

# METİSİLİNE DUYARLI VE DİRENÇLİ STAPHYLOCOCCUS AUREUS SUŞLARININ ANTİSEPTİK VE DEZENFEKTAN MADDELERE DUYARLILIKLARININ KARŞILAŞTIRILMASI\*

Yaşar NAKİPOĞLU, Seyda İĞNAK, Bülent GÜRLER, Zayre ERTURAN, Derya AYDIN

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

## ÖZET

Çalışmamızda üçü antiseptik [% 70 izopropil alkol (İPA), % 10 povidon-iyot, % 10 povidon-iyot/etanol], biri çamaşır suyu olmak üzere toplam dört preparata karşı metisiline duyarlı (MS) 50 ve metisiline dirençli (MR) 50 *S.aureus* (SA) suşunun duyarlılıkları karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak MSSA ve MRSA suşları arasında % 10 povidon-iyot ve % 10 povidon-iyot/etanole direnç açısından anlamlı fark bulunmamış ( $p>0.05$ ) olmakla birlikte, MRSA suşlarında % 70 İPA'ya ( $p<0.01$ ) ve çamaşır suyuna ( $p<0.001$ ) karşı MSSA suşlarına kıyasla direncin anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır.

**Anahtar sözcükler:** antiseptik, çamaşır suyu, dezenfektan, izopropil alkol (İPA), povidon iyot, povidon iyot/etanol, *Staphylococcus aureus*

## SUMMARY

### Comparison of Antiseptic and Disinfectant Susceptibility in Methicillin-Susceptible and -Resistant *Staphylococcus aureus* Strains

In this study, the susceptibility of 50 methicillin-susceptible (MS) and 50 methicillin-resistant (MR) *Staphylococcus aureus* (SA) strains for three antiseptics [70 % isopropyl alcohol (IPA), 10 % povidon-iodine, 10 % povidon-iodine/ethanol] and one disinfectant (house bleach) was investigated. It was found that there was no significant differences between the resistance of MSSA and MRSA strains to 10 % povidon-iodine and 10 % povidon-iodine/ethanol ( $p>0.05$ ). Significant higher resistance in MRSA strains to 70 % IPA ( $p<0.01$ ) and to house bleach ( $p<0.001$ ) were detected comparing with MSSA strains.

**Keywords:** antiseptic, disinfectant, house bleach, isopropyl alcohol (IPA), povidon-iodine, povidon-iodine/ethanol, *Staphylococcus aureus*

## GİRİŞ

Patojen mikroorganizmaları ortadan kaldırmak veya ortamdaki sayılarını kabul edilebilir bir düzeye düşürebilmek için çeşitli dezenfektan veya antiseptik maddeler kullanılmaktadır. Hastanelerde yoğun olarak kullanılan bu maddelere karşı ender de olsa direnç gelişebilmektedir. Çeşitli çalışmalarda dezenfektan ve

antiseptik maddelere karşı direncin değerlendirilmesinde farklı kriterler kullanılmaktadır. Bir grup araştırmacıya göre bir dezenfektanın veya antiseptiğin minimal inhibitör konsantrasyonunun (MİK) standart suş için belirlenen MİK'den iki kat<sup>(9)</sup>, başka bir gruba göre ise 10 kat<sup>(7)</sup> yüksek olması direnç işareti olarak kabul edilmektedir. Bu kimyasal maddelere karşı duyarlılığın metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA)

**Yazışma adresi:** Yaşar Nakipoğlu. İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL  
Tel.: (0212) 414 20 00/31975, GSM: (0543) 523 33 97  
e-posta: yasarnakip@yahoo.com

Alındığı tarih: 13.06.2007, revizyon kabulü: 14.09.2007

\* 22.ANKEM Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No.10 (29 Nisan-03 Mayıs 2007, Antalya)

ve metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) suşları arasında anlamlı bir şekilde fark gösterdiği de bildirilmiştir<sup>(3)</sup>. Çalışmamızın amacı çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 MSSA ve 50 MRSA suşunda bazı preparatlara duyarlılık yönünden fark olup olmadığının araştırılmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

**Suşlar:** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 50 MSSA ve 50 MRSA suşu çalışmaya alınmıştır. Standart suş olarak *S.aureus* ATCC 6538 suşu kullanılmıştır.

**Dezenfektan ve antiseptik maddeler:** Çalışmamızda % 70 izopropil alkol (IPA), isosol antiseptik çözelti (% 10 povidon iyot), isosol alkolü çözelti (% 10 povidon iyot ve etil alkol) (Merkez Laboratuvarı İlaç San. ve Tic. A.Ş.) ve evde kullanılan çamaşır suyu (% 5 sodyum hipoklorit=50 bin ppm) preparatları ticari şekli ile kullanılmıştır.

**Mikrodilüsyon yöntemi:** Antibiyotik duyarlılık deneylerinde Clinical and Laboratory Standards Institute tarafından önerilen mikrodilüsyon yöntemi<sup>(6)</sup> bu kimyasal maddeler için modifiye edilerek uygulanmıştır. Bir sırada 12 kuyucuk içeren mikropakların birinci kuyucukları hariç tüm kuyucuklarına 100 µl Mueller Hinton buyyon besiyeri konmuş, her sıranın birinci kuyucuğuna denenecek madde çözeltisinden 200 µl ilave edilmiş ve buradan alınan 100 µl ikinci kuyucuklara aktarılmış ve bu şekilde işlem 11. kuyucuktan 100 µl dışarı atılana kadar sürdürülmüş, böylece her madde için iki kat

azalan konsantrasyonlarda seri sulandırımalar hazırlanmıştır. Bakteri inokülümü için 24 saatlik bakteri kültürlerinden 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlanmış ve 10 kez fizyolojik tuzlu suyla sulandırılmıştır. Bu süspansiyonlardan 5 µl miktarlar her bakteri için sulandırılmış madde serilerinde 11. kuyucuklar hariç tüm kuyucuklara ilave edilmiştir. Kontrol olarak kullanılan 11. kuyucuklarda sadece besiyeri+madde, 12. kuyucuklarda sadece besiyeri+bakteri bulunmuştur. Tüm mikropaklar 35°C'de 24 saat karıştırıcılı (30 rpm/dk) bir etüvde inkübe edilmiş, üremenin görülmeyeceği en yüksek sulandırım (en düşük çözelti konsantrasyonu) belirlenmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler Fischer ki kare analizi ile yapılmıştır.

## BULGULAR

Elli MSSA ve 50 MRSA suşunun kullanılan 4 maddesinin çeşitli sulandırımalarında üremeleri tabloda gösterilmiştir. *S.aureus* ATCC 6538 için tablo altında verilen sonuçlar bu suş için verilen değerlere uygun olmuş, bu şekilde diğer bulguların güvenilir olduğu kanıtlanmıştır.

Bu bulgulara göre 50 MSSA ve 50 MRSA suşlarının % 10 povidon-iyot ve % 10 povidon-iyot/etanole dirençlerinde anlamlı fark bulunmamış ( $p>0.05$ ), % 70 İPA'ya ( $p<0.01$ ) ve çamaşır suyuna ( $p<0.001$ ) direnç MRSA suşlarında anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (Tablo).

**Tablo:** Kullanılan maddelerin belirtilen sulandırımalarında denenen suşların üremesi (kümülatif)\*.

|                          | 1/4   | 1/8  | 1/16  | 1/32  | 1/64  | 1/128 | 1/256 | 1/512 | Direnç *** |      |      |        |
|--------------------------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------|------|------|--------|
|                          |       |      |       |       |       |       |       |       | Aynı       | MSSA | MRSA | p      |
| % 70 İPA                 | 0/1** | 0/11 | 39/40 | 50/50 |       |       |       |       | 39         | 0    | 11   | <0.01  |
| % 10 povidon-iyot        |       |      |       |       | 2/7   | 48/29 | 50/40 | 50/50 | 26         | 19   | 5    | >0.05  |
| % 10 povidon-iyot/etanol |       |      | 0/2   | 1/11  | 10/17 | 50/43 | 50/50 |       | 33         | 7    | 10   | >0.05  |
| Çamaşır suyu             |       | 0/1  | 0/9   | 1/30  | 28/48 | 49/50 | 50/50 |       | 21         | 0    | 29   | <0.001 |

\* *S.aureus* ATCC 6538 suşu 4 maddede tablodaki sırayla 1/16, 1/128, 1/128 ve 1/32 ve daha fazla sulandırımada üremiştir.

\*\* Üreyen MSSA suşu / MRSA suşu sayıları.

\*\*\* Aynı sulandırımada ve MSSA (suşlarında MRSA suşlarına göre), MRSA (suşlarında MSSA suşlarına göre) daha az sulandırımada üreyen (daha dirençli) suş sayıları.

p değeri: Direnç farkı olmasaydı farklı sulandırımada üreyen suşların MSSA ve MRSA suşlarında eşit sayıda olması beklentisine göre hesaplanmıştır.

## TARTIŞMA

Çalışmamızda, MRSA ve MSSA suşları kıyaslanarak, dört preparata (% 70 İPA, % 10 povidon iyot, % 10 povidon iyot/etanol ve çamaşır suyu) karşı gösterdikleri duyarlılıkları arasında anlamlı bir farkın olup olmadığı araştırılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre % 70 İPA için 11, çamaşır suyu için ise 29 MRSA suşu MSSA suşlarına göre daha dirençli bulunmuş, bu iki preparatta MSSA suşlarında MRSA suşlarından daha dirençli olana rastlanmamıştır (sırasıyla  $p<0.01$  ve  $p<0.001$ ). Povidon-iyot ve povidon-iyot/etanol için ise iki grup bakteride de diğer gruptakilere göre daha dirençli veya duyarlı suşlar bulunmuş, sonuçta iki grup arasında anlamlı bir farkın olmadığı belirlenmiştir ( $p>0.05$ ). Antiseptik ve dezenfektan maddelerin bir çoğunun etki mekanizmaları antibiyotiklerden farklı olarak halen bilinmemektedir. Bu kimyasal maddelerin, bakterilerin birçok hedefine birden etki ederek bakteri hücrelerini tahrip ettikleri kabul edilmektedir. Bilinmeyen veya az bilinen etki mekanizmalarının varlığı nedeniyle, dirençli suşların hangi mekanizma ile direnç geliştirdiğini açıklamak kolay değildir. Reverdy ve ark.<sup>(8)</sup>, Dussau ve ark.<sup>(2)</sup> ve Behr ve ark.<sup>(1)</sup> *S.aureus* suşlarında görülen metisilin direnci (oksasilin MİK'unun yükselmesi) ile antiseptik ve dezenfektan maddelere karşı gelişen direnç arasında bir bağlantının olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak araştırmacılar bu çalışmalarını sadece klorheksidin, benzalkonyum klorür, heksamin ve akriflavin için yapmışlardır. Alkoller, mikobakteriler dahil vejetatif bakterilere karşı hızlı etki eden ancak sporlara karşı etkisiz olan maddelerdir. İzopropil alkol etanole göre bakterilere daha etkilidir. Bu maddelerin etki mekanizması ise muhtemelen bakteri membranının tahribi, protein denatürasyonu, metabolizma bozukluğu ve hücre lizisi ile özetlenebilir. Çalışmamızda % 70 İPA ve çamaşır suyu için MRSA suşlarında daha yüksek direnç saptanmıştır. İzopropil alkol ve çamaşır suyuna karşı direnç, stafilokok suşlarında en fazla aktif atılım sistemi ve biyofilm mekanizmalarına bağlı olmakla birlikte çalışmamızda bu mekanizmalar araştırılmamıştır<sup>(4)</sup>. Çalışmamızda incelediğimiz iki ha-

lojenden klor (çamaşır suyu) ve iyot (povidon-iyot preparatı) maddelerinin etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Klor muhtemelen hücre proteinlerini inaktive ederek etki göstermekte; iyot ise proteinler için anahtar rol oynayan bir amino asit olan sisteinde bulunan serbest sülfür ve ayrıca metiyonin, nükleotid ve yağ asitlere etki ederek hücrenin ölümüne neden olmaktadır. Mycock<sup>(5)</sup> MRSA suşlarının povidon-iyota karşı yaklaşık 5000 katlık bir tolerans gösterdiğini bildirmiştir. Çalışmamızda bu preparat için MRSA ve MSSA suşları arasında anlamlı bir direnç farkının olmadığı ( $p>0.05$ ) belirlenmiş olmakla birlikte, tolerans ile ilgi bir çalışma yapılmamıştır. Hastanelerde ve toplumda uzun süredir kullanılan bu kimyasal maddelere (özellikle çamaşır suyu ve alkol) karşı MRSA bakterilerinde görülen direnç, ileride bu bakterilere karşı kullanılan antibiyotiklere direncin yanına antiseptik ve dezenfektan maddelere karşı da direncin eklenmesiyle telafisi zor bir durum yaratacaktır. Hastanelerde, antiseptik ve dezenfektan maddelerin gereksiz yere ve önerilen konsantrasyonların altında kullanılması, bu maddelere karşı direnç gelişimini hızlandırmaktadır. Dezenfektanların doğru zamanda ve uygun konsantrasyonda kullanılması bakterilerin seçilmesini ve yayılmasını önleyen faktörler arasındadır. Antiseptik ve dezenfektan maddelere karşı dirençle ilgili çalışmalar yok denilecek kadar azdır. Direnç gelişimini geciktirmek amacıyla, bu maddelerin uygun şekilde kullanılması için yol gösterici olan "Dezenfeksiyon ve antiseptik maddelerin kullanım rehberi (DAS)"nin izlenmesi (<http://www.das.org.tr>) yararlı olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Behr H, Reverdy ME, Mabilat C, Freney J, Fleurette J: Relation entre le niveau des concentrations minimales inhibitrices de cinquantiseptiques et la présence du gène qacA chez *Staphylococcus aureus*, *Pathol Biol* (Paris) 1994;42(5):438-44.
2. Dussau JY, Chapalain JC, Rouby Y, Reverdy ME, Bartoli M: Evaluation par une microméthode de l'activité bactericide de cinq disinfectants sur 108 souches hospitalières, *Pathol Biol* (Paris)

- 1993;41(4):349-57.
3. Kampf G, Jarosch R, Ruden H: Wirksamkeit alkoholischer handdesinfektionsmittel gegenüber methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Chirurg* 1997;68(3):264-8.
  4. McDonnel G, Russell AD: Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance, *Clin Microbiol Rev* 1999;12(1):147-79.
  5. Mycock G: Methicillin/antiseptic-resistant *Staphylococcus aureus*, *Lancet* 1985;2(8461):1081-2.
  6. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, NCCLS Approved Standard M7-A6, Wayne, Pa (2003).
  7. Prince HN, Nonemaker WS, Norgard RC, Prince DL: Drug resistance studies with topical antiseptics, *J Pharm Sci* 1978;67(11):1629-31.
  8. Reverdy ME, Bes C, Nervi C, Martra A, Fleurette J: Activity of four antiseptics (acriflavine, benzalkonium chloride, chlorhexidine digluconate and hexamidine di-isethionate) and of ethidium bromide on 392 strains representing 26 *Staphylococcus* species, *Med Microbiol Lett* 1992;1:56.
  9. Sivaji Y, Mandal A, Agarwal DS: Disinfectant induced changes in the antibiotic sensitivity and phage typing pattern in *Staphylococcus aureus*, *J Hosp Infect* 1986;7(3):236-43.