

Fekal ve Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları

Rahmet ÇAYLAN(*), Müge ÜSTÜNAKIN(*), Vamık KADIMOV(*),
Kemalettin AYDIN(*), İftihar KÖKSAL(*)

(*Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Trabzon

ÖZET

Çalışmamızda, Ocak 2001-Şubat 2002 tarihleri arasında yatan hasta/poliklinik hastası klinik örneklerinden ve gaita/rektal sürüntü örneklerinden izole edilen 292 enterokok suşu API 20 Strep ile tiplendirilmiştir. Standart agar tarama yöntemi ile yüksek düzey aminoglikozid (YDAD), E-test yöntemi ile glikopeptid ve disk diffüzyon yöntemi ile penisilin direnci incelenmiştir. *E.faecalis* (%85.2) en sık izole edilen enterokok türü olarak saptanmıştır. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının %68.4'ü, fekal örneklerden izole edilenlerin ise %56.3'ü penisiline dirençli olarak saptanmıştır. İzole edilen suşlarda vankomisine veya teikoplanine direnç saptanmamıştır. Sadece fekal suşların %12.6'sında vankomisine orta duyarlılık tespit edilmiştir. Klinik ve fekal örneklerden izole edilen suşların yüksek düzey streptomisin direnci (YDSD) ve yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) sırası ile %41(39/95), %51.5(49/95) ve %13 (26/197), %25.3 (50/197) olarak saptanmıştır. Her iki aminoglikozid antibiyotiğe birden yüksek düzey direnç, *E.faecium* suşlarında %38, *E.faecalis* suşlarında %10 oranında ($P=0.000$), bütün enterokok suşlarında ise %14 oranında saptanmıştır. *E.faecium* suşlarının tüm antibiyotiklere direnci *E.faecalis*'ten daha yüksek oranda bulunmuştur. Enterokok suşlarında glikopeptid direnci saptanmamış olmamıza rağmen, yüksek düzey aminoglikozid direnci ve penisilin direncinin yüksek oluşu bu cinse ait suşların duyarlılık profillerinin yakından izlemine gerekli kılmaktadır.

Anahtar kelimeler; *Enterococcus*, antibiyotiklere duyarlılıkları, yüksek düzey aminoglikozid direnci

SUMMARY

Antibiotic Susceptibilities of Enterococcus Strains Isolated from Stool and Clinical Samples

In our study 292 enterococcal strains isolated from clinical samples and stool/rectal swab samples of outpatients/inpatients between January 2001-February 2002 were identified with API 20 Strep. High level resistance to aminoglycosides was determined by agar screening method. Penicillin and glycopeptid susceptibility testing of enterococci were performed by means of disc diffusion method and E-test, respectively. *E.faecalis* (85.2%) was the predominant species. Resistance rates to penicillin in clinical and stool samples were 68.4% and 56.3%, respectively. None of the strains showed resistance to vancomycin or teicoplanin. 12.6 % of the strains isolated from fecal samples were found to be sensitive to vancomycin. High level resistance to streptomycin and gentamicin in the clinical samples and stool/rectal strains were 41% (39/95), 51.5% (49/95) and 13% (26/197), 25.3% (50/197), respectively. High level resistance to streptomycin and gentamicin were determined in *E.faecium* strains and *E.faecalis* strains as 38% and 10%, respectively and in all the strains this resistance rate was 14%. All of the strains of *E. faecium* when compared with *E.faecalis* showed much higher resistance rates to all the antibiotics. Although no glycopeptide resistance was determined in our study, high level resistance to aminoglycoside and penicillin emphasize the necessity to follow the susceptibility profile of the bacteria.

Key Words: *Enterococcus*, antibiotic susceptibility, high level aminoglycoside resistance

GİRİŞ

Enterokok cinsi bakteriler, insan bağırsak florasında, ağız, üretra, vajina ve safra yollarında normal flora bakterileri olarak bulunurlar (1). Sıklıkla intraabdominal enfeksiyon, endokardit ve

bakteremiye yol açarken, daha az olarak da menenjit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına sebep olurlar. Bakteri, konak organizması dışında, değişen

sıcaklık, pH düzeylerinde ve hatta bazı bakterisidal etkili deterjanların varlığında dahi canlılığını koruyabilmektedir. Son yıllarda bakterinin özellikle nozokomiyal enfeksiyonlarda önemi giderek

İletişim : Rahmet Çağlayan
e-posta rahmetcaglayan@yahoo.com

artmakta, hatta bazı serilerde nozokomiyal bakteriyemilerden ikinci sıklıkta sorumlu patojen olarak bildirilmektedir (1,2,3).

Enterokok suşları ile oluşan infeksiyonların tedavisinde, beta-laktam ve aminoglikozid grubu bir antibiyotiğin kombinasyonu, eğer bunlara direnç var ise glikopeptid antibiyotiğin seçilmesi gereklidir. Ancak suşların çoğu kez çoklu antibiyotik direncine sahip olması ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin (YDAD) varlığına ilaveten, giderek artan oranda bildirilen vankomisin direnci tedavide önemli sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (1,4).

Çalışmamızda, çeşitli klinik örneklerden ve fekal örneklerden izole edilen enterokok suşlarında YDAD'ne ilaveten, diğer antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması hedeflenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Ocak 2001-Şubat 2002 tarihleri arasında yatan hasta/poliklinik hastası klinik örneklerinden ve gaita/rektal sürüntü örneklerinden izole edilen enterokok suşları incelenmiştir. Enterokok suşlarının identifikasyonunda Gram boyaması, katalaz testi, %40 safra içeren eskülinli agar besiyerinde eskülin hidrolizi, %6.5 NaCl'lü beyin kalp infüzyon agar (BHI) besiyerinde üreme özelliklerinden yararlanılmıştır. Gram (pozitif), katalaz negatif, %6.5 NaCl'lü BHI agarda üreyen, safra eskülinli besiyerinde siyahlık oluşturan suşlar enterokok olarak tanımlanmıştır. Tüm suşlar API 20 Strep (BioMerieux) identifikasyon yöntemi ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. İzole edilen suşların vankomisine ve teikoplanine duyarlılıkları E-test stripleri ile, penisiline duyarlılık ise disk diffüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Vankomisin için MİK değeri $\leq 4\mu\text{g/ml}$ duyarlılık, $8-16\mu\text{g/ml}$ orta duyarlılık, $\geq 32\mu\text{g/ml}$ dirençlilik olarak, teikoplanin için MİK değeri $\leq 8\mu\text{g/ml}$ duyarlılık, $\geq 32\mu\text{g/ml}$ dirençlilik olarak kabul edildi. Yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) ve yüksek düzey streptomisin direnci (YDSD) National Committee for Clinical

Laboratory Standards (NCCLS) tarafından önerilen standartlara göre, standart agar tarama yöntemi ile incelenmiştir (5). Çalışmada *E.faecalis* ATCC 29212 kontrol suş olarak kullanılmıştır. İstatistiksel analiz amacıyla Ki-kare testi uygulanmıştır.

BULGULAR

200 yatan hastanın gaita/rektal sürüntü örneğinden 143, 70 poliklinik hastasının gaita/rektal sürüntü örneğinden 54 olmak üzere toplam 197 enterokok suşu, ayrıca, 78'i yatan hasta, 17'si poliklinik hasta örneklerine ait toplam 95 enterokok suşu izole edilmiştir. Fekal izolatların %95.9'u (189/197) *E.faecalis*, %3.5'i (7/197) *E.faecium*, %0.5'i (1/197) *E.avium* olarak, klinik izolatların ise %63.1 (60/95) *E.faecalis*, %36.8'ı (35/95) *E.faecium* olarak tanımlanmıştır. *E.faecalis* %85.2 (249/292) oranıyla en sık izole edilen enterokok türü olarak saptanmıştır.

Enterokok suşlarının penisiline duyarlılıkları incelendiğinde, klinik suşlarda %68.4 (65/95), fekal izolatlarda %56.3(111/197), *E.faecalis* suşlarında %57.8 (144/249), *E.faecium* suşlarında %76.1 (32/42) oranında penisiline direnç saptanmıştır. İzole edilen *E.avium* suşu penisiline duyarlı bulunmuştur. İzole edilen suşların hiçbirinde glikopeptid direnci saptanmazken, fekal izolatların %12.6 (25/197)'sı vankomisin orta duyarlı bulunmuştur. Vankomisin orta duyarlı bulunan suşların yirmisi *E.faecium*, beşi *E.faecalis* idi. Klinik örneklerden izole edilen suşlarda YDSD ve YDGD oranları sırası ile %41 (39/95) ve %51.5 (49/95), YDSD ve YDGD'nin birlikteliği ise %30.5 (29/95) olarak saptanmıştır. Fekal örneklerden izole edilen enterokok suşlarında ise YDSD ve YDGD oranları sırası ile %13 (26/197) ve %25.3 (50/197) olarak, her ikisine de yüksek düzey direnç oranı ise %6.3 (12/189) olarak tespit edilmiştir. Her iki aminoglikozid antibiyotiğe birden yüksek düzey direnç oranı *E.faecium* suşlarında %38, *E.faecalis* suşlarında %10 oranında (P=0.000), bütün enterokok suşlarında ise %14 oranında belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1 :*E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarında YDAD istatistiksel analizi

	n	YDGD *		YDSD **		YDSD+YDGD ***	
		n	%	n	%	n	%
<i>E. faecium</i>							
Klinik suşlar	35	26	74.2	19	54.2	16	45.7
Fekal suşlar	7	1	14.2	0	-	0	-
Toplam	42	27	64.2	19	45.2	16	38.0
<i>E. faecalis</i>							
Klinik suşlar	60	23	38.3	20	33.3	13	21.6
Fekal suşlar	189	49	25.9	26	13.7	12	6.3
Toplam	249	72	28.9	46	18.4	25	10.0
P			0.006		0.007		0.000
<i>E. avium</i> (Fekal suş)	1	-	-	-	-	-	-
Klinik suşlar	95	49	51.5	39	41.0	29	30.5
Fekal suşlar	197	50	25.3	26	13.0	12	6.0
P			0.000		0.000		0.000
TOPLAM	292	99	33.9	65	22.2	41	14

* YDAD: Yüksek düzey aminoglikozit direnci

** YDSD: Yüksek düzey streptomisin direnci

*** YDGD: Yüksek düzey gutaminin direnci

TARTIŞMA

Toplum ve hastane kaynaklı infeksiyonların önde gelen sebepleri arasında olan *E. faecalis* ve *E. faecium*, antimikrobiyal ajanlara karşı yüksek oranda dirence sahiptirler. Enterokoklarda antibiyotiklere dirençlilik intrinsek ve kazanılmış olmak üzere iki tip olabilir. İntrinsek direnç penisilinlere, sefalosporinlere, klindamisine ve düşük düzeyde aminoglikozidlere karşıdır. Penisiline dirençte, düşük molekül ağırlıklı penisilin bağlayıcı proteinlerin (özellikle PBP5) azalmış afinitesi sorumludur. İntrinsek olarak var olan betalaktam direnci, sinerjistik kombinasyon tedavisini gerekli kılmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi, ülkemizde de enterokoklardaki çoklu antibiyotik direnci önemli bir sorundur. Vankomisin ve teikoplanin enterokoklara karşı en etkili antibiyotikler olarak bilinirken, giderek artan oranda ülkemizden de dirençli suşlar bildirilmektedir (6-9). Çalışmamızda glikopeptidlere dirençli suş saptanmamıştır. Sadece fekal suşların %12.6'sı vankomisine orta duyarlı olarak tesbit edilmiştir. Vankomisine direnç saptamamış olmamız, ülkemizden giderek artan oranda vankomisin dirençli enterokok suşlarının bildirildiği bir dönemde sevindiricidir (10-15). Bununla birlikte izole edilen suşların duyarlılığının izlenmesinin yanında, özellikle

yüksek risk grubu hastaların taşıyıcılık açısından da yakından takip edilmesinin gerekliliğine inanılmaktadır.

Aminoglikozidlerin hücre membranından penetrasyon zorluğu düşük düzeyde dirence neden olmaktadır. Bu nedenle, hücre duvarı sentezini inhibe eden bir antibiyotiğe aminoglikozid grubu antibiyotiğin ilave edilmesi, her iki ilacın da etkisini artırıcı rol oynamaktadır. Ancak aminoglikozidlere karşı var olan düşük düzey intrinsek dirence ilaveten, plazmid ve transpozonlar aracılığı ile kazanılmış genler sonucu, aminoglikozidleri modifiye edici enzimlerin salınması YDAD'ne yol açmakta ve bu durumda kombinasyon tedavisi sinerjistik etkisini kaybetmektedir (1,2). Enterokoklarda en yaygın aminoglikozidleri modifiye eden enzim, aac6'-aph2'' geni tarafından kodlanan, birbirine kaynaşmış iki enzimden oluşan APH(2'')-AAC(6') enzimidir ve streptomisin dışındaki tüm aminoglikozidlere dirençten sorumludur. YDSD'nden de esas olarak aminoglikozid modifiye edici enzimler sorumlu tutulmaktadır. AAD(6) enzimi streptomisin için spesifiktir (1,2,4). Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarında, YDGD %51.5, YDSD %41, her iki aminoglikozide direnç ise %30.5 oranlarında tesbit edilmiştir. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarında çeşitli çalışmalarda YDGD için %8-65, YDSD için ise %18-57 arasında değişen oranlar bildirilmiştir (Tablo 2) (11-14,16-25).

Tablo 2: Ülkemizde izole edilen enterokok suşların antibiyotiklere duyarlılıklarının incelendiği çalışmalara örnekler

Çalışmacılar (ref.no)	YDGD	YDSD	YDSD+YDGD	Penisilin	Vankomisin
Akgül ve ark.(11)	65	18	-	-	0
Çınar ve ark (16)	50.5	41.4	30.6	52.3	-
Gülsoy ve ark (21)	10	22	-	24.4	0
Hoşgör ve ark.(17)	23	20	-	-	-
Kaçmaz B ve ark (20)	8	-	-	20.9	0
Karabiber ve ark (18)	9	25	16	-	-
Kocagöz ve ark(12)	52.5	54	-	72	0
Öztürk ve ark.(14)	11.2	-	-	3.2	0
Töreci ve Öngen (19)	11	15	4	-	-
Ulusoy ve ark.(15)	-	-	-	36.8	0
Çalışmamız (Klinik suşlar)	51.5	41	30.5	68.4	0

Çalışmamız sonuçları bazı merkezlerden bildirilen sonuçlara yakın bulunurken bir kısmından daha yüksektir. Farklı oranlardan, bölgesel farklılıklar, suş sayıları ve dahil edilen örneklerin izole edildiği kaynağın sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

İnsanlarda klinik enterokok infeksiyonlarında en çok izole edilen *E.faecalis* ve *E.faecium*'dur. *E.faecium* suşlarında gerek YDAD, gerekse penisiline direnç, *E.faecalis*'e göre daha önce yapılan çalışmalara benzer olarak daha sık bulunmuştur (13-17, 20-25).

Genel olarak suşlarımızın antibiyotiklere duyarlılıkları değerlendirildiğinde, penisilin+gentamisin veya streptomisin kombinasyonu, ampirik tedaviden çok, duyarlılık sonuçlarına göre başlanabilecek bir tedavidir. YDAD'nde gözlenen merkezden merkeze farklılıklar, yine farklı oranlarda saptanan penisilin direnci, bakterinin izole edildiği merkezde duyarlılığının izlenmesi ve bakteriye bağlı infeksiyonların tedavisinin yakından takip edilmesi gerektiğini göstermektedir. Enterokokların çevresel şartlara gösterdiği direnç, bakterinin uzun süre canlı kalmasını sağladığından ve bu hastalar arası yayılıma da kaynak teşkil edebileceğinden, devamlı sürveyans kapsamında infeksiyon kontrol komitesince yakından izlenmeli ve gereken önlemlerin alınması sağlanmalıdır.

KAYNAKLAR

1-Shepard BD, Gilmore MS. Antibiotic resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. Microb Infect 4:215 (2002).

2-Patterson JE. New Gram-positive agents in nosocomial infection. Curr Opin Infect Dis 13:593 (2000).

3-Lautenbach E, Bilker W, Brennan P. Enterococcal bacteremia: Risk factors for vancomycin resistance and predictors of mortality. Infect Control Hosp Epidemiol 20:318 (1999).

4-Çetinkaya Y. Vankomisin dirençli enterokoklar: Epidemiyoloji ve kontrol. Flora 5:24 (2000).

5-National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 4 th ed. Approved Standard. NCCLS Publications M7-A4 and Supplement M100-S7. NCCLS, Wayne Pa (1997).

6-Vural T, Şekercioğlu AO, Ögünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A, Ünal S, Kocagöz S, Mutlu G. Vankomisin dirençli *Enterococcus faecium* suşu. ANKEM Derg 13:1 (1999).

7-Yüce A, Karaman M, Gülay Z, Yuluğ N. Yenidoğanlarda vankomisin dirençli enterokokların fekal taşıyıcılığı. ANKEM Derg 13:7 (1999).

8-Başustaoglu A, Özyurt M, Beyan C ve ark. Kan kültüründen izole edilen glikopeptid dirençli *Enterococcus faecium*. Flora 5:142 (2000)

9-Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Microbiol Rev. 13:686 (2000)

10-Özkuyumcu C. Resistant enterococci: Prevalence and factors associated with colonisation in a Turkish university hospital. Acta Microbiologica Polonica 48:203 (1999).

11-Akgül SG, Sümerkan B. Enterokok türlerinde vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılması. İnfek Derg 13:67 (1999).

12-Kocagöz S, Çetinkaya Y, Uzun Ö, Akova M, Hasçelik G, Ünal S. Hastane infeksiyonlarından izole edilmiş stafilokok ve enterokok suşlarının çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları. Flora 4:284 (1997)

13-Moaddab SR, Töreci K. Enterokok suşlarında tür tayini, vankomisin ve diğer bazı antibiyotiklere direnç aranması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 30:77 (2000).

14-Öztürk R, Eroğlu C, Köksal F, Mert A, Aygün G.

Enterokoklarda antibiyotiklere direnç ve yüksek düzeyde gentamisin direnci. ANKEM Derg 9:351 (1995).

15-Ulusoy S, Hoşgör M, Özkan F, Özinel M, Tokbaş A. Enterococcus faecalis ve Enterococcus faecium'un antibiyotik direncinin araştırılması. ANKEM Derg 9:12 (1995)

16-Çınar T, Leblebicioğlu H, Sünbül M, Eroğlu C, Esen Ş, Günaydın M. Enterokoklarda yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direncinin araştırılması. Flora 4:114 (1999)

17-Hoşgör M Çavuşoğlu C, Tünger A, Özinel MA. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci. İnfek Derg 11:7 (1997)

18-Karabiber N, Karahan M. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarında yüksek düzeyde streptomisin ve gentamisin direnci. ANKEM Derg 9:1 (1995).

19-Töreci K, Öngen B. İdrardan izole edilen enterokok suşlarında antibiyotik direnci. ANKEM Derg 7:217 (1993).

20-Kaçmaz B, Akça G, Sultan N. Enterokoklarda

antimikrobiyal duyarlılık. ANKEM Derg 1:28 (2003)

21-Gülsoy Ö, Kocazeybek B, Arıtürk S. Cerrahi yoğun bakım ünitelerinden izole edilen enterokokların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları ile yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılması. Ankem Derg 1:96 (2002)

22-Hsieh SR. Antimicrobial susceptibility and species identification for clinical isolates of enterococci. J Microbiol Immunol Infect 33:253 (2000)

23-Barisic Z, Punda-Polic V. Antibiotic resistance among enterococcal strains isolated from clinical specimens. Int J Antimicrob Agents 16:65 (2000)

24-Martin MG, De Miguel I, Canas A, Savchez AM. Resistance to antibiotics in clinical isolates of the genus Enterococcus. Rev Esp Quimter 13:412 (2000)

25-Udo EE, Al-Sweih N, John P, Chugh TD. Antibiotic resistance of enterococci isolated at a teaching hospital in Kuwait. Diagn Microbiol Infect Dis 43:233 (2002)