

## PSEUDOMONAS VE ENTEROBACTER SUŞLARINDA KLORHEKSİDİN GLUKONAT DİRENÇİ\*

Habibe ERDENİZ<sup>1</sup>, Yaşar NAKİPOĞLU<sup>2</sup>, Bülent GÜRLER<sup>2</sup>

### ÖZET

İstanbul Tıp Fakültesi'nin çeşitli kliniklerinden alınan örneklerden izole edilen 50 *Pseudomonas* ve 50 *Enterobacter* suşunun klorheksidin glukonata duyarlılığı agar dilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Dirençlilik kriteri olarak  $MIC \geq 128 \mu\text{g/ml}$  kabul edilmiştir.

*Pseudomonas* suşlarının % 78'inin, *Enterobacter* suşlarının % 62'sinin klorheksidin glukonata dirençli olduğu saptanmıştır. Bu sonuç, İstanbul Tıp Fakültesi kliniklerinde hastane infeksiyonu yönünden önemli bir tehlikeye işaret etmekte ve önlem alınmasının gerekliliğini göstermektedir.

### SUMMARY

*Determination of chlorhexidine resistance in hospital isolates of Pseudomonas spp. and Enterobacter spp.*

The sensitivity of 50 *Pseudomonas* and 50 *Enterobacter* hospital isolates to chlorhexidine gluconate was determined by agar dilution method. Isolates with MIC values of  $\geq 128 \mu\text{g/ml}$  were accepted as resistant.

The resistance rates to chlorhexidine were found to be 78 % in *Pseudomonas* and 62 % in *Enterobacter* strains.

These results pointed out the fact that there is a considerably high risk of hospital infection in the clinics of Istanbul Faculty of Medicine and necessary preventive actions should be taken accordingly.

### GİRİŞ

Hastane infeksiyonlarının oluşumunda personel ve hastaların elleri çok önemli bir aracıdır. *Pseudomonas* cinsinden bakteriler özellikle hastane ortamında kolay kolonize olurlar. Hastane ortamından, eşya ve gereçlerden alınan örneklerin ortalama olarak %7'sinden *Pseudomonas* cinsinden bakteriler izole edilebilmektedir (2). Bu bakterilerin barınabileceğİ organik döküntülerin (kan, cerahat, yanık eskarları gibi) hastane ortamında bulunması kolonizasyonu arttıran önemli bir faktördür. Bu ortamlarda bulunan bakteriler uzun süre canlılıklarını korurlar (3,12).

Doktor, hemşire, teknisyen gibi hasta bakımı ile ilgili personelin ellerde patojen mikroorganizmlara rastlanma oranı yüksektir. Normal kişilerin yalnız %6'sının ellerde patojen mikroorganizmalar bulunurken, hastaya ilişkili kişilerde bu oran %68'e kadar yükselbilmektedir (7). Bu nedenle hastanelerde ellerin etkili bir antiseptikle kurallara uygun olarak yıkanması zorunlu olmaktadır.

\* 11. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (2-6 Haziran 1996, Kuşadası).  
İstanbul Tıp Fakültesi, 1- Mikroorganizma Kültür Koleksiyonları Araştırma ve Uygulama Merkezi (KÜKENS),  
2-Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

Zaman zaman çeşitli dezenfektan ve antiseptik maddelerin farklı Gram negatif çomak türlerine etkisiz olduğu, hatta bakterilerin bu antimikrobiyal maddelere direnç kazandığı bildirilmektedir (13,14,15,16).

Klorheksidin ilk olarak 1954 yılında sentez edilmiştir. Polimerik diguanid olan klorheksidin monomerik biguanidlerden daha etkili bakterisit aktiviteye sahiptir. Hemen bütün dünyada kabul görmüş ve uygulama alanı bulmuş olan bir antiseptiktir. Çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Bunlar içinde el ve deri antiseptiği, vücut temizleyici, akne kreml, kozmetik koruyucu, oftalmik preparatlar, ağız yıkama ve çalkalama çözeltileri bulunmaktadır (10). Çok düşük klorheksidin glukonat konsantrasyonları dahi bakteriyel ve fungal üremeyi önleyebilmektedir. Düşük toksisitesinin olması ve mukoza membranına veya deriye kuvvetli afinitesi yanında yüksek antibakteriyel aktivitesi olması nedeniyle Amerika'da FDA tarafından da topikal antiseptik olarak kabul görmüştür (3,5,10).

Bakterisid etkisinin çok hızlı olması nedeniyle benzer antiseptik preparatlar olan povidon-iyot, heksaklorofen, triklosan, p-kloro-m-ksilenol (PCMX)'e üstünlük sağlamıştır. Kalıcı (residüel) etkisinin çok olması da deri üzerindeki mikroorganizmaların tekrar çoğalmalarını önlemektedir (10). Klorheksidine direnç gelişmesi önemli görüldüğünden bu konuda birçok araştırma yapılmaktadır. Bu bilgiler gözönüne alınarak, bu çalışmada hastane ortamından izole edilen *Pseudomonas* ve *Enterobacter* suşlarının klorheksidin glikonata direnç durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan 50 *Pseudomonas* ve 50 *Enterobacter* suşu Fakültemizin çeşitli kliniklerinden cansız ortamdan sürüntü ile alınmış materyalden izole edilmiştir. Klorheksidin glukonatın bu suşlar için minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) agar dilüsyon yöntemi ile saptanmıştır. Bunun için antiseptiğin %4'lük çözeltisinden damıtık suda 2.5-5120 µg/ml arasında ikişer kat artan konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmıştır. Her konsantrasyondan 4 ml miktarlar Petri kutularında 16 ml triptik soy agar ile karıştırılarak 0.5-1024 µg/ml klorheksidin içeren katı besiyerleri hazırlanmış, suşların bir gecelik buyyon kültürlerinden 1 µl miktarlar besiyerine nokta şeklinde ekilmiştir. 37°C'de 24 saat inkübasyonda üreme görülmeyen en düşük klorheksidin konsantrasyonu MİK olarak belirlenmiştir. Sonuçlarda Baquero ve ark (1) çalışmasındaki kriter kullanılarak, ≥ 128 µg/ml'lik MİK değerleri direnç işaretti olarak değerlendirilmiştir. Deneylerde antiseptik içermeyen besiyerleri üreme kontrolü olarak kullanılmıştır.

## BULGULAR

Klorheksidin glukonatın *Pseudomonas* ve *Enterobacter* suşları için belirlenen MİK değerleri tabloda gösterilmiştir.

Tablo. Klorheksidin glukonatin Pseudomonas ve Enterobacter suşları için MİK değerleri.

MİK ( $\mu$ g/ml)	Pseudomonas (n:50)		Enterobacter (n:50)	
	n	%	n	%
1024	2	4		
512	15	30		
256	13	26	10	20
128	9	18	21	42
64	4	8	17	34
32	1	2	2	4
16	1	2		
8	-	-		
4	1	2		
2	-	-		
1	3	6		
0.5	1	2		

## TARTIŞMA

Yoğun laboratuvar araştırmaları yapılması sonucu bakterilerin antibiyotik ve kemoterapötik maddelere direnç durumu günümüzde iyi aydınlanmıştır. Bunun aksine, antiseptik ve dezenfektan maddelere direnç az çalışılmış bir konudur.

Klorheksidin, deri ve mukoza membranına toksik olmaması, geniş etki spektrumuna sahip olması nedeniyle yaklaşık 40 yıldan beri tıp ve veteriner antisepsisinde kullanılmaktadır (5,10).

Klorheksidinin etkinliği konusunda ilk yayın 1954 yılında Davies ve arkadaşları tarafından yapılmış, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere yüksek etkinlik gösterdiği ve Gram negatif çomaklar için MİK değerinin 5-20 mg/l olduğu belirtilmiştir (14). Klorheksidine dirençli suşlar ilk kez 1967 yılında Gillespie ve arkadaşları tarafından belirlenmiştir (14). 1974 yılında Stickler (13) klorheksidine dirençli *P.mirabilis* suşları, 1976 ve 1980 yılında Stickler ve Thomas (15,16) klorheksidine dirençli *P.aeruginosa*, *Providencia stuartii* ve *P.mirabilis* suşları bildirmiştir. Yapılan araştırmalarda Gram negatif bakterilerin klorheksidine dirençli kabul edilmesi için farklı kriterlerden yararlanılmıştır. Araştırmacıların bir kısmı denenen suşlar için elde ettikleri MİK değerlerini kontrol suşlar için belirlenen MİK değerleri ile karşılaştırmışlardır (6,7,14), bazıları ise belirli bir MİK kriteri kabul etmişlerdir. Ancak bu ikinci gruba giren araştırmacıların da farklı MİK değerlerini kriter kabul ettikleri göze çarpmaktadır (1,9,11).

Nakahara ve Kozukue (9) klorheksidine dirençlilik kriterini  $\geq 50 \mu\text{g/ml}$  kabul ederek, hastanede yatan hastalardan izole ettikleri 317 *P.aeruginosa* suşunun %84.2'sini dirençli bulmuşlardır. Khor ve Jegathesan (8) ise dirençlilik kriterini  $>500 \text{ mg/l}$  kabul ederek inceledikleri 95 Gram negatif çomaktan sadece yedisini klorheksidine dirençli bildirmiştir.

Stickler ve Thomas (15,16) inceленen suşlar için belirlenen antiseptik veya dezenfektan MİK değerlerinin rutin olarak kullanılan antiseptik veya dezenfektan madde konsantrasyonlarından daha yüksek olması halinde mikroorganizmaların dirençli

sayılabileceği; Russel ve ark (11) ise böyle bir kriterin şüphesiz uygun olduğunu, ancak farklı cinslerden Gram negatif çomak şeklindeki bakterilerin hücre yapısındaki kimyasal ve strüktürel farklılıklar nedeniyle klorheksidin ve kuaterner amonyum bileşikleri gibi antiseptiklere intrensek dirençli olduklarını, bu nedenle böyle bir kriter uygulandığında incelenen bakterilerin yapısal, kimyasal, enzimatik ve genetik farklılıklarının da incelenmesi ve açıklanması gerektiğini ileri süremlerdir.

Çalışmamızda klorheksidin glukonata direnç için MİK  $\geq$  128  $\mu\text{g}/\text{ml}$  kriter olarak kabul edilmiştir (1). Buna göre denenen 50 *Pseudomonas* spp. suşunun 39'u (%78) ve 50 *Enterobacter* spp. suşunun 31'i (%62) klorheksidin glukonata dirençli bulunmuştur. *Pseudomonas* spp. suşlarından en dirençli ( $\text{MİK}=1024 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) 2 suştan biri hastanede kullanılan katı sabundan izole edilen kapsüllü bir suş, diğer ise mesane kateterinden izole edilen bir suştur. *Enterobacter* spp. suşları için klorheksidin glukonatın 1024-256  $\mu\text{g}/\text{ml}$  konsantrasyonları tamamının üremesini inhibe etmiştir. *Pseudomonas* spp. suşları, hem toplam yüzde direnç bakımından, hem de MİK değerleri bakımından *Enterobacter* spp. suşlarından daha yüksek direnç göstermiştir.

Klorheksidin glukonatin bakteri hücresindeki başlıca hedefi sitoplazma zarıdır. Elde edilen bulgular fakültemiz hastanesinden izole edilen *Pseudomonas* ve *Enterobacter* cinsinden bakterilerin hücre duvarında klorheksidin geçirgenliğinin azalduğunu düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

- 1- Baquero F, Patron C, Canton R, Ferrer MM: Laboratory and in-vitro testing of skin antiseptics: A prediction for in-vivo activity, *J Hosp Infect* 18 (Suppl B) : 5 (1991).
- 2- Brachman PS: Epidemiology of nosocomial infections, "JV Bennet, PS Brachman (eds): *Hospital Infections*, 2. baskı" kitabı s.3, Little, Brown and Co, Boston/Toronto (1986).
- 3- Brandberg A: Preoperative whole body disinfection, *J Chemother* 1 (Suppl 1): 19 (1989).
- 4- Cruse PJE: Wound infections: Epidemiology and clinical characteristics, "RJ Howard, RL Simmnos (eds): *Surgical Infectious Diseases*" kitabı s.322, Appleton-Lange, Connecticut (1988).
- 5- Denton GW: Chorhexidine, "SS Block (ed): *Disinfection, Sterilization and Preservation*, 4. baskı" kitabı s. 274, Lea and Febiger, Philadelphia (1991).
- 6- Freney J, Husson MO, Gavini F, Madier S, Martra A, Izard D, Leclerc H, Fleurette J : Susceptibilities to antibiotics and antiseptics of new species of the family Enterobacteriaceae, *Antimicrob Agents Chemother* 32: 873 (1988).
- 7- Hammond SA, Morgan JR, Russel AD : Comparative susceptibility of hospital isolates of Gram-negative bacteria to antiseptics and disinfectants, *J Hosp Infect* 9: 255 (1987).
- 8- Khor SY, Jegathesan M: Heavy metal and disinfectant resistance in clinical isolates of Gram-negative rods, *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 14: 199 (1993) ( 8 No'lu kaynakta site edilmiştir).
- 9- Nakahara H, Kozukue H: Isolation of chlorhexidine-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from clinical lesions, *J Clin Microbiol* 15: 166 (1982).
- 10- Ranganathan NS: Chlorhexidine , "Joseph M Ascenzi (ed): *Handbook of Disinfectants and Antiseptics*, 1. baskı" kitabı s.235, Mercel Dekker Inc, New York (1996).
- 11- Russel AD, Hammond SA, Morgan JR: Bacterial resistance to antiseptics and disinfectants, *J Hosp Infect* 7: 213 (1986).

- 12- Rutala WA: Antisepsis, disinfection, and sterilization in hospitals and related institutions, "PR Murray, EJ Baron, MA Pfaffer, FC Tenover, RH Yolken (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 6. baskı" kitabında s.227, Am Soc Microbiol, Washington (1995).
- 13- Stickler DJ: Chlorhexidine resistance in *Proteus mirabilis*, *J Clin Pathol* 27: 284 (1974).
- 14- Stickler DJ, Clayton CL, Chawla JC: The resistance of urinary tract pathogens to chlorhexidine bladder washouts, *J Hosp Infect* 10: 28 (1987).
- 15- Stickler DJ, Thomas B: Sensitivity of *Providencia* to antiseptics and disinfectants, *J Clin Pathol* 29: 815 (1976).
- 16- Stickler DJ, Thomas B: Antiseptic and antibiotic resistance in Gram-negative bacteria causing urinary-tract infection, *J Clin Pathol* 33: 288 (1980).