
Bakteriler ve Dezenfektanlara Direnç

Yrd. Doç. Dr. Elif DOYUK KARTAL

*Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ESKİŞEHİR*

Genel anlamda biyosidler, antiseptik, dezenfektan ve koruyucu maddeleri kapsayan, dezenfeksiyon, sterilizasyon ve sanitasyon amacıyla kullanılan inorganik ya da organik sentetik moleküllerdir. Dezenfeksiyon işlemiyle cansız nesnelere üzerindeki potansiyel patojenlerin miktarı sağlığa zarar vermeyecek bir düzeye düşürülür. Semmelweis tarafından 150 yıl önce klorlu el yıkamanın ilk kullanımından beri bu ajanlar infeksiyon kontrol programlarında vazgeçilmez olmuşlardır. Günümüzde dezenfektanların hem hastane ve diğer sağlık kuruluşlarında hem de hastane dışında gıda, kozmetik sektöründe, hatta evlerde geniş bir kullanım alanı vardır.

Antibiyotiklere bakteriyel direnç çok ilgi görmüş, çok geniş çalışılan bir problem olarak görülmüştür. Dezenfektanlar cephesinde durum böyle değildir. 1950'li yılların başında tanımlanan dezenfektan direnci aslında çok yeni bir kavram değildir, fakat muhtemelen direncin nadir olduğunun düşünülmesi, bunun da klinik anlam ve öneminin düşük olması yanında standart tanımlamanın güç olması gibi nedenlerle çok az ilgi gören bir alan olmuştur. Ancak son yıllarda bu konuda yapılan çalışmaların sayısında gittikçe artış olduğu görülmekte ve dezenfektan direncinin klinik önemi olan bir olay olduğu vurgulanmaktadır.

DEZENFEKTANLARA DİRENCİN KÖKENİ

Mikroorganizmalar dezenfektanlara karşı iki tür direnç gösterir:

- A. İntrensek direnç.
- B. Kazanılmış direnç.

Dezenfektanlara direnç başlıca intrensek yolla ortaya çıkarken antibiyotiklere karşı direnç sıklıkla plazmidler ve transpozonlar yoluyla kazanılır ve hızla yayılır.

A. İntrensek Direnç

Kromozomlar tarafından kontrol edilen ve bakterilerde doğal olarak var olan bir özelliktir. Bakteriyel sporlar, mikobakteriler ve değişik gram-negatif bakteriler bu şekilde birçok dezenfektana dirençlidir. Genellikle hücresel geçirgenlikte bozulma ile, bazen yapısal parçalayıcı enzimler ile ilişkilidir. Biyofilm oluşumu da bir intrensek direnç mekanizmasıdır. Bu durum fizyolojik direnç olarak tanımlanmakla birlikte aslında bir fizyolojik (fenotipik) adaptasyondur. Biyofilm tabakası bakterilerin katı yüzeylerle teması sonrası gelişmektedir. Biyofilm tabakası içindeki bakteriler sıvı ortamda serbest üreyen bakterilere göre dezenfektanlara 10-100 kat daha dirençlidir. Bu yolla oluşan direncin mekanizması tam olarak açıklığa kavuşmamakla birlikte; glikokaliks bileşimi, hücre dışı enzimler, besin sınırlaması, dezenfektanın hücrelere ulaşmasında zorluk gibi çeşitli faktörlerin ilişkili olduğu varsayılmaktadır. Bakteriler biyofilm tabakasından uzaklaştırılıp sıvı kültür ortamlarında serbestçe üretilirse, dirençli oldukları dezenfektanlara tekrar duyarlı hale gelirler. Biyofilm üreten bakteriler antiseptik solüsyonlar içinde uzun süre canlı kalabilmektedir. Dezenfektanlara dirençli biyofilm üreten kökenlerin yol açtığı salgınlar bildirilmiştir. Ayrıca endoskop ve bronkoskoplarda psödobiyofilm oluşumuyla ortaya çıkan *Mycobacterium chelonae*, *M. tuberculosis* ve hepatit C virüsü (HCV) salgınları bildirilmiştir.

B. Kazanılmış Direnç

Bakterilerdeki kazanılmış dezenfektan direnci mutasyon veya plazmid, transpozon gibi genetik eleman kazanımıyla olmaktadır. Plazmid aracılı antiseptik ve dezenfektan direnci ilk olarak *Pseudomonas aeruginosa*'da tanımlanmakla birlikte daha sonra *Staphylococcus aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar, *Pseudomonas* türleri ve Enterobacteriaceae üyelerinde rapor edilmiştir. *S. aureus*'larda dezenfektan direnci *qac* genleri (*qac A,B,C,D*) tarafından kodlanmaktadır. Bu genler plazmid üzerinde bulunmaktadır. Antiseptik dirençli *S. aureus* türlerinin büyük çoğunluğu *qac A* geni içermektedir. Plazmid aracılı dezenfektan direnci *Pseudomonas* ve Enterobacteriaceae'da ise *qac E* veya *qac EΔ1* çoklu ilaç taşıyıcı genleri ile kodlanmaktadır. *qac* genleri taşıyan plazmid konjugatif olarak aktarılabilir.

Plazmid aracılı olmayan kazanılmış dirençte mevcuttur. Bu direnç her zaman stabil değildir. Genellikle genetik olmayan adaptif tip dirençtir. Fenotipik adaptasyon ile geçici direnç olarak bilinir. *P. stutzeri*'de dış membran protein değişikliği ile kuarterner amonyum bileşikleri (KAB)'ne stabil direnç gelişimi bu tip dirence bir örnektir.

DEZENFEKTANLARA DİRENÇ GELİŞİM MEKANİZMALARI

Bakterilerde antibiyotik direncine yol açan mekanizmalar çok iyi tanımlanmıştır. Bakteriyel antibiyotik direncine yol açan üç ana direnç mekanizması mevcuttur.

1. Hedef bölgenin değişmesi,
2. İnaktivasyon,
3. Hedefe ulaşmada azalma (eflüks veya hücre dışına çıkarma, geçirgenliğin azalması).

Bu direnç mekanizmalarının her birini kullanan biyosid dirençli bakteri örnekleri literatürde mevcuttur. Dezenfektan direnci daha çok hücre duvarı ve hücre zarındaki geçirgenlik değişikliklerinden ve artmış eflükstan kaynaklanmaktadır. Dezenfektan maddenin inaktivasyonu ile oluşan direnç çok nadirdir.

Kuarterner Amonyum Bileşiklerine Direnç Gelişimi

En çok çalışılan gruptur. KAB dirençli izolatların çoğu bir ya da daha çok eflüks pompasına sahiptir. Bu pompalar ile duyarlılıkta azalma büyük ölçüde olmakla birlikte önemlidir. *qac G* sergileyen *S. aureus* türleri duyarlı kontrol türlerinden dört-beş kat fazla minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerine sahiptir. Hem gram-pozitif bakterilerde (*qac A*, *qac B* ve *smr*, *qac G*, *qac H*) hem de gram-negatif bakterilerde (*emr E*, *qac E* ve *qac EΔI*) tanımlanmıştır.

KAB'ye dirençli bakteriler hastanelerden de elde edilmiştir. KAB direncini taşıyan mobil genetik elementlerde antibiyotik ve biyosid direnç genlerinin birlikte bulunduğu gösterilmiştir. *S. aureus*'ta *qac A* gen taşıyan plazmid; trimetoprim (*drfA*) ve aminoglikozidlere (*aacA-aacD*) direnç genleri de taşır. *qac A/B* genleri beta-laktamaz üreten plazmidlerde saptanmıştır ve klinik izolatlarda ağır metal direncinden sorumludur. *Smr* çoklu dirençli determinantlar ise geniş konjugatif plazmidlerde bulunmuştur. *qac E* ve *qac EΔI* genleri gram-negatif bakterilerde integronlar bölümünde yerleşmiştir. Integronlar yüksek düzeyde hareketli elementlerdir ve genellikle çoklu antibiyotik direnç genlerini içerir. Bu hareketli serbest elementlerde bulunan KAB direnç genleri horizontal gen transferi yoluyla yayılabilir. *Listeria*'da gözlenen plazmid kaynaklı KAB direncinin büyük oranda transfer özelliği gösterdiği saptanmıştır.

Diğer KAB direnç mekanizmaları henüz net bir şekilde karakterize edilememiştir. Seri transfer sonucu *P. aeruginosa* da KAB'ye kısmi bir direnç tanımlanmıştır. KAB dirençli bu bakterilerin stoplazmik membran bileşenlerinde değişiklik olduğu, bunun yanında palmitik asit düzeyinde azalma, hidroksile yağ asitleri ve laurik asit miktarında azalma yaparak KAB'nin hücre içine girişini zorlaştırdığı öne sürülmektedir.

Oksitleyici Dezenfektanlara Direnç Gelişimi

Klorin, hidrojen peroksit ve perasetik asit birçok sektörde kullanım alanı bulan dezenfektanlardır. Bunlara direnç katalazın aşırı üretimi veya *Escherichia coli*'de oxy R veya sox RS regülonlarının indüksiyonu ile kazanılır. Tüm defans mekanizmaları radikal aracılı hasarı azaltmaya yöneliktir. Bu durum yapısal veya geçici olabilir. Mutasyon sonucu stabil dirençli mutantlar oluşurken, geçici indüksiyon fenotipik tolerans ile sonuçlanabilir. Okside edici ajanlara fenotipik tole-

rans biyofilm oluşumundan da kaynaklanabilir. Okside edici ajan daha biyofilm içinde derinde yaşayan hücreler ile reaksiyona girmeden tüketilebilir. Bu mekanizma ile biyofilm derinliği içindeki hücreleri korunabilirken, ince biyofilmlerde sadece duyarlılıkta azalma söz konusudur. İnce biyofilmler hem hidrojen peroksit hem de monokloramine duyarlılıkta azalma gelişimi gösterebilir. *E. coli* de klorine tolerans karbon molekülünün yoksunluğu ile ilişkili bulunmuştur. Bu son zamanlarda yavaş üreyen *M. avium*'da da gösterilmiş olup, hızlı üreyenlerden 10 kat daha fazla dirençli bulunmuşlardır

İyodoforlara Direnç Gelişimi

Bu konuda yapılmış çok az sayıda çalışma vardır. Ticari olarak üretilen %1 iyodin içeren povidon-iyot dezenfeksiyon solüsyonları içinde *Burkholderia cepacia*'nın 68 hafta gibi uzun bir zaman boyunca sağ kalabildiği gösterilmiştir. Bu solüsyonların hastanelerde kullanılması nozokomiyal infeksiyonlara yol açabilir. Yapılan bir çalışmada dezenfektan üreticilerinin fabrikalarında PVC borularında oluşan biyofilmlerin kontaminasyondan sorumlu olduğu konusunda fikir birliği sağlanmıştır. Biyofilm içinde büyüyen hücreler ile yapılan diğer bir çalışmada iyodinlere azalmış duyarlılık saptanmıştır. Bu çalışmada yazarlar hücre dansitesinin yüksek olmasının iyot direncine katkıda bulunduğunu öne sürmüşlerdir. *P. aeruginosa*'da iyodinasyon ve klorinasyona duyarlılıkta azama gösteren çalışmalar mevcuttur.

Fenollere Direnç Gelişimi

Fenollere duyarlılıkta azalma *P. aeruginosa*'da rapor edilmiştir. Fakat kullanım sırasında direnç rapor edilmemiştir. Yapılan bir çalışmada MİK üzerindeki çeşitli düzeylerde klorofenollere fenotipik tolerans açıkça gösterilmiştir. Mekanizma tam olarak anlaşılammamakla birlikte dış membran proteinlerindeki değişiklik ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür.

Glutearaldehide Direnç Gelişimi

Endoskop dezenfeksiyonu için kullanılan solüsyonlardan glutearaldehide dirençli *M. chelonae* izole edilmiştir. Temel mekanizma tam tanımlanamamakla birlikte hücre duvarının hidrofobisitesinde artmaya bağlanmıştır. Glutaraldehid dirençli *B. cepacia* sağlık sektörü dışında kontamine bir tüketici ürününden izole edilmiştir. Bu mikroorganizma formaldehid ve formaldehid salan biosidler ile çapraz direnç göstermiştir. Mevcut süşun glutatyon-bağımlı aldehid dehidrogenaza sahip olduğu gösterilmiştir.

Hastane Dezenfektanları ve Bakteriye Kontaminasyon

Dezenfektan direnci ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu sadece laboratuvar temelinde yapılmıştır. Bu yüzden hastane dezenfektanlarına bakteriyel direnç olmasının klinik bir problem olarak değerlendirilip değerlendirilmeyeceği önemli fakat henüz açıklığa kavuşmamış bir konudur. Bazı kaynaklarda zaman zaman dezenfektan yetersizliğinden ve kontamine mikroorganizmalarla olan sistemik ve lokal infeksiyonlardan bahsedilmiştir. Bu açıdan klinik pratikte benzalkonyum

klorid, klorheksidin ve iyodoforların problemlı solüsyonlar olduğu öne sürülmüş- tür. Kontamine klorheksidinli mesane irrigasyon sıvısı kayanıklı postop üriner sistem infeksiyonları rapor edilmiştir. Bir çalışmada *P. aeruginosa* ile kontamine benzalkonyum klorid solüsyonu içinde saklanan kateterler ve iğnelerin kullanımından kaynaklanan 40 bakteriyemi örneği rapor etmişler ve kontamine dezenfektanlar gram-negatif bakteri kaynaklı hastane infeksiyonlarında bir kaynak olarak gösterilmiştir. Dezenfektan solüsyonlarının kontamine olabileceği fakat bunun duyarlılıkta azalmayla ilişkili olması gerekmediği vurgulanmıştır. Bu konunun değerlendirilmesinde dezenfektanların yetersiz konsantrasyonlarda, uygunsuz (organik madde veya noniyonik surfaktan varlığı) kullanımı ve yetersiz etki süresinde kullanım faktörlerinin de dikkate alınması gereklidir.

DEZENFEKTAN DİRENCİNİN ÖNEMİ

Biyosidlere duyarlılık azalması çok uzun zamandır bilinmektedir. Bu durumda günümüzde biyosidlere yüksek oranda dirençli suşların gelişmesi beklenirdi. Bu şu ana kadar gözlenmedi, fakat günümüzde kullanımın daha da yaygınlaştığı göz önüne alındığında gelecekte sorun olup olmayacağı konusunda yorum yapmak güç görünüyor.

Dezenfektanlar antibiyotiklerin aksine birden çok hedefe yönelik aktivite gösterir. Düşük konsantrasyonlarda ise antibiyotikler gibi bir ya da iki hedefi etkileyebilir. Düşük düzeyde dezenfektana maruz kalmanın dezenfektan duyarlılığında azalmaya yol açtığını bildiren yayınlar olmakla birlikte günlük pratik uygulamada dezenfektanlar çok yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığı için duyarlılıkta azalma klinik uygulamalarda pratik etki oluşturmayacak boyuttadır. Bazı durumlarda ise dezenfektanın yoğun kullanıldığı yerlerden izole edilen suşlarda o dezenfektanın kullanım konsantrasyonuna karşı direnç saptanmış, bu direncin intrensek dirence sahip suşların seçilmesiyle ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Burada asıl cevabı merak edilen sorular;

- Dezenfektanlara çapraz direnç söz konusu mudur?

Literatürde KAB ve peroksitlerde gözlenen çapraz direnç dışında çok az örnek bulunmaktadır. Bu direnç oxy R radikal defans sistemleriyle ilişkilidir.

- Dezenfektanların yaygın kullanımını antibiyotiklere dirençli bakterilerin seçilmesine yol açmakta mıdır? Dezenfektan direnci ile antibiyotik direnci birlikte bulunabilir mi, aktarılabılır mi?

Son bilgiler KAB, klorheksidin ve triklosan kullanımının bu dezenfektanlara ve antibiyotiklere muhtemel bakteriyel direnç ile ilişkisi olduğu yönündedir. Bunun nedeni *qac* genleri ile çoklu antibiyotik direnç genlerinin mobil genetik elementlerde birlikte bulunmasıdır. Tanımlanan ilk *qac A* geni beta-laktamlar ve ağır metale dirençten sorumlu aktarılabılır bir plazmidde bulunmuştur. Birçok klinik izolatta çok çeşitli antibiyotiklere geniş oranda fenotipik direnç gösteren, *qac* genleri taşıyan plazmidler tanımlanmıştır. *qac* genleri antibiyotiklere dirençli olan stafilokoklarda daha sık bulunmaktadır. KAB ve klorheksidin klinik uy-

gulamada kullanımının dirençli stafilokokların seçilmesinden sorumlu oluşu ile sürülmektedir. Son çalışmalarda gram-negatif bakterilerde intrinsek antibiyotik direncine neden olan koromozomal efluks pompalarının biyosid direncine de katkıda bulunabileceğini gösterilmiştir. Bunlar *P. aeruginosa* ve *E. coli*'de gösterilmiştir.

Dezenfektanlara direnç antibiyotiklerde olduğu gibi MİK ile belirlenmektedir. Çoklu antibiyotik direnci ve *qac* direnç geni taşıyan bakterilerin dezenfektanlara karşı MİK düzeyi artabilir. Bununla birlikte MİK değerlerindeki küçük artışlar (iki-sekiz kat) dezenfektanların klinik kullanımdaki konsantrasyonlarının çok altındadır. Bu direnç genlerinin varlığı bu nedenle dezenfeksiyona gerçek, etkin bir direnci göstermez. Kullanım konsantrasyonlarındaki dezenfektanlar antibiyotik direnci ile ilişkili olma hususunda pek probleme yol açmazlar.

-Hastanelerde çevresel ortamda bulunan dezenfektan kalıntıları ile antibiyotik direnci arasında korelasyonu araştıran sınırlı sayıda çalışmada, bu durumun antibiyotiklere dirençli bakterilerin seçilmesine yol açmadığı şeklindedir.

Sonuç olarak; deznfektanlara duyarlılıkta azalma yıllardır bilinmesine rağmen, yüksek düzeyde dezenfektan dirençli türlerin gelişimine neden olmamıştır. Direnç yüzünden gelişen majör salgınlar bildirilmemiştir. Mikroorganizmaların birçok çevresel, fiziksel ve kimyasal şartlara adaptasyon gösterebilmesi dikkate alındığında dezenfektanlara karşı direnç gelişimi ilginç bir durum değildir. Bakterilerde dezenfektanlara en önemli direnç mekanizması intrinsek direnç olmakla birlikte fenotipik tolerans oldukça önemli bir yere sahiptir. Dezenfektan direncinin saptanmasına yönelik standart yöntemler bulunmamaktadır. MİK değerlerin her zaman klinik olarak çok fazla anlamlı olamadığı görülmektedir. Dezenfektanların inhibitör ve letal etkileri hakkında daha çok araştırma yapılmasının gerekli olduğu vurgulanmaktadır.

Dezenfektanlara karşı direnç ile başa çıkabilmek için her şeyden önce dezenfektanlar sadece gerekli olduğunda ve aktiviteleri etkileyen faktörlerin tam olarak sağlandığı şartlarda kullanılmalıdır. Bu konuda son yıllarda gündeme gelen kullanılan dezenfektanın belirli periyotlarla değiştirilmesiyle ilgili bir fikir birliği bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Brinez WJ, Roig-Sagues AX, Hernandez Herrero M, Lopez-Pedemonte T, Guamis B. Bacterisidal efficacy of peracetic acid in combination with hydrogen peroxide against pathogenic and non pathogenic strains of *Staphylococcus* spp., *Listeria* spp. and *Escherichia coli*. Food Control 2006;17:516-21.
2. Chapman JS. Biocide resistance mechanisms. International Bideterioration&Biodegradation 2003;51:133-8.
3. Chapman JS. Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. Biocide resistance mechanisms. International Bideterioration&Biodegradation 2003;51:271-6.

4. Çağlar K. Dezenfektanlara direnç gelişim mekanizmaları? Dezenfektan işlemi ne kadar tehdit etmektedir? Günaydın M, Saniç A, Gürler B (editörler). 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi Kongre Kitabı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2005:702-14.
5. Gebel J, Sonntag HG, Werner HP, Vacata V, Exner M, Kistemann T. The higher disinfectant resistance of nosocomial isolates of *Klebsiella oxytoca*: How reliable are indicator organisms in disinfectant testing? J Hosp Infect 2003;50:309-11.
6. Guerrin-Mechin L, Leveau JY, Dubois-Brissonnet F. Resistance of spheroplasts and whole cells of *Pseudomonas aeruginosa* to bactericidal activity of various biocides: Evidence of the membrane implication.
7. Heinzl M. Phenomena of biocide resistance in microorganisms. Biocide resistance mechanisms. International Biodeterioration&Biodegradation 1998;41:225-34.
8. Martro E, Hernandez A, Ariza J, et al. Assessment of *Acinetobacter baumannii* susceptibility to antiseptics and disinfectants. J Hosp Infect 2003;55:39-46.
9. Nomura K, Ogawa M, Miyomoto H, Muratani T, Taniguchi H. Antibiotic susceptibility of gluteraldehyde-tolerant *Mycobacterium chelonae* from bronchoscope washing machines. Am J Infect Control 2004;32:185-8.
10. Romanova NA, Wolffs PF, Brovko LY, Griffiths MW. Role of efflux pumps in adaptation and resistance of listeria monocytogenes to benzalkonium chloride. App Environ Microbiol 2006;72:3498-503.
11. Reis I, Borkhardt A, Füssle R, Sziegoleit A, Gortner L. Disinfectant contaminated with *Klebsiella oxytoca* as a source of sepsis in babies. The Lancet 2000;356:310.
12. Russel AD. Bacterial resistance to disinfectants: Present knowledge and future problems. J Hosp Infect 1998;43:57-68.
13. Russel AD. Bacterial adaption and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon. J Hosp Infect 2004;57:97-104.
14. Russel AD. Biocide use and antibiotic resistance: The relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. Lancet Infect Dis 2003;3:794-803.
15. Russell AD. Mechanisms of bacterial insusceptibility to biocides. Am J Infect Control 2001;29:259-61.
16. Suller MTE, Russell AD. Antibiotic and biocide resistance in methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococcus. J Hosp Infect 1999;43(4):281-91.
17. Sundheim G, Langsrud S, Heir E, Holk AL. Bacterial resistance to disinfectants containing quaternary ammonium compounds. Biocide resistance mechanisms. International Biodeterioration&Biodegradation 1998;41:235-239.
18. Şencen İ. Dezenfektanlara direnç sorunu ve pratikte önemi. Günaydın M, Sünbül M (editörler). 3. Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi Kongre Kitabı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003:317-25.
19. Tachikawa M, Tezuka M, Morita M, Isogai K, Okada S. Evaluation of some halogen biocides using a microbial biofilm system. Water Resaerch 2005;39:4126-32.
20. White DG, McDermott PF. Biocides, drug resistance and microbial evolution. Curr Opin Microbiol 2001;4:313-7.