

İlaçların Mikrobiyolojik Standardizasyonu

La Standardisation Microbiologique des Medicaments

Ahmet AKIN*

GİRİŞ

Önceleri bir tedavi aracı olarak kullanılan ilaçların mikroorganizma içerebileceği ve bazı hastalıkların nedeni olabileceği düşünülüyor veya düşünülme istenmiyordu. Oysa 1963 yılında ağız yoluyla (Oral) alınan ve lokal olarak kullanılan kontamine farmasötik şekillerin bazı enfeksiyonlara neden olduğu saptandıktan sonradır ki ilaçların enfeksiyon kaynağı olabileceği anlaşıldı (5).

Gerçekten ilaçlardaki patojen mikroorganizmaların bir enfeksiyona neden olabileceğine dair örnekler pek az değildir. Örneğin *Ps. aeruginosa* içeren bir göz damlası, kullanan hastalarda yaygın göz hastalığının oluşmasında rol oynamıştır (2). Ayrıca oral yolla alındıktan sonra ortaya çıkan besin tipi enfeksiyonda *Salmonella*'lar (6) ve başlangıçta lokal fakat generalize olmaya eğilimli bir enfeksiyonda da *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae* familyasına ait mikroorganizmalar ile diğer Gram (-) basiller ve bu mikroorganizmaları içeren ilaçlar sorumlu tutulmuşlardır (9, 10).

Bilindiği gibi başlangıçta ilaçlar, reçeteye göre eczacılar tarafından yapılmakta ve tıbbi kuralların denetiminde kısa sürede kullanılmakta idi. Oysa bu gün ilaçlar giderek artan sayıdaki ilaç fabrikalarında hazırlanmakta ve fabrikasyondan uzun bir süre sonra ve büyük bir hasta kitlesi tarafından kullanılabilir. Bu durum ilaçların mikrobiyolojik olarak steril olmalarını veya hiç değilse patojen mikroorganizma içermemelerini gerektirmektedir. Çünkü ec-

Redaksiyona verildiği tarih: 25 Ocak 1981

* Mikrobiyoloji ve Besin Analizleri Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

zacının yaptığı ilaçta bir tek hasta, fabrikasyon ilaçlarda ise büyük bir hasta kitlesi enfeksiyona yakalanabilir.

Ülkemizde de ilaçların büyük bir bölümü eczacı yerine, artık fabrikalarda hazırlanmaktadır. Elimizde, yurdumuzda üretilen ilaçların içerdikleri patojen mikroorganizmalar ile bir enfeksiyon kaynağı olduğunu veya olabileceğini gösteren bir bulgu bulunmamaktadır.

Bu durum, üretilen ilaçların steril olduklarından değil, ilaçların mikrobiyolojik analizleri ile ilgili bir çalışmanın yapılmamış olmasından ileri gelmektedir. Kaldı ki; kan tranfüzyonunda yararlanılan ve mikrobiyolojik olarak steril olması istenen kanın, neden olduğu enfeksiyonlar ile prognozu iyiye giden hastaların ölümüne yol açtığı belleklerden henüz silinmemiştir.

Bu güne değin ülkemizde yayınlanan farmakopelerde* ilaç ve ham maddeleri, fiziksel ve kimyasal özellikleri ile ele alınmış, mikrobiyolojik saflığı konusunda bir kural getirilmemiştir.

Şu halde bizim de ilaçların mikrobiyolojik saflığı konusuna eğilmemiz ve kullanılış yollarına göre bazılarının steril olmalarını, diğerlerinin de içediği veya içerebileceği mikroorganizma miktarını sınırlandırmamız yani mikrobiyolojik olarak standardize etmemiz gerekmektedir. Hareket noktası olarak, Uluslararası Eczacılık Federasyonu tarafından önerilen ve bu gün hemen bütün Avrupa ülkelerinin kabul ettiği ilkeleri benimseyebiliriz. Bu kuralları açıklamadan önce, ilaçların mikrobiyolojik kontaminasyonlarının kökenini incelemek faydalı olacaktır.

Farmasötik şekillerin mikrobiyolojik Kontaminasyonlarının kökeni:

ilaçların mikrobiyolojik kontaminasyonu; ilacın yapımında kullanılan ham madde, hazırlanışları ve farmasötik şekilleri ile yakından ilgilidir.

a) Hammaddenin tabiatı ve özelliği:

İlaçların mikrobiyolojik kontaminasyonunda rol oynayan ana faktörlerden ilki ve en önemlisi, bitkisel ve hayvansal kökenli hammaddelerdir.

* Farmakopeler resmi belgeler olduğundan literatür olarak belirtilmemiştir.

Bunun yanında, bazı organik maddeler, vitaminler, steroid'ler, talk, laktoz, magnezyum karbonat, magnezyum hidroksit, alüminyum hidroksit, alüminyum fosfat ve kaolin gibi maddeler de önemli bir kontaminasyon kaynağı olabilirler (2).

Mevcut mikroorganizmalar çoğunlukla barsak florasına aittir. Salmonella gibi patojenitesi yüksek bir bakterinin bulunma olasılığı, kontaminasyon derecesini insan sağlığı açısından ağırlaştırmaktadır.

Karşılaşılan mikroorganizmalar arasında, aerop sporlu basiller, Gram (-f-) koklar (**Micrococcus, Staphylococcus, D Grubu Streptococcus**'lar), mayalar ve küfler (**Aspergillus, Penicillium** ve **Saccharomyces** grubu) sayılabilir. Bu mikroorganizmaların çoğunluğu ısıya dirençlidir.

b)- **Fabrikasyon hijyeni:**

ilaçların mikroorganizmalar ile kontaminasyonunda rol oynayan bir diğer etmen de fabrikasyonlarıdır. Burada çevre koşulları, kullanılan araç ve gereçler ile personel hijyeni, optimal kontaminasyon şansını arttıran veya azaltan etmenlerdir.

Ayrıca kontaminasyon, fabrikasyon şekilleri ile de yakından ilgilidir. Örneğin komprime yapımında granülasyon için kullanılan su, hem mikroorganizmaların çoğalmasında kolaylaştırmakta, hem de germ miktarının artması riskini doğurmaktadır (2).

e)- **Farmasötik şekilleri:**

Bir ilacın mikrobiyolojik kontaminasyonu direkt olarak onun farmasötik şekli ve bileşimi ile yakından ilgilidir. Örneğin sıvı ve yarı katı preparatlar son derece tehlikelidir, çünkü mikroorganizmalar beslenecekleri maddeyi erimiş halde almak zorundadırlar; bu da bir mikroorganizmanın üreyebilmesi için, bulunduğu ortamın belirli oranda su içermesini gerektirmektedir.

Sıvı majistral formlar üzerinde yaptığımız bir çalışmada, denemeye alınan numunelerin maya ve küf yönünden % 32 sinin, total aerop bakteri miktarı yönünden % 56 sının, Uluslararası Eczacılık Federasyonu'nun önerilerine göre kabul edilebilir olduğunu saptadık. Numunelerin % 8 inde Gram (+) koklara ve % 40 ında da Gram (-) basillere rastladık. Bu arada izole ettiğimiz multirezistan bir

Ps. aeruginosa suşu, ilaçların mikrobiyolojik kontaminasyonlarında farmasötik şekillerin önemini göstermektedir (4).

Gerçi bu tür preparatlara etanol, şeker ve benzeri antimikrobik yani bakterilerin çoğalmasını inhibe eden maddeler ilave edilir. Fakat, sıvı ve yarı katı preparatlarda *Pseudomonas*'lar, *Enterobacteri*'ler gibi mikroorganizmaların oluşturdukları enzimlerin yardımıyla çoğalabileceklerini unutmamak gerekir (2).

DONY (2) tarafından 1976 yılında yapılan bir çalışmada denemeye aldığı hammadde ve farmasötik şekiller ile elde ettiği sonuçlar, bir tablo halinde aşağıda özetlenmiştir (Tablo 1).

Bu tablonun incelenmesinden anlaşılacağı gibi, özellikle hammaddelerin % 4-26 sında 10^4 - 10^6 /g veya ml oranında aerop bakteri saptanmış olması ve yine pomat ve supozituarlar ile sıvı farmasötik şekillerde kontaminasyon oranının diğer farmasötik şekillere oranla yüksek bulunması, ilaçların kontaminasyon orijinlerinin neler olabileceğini açıkça göstermektedir.

Yukarıda da açıkladığımız gibi kontamine olan bir ilacın içerdiği mikroorganizma türleri, hava, su, insan, hayvan ve bitkisel flora ya bağlı olarak değişir. Bununla beraber bazı ilaçlarda yavaş da olsa bir otosterilizasyonun olduğu ve bazı mikroorganizma türlerinin bu esnada öldükleri gözlenmiştir (2).

Rastlanan mikroorganizmaların başında aerop sporlu basiller gelmektedir. Bu bakteriler *Bacillus anthracis* hariç çoğunluğu saprofitlidir. Sporlu şekilleri özellikle ısıya ve antimikrobik ajanlara karşı dirençlidirler. Onların bu özellikleri toz haldeki ilaçlarda da bulunma nedenlerini açıklamaktadır. Clostridium tipi anaerop sporlu bakterilere gelince, bunlar doğada oldukça yaygındır. Dış etkenlere karşı dirençlidirler ve oksijene olan hassasiyetlerinden dolayı, ilaçlarda çok nadir rastlanmaktadır. Bununla beraber bazı literatürler, özel koşullarda (anaerop ortam gibi) bu mikroorganizmaların da kontaminasyona neden olabileceklerini belirtmektedirler (12). Fakat bu güne değin Clostridium tipi mikroorganizmaların en tehlikelisi olan *Clostridium botulinum*'un ilaçlarda bulunduğu veya izole edildiği bildirilmemiştir (2). Bu, 200 g *Cl. botulinum* ekzotoksininin dünyada yaşayan tüm insanları öldürecek güçte olduğu düşünülürse sevinilecek bir husustur.

Tablo I. DONY tarafından yapılan çalışma sonuçları (2).

	Hammadde			Farmasötik Şekiller			
	Organik Kimyasal Mad.	Hayvan orijinli Mad.	Bitki Orijinli Mad.	Katı Ş. Komprime granül, toz, jelül	Pomat Supozituar	Sıvı Şekil	Sulu Süspansiyon
Örnek miktarı	123	129	110	505	198	1.106	121
Jerm sayısı/gram	%	%	%	%	%	%	%
< 10 ²	86	33	25	57	88	87	40
10 ² — 10 ⁴	10	44	34	30	8	7	25
10 ⁴ — 10 ⁶	4	23	26	12	3	5	31
> 10 ⁶	—	—	15	1	1	1	4
Aerop sporlu basil	87	62	54	81	99.4	73	56
Pseudomonas, Alcaligenes	—	1.3	1.5	1	0.3	15	27
Enterobacteriaceae	2	11.7	24	7	0.3	7	14
D grubu St. faecalis	5.5	18	13	8.5	—	—	—
(Gram (+) Coccus	1	—	1.5	1.5	—	0.5	—
Küfler	4.5	7	6	1	—	4.5	3

Dikkate değer bir diğer bakteri gurubuda Gram (–) basillerdir. Bunlar arasında: **E. coli**, **Enterobacter**, **Klebsiella**, **Hafnia**, **Citrobacter**, **Salmonella**, **Proteus** ile **Pseudomonas** gurubuna giren mikroorganizmaları sayabiliriz.

Bu mikroorganizmaların çoğunluğu oportünist yani potansiyel patojendir. Bir başka deyişle insan ve hayvanların normal florasında bulunan bu bakteriler, buldukları ortamın dışına çıktıklarında patojenlik özelliği kazanır. Örneğin, barsak florasına ait gemilerden *E. coli*'nin Encephalitis'e neden olması gibi. Biyolojik orijinli hammaddelerde çoğunlukla bulunabilir ve buna paralel olarak, bunları içeren kuru preparatlarda intestinal orijinli kirlilik beldeği olarak saptanabilirler.

Enterobacteriaceae familyasına ve *Pseudomonas* grubuna ait türler antimikrobik, dezenfektan ve konservatör ajanlara karşı oldukça dirençlidirler. Karbon kaynağı olarak değişik organik bileşiklerini kullanabilmeleri bu bakterilerin krem ve süspansiyonlarda bulunmalarını ve burada çoğalmalarını açıklamaktadır. **DONY** (2) ye göre Tween'ler gibi emülgatör, Parabenler gibi konservatör ajanlar ve Amonyum kuaterner türevleri indükleyici maddeler gibi görev yapabilir ve bu mikroorganizmaların çoğalmalarını kolaylaştırabilir.

Farmasötik preparatlarda özellikle sıvı majistiral formlarda, *Staphylococcus*'ların çoğalma riski zayıftır (1, 3, 4). Bununla beraber bu olasılık vardır. Ayrıca *Staphylococcus aureus*'un oluşturduğu ekzotoksinin besin zehirlenmelerinde de rol oynadığı unutulmamalıdır.

Bazı araştırmacılar, çeşitli farmasötik formların hazırlanmasında yararlanılan suyun kontaminasyondaki riskinin önemini vurgulamaktadırlar. Bunlar özellikle enjektabl olmayan ilaçların hazırlanmasında kullanılan ve farmakopeler tarafından önerilen deiyonize suyun bir masif kontaminasyon kaynağı olabileceğini ve su numuneleri üzerinde yapılan çalışmalarda 10^5 /ml. germ bulunmasının nadir olmadığını saptandığını bildirmektedirler (2).

İlaçların mikrobiyolojik kontaminasyonlarının önemi anlaşıldıktan sonra, mevcut olabilecek mikroorganizma miktarı sınırlanmak istenmiş ve bu amaçla iki seçenek önerilmiştir.

İsveç sağlık otoriteleri tarafından önerilen ilk seçenekte, bazı mikroorganizmalar yönünden spesifik bir inceleme yapılmaksızın, ilacın her bir gram veya ml. sinde mikroorganizma miktarının 10^2 germi aşmaması istenmektedir (7).

MİLLET ve **DONY** (8), tarafından önerilen ikinci seçenekte ise ilaçların kullanılış şekilleri ile, germlerin ekolojik verilerinin göz önünde tutulması istenmektedir. Bir başka deyişle kalitatif ve kantitatif olarak ortaya konan kuralların, lokal veya oral yolla kullanılan ilaçlarda ayrı ayrı düşünülmesi gerekir.

İkinci seçenek Amerika ve Avrupa ülkelerinde tartışmanın temeli olarak kabul edilmiş ve Uluslararası Eczacılık Federasyonu'nca da benimsenmiştir. Bu federasyon 1972 yılında steril olma zorunluluğu olmayan farmasötik preparatların, mikrobiyolojik saflığı konusundaki genel problemleri içeren bir rapor yayınlamıştır. Bu rapor ilaçların mikrobiyolojik saflığı konusunda önerilen kuralları ve mikrobiyolojik analiz yöntemlerini içeriyordu (11). Bu konuda yapılan çalışmalar ile pratikteki uygulamalar sonucu elde edilen yeni veriler dikkate alınarak bazı modifikasyonlar yapılmış ve bunlar 1975 yılında ikinci bir rapor halinde yayınlanmıştır (5).

Uluslararası Eczacılık Federasyonu'nca benimsenen ve ikinci raporda belirtilen, ilaçların mikrobiyolojik standardizasyonu ile ilgili öneriler bir tablo halinde gösterilmiştir (Tablo II).

Tablo II nin incelenmesinden anlaşılacağı gibi, ilaçlar 3 grup altında toplanmıştır. Enjekte edilenler ile oftalmik preparatlar, vücut boşluklarına, yanıklara uygulanan ve ağır ülserasyonlarda kullanılan ilaçlar ilk gruba sokulmuş ve steril olmaları, en azından ilacın 1 g veya 1 ml sinde canlı mikroorganizma bulunmaması istenmiştir.

İkinci gruba kulak, burun, boğaz, deri gibi organlara lokal olarak uygulanan ilaçlar sokulmuştur. Bu ilaçlarda Enterobacteriaceae familyasına ait mikroorganizmalar ile *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bulunmayacak, canlı mikroorganizma miktarı 10^2 /g veya ml yi aşmayacak. Aynı grup ilaçlarda maya ve küf miktarı maksimum 10^2 /g veya ml olacaktır.

Diğer preparatlar üçüncü grupta yer almışlardır. Bunlarda, aerob bakteriler maksimum 10^3 - 10^4 /g veya ml, maya ve küf miktarı

10^2 /g veya ml olarak sınırlanmıştır. Aynı gurup ilaçların g veya ml sinde, Salmonella spesiesleri, *Ps. aeruginosa* ve *Staph. aureus* bulunmaması, Salmonella'lar hariç diğer Enterobacterilerin maksimum miktarının 10^2 /g veya ml olması istenmektedir.

Tablo 11. Farmasötik preparasyonların gurupları ve mikrobiyolojik saflık dereceleri (5).

Kategori	Farmasötik şekil	izin verilen mikroorganizma miktarı
1 a	Enjektabl preparatlar	Mutlaka steril.
1 b	Oftalmik preparatlar, normal olarak jerm içeren vücut boşlukları ve yanıklara uygulanan ağır ülserasyonlarda kullanılan ilaçlar	1 g veya ml de mikroorganizma bulunmayacak.
2	Kulak, boğaz, burun, deri vs. gibi organlara lokal olarak uygulanan ilaçlar.	Canlı mikroorganizma miktarı g veya ml de 10^2 yi geçmeyecek, Enterobacteriaceae fam. ait mikroor. ile <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ve <i>Staphylococcus aureus</i> bulunmayacak.
3	Diğer preparatlar	Canlı mikroorganizma miktarı: aerop bakteriler için: 10^3 - 10^4 /g veya ml Maya ve küf için: 10^2 /g veya ml Her türlü durumda; diğer Enterobacteri'ler max. 10^2 /g veya ml 1 g veya ml de Salmonella bulunmayacak. 1 g veya ml de <i>Ps. aeruginosa</i> bulunmayacak 1 g veya ml de <i>Staph. aureus</i> bulunmayacak.

Şüphesiz organizma, salyanın bakterisid etkisi, mide asiditesi ve enzimleri, pankreas öz sayu, safra, kıl, deri, göz yaşı, kalın barsaktaki normal flora ile buraya tesadüfen gelen mikroorganizmalar arasındaki rekabet vs. gibi mikroorganizmalara karşı savunma araçlarıyla donatılmıştır. Bununla beraber, bazı patolojik hallerde bu savunma mekanizması bozulmakta, ilaçlar yoluyla gelen mikroorganizmaların vücuda yerleşmesin kolaylaşmaktadır.

SONUÇ

Sonuç olarak özellikle yurdumuzda ilaç mikrobiyolojisi ve ilaçların mikrobiyolojik standardizasyonu bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Zaman yitirmeden bu konuda gerekli inceleme ve araştırmalar yapılmalı, ilaçlarımız mikrobiyolojik yönden standardize edilmeli, ilaç. üretiminde rol alan fabrika veya kuruluşların konula-

çak kurallara uyup uymadıkları fakültemizde veya diğeri ilgili kurumlarda çalışan eczacılar tarafından denetlenmelidir. Gerekiirse bu kurallara uymayan fabrika veya kuruluşların kapatılmaları sağlanmalıdır.

ÖZET

Farmakopelerimiz incelendiğinde ilaçlarımızın mikrobiyolojik olarak standardize edilmediği görölmektedir. Bu çalışmada, Uluslararası Eczacılık Federasyonu tarafından önerilen farmasötik preparatların kategorilerine göre mikrobiyolojik saflığı ile ilgili kurallar açıklanmıştır (Tablo II). Zaman geçirmeden yurdumuz koşulları da gözetilerek, ilaçlarımız bu kurallar çerçevesinde mikrobiyolojik olarak standardize edilmelidir.

RESUME

Si on examine minitieuement les pharmacopées Turc, verra qu'on n'a pas microbiologiquement standardisé notre médicaments. Dans cette recherche, nous avons expliqué les normes de pureté microbiologique selon les catégories de préparations pharmaceutiques qui ont été proposés de la part de la Fédération International Pharmaceutique (Tableau II). Donc, sans passer le temps, en tenant compte des conditions de la Turquie, on doit microbiologiquement standardiser notre médicaments.

LİTERATÜR

- 1- Dony, J., *Farm. Tijds Belgique*, **49**, 99-106 (1972).
- 2- Dony, J., *Bull, et Mémoires de l'Académie Royale de Belgique*, **131** (6-7-8), 323-335 (1976).
- 3- Dony, J.: *Labo Pharma, Problèmes et Techniques*, **262**, 113-121 (1977).
- 4- Dony, J., Akın, A., Devleeschouwer. M. J., *A. Ü. Ecz. Fak. Mec.* **10** (1-2), 30-40 (1980).
- 5- Dony, J., Dufaux-Fauville, M. et Devleeschouwer, M., *Microbiologie et Hygiène, Séminaires et Travaux Pratiques*, Pul Presses Universitaires de Bruxelles, P: 28(1978).
- 6- Komarmy L. E., Oxley, M. E. et Brechner, G., *New Engl. J. Med.*, **276**: 850 (1967).
- 7- Microbiological Contamination of Medical Préparation, Report 1965 to the National Board of Health, Stockholm 1966 A. B. Thule. Ref. Dony, J., *Bull, et Mémoires de l'Académie Royale de Belgique*, **131**, (6-7-8), 323-335 (1976).

- 8- **Millet, M. P. G., Dony, J.,** *J. Pharm. Belg.* **20:** 467 (1965).
- 9- **Mitchell, R. G., Hayward, A. C.,** *Lancet* **1,** 793 (1966).
- 10- **Noble, W. C., Savin, J. A.,** *Lancet* **1,** 347 (1966).
- 11- Pureté Microbiologique des Formes Pharmaceutiques non Obligatoirement Stériles
Rapports Communs du Comité des Laboratoires et Services Officiels de Contrôle
des Médicaments et de la Section des Pharmaciens de L'Industrie F.I.P. 1er Rapport:
J. Mond. Pharm. **15,** 88 (1972). Ref. **Dony, J.,** *Bull. et Mémoires de l'Académie Royale
de Belgique,* **131** (6-7-8), 323-335 (1976).
- 12- **Servitt, S.:** *Lancet* **2,** 1075 (1949).