Fotokatalizörlerin Anti-Mikrobiyal Etkinliğinin Klinik ve Laboratuar Ortamda Değerlendirilmesi

Clinical and Laboratory Evaluation of Anti-Microbial Efficacy of Photocatalysts

Fotokatalizörler ve Anti-Mikrobiyal Etkinlik / Photocatalysts & Antimicrobial Efficacy

Berkant Özpolat[1], Tarık Çavuşoğlu[2], Seyhan Yılmaz[3], Ünase Büyükkoçak[4], Serdar Günaydın[3]
[1]Göğüs Cerrahisi AD, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kırıkkale, Türkiye.
[2]Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi AD, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kırıkkale, Türkiye.
[3]Kalp Damar Cerrahisi AD, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kırıkkale, Türkiye.
[4]Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kırıkkale, Türkiye.

Özet

Amaç

Çalışmamız yeni kuşak fotokatalizörlerden olan apatit kaplı demir titanat uygulamasının, olası anti-mikrobiyal etkinliğinin araştırılmasını; in vitro ve hastane içi uygulamalarda test edilmesini amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntemler

30 adet standart steril petri kutusu buhar fazında 20 ppm apatit kaplı demir titanat uygulamasına tabi tutulduktan sonra floresan ışık altında 4 gün tutuldu. 10 kutuya 0,5 McFarland (1.5X108 CFU/mL -CFU=koloni oluşturucu birim) Pseudomonas aeruginosa, 10 kutuya 0,5 McFarland Acinetobacter baumannii ekimi yapıldı. 10 kutu ise kontrol olarak saklandı. Örnekler uygulama sonrası bakteriyel sağkalım oranı (CFUX100/CFU) yönünden değerlendirildi. İkinci aşamada hastanede belli mekânlarda yüzeylere özel uygulama kitiyle buhar fazında 0.012 L/m2 uygulama yapıldı. Fotokatalizör uygulamasından hemen önce ve 1 ay sonra havadaki parçacık miktarı lumimetre ile ölçülerek karşılaştırıldı.

Bulgular

Bakteriyel sağkalım oranları Pseudomonas aeruginosa için fotokatalizör kaplı yüzeylerde kontrol grubuna oranla 2. günden sonra anlamlı olarak azalmış bulundu (p<0.001) (%60±8 / %95±9). Fark 4. güne kadar artarak devam etti (3. gün: %35±5 / %90±9; 4. gün: %22±5 / %85±8). Acinetobacter baumannii uygulanan yüzeylerde de bakteriyel sağkalım 2. günden sonra anlamlı olarak düşük çıktı (%55±7 / %87±8) (p<0.01). Fark 4. güne kadar artarak devam etti (3. gün: %40±5 / %80±8; 4. gün: %15±5 / %78±7). Fotokatalizör kaplı yüzeylerde havadaki parçacık miktarında, ameliyathanede %97.15, yoğun bakımda %95.61, doktor odasında %98.30, serviste %94.13 ve hastane mutfağında %97.04 azalma belirlendi.

Sonuç

Fotokatalizör kaplamanın öncü değerlendirme çalışmalarından biri olan araştırmamız sonucunda, gerek laboratuar gerekse klinik ortamlarda bakterisit ve bakteriostatik etkinliği ortaya konulmuş ve hastane sterilizasyonunda ucuz ve güvenli bir alternatif olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler

Titanyum Dioksit, Anti-infektif Ajanlar, Mikrobiyal Duyarlılık Testleri.

Abstract

Aim

This study aims at investigating and testing the tentative antimicrobial efficacy; in vitro and in- hospital applications of apatite coated ferrum titanate which is one of the new generation photocatalysts.

Material and Methods

30 sterile petri dishes were kept under florescent light for 4 days following the application of 20 ppm apatite coated ferrum titanate aerosol. 0.5 McFarland (1.5X108 CFU/mL -CFU=colony forming unit) Pseudomonas aeruginosa and 0.5 McFarland Acinetobacter baumannii were cultured on 10 separate dishes. 10 unprocessed dishes were used as controls. Samples were evaluated for bacterial survival rate (CFUX100/CFU) after application. In the second step, same photocatalyst aerosol was applied as 0.012 L/m2 with the specific kit on the surfaces of different units within the hospital. Particle count was measured and compared before and one-month after the photocatalyst application by lumimeter.

Results

Bacterial survival rate was significantly lower on photocatalyst applied surfaces versus control for Pseudomonas aeruginosa after second day of application (p<0.001) (60±8% / 95±9%). This difference continued up to the 4th day gradually (3. day: 35±5% / 90±9%; 4. day:22±5% / 85±8%). Bacterial survival rate was significantly lower on photocatalyst applied surfaces versus control for Acinetobacter baumannii after the second day of application (55±7% / 87±8%) (p<0.01). This difference continued up to the 4th day gradually (3. day:40±5% / 80±8%; 4. day:15±5% / 78±7%). Particle count on photocatalyst applied surfaces diminished 97.15% in operating room, 95.61% in ICU, 98.30 in physicians' room, 94.13% in wards and 97.04% in hospital kitchen.

Conclusions

As a result of our pioneering study on the evaluation of photocatalyst, we think that it may be one of the economic and safe alternative methods of hospital sterilization based on bactericidal and bacteriostatic efficacy confirmed in both laboratory and clinical applications.

Keywords

Titanium Dioxide, Anti-Infective Agents, Microbial Sensitivity Tests.

DOI: 10.4328/JCAM.262 **Received:** 24.04.2010 **Accepted:**19.05.2010 **Printed:** 01.05.2011 J Clin Anal Med 2011;2(2):79-82
Corresponding Author: Serdar Günaydın, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kalp Damar Cerrahisi AD, Fabrikalar Mah. Kırıkkale, Türkiye.
Phone: +903182252485 Faks: +903182240786 **E-mail:** sgunaydin@isnet.net.tr

Giriş

Günümüzde, çöp fırınlarından çıkan dioksin, gemi boyasında kullanılan organotin bileşikleri, poliklorlu bifeniller, tarımda kullanılan kimyasallar, solventler, formaldehit, ksilol, azot oksitler, kükürtlü bileşikler, insektisitler ve deterjanlar artan bir ivmeyle çevre kirliliğine yol açmaktadırlar. Bu kimyasallar son derece düşük konsantrasyonlarda bile zararlı olabilecek maddeleri içermektedirler. Söz konusu bu maddeler su, hava ve toprağı küresel düzeyde kirletmektedir ve yok edilmeleri çok zordur [1,2]. Bunların yanısıra hastane enfeksiyonları ve viral pandemiler de insan yaşamını tehdit eden önemli faktörler haline gelmiştir. Amerikan kaynaklı istatistiklerde yılda 1,7 milyon hastanın etkilendiği çeşitli tipteki hastane içi enfeksiyonlarda 100.000 üzerinde ölüme rastlanmakta ve ekonomik olarak 6,5 milyar dolarlık bir kayba yol açmaktadır. Söz konusu sorunlar küresel düzeyde görülmektedir ve insan varlığını tehdit eden önemli birer konu haline gelmiştir [3,4].

Fotokatalizör maddeler uzunca bir zamandır tanınmakta olup, çevre temizliği ve endüstride kullanımları için çalışmalar yapılmaktadır. Fotokatalizör bir madde, ortamda ışık bulunduğunda, zararlı organik kimyasal maddeleri karbondioksit ve su olarak ayrıştırıp detoksifiye edebilir. Yarı iletkenler ve metal karışımlar fotokatalizör olarak kullanılmaktadır ve değerlik elektron grubu ışık enerjisine maruz kalınca uyarılırlar. Uyarılmış elektrondan gelen bu artık enerji elektronu fotokatalizörün iletim grubuna geçirir. Böylece negatif yüklü elektron ve pozitif yüklü boşluk çifti meydana gelir ve sonuçta fotokatalizör çok güçlü redüksiyon ve oksidasyon yeteneği kazanır. Su ve oksijen molekülleri, fotokatalizör etkisi ile hidroksil ve süperoksit anyonları meydana getirirler [5-7].

Fotokatalizör sistemler, çevre ve insan için zararlı olan moleküller üzerindeki parçalayıcı etkisinin yanında, bakteriostatik ve bakterisit etkisini de serbest oksijen radikalleri aracılığı ile yaparlar. Oksidatif radikaller, bakterilerin hücre membranında bulunan lipit ve proteinleri okside ederek hücrenin membran yapısını bozarlar ve hücrenin ölümüne sebep olurlar. Ayrıca bakteri hücresinde DNA hasarı da meydana getirirler. Oksidatif radikaller en fazla, antioksidan sistemi bulunmayan anaerob bakteriler üzerinde etkilidirler. Bu bakteriler en erken dönemde zarar görürler. Ayrıca antioksidan sistemleri sınırlı olan bakteriler de kısa sürede zarar görür [8].

En sık kullanılan ve bilinen fotokatalizör titanyum dioksittir (TiO2). TiO2'nin pigment olarak kullanılması yaygındır. Güvenlidir, toksik değildir ve büyük bir dayanıklılığa sahiptir. TiO2 in fotokatalizör olarak birçok avantajı vardır, ancak bunlar büyük bir enerjiye sahip ultraviyole ışına maruz kalmadıkları sürece işlev görmezler. Güneş ışığında yalnızca %3~4 oranında, floresan ışıkta ise çok daha düşük oranda ultraviyole ışığı vardır. Bu nedenle, fotokatalizörü iç mekânlarda daha verimli olarak kullanmak için görünür ışıkta da çalışanlara ihtiyaç vardır [9]. TiO2 ve demirin birleşmesiyle oluşan düşük maliyetli, güvenli ışık fotokatalizörü; apatit kaplı demir titanat ($Ca10(PO_4)_6(OH)_2$+$FeTiO_3$) (Easycoat, Japonya) yeni kullanıma sunulmuş fotokatalizörlerden biridir.

Çalışmamız apatit kaplı demir titanat uygulamasının olası antimikrobiyal etkinliğinin araştırılmasını, in vitro ve hastane içi uygulamalarda test edilmesini amaçlamaktadır.

Yeni kuşak fotokatalizör madde laboratuar ortamında en ciddi hastane enfeksiyon etkenlerinden olan Pseudomonas aeruginosa ve Acinetobacter baumannii ajanlarıyla muamele edilerek sonuçlar değerlendirilmiş; ikinci aşamada ise hastanenin steril ve non-steril alanlarına uygulama yapılarak havadaki parçacık konsantrasyonu işlem öncesi ve bir ay sonrası olarak karşılaştırılmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Apatit kaplı demir titanat görünür ışık fotokatalizörü (Easycoat, Osaka, Japonya) Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Etik Kurulundan izin alındıktan sonra (2010-145) laboratuar koşullarında anti-mikrobiyal özellikler açısından değerlendirilmiş, ikinci aşamada ise hastanenin 5 biriminde yüzey uygulaması yapılarak öncesi ve sonrasında havadaki parçacık miktarları ölçülmüştür.

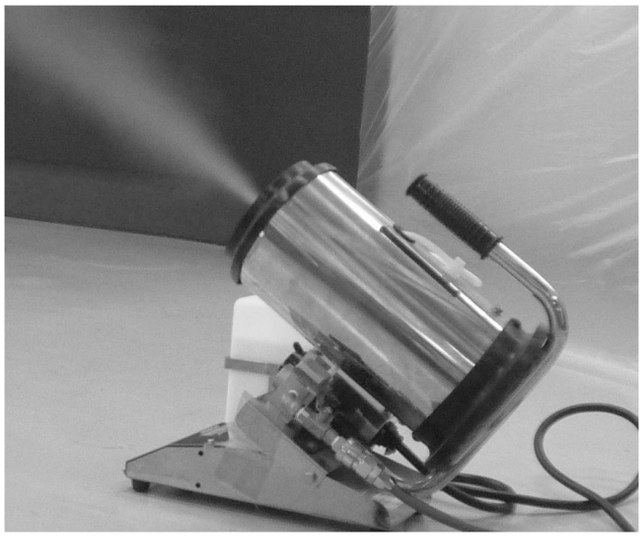
Laboratuar Değerlendirme

30 adet standart steril petri kutusu kontrol kültür örnekleri alınarak özel uygulama kitiyle buhar fazında 20 ppm apatit kaplı demir titanat uygulamasına tabi tutulduktan sonra floresan ışık altında 4 gün tutuldu. 10 kutuya 0,5 McFarland (1.5X108 CFU/mL (CFU=koloni oluşturucu birim) Pseudomonas aeruginosa, 10 kutuya 0,5 McFarland Acinetobacter baumannii ekildi. 10 kutu ise kontrol olarak saklandı. Örnekler floresan ışık altında 37°C sıcaklıkta 5 gün boyunca saklandı. Örnekler uygulama sonrası 6. saat, 12. saat, 24. saat, 36. saat, 2. gün, 3. gün ve 4. günlerde bakteriyel sağkalım oranı yönünden değerlendirildi.
(Bakteriyel Sağkalım Oranı= CFUX100/CFU).

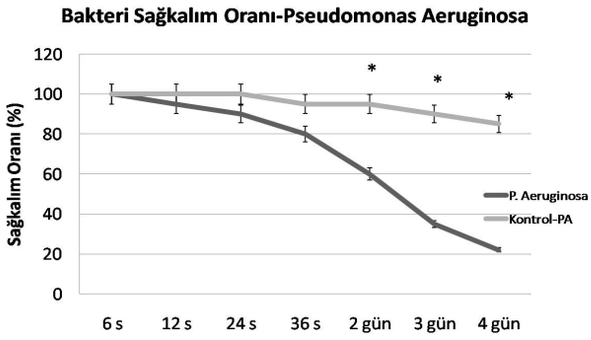
Hastane Uygulamaları

Hastanenin Göğüs Cerrahisi, Kalp ve Damar Cerrahisi ve Plastik Rekonstrüktif Cerrahi ortak ameliyathanesi, reanimasyon yoğun bakım, yoğun bakım doktor odası, Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi servisi pansuman odası ve hastane mutfağında tüm yüzeylere özel uygulama kitiyle buhar fazında 0.012 L/m2 apatit kaplı demir titanat uygulaması yapıldı (Şekil 1). İşlem öncesinde ve bir hafta sonrasında her birimde 3 noktadan kontrol kültürleri alındı. Fotokatalizör uygulamasından hemen önce ve 1 ay sonra havadaki parçacık miktarı lumimetre ile ölçülerek karşılaştırıldı (Lumitester-100, Kikkoman, Tokyo, Japonya). Her bir birimde üç referans nokta temel alınarak parçacık ölçümleri yapıldı ve ortalamaları alındı. Lumimetre'nin DNA ve AMP ölçüm duyarlılığı 4X10-12M düzeyinde sabitlenerek ortamdaki olası en küçük canlı parçacıkların test edilmesi amaçlandı [9].

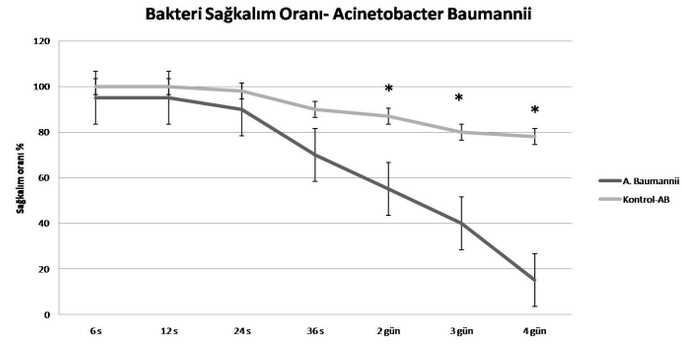
Veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Takip eden ölçümler için Varyans Analizi, gruplar arası karşılaştırma için eşleştirilmemiş t- testi kullanıldı. $p<0.05$ ve altı anlamlı kabul edildi.



Şekil 1. Fotokatalizör maddenin özel aplikatörle yüzeylere uygulanması



Şekil 2. Psedumonas aeruginosa için bakteri sağkalım oranının seyri



Şekil 3. Acinetobacter baumannii için bakteri sağkalım oranının seyri

Bulgular

Laboratuar Değerlendirme

Bakteriyel sağkalım oranları Pseudomonas aeruginosa için fotokatalizör kaplı yüzeylerde kontrol grubuna oranla 2. günden sonra anlamlı olarak azalmış bulundu (p<0.001) (P. Aeruginosa: %60±8 Kontrol: %95±9) (Şekil 2). Fark 4. güne kadar artarak devam etti (3. gün/%35±5 Kontrol: %90±9; 4. gün/ %22±5 Kontrol: %85±8). Acinetobacter baumannii uygulanan yüzeylerde de bakteriyel sağkalım 2. günden sonra anlamlı olarak düşük çıktı (A. baumannii: %55±7 Kontrol: %87±8) (p<0.01) (Şekil 3). Fark 4. güne kadar artarak devam etti (3. gün/ %40±5 Kontrol: %80±8; 4. gün/ %15±5 Kontrol: %78±7).

Hastane Uygulamaları

Çalışılan ortamlardan işlem öncesi ve sonrası alınan rutin kültürlerde herhangi bir üreme saptanmadı. Fotokatalizör kaplı yüzeylerde Göğüs Cerrahisi, Kalp ve Damar Cerrahisi ve Plastik Rekonstrüktif Cerrahi ortak ameliyathanesinde (%97.15), reanimasyon yoğun bakımda (%95.61), yoğun bakım doktor odasında (%98.3), Göğüs, Kalp ve Damar cerrahisi servisi pansuman odasında (%94.13) ve hastane mutfağında (%97.04) havadaki parçacık miktarında ileri derecede anlamlı azalma belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1. Hastane içi yüzeylerde fotokatalizör öncesi ve 1 ay sonrası parçacık sayısı değişimi

	Parçacık Sayısı (N) (Fotokatalizör Öncesi)	Parçacık Sayısı (N) (Fotokatalizör Sonrası)	% Azalma
Ameliyathane	11900	340	97.15
Yoğun Bakım	27292	1199	95.61
Doktor Odası	14302	244	98.3
Servis	45726	2885	94.13
Hastane Mutfağı	71761	2118	97.04

Tartışma

Son teknoloji fotokatalizörler ilk kuşağa kıyasla önemli farklar göstermektedirler. Gerek doğal ışık gerekse kullanılan herhangi bir ışık kaynağı aracılığı ile faaliyet göstermesi, kullanılan titanyum hidroksit dolgu maddesinin ürünün devamlılığını sağlaması ve dış etkenlere karşı dirençli hale getirmesi, kullanılan apatit kaplamanın nanotubüler yapısı, parçacıkların ve büyük moleküllerin ürün üzerinde yakalanmasını ve fotokataliz anında parçalanmasını sağlaması önemli kullanım üstünlükleri sağlamaktadır. Apatitin dikenli yapısı yüzeye mükemmel bir tutunma sağlayarak, fotokatalitik kaplama yapılmış yüzeyin uzun süre katalitik özelliğini korumasını ve reaksiyonun tamamen yüzeyde gerçekleşmesini sağlar. Bu sayede reaksiyon sırasında oluşan radikallerin ortamdaki canlılar tarafından solunmasına veya değişik yollarla vücuda temas etmesine engel olur [10].

Fotokatalizör aktiviteyi gösteren temel molekül $FeTiO_3$ (Demir Titanat) molekülüdür. Ortamdaki ışık enerjisini kullanan $FeTiO_3$ yine ortamda bulunan su (H_2O) molekülünde bulunan H atomunu iyonize ederek su molekülünü parçalar. Böylece fotokatalizörün bulunduğu ortamda serbest oksijen radikalleri ve iyonize H atomları meydana çıkar. Saniyenin 1/100 000'inden daha kısa sürede bu iyonize atom ve atom grupları tekrar birleşme ve tekrar parçalanmayı içeren bir döngü içinde, duvar yüzeyinden yukarı doğru yükselir. Süreç kaplanan yüzeyin tamamında ve yüzeye bitişik olarak ve yüzeyden mikrometrik ölçülerden daha uzak olmayarak, ışık enerjisi mevcut olduğu sürece tekrarlanır. Bakteriler, virüsler, mantarlar ve havada bulunan zararlı moleküller hava akımları ile ürünün kaplı bulunduğu yüzeye gider ve burada zararsız hale gelirler [11].

Doğal hava sirkülasyonunun mevcut olduğu ortamlarda, mevcut organik moleküllerin parçalanması sonucu meydana gelecek olan karbon dioksit, nem ve diğer küçük moleküller zaten dış ortama atılacağından her hangi bir ek önleme gerek olmayacaktır. Tamamen kapalı ve havalandırmanın az, organik moleküllerin fazla olduğu ortamlarda, oluşacak nem, fazla karbondioksit ve diğer küçük moleküllerin dışarı atılmasını sağlayacak, basit ve sınırlı sürelerde çalıştırılacak bir hava tahliye sistemi yararlı olacaktır [12-14].

Çalışmamızda apatit kaplı demir titanat uygulamasına tabi tutulduktan sonra floresan ışık altında 4 gün tutulan petri kaplarına yapılan ekimlerde 2. günden sonra bakterisit etkinlik belirgin şekilde ortaya konmuştur. En sık karşılaşılan ve tedavisi oldukça güç olan iki anaerob hastane enfeksiyonu ajanı için de benzer etkinlik laboratuar koşullarında ortaya konmuştur. Ayrıca oluşan fotokatalitik etkinin tek bir ajana yönelik olmadığı ortaya konarak bakterisidal bir dirence karşı da etkin olabileceği düşünülmektedir.

Hastane enfeksiyonları tüm dünyada maddi manevi kayıplarıyla giderek önemli bir sorun haline gelmiştir. Avrupa Birliğinin son araştırmalarında basit bir nazokomiyal enfeksiyonun bile ortalama hasta yatış süresini 4 gün uzattığı ve günlük 2250 Euro ek gidere yol açtığı ortaya konmuştur [15].

Ameliyathane temizliğinde kullanılan maddelerin ve tek başına ultraviyole ışığının etkinliği tartışmalıdır. Fotokatalizör uygulamalarda ise 3 yıla kadar devamlı bir koruma sağlanmakta ve apatit kaplama avantajıyla temizlik de oldukça kolaylaşmaktadır. Parçacık sayıcı kullanılan çalışmamızda mutlak sterilite beklenen hastane bölgelerinde en az 2000 ve üzeri DNA varlığı tespit edilmiş ve var olan sterilizasyon sistemlerinin etkin sonuçlar doğurmadığı görülmüştür. Uygulama sonucunda ilk bir ay içinde %95 ve üzeri başarı oldukça önemli bir sonuç olarak görülmektedir. Üstelik ameliyatların pek çoğu normal ışık altında yapıldığından koruyucu etkinlik devamlı olarak 3 yıla kadar sürebilecektir. Bu konudaki takip çalışmalarımız da sürmektedir.

Sonuç olarak fotokatalizörler kolay ve güvenli kullanımıyla normal ışık altında dünyanın her yerinde kullanıma uygun yeni bir sterilizasyon teknolojisidir. Öncü değerlendirme çalışmalarından biri olan değerlendirmemiz sonucunda da gerek laboratuar gerekse klinik ortamlarda bakterisit ve bakteriostatik etkinliği ortaya konmuş ve hastane sterilizasyonunda ucuz ve güvenli bir alternatif olabileceği düşünülmüştür.

Kaynaklar

1. Taoda H. Evolving photocatalysts. Monthly Journal of Global Environment 2007;450:104-105.
2. Chapuis Y, Klvana D, Guy C, Kirchnerova J. Photocatalytic oxidation of volatile organic compounds using fluorescent visible light. J Air Waste Manag Assoc 2002;52:845-54.
3. Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, Perneger TV. Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. Infection Control Programme. Lancet 2000; 356(9238):1307-12.
4. Kerwat K, Graf J, Wulf H. Nosocomial infections. Anasthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther 2010;45:30-1.
5. Koseki H, Shiraishi K, Asahara T, Tsurumoto T, Shindo H, Baba K, Taoda H, Terasaki N. Photocatalytic bactericidal action of fluorescent light in a titanium dioxide particle mixture: An in vitro study. Biomed Res. 2009;30:189-92.
6. Maldotti A, Andreotti L, Molinari A, Carassiti V. Photochemically driven models of oxygenases based on the use of iron porphyrins. J Biol Inorg Chem 1999;4:154-61.
7. Vega A, Imoberdorf GE, Keshmir M, Mohseni M. Novel composite photocatalyst made of TiO(2) nanoparticles. Water Sci Technol 2010;61:903-9.
8. Pan X, Medina-Ramirez I, Mernaugh R, Liu J. Nanocharacterization and bactericidal performance of silver modified titania photocatalyst. Colloids Surf B Biointerfaces 2010;77:82-9.
9. Yang D, Liu H, Zheng Z, Yuan Y, Zhao JC, Waclawik ER, Ke X, Zhu H. An efficient photocatalyst structure: TiO(2)(B) nanofibers with a shell of anatase nanocrystals. J Am Chem Soc 2009;131:17885-93.
10. Li Puma G, Bono A, Krishnaiah D, Collin JG. Preparation of titanium dioxide photocatalyst loaded onto activated carbon support using chemical vapor deposition: a review paper. J Hazard Mater 2008;157:209-19.
11. Jo WK, Kim JT.Application of visible-light photocatalysis with nitrogen-doped or unmodified titanium dioxide for control of indoor-level volatile organic compounds. J Hazard Mater 2009;164:360-6.
12. Paschoalino MP, Jardim WF. Indoor air disinfection using a polyester supported TiO2 photo-reactor. Indoor Air 2008;18:473-9.
13. Hodgson AT, Destaillats H, Sullivan DP, Fisk WJ. Performance of ultraviolet photocatalytic oxidation for indoor air cleaning applications. Indoor Air 2007;17:305-16.
14. Ohko Y, Utsumi Y, Niwa C, Tatsuma T, Kobayakawa K, Satoh Y, Kubota Y, Fujishima A. Self-sterilizing and self-cleaning of silicone catheters coated with TiO(2) photocatalyst thin films: a preclinical work. J Biomed Mater Res 2001;58:97-101.
15. Okubo T. Infection control and prevention in the operating theater. Masui 2010;59:17-24.