
Dezenfektanlara Direnç Gelişim Mekanizmaları? Dezenfeksiyon İşlemini Ne Kadar Tehdit Etmektedir?

Yrd. Doç. Dr. Kayhan ÇAĞLAR

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

Giriş

Dezenfektanlar hastane ve diğer sağlık kuruluşlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bundan başka hastane dışında da, mikrobiyal kontaminasyon ve enfeksiyon riskini azaltmak için besin ve gıda sektörü gibi çeşitli alanlarda, hatta evlerde/mutfaklarda da dezenfektanların geniş bir kullanım alanı vardır. Dezenfektanlar hastane enfeksiyonlarının önlenmesi için yürütülen enfeksiyon kontrol uygulamalarının temel unsurlarıdır. Eskiden beri mikroorganizmalardaki dezenfektan direncinin oldukça az ilgi gören bir alan olduğu görülmektedir. Bunun nedeni, muhtemelen direncin nadir olduğunun düşünülmesi; bunun da klinik anlam ve öneminin düşük olduğuna inanılmasıdır. Bazı yazarlarca, dezenfektanlar etkili oldukları sürece, inhibitör veya letal etkilerini nasıl gösterdiklerini belirlemeye çalışmanın (akademik nedenler dışında) fazla bir nedeni bulunmadığı dahi ileri sürülmekteydi. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular dezenfektan direncinin klinik önemi olan bir fenomen olduğunun altını çizmektedir. Son yıllarda literatürde dezenfektan direnci ile ilgili makalelerde ciddi artış olduğu görülmektedir.

DİRENCİN ÖNEMİ

Dezenfektan direncinin tıbbi cihazların yetersiz dekontaminasyonuna neden olma riski vardır ve böylece de çapraz enfeksiyonların gelişmesine yol açabilir. Nitekim, yaygın olarak kullanılan endoskop dezenfektanlarına karşı mikobakterilerde direnç bildirilmiş olup, buna bağlı olarak da çeşitli klinik yan etkiler orta-

ya çıkmaktadır. Bazı mikobakteri suşlarında ise dezenfektanlar (triklozan) ve antitüberküloz ilaçlar arasında çapraz rezistans olduğu bildirilmiştir. Hastanelerde dezenfektanlara dirençli bakteri salgınları ile karşılaşmaktadır. Bazı dezenfektan direnç tipleri transfer edilebilmekte olup bu durumun ileride problemlere yol açacağı konusunda görüşler vardır. Ayrıca, son yıllarda *Staphylococcus aureus*'lardaki kuarternler amonyum bileşiklerine olan direncin genetik mekanizmaları tanımlanmıştır. Stafilokoklarda klorheksidin, kuarternler amonyum bileşikleri gibi katyonik dezenfektanlara karşı plazmid aracılığı ile gelişen direnç saptanmıştır. Glikopeptidlere karşı orta düzeyde dirençli olan bazı metisiline rezistan *S. aureus* (MRSA) suşlarının çeşitli dezenfektanlara karşı da duyarlılıklarının azaldığı gözlenmiştir. Direnç ile ilgili olarak endişe edilen bir konu, dezenfektan direncinin yaygın bir hale gelip antibiyotik direnci ile ilişkili olması ve bu durumun da tıpta tedavi edilemeyen infeksiyonların sayısının ciddi olarak artışına yol açma olasılığıdır. Dezenfektan direncinin klinik olarak anlamlı ve önemli bir fenomen olduğu ve antibiyotik direnci ile de ilişkili olabileceği çeşitli yazılarda belirtilmektedir.

DEZENFEKTAN ve ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ GELİŞİM MEKANİZMALARI

Bakterilerdeki antibiyotik ve dezenfektan direnci arasında benzerlik ve farklılıklar vardır. Bakteriyel antibiyotik direncine yol açan mekanizmalar şu şekilde gelişmektedir:

1. Antibiyotik hedef bölgesinin değişmesi ve böylelikle antibiyotiğin etki göstereceği bölgeye bağlanamaması (örneğin; makrolidlerin hedef bölgesi olan 23S rRNA'daki adeninin metilasyona uğraması).
2. Antibiyotiğin parçalanması veya enzimatik modifikasyona uğratılması (örneğin; beta-laktamaz gibi enzimlerin üretilmesi).
3. Antibiyotiğin hücre dışına atılımının artması (efflux) ya da hücre içine alınımının azaltılması.
4. Geçirgenliğin azalması (impermeabilite).

Antibiyotikler hücre içerisine girip hedef moleküllerine ulaşarak etki gösterirler. Bunun için gram-negatif bakterilerde önemli bir fiziksel engel olan dış membran tabakasını geçmeleri gerekir. Gram-negatif bakterilerde antibiyotik direncinin önemli bir nedeni, dış membranın fiziksel bir engel olma özelliğidir. Örneğin; gram-negatif bakterilerin çoğundaki intrinsek makrolid direnci, muhtemelen dış membran tabakasının makrolidlere az geçirgen olması ile açıklanmaktadır.

Teorik olarak, yukarıda yer alan bu antibiyotik direnç mekanizmalarının çoğunun dezenfektan direncine de uygulanabileceği düşünülebilir. Ancak, dezenfektan direnci daha çok hücre duvarı ve hücre zarındaki permeabilite değişikliklerinden ve artmış "efflux"tan kaynaklanmaktadır. Dezenfektan maddenin inaktivasyonu ile seyreden direnç de gözlenebilmesine rağmen, bu durumla çok nadir olarak karşılaşmaktadır. Dezenfektanlara karşı gelişen direnç mekanizmaları şunlardır:

1. Dezenfektanın bakteri hücreesindeki hedefinin değişime uğraması: Antibiyotiklerin tersine (antibiyotikler hücredeki spesifik bir hedefi etkiler), dezenfektanların hücrede genelde multipl hedef yapıları/molekülleri bulunur. Buna bir istisna olarak *Escherichia coli*'lerdeki triklozan direnci gösterilmektedir. Bu dirençte enoyl redüktaz enzimini kodlayan gende bir mutasyon vardır. Ancak daha sonraları yapılan çalışmalarda triklozanın *E. coli* hücreesinde bundan başka hedefleri de bulunduğu anlaşılmıştır.

2. İmpermeabilite: Hücre içerisinde dezenfektan madde birikmesinin engellenmesi dezenfektan direncine yol açar. Gram-negatif bakterilerdeki kazanılmış dezenfektan direncinde azalmış permeabilitenin rolü vardır. Bu permeabilite değişiklikleri şunlardır: Hücre yüzeyinin hidrofobik yapısındaki değişiklikler, dış membran ultrastrüktüründeki değişiklikler, dış membranın protein kompozisyonundaki değişiklikler ve dış membran yağ asidi kompozisyonundaki değişiklikler. Ancak henüz sorumlu olan genetik defekt veya spesifik membran/permeabilite defekti aydınlatılamamıştır. Buna karşın, dış membranın dezenfektan direncinde önemli bir yeri olduğu açıktır. Gram-negatif bakteriler gram-pozitif bakterilere göre dezenfektanlara daha dirençlidir ve dış membranın harabiyete uğratılması dezenfektanlara duyarlılığı arttırmaktadır. İmpermeabiliteye yol açan bir diğer mekanizma da biyofilm gelişimidir. Biyofilm içerisinde üreyen bakterilerde dezenfektanlara direnç gözlenmesi, muhtemelen biyofilm tabakasının dezenfektan madde permeabilitesine karşı bir engel oluşturmasına bağlıdır. Biyofilm aynı zamanda antibiyotiklere de direnç sağlamaktadır.

3. “Efflux” (hücre dışına atılım) pompaları: Bakterilerde bulunan bazı “efflux” sistemleri geniş spektrumlu olup, yapısal olarak birbiri ile ilişkisiz olan birçok dezenfektan maddeyi hücre dışına atabilmektedir. Dezenfektan direncinde rol oynayan “efflux” pompaları “multidrug efflux (MDR)” sistemleri olarak bilinmektedir. Bu “efflux” sisteminden sorumlu genler genellikle plazmidler tarafından kodlanmaktadır.

DİRENCİN KÖKENİ

Antibiyotiklerde olduğu gibi, bakterilerdeki dezenfektan direnci de intrinsek ve kazanılmış mekanizmalar aracılığı ile olmaktadır. Aşağıda bu mekanizmalar incelenmektedir.

a. İntrensek Bakteriyel Direnç Mekanizmaları

İntrensek direnç, kromozomlar tarafından kontrol edilen ve bakteride doğal olarak var olan bir özelliktir. Gram-negatif bakteriler intrinsek olarak birçok dezenfektana gram-pozitif bakterilere göre daha dirençlidir. Bu durum gram-negatif bakterilerin intrinsek (doğal) özelliğidir. İntrensek direnç, genellikle dezenfektan maddenin hücre içine alınımının azalması ile ilişkilidir. Bakteriyel sporlar, mikobakteriler ve değişik gram-negatif bakteriler intrinsek olarak birçok dezenfektana dirençlidir.

Bakteri sporlarındaki intrensek direnç: Birçok dezenfektan sporsuz bakteriler için düşük konsantrasyonlarda bakterisidal veya bakteriyostatiktir, ancak sporisidal etki gösterebilmeleri için yüksek konsantrasyonlarda kullanılmaları gerekir (glutaraldehid, klor). Bununla birlikte alkol, kuarterner amonyum bileşikleri, fenoller ve klorheksidin gibi bazı dezenfektanlar ne kadar yüksek konsantrasyonlarda kullanılırsa kullanılsın sporisidal etki göstermezler. Spor kılıfı ve korteks dezenfektanın hedef bölgeye ulaşmasını engellemede önemli bir rol oynar.

Mikobakterilerdeki intrensek direnç: Mikobakterilerdeki intrensek dezenfektan direnci iyi bilinen bir özellikleridir. Yüksek düzeydeki dezenfektan direnci kompleks mikobakteriyel hücre duvarı ile ilişkilidir. Oldukça hidrofobik özellikte olan duvar dezenfektanlar için etkili bir fiziksel bariyerdir. Hücre duvarının hidrofobik olan yapısı, hidrofilik özellikteki dezenfektanların mikobakteri hücre duvarına letal etki doğurabilecek yüksek konsantrasyonlarda penetre olmasına olanak vermemektedir. Plazmid -veya transpozon- aracılığı ile gelişen kazanılmış direnç henüz mikobakterilerde tanımlanmamıştır. Saprofit mikobakteriler genel olarak *Mycobacterium tuberculosis*'e göre intrensek olarak antibiyotiklere daha dirençli olma eğilimindedir.

Gram-pozitif bakterilerdeki intrensek direnç: Yüksek moleküler ağırlıklı çeşitli maddeler gram-pozitif bakteri hücre duvarını kolaylıkla geçerek hücre içine ulaşabilmektedir. Bu özellik, klorheksidin veya kuarterner amonyum bileşikleri gibi birçok dezenfektanın gram-pozitif bakterilere etkili olmasını açıklayabilmektedir. Nedeni bilinmemekle beraber, enterokoklar intrensek olarak stafilokoklara göre dezenfektanlara daha az duyarlıdır.

Gram-negatif bakterilerdeki intrensek direnç: Genel olarak gram-negatif bakteriler gram-pozitif bakterilere göre dezenfektanlara daha dirençlidir. Gram-negatif bakterilerdeki dış membran tabakası bir fiziksel bariyer olarak rol oynar ve antimikrobiyal maddelerin hücreye girişini kısıtlar. Lipopolisakkarit (LPS) molekülleri hidrofobik maddelerin hücre içine girişini engeller. Gram-negatif bakteriler arasında, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Proteus* spp. ve *Providencia stuartii* birçok dezenfektanlara en fazla dirençli olan bakterilerdir. Eskiden beri *P. aeruginosa*'nın birçok bakteriye göre dezenfektanlara daha dirençli olduğu iyi bilinmektedir. *P. aeruginosa*'nın dezenfektanlara ve antibiyotiklere daha dirençli olmasının nedeni temel olarak dış membranlarının daha az geçirgen olmasına bağlıdır. *P. aeruginosa*'larda hücre duvarının yüksek magnezyum içeriği, LPS kompozisyonundaki farklılık ve küçük porin moleküllerinin varlığı dezenfektan maddenin hücreye difüzyonunu zorlaştırır. *B. cepacia*'nın LPS moleküllerinde yüksek miktarda fosfat-bağlı arabinoz bulunması, dış membran tabakasının polimiksin antibiyotiklere ve katyonik dezenfektanlara afinitesini azaltır. *Proteus* türlerindeki LPS molekülleri klorheksidine karşı intrensek dirençten sorumlu tutulmaktadır.

Fizyolojik adaptasyon ile ilişkili intrensek direnç: Bakterilerdeki fizyolojik adaptasyon da intrensek dirence katkıda bulunur. Bu adaptasyona en önemli ör-

nek biyofilm oluşumudur. Biyofilm tabakası bakterilerin katı yüzeylerle teması sonrası gelişmektedir. Biyofilm tabakasında yoğun bir şekilde ekzopolisakkarit polimerleri ve bu polimerler içerisinde bakteriyel hücreler kolonize olmuş durumda bulunur. Biyofilm tabakası içerisinde üreyen bakterilerin fizyolojik özellikleri de etkilenir ve değişime uğrar. Biyofilm içindeki bakteriler, sıvı ortamda serbest halde üreyen bakterilere göre dezenfektanlara ve antibiyotiklere daha dirençlidir. Bu türlü dezenfektan direncine dezenfektanın hücrelere ulaşmasındaki zorluk; dezenfektan ve biyofilm tabakası arasındaki kimyasal etkileşim; biyofilm içerisindeki mikroçevrenin modülasyonu; biyofilm tabakasında parçalayıcı enzimler ve nötralizan kimyasal maddelerin üretilmesi ve biyofilm içerisinde bulunan hücrelerdeki genetik alışveriş gibi çeşitli mekanizmalarının yol açtığı ileri sürülmektedir. Bakteriler biyofilm tabakasından uzaklaştırılıp sıvı kültür ortamında serbestçe üretilirse, dirençli oldukları dezenfektanlara tekrar duyarlı hale gelir. Hastane ve benzeri binaların soğutma sistemlerinde/su tanklarında üreyen *Legionella pneumophila*, biyofilm oluşumu nedeniyle yapılan rutin dezenfeksiyon işlemlerinden etkilenmeyebilmektedir. Kısıtlı besin ortamlarında üretilen bakterilerin de dezenfektanlara duyarlılıklarının değiştiği gözlenmiş ve bu durumun da bakterinin dış membran tabakasındaki değişikliklere bağlı olduğu belirtilmiştir.

b. Kazanılmış Bakteriyel Direnç Mekanizmaları

Gram-negatif bakterilerde kazanılmış direnç: Bakterilerdeki kazanılmış dezenfektan direnci, antibiyotik direncinde olduğu gibi mutasyonlar veya plazmidler/transpozonlar aracılığı ile gelişir. Gram-negatif bakterilerde kromozomlar tarafından kodlanan “efflux” sistemleri (*marRAB*, *acrAB*, *soxRS* genleri) direnç gelişiminde önemli rol oynar. Enterik bakterilerdeki *acr* geni MDR sistemleri içinde yer alır. MDR sistemine bağlı dezenfektan direnci plazmid aracılı olmayıp kromozomal niteliktedir. *Acr* gen lokusundaki mutasyon, bakteriyi hidrofobik antibiyotiklere, boyalara ve deterjanlara daha duyarlı hale getirebilmektedir. Triklozana duyarlı *E. coli* suşlarında, triklozanın enoyl redüktaz enzimi inhibe ettiği saptanmıştır. Ancak triklozana dirençli mutantlarda bu enzim inhibe olmamaktadır. Bu durum nokta mutasyonuna bağlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda, bir *P. aeruginosa* suşu laboratuvarında didesidil dimetil amonyum bromürün (DDAB) giderek artan konsantrasyonlarına karşı adaptasyona uğratılmıştır. Adapte olan suşun membran yağ asit kompozisyonunda değişiklikler izlenmiştir. Bu bakteri suşu MİK konsantrasyonlarının yaklaşık beş katı kadar daha fazla dezenfektan konsantrasyonlara adapte olmuştur. Ancak bu tür direnç stabil değildir ve dezenfektan madde ortamdan uzaklaştırılınca direnç de yok olmuştur. Şu anda plazmid aracılığı ile gelişen direnç majör bir sorun olarak görünmemektedir.

Gram-pozitif bakterilerde kazanılmış direnç: Dezenfektanlara plazmid aracılığı ile gelişen direnç mekanizmalarının net olarak tanımlandığı tek bakteri stafilokoklardır. *S. aureus*'larda plazmid aracılığı ile gelişen direnç mekanizmalarının, en az üç farklı determinant (*qac* genleri) tarafından kodlandığı belirlenmiştir. Bu genler birçok dezenfektana azalmış duyarlılığı kodlamakta olup plazmid üzerin-

de de bulunabilmeleri nedeniyle önemlidir. Bu genler protona bağımlı “export” proteinlerini kodlamaktadır. Dezenfektanlara karşı artmış MİK değerlerinin *qac* genlerini taşıyan MRSA suşları arasında yaygın bir şekilde görüldüğü bildirilmektedir. Dört ayrı *qac* geni tanımlanmıştır (*qacA*, *qacB*, *qacC*, *qacD* genleri). *qacA/B* gen ailesi en önemlileridir. *qacA* geni predominant olarak pSK1 multidirenc plazmid ailesinde bulunmaktadır. *qacB* geni ağır metal direncini kodlayan plazmidlerde tespit edilmiştir. *qacC* ve *qacD* genleri birbirine benzer fenotipleri kodlamaktadır. Çoklu direnc genini kodlayan plazmidler dezenfektanlara karşı artmış MİK değerleri gösteren *S. aureus* suşlarının yaklaşık olarak %70’inden izole edilmektedir. Koagülaz-negatif stafilokok izolatlarının %40’ında *qacA* ve *qacC* genlerinin ikisinin birden bulunduğu bildirilmektedir. Bir başka direnc genini olan *ebr* geni, etidyum bromüre ve bazı dezenfektanlara karşı direnci kodlamaktadır. *ebr* geninin dirençli stafilokok suşlarında olduğu gibi duyarlı suşlarda da bulunduğu saptanmış, ancak dezenfektanlara dirençli suşlarda bu genin kopya sayısının artmış olduğu belirtilmiştir. *qacA* ve *qacB* genlerinin beta-laktamaz genleri ile ilişkide olup olmaması üzerinde çok fazla durulan bir husustur, çünkü dezenfektan direnci ile antibiyotik direncinin birbiri ile ilişkili olmasının ciddi klinik sonuçlar doğurmasından korkulmaktadır. *qacC* ve *qacD* genleri kuarternler amonyum bileşikleri direnci ve etidyum bromüre karşı direnci kodlamaktadır. *qac* genlerini taşıyan plazmid konjugatif olarak aktarılabilir. MRSA suşlarında transfer edilebilen triklozan direnci de bildirilmiştir (ancak düşük düzeyde dirence neden olmaktadır).

Grup JK koriniform bakterilerin katyonik dezenfektanlara daha toleran olduğu bildirilmektedir, ancak plazmid aracılıklı bir direnc saptanmamıştır. Stafilokok dışındaki gram-pozitif bakterilerde şu ana kadar plazmid aracılıklı dirence rastlanmamıştır.

Mutasyonel direnc: Antibiyotiklere karşı kromozomal mutasyon sonucu gelişen direnc, çok eski zamanlardan beri oldukça iyi bilinen bir konudur. Ancak mutasyonların dezenfektanlara karşı direnc geliştirmesi ile ilgili fazla sayıda çalışma yapılmamıştır. Hastanelerden izole edilen gram-negatif suşların dezenfektanlara daha az duyarlı olduğu gözlenmektedir. Bu azalmış duyarlılığın plazmid aracılı olmadığı, mutasyonlar ve seçici baskı etkisinin önemli rolü olduğu ileri sürülmektedir. *E. coli*’lerde *acr* gen lokusundaki mutasyonlar bakteriyi antibiyotiklere, boyalara ve deterjanlara daha duyarlı hale getirmektedir. *RobA* geni multipl antibiyotik ve ağır metal direnci ile ilişkilidir. *AcrAB* geninin delesyonu *E. coli*’yi kuarternler amonyum bileşiklerine daha duyarlı hale getirmektedir. Ancak laboratuvarlarda elde edilen bütün bu verilerin gerçek yaşamdaki klinik pratiklere uygulanması ve yorumlanması hakkında güçlükler vardır.

Dezenfektanlara karşı fungal direnc: Bakterilerle karşılaştırıldığında, fungal dezenfektan direnci hakkında henüz elde çok daha az miktarda veri bulunmaktadır. Fungal intrinsek dirençte hücre duvarı antimikrobiyal ajan için bir bariyer görevi görür ve dezenfektan maddenin içeri girmesini azaltır veya engeller. Fun-

gal dezenfektan direncinde kültür yaşının da önemi vardır. Üreme fazının durağan evresinde maya hücreleri dezenfektanlara daha az duyarlıdır. Bu durum durağan fazda logaritmik faza göre hücre içine daha az miktarda dezenfektan madde girmesine bağlıdır. Kültür yaşı arttıkça, maya hücre duvarının porozitesi küçülmektedir ve hücre duvar kalınlığı da artmaktadır. Böylelikle dezenfektanın hücreye girişi azalmaktadır. Yapılan çalışmalarda değişik şartlar altında üreyen mayaların etanole duyarlılığında değişiklikler olduğu görülmüştür. Linoleik asitten zengin plazma membranına sahip olan maya hücrelerinin, oleik asitten zengin olanlara göre etanole daha dirençli olduğu izlenmiştir. Daha akışkan özellikte bir hücre membranı etanole karşı direnç sağlamaktadır. Maya mantarlarında mutasyonel ve plazmid aracılığı ile gelişen direnç mekanizmaları hakkında henüz yeterli bilgi yoktur.

Dezenfektanlara karşı virüslerdeki direnç: Dezenfektanların virüslere penetrasyonu ve viral komponentlerle etkileşimi de fazla çalışılmamıştır. Bazı bilgiler bakteriyofaj çalışmalarından edinilmiştir. Dezenfektanların virüsidal aktivitelelerinin belirlenmesinde bakteriyofajlar indikatör olarak kullanılmaktadır. Dezenfektanların potansiyel viral hedef bölgeleri, lipit içeren zarf, kapsid ve genomdur. Virüslerin lipofilik olup olmamaları, dezenfektanlara olan duyarlılıklarını belirleyen önemli bir kriterdir. Herpesvirüs gibi lipit zarf içeren virüsler lipofilik, poliovirüs gibi zarf içermeyenler ise hidrofilik yapıdadır. Zarflı virüsler lipofilik dezenfektanlara karşı (kuarternler amonyum bileşikleri, klorheksidin, izopropanol, eter, kloroform) daha duyarlıdır. Glutaraldehid, hipoklorid, hidrojen peroksit gibi dezenfektanlar kapsid proteininin amino ve sülfidril gruplarıyla güçlü bir şekilde ilişkiye girer ve virüsidal etki gösterir. Ancak viral inaktivasyonun tam olabilmesi için viral nükleik asidin de harabiyete uğratılması gerekir. Viral agregasyon özelliği dezenfektanlara karşı gelişen bir direnç mekanizmasıdır. Formaldehid ile muamele edilen poliovirüs ve klorlama sonrası da Norwalk ajanı infektivitesini koruyabilmektedir. Enterovirüs ve rotavirüs de perasetik asit varlığında agregere olabilmektedir. Viral inaktivasyon mekanizmaları ve dezenfektanlara karşı viral direnç hakkında daha öğrenilmesi gereken pek çok konu bulunmaktadır.

HBV ve HCV'nin dezenfektanlar tarafından inaktivasyonları hakkında rölatif olarak az şey bilinmektedir. Şempanzelerle yapılan infektivite deneylerinde HBV'nin rölatif olarak kolay inaktive edildiği saptanmıştır. HBV dezenfektanlara karşı eski yıllarda inanıldığı ölçüde dirençli değildir ve kuarternler amonyum bileşikleri gibi zayıf germisidler dahi HBV'yi inaktive edebilir. HCV için de aynı durum söz konusudur. Bu virüslerin kültürünün yapılamaması nedeniyle henüz tam olarak standardize edilmiş dezenfektan testleri geliştirilememiştir.

Dezenfektanlara karşı protozoonlardaki direnç: *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica* ve *Giardia lamblia* gibi bağırsak protozoonları önemli insan patojenleri olup çevresel şartlara dirençli kist/ookiste sahiptirler. Protozoon kistlerine karşı şu anda bilinen en etkili dezenfektan ozondur. Daha sonra sırasıyla klor dioksit, iyot ve serbest klor gelmektedir. Kist formları dezenfektanlara karşı

çok dirençlidir. Bunun nedeni tam olarak bilinmemektedir. Ancak kistlerin sporlara benzer bir şekilde, vejetatif protozoonlara göre dezenfektan moleküllerini hücre içine daha az aldıkları bilinmektedir. *Acanthamoeba castellanii* ile yapılan çalışmalarda olgun kistlerin diğer formlara göre en dirençli şekiller oldukları görülmüştür. Kist duvarı dezenfektanların hücreye girişi için fiziksel bir bariyer teşkil etmekte ve böylece intrinsek direnç mekanizmasını oluşturmaktadır. *Acanthamoeba* suşları kontakt lens solüsyonlarında biyofilm oluşturmaktadır. Protozoal biyofilmler dezenfektanlara direnç açısından çok araştırılmamış olmalarına rağmen, biyofilm oluşumunun dezenfektanlara direnç oluşturduğu düşünülmektedir.

DEZENFEKTAN DİRENCİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Birçok faktör dezenfektan aktivitesini etkiler. Bu faktörler konsantrasyon, temas süresi, pH, sıcaklık, organik madde varlığı, mikroorganizmanın, tipi ve sayıdır. Sıcaklık arttıkça dezenfektan aktivitesi artar, ancak bunun klinik önemi azdır. En önemli faktör dezenfektanın konsantrasyonudur. Organik madde varlığı (kan, serum, pü, kir gibi) veya noniyonik sürfaktanların varlığı birçok dezenfektanın aktivitesini etkiler. Mikroorganizma cinsleri dezenfektan direnci açısından oldukça farklılık gösterir. Mikroorganizmaların içerisinde bulunduğu koşullar da (biyofilm oluşumu gibi) dezenfektan aktivitesini etkiler. Gram-negatif bakterilere karşı dezenfektanların aktivitesi, membran permeabilitesini yükselten maddelerin varlığında artar (örneğin; EDTA, polilizin, polietilen amin). Dezenfektanların kombine kullanılması da etkilerini artırır.

Klinik bakteriyel izolatlar standart suşlar ile karşılaştırıldığında, dezenfektanlara karşı azalmış duyarlılık gösterebilmektedirler. Bu durumun olası çeşitli nedenleri vardır:

1. Çevresel ortamlarda dezenfektan kalıntılarının bulunması sonucu bakteriler düşük düzeyde direnç geliştirebilir.
2. Dezenfektanların yetersiz konsantrasyonlarda kullanılması.
3. Dezenfektanların uygunsuz kullanımı (örneğin; kir, organik madde varlığı).
4. Dezenfektanın yetersiz etki süresinde kullanılması (dezenfektana eksik/yetersiz süre maruz kalma).

DEZENFEKTAN KULLANIMI ve DEZENFEKTAN DİRENCİ

Dezenfektan kullanımı dezenfektanlara dirençli suşların yayılmasına yol açar mı? Bu sorunun cevabı *muhtemelen* "hayır" şeklindedir. Dezenfektanlar antibiyotiklerin aksine, hücre duvarı, hücre membranı ve sitoplazmik yapılar gibi birden çok hedefe yönelik aktivite gösterir. Mikrobisidal etki için yüksek kullanım konsantrasyonlarında kullanılan bazı dezenfektanların jeneralize etkileri vardır (hücre membranının harabiyeti, birçok enzim aktivitesinin inhibisyonu gibi). Düşük konsantrasyonlarda ise bu dezenfektanlar antibiyotikler gibi sadece bir veya iki hedefi etkileyebilir. Düşük düzeyde dezenfektana maruz kalmanın azalmış dezenfektan duyarlılığına yol açtığına dair yayınlar varsa da, böyle durumlarda

önemli olan husus, bunun in vivo olarak da aynı derecede azalmış aktiviteye yol açıp açmayacağıdır. Çünkü pratik uygulamalarda dezenfektanlar çok yüksek konsantrasyonlarda kullanılmakta olup hızlı mikrobiyal aktivite göstermektedir. Örneğin; triklozan için MİK değeri yüksek (25-50 µg/mL) olan *E. coli* mutantları ile yapılan çalışmada (kontrol suşların MİK değerleri 0.1 µg/mL), triklozan içeren ürünlerin mutant suşları ve kontrol suşları öldürmesinde bir farklılık görülmemiştir. Bu bulgular triklozanın hücrede multipl hedeflerinin bulunması ile uyumludur.

Bazı durumlarda, dezenfektanın yoğun kullanıldığı yerlerden izole edilen suşlarda o dezenfektanın kullanım konsantrasyonuna karşı direnç saptanmıştır. Bu direncin, intrensek dirence sahip suşların seçilmesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Dezenfektan maruziyeti sonrası bakterilerde azalmış duyarlılık gelişebilmesine rağmen, bu durumun pratik uygulamalarda önemli olmadığı da belirtilmektedir. Çünkü klinik uygulamalarda yüksek konsantrasyonlarda dezenfektan kullanıldığı için, oluşan direnç düzeyi düşük düzeyde olup pratik etki oluşturmayacak boyuttadır. Dezenfektanlara dirençli bakteri popülasyonları zaman zaman ortaya çıkmaktadır, ancak bu durum sıklıkla bakterilerin fenotipik adaptasyonları sonucu gelişmektedir.

DEZENFEKTAN KULLANIMI ve ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Dezenfektanların çoğu 20. yüzyılın başında veya ilk kısmında ortaya çıkmıştır. Popüler inanışın tersine, dezenfektan direnci yeni bir fenomen değildir. Antibiyotiklere dirençli bakterilerin dezenfektanlara anlamlı bir şekilde daha az duyarlı olması hakkında az sayıda kanıt olmasına rağmen, ortaya atılması gereken en önemli soru şudur: Dezenfektanların klinik uygulamaya, evsel kullanıma, besin endüstriyel alanlarda kullanıma sunulması, antibiyotiklere dirençli bakterilerin seçilmesine yol açmakta mıdır? *qac* genleri antibiyotiklere duyarlı stafilokoklarda bulunmaktan ziyade antibiyotiklere dirençli olan stafilokoklarda bulunmaktadır ve klorhekzidin ile kuarternler amonyum bileşiklerinin klinik uygulamalarda kullanılmasının dirençli stafilokokların seçilmesinden sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. Bazı araştırmacılar *qacA* geninin *S. aureus*'un hastane ortamında canlı kalmasına yardımcı olduğunu ileri sürmektedir. *P. aeruginosa*'daki "efflux" pompaları çok çalışılmış olup bazı antibiyotik ve dezenfektanlarla ilişkili olduğu gözlenmiştir. Triklozana dirençli *S. aureus* mutantlarında antibiyotiklere artmış direnç saptanmamıştır. *E. coli*'de *marA* veya *acrAB* over ekspresyonu triklozan ve bazı antibiyotiklere duyarlılığı azaltmıştır. Triklozana duyarlı bir *P. aeruginosa* mutantının triklozana maruz kalması sonucu "efflux" pompası gelişmiş ve suş siprofloksasine dirençli hale gelmiştir. Benzalkonyum klorüre dirençli stafilokokların duyarlı olanlara göre bazı antibiyotiklere karşı daha dirençli oldukları görülmüştür. Kuarternler amonyum bileşiklerinin kullanılmasının dirençli suşların seçilmesine yol açacağı ileri sürülmüştür. Ancak bu bildirimlerin çok azında letal etkiler çalışılmıştır.

Katyonik dezenfektanların yaygın kullanımı, bu dezenfektanlara ve bazı ilişkisiz kimyasal yapıdaki antibiyotiklere dirençli *P. aeruginosa*, *P. stuartii* ve *Proteus*'ların seçilmesine yol açmaktadır. Triklozan kullanımının ise izoniazide dirençli *M. tuberculosis*, antibiyotiklere dirençli gram-negatif bakteri veya antibiyotiklere dirençli stafilokok gelişimine yol açtığı yönünde inandırıcı kanıtlar bulunmamıştır. Dezenfektan ve antibiyotik direnci arasındaki ilişkiye yönelik en önemli kanıt, kateterli hastalarda yaygın olarak kullanılan klorheksidinin antibiyotiklere dirençli gram-negatif bakterilerin seçilmesine yol açmasıdır. Ancak plazmid aracılı bir direnç saptanmamıştır. *Pseudomonas* ve *Proteus* gibi bakterilerle yapılan çalışmalarda dezenfektan ve antibiyotik direnci arasında ilişki olduğuna dair laboratuvar bulguları saptanırken, diğer birçok gram-pozitif ve negatif bakteri ile yapılan çalışmalarda böyle bir ilişki bulunmamıştır.

Hastanelerdeki çevresel cansız ortamlarda bulunan dezenfektan kalıntıları ile antibiyotik direnci arasında korelasyon var mıdır? Suçlanan dezenfektanlar, bir bisfenol bileşiği olan fenileter, triklozan ve katyonik biyosidlerdir. Şu ana kadar yapılan sınırlı çalışmalar, klorheksidin ve kuarterner amonyum bileşikleri için yüzeydeki kalıntıların *P. aeruginosa* dışında önemli olmadığı görülmüştür. Dezenfektan kalıntıları evsel ortamlarda da ortaya çıkmaktadır. Dezenfektan kalıntıları buralarda da selektif baskıya neden olabilir, ancak henüz bu konuda güçlü bilimsel kanıtlar yoktur. ABD'de bulunan "Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi" [Centers for Disease Control and Prevention (CDC)] antibiyotiklere dirençli olan mikroorganizmalara karşı özel dezenfektan stratejileri önermemektedir.

Tüm bu çalışmalardaki anahtar, düşük dezenfektan konsantrasyonudur. MİK değerlerindeki düşük artışlar (2-8 kat gibi) dezenfektanın klinik kullanımdaki konsantrasyonunun çok altındadır. Kullanım konsantrasyonlarındaki dezenfektanlar antibiyotik direnci ile ilişkili olma hususunda pek probleme neden olmazlar. Hastane çevresel ortamlarındaki dezenfektan rezidüel etkileri az çalışılmış olmasına rağmen, şu ana kadar edinilen sınırlı bilgi bu durumun antibiyotiklere dirençli bakterilerin seçilmesine yol açmadığı şeklindedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda da şu sonuçlara varılmıştır:

1. Triklozan veya kuarterner amonyum bileşikler ile antibiyotik direnci arasında bir ilişki bulunmamıştır.

2. Antibiyotik ve dezenfektan direnci arasında birçok negatif korelasyon da mevcuttur. Şu ana kadar yapılan çalışmalarda dezenfektanların hastane dışındaki ortamlarda (evlerde) sürekli kullanılması ile antibiyotik direncindeki artış arasında bir ilişki saptanmamıştır.

DEZENFEKTAN ROTASYONU

Son yıllarda tartışılan bir başka husus da dezenfektan rotasyonudur. Bazı yazarlarca, hastanelerde dezenfektanların rotasyon şeklinde kullanılmasının dezenfektanlara direnç gelişimini engelleyebileceği ileri sürülmektedir. Dezenfektanı rotasyon şeklinde kullanmanın amacı, spesifik bir dezenfektana direnç gelişmesi-

ni önlemek içindir. Rotasyonun dezenfektanlara dirençli mikropların seçilmesini engelleyebileceği ve dezenfektanlara direnç gelişimini önleyebileceği ileri sürülmektedir.

Dezenfektan rotasyonuna karşı olan yazarlar da mevcuttur. Bu yazarlara göre, bazı spesifik örnekler dışında (sporlar, mikobakteriler), bakterilerin dezenfektanların kullanım konsantrasyonlarına, karşı direnç geliştirme ihtimali düşüktür. Laboratuvar deneylerinde dezenfektana karşı direnç gelişimine yol açan doz genellikle kullanım konsantrasyonundan çok daha düşüktür ve bu şekilde gelişen direnç genellikle stabil değildir. Üstelik mikroorganizmalar dezenfektansız ortamlarda subkültürleri yapıldığında tekrar eski duyarlı durumlarına geri dönmektedirler. Hastanelerde bulunan mikroorganizmaların sayısı ve tabiatı da önemlidir. Örneğin; mikrobiyal kontaminasyonda sağlık personeli önemli bir kaynaktır. Çevresel ortamlarda mikroorganizmaların az sayıda bulunması da direnç gelişme şansını sınırlamaktadır. Sıvı kültürlerde 10^9 hücre/mL gibi yüksek bir konsantrasyon sağlanmaktadır ve mutasyon gelişme şansı bu yüzden vardır. Halbuki temiz bir çevrede mikroorganizma sayısının düşük olması beklenir ve bu mikroorganizmalar da genelde geniş bir alana dağılmış vaziyette bulunur. Böylece mutasyon şansı ve genetik aktarım şansı düşüktür. Bu nedenle rotasyonun gereksiz olduğu belirtilmekte, temizlik ve kişisel hijyenin önemi vurgulanmaktadır. Laboratuvar şartlarında gelişen direnç nadiren genetik olarak stabil olup doğal çevresel ortamda devam etmektedir. Şu anda, uygun şekilde kullanılan dezenfektanların klinik problem doğurduğuna yönelik (duyarlılığı azalmış mikroorganizmaların gelişimini ve seçilmesini sağladığına) kanıtlar yoktur. Bu nedenle rotasyon gereksizdir. Ancak mikroorganizma konsantrasyonunun yüksek olduğu kirli ortamlarda biyosid rotasyonunun yapılabileceği belirtilmektedir.

Sonuç

Dezenfektanların yıllardır kullanılıyor olmasına rağmen, direnç yüzünden gelişen majör salgınlar bildirilmemiştir. Mikroorganizmalar birçok çevresel fiziksel ve kimyasal şartlara adaptasyon göstermektedir. Bu durum göz önüne alındığında, yoğun olarak kullanılan dezenfektanlara karşı direnç ortaya çıkması şaşılacak bir durum değildir. Bakterilerdeki en önemli dezenfektan direnç mekanizmaları intrinsek direnç mekanizmalarıdır. Bununla birlikte, özellikle ağır metallere karşı gelişmiş olan bazı kazanılmış direnç mekanizmalarının klinik olarak da anlamlı olduğu gösterilmiştir. Biyofilm dezenfektan direncinde oldukça önemli bir yere sahiptir. Dezenfektan direnci ile ilgili bildirilen birçok makale, aslında eksik yapılmış olan mekanik temizlik işlemi ile, uygun olmayan ürünün kullanılması ile veya yetersiz infeksiyon kontrol uygulamaları ile paralellik göstermektedir. Dezenfektanların pratikteki kullanım konsantrasyonlarındaki etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar, yüksek konsantrasyonlarda kullanılabilmeleri, ürünün formülasyon özellikleri (ürünün etkinliğini arttırabilmektedir) gibi çeşitli nedenlerden dolayı, MİK değerlerinin her zaman klinik olarak çok fazla anlamlı olmadığı görülmektedir. Dezenfektanların inhibitör ve letal etkileri hakkında daha birçok araş-

tırma yapılması gerektiği çeşitli makalelerde belirtilmektedir (bu çalışmalarda hedef bölgeler ve konsantrasyona bağlı etkiler incelenmelidir). Bu çalışmalar intrensek ve kazanılmış direnç mekanizmaları ve dezenfektan-antibiyotik direnci arasındaki ilişkiler hakkında daha fazla bilgi edinmemizi sağlayacaktır.

Özellikle bakteri dışındaki mikroorganizmalardaki direnç mekanizmaları hakkında çok daha fazla çalışma yapılması gerektiği bildirilmektedir. Etki ve direnç mekanizmalarının araştırılması sadece akademik anlamı olan bir olay olmayıp, aynı zamanda bu ajanların klinik olarak daha etkili bir şekilde kullanılmasına, yeni ve daha etkili bileşikler geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Block C, Furman M. Association between intensity of chlorhexidine use and microorganisms of reduced susceptibility in a hospital environment. *J Hosp Infect* 2002;51:201-6.
2. Bloomfield SF. Significance of biocide usage and antimicrobial resistance in domiciliary environments. *J Appl Microbiol* 2002;92:144-57.
3. Chapman JS. Characterizing bacterial resistance to preservatives and disinfectants. *Inter Biodeg Biodeg* 1998;41:214-45.
4. Fraise AP. Susceptibility of antibiotic-resistant cocci to biocides. *J Appl Microbiol* 2002;92:158-62.
5. Gilbert P, Allison DG, McBain AJ. Biofilms in vitro and in vivo: do singular mechanisms imply cross-resistance? *J Appl Microbiol* 2002;92:98-110.
6. Heir E, Sundheim G, Holck AL. The qac gene on plasmid pST94 confers resistance to quaternary ammonium compounds in staphylococci isolated from the food industry. *J Appl Microbiol* 1999;86:378-88.
7. Manzoor SE, Lambert PA, Griffiths PA, Gill MJ, Fraise AP. Reduced glutaraldehyde susceptibility in *Mycobacterium chelonae* associated with altered cell wall polysaccharide. *J Antimicrob Chemother* 1999;43:759-65.
8. McBain JA, Ledder RG, Sreenivasan P, Gilbert P. Selection for high-level resistance by chronic triclosan exposure is not universal. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:772-7.
9. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:147-79.
10. Murtough SM, Hiom SJ, Palmer M, Russell AD. Biocide rotation in the healthcare setting: is there a case for policy implementation. *J Hosp Infect* 2001;48:1-6.
11. Poole K. Mechanism of bacterial biocide and antibiotic resistance. *J Appl Microbiol* 2002;92:55-64.
12. Russell AD. Bacterial resistance to disinfectants: present knowledge and future problems. *J Hosp Infect* 1998;43:57-68.
13. Russell AD. Antibiotic and biocide resistance in bacteria: comments and conclusions. *J Appl Microbiol* 2002;92:171-3.
14. Russell AD. Do biocides select for antibiotic resistance? *J Pharm Pharmacol* 2000;52:227-33.
15. Russell AD. Mechanisms of antimicrobial action of antiseptics and disinfectants: an increasingly important area of investigation. *J Antimicrob Chemother* 2002;49:597-9.
16. Russell AD. Biocides and pharmacologically active drugs as residues and in the environment: is there a correlation with antibiotic resistance. *Am J Infect Control* 2002;30:495-8.

17. Russel AD. Biocide use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. *Lancet Infect Dis* 2003;3:794-803.
18. Russell AD. Bacterial adaptation and resistance ro antiseptics, disinfectants, and preservatives is not a new phenomenon. *J Hosp Infect* 2004;57:97-104.
19. Stickler DJ. Susceptibility of antibiotic-resistant gram-positive bacteria to biocides: a perspective from the study of catheter biofilms. *J Appl Microbiol* 2002;92:163-70.
20. Sattar SA, Tetro J, Springthorpe VS, Giulivi A. Preventing the spread of hepatitis B and C viruses: where are germicides relevant? *Am J Infect Control* 2001;29:187-97.
21. Sattar SA. Microbicides and the environmental control of nosocomial viral infections. *J Hosp Infect* 2004;56:64-9.