

FABAD Farm. Bil. Der.
14, 181-189, 1989

FABAD J. Pharm. Sci.
14, 181-189, 1989

Antimikrobiyal Prezervatifler - I

Şahide GENÇER (*)
Murat ŞUMNU (**)

Özet: Bu çalışmada farmasötik endüstride sıklıkla kullanılan antimikrobiyal prezervatifler ve prezervasyonda etkili faktörlerin çeşitli literatürlerden derlemesi yapılmıştır.

ANTIMICROBIAL PRESERVATIVES

Summary: In this study, the factors that are effective on the antimicrobial preservatives and in the preservation which are widely used in the pharmaceutical industry, are described with some literature examples.

Başvuru Tarihi: 5.9.1988

Kabul Tarihi: 20.6.1989

(*) Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı İlaç ve Koz. Araştırma Müdürlüğü.

(**) H.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji A.B.D.

GİRİŞ:

Antimikrobiyal maddeler mikrobiyal kontaminasyondan korunmak amacıyla, farmasötik dozaj formlarına ilave edilirler.

Prezervatifler öncelikle, üretim esnasında veya sonradan oluşabilecek bir mikrobiyal üremeye mani olmak için çok dozluk preparatlara ilave edilirler (1). Ayrıca bu maddeler sterilize edilebilen preparatlarda (100°C'da buhar sterilizasyonu gibi) sterilizasyonun güvenilirliğini de artırır (1, 2).

I. ve II. FIP (1972, 1975) raporlarında da, antimikrobiyal prezervasyonun steril olma zorunluluğu olmayan farmasötik preparatların mikrobiyal sağlık yönünden güvenilirliği ve stabilitesini sağlamadaki önemi vurgulanmıştır (3, 4).

Antimikrobiyal maddeler sadece iyi bir üretimi göstermek amacıyla yaşayan mikroorganizma sayısını azaltmak için kullanılmazlar. Bazı durumlarda da mikroorganizmaların üremesini minimum seviyeye düşürmek için kullanılırlar. Çünkü ölü mikroorganizmaların varlığı veya yaşayan mikroorganizmaların metabolik ürünlerinin de hassas kişilerde istenmeyen reaksiyonlara sebep olabileceklerini hatırdan çıkarmamak gerekir (1, 5).

Prezervatifler, üretim sırasındaki dikkatsizlikleri ve hazırlık, dağıtım, dilüsyon, ambalajlama, depolama sırasında hijyen kurallarını ihmalen kaynaklanan mikrobiyal kontaminasyonu saklamak amacıyla kullanılmamalıdır. Tüm üretim işlemi boyunca mikrobiyal kontaminasyondan korunmak için gerekli önlemler

alınmalıdır (2, 6).

Ancak imalat hijyeni, kalite kontrol ve izin verilebilir sayıda jerm içeren hammadde kullanımı için belirtilen katı şartlara rağmen yine de seğonder bir kontaminasyon ihtimali gözönüne alınmalıdır (5).

Prezervatif Madde Seçimi

Farmasötik formlara ilave edilecek prezervatiflerin seçiminde çeşitli faktörler rol oynar. pH, formülasyon, preparatın dozaj şekli ve dozu, kontrol sıklığı, şişe ve kapaklarla geçimliliği, kontaminasyonun derecesi prezervatif maddenin antimikrobiyal etkinliği ve istenen konsantrasyonu prezervatif madde seçiminde çok önemli faktörlerdir.

Antimikrobiyal prezervatifler, *Salmonella* türleri, *E. coli*, *Staphylococcus*, *P. aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* gibi patojen mikroorganizmaların bol miktarda üremiş ajanlarına karşı çabuk bir etkiye sahip olmalıdır. Preparatlar içindeki konsantrasyonları inhibe edici değil, öldürücü olmalıdır (6).

Preparasyonun içerdiği suya bağlı olarak bazı mikroorganizmaların bazı komponentleri karbon kaynağı olarak kullanarak üreyebilecekleri de unutulmamalıdır (5, 7, 8).

Öte yandan diğer bazı komponentler veya sistemler antimikrobiyal prezervatifler olmaksızın da mikrobiyal gelişimi önleyebilirler. Hatta bunlar jermi öldürücü etki gösterebilirler veya prezervatiflerin etkisini artırabilirler (2, 5, 9, 10).

Ör. İnsülin enjektabl çözeltisi ve globulin çinko insülin enjektabl

çözeltisinde pH 2,5 - 3,8 arasında olduğundan bunlara çok dozluk olsalar bile prezervatif madde ilavesine gerek yoktur ya da çok düşük konsantrasyonda prezervatif madde kullanılabilir (11).

Yani yeterince antimikrobiyal aktivite gösteren preparatlar ayrıca prezervatif ilavesine ihtiyaç göstermezler (2, 5).

Yine 10 ml'den fazla enjekte edilecek preparatlar ile kemik iliğine, subaraknoidal boşluğa enjekte edilecekler ve ameliyatlarda kullanılacak oftalmik çözeltilere prezervatif madde konulmaz. Bu çözeltiler tek dozluk kaplarda ve steril edilmiş halde bulunmalıdırlar (2, 12).

Yine prezervatif maddelerin mikroorganizmalar üzerindeki etkinliği de farklı olup, küf ve mantarlar için etkin olmayan bir prezervatifin, bakteriler üzerine etkin olduğu gözlenmiştir. Bu yüzden prezervatif seçiminde preparatın kullanılış şartları da gözönünde bulundurulmalıdır (13).

Farmasötik preparatlar istenen prezervatif tipleri yönünden 3 kategoriye ayrılmıştır.

1. Enjektabl olanlar, oftalmik preparatlar, yanıklar ve şiddetli ülserasyonlarda kullanılan preparatlar;
2. Topik preparatlar;
3. Diğer preparatlar; Oral likitler, yumuşak jelatin kapsüller, müsilaşlar bu kategoriye girerler.

1. kategorideki preparasyonlarda prezervatiflerin fonksiyonu steriliteyi devam ettirmek, enjeksiyon ve diğer tatbik şekilleri esnasında emniyeti temin etmektir.

2. kategorideki topik preparatlar cilt lezyonlarında kullanılırlar. Kulak, burun, boğaz vb. için kullanılan preparatlarda bu kategoriye girerler. Bu kategorideki preparatlar yüksek risk grubuna girerler. Kremlerin ve iltihaplı, çatlak deriye uygulanan preparatların prezervasyonu özellikle çok önemlidir (1, 6, 10).

Tablo 1'de farmasötik preparasyon kategorilerine uygun antimikrobiyal prezervatifler ve bunların kullanılış şekilleri görülmektedir.

Prezervatiflerin Stabilitesi

Prezervatiflerin çoğu makromoleküllerle etkileşir ve antimikrobiyal aktiviteleri azalır. Bu etkileşmeye polimerin elektronegatif bölgesi ile prezervatifin elektropozitif bölgesi arasındaki hidrojen bağı oluşumunun neden olduğu gösterilmiştir (14).

Etkileşme derecesi makromoleküler maddenin hidrofil, lipofil özelliklerine ve prezervatif maddenin yapısına bağlıdır.

Tablo 2'de metil ve propil parabenin makromoleküllerle bağlanma dereceleri verilmiştir.

Tablo 1: Uygun Antimikrobiyal Ajanlar ve Kullanılış Şekilleri

Prezervatif Maddeler	Preparasyonlar	Kullanılan Konsantrasyon	Dikkat Edilecek Hususlar
Phenol Cresols P-chloro-m cresol (a)	Sulu Enjektablilar	0.5 % 0.2 - 0.4 % 0.05 - 0.1 %	PH 9'un üstünde daha az aktif.
Benzyl alcohol Phenylethyl alcohol Chlorobutanol	Sulu + yağlı Enjektablilar	1 - 2 :% 0.7 - 1.5 % 0.3 - 0.5 %	
Methyl-p-hydroxybenzoate-Ethyl-p-hydroxybenzoate-Propyl-p-hydroxybenzoate	Oral sıvılar Yumuşak Jelatin kapsüller O/W ve W/O emülsiyonları, müsilaşlar, topikaller.	% 0.15 % 0.09 % 0.03	PH 8'in üstünde aktivite kaybı 8'in üstünde stabil değil. Emülsiyon yük. konst. bazen gereklidir.
Benzalkonium chloride ve correspondigquaternary ammonium compounds	Göz damlaları Burun damlaları Kulak Damlaları Müsilaşlar (topk.)	0.002 - 0.002 % 0.1 %	Pseudomonas türlerine inaktive, çeşitli uyumsuzluklar.
Chlorhexidine diacetate veya gluconate	Göz damlaları Burun damlaları Kulak damlaları Müsilaşlar	0.005 - 0.01 % 0.05 %	Pseudomonaslara karşı her zaman aktif değil çeşitli uyumsuzluklar.
Phenylmercuric compounds	Burun damlaları Kulak damlaları Sulu enjektablilar.	0.002 - 0.005 %	Polyethylene ve elastamer üzerindeki adsorbsiyonu
Thiomersal	Burun damlaları Kulak damlaları Ofthalmik solusyonlar Sulu Enjektablilar	0.002 - 0.015 %	Polyethylene ve elastomer üzerinde adsorbsiyonu
Benzoic asid ve Sodyum Benzoat, Sorbik Asit ve Tuzları	Oral likitler Oral likitler Topikaller	0.1 - 0.2 % 0.1 - 0.15 %	PH 4'in üstünde daha az aktif. PH 5'in üst. daha az aktif oksidasyona bağlı
a - Elastomer ile kuvvetli adsorbsiyon (Ör: Kapaklar)			
b - PH 5'in üstünde stabil değil, elastomer ile kuvvetli adsorbsiyon			

Tablo 2: Metil ve Propil parabenin makromoleküllerle bağlanma dereceleri

Makromolekül (% 2) w/v	Serbest Metil Paraben Yüzdesi	Serbest Propil Paraben Yüzdesi
Jelatin	92	89
Metil selüloz	91	87
Poli-etilen glikol 4000	84	81
Polivinil piroolidon	78	64
Myrj 52	55	16
Tween 20	43	14
Tween 80	43	10

Tablo 2'de görüldüğü gibi birçok makromolekül madde bilhassa Tween ve Myrj, serbest paraben miktarında belirgin bir azalmaya neden olmaktadır (15).

Bu reaksiyonlar diğer prezervatifler arasında da gösterilmiştir. Ör: Benzil alkol, klorbutanol, feniletıl alkol, katerner amonyum bileşikleri ve yine boğmaca ve poliomyelit aşılarda benzalkonyum klorürün önemli miktarda parçalandığı bulunmuştur.

Prezervatif maddelerin etkileşmeleri yanında stabilite problemleri vardır. Isı klorbutanolün parçalanma hızını artırır. Bu nedenle klorbutanol içeren preparatlar ısı ile steril edilemezler. Yine bu preparatlardaki tuz konsantrasyonu % 0.5'in üzerinde olduğunda tuz etkisi ile çökme olabilir. Polivinil prolidon, poli-etilen glikol, metil selüloz gibi çok sayıda polimerik

madde benzer reaksiyonlara neden olabilir ve prezervatiflerle şiddetle etkileşir (16).

pH'nın Etkisi:

Uygun prezervatifin seçiminde preparatın pH'sı çok önemlidir. Bazıları pH 8'in üzerinde aktivitelerini kaybederler, bazıları ise pH 4-5 üzerinde daha az aktif olup stabiliteleri güvenilir değildir (1, 8, 10).

Prezervatif maddenin etkinliği su fazında iyonize olmamış halde bulunmasına bağlıdır. Ör: Benzoik asitin pH 4-5 üzerinde prezervatif olarak kullanılmaması önerilir. Yapılan araştırmalarda Benzoik asit konsantrasyonunun pH 6'da pH 3'dekinden 60 kat fazla olması gerektiği ortaya çıkarılmıştır. Tablo 3'de Benzoik Asitin iyonizasyonu üzerinde pH'nın etkisi gösterilmiştir.

Tablo 3: Benzoik asitin iyonizasyonu üzerinde pH'nın etkisi

pH	İyonize olmamış yüzde
2	99.4
3	94.3
4	62.5
5	13.7
6	1.6

Tabloda görüldüğü gibi ortamın pH'sı arttıkça Benzoik asitin iyonizasyonu da fazlalaşmaktadır. Bu yüzden pH 4-5 üzerinde Benzoik Asitin kullanılmaması uygundur. Yine klorbutanol'de kalevi ortamlarda kısa sürede parçalandığından, pH'sı 6'dan yüksek

olan çözeltilerde prezervasyon için kullanılmamalıdır (16).

Tablo 4'de 6 mikroorganizma kullanılarak yapılan bir çalışmada, pH'nın Sorbitolün inhibitör konsantrasyonundaki etkinliği gösterilmiştir.

Tablo 4: Sorbitolün inhibitör konsantrasyonunda pH'nın etkisi

Mikroorganizmalar	% Sorbitol W/V İnhibitör Konsantrasyonunda üremenin önlenmesi						
	Ortamın PH'sı						
	2	3	4	5	6	7	8
Staphylococcus aureus	a	-	50	50	60	50	50
Pseudomonas aeruginosa	-	-	40	40	40	40	40
Bacillus subtilis	-	-	50	50	50	50	50
Candida albicans	70	70	70	70	70	70	70
Aspergillus niger	-	70	70	70	70	70	70
Penicillium notatum	-	-	60	60	60	60	60

a: üreme görülmemiştir.

pH 4'ün altında bakterilerde üreme görülmemiştir. Aspergillus niger pH 3'ün altında ürememiştir. Candida albicans ise 2-8 arasında bütün pH'larda üremiştir.

Sorbitol solusyonlarında % 0.12 W/V metil paraben ve % 0.02 W/V

propilparaben kombinasyonu en etkin prezervatiftir (10).

Prezervatif Konsantrasyonu:

Preparasyonlarda, prezervatifin konsantrasyonları titizlikle tayin edilmelidir. Çünkü antimikrobiyal prezerva-

tifler çok toksik maddelerdir. Bu yüzden prezervatifin konsantrasyonu öyle ayarlanmalıdır ki hem tüketici için maksimum koruyucu hem de nihai ürünün içindeki prezervatif madde, insanlar için toksik olan konsantrasyonun altında olmalıdır (1, 2, 6).

Eğer preparat için konsantrasyon oranı belirtilmişse üst limit geniş tutulmamalıdır. En düşük limitte ise, bir kural olarak etki belirgin şekilde düşürülmelidir (2).

Herhangi bir antimikrobiyal ajan da, prezervatiflerin koruyucu özelliklerini gösterebilir. Fakat toksik etkisi dolayısıyla kullanılacak maddeler sınırlıdır.

Antibiyotik ve kemoterapötik maddeler de eğer mecbur kalınırsa antimikrobiyal prezervatif olarak kullanılabilirler. Ancak bunların preparat içinde bulunduğu ve konsantrasyonları etikette mutlaka belirtilmelidir (1, 2, 5).

Ambajlarla Etkileşim

Kullanılan prezervatif maddeler kaplarla, damlalıklarla, kapaklarla geçimli ve iritasyon yapmayan özellikte olmalıdır. Kauçuk puvarlar, benzalkonyum klorür ile geçimliliği denenmeden kullanılmamalıdır (12).

Plastiklerle, polietilen, polivinil klorid ve cam şişelerde saklanan prezervatif solusyonlarının stabiliteyi ile ilgili bir araştırma, polietilen, aromatik alkoller ve klorokrezoller için uygun değildir.

Benzalkonyum klorid ve klorheksidin asetat bütün şişelerde en az kapsamda ortadan kaldırılır. % 0.1 metabisulfitin eklenmesi, polivinil klorid ve cam şişelerdeki % 0.1 Sorbik asidin stabilitesini artırır.

Polietilenle ilgili daha ileri araştırmalar; fenol merkürük nitrat ve benzoik asit için uygun olmadığını göstermiştir (17).

3 tip lastik kapak kullanılarak yapılan bir çalışmada prezervatif kaybı araştırılmış ve bu çalışmada benzil alkol, fenetil alkol ve metil paraben kullanılmıştır. Herbirinin sulu buffer solusyonları multidozluk şişelere doldurulmuş ve doğal, neopren ve butil lastik kapaklarla kapatılmıştır. Adsorbsiyon en az butil lastik kapakla, en çok neopren lastik kapakladır. Butil lastik kapaktan çıkan bazı maddeler prezervatif solusyonlara geçmiştir (18).

Tablo 5'de butil, neopren ve doğal kapaklarla kapatılan benzil alkolün 60°C'da 2-12 hafta saklandığında % de artık miktarları görülmektedir.

Tablo 5: 60°C'da 2-12 hafta saklandığında % de Benzil Alkol artık miktarları

Zaman	Ampul	Butil Kapak		Neopren Kapak		Doğal Kapak	
		Dik	Ters	Dik	Ters	Dik	Ters
2	100	105	110	96	98	96	98
4	100	106	124	96	97	95	95
8	100	115	127	99	107	89	92
12	103	124	131	102	102	87	88

Yine çok dozluk şişelerde saklanan parenteral preparatlar için kauçuk kapakların kullanılması birçok problemlere yol açabilir (19).

Sonuç

Farmasötik endüstride sıklıkla kullanılan antimikrobiyal prezervatiflerin seçiminde etki şekilleri, ortamın pH'sı, kullanılan şişe ve kapaklarla geçimliliği, kullanım koşullarındaki stabilitesi vb. çok sayıda faktörün gözönünde bulundurulması gerekir.

Antimikrobiyal prezervatifin aktivitesinin preparatın raf yaşamı boyunca sürekliliğinden emin olmak için stabilite testleri ile etkinlik sürekli kontrol edilmelidir (2, 5).

Kaynaklar

1. U.S. Pharmacopoeia XXI, "Antimicrobial Preservatives - Effectiveness" 61, 1151 (1985).
2. Bühlmann, X., Gay, M., Gubler, H.U., Kabay, A., Knüsel F., Sackmann, W., Schiller I., Urban S., "Microbiological quality of pharmaceutical preparations", *Amer. J. Pharm.* 144, 165, (1972).
3. 3 rd. joint report of the Committee of Official Laboratories and Drug Control Services and the Section of Industrial Pharmacists - FIP June 1973, *Pharm. Acta Helv.* 51, 33, (1976).
4. FIP reports, WHO/Pharm. 74, 477 (1973).
5. FIP reports, "The test for the effectiveness of antimicrobial preservation of pharmaceuticals", *Pharm. Acta Helv.* 55/2, 40-49, (1980).

6. Martindale 28. Ed. p. 1281, (1982).

7. Barr, M., Tice, L.F., "The Preservation of aqueous preparations containing nonionic surfactants", *J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.)*, 46, 442, (1957).

8. Haines, J.R., Alexander, M., "Microbial degradation of polyethylene glycols", *Appl. Microbiol.* 29, 621, (1975).

9. Barr, M., Tice, L.F., "Preservatives studies in solutions and products containing nonionic surfactants", *J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.)* 46, 445 (1957).

10. Barr, M., Tice, L.F., "A study of the inhibitory concentrations of various sugars and polyols on the growth of microorganisms", *J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.)* 46, 219, (1957).

11. Rahn, O., Conn, J.E., *Eng Chem.*, 36, 185 (1944).

12. İzgü, E., "Genel Endüstriyel Farmasötik Teknoloji II". Ank. Ün. Basımevi, (1983).

13. Parker, M.S., "The preservation of cosmetic and pharmaceutical creams" *J. Appl. Bacteriol.* 44, (1978).

14. Tillman, W.J., Kuramoto, R., "A Study of the interaction between methyl cellulose and preservatives." *J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.)* 46, 211, (1957).

15. Reznick, S., "Rubber Closures for containers of parenteral solutions", *J. Am. Pharm. Assoc.* 42, 289, (1953).

16. Lachman, L., "The in stability of antimicrobial preservatives", *Bull. Parenter. Drug. Assoc.*, 22, 127-144, (1968).

17. Mc. Carthy. T.J., "A Study of the stability of solutions of preservatives stored in polyethylene, polyvinyl chloride and glass container", *Pharm. Wekkbl. Ned.*, 105, 557, (1970).

18. Lachman, L., Weinstein, S., Urbay, T., Ebersold, E., Cooper, J., "Stability of antibacterial preservatives in pranteral solutions III", *J. Pharm. Sci.* 52, 241-244, (1963).

19. Majör, S.T., Cowan, M.D., "Effect of ruber tubing on solutions of penicillin", *Lancet*, Feb. 10, 178, 248. (1945).

*Bizde ne zaman Batıya pencere açılrsa,
mutlaka nezle oluruz.*

NÜVİT OSMAY