroorganizmaların kişiden kişiye geçişini engellemek için son derece önemlidir. Antimikrobiyal el yıkama solüsyonları ve cilt losyonları ciltte bulunan mikroorganizma sayısını önemli ölçüde düşürür. Hastanelerde, ameliyathanelerde, diğer sağlık kuruluşlarında ve gıda işletmelerinde ellerin hijyenik olması son derece önemlidir. Birçok çalışmada kontamine eller ile patojen mikroorganizmaların taşınabileceği, farklı kombinasyonlarda ve konsantrasyonlarda biyosid içeren antiseptiklerin de bu patojen mikroorganizmaların taşınma riskini düşürdüğü gösterilmiştir (Casewell and Phillips, 1977, Doring et al., 1991, Hall et al., 1980). En sık kullanılan el antiseptikleri alkollerdir (McDonnell, 2007).

2.2.3.2. Cerrahi Müdahale Öncesi Cilt Antisepsisi

Ameliyat öncesi hasta cildinin antisepsisi, ameliyat esnasında ciltteki potansiyel patojen mikroorganizmaların girişini ve cerrahi alan enfeksiyonlarını azaltmada önemlidir. Bu amaçla biyosidler povidon-iyot solüsyonları ve klorheksidin kullanılır. Cerrahi el antisepsisi ellerdeki geçici ve kalıcı mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek için uygulanan ameliyat öncesi bir işlemdir. Klorheksidin, triklosan ve kloroksilenol en sık kullanılan dezenfektanlardır (Ayliffe, 1984).

2.2.3.3. Deri ve Yara Enfeksiyonları Tedavisi

Çeşitli biyosidler yaralı bölgeleri temizlemek suretiyle deri enfeksiyonlarını önlemede ve tedavi etmede sıklıkla kullanılmaktadırlar. Bu gibi işlemlerdeki amaç iyileşme sürecini olumsuz şekilde etkilemeden ve dokuya zarar vermeden yara etrafındaki mikrobiyal popülasyonu düşürmektir. Hidrojen peroksit'in % 3 - % 6'lık solüsyonları veya kremleri, enfekte yarayı temizlemede veya bir yaralanmayı takiben deride oluşabilecek enfeksiyonları önlemede kullanılmaktadır. Hekzaklorofen, triklosan ve triklorofenol gibi çeşitli fenolikler de yaraları iyileştirmede etkilidirler (Ayliffe, 1984).

2.2.3.4. Ağız ve Diğer Mukozaların Tedavisi

Çok sayıda biyosid oral ve ürogenital bölge gibi hassas müköz membranların tedavisinde kullanılmaktadır. Diş eti iltihabı, ülser ve boğaz enfeksiyonları gibi bazı özel enfeksiyonları tedavi etmede veya önlemede tercih edilmektedirler. Ağız çalkalama solüsyonları çeşitli formülasyonlarda QAC, klorheksidin, hidrojen peroksit ve PVPI içerebilirler. Düşük konsantrasyonda hidrojen peroksit ve klorheksidin içeren solüsyonlar direkt olarak göze uygulanabilir (Budtz-Jorgensen and Loe, 1972).

2.2.3.5. Antiseptik İçeren Malzemeler

Biyosidler çeşitli polimerlere, tekstil ürünlerine ve diğer materyallere emdirilebilirler. Bunlar cilt ve müköz membranlar ile temas halinde olan kateterler ve iğneler gibi tıbbi cihazlar, kıyafetler, yara üzerinde uzun süre kalan materyaller ve ameliyat esnasında kullanılan cerrahi elbise ve örtüleri içerir. Triklosan, gümüş, gümüş sülfadiazin ve klorheksidin bu amaçla kullanılan biyosidlerdir. Bu uygulamaların yara ve kalıcı tıbbi cihaz enfeksiyonlarını önlemede etkili oldukları gösterilmiştir. Bu biyosidlerin polimer ile direkt birleştirilmesi veya çeşitli yüzey veya maddelere emdirilmesi ile antimikrobiyal yüzeyler geliştirilmiştir (McDonnell, 2007).

2.2.4. Nozokomiyal Enfeksiyonlarda El Antisepsisinin Rolü

Alkol temelli el losyonlarının rutin hasta bakımında kullanılması yıllar içerisinde artarak devam etmektedir. Bu durum el hijyeni uygunluğu oranlarını % 48'den % 66'ya

yükseltirken, aynı zamanda nozokomiyal enfeksiyon oranlarının % 16.9'dan % 9.9'a düşmesini sağlamıştır (Pittet et al., 2000). Bazı hastalıklarda bu oranlar daha belirgin şekilde düşüş göstermektedir. Bir hastanede 10 ay boyunca alkol temelli el losyonlarının kullanıldığı ve bunların kullanımına bağlı olarak üriner sistem ile cerrahi alan enfeksiyonları oranlarındaki değişimin izlendiği bir araştırmada, bu iki hastalığın insidansında % 36'lık bir düşüş olduğu gözlenmiştir (Hilburn et al., 2003). Etken mikroorganizmalar dikkate alındığında ise enfeksiyon görülme oranları farklı miktarlarda düşüş göstermektedir. Yılda ortalama 1000 enfeksiyonun tedavi edildiği bir hastanede etanol temelli el jelleriyle yapılan bir çalışmada, *Clostridium difficile* kaynaklı ishal olguları oranının % 1,15'ten % 0,95'e düştüğü, aynı zamanda hastane kökenli metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) insidansının da % 50'den %39'a gerilediği gösterilmiştir (Gopal Rao et al., 2002). Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde etanol temelli el dezenfektanlarıyla yapılan diğer bir çalışma, 3 aylık bir süreçte olgu başına düşen % 2,15 *Klebsiella pneumoniae* enfeksiyonu sayısının % 0,47'ye düştüğünü belirtmektedir. Aynı çalışmada *Enterococcus faecium* ve *Candida albicans* oranında da düşüş olduğu gösterilmiştir (Brown et al., 2003). Sağlık çalışanlarının ve 63 hastanın etkilendiği bir çalışmada, Norovirüs kaynaklı gastroenterit salgınının %95'lik etanol içeren el losyonu ile kontrol altına alındığı belirtilmiştir (Khanna et al., 2003).

Antimikrobiyal sabunların nozokomiyal enfeksiyon üzerine etkilerini gösteren çok az çalışma mevcuttur. Yoğun bakım ünitesinden izole edilen *Klebsiella spp.* izolatlarının enfeksiyon oranı ve kolonizasyonu 3 yıl boyunca takip edilmiş, yıllık oranlar 1972 yılında % 22, 1973 yılında % 22,6 ve 1974 yılında % 15,5 şeklinde bulunmuş ve son yıldaki bu düşüş klorheksidin içeren sabun kullanımına bağlanmıştır (Casewell and Phillips, 1977). Yapılan diğer bir çalışmada ise personelin basit el yıkama yerine antiseptik el yıkama prosedürünü uygulaması sonucunda nozokomiyal enfeksiyon oranının düştüğü gösterilmiştir (Maki, 1989). Bazı araştırmacılar, el yıkama esnasında antimikrobiyal sabunların kullanımının hastane kökenli MRSA'un yayılmasını düşürdüğünü belirtmişlerdir (Webster et al., 1994).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Solüsyonların ve Besiyerlerinin Hazırlanması

3.1.1. Standart Sertlikte Su

Etken maddelerin sulandırılması esnasında standart sertlikte su kullanıldı (Standardization, 2011).

A solüsyonu: 4,236 g magnezyum klorid altı hidrat ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) ve 6,125 g kalsiyum klorid iki hidrat ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) 100 ml distile su içerisinde çözüldü. Otoklavda steril edildi.

B solüsyonu: 0,3502 g sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$) 10 ml distile su içerisinde çözüldü. Membran filtrasyon yöntemi ile steril edildi.

Standart sertlikte 100 ml su hazırlamak için, 60 ml steril distile su üzerine A solüsyonundan 0,6 ml ve B solüsyonundan 0,8 ml ilave edildi, karıştırıldıktan sonra distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Bir normal (N) sodyum hidroksit (NaOH) ve 1 N hidroklorik asit (HCl) ile pH 7,0'a ayarlandı ve filtre ile steril edildi. Hazırlanan bu su 24 saat içinde kullanıldı.

3.1.2. Dulbecco's Modified Eagle's Medium + %2 FBS

Dokuz bin sekiz yüz mililitre Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Biochrome AG, Almanya) üzerine 200 µl FBS ilave edildi. Çalışmalar boyunca buz üzerinde tutuldu. Bu karışım çalışma esnasında yapılan 10 katlık seyreltmelerde kullanıldı.

3.1.3. Fosfat Tamponlu Tripsin / Versene

Solüsyon Çizelge 3.1'e göre hazırlandı.

Çizelge 3.1. Fosfat tamponlu tripsin / versene hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarları.

Karışım	Kimyasal	Miktar (g/l)
A karışımı	NaCl	8.0
	KCl	0.2
	Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O	2.37
	KH ₂ PO ₄	0.2
B karışımı	Titriplex III	1.0
C karışımı	Tripsin	1.25

A, B ve C karışımları steril cam malzemelerde ayrı ayrı hazırlandıktan sonra birleştirildi ve manyetik karıştırıcıda 1 saat boyunca karıştırıldı. pH 7.3'e ayarlandıktan sonra 0.2 mm por çapındaki filtreden geçirilerek steril edildi.

3.1.4. Penisilin / Streptomisin (100x)

İçerisinde toz halde antibiyotik bulunan flakonlara (Biochrome AG, Almanya) üreticinin önerisi doğrultusunda 5'er ml enjeksiyonluk su ilave edildi. İyiçe çözülmesi beklendikten sonra tüplere 500'er µl pipetlenerek -80°C'de (Sanyo, Japonya) muhafaza edildi.

3.1.5. Hücre Pasajları İçin Besiyerlerinin Hazırlanması

3.1.5.1. Hücre çözme besiyeri

Fötal Dana Serum (FBS) (Biochrome AG, Almanya) kullanılmadan önce +56°C'de 30 dakika bekletilerek inaktive edildi. FBS'un eklendiği tüm solüsyonlarda inaktive edilen bu FBS kullanıldı.

Sıvı azotta saklanan hücrelerin çözülmesi esnasında kullanmak üzere % 80 DMEM + % 20 FBS (Biochrome AG, Almanya) içeren besiyeri hazırlandı. Toplam 20 ml hacimde hücre çözme besiyeri hazırlamak için 50 ml'lik tüp içerisine 16 ml DMEM ve 4 ml FBS koyuldu.

3.1.5.2. Hücre pasaj besiyeri

Üreyen hücrelerin pasajlanması için % 90 DMEM + % 10 FBS + % 1 L-Glutamin (200 mM) (Biochrome AG, Almanya) + % 1,4 Penisilin/Streptomisin (100x) içeren besiyeri hazırlandı. Toplam 20 ml hacimde hücreleri pasajlamak amacıyla besiyeri hazırlamak için 50 ml'lik tüp içerisine 18 ml DMEM, 2 ml FBS, 0,2 ml L-Glutamin ve 0,28 ml Penisilin/Streptomisin koyuldu.

3.1.5.3. Hücre saklama besiyeri

Hücrelerin daha sonraki işlemlerde kullanılmak üzere saklanması için % 90 FBS + % 10 dimetilsülfoksit (DMSO) (AppliChem, Almanya) içeren besiyeri hazırlandı. Toplam 2 ml hacimde hücre saklama besiyeri hazırlamak için vida kapaklı tüp içerisine 1,8 ml FBS ve 0,2 ml DMSO koyuldu.

3.1.5.4. Virüs üretme besiyeri

Virüsün hücrelere adsorbe edilmesinden sonra, kültür ortamına % 2 FBS içeren hücre pasaj besiyeri eklendi. Bunun için % 98 DMEM + % 2 FBS + % 1 Penisilin/Streptomisin ve % 1,4 L-Glutamin içeren besiyeri hazırlandı.

3.2. Hücrelerin Çoğaltılması

3.2.1. Hücrelerin Çözülmesi ve Ekim İşlemi

A549 İnsan Akciğer Kanseri Hücreleri (CCL-185; American Type Culture Collection, ATCC, Amerika Birleşik Devletleri) sıvı azottan çıkarılarak önceden +37°C'ye ayarlanmış su banyosunda (Nüve, Türkiye) çözüldü. Çözülen hücreler +37°C'de ısıtılmış 10 ml çözme besiyeri içeren tüp içerisine damla damla bırakıldı. Tüp, soğutmalı santrifüjde (Awel, Fransa) +4°C'de 1800 x g'de 5 dakika santrifüj edildi. Dipteki hücreler üzerindeki üst faz uzaklaştırıldı. Hücreler üzerine tekrar 10 ml çözme besiyeri ilave edildi. Süspansiyon edilen hücreler bir kez daha 1800 x g'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan üst faz uzaklaştırıldı. Pasaj besiyerinden 2 ml alınıp hücreler üzerine bırakıldı ve pipetaj yapılarak hücreler süspansiyon edildi.

Hücre pasaj besiyerinden 5'er ml alınarak 25 cm²'lik hücre kültür flasklarına (Greiner Bio-One, Almanya) bırakıldı. Süspansiyon edilen hücrelerden 1'er ml alınıp içerisinde 5 ml besiyeri bulunan flasklara damla damla ilave edildi. Flasklar % 5 CO₂ içeren +37°C'lik etüvde (MCO-18AIC, Sanyo, Japonya) inkübasyona bırakıldı.

3.2.2. Hücrelerin Pasajlanması

Saklamadan çıkartılıp canlandırma için inkübasyona bırakılan hücreler 24 saat sonra etüvden çıkartılıp inverted mikroskopta (Leica, Almanya) 10x'lik büyütmede incelendi. Hücreler flask yüzeyini tam olarak kaplayana kadar (tam tabaka görünüm) inkübasyona devam edildi. İstenilen görüntü elde edildikten sonra hücre pasaj işlemine geçildi.

Flasklar % 70'lik etil alkol (EtOH) ile silindikten sonra kabin (Clean Air Technik, Woerden, Hollanda) içine alındı. Flask içindeki besiyeri hücrelerin yapışık olmadığı taraftan döküldü. Hücreler bir miktar Phosphate Buffered Saline (PBS) (Biochrome AG, Almanya) ile yıkandıktan sonra, flask yüzeyinden kaldırılması için üzerlerine 1 ml tripsin solüsyonu eklendi ve +37°C'lik etüvde (MIR-162, Sanyo, Japonya) 5 dakika bekletildi. Sonra üzerlerine FBS içeren pasaj besiyerinden 2 ml eklendi ve pipetleme yapılarak hücrelerin flask yüzeyinden iyice ayrılması sağlandı. Pipet yardımıyla toplanan hücreler tüp içerisine alındı ve 1800 x g'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst faz atıldıktan sonra dipteki hücreler üzerine 5 ml PBS eklenerek süspansiyon edildi ve tekrar 1800 x g'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst faz tekrar atıldıktan sonra hücreler 1 ml pasaj besiyeri ile süspansiyon edildi.

Eldeki hücre sayısının belirlenmesi için Thoma lamı (Witeg, Almanya) ile sayım yapıldı. Hücreleri sayılabilecek miktara seyreltmek için 1 ml'lik hücre süspansiyonundan 50 µl alınıp üzerine 450 µl PBS eklenerek 10 kat sulandırma yapıldı. Bu karışımdan 50 µl alınıp üzerine 50 µl % 0,4'lük trypan mavisi boyası eklendi ve karıştırıldı. Bu karışımdan bir miktar alınıp Thoma lamı ile lamel arasına kenardan bırakıldı. Kapiller kuvvet ile yeterli miktar sıvının lam-lamel arasına girmesi sağlandıktan sonra 10x'lik objektifte iki farklı 1mm²'lik alanın sayımı yapıldı. Çıkan sayılar toplanıp ikiye bölünerek ortalama hücre sayısı hesaplandı. Aşağıdaki formüller kullanılarak elimizdeki toplam canlı hücre sayısı belirlendi:

n: Bir mililitredeki hücre sayısı

n= Ortalama hücre sayısı x seyreltme katsayısı (20) x 10⁴

Toplam hücre sayısı belirlendikten sonra $2 \times 10^3 - 1 \times 10^4$ canlı hücre / cm^2 olacak şekilde seyreltilen hücreler, içerisine 20 ml pasaj besiyeri koyulan 75 cm^2 'lik flaslara eklendi. Flasklar % 5 CO_2 içeren $+37^\circ\text{C}$ 'lik etüvde inkübasyona bırakıldı. Hücreler flask yüzeyini % 80 oranında kaplayana kadar inkübe edildi, daha sonra bu hücrelere de pasaj protokolü uygulanarak eldeki hücre miktarı arttırıldı.

3.2.3. Hücrelerin Saklamaya Alınması

Eldeki hücreler yeteri kadar çoğaltıldıktan sonra sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere saklamaya alındı. Hücrelerin 75 cm^2 'lik flask yüzeyini kapladığı gözlemlendikten sonra kabin içine alındı. Hücre kültür sıvısı boşaltıldıktan sonra hücreler PBS ile yıkandı. İki ml tripsin eklendikten sonra 2 -3 dakika etüvde bekletildi. Etüvden çıkarılan flaskın kenarına hafifçe vurularak hücrelerin yüzeyden iyice kalkması sağlandı. Hücre pasaj besiyerinden 4 ml eklendikten sonra pipetaj yapılarak hücreler duvardan iyice çözüldü. Tüm sıvı toplanarak 15 ml tüp içerisine bırakıldı ve $1800 \times \text{g}$ 'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı uzaklaştırıldıktan sonra 5 ml PBS eklenerek hücreler resüspanse edildi ve tekrar $1800 \times \text{g}$ 'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı atıldıktan sonra hücreler üzerine bir miktar PBS ilave edilerek resüspanse edildi. Bu sıvıdan bir miktar alınıp hücre sayım işlemi gerçekleştirildi. Mililitrede $5 - 6 \times 10^6$ hücre olacak şekilde seyreltilen hücreler, 15'lik tüplere alınıp $1800 \times \text{g}$ 'de 5 dakika santrifüj edildi. Dipteki hücreler üzerine 1 ml hücre saklama besiyeri ilave edilerek hücreler süspanse edildi. Tüm sıvı dondurma işlemine dayanıklı tüp (cryotüp) içerisine alınıp etiketleme yapıldı. Dakikada 1°C ısı düşüşü sağlayarak hücrelerin hasar görmeden saklanmasını sağlayan hücre soğutma kabı (Nalgene, Thermo Fisher Scientific, Amerika Birleşik Devletleri) içerisinde -80°C 'lik soğutucuda bir gün bekletilen tüpler bir gün sonra sıvı azot tankına kaldırıldı.

3.3. Virüslerin Çoğaltılması

Çalışmada kullanılan insan AdV serotiplerinden insan AdV-19 ve insan AdV-37 ATCC'dan temin edildi. Kuru buz içerisindeki hücrelerde taşınan virüsler önce $+37^\circ\text{C}$ 'lik su banyosunda çözüldü, sonra sıvı azot içerisinde tekrar donduruldu. Bu dondurma - kırma işlemi üç kez tekrarlandı ve hücreler bu şekilde parçalanarak virüslerin hücre dışına çıkması sağlandı. Tüpler $3000 \times \text{g}$ 'de 30 dakika santrifüj edildi.

Daha önceden pasajları yapıp tam tabaka hale getirilen A549 hücrelerinin üzerindeki besiyerleri döküldü, bir miktar PBS eklenerek 2 kez yıkandı. Santrifüj sonunda virüs içeren üst faz toplanarak A549 hücreleri üzerine yavaşça bırakıldı. Flasklar virüslerin hücrelere adsorbe olması için +37°C’de 2 saat inkübe edildi. Bu iki saat süresince her 15 dakikada bir flasklar hafifçe sallanarak virüslerin homojen olarak yayılması sağlandı. İnkübasyon sonunda her flaska 15 ml virüs üretim besiyeri ilave edilerek % 5 CO₂ içeren +37°C’lik etüvde inkübasyona bırakıldı. AdV’ün hücreler üzerindeki SPE görülüne kadar (genellikle 10 gün) inkübasyona devam edildi.

SPE görülüp hücrelerin yüzeyden kalkmaya başlamasından sonra flask kenarına hafifçe vurularak tüm hücrelerin yüzeyden kalkması sağlandı. Yüzeyden kalkmayan hücreler hücre kazıyıcısı ile flask yüzeyinden kaldırıldı. Pipet yardımıyla toplanan kültür sıvısı 15 ml’lik tüplere alındı, 1800 x g’de 5 dakika santrifüj edildi. Üst faz ayrı tüplere alınıp -80 °C’ye saklamaya alındı. Dipte kalan hücre pelleti üzerine 1 ml PBS ilave edilip pipetaj yapıldı. Hücreler sıvı azot içerisinde dondurulduktan sonra +37°C’lik su banyosunda çözdürüldü. Bu işlem 3 kere tekrarlanarak hücrelerin parçalanıp virüslerin hücre dışına çıkması sağlandı. Oluşan süspansiyon, hücre artıklarının çöktürülmesi için +4°C’ye ayarlanmış santrifüjde 8000 x g’de 10 dakika santrifüj edildi. Virüslerin bulunduğu üst fazlar toplandı ve yeni üremiş tam tabaka halindeki A549 hücre dizileri üzerine tekrar inoküle edildi. Virüs pasajlama işlemi antiseptik maddeler ile çalışılacak güne kadar tekrarlandı ve virüs miktarı arttırıldı.

3.4. Virüslerin Miktarının Belirlenmesi

Çalışmada kullanılacak olan insan AdV-19 ve insan AdV-37 virüslerinin miktarlarının deneyler esnasında belli bir sayıda olması gerekmektedir. Standart olarak 10⁸ TCID₅₀/ml olması önerilmekle birlikte, logaritmik olarak 4 birimlik düşüşü gösterebilecek bir virüs miktarı da kabul edilmektedir. Eldeki virüs miktarının belirlenmesi için “Son Nokta” yöntemi kullanılarak Doku Kültürün Yarisını Enfekte Eden Doz (50% Tissue Culture Infective Dose) (TCID₅₀) değeri hesaplandı.

Bunun için her bir virüs için 96 kuyucuklu düz tabanlı hücre kültür ortamları (Greiner Bio-One, Almanya) kullanıldı. Daha önceden pasajı yapıp tam tabaka hale getirilen A549 hücreleri flask yüzeyinden kaldırıldı ve hücre sayımı yapıldı. Hücre pasaj besiyeri kullanılarak mililitresinde 50.000 hücre olacak şekilde seyreltilen hücrelerden 96 kuyucuklu hücre kültür ortamının her bir kuyusuna 100’er µl ekim yapıldı. (Her kuyucuğa

5.000 hücre inoküle edildi.). Hücreler yüzeyi tamamen kaplayana kadar % 5 CO₂'li ortamda +37°C'de inkübe edildi.

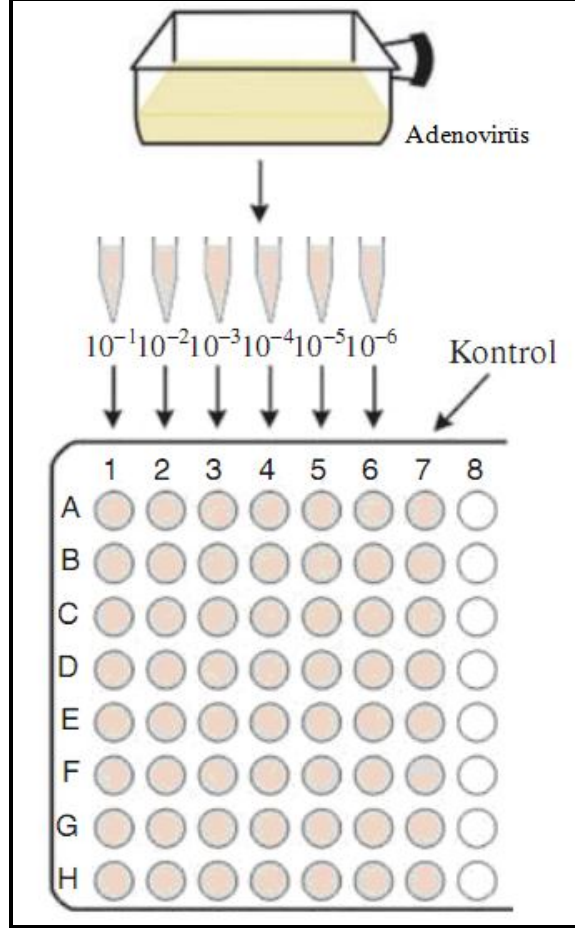
Analiz esnasında kullanılmak üzere daha önceden 75'lik kültür flasklarına ayrı ayrı ekimi yapılan virüslerin hücreler üzerindeki SPE'leri görüldükten hemen sonra toplama işlemi gerçekleştirildi. SPE görülüp hücrelerin yüzeyden kalkmaya başlamasından sonra flaskların kenarına hafifçe vurularak tüm hücrelerin yüzeyden kalkması sağlandı. Yüzeyden kalkmayan hücreler tek kullanımlık plastik hücre kazıyıcısı ile flask yüzeyinden kaldırıldı. Pipet yardımıyla toplanan kültür sıvıları 15 ml'lik tüplere alındı, 1800 x g'de 5 dakika santrifüj edildi. Üst fazlar ayrıldıktan sonra hücreler 5 ml soğuk PBS ile süspanse edildi ve tekrar santrifüj edildi. Üst fazlar tekrar uzaklaştırıldıktan sonra dipte oluşan hücre pelletleri üzerine 1'er ml PBS ilave edilip pipetaj yapıldı. Hücreler sıvı azot içerisinde dondurulduktan sonra +37°C'lik su banyosunda çözdürüldü (Şekil 3.1). Bu işlem 3 kere tekrarlanarak hücrelerin parçalanıp virüslerin hücre dışına çıkması sağlandı. Oluşan süspanسیون, hücre artıklarının çöktürülmesi için +4°C'ye ayarlanmış santrifüjde 8000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Virüslerin bulunduğu üst fazlar ayrı tüplere alındı. % 2 FBS içeren DMEM ile eldeki bu stok virüsten 10'ar katlık dilüsyonlar hazırlandı (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, ... 10⁻⁸).



Şekil 3.1. Hücre dondurma-kırma işlemleri

Hücre kültür ortamında tam tabaka hale gelmiş hücreler üzerindeki besiyerleri pipet yardımıyla toplandı. Hazırlanan virüs sulandırmalarından 50'şer µl alınarak, hücre kültür ortamındaki hücreler üzerine her bir (1 - 11) sütundaki 8 adet kuyuya (A - H) aynı dilüsyon

gelecek şekilde inoküle edildi (Şekil 3.2). İki saatlik adsorbsiyon süresi sonunda kuyulardaki sıvılar üzerine 50'şer µl virüs üretim besiyeri ilave edilerek inkübasyona bırakıldı. Hücrelerde SPE görülene kadar inkübasyona devam edildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.2. TCID₅₀ değeri hesaplanması için virüs sulandırmalarının hücreler üzerine inokülasyonu (Carter and Saunders, 2007).



Şekil 3.3. A. Virüs sayım işlemi; B. Hücrelerin inkübasyonu

Doksan altı kuyucuklu kültür ortamında SPE oluşumu görüldükten sonra tüm kuyucuklar kontrol edildi. Her bir dilüsyon için SPE görülen ve görülmeyen kuyular belirlendikten sonra Spearman - Karber Metodu'na göre TCID₅₀ değeri hesaplandı.

3.5. Antiseptiklerin Etkinliğinin Araştırılması

Bu çalışmada antiseptiklerin bazı Adenovirüs serotipleri üzerindeki etkinliğini test etmek amacıyla temel olarak European Standard 14476 standartları uygulanmıştır (Standardization, 2011).

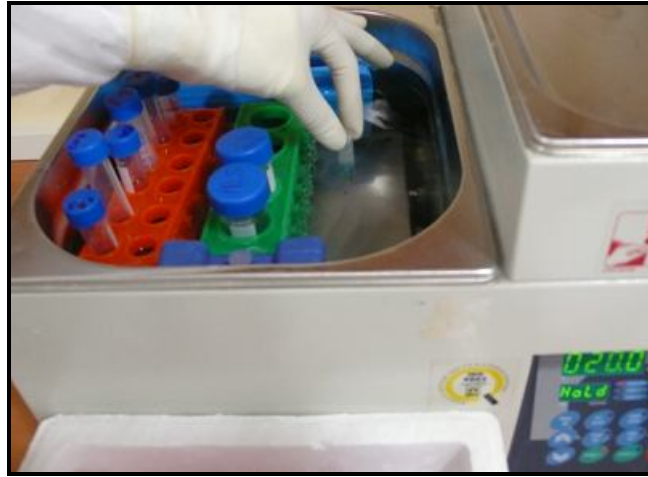
A549 hücreleri 96 kuyucuklu düztabanlı hücre kültür ortamlarında üretildi. Tam tabaka görünüm oluşuktan sonra diğer işlemlere geçildi. Deney esnasında iki adet (İnsan AdV-19 ve insan AdV-37) virüs serotipi ile çalışıldı.

Çalışmaya başlamadan önce su banyosu +20°C'ye ayarlandı ve istenen sıcaklığa gelmesi beklendi. Çalışmada kullanılacak tüm sıvı malzemeler (dezenfektan etken maddeleri, sert su, FBS) çalışma boyunca +20°C'de bekletildi. Bir köpük içerisine kırık buz koyuldu. Hazırlanan DMEM + % 2 FBS karışımları, çalışma boyunca buz üzerinde bekletildi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Kullanılan sıvılar çalışma esnasında uygun sıcaklıklarda bekletildi.

Dezenfektanların virüsler üzerine farklı sürelerdeki etkileri $+20\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta çalışıldı. Karışım hazırlandıktan hemen sonra vorteks cihazı ile iyice karıştırıldı ve ardından $+20\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'lik su banyosunda bekletildi. İlgili süre sonunda hemen işlemi yapılan karışım, bir sonraki etki süresi işlemine kadar tekrar su banyosunda bekletildi (Şekil 3.5).

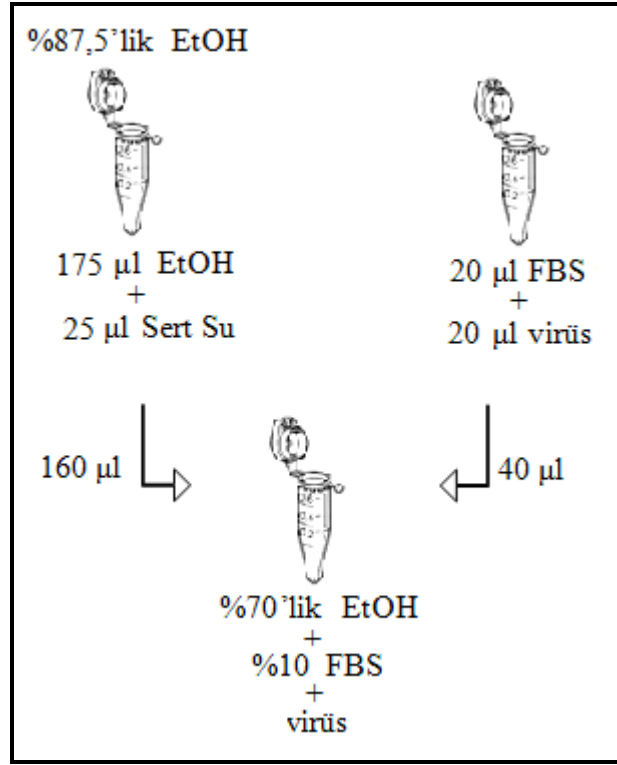


Şekil 3.5. Karışımın $+20^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilmesi.

3.5.1. Virüslere % 70 EtOH'ün etkisinin araştırılması

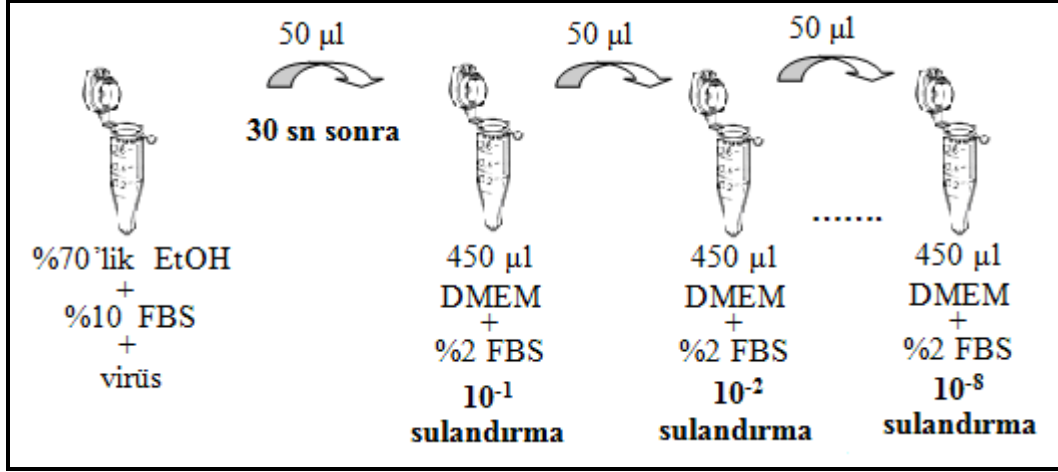
Bir tüp içerisine 175 μl EtOH ve 25 μl sert su karıştırılarak % 87,5'lik EtOH hazırlandı. Bu karışımdan 160 μl alınarak ayrı bir tüpe koyuldu. Farklı bir tüpte de 20 μl FBS ve 20 μl virüs süspansiyonu karıştırıldı. Bu karışımın hepsi alınıp, 160 μl 'lik EtOH

üzerine bırakıldı. Böylece 200 µl toplam hacimde, içerisinde % 70 oranında EtOH, % 10 FBS ve virüs bulunan solüsyon elde edildi (Şekil 3.6). Karışım vorteks cihazı ile iyice karıştırıldıktan sonra +20°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletildi. Daha sonra sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi.



Şekil 3.6. % 70 EtOH için karışım hazırlanması

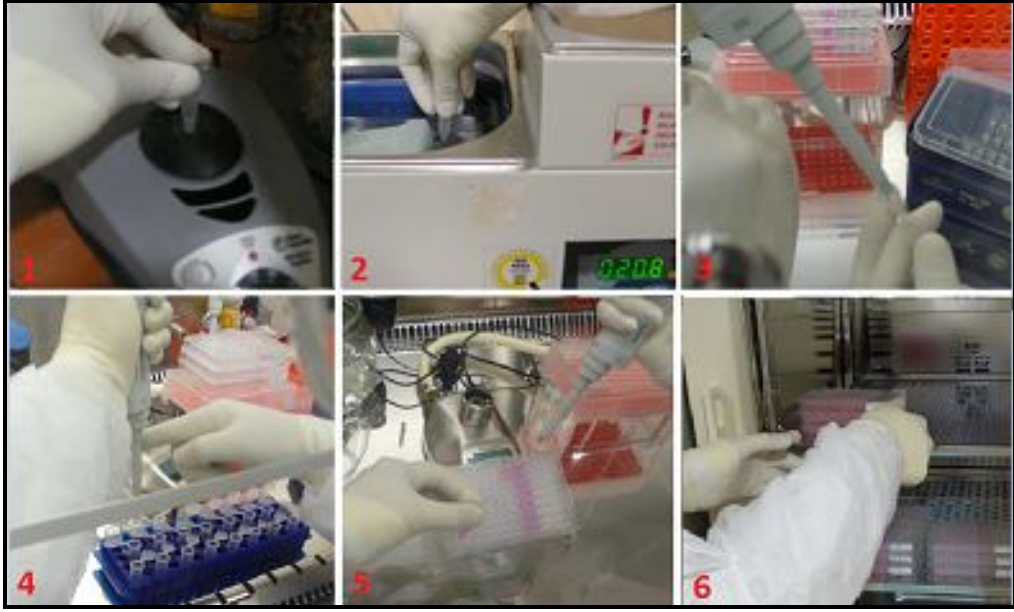
Mikrosantrifüj tüpleri içerisine 450 µl hacimde soğuk DMEM + % 2 FBS koyuldu. Yukarıda hazırlanışı tarif edilen 200 µl'lik solüsyondan, tüp içerisine virüs eklenmesinden 30 saniye sonra 50 µl sıvı çekilerek, içerisinde DMEM bulunan mikrosantrifüj tüpüne bırakıldı. Böylece 30 saniye sonra etanol'ün etkinliği durdurulmuş oldu (Chang et al., 2013). İlk hazırlanan 200 µl'lik sıvının 10^{-1} 'lik sulandırması da böylece yapılmış oldu. 10^{-1} 'lik sulandırma tüpünden 50 µl sıvı çekilip 450 µl soğuk DMEM bulunan tüp içerisine bırakılarak 10^{-2} 'lik sulandırma; bu tüpten de 50 µl alınıp 450 µl soğuk DMEM içeren diğer tüpe bırakılarak 10^{-3} 'lük sulandırma yapıldı. Bu işlem 10^{-8} 'lik sulandırma elde edilene kadar devam edildi (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. EtOH'ün etkisinin 30 saniye sonra durdurulması ve seyreltme işlemi

Sulandırma işlemi bittikten hemen sonra virüs miktarındaki değişimin sayısal olarak hesaplanması için TCID₅₀ değeri hesaplaması işlemine geçildi. 10⁻¹ sulandırma oranından 50'şer µl alınıp, 96 kuyucuklu hücre kültür ortamının 1 numaralı sütununun (A-H) kuyucuklarına; 10⁻² sulandırma oranından 50'şer µl alınıp 2 numaralı sütunun (A-H) kuyucuklarına; 10⁻³ sulandırma oranından 50'şer µl alınıp 3 numaralı sütunun kuyucuklarına bırakıldı. Bu işlem tüm sulandırma oranlarına uygulandı.

Tüm sulandırma oranlarına ait inokülasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra hücre kültür ortamı, virüslerin hücelere adsorbsiyonu için 1 saat % 5 CO₂ içeren +37°C'lik etüvde inkübe edildi. Bir saat sonrasında tüm kuyucuklara 50 µl virüs üretme besiyeri ilave edildi ve aynı ortamda inkübasyona bırakıldı (Şekil 3.8). Hücreler 10 gün boyunca her gün SPE görünümü bakımından kontrol edildi. Onuncu günün sonunda her dilüsyon için SPE görülen ve görülmeyen kuyular belirlendikten sonra Spearman - Karber Metodu'na göre TCID₅₀ değeri hesaplandı.



Şekil 3.8. Karışıma uygulanan işlemler 1. Vorteksleme 2. +20°C’de bekletme 3. Nötralizasyon 4. Seyreltme 5. Hücrelere ekim 6. İnkübasyon

Yukarıda hazırlanışı tarif edilen 200 µl’lik solüsyondan, tüp içerisine virüs eklenmesinden 60 saniye sonra 50 µl sıvı çekilerek, içerisinde soğuk DMEM bulunan mikrosantrifüj tüpüne bırakıldı. Böylece 60 saniye sonra etanol’ün etkinliği durdurulmuş oldu. Bu aşamadan sonra, yukarıda anlatılan işlemler tekrar yapıldı.

Hazırlanan 200 µl’lik solüsyondan, tüp içerisine virüs eklenmesinden 120 saniye sonra 50 µl sıvı çekilerek, içerisinde DMEM bulunan mikrosantrifüj tüpüne bırakıldı. Böylece 120 saniye sonra etanol’ün etkinliği durdurulmuş oldu. Bu aşamadan sonra, yukarıda anlatılan işlemler tekrar yapıldı.

3.5.2. Virüslere % 70 EtOH + % 0,5 CHDG’ın etkisinin araştırılması

Bir tüp içerisine 875 µl EtOH, 31,25 µl % 20’lik CHDG ve 93,75 µl sert su karıştırılarak % 87,5 EtOH + % 0,625 CHDG hazırlandı. Bu kombinasyondan 160 µl alınarak ayrı bir tüpe koyuldu. Farklı bir tüpte de 20 µl FBS ve 20 µl virüs süspansiyonu karıştırıldı. Bu karışımın hepsi alınıp, 160 µl’lik kombinasyon üzerine bırakıldı. Böylece 200 µl toplam hacimde, içerisinde % 70 EtOH + % 0,5 CHDG, % 10 FBS ve virüs bulunan solüsyon elde edildi. Karışım vorteks cihazı ile iyice karıştırıldıktan sonra +20°C’ye ayarlanmış su banyosunda bekletildi. Bundan sonra yukarıda anlatılan işlemlerin aynısı (30 saniyelik etkileşim, 60 saniyelik etkileşim ve 120 saniyelik etkileşim işlemleri) tekrar

yapıldı. Karışımın etkisini durdurmak için % 0,0125 sodyum tiyosülfat içeren soğuk DMEM + % 2 FBS kullanıldı (Rutala et al., 2006).

3.5.3. Virüslere % 70 IPA'ün etkisinin araştırılması

Bir tüp içerisinde 175 µl IPA ve 25 µl sert su karıştırılarak % 87,5'lik IPA hazırlandı. Bu karışımdan 160 µl alınarak ayrı bir tüpe koyuldu. Farklı bir tüpte de 20 µl FBS ve 20 µl virüs süspansiyonu karıştırıldı. Bu karışımın hepsi alınıp, 160 µl'lik IPA üzerine bırakıldı. Böylece 200 µl toplam hacimde, içerisinde % 70 oranında IPA, %10 FBS ve virüs bulunan solüsyon elde edildi. Karışım vorteks cihazı ile iyice karıştırıldıktan sonra +20°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletildi. Bundan sonra yukarıda anlatılan ilk işlemlerin aynısı (30 saniyelik etkileşim, 60 saniyelik etkileşim ve 120 saniyelik etkileşim işlemleri) tekrar yapıldı. Karışımın etkisini durdurmak için soğuk DMEM + % 2 FBS kullanıldı.

3.5.4. Virüslere % 70 IPA + % 0,5 CHDG'm etkisinin araştırılması

Bir tüp içerisine 875 µl IPA, 31,25 µl %20'lik CHDG ve 93,75 µl sert su karıştırılarak % 87,5 IPA + % 0,625 CHDG hazırlandı. Bu kombinasyondan 160 µl alınarak ayrı bir tüpe koyuldu. Farklı bir tüpte de 20 µl FBS ve 20 µl virüs süspansiyonu karıştırıldı. Bu karışımın hepsi alınıp, 160 µl'lik kombinasyon üzerine bırakıldı. Böylece 200 µl toplam hacimde, içerisinde % 70 IPA + % 0,5 CHDG, % 10 FBS ve virüs bulunan solüsyon elde edildi. Karışım vorteks cihazı ile iyice karıştırıldıktan sonra +20°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletildi. Bundan sonra yukarıda anlatılan ilk işlemlerin aynısı (30 saniyelik etkileşim, 60 saniyelik etkileşim ve 120 saniyelik etkileşim işlemleri) tekrar yapıldı. Karışımın etkisini durdurmak için % 0,0125 sodyum tiyosülfat içeren soğuk DMEM + % 2 FBS kullanıldı.

3.5.5. Virüslere % 60 EtOH + % 10 IPA'ün etkisinin araştırılması

Bir tüp içerisine 150 µl EtOH, 25 µl IPA ve 25 µl sert su karıştırılarak % 75 EtOH + % 12,5 IPA hazırlandı. Bu kombinasyondan 160 µl alınarak ayrı bir tüpe koyuldu. Farklı bir tüpte de 20 µl FBS ve 20 µl virüs süspansiyonu karıştırıldı. Bu karışımın hepsi alınıp, 160 µl'lik kombinasyon üzerine bırakıldı. Böylece 200 µl toplam hacimde, içerisinde % 60

EtOH, % 10 IPA, %10 FBS ve virüs bulunan solüsyon elde edildi. Karışım vorteks cihazı ile iyice karıştırıldıktan sonra +20°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletildi. Bundan sonra yukarıda anlatılan ilk işlemlerin aynısı (30 saniyelik etkileşim, 60 saniyelik etkileşim ve 120 saniyelik etkileşim işlemleri) tekrar yapıldı. Karışımın etkisini durdurmak için soğuk DMEM + % 2 FBS kullanıldı.

3.5.6. Virüslere % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG'nin etkisinin araştırılması

Bir tüp içerisine 750 µl EtOH, 125 µl IPA, 31,25 µl %20'lik CHDG ve 93,75 µl sert su karıştırılarak % 75 EtOH + % 12,5 IPA+ % 0,625 CHDG hazırlandı. Bu kombinasyondan 160 µl alınarak ayrı bir tüpe koyuldu. Farklı bir tüpte de 20 µl FBS ve 20 µl virüs süspansiyonu karıştırıldı. Bu karışımın hepsi alınıp, 160 µl'lik kombinasyon üzerine bırakıldı. Böylece 200 µl toplam hacimde, içerisinde % 60 EtOH + % 10 IPA+ % 0,5 CHDG, % 10 FBS ve virüs bulunan solüsyon elde edildi. Karışım vorteks cihazı ile iyice karıştırıldıktan sonra +20°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletildi. Bundan sonra yukarıda anlatılan ilk işlemlerin aynısı (30 saniyelik etkileşim, 60 saniyelik etkileşim ve 120 saniyelik etkileşim işlemleri) tekrar yapıldı. Karışımın etkisini durdurmak için % 0,0125 sodyum tiyosülfat içeren soğuk DMEM + % 2 FBS kullanıldı

3.5.7. Virüslere % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH'ün etkisinin araştırılması

Bir tüp içerisine 1500 µl EtOH, 250 µl IPA, 25 µl n-BuOH ve 225 µl sert su karıştırılarak % 75 EtOH + % 12,5 IPA+ % 1,25 n-BuOH hazırlandı. Bu kombinasyondan 160 µl alınarak ayrı bir tüpe koyuldu. Farklı bir tüpte de 20 µl FBS ve 20 µl virüs süspansiyonu karıştırıldı. Bu karışımın hepsi alınıp, 160 µl'lik kombinasyon üzerine bırakıldı. Böylece 200 µl toplam hacimde, içerisinde % 60 EtOH + % 10 IPA+ % 1 n-BuOH, % 10 FBS virüs bulunan solüsyon elde edildi. Karışım vorteks cihazı ile iyice karıştırıldıktan sonra +20°C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletildi. Bundan sonra yukarıda anlatılan ilk işlemlerin aynısı (30 saniyelik etkileşim, 60 saniyelik etkileşim ve 120 saniyelik etkileşim işlemleri) tekrar yapıldı. Karışımın etkisini durdurmak için soğuk DMEM + % 2 FBS kullanıldı.

3.6. Çalışmanın Kontrolleri

3.6.1. Sitotoksosite kontrolü

Antiseptik maddelerin hücreler üzerindeki olumsuz etkilerini, virüslerin hücreler üzerindeki sitopatik etkilerinden ayırmak için sitotoksosite kontrolü yapıldı. Dezenfektan etken maddelerinin hücreler üzerine toksik bir etkisinin olmadığı gösterilmesi için, deneyler esnasında çalışılan karışım, virüs eklenmeden, deney esnasında olduğu gibi sulandırıldı (10^{-1} - 10^{-8} arası). Bu karışımlardan 50 µl alınarak hücreler üzerine inoküle edildi. Bir saatlik inkübasyondan sonra hücreler üzerine 50 µl virüs üretim besiyeri eklendi ve % 5 CO₂ içeren +37°C'lik etüvde 10 gün inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda etken maddelerin hücreler üzerinde toksik etkiye sahip olup olmadıkları kontrol edildi.

3.6.2. Hücre duyarlılığı kontrolü

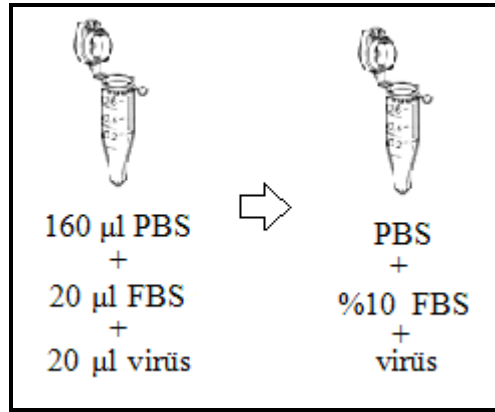
Bu kontrolün yapılması ile dezenfektan etken maddelerinin hücreler üzerinde, hücrelerin virüslerle etkileşimini olumsuz yönde etkileyecek bir bozulmaya sebep olmadığı gösterildi. Bu işlem için yukarıda dezenfektan etken maddeleri ile hazırlanan karışımlar aynı konsantrasyonlarda fakat virüs eklenmeden hazırlandı. Eklenmesi gereken virüs miktarı kadar PBS ilave edildi.

Sonrasında her bir etki süresi sonunda, çalışılan dezenfektan etken maddesini etkisizleştirecek kimyasal eklendi ve dilüsyonlar yapıldı. Bu seyreltmelerden 50'şer µl alınarak 96 kuyucuklu hücre kültür ortamlarında üretilen hücreler üzerine bırakıldı. Bir saat +37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında, ilgili seyreltmeye ait kuyucuklar içerisine, normalde etken maddeye maruz kaldıktan sonra TCID₅₀ değerini belirlemek için uygulanan seyreltme oranına uygun miktarda virüs ilave edildi (10^{-1} sütunundaki kuyucuklara 10^7 , 10^{-2} sütunundaki kuyucuklara 10^6 vs..).

Hücre duyarlılığı kontrolü prosedürü tüm dezenfektan etken maddeleri için uygulandı. Tüm hücre kültür ortamlarının inkübasyonundan sonra gözlenen değerler kaydedildi.

3.6.3. Proteinli ortamdaki virüs miktarlarının kontrolü

İnsan AdV-19 ve insan AdV-37'lerden sulandırmalar (10^{-1} - 10^{-10}) hazırlandı ve virüs miktarları (TCID₅₀ değerleri) kontrol edildi. Virüslerin, dezenfektan etken maddeleri eklenmeden, proteinli ortamdaki miktarlarını kontrol etmek için karışımlar ve bu karışımların sulandırmaları (10^{-1} - 10^{-10}) yapıldı. Proteinli ortamdaki kontrol için virüs, PBS ve % 10 FBS eklenerek karışımlar hazırlandı (Şekil 3.9). Bu karışımlar en uzun etki süresi kadar bekletildi ve bu süre sonunda 10^{-10} oranına kadar 10^7 ar kat sulandırıldı. Sonrasında yukarıda anlatılan işlemler tekrar uygulandı ve virüslerin proteinli ortamdaki TCID₅₀ değerleri kontrol edildi.



Şekil 3.9. Virüs miktarı kontrolü için hazırlanan karışım.

3.7. Azalma Oranı ve % 95 Güven Aralığı Hesaplama

Azalma oranı, virüs miktarının antiseptik maddeler üzerine eklenmeden önceki logaritmik değeri ile antiseptik maddeler ile etkileştikten sonra kalan logaritmik değeri arasındaki farktır. Bir antiseptik maddenin virüs üzerine etkili olabilmesi için 4 log₁₀ değerinde azalma meydana getirmesi gerekmektedir. Antiseptik maddelerin insan AdV-19 ve insan AdV-37 üzerinde meydana getirdikleri azalma oranları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$RF = a - b$$

RF = Teste ait azalma oranı

a = Virüs kontrolünün log₁₀TCID₅₀ değeri

b = Kalan virüs miktarının log₁₀TCID₅₀ değeri

Virüs miktarlarının % 95 güven aralığı değerleri “European Standard prEN 14476 rev” standartları uyarınca aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır:

$$sm = \sqrt{d^2 \sum \{(pi(1-pi) / (n-1))\}}$$

sm = Logaritmik miktarın standart hata oranı

d = Sulandırma katsayısının logaritması

pi = Görülen reaksiyon oranı

n = Her sulandırma için tekrar edilen kuyucuk sayısı

% 95 güven aralığı, yaklaşık olarak standart hatanın iki katıdır. İndirgeme oranının % 95 güven aralığı hesaplama formülü:

$$KRF = 2 \times \sqrt{s_a^2 + s_b^2}$$

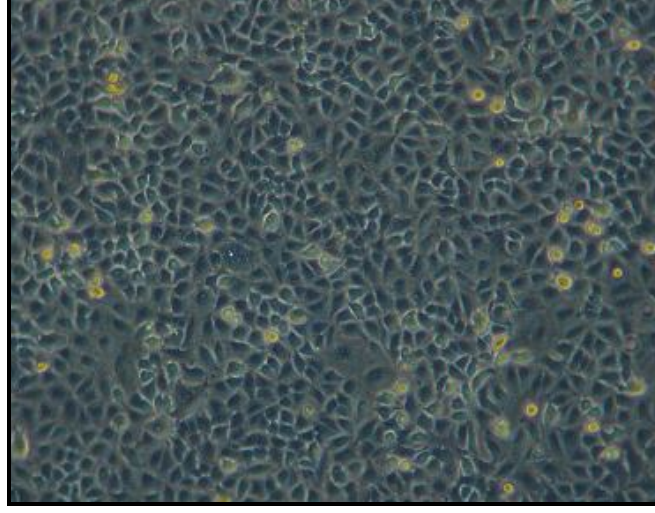
KRF = Azalma oranının % 95 güven aralığı değeri

s_a = Virüs kontrolünün standart hatası

s_b = Kalan virüs miktarının standart hatası

4. BULGULAR

A549 hücreleri % 90 DMEM, % 10 FBS, % 1,4 L-glutamin ve % 1 penisilin/streptomisin içeren besiyeri ortamında % 5 CO₂ içeren +37°C'lik etüvde üretildi. Şekil 4.1.'de tam tabaka halindeki A549 hücreleri gözükmemektedir.



Şekil 4.1. Tam tabaka halindeki A549 hücreleri

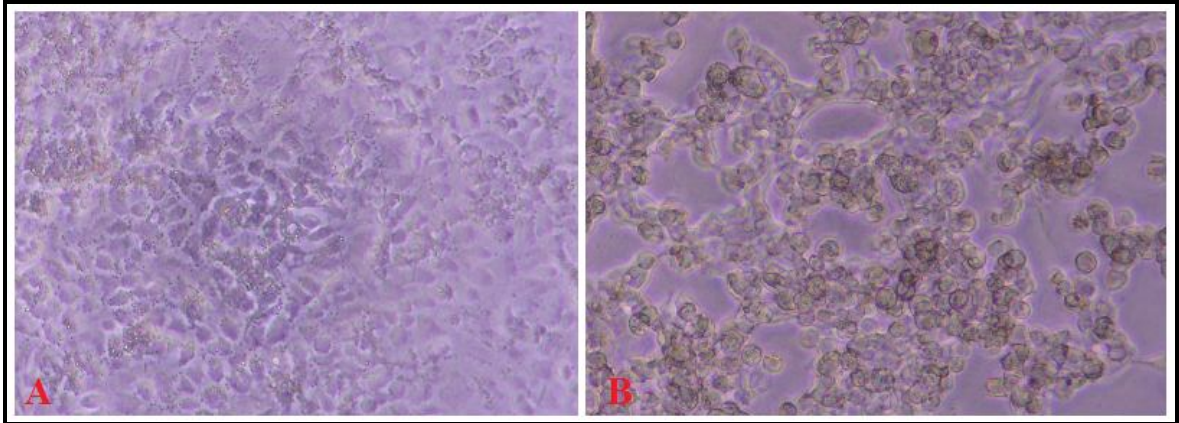
İnsan AdV-19 ve insan AdV-37 virüsleri tam tabaka haline gelmiş farklı flasklardaki hücreler üzerine % 2 FBS % 1,4 L-glutamin ve % 1 penisilin/streptomisin içeren DMEM besiyeri ortamında inoküle edildi. SPE görülene kadar inkübasyona devam edildi (Şekil 4.2). SPE insan AdV-19 için 7 günde, insan AdV-37 için 5 günde yuvarlaklaşma ve üzüm salkımı şeklinde görüldü.



Şekil 4.2. İnsan AdV'lerin SPE görüntüsü

4.1. Virüs Miktarları

Spearman - Karber metoduna göre virüs miktarlarını hesaplamak için tüm kuyucuklar SPE varlığı açısından değerlendirildi (Şekil 4.3). Stok virüsün 10 kat dilüsyonlarını içeren kuyucuklarda SPE görülen ve görülmeyen kuyular belirlendikten sonra Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te görüldüğü gibi şemalar oluşturuldu.



Şekil 4.3. A. SPE negatif görüntüsü B. SPE pozitif görüntüsü.

	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
A	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
B	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
C	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
D	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
E	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
F	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
G	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
H	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Şekil 4.4. İnsan AdV-19 için SPE bulguları. (+) ile işaretlenenler SPE görülen kuyular, (-) ile işaretlenenler SPE görülmeyen kuyular.

Yukarıdaki şekilde gözlenen sonuçlar, Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi düzenlendi ve aşağıdaki formüle göre virüs miktarı hesaplandı.

$$TCID_{50} = A - [\{ (B/100) - 0,5 \} \times C]$$

A = En yüksek virüs sulandırma oranının negatif logaritması

B = SPE pozitiflikleri toplamı

C = Sulandırma katsayısı logaritması

Çizelge 4.1. Spearman - Karber Metodu'na göre insan AdV-19 için TCID₅₀ değeri hesaplanması

Virüs Sulandırma Oranı	-log₁₀ Değeri	SPE Görülme Oranı	SPE Pozitifliği (%)	p_i Değeri
1:10	1	8/8	100	1.0
1:100	2	8/8	100	1.0
1:1.000	3	8/8	100	1.0
1:10.000	4	8/8	100	1.0
1:100.000	5	8/8	100	1.0
1:1.000.000	6	7/8	87,5	0.875
1:10.000.000	7	4/8	50	0.5
1:100.000.000	8	1/8	12,5	0.125
1:1.000.000.000	9	0/8	0	0
1:10.000.000.000	10	0/8	0	0

$$\begin{aligned}\text{İnsan AdV-19 için TCID}_{50} &= -1 - [\{ (650/100) - 0,5 \} \times 1] \\ &= -1 - [\{ 6,5 - 0,5 \} \times 1] \\ &= -1 - 6 \\ &= -7\end{aligned}$$

Bu sonuca göre insan AdV-19 için virüs miktarı logTCID₅₀(7), yani 1 x 10⁷ dir. Virüs sayımı için eldeki stok virüsten 50 µl alındığından bu sayı 1 x 10⁷/50 µl'dir. Çalışmada esnasında stok virüsten 20 µl alınacağından ve antiseptik maddeler dahil toplam hacim 200 µl olacağından antiseptik ile etkileşmeden önceki insan AdV-19 miktarı 4 x 10⁶ / 200 µl, logaritmik olarak ise 6,602 olarak bulundu.

	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
B	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
C	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
D	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
E	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
F	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
G	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)
H	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Şekil 4.5. İnsan AdV-37 için SPE bulguları. (+) ile işaretlenenler SPE görülen kuyular, (-) ile işaretlenenler SPE görülmeyen kuyular.

Aynı işlemler insan AdV-37 için de yapıldı ve virüs miktarı $9,486 \times 10^5/200 \mu\text{l}$ olarak hesaplandı. Logaritmik olarak ise 5,977 olarak bulundu. Antiseptik maddeler ile etkileşmek üzere karışıma insan AdV-19'dan $\log\text{TCID}_{50}$ 6,602, insan AdV-37'den ise $\log\text{TCID}_{50}$ 5,977 değerinde virüs eklenmiş oldu.

4.2. Kontrol Çalışmaları Sonuçları

Sitotoksisite kontrolü sonuçlarına göre kullanılan antiseptik maddelerin hiçbirinin hücre dizisi üzerinde önemli bir toksik etkiye neden olmadığı görülmüştür. Ayrıca hücre duyarlılığı kontrolü sonucuna göre antiseptik maddelerin virüslerin hücreyi enfekte etme yeteneğini etkilemediği gösterilmiştir. Yüksek proteinli (% 10 FBS'lu) ortamdaki virüs miktarlarının kontrolü sonuçları ise normal proteinli (% 2 FBS'lu) ortamdaki virüs miktarları ile aynı çıkmıştır.

4.3. Antiseptik Maddeler İle Etkileşim Sonuçları

İnsan AdV-19 ve 37 ile antiseptik maddelerin etkileşim süreleri sonunda gözlenen SPE oranları ve proteinli ortamdaki virüs miktarı kontrollerinin SPE açısından değerlendirildi. Bu amaçla antiseptik ile karşılaştırılan virüsün 8 farklı dilüsyonu çalışıldı. Sonuçlar 8 farklı kuyucukta SPE saptanan kuyucuk sayısı şeklinde çizelgelerde gösterildi. Çizelge 4.2’de virüs sayılarının kontrolü sonucunda saptanan SPE oranları görülmektedir. Çizelge 4.3 ve 4.4’te de sırasıyla insan AdV-19 ve insan AdV-37 ile antiseptik maddelerin etkileşim süreleri sonunda saptanan SPE oranları yer almaktadır.

Çizelge 4.2. Virüs sayısı kontrolü sonucunda saptanan SPE oranları

Virüs	Sulandırma (-log ₁₀)*							
	2	3	4	5	6	7	8	9
İnsan AdV-19	8/8	8/8	8/8	6/8	4/8	2/8	0/8	0/8
İnsan AdV-37	8/8	8/8	7/8	4/8	3/8	1/8	0/8	0/8

* Sitopatik etki görülen kuyucuk sayısı / Toplam kuyucuk sayısı

Çizelge 4.3. İnsan AdV-19 ile antiseptik maddelerin etkileşim süreleri sonunda saptanan SPE oranları.

Antiseptik	Etki Süresi (sn)	Sulandırma (-log ₁₀)*								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
% 70 EtOH	30	---	8/8	7/8	7/8	3/8	1/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	8/8	6/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	7/8	2/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 70 EtOH + % 0.5 CHDG	30	---	8/8	8/8	6/8	3/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	8/8	5/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	8/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 70 IPA	30	---	8/8	8/8	7/8	3/8	1/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	8/8	6/8	3/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	8/8	4/8	3/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 70 IPA + % 0.5 CHDG	30	---	8/8	8/8	6/8	4/8	2/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	8/8	6/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	6/8	3/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 60 EtOH + % 10 IPA	30	---	8/8	8/8	6/8	3/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	8/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	4/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 0.5 CHDG	30	---	8/8	7/8	4/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	5/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	5/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH	30	---	8/8	6/8	3/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	3/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	7/8	4/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8

* Sitopatik etki görülen kuyucuk sayısı / Toplam kuyucuk sayısı

Çizelge 4.4. İnsan AdV-37 ile antiseptik maddelerin etkileşim süreleri sonunda saptanan SPE oranları

Antiseptik	Etki Süresi (sn)	Sulandırma (-log ₁₀)*								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
% 70 EtOH	30	---	8/8	7/8	4/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	7/8	4/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	5/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 70 EtOH + % 0.5 CHDG	30	---	8/8	8/8	7/8	3/8	1/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	8/8	6/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	5/8	2/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 70 IPA	30	---	8/8	8/8	6/8	4/8	2/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	6/8	4/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	6/8	3/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 70 IPA + % 0.5 CHDG	30	---	8/8	8/8	7/8	3/8	1/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	7/8	4/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	6/8	3/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 60 EtOH + % 10 IPA	30	---	8/8	7/8	3/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	6/8	3/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	3/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 0.5 CHDG	30	---	8/8	7/8	4/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	5/8	2/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	8/8	4/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH	30	---	8/8	7/8	4/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	60	---	8/8	5/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	120	---	7/8	3/8	1/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8

* Sitopatik etki görülen kuyucuk sayısı / Toplam kuyucuk sayısı

Bu çizelgelerdeki değerler dikkate alınarak antiseptiklerin virüs miktarları üzerindeki etkisi Spearman - Karber Metodu'na göre hesaplandı. Hesaplamalar sonucu oluşan değerler % 95 güven aralıkları ile birlikte Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Her iki virüse ait virüs miktarı değişim grafikleri Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de gösterilmiştir.

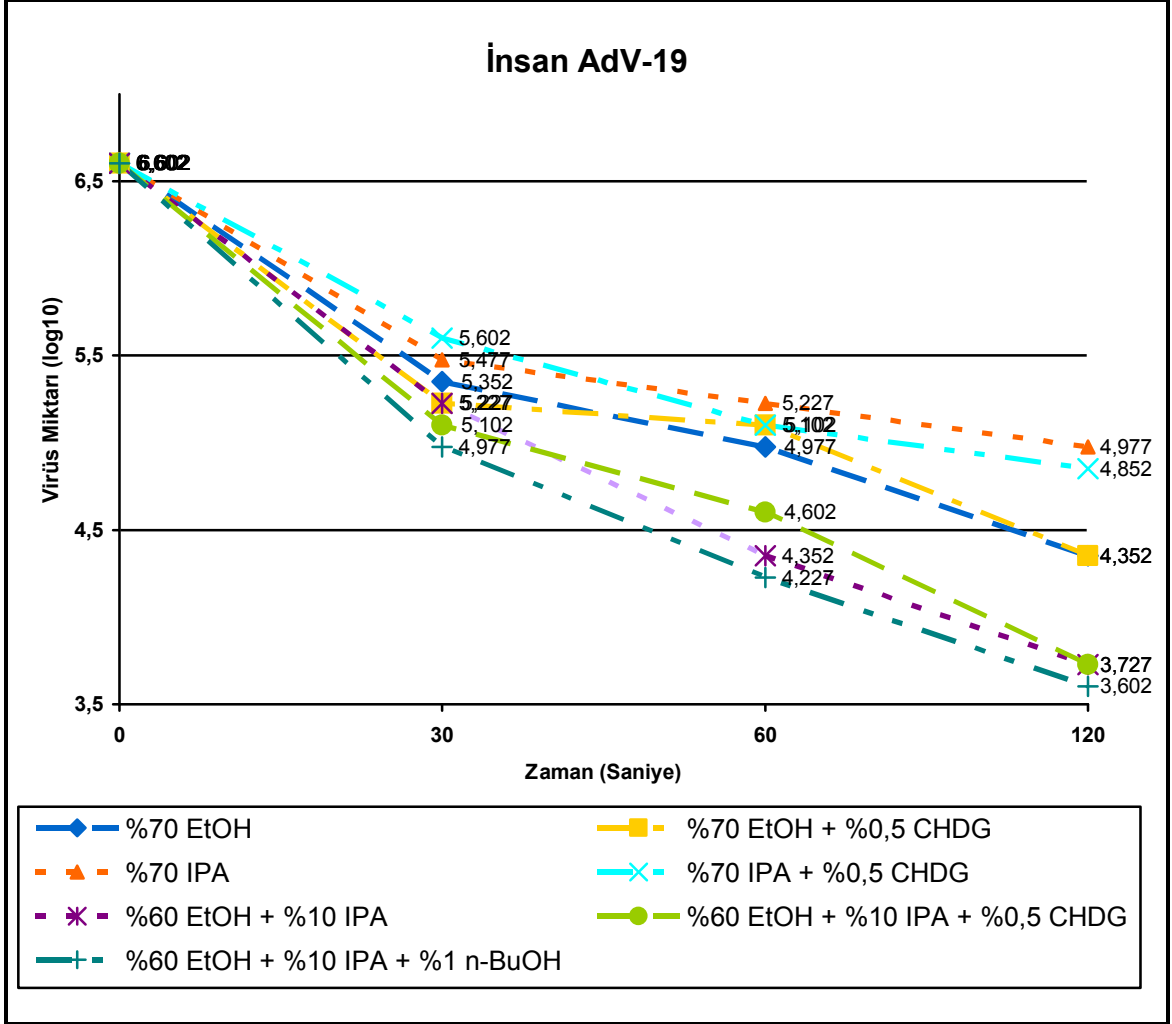
Antiseptik maddelerin virüs ile etkileşme süresine göre virüs sayısındaki azalmayı gösteren azalma oranları ve bu oranların % 95 güven aralığı değerleri insan AdV-19 için Çizelge 4.7'de, insan AdV-37 için ise Çizelge 4.8'de gösterilmiştir. Bu değerler sonucu oluşan azalma grafikleri ise Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'te verilmiştir.

İnsan AdV-19'la yapılan deney sonuçlarına göre, virüs miktarında en fazla azalma meydana getiren kombinasyon % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH olmuştur. Yüz yirmi saniye sonunda $3 \log_{10}$ 'luk azalma meydana getiren bu kombinasyon 30 ve 60 saniyelik etkileşimlerde virüs miktarındaki en fazla azalmaya sebep olmuştur. Virüs sayısında en fazla ikinci azalmayı % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG ve % 60 EtOH + % 10 IPA kombinasyonları sağlamıştır. Bu kombinasyonlar 120 saniye sonunda $2,875 \log_{10}$ 'luk bir azalmaya sebep olmuştur. % 70 EtOH ve % 70 EtOH + % 0,5 CHDG'nin ikisi de 120 saniye sonunda $2,25 \log_{10}$ değerinde azalma oranı göstermiştir. En düşük azalma oranlarının $1,625 \log_{10}$ ve $1,875 \log_{10}$ ile sırasıyla % 70 IPA ve % 70 IPA + % 0,5 CHDG kimyasallarına ait olduğu görülmüştür (Şekil 4.8).

İnsan AdV-37'nin sonuçlarına bakıldığında ise 120 saniye sonunda yine % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH en fazla azalma meydana getiren kombinasyon olmuştur. Bu kombinasyon virüs miktarında 120 saniye sonunda $2,5 \log_{10}$ değerinde bir azalmaya sebep olmuştur. İkinci olarak en fazla azalma gösteren antiseptik kombinasyonun $2,375 \log_{10}$ ile % 60 EtOH + % 10 IPA olduğu görülmüştür. % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG ise $2,25 \log_{10}$ oranı ile 120 saniye sonunda üçüncü en fazla azalma gösteren kombinasyon olmuştur. Yüz yirmi saniye sonunda % 70 EtOH + % 0,5 CHDG $2,125 \log_{10}$, % 70 EtOH $2 \log_{10}$, % 70 IPA ve % 70 IPA + % 0,5 CHDG ise $1,625 \log_{10}$ değerinde azalma meydana getirmiştir (Şekil 4.9).

Çizelge 4.5. İnsan AdV-19 ile yapılan çalışma sonrası kalan virüs miktarları (\log_{10} TCID₅₀/200 μ l) ve % 95 güven aralığı değerleri.

Antiseptik Madde	Virüs Miktarı ve % 95 Güven Aralığı (\log_{10})	Etki Süresi Sonunda Kalan Virüs Miktarları ve % 95 Güven Aralığı Değerleri ($-\log_{10}$)		
		30 sn	60 sn	120 sn
% 70 EtOH	6,602 \pm 0,598	5,352 \pm 0,567	4,977 \pm 0,551	4,352 \pm 0,482
% 70 EtOH + % 0.5 CHDG	6,602 \pm 0,598	5,227 \pm 0,491	5,102 \pm 0,463	4,352 \pm 0,327
% 70 IPA	6,602 \pm 0,598	5,477 \pm 0,509	5,227 \pm 0,491	4,977 \pm 0,526
% 70 IPA + % 0.5 CHDG	6,602 \pm 0,598	5,602 \pm 0,598	5,102 \pm 0,463	4,852 \pm 0,491
% 60 EtOH + % 10 IPA	6,602 \pm 0,598	5,227 \pm 0,491	4,352 \pm 0,327	3,727 \pm 0,453
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 0.5 CHDG	6,602 \pm 0,598	5,102 \pm 0,453	4,602 \pm 0,491	3,727 \pm 0,366
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH	6,602 \pm 0,598	4,977 \pm 0,551	4,227 \pm 0,443	3,602 \pm 0,518

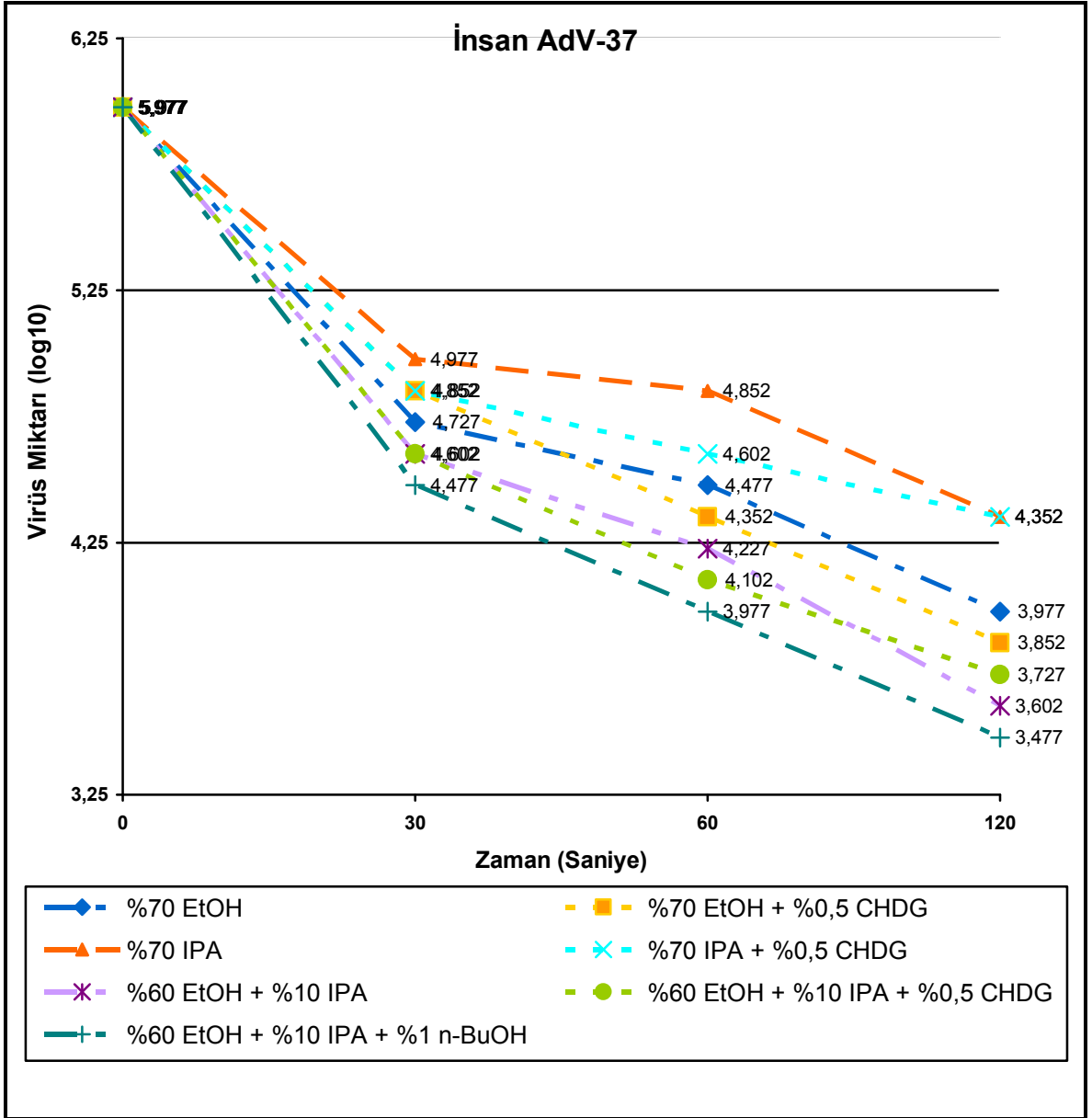


Şekil 4.6. İnsan AdV-19'un antiseptik maddeler ile etkileşim süresine göre virüs miktarındaki değişim grafiği (\log_{10} TCID₅₀/200 μ l).

Yüz yirmi saniye sonunda virüs miktarlarında en fazla azalma meydana getiren antiseptiğin % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH kombinasyonu içeren karışım olduğu dikkat çekmektedir.

Çizelge 4.6. İnsan AdV-37 ile yapılan çalışma sonrası kalan virüs miktarları (TCID₅₀/200 µl) ve % 95 güven aralığı değerleri.

Antiseptik Madde	Virüs Miktarı ve % 95 Güven Aralığı (log ₁₀)	Etki Süresi Sonunda Kalan Virüs Miktarları ve % 95 Güven Aralığı Değerleri (-log ₁₀)		
		30 sn	60 sn	120 sn
% 70 EtOH	5,977 ± 0,634	4,727 ± 0,559	4,477 ± 0,463	3,977 ± 0,491
% 70 EtOH + % 0.5 CHDG	5,977 ± 0,634	4,852 ± 0,509	4,352 ± 0,559	3,852 ± 0,551
% 70 IPA	5,977 ± 0,634	4,977 ± 0,598	4,852 ± 0,559	4,352 ± 0,551
% 70 IPA + % 0.5 CHDG	5,977 ± 0,634	4,852 ± 0,509	4,602 ± 0,518	4,352 ± 0,551
% 60 EtOH + % 10 IPA	5,977 ± 0,634	4,602 ± 0,551	4,227 ± 0,491	3,602 ± 0,443
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 0.5 CHDG	5,977 ± 0,634	4,602 ± 0,518	4,102 ± 0,551	3,727 ± 0,453
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH	5,977 ± 0,634	4,477 ± 0,453	3,977 ± 0,491	3,477 ± 0,509

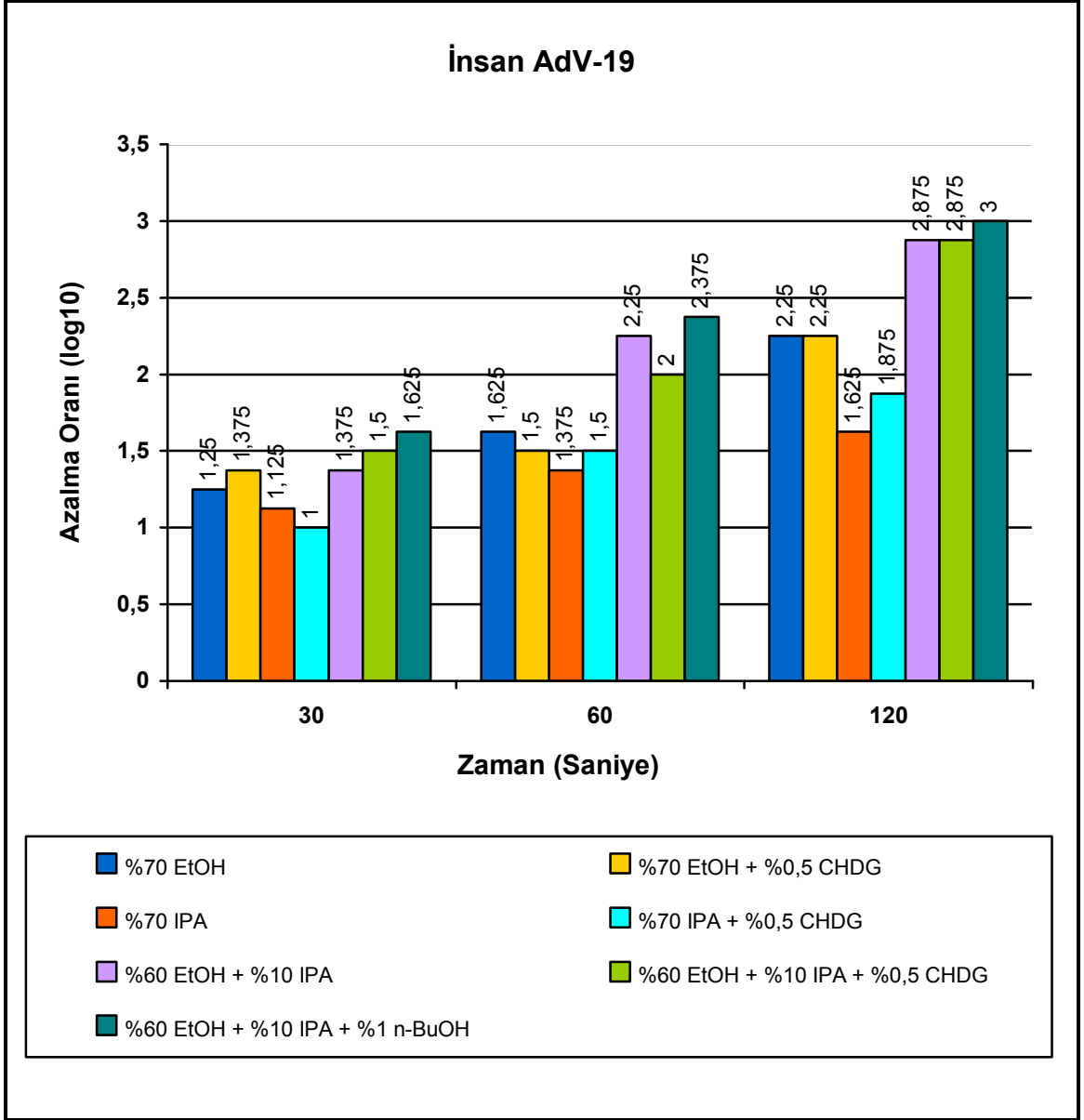


Şekil 4.7. İnsan AdV-37'nin antiseptik maddeler ile etkileşim süresine göre virüs miktarındaki değişim grafiği (\log_{10} TCID₅₀/200 μ l).

İnsan AdV-19 ile yapılan çalışmada 30 saniye sonunda en fazla azalma sırasıyla % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH, % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG ve % 60 EtOH + % 10 IPA'm; 60 saniye sonunda % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH, % 60 EtOH + % 10 IPA ve % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG'm; 120 saniye sonunda ise yine % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH, % 60 EtOH + % 10 IPA ve % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG'da saptanmıştır. Tüm bu kombinasyonlar %60 EtOH + %10 IPA içermektedir. İnsan AdV-37 için de benzer sonuç saptanmıştır.

Çizelge 4.7. İnsan AdV-19 ile yapılan çalışma sonrası oluşan virüs azalma oranları (\log_{10} TCID/200 μ l) ve % 95 güven aralığı değerleri.

Antiseptik Madde	Virüs Miktarı ve % 95 Güven Aralığı ($-\log_{10}$)	Etki Süresi Sonunda Oluşan Virüs Azalma Oranları ve % 95 Güven Aralığı Oranları ($-\log_{10}$)		
		30 sn	60 sn	120 sn
% 70 EtOH	6,602 \pm 0,598	1,25 \pm 0,824	1,625 \pm 0,84	2,25 \pm 0,768
% 70 EtOH + % 0.5 CHDG	6,602 \pm 0,598	1,375 \pm 0,773	1,5 \pm 0,756	2,25 \pm 0,681
% 70 IPA	6,602 \pm 0,598	1,125 \pm 0,785	1,375 \pm 0,773	1,625 \pm 0,796
% 70 IPA + % 0.5 CHDG	6,602 \pm 0,598	1 \pm 0,845	1,5 \pm 0,756	1,75 \pm 0,802
% 60 EtOH + % 10 IPA	6,602 \pm 0,598	1,375 \pm 0,773	2,25 \pm 0,681	2,875 \pm 0,750
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 0.5 CHDG	6,602 \pm 0,598	1,5 \pm 0,779	2 \pm 0,802	2,875 \pm 0,701
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH	6,602 \pm 0,598	1,625 \pm 0,84	2,375 \pm 0,773	3 \pm 0,791

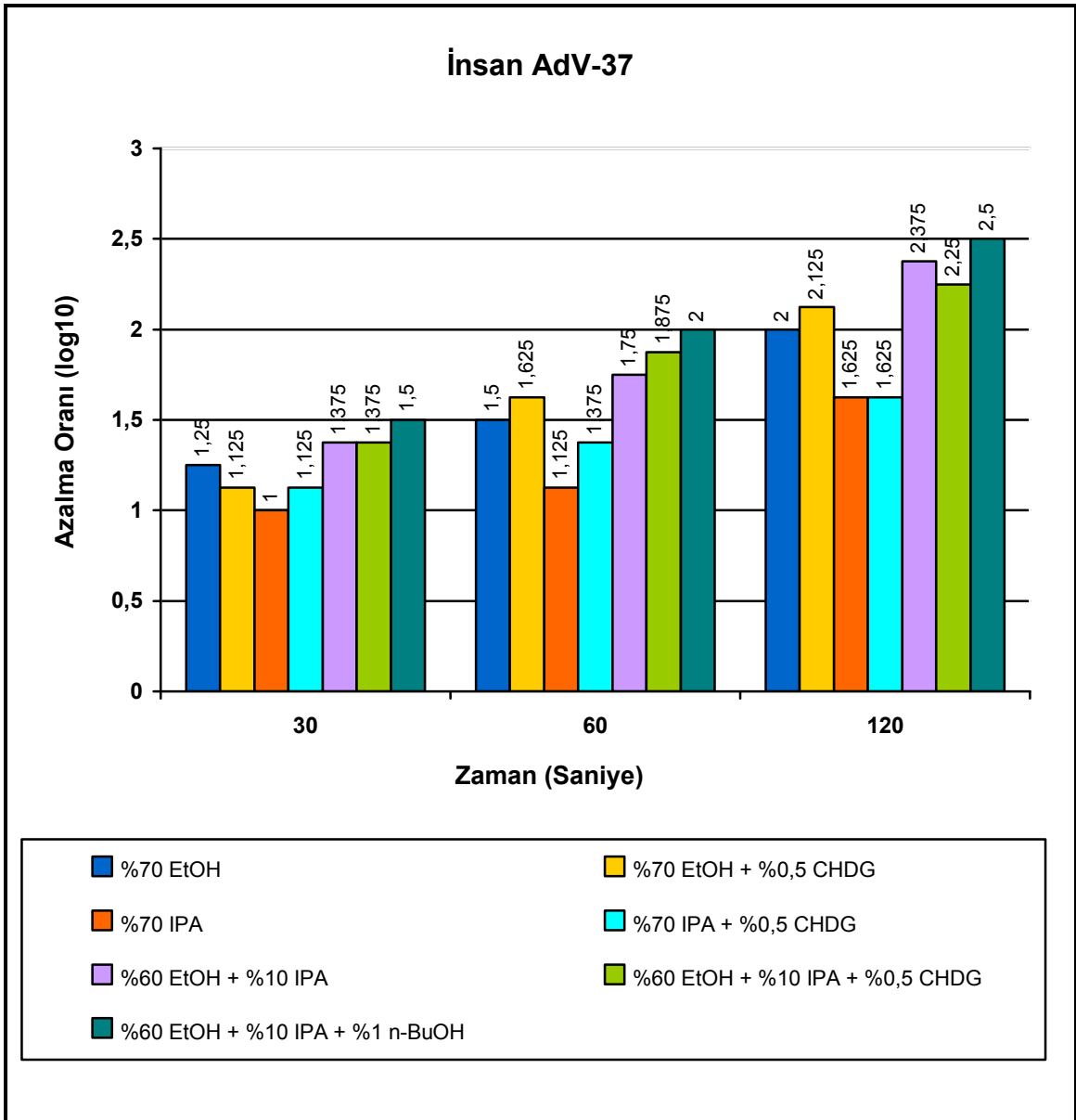


Şekil 4.8. İnsan AdV-19 ile yapılan çalışma sonrası oluşan virüs azalma oranları grafiği (\log_{10} TCID/200 μ l)

Ana etken madde olarak alkol veya alkol kombinasyonu içeren, bunun yanında CHDG ile kombine edilen karışımlara bakıldığında diğer karışımlara göre farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. İnsan AdV-19 ile yapılan çalışmada 30 saniyelik etkileşim sonunda % 70 EtOH + % 0,5 CHDG içeren kombinasyon % 70 EtOH'e göre daha fazla azalmaya sebep olurken, aynı virüs ile yapılan 60 saniyelik etkileşim sonucunda % 70 EtOH, % 70 EtOH + % 0,5 CHDG kombinasyonunda daha fazla azalmaya sebep olmuştur. Yüz yirmi saniye sonunda ise her iki antiseptik madde de eşit miktarda azalma yapmışlardır. Benzer durumlar hem insan AdV-19'daki CHDG içeren diğer kombinasyonlarda, hem de insan AdV-37 ile yapılan çalışmalarda görülmektedir.

Çizelge 4.8. İnsan AdV-37 ile yapılan çalışma sonrası oluşan virüs azalma oranları (\log_{10} TCID/200 μ l) ve % 95 güven aralığı değerleri.

Antiseptik Madde	Virüs Miktarı ve % 95 Güven Aralığı (-log ₁₀)	Etki Süresi Sonunda Oluşan Virüs Azalma Oranları ve % 95 Güven Aralığı Oranları (-log ₁₀)		
		30 sn	60 sn	120 sn
% 70 EtOH	5,977 ± 0,634	1,25 ± 0,845	1,5 ± 0,756	2 ± 0,802
% 70 EtOH + % 0.5 CHDG	5,977 ± 0,634	1,125 ± 0,785	1,625 ± 0,845	2,125 ± 0,785
% 70 IPA	5,977 ± 0,634	1 ± 0,845	1,125 ± 0,845	1,625 ± 0,84
% 70 IPA + % 0.5 CHDG	5,977 ± 0,634	1,125 ± 0,785	1,375 ± 0,818	1,625 ± 0,84
% 60 EtOH + % 10 IPA	5,977 ± 0,634	1,375 ± 0,840	1,75 ± 0,802	2,375 ± 0,773
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 0.5 CHDG	5,977 ± 0,634	1,375 ± 0,818	1,875 ± 0,84	2,25 ± 0,779
% 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH	5,977 ± 0,634	1,5 ± 0,779	2 ± 0,802	2,5 ± 0,813



Şekil 4.9. İnsan AdV-37 ile yapılan çalışma sonrası oluşan virüs azalma oranları grafiği (\log_{10} TCID₅₀/200 μ l).

% 70 EtOH ve % 70 IPA içeren antiseptik maddelere ve bunların % 0,5 CHDG içeren kombinasyonlarına bakıldığında, her iki Adenovirüs serotipi için de tüm etkileşim süreleri sonunda EtOH içeren antiseptiklerin IPA içeren antiseptiklerden daha fazla miktarda azalma meydana getirdiği görülmektedir.

Her iki virüs serotipi sonuçlarına genel olarak bakıldığında, antiseptik maddelerin insan AdV-37'ye oranla insan AdV-19'da göreceli olarak daha büyük miktarda azalma meydana getirdiği saptanmıştır.

5. TARTIŞMA

Adenovirüsler üst ve alt solunum sistemlerinde, gastrointestinal sistemde veya konjunktivada enfeksiyon oluşturan zarfsız DNA virüsleridir. Günümüzde Adenovirüslerin 50'den fazla serotipi tanımlanmıştır. Bazı Adenovirus serotipleri doku tropizmi gösterir. (Lynch et al., 2011). Nozokomiyal EKK genel olarak insan AdV-8, insan AdV-19 veya insan AdV-37 tarafından oluşturulur (Ford et al., 1987). Bu üç serotipe bağlı salgınlar tüm dünyada yaygındır (David O. White, 1994). Türkiye'de bu konuda yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalarda EKK salgınlarına genelde insan AdV-8'in yol açtığı yayınlanmıştır (Cicek et al., 2012, Ersoy et al., 2012, Karadenizli, 2012, Yagci et al., 2010). Bu çalışmada dünyada yaygın görülen insan AdV-19 ve 37 üzerine antiseptiklerin etkinliği araştırılmıştır.

Nozokomiyal enfeksiyonlarının engellenmesinde en basit ve en etkili yöntem düzenli olarak el antisepsisinin uygulanmasıdır (Pittet, 2001). Hastane personelinin el hijyenine dikkat etmesi sağlık personeli ile ilişkili hastalıkların insidansını düşürmektedir (Larson, 1988, Larson, 1999). Yapılan bir araştırmaya göre bir hemşirenin gün içerisinde ortalama 30 kere elini yıkaması gereklidir (Ojarvi, 1981). Yoğun bakım ünitesinde yapılan farklı bir çalışmada ise bir hemşirenin ellerini yıkamak üzere lavaboya gidip hastasının başına dönmesine kadar geçen süre ortalama 62 saniye olarak hesaplanmıştır. El antiseptiği ile el hijyeninin sağlanması ise 15 saniye gibi kısa sürede başlayabilir (Voss and Widmer, 1997). WHO ve CDC rehberlerinde bazı durumlarda, ellerde gözle görünür kirlenme olması dışında alkollü el antiseptiklerinin kullanılması önerilmektedir (Boyce and Pittet, 2002).

Hastanelerde kullanılan el antiseptikleri genel olarak alkol temellidir. EtOH, IPA, n-propanol veya bunların kombinasyonu şeklinde % 60 ile % 95 arasında değişen oranlarda alkol içeren el antiseptikleri mevcuttur. Kullanım amacına göre antiseptikler bulunmaktadır. Alkollere ek olarak sınırlı konsantrasyonlarda klorheksidin, kloroksilenol, heksaklorofen, triklosan, dört değerlikli amonyum bileşikleri veya povidon-iyot içeren antiseptikler de kullanılabilir (Boyce and Pittet, 2002). Bu çalışmada EtOH ve IPA'nın tek başına ve kombinasyonlarının, CHDG ve n-BuOH'nun EtOH ve IPA ile kombinasyonlarının insan AdV-19 ve insan AdV-37 üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Adenovirüs hücre kültürü için A549, HEK, Hep-2, HeLa ve HEK 293 gibi hücre dizileri kullanılmaktadır (Echavarria, 2004). Bu çalışmada EKK etkeni iki Adenovirüs serotipi olan insan AdV-19 (ATCC VR-254) ve insan AdV-37 (ATCC VR-929) standart serotiplerinin üretimi için ise literatürde önerilen A549 hücre dizisi kullanılmıştır. Hücre

kültüründe; hücrelerde yuvarlaklaşma, kümelenme ve üzüm salkımı şeklindeki görünüm Adenovirüse ait SPE olarak kabul edilmiştir.

Dezenfektanların virüsler üzerindeki etkisini saptamak için Kantitatif Süspansiyon Testleri, Taşıyıcı Testleri veya Parmak Ucu Testleri kullanılmaktadır. Kantitatif Süspansiyon testleri uzun yıllardan beri kullanılan ve standardize edilmiş bir yöntemdir (Bloomfield and Looney, 1992). Bu test kısaca, virüs ile dezenfektanın belli bir süre karşılaştırılmasını ve süspansiyondan alınan bir miktar sıvının 10'ar kat sulandırılarak hücre kültür ortamına eklenmesini içerir. Dezenfektanla karşılaştıktan sonra kalan virüs miktarı hesaplanıp, azalma miktarına göre dezenfektanın virüs üzerine olan etkinliği hakkında bilgi sahibi olunmaktadır (Standardization, 2011). Taşıyıcı testlerinde ise belli miktarda virüs solüsyonu taşıyıcı olarak kullanılan bir disk üzerine bırakılarak kuruması sağlanmaktadır. Sonrasında üzerine dezenfektan madde eklenerek belli bir süre beklenip sonrasında dezenfektanın etkinliği durdurulmaktadır. Dezenfektan - virüs karışımından 10'ar kat sulandırmalar hazırlanarak hücre kültür ortamına eklenmekte ve başlangıçtaki virüs miktarı ile dezenfektanla karşılaştıktan sonra kalan virüs miktarı hesaplanmaktadır (Sattar et al., 2003). Taşıyıcı testleri dezenfektanların cansız yüzeyler üzerinde bulunan virüslere etkinliğini ölçmektedir (Springthorpe, 2000). El antiseptiklerinin etkinliklerinin tayininde kullanılmaması nedeniyle çalışmada bu yöntem kullanılmamıştır. Kantitatif süspansiyon testleri de cansız yüzeydeki virüslere dezenfektanların etkinliklerini ölçmek için kullanılabilirler. Bunun için dezenfektan madde ile virüsün etkileşimi kısa ve uzun sürelerde araştırılır. Aynı zamanda hem proteinli hem de proteinsiz ortamdaki etkinlik test edilir. Kantitatif süspansiyon testi antiseptik maddelerin etkinliğini araştırmak için de kullanılır. Bu kez antiseptik ile virüs protein yükü bulunan bir ortamda ve daha kısa süre muamele edilir. Parmak Ucu testlerinde ise gönüllü kişilerin elleri belli sayıda virüs partikülü içeren solüsyon ile kontamine edilip kuruması beklenmektedir. Kontamine edilen alan üzerine test edilmek istenen süre boyunca belli miktarda antiseptik madde uygulanmaktadır. İlgili süre sonunda virüs - dezenfektan uygulanan alan yıkama solüsyonu ile yıkanmakta ve kalan virüs miktarı bu yıkama solüsyonundan hesaplanmaktadır (Sattar et al., 2000). Parmak Ucu testleri de elde el antiseptik maddelerinin etkinliğini ölçmek için kullanılır. Kantitatif süspansiyon testinden farklı olarak, gönüllü kişilerin parmakları üzerinde virüs ile antiseptik maddeler karşılaştırılmaktadır. Bu testin avantajı antiseptik maddeyi *ex vivo* olarak test etme imkanı sağlamasıdır (Graham et al., 1996). Adenovirüs gibi bulaş oranı yüksek bir virüsle çalışmaya gönüllü kişilerin bulunmasındaki ve bu kişilere verilecek maddi desteği bulmaktaki zorluklar nedeniyle bu yöntem tercih

edilmemiştir. Bu nedenle çalışmada uluslararası kabul gören kantitatif süspansiyon yöntemi kullanılmıştır. Çalışma yapılırken standart kantitatif süspansiyon yönteminden farklı olarak organik madde yükü oluşturmak için Dana Serum Albümin (BSA) yerine FBS kullanılmıştır. BSA yerine FBS kullanımının testin yöntemini olumsuz anlamda etkilemediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Kampf et al., 2005, Kramer et al., 2006, Sattar et al., 2003).

İnsan AdV-19'la yapılan deney sonuçlarına göre, virüs miktarında en fazla azalma meydana getiren kombinasyon % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH olmuştur. Yüz yirmi saniye sonunda 3 log₁₀'luk azalma meydana getiren bu kombinasyon 30 ve 60 saniyelik etkileşimlerde de virüs miktarındaki en fazla azalmaya sebep olmuştur. Virüs sayısında en fazla ikinci azalmayı % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG ve % 60 EtOH + % 10 IPA kombinasyonları yapmıştır. Bu kombinasyonlar 120 saniye sonunda 2,875 log₁₀'luk bir azalmaya sebep olmuştur. % 70 EtOH ve % 70 EtOH + % 0,5 CHDG'nin ikisi de 120 saniye sonunda 2,25 log₁₀ değerinde azalma oranı göstermiştir. En düşük azalma oranlarının 1,625 log₁₀ ve 1,875 log₁₀ ile sırasıyla % 70 IPA ve % 70 IPA + % 0,5 CHDG kimyasallarına ait olduğu görülmüştür. Bu veriler ışığında EtOH ve IPA'nın ayrı ayrı test edildiği işlemlerde % 0,5 CHDG kimyasalının antiseptik maddenin etkinliğini arttırmada belirgin bir rolü almadığı görülmüştür. İnsan AdV- 19 üzerine % 70 EtOH ile % 70 IPA'nın etkinliği karşılaştırıldığında ise EtOH'ün IPA'den virüs miktarında daha fazla azalma meydana getirdiği görülmüştür.

İnsan AdV-37'nin sonuçlarına bakıldığında ise 120 saniye sonunda yine % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH en fazla azalma meydana getiren kombinasyon olmuştur. Bu kombinasyon virüs miktarında 120 saniye sonunda 2,5 log₁₀ değerinde bir azalmaya sebep olmuştur. İkinci olarak en fazla azalma gösteren antiseptik kombinasyonun 2,375 log₁₀ ile % 60 EtOH + % 10 IPA olduğu görülmüştür. % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG ise 2,25 log₁₀ oranı ile 120 saniye sonunda üçüncü en fazla azalma gösteren kombinasyon olmuştur. Yüz yirmi saniye sonunda % 70 EtOH + % 0,5 CHDG 2,125 log₁₀, % 70 EtOH 2 log₁₀, % 70 IPA ve % 70 IPA + % 0,5 CHDG ise 1,625 log₁₀ değerinde azalma meydana getirmiştir. Bu veriler maksimum 2 dakika sonucunda elde edilmiştir. El dezenfektanlarında yaklaşık 1 dakika içerisinde etkinlik beklenmesi nedeniyle bu çalışmada virüsün antiseptik ile 30, 60 ve 120 saniyedeki etkileşimi çalışılmış olup temas süresinin uzatılması tercih edilmemiştir. Bazı yayınlarda virüs üzerine antiseptiklerin etkinliği ilk 2 dakika ideal etkinlikte (4 log₁₀) olmamasına rağmen 3. dakikada etkinlik 4 log₁₀ ve üzerinde gösterilmiştir. Cargill ve ark. (2011) alkol temelli bir antiseptik olan ve

etil alkol, klorheksidin glukonat, benzalkonyum klorid ve oktoksigliserin içeren maddenin zarflı (HIV, RSV, Influenza A H1N1) ve zarfsız (Rhinovirüs 14, KCV) virüsler üzerindeki etkinliğine baktıkları çalışmalarında, 15 saniye, 1 dakika ve 3 dakikalık etkileşim sonuçlarını hesaplamışlardır (Cargill et al., 2011). Zarflı virüslerin hepsinde 15 saniye sonunda etkinlik gözlenirken, her iki zarfsız virüs için de 1 dakika sonunda 4 log₁₀'luk azalma gözükmemiştir. Etkileşim süresini 3 dakikaya çıkarıldığında ise Rhinovirüs miktarında > 4 log₁₀'luk azalma olduğu kaydetmişlerdir. Farklı bir çalışmada ise Lowbury ve ark. (1960) % 70 EtOH ve % 70 EtOH + % 0,5 CHG ile 3 dakikalık etkileşim sonucu cerrahlar ve hemşirelerin ellerindeki flora bakterilerinin miktarının değişimini araştırmışlardır (Lowbury and Lilly, 1960). Antiseptik ile etkileşmeden önceki bakteri miktarı ile 3 dakikalık antiseptik etkileşimi sonrası bakteri miktarları arasındaki farkı gözlemlemişlerdir. % 70 EtOH'le etkileşmeden önceki bakteri sayısı mililitrede 62 iken, 3 dakikalık etkileşimden sonraki bakteri sayısı 3/ml olarak bulunmuştur. % 70 EtOH + % 0,5 CHG'la etkileşmeden önceki bakteri sayısı ise 151/ml iken, 3 dakikalık etkileşim sonucu bu sayının 3/ml'e düştüğü görülmüştür.

A. Kramer ve ark. (2006) zarfsız bir virüs olan poliovirüs'e karşı antiseptik maddelerin etkinliğini araştırdıkları bir çalışmada, % 70'lik EtOH'ün 2 dakikalık süre sonunda virüs miktarında 3,3 log₁₀ oranında bir azalma meydana getirdiğini göstermişlerdir (Kramer et al., 2006). Bizim çalışmamızda olduğu gibi protein yükü olarak % 10 FBS eklenen ortamda 2 dakikalık süre sonunda poliovirüs miktarında 4 log₁₀ değerinde azalma saptanmamıştır. Lages ve ark. (2008) parmak ucu metodunu uygulayarak zarfsız bir virüs olan Kedi Calicivirus (KCV) üzerine antiseptik maddelerinin etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında % 70 IPA içeren el antiseptiğinin 2 dakikalık süre sonunda virüs miktarında sadece 0,55 log₁₀ değerinde bir azalma meydana getirdiğini göstermişler (Lages et al., 2008). Bu her iki çalışmada da Adenovirüse benzer şekilde iki farklı zarfsız virüs kullanılmıştır. İki çalışma da farklı metotlar kullanarak antiseptiklerin virüsler üzerine etkinliğini ölçmüşlerdir. Bu çalışmalardaki sonuçlar da bizim çalışmamız ile benzer şekilde % 70'lik EtOH veya % 70'lik IPA'ün iki dakika içerisinde zarfsız virüslerin miktarını 4 log₁₀ oranında azaltmadığını göstermektedir.

Bu iki çalışmadan farklı olarak Fendler ve ark. (2002), alkolik el dezenfektanlarının virüsler ve mantarlar üzerine etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında Adenovirüs 2 standart serotipini kullanarak % 62 EtOH'ün etkinliğini test etmişlerdir (Fendler and Groziak, 2002). Otuz saniye sonunda virüs miktarında 1,32 log₁₀'luk bir azalma kaydetmişlerdir. Bizim çalışmamızda 30 saniye sonunda % 70 EtOH her iki virüs serotipi için 1,25 log₁₀

değerinde azalmaya sebep olmuştur. Buna göre Adenovirüsün farklı bir serotipi ile yakın sonuçlar elde edilmiş olduğu görülmektedir.

Yine Adenovirüsün kullanıldığı ve ticari el antiseptiklerinin etkinliklerinin incelendiği bir çalışmada Rutala ve ark. (2006) taşıyıcı metodu ile % 70 EtOH ve % 70 IPA'ün insan AdV-8 serotipi üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır (Rutala et al., 2006). Taşıyıcı test yöntemini kullandıkları çalışmalarında, 1 ve 5 dakikalık iki etkileşim süresi sonunda virüs miktarındaki azalma karşılaştırılmıştır. Organik yük olarak % 5 FBS'un kullanıldığı bu araştırmada, 1 dakika sonunda EtOH'ün 1,97 log₁₀, IPA'ün ise 0,47 log₁₀'luk azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Beş dakika sonunda ise EtOH 5,47 log₁₀, IPA ise 0,48 log₁₀ oranında virüs miktarında azalma göstermişlerdir. Bizim çalışmamız sonuçlarına göre % 70 EtOH 1 dakika sonunda insan AdV-19 için 1,625 log₁₀ ve insan AdV-37 için 1,5 log₁₀, % 70 IPA ise 1 dakika sonunda insan Adv-19 için 1,375 log₁₀ ve insan AdV-37 için ise 1,115 log₁₀ miktarında azalmaya sebep olmuşlardır. Bu sonuçlar Rutala ve ark.'nın çalışması ile karşılaştırıldığında EtOH sonuçları benzerlik gösterse de IPA'ün virüs sayısını azaltmadaki farklı sonuçları dikkat çekicidir.

Paulmann ve ark. (2011), kantitatif süspansiyon testi ve parmak ucu metodunu kullanarak % 70 EtOH'ün ve % 70 IPA'ün zarfsız bir virüs olan Norovirüs üzerine olan etkisine bakmışlardır (Paulmann et al., 2011). Kantitatif süspansiyon testi ve parmak ucu testi sonuçlarına göre, bizim çalışmamızdaki bulgulardan farklı olarak, EtOH 30 saniye içinde virüs miktarında > 4 log₁₀ oranında azalmaya sebep olmuştur. Her iki test sonucunda da EtOH, IPA'e oranla virüs miktarında daha fazla azaltma göstermiştir. Bizim çalışmamızdan elde edilen veriler ışığında EtOH ile IPA'ün etkinlikleri karşılaştırıldığında, 120 saniye etkileşim sonunda EtOH insan AdV-19'da 2,25 log₁₀'luk bir azalma meydana getirirken IPA 1,625 log₁₀'luk bir azalmaya sebep olmuştur. İnsan AdV-37'de ise 120 saniye sonunda EtOH 2 log₁₀'luk bir azalma oluştururken, IPA 1,625 log₁₀'luk bir azalma oranı göstermiştir. EtOH IPA'e oranla virüs miktarında daha fazla miktarda azalmaya sebep olmuştur. Bu açıdan bakıldığında iki çalışmanın verileri birbirine paralellik göstermektedir.

Alkollerdeki karbon sayısı arttıkça hem bakterilere hem de virüslere karşı antimikrobiyal aktivitenin arttığı ve altı karbondaki en yüksek etkinliğe ulaştığı gösterilmiştir (Wilson, 1943). EtOH 2 karbonlu, IPA ise 3 karbonlu bir alkoldür. IPA yapısında daha fazla karbon atomu taşınmasına rağmen Adenovirüslerin yapısında zarf bulunmaması nedeniyle bu virüs üzerinde etkisi azdır. Tam tersine IPA zarflı virüslere karşı EtOH'den daha etkilidir (Groupe et al., 1955, Grossgebauer, 1967). Adenovirüs gibi zarfsız virüslere

karşı daha az karbon içeren EtOH'un IPA'den daha etkili olduğu literatürde belirtilmektedir. Paulmann ve ark. (2011) Norovirüsler üzerinde yaptıkları çalışmada % 50 - 90 arası oranlarındaki EtOH ve IPA'nın, EtOH'un tüm konsantrasyonlarda IPA'den daha etkili olduğunu bildirmişlerdir (Paulmann et al., 2011). Adenovirüs, kedi calicivirüs gibi zarfsız virüslere karşı antiseptiklerin test edildiği bazı çalışmalarda da EtOH'un daha etkili olduğu gösterilmiştir (Gehrke et al., 2004, Scott, 1980, Rutala et al., 2006).

CHDG içermeyen (% 70 EtOH, % 70 IPA, % 60 EtOH + % 10 IPA) antiseptik maddeler ile CHDG içeren (70 EtOH + % 0,5 CHDG, % 70 IPA + % 0,5 CHDG, % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG) antiseptik maddelerin virüs miktarını azaltma oranlarında belirgin bir farklılık olmadığı görülmektedir. İnsan AdV-19 sonuçlarına göre 120 saniye sonunda % 70 EtOH ve % 70 EtOH + % 0,5 CHDG'a ait azalma oranları eşit ($2,25 \log_{10}$), %70 IPA + % 0,5 CHDG'ın % 70 IPA'den $0,25 \log_{10}$ fazla, % 60 EtOH + % 10 IPA ile % 60 EtOH + % 10 IPA + % 0,5 CHDG'ın da yine eşit ($2,875 \log_{10}$) çıkmıştır. İnsan AdV-37'de de benzer durum söz konusudur. Kurtz ve ark. (1979) çalışmalarında bazı antiseptik maddelerin zarfsız bir virüs olan ECHO Virüs üzerine etkilerini de araştırmışlar, % 95 IPA'nın ve % 70 IPA + % 0,5 CHG'ın virüs miktarını azaltma oranları arasında bir fark göstermediğini tespit etmişlerdir. Her iki antiseptik madde 1 dakika sonunda virüs miktarında değişikliğe sebep olmamıştır. Çalışmamızda da benzer sonuçlar alınmıştır. Literatürde, CHDG'ın alkol ile kombinasyonlarında alkol bileşiğinin daha uzun süre kullanılan yerde kalmasını sağladığı belirtilmektedir. (McDonnell, 2007, Iwasawa et al., 2012). Iwasawa ve ark. (2012), alkol temelli ticari el antiseptiklerinin farklı virüsler üzerindeki etkinliklerine baktıkları çalışmalarında da klorheksidin glukonat, benzalkonyum klorür gibi maddelerin alkollü kombinasyonlarının virüsler üzerine olan etkinliklerini arttırmadığını göstermişlerdir (Iwasawa et al., 2012).

Bu çalışmada etil alkol konsantrasyonları kıyaslandığında % 60 EtOH içeren kombinasyonların, % 70 EtOH içerenlere oranla virüs miktarında daha fazla azalmaya sebep olduğu görülmüştür. Gehrke ve ark. (2004) Adenovirus gibi zarfsız bir virüs olan Norovirüs'ün dezenfektanlara duyarlılığına baktıkları çalışmalarında, orta konsantrasyonlarda alkol içeren dezenfektanların, yüksek oranda alkol içerenlere oranla daha etkili olduğunu bulmuşlardır (Gehrke et al., 2004). İlgili çalışmada kültüründeki zorluklar sebebiyle Norovirüs'ün yerine KCV kullanılmıştır. Araştırmacılar etil alkol, 1-propanol ve 2-propanol (izopropanol)'ün değişik konsantrasyonlarının kullanıldığı ve kantitatif süspansiyon testinin uygulandığı çalışmalarında her üç alkol için de en etkili konsantrasyonların % 58 - % 67 arası olduğunu göstermişlerdir. Çıkarılan bilgiye göre %

67'lik EtOH 1 dakika içinde 3,8 log₁₀ oranında azalma göstermiştir. Bu çalışmada % 60 EtOH tek başına çalışılmamış, % 10'luk IPA ile kombine edilerek kullanılmıştır. Bu iki alkole ek olarak kombinasyona % 0,5 CHDG veya % 1 n-BuOH eklenmiştir. % 60 EtOH + % 10 IPA içeren antiseptik kombinasyon 1 dakika içinde insan AdV-19'da 2,25 log₁₀, insan AdV-37'de ise 1,75 log₁₀ azalmaya sebep olmuştur. % 70 EtOH 1 dakika içinde insan AdV-19'da 1,625 log₁₀ insan AdV-37'de ise 1,5 log₁₀ değerinde azalma göstermiştir. % 70 IPA ise 1 dakika içinde insan AdV-19'da 1,375 log₁₀, insan AdV-37'de ise 1,125 log₁₀'luk bir azalmaya sebep olmuştur. Bu veriler dikkate alındığında % 60 EtOH + % 10 IPA kombinasyonunun, % 70'lik alkollere oranla daha fazla azalma meydana getirdiği görülmektedir. Gehrke ve ark. (2004)'nin çalışmaları ile kıyaslandığında, bizim çalışmada 1 dakika içinde azalma oranı daha az görülmüştür. Bunun sebebi Gehrke ve ark. (2004)'nin çalışmalarında engelleyici ajan olarak FBS veya BSA gibi herhangi bir madde kullanmamış olmaları veya standart sertlikte su yerine distile su kullanmaları olabilir. Engelleyici bir protein yükünün dezenfektanların etkinliği üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu bilinmektedir. Aynı şekilde kullanılan suyun sertliği arttıkça antiseptik maddenin etkinliği azalmaktadır (Rutala et al., 2006). Distile suyun sertliği bizim çalışmada kullanılan standart sertlikteki sudan (300 ppm) daha düşüktür. Bunun dışında her iki virüs de ortak olarak zarfsız virüs olmasına karşın İnsan AdV ile KCV virüsleri kullanılan bu antiseptik maddelere farklı duyarlılığa da sahip olabilirler. Bu verilerin tam tersine, yüksek konsantrasyondaki EtOH'ün veya kombinasyonlarının düşük konsantrasyonlulara nazaran daha etkin bulunduğu ile ilgili de bazı araştırmalar vardır (Kurtz et al., 1980, Kampf et al., 2002, Lages et al., 2008, Paulmann et al., 2011, Kramer et al., 2006).

Bizim çalışmada virüs miktarlarında en fazla azalmayı n-BuOH içeren alkol kombinasyon gerçekleştirmiştir. % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH kombinasyonu İnsan AdV-19'da 120 saniye sonunda 3 log₁₀'luk bir azalmaya sebep olurken insan AdV-37'de ise 120 saniye sonunda 2,5 log₁₀'luk azaltma gerçekleştirmiştir. İçerisinde n-BuOH bulunmayan % 60 EtOH + % 10 IPA kombinasyonu ise insan AdV-19'da 2,875 log₁₀ insan AdV-37'de ise 2,375 log₁₀ oranında azalmaya sebep olmuştur.

Literatür incelendiğinde n-BuOH'ün antiseptik ve dezenfektan olarak az kullanıldığı saptanmıştır. n-BuOH ile ilgili çok az sayıda patent başvurusu bulunmaktadır (Demattei, 2013, Kampf G., 2012).

n-BuOH'ün EtOH ve IPA gibi suda iyi çözünen alkollere göre sudaki çözünürlüğünün düşük olması ve kokusunun hoş olmaması tercih edilmeme nedeni olarak gösterilmektedir (Block, 2000). Alkollerin suyla olan etkileşimine bakıldığında EtOH ve

IPA su ile tamamen karışırken, n-BuOH'ün su ile karışım oranı 7,7 g/100 g'dır. n-BuOH su hariç diğer çözücülerle (alkoller, ketonlar vs.) ise tamamen karışabilmektedir. Bizim çalışmamızda n-BuOH % 1 oranında olacak şekilde önce alkollerle çözülmüş sonrasında antiseptik karışım hazırlanmıştır. Bu şekilde n-BuOH'ün kullanılacak kombinasyon içerisinde diğer kimyasallar ile tamamen karışması sağlanmıştır. Kombinasyon içinde çok düşük oranda kullanıldığından rahatsız edici bir koku meydana getirmemiştir. Alkollerin molekül ağırlıkları dikkate alındığında n-BuOH'ün diğer alkollere göre daha avantajlı olduğu görülmektedir. Alkollerin moleküler ağırlıkları arttıkça antimikrobiyal etkileri artmaktadır (Block, 2000). EtOH'ün ve IPA'ün moleküler ağırlıkları sırasıyla 46,07 g/mol ve 60,10 g/mol iken, n-BuOH'ün moleküler ağırlığı 74,12 g/mol'dür (Block, 2000). Farklı alkollerin bakteriler üzerindeki bakteriyostatik ve bakterisidal etkinliklerinin araştırıldığı bir çalışmada *Staphylococcus aureus*'un üremesini inhibe eden alkol oranı EtOH için %7 iken n-BuOH için % 3 olarak bulunmuştur. Bakterileri öldürmek için gereken alkol oranı ise EtOH için % 65, IPA için % 45 iken n-BuOH için % 9 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada *Escherichia coli* üzerinde yapılan araştırmada ise bu bakteriyi öldürmek için gereken alkol oranları EtOH için % 60 - 65, IPA için % 26 iken n-BuOH için % 5 şeklinde bulunmuştur (Ascenzi, 1996). Bu bilgiler düşük orandaki n-BuOH'ün molekül ağırlığından dolayı yüksek oranlarda kullanılan diğer alkollere göre mikroorganizmalar üzerinde daha etkili olduğunu göstermektedir.

Düşük moleküler ağırlığa sahip alkoller daha çabuk buharlaşırken, yüksek moleküler ağırlığa sahip alkoller daha yavaş buharlaşır (Block, 2000). n-BuOH, EtOH ve IPA'e oranla daha yüksek moleküler ağırlığa sahiptir. Buda bize n-BuOH'ün daha yavaş buharlaşarak ciltte daha uzun süre kalabileceğini ve etkisini daha uzun süre gösterebileceğini düşündürmüştür. Bu avantajlarının yanı sıra n-BuOH ciltten emilen bir alkol olması önemli bir dezavantajdır (DiVincenzo and Hamilton, 1979). n-BuOH'ün toksisitesi (LD₅₀ 790 mg/kg) hayvan deneyleri sonuçlarına göre oral yoldan alındığında etanole oranla (LD₅₀ 7060 mg/kg) 8.9 kat daha fazladır (Lachenmeier et al., 2008). n-BuOH'ün dermal toksisitesi (LD₅₀ 3402 mg/kg) ise oral toksisitesine (LD₅₀ 790 mg/kg) oranla 4,3 kat daha az düzeydedir (Report, 2001).

El dezenfektanından bir kişi eline tek seferde 3 ml aldığını varsayarsak, bu 3 ml içerisinde n-BuOH oranı % 1 olacağından, 2 mg n-BuOH'e maruz kalacak demektir. Bir insanın ortalama 70 kilo olduğunu varsayarsak öldürücü doz 238 140 mg'a denk gelir. El antiseptiği içinde alınan miktar tehlikeli dozdan yaklaşık 119 070 katı daha az bir miktardır. n-BuOH vücutta yıkımı sonrasında CO₂ ve O₂'ye dönüşeceği, vücutta birikimi

olmadığı için kişiye zarar vermeyecektir. Çalışmamızda n-BuOH'ün yukarıdaki özellikleri dikkate alınarak, antiseptik kombinasyonu içerisinde % 1 oranında kullanılıp karışımdaki çözünürlüğü arttırılmış, dermal toksisite sınırının çok altında bir değerde antiseptik kombinasyonuna katılmıştır.

Sonuç olarak, n-BuOH içeren kombinasyon (% 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH) her iki Adenovirüs serotipine en etkili antiseptik olarak saptanmıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Epidemik keratokonjunktivit Adenovirüslerin sebep olduğu, semptomlarının haftalarca sürdüğü ve nozokomiyal enfeksiyonlara yol açabilen bir hastalıktır. Hastalığın ana bulaş sebebi kontamine eller ve nesnelere. İnfeksiyonlardan korunmaya yönelik tedbirlerin başında yeterli el hijyeninin sağlanması gelmektedir. El antiseptiklerinin EKK'in önlenmesinde ve salgınların durdurulmasında rolü çok önemlidir. Adenovirüsler zarfsız virüsler olmalarından dolayı bazı antiseptiklere dirençlidir. Adenovirüslerin sebep olduğu epidemik keratokonjunktivit salgınlarının önlenmesi için uygun antiseptik maddelerin uygun sürelerde kullanılması gerekir. Bu antiseptiklerin içerisinde çoğunlukla alkoller (etanol, izopropanol, n-propanol) ve etkinliği arttırıcı yardımcı maddeler (klorheksidin, benzalkonyum klorid, heksaklorofen vs.) bulunmaktadır.

Bu çalışmada epidemik keratokonjunktivit etkenlerinden insan Adenovirüs 19 ve 37 standart suşları üzerine, % 70 EtOH, % 70 IPA, % 70 EtOH + % 0,5 CHDG, % 70 IPA + % 0,5 CHDG, % 60 EtOH+ % 10 IPA, % 60 EtOH+ % 10 IPA + % 0,5 CHDG, % 60 EtOH+ % 10 IPA + % 1 n-BuOH antiseptik kombinasyonlarının 30, 60 ve 120 saniyedeki etkinlikleri araştırılmıştır.

Çalışma sonunda virüs miktarlarında $3 \log_{10}$ ve $2,5 \log_{10}$ ile en fazla azalma meydana getiren kombinasyon % 60 EtOH + % 10 IPA + % 1 n-BuOH olmuştur. Uluslararası standartlarda belirtilen ve el antiseptiklerinin virüsler üzerine etkili olduğunun göstergesi olan $4 \log_{10}$ 'luk azalma oranı çalışmada kullanılan hiçbir antiseptik yada kombinasyonu tarafından gerçekleştirilememiştir.

El antiseptiklerinin EKK'in önlenmesinde ve salgınların durdurulmasında rolü çok önemlidir. Bu nedenle el antiseptiklerinin daha farklı Adenovirus serotipleri üzerinde de test edilmesine ve farklı antiseptiklerin ve alkol kombinasyonların etkisini kapsayan yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- ALLARD, A., ALBINSSON, B. & WADELL, G. 2001. Rapid typing of human adenoviruses by a general PCR combined with restriction endonuclease analysis. *J Clin Microbiol*, 39, 498-505.
- ANDERSON, R. L. 1989. Iodophor antiseptics: intrinsic microbial contamination with resistant bacteria. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 10, 443-6.
- APOSTOLOV, K. 1980. The effects of iodine on the biological activities of myxoviruses. *J Hyg (Lond)*, 84, 381-8.
- ASCENZI, J. M. 1996. *Handbook of disinfectants and antiseptics*, New York, Dekker.
- AYLIFFE, G. A. 1984. Surgical scrub and skin disinfection. *Infect Control*, 5, 23-7.
- AYNUR KARADENIZLI, G. T., HÜSEYİN UZUNER, DOĞANHAN KADIR ER, FETİYE KOLAYLI, MERAL ORUÇ, DEMET OĞUZ. Year. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde Ortaya Çıkan Konjunktivit Salgınında Adenovirus Araştırılması ve Moleküler Yöntemle Tiplendirilmesi. In: 35. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 3-7 Kasım 2012 2012 Aydın, Türkiye.
- BEST, M., SATTAR, S. A., SPRINGTHORPE, V. S. & KENNEDY, M. E. 1988. Comparative mycobactericidal efficacy of chemical disinfectants in suspension and carrier tests. *Appl Environ Microbiol*, 54, 2856-8.
- BEST, M., SPRINGTHORPE, V. S. & SATTAR, S. A. 1994. Feasibility of a combined carrier test for disinfectants: studies with a mixture of five types of microorganisms. *Am J Infect Control*, 22, 152-62.
- BISCHOFF, W. E., REYNOLDS, T. M., SESSLER, C. N., EDMOND, M. B. & WENZEL, R. P. 2000. Handwashing compliance by health care workers: The impact of introducing an accessible, alcohol-based hand antiseptic. *Arch Intern Med*, 160, 1017-21.
- BLOCK, S. S. 2000. *Disinfection, sterilization, and preservation*, Philadelphia ; London, Lippincott Williams & Wilkins.
- BLOOMFIELD, S. F. & LOONEY, E. 1992. Evaluation of the repeatability and reproducibility of European suspension test methods for antimicrobial activity of disinfectants and antiseptics. *J Appl Bacteriol*, 73, 87-93.
- BOYCE, J. M. & PITTET, D. 2002. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Society for Healthcare Epidemiology of America/Association for Professionals in Infection Control/Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep*. 2002/11/07 ed.
- BRANDT, C. D., KIM, H. W., VARGOSKO, A. J., JEFFRIES, B. C., ARROBIO, J. O., RINDGE, B., PARROTT, R. H. & CHANOCK, R. M. 1969. Infections in 18,000 infants and children in a controlled study of respiratory tract disease. I. Adenovirus pathogenicity in relation to serologic type and illness syndrome. *Am J Epidemiol*, 90, 484-500.
- BROWN, M., GRYDSUK, J. D., FORTSAS, E. & PETRIC, M. 1996. Structural features unique to enteric adenoviruses. *Arch Virol Suppl*, 12, 301-7.
- BROWN, S. M., LUBIMOVA, A. V., KHRUSTALYEVA, N. M., SHULAEVA, S. V., TEKHOVA, I., ZUEVA, L. P., GOLDMANN, D. & O'ROURKE, E. J. 2003. Use of an alcohol-based hand rub and quality improvement interventions to improve hand hygiene in a Russian neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 24, 172-9.

- BUDTZ-JORGENSEN, E. & LOE, H. 1972. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. *Scand J Dent Res*, 80, 457-64.
- CAILLIER, L., DE GIVENCHY, E. T., LEVY, R., VANDENBERGHE, Y., GERIBALDI, S. & GUITTARD, F. 2009. Synthesis and antimicrobial properties of polymerizable quaternary ammoniums. *Eur J Med Chem*, 44, 3201-8.
- CARGILL, D. I., ROCHE, E. D., VAN DER KAR, C. A., SLADE, H. B., AUST, D. T., CARSON, D. L. & SEAL, L. A. 2011. Development of a health care personnel handwash with 6-hour persistence. *Am J Infect Control*, 39, 226-34.
- CARTER, J. B. & SAUNDERS, V. A. 2007. *Virology : principles and applications*, Chichester, John Wiley.
- CASEWELL, M. & PHILLIPS, I. 1977. Hands as route of transmission for Klebsiella species. *Br Med J*, 2, 1315-7.
- CHANG, S. C., LI, W. C., HUANG, K. Y., HUANG, Y. C., CHIU, C. H., CHEN, C. J., HSIEH, Y. C., KUO, C. Y., SHIH, S. R. & LIN, T. Y. 2013. Efficacy of alcohols and alcohol-based hand disinfectants against human enterovirus 71. *J Hosp Infect*, 83, 288-93.
- CHEUNG, D., BREMNER, J. & CHAN, J. T. 2003. Epidemic kerato-conjunctivitis--do outbreaks have to be epidemic? *Eye (Lond)*, 17, 356-63.
- CICEK, C., SANLIDAG, T., AKCALI, S., SAYAN, M., YALAZ, M. & METIN, D. Y. 2012. [Molecular typing of adenoviruses isolated from clinical specimens by PCR and DNA sequencing methods]. *Mikrobiyol Bul*, 46, 607-13.
- COLLIER, L. H. & OXFORD, J. S. 2006. *Human virology : a text for students of medicine, dentistry, and microbiology*, Oxford, Oxford University Press.
- CURTIS, S., WILKINSON, G. W. & WESTMORELAND, D. 1998. An outbreak of epidemic keratoconjunctivitis caused by adenovirus type 37. *J Med Microbiol*, 47, 91-4.
- DAVID O. WHITE, F. J. F. 1994. Adenoviridae. In: DAVID O. WHITE, F. J. F. (ed.) *Medical Virology*. 4 ed. San Diego: Academic Press Inc.
- DEMATTEI, C. 2013. *METHOD FOR THE FORMULATION OF HAND SANITIZER*. US2012/061631.
- DIVINCENZO, G. D. & HAMILTON, M. L. 1979. Fate of n-butanol in rats after oral administration and its uptake by dogs after inhalation or skin application. *Toxicol Appl Pharmacol*, 48, 317-25.
- DORING, G., ULRICH, M., MULLER, W., BITZER, J., SCHMIDT-KOENIG, L., MUNST, L., GRUPP, H., WOLZ, C., STERN, M. & BOTZENHART, K. 1991. Generation of Pseudomonas aeruginosa aerosols during handwashing from contaminated sink drains, transmission to hands of hospital personnel, and its prevention by use of a new heating device. *Zentralbl Hyg Umweltmed*, 191, 494-505.
- ECHAVARRIA, M. 2004. Adenoviruses. In: ZUCKERMAN, A. J. (ed.) *Principles and practice of clinical virology*. 5th ed. Chichester: Wiley.
- ECHAVARRIA, M., SANCHEZ, J. L., KOLAVIC-GRAY, S. A., POLYAK, C. S., MITCHELL-RAYMUNDO, F., INNIS, B. L., VAUGHN, D., REYNOLDS, R. & BINN, L. N. 2003. Rapid detection of adenovirus in throat swab specimens by PCR during respiratory disease outbreaks among military recruits. *J Clin Microbiol*, 41, 810-2.
- EDWARDS, K. M., THOMPSON, J., PAOLINI, J. & WRIGHT, P. F. 1985. Adenovirus infections in young children. *Pediatrics*, 76, 420-4.
- EGGERS, H. J. 1990. Experiments on antiviral activity of hand disinfectants. Some theoretical and practical considerations. *Zentralbl Bakteriolog*, 273, 36-51.

- ERSOY, Y., OTLU, B., TURKCUOGLU, P., YETKIN, F., AKER, S. & KUZUCU, C. 2012. Outbreak of adenovirus serotype 8 conjunctivitis in preterm infants in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect*, 80, 144-9.
- FENDLER, E. & GROZIAK, P. 2002. Efficacy of alcohol-based hand sanitizers against fungi and viruses. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 23, 61-2.
- FORD, E., NELSON, K. E. & WARREN, D. 1987. Epidemiology of epidemic keratoconjunctivitis. *Epidemiol Rev*, 9, 244-61.
- FROBISHER, M., JR. & SOMMERMEYER, L. 1953. A study of the effect of alcohols on tubercle bacilli and other bacteria in sputum. *Am Rev Tuberc*, 68, 419-24.
- GEHRKE, C., STEINMANN, J. & GORONCY-BERMES, P. 2004. Inactivation of feline calicivirus, a surrogate of norovirus (formerly Norwalk-like viruses), by different types of alcohol in vitro and in vivo. *J Hosp Infect*, 56, 49-55.
- GOPAL RAO, G., JEANES, A., OSMAN, M., AYLOTT, C. & GREEN, J. 2002. Marketing hand hygiene in hospitals--a case study. *J Hosp Infect*, 50, 42-7.
- GRAHAM, M. L., SPRINGTHORPE, V. S. & SATTAR, S. A. 1996. Ex vivo protocol for testing virus survival on human skin: experiments with herpesvirus 2. *Appl Environ Microbiol*, 62, 4252-5.
- GROSSGEBAUER, K. 1967. Assessment of virucidal ability of chemical disinfectants. *Appl Microbiol*, 15, 316-8.
- GROUPE, V., ENGLE, C. G., GAFFNEY, P. E. & MANAKER, R. A. 1955. Virucidal activity of representative antiinfective agents against influenza A and vaccinia viruses. *Appl Microbiol*, 3, 333-6.
- GÜNAYDIN, M. 2009. Adenovirüsler. In: BAŞUSTAOĞLU, A. (ed.) *Klinik Mikrobiyoloji*. 9 ed. Ankara: Atlas Kitapçılık.
- HALL, C. B., DOUGLAS, R. G., JR. & GEIMAN, J. M. 1980. Possible transmission by fomites of respiratory syncytial virus. *J Infect Dis*, 141, 98-102.
- HARRACH, B. 2008. Adenoviruses: General Features. In: MAHY, B. W. J. & VAN REGENMORTEL, M. H. V. (eds.) *Encyclopedia of virology*. 3rd ed. Amsterdam ; London: Academic.
- HAYASHI, S. & HOGG, J. C. 2007. Adenovirus infections and lung disease. *Curr Opin Pharmacol*, 7, 237-43.
- HIERHOLZER, J. C. 1992. Adenoviruses in the immunocompromised host. *Clin Microbiol Rev*, 5, 262-74.
- HIERHOLZER, J. C., HALONEN, P. E., DAHLEN, P. O., BINGHAM, P. G. & MCDONOUGH, M. M. 1993. Detection of adenovirus in clinical specimens by polymerase chain reaction and liquid-phase hybridization quantitated by time-resolved fluorometry. *J Clin Microbiol*, 31, 1886-91.
- HILBURN, J., HAMMOND, B. S., FENDLER, E. J. & GROZIAK, P. A. 2003. Use of alcohol hand sanitizer as an infection control strategy in an acute care facility. *Am J Infect Control*, 31, 109-16.
- HORWITZ M, S. 2001. Adenoviruses. In: FIELDS, B. N., KNIPE, D. M. & HOWLEY, P. M. (eds.) *Fields virology*. 4th ed. / editors-in-chief, David M. Knipe, Peter M. Howley, associate editors, Diane E. Griffin ... [et al.] ed. Philadelphia ; London: Lippincott Williams & Wilkins.
- IWASAWA, A., NIWANO, Y., KOHNO, M. & AYAKI, M. 2012. Virucidal activity of alcohol-based hand rub disinfectants. *Biocontrol Sci*, 17, 45-9.
- JONES, R. D., JAMPANI, H. B., NEWMAN, J. L. & LEE, A. S. 2000. Triclosan: a review of effectiveness and safety in health care settings. *Am J Infect Control*, 28, 184-96.
- KAMM, O. 1921. The relation between structure and physiologic action of the alcohols. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 87-92.

- KAMPF, G., GROTHEER, D. & STEINMANN, J. 2005. Efficacy of three ethanol-based hand rubs against feline calicivirus, a surrogate virus for norovirus. *J Hosp Infect*, 60, 144-9.
- KAMPF, G. & KRAMER, A. 2004. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. *Clin Microbiol Rev*, 17, 863-93, table of contents.
- KAMPF, G., RUDOLF, M., LABADIE, J. C. & BARRETT, S. P. 2002. Spectrum of antimicrobial activity and user acceptability of the hand disinfectant agent Sterillium Gel. *J Hosp Infect*, 52, 141-7.
- KAMPF G., C. J., SVEN EGGERSTEDT, MARCO RUDOLF. 2012. *MULTI-PURPOSE HAND DISINFECTANT*. 20120208894.
- KEMP, M. C., HIERHOLZER, J. C., CABRADILLA, C. P. & OBIJESKI, J. F. 1983. The changing etiology of epidemic keratoconjunctivitis: antigenic and restriction enzyme analyses of adenovirus types 19 and 37 isolated over a 10-year period. *J Infect Dis*, 148, 24-33.
- KHANNA, N., GOLDENBERGER, D., GRABER, P., BATTEGAY, M. & WIDMER, A. F. 2003. Gastroenteritis outbreak with norovirus in a Swiss university hospital with a newly identified virus strain. *J Hosp Infect*, 55, 131-6.
- KRAMER, A., GALABOV, A. S., SATTAR, S. A., DOHNER, L., PIVERT, A., PAYAN, C., WOLFF, M. H., YILMAZ, A. & STEINMANN, J. 2006. Virucidal activity of a new hand disinfectant with reduced ethanol content: comparison with other alcohol-based formulations. *J Hosp Infect*, 62, 98-106.
- KRILOV, L. R. & HARKNESS, S. H. 1993. Inactivation of respiratory syncytial virus by detergents and disinfectants. *Pediatr Infect Dis J*, 12, 582-4.
- KURTZ, J. B. 1979. Virucidal effect of alcohols against echovirus 11. *Lancet*, 1, 496-7.
- KURTZ, J. B., LEE, T. W. & PARSONS, A. J. 1980. The action of alcohols on rotavirus, astrovirus and enterovirus. *J Hosp Infect*, 1, 321-5.
- LACHENMEIER, D. W., HAUPT, S. & SCHULZ, K. 2008. Defining maximum levels of higher alcohols in alcoholic beverages and surrogate alcohol products. *Regul Toxicol Pharmacol*, 50, 313-21.
- LAGES, S. L., RAMAKRISHNAN, M. A. & GOYAL, S. M. 2008. In-vivo efficacy of hand sanitisers against feline calicivirus: a surrogate for norovirus. *J Hosp Infect*, 68, 159-63.
- LARSON, E. 1988. A causal link between handwashing and risk of infection? Examination of the evidence. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 9, 28-36.
- LARSON, E. 1999. Skin hygiene and infection prevention: more of the same or different approaches? *Clin Infect Dis*, 29, 1287-94.
- LELAND, D. S. & GINOCCHIO, C. C. 2007. Role of cell culture for virus detection in the age of technology. *Clin Microbiol Rev*, 20, 49-78.
- LOWBURY, E. J. & LILLY, H. A. 1960. Disinfection of the hands of surgeons and nurses. *Br Med J*, 1, 1445-50.
- LOWBURY, E. J., LILLY, H. A. & AYLIFFE, G. A. 1974. Preoperative disinfection of surgeons' hands: use of alcoholic solutions and effects of gloves on skin flora. *Br Med J*, 4, 369-72.
- LYNCH, J. P., 3RD, FISHBEIN, M. & ECHAVARRIA, M. 2011. Adenovirus. *Semin Respir Crit Care Med*, 32, 494-511.
- MAKI, D. G. 1989. The use of antiseptics for handwashing by medical personnel. *J Chemother*, 1 Suppl 1, 3-11.
- MCDONNELL, G. & RUSSELL, A. D. 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev*, 12, 147-79.

- MCDONNELL, G. E. 2007. Antiseptics and Antisepsis. In: MCDONNELL, G. E. (ed.) *Antisepsis, disinfection, and sterilization : types, action, and resistance*. Washington, D.C.: ASM ; [Oxford : Blackwell, distributor].
- MCMURRY, L. M., OETHINGER, M. & LEVY, S. B. 1998. Triclosan targets lipid synthesis. *Nature*, 394, 531-2.
- MEDINA KAUWE, L. K. 2003. Endocytosis of adenovirus and adenovirus capsid proteins. *Adv Drug Deliv Rev*, 55, 1485-96.
- MEYER-RUSENBERG, B., LODERSTADT, U., RICHARD, G., KAULFERS, P. M. & GESSER, C. 2011. Epidemic keratoconjunctivitis: the current situation and recommendations for prevention and treatment. *Dtsch Arztebl Int*, 108, 475-80.
- MORTON, H. E. 1950. The relationship of concentration and germicidal efficiency of ethyl alcohol. *Ann N Y Acad Sci*, 53, 191-6.
- NHUNG, D. T., FREYDIERE, A. M., CONSTANT, H., FALSON, F. & PIROT, F. 2007. Sustained antibacterial effect of a hand rub gel incorporating chlorhexidine-loaded nanocapsules (Nanochlorex). *Int J Pharm*, 334, 166-72.
- OJAJARVI, J. 1981. The importance of soap selection for routine hand hygiene in hospital. *J Hyg (Lond)*, 86, 275-83.
- PAULMANN, D., STEINMANN, J., BECKER, B., BISCHOFF, B. & STEINMANN, E. 2011. Virucidal activity of different alcohols against murine norovirus, a surrogate of human norovirus. *J Hosp Infect*, 79, 378-9.
- PITTET, D. 2001. Improving adherence to hand hygiene practice: a multidisciplinary approach. *Emerg Infect Dis*, 7, 234-40.
- PITTET, D., HUGONNET, S., HARBARTH, S., MOUROUGA, P., SAUVAN, V., TOUVENEAU, S. & PERNEGER, T. V. 2000. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. Infection Control Programme. *Lancet*, 356, 1307-12.
- PLATT, J. & BUCKNALL, R. A. 1985. The disinfection of respiratory syncytial virus by isopropanol and a chlorhexidine-detergent handwash. *J Hosp Infect*, 6, 89-94.
- REGOS, J. & HITZ, H. R. 1974. Investigations on the mode of action of Triclosan, a broad spectrum antimicrobial agent. *Zentralbl Bakteriol Orig A*, 226, 390-401.
- REPORT, O. S. I. A. 2001. n-Butyl Alcohol Bern, Switzerland.
- RHEE, E. G. 2010. Adenoviruses. In: MANDELL, G. L., BENNETT, J. E. & DOLIN, R. (eds.) *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 7th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone/Elsevier.
- ROBINSON C, E. M. 2003. Adenoviruses. In: MURRAY, P. R. & BARON, E. J. (eds.) *Manual of clinical microbiology*. 8th ed. ed. Washington, D.C.: ASM ; [Oxford : Blackwell].
- RUSSELL, A. D. 1986. Chlorhexidine: antibacterial action and bacterial resistance. *Infection*, 14, 212-5.
- RUSSELL, A. D. & DAY, M. J. 1993. Antibacterial activity of chlorhexidine. *J Hosp Infect*, 25, 229-38.
- RUSSELL, A. D. & FURR, J. R. 1977. The antibacterial activity of a new chloroxylenol preparation containing ethylenediamine tetraacetic acid. *J Appl Bacteriol*, 43, 253-60.
- RUSSELL, W. C. 2009. Adenoviruses: update on structure and function. *J Gen Virol*, 90, 1-20.
- RUTALA, W. A., PEACOCK, J. E., GERGEN, M. F., SOBSEY, M. D. & WEBER, D. J. 2006. Efficacy of hospital germicides against adenovirus 8, a common cause of epidemic keratoconjunctivitis in health care facilities. *Antimicrob Agents Chemother*, 50, 1419-24.

- SATTAR, S. A., ABEBE, M., BUETI, A. J., JAMPANI, H., NEWMAN, J. & HUA, S. 2000. Activity of an alcohol-based hand gel against human adeno-, rhino-, and rotaviruses using the fingerpad method. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 21, 516-9.
- SATTAR, S. A., RAPHAEL, R. A., LOCHNAN, H. & SPRINGTHORPE, V. S. 1983. Rotavirus inactivation by chemical disinfectants and antiseptics used in hospitals. *Can J Microbiol*, 29, 1464-9.
- SATTAR, S. A., SPRINGTHORPE, V. S., ADEGBUNRIN, O., ZAFER, A. A. & BUSA, M. 2003. A disc-based quantitative carrier test method to assess the virucidal activity of chemical germicides. *J Virol Methods*, 112, 3-12.
- SAUERBREI, A., SEHR, K., BRANDSTADT, A., HEIM, A., REIMER, K. & WUTZLER, P. 2004. Sensitivity of human adenoviruses to different groups of chemical biocides. *J Hosp Infect*, 57, 59-66.
- SCOTT, F. W. 1980. Virucidal disinfectants and feline viruses. *Am J Vet Res*, 41, 410-4.
- SHAKER, L. A., FURR, J. R. & RUSSELL, A. D. 1988. Mechanism of resistance of *Bacillus subtilis* spores to chlorhexidine. *J Appl Bacteriol*, 64, 531-9.
- SPRINGTHORPE, S. 2000. Disinfection of surfaces and equipment. *J Can Dent Assoc*, 66, 558-60.
- STANDARDIZATION, E. C. F. 2011. Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in human medicine - Test method and requirements (phase 2, step 1). European Committee For Standardization.
- TAKEUCHI, S., ITOH, N., UCHIO, E., TANAKA, K., KITAMURA, N., KANAI, H., ISOBE, K., AOKI, K. & OHNO, S. 1999. Adenovirus strains of subgenus D associated with nosocomial infection as new etiological agents of epidemic keratoconjunctivitis in Japan. *J Clin Microbiol*, 37, 3392-4.
- THOMAS, S. E. 2001. Adenoviridae: The Viruses and Their Replication. In: KNIPE, D. M., HOWLEY, P. M. & GRIFFIN, D. E. (eds.) *Fundamental virology*. 4th ed. / editors-in-chief, David M. Knipe, Peter M. Howley, associate editors, Diane E. Griffin ... [et al.] ed. Philadelphia ; London: Lippincott-Raven.
- TONY WALLS, A. G. S., AND DELANE SHINGADIA 2003. Adenovirus: an increasingly important pathogen in paediatric bone marrow transplant patients. *The Lancet Infectious Diseases*, 3, 79-86.
- VAN ENGELBURG, F. A., TERPSTRA, F. G., SCHUITEMAKER, H. & MOORER, W. R. 2002. The virucidal spectrum of a high concentration alcohol mixture. *J Hosp Infect*, 51, 121-5.
- VISCHER, W. A. & REGOS, J. 1974. Antimicrobial spectrum of Triclosan, a broad-spectrum antimicrobial agent for topical application. *Zentralbl Bakteriolog Orig A*, 226, 376-89.
- VOSS, A. & WIDMER, A. F. 1997. No time for handwashing!? Handwashing versus alcoholic rub: can we afford 100% compliance? *Infect Control Hosp Epidemiol*, 18, 205-8.
- WALSH, B., P. H. BLAKEMORE, AND Y. J. DRABU 1987. The effect of handcream on the antibacterial activity of chlorhexidine gluconate. *J. Hosp. Infect.*, 30-33.
- WASSERBAUER, S., PEREZ-MEZA, D. & CHAO, R. 2008. Hydrogen peroxide and wound healing: a theoretical and practical review for hair transplant surgeons. *Dermatol Surg*, 34, 745-50.
- WEBSTER, J., FAOAGALI, J. L. & CARTWRIGHT, D. 1994. Elimination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a neonatal intensive care unit after hand washing with triclosan. *J Paediatr Child Health*, 30, 59-64.

YAGCI, R., AKCALI, A., YAGCI, S., KONNO, T., ISHIKO, H., DUMAN, S. & OZKAYA, E. 2010. Molecular identification of adenoviral conjunctivitis in Turkey. *Eur J Ophthalmol*, 20, 669-74.

ÖZGEÇMİŞ

1. KİŞİSEL BİLGİLER

Ad - Soyad : Hüseyin UZUNER
Doğum Yeri ve Tarihi : İzmit / 05.08.1986
Uyruğu : T.C.
Medeni Durumu : Bekâr
Askerlik Durumu : Tecilli
Çalıştığı Kurum : Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

2. EĞİTİM BİLGİLERİ

2010 - 2013: Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
2005 - 2010: Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (1 Yılı Yabancı Dil Hazırlık Programı)
2000 - 2004: Gölcük İhsaniye Anadolu Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)

3. ÜNVANLARI

2012 - Halen: Araştırma Görevlisi

4. ÜYE OLDUĞU MESLEKİ KURULUSLAR

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti
Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği

5. BİLİMSEL ETKİNLİKLER

A- Bildiriler

1. Karadenizli A., Özdemir L., Er D. K., **Uzuner H.**, Survival of *Francisella tularensis* in Amies agar with charcoal under different temperature conditions. International Symposium on Francisella Tularensis and Tularemia, P:26, June 19-22, 2013, Nevşehir
2. Karadenizli A., Saliha Gürbüz Y., Özdemir L., Er D. K., **Uzuner H.**, Erçin C., Detection of *Francisella tularensis* DNA in paraffin embedded appendix tissue samples by RT TaqMan PCR, International Symposium on Francisella Tularensis and Tularemia, P: 39, June 19-22, 2013, Nevşehir

3. Karadenizli A., Türker G., **Uzuner H.**, Er D. K., Kolaylı F., Oruç M., Oğuz D., Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde Ortaya Çıkan Konjunktivit Salgınında Adenovirüs Araştırılması ve Moleküler Yöntemle Tiplendirilmesi. 35. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Poster no: 155, 3-7 Kasım 2012, Aydın
4. **Özdemir L.**, Karadenizli A., **Uzuner H.**, Er D. K., Türkiye'de İlk Kez Besi Hayvanlarında Ve Bakıcılarında Çiftlik Hayvanlarıyla İlişkili Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (La-MRSA) Kolonizasyonunun Araştırılması. 35. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Poster no: 362, 3-7 Kasım 2012, Aydın
5. **Ergin Ç.**, Karadenizli A., Tatman Oktun M., Akaya Y., Kiriş Satılmış Ö., Akçalı A., **Uzuner H.**, *Francisella tularensis* antikorları pozitif olan hasta serum örneklerinde *Bartonella henselae* antikorlarının araştırılması. 7. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, Poster no: 56, 5-8 Haziran 2012, Ankara.
6. **Uzuner H.**, Dündar D., *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Bazı Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesinde Vitek 2'nin Performansı, I. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Poster No: 130, 12-16 Kasım 2011, Antalya
7. **Dündar D.**, Sönmez Tamer G., **Uzuner H.**, *Proteus* Cinsi Bakterilerde Imipenem Direnci, I. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Poster No: 034, 12-16 Kasım 2011, Antalya
8. **Sönmez Tamer G.**, Dündar D., **Uzuner H.**, Kistik ekinokokkozis tanısında immünokromatografik testin yeri var mı?, I. Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Sözlü Sunum No: 2.8, 12-16 Kasım 2011, Antalya

B- Katıldığı Kurs ve Eğitimler

1. Temel Biyoinformatik Teknikler Kursu: Antibiyotik Direnç Genlerinin Analizi ve Virolojideki Uygulamalar, 31 Ekim-3 Kasım 2012, 35. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Öncesi Kursları
2. Elektroforez ve Polimeraz Zincirleme Tepkimesi Kuramsal ve Uygulamalı Kursu, 8-9 Eylül 2012, Acıbadem Üniversitesi
3. III. Temel Klinik Proteomiks Uygulamaları Kursu, 6-10 Haziran 2011, Kocaeli Üniversitesi
4. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı, 15-26 Mart 2010, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi