

Enterokok Suşlarında Tür Tayini, Vankomisin ve Diğer Bazı Antibiyotiklere Direnç Aranması (*)

Seyed Reza MOADDAB (**), Kurtuluş TÖRECİ (**)

ÖZET

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi hastanesinde yatan 143'üne vankomisin uygulanmış, 173'üne vankomisin uygulanmamış toplam 316 hastadan 501 dışkı örneği alınmış ve biri antibiyotiksiz, diğeri 4 µg/ml vankomisin içeren iki Slanetz-Bartley enterokok besiyerine ekilerek 35°C'de inkübe edilmiştir. Dışkı kültürlerinden 198 enterokok suşu izole edilmiştir. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın laboratuvarlarında çeşitli muayene maddelerinden izole edilmiş olan ve enterokok oldukları çalışmamızda da doğrulanan 100 suşun ilavesi ile toplam 298 suşun tür düzeyinde idantifikasyonu klasik yöntem ve gerektiğinde API Rapid ID 32 Strep kitleri kullanılarak yapılmış, vankomisin direnci NCCLS yöntemlerine göre agar dilüsyonla, vankomisin ve diğer antibiyotiklere direnç disk difüzyon yöntemi ile, gentamisin, streptomisin, penisilin ve ampisiline yüksek düzeyde direnç belirli konsantrasyonlarda antibiyotik içeren besiyerlerinde üreme ile, beta-laktamaz oluşturma nitrosefin stikleri ile belirlenmiştir. 298 enterokok suşunun 176'sı *E.faecalis*, 96'sı *E.faecium*, 15'i *E.avium*, 9'u *E.raffinosis*, bireri *E.durans* ve *E.hirae* olarak idantifiye edilmiştir.

Çeşitli muayene maddelerinden izole edilen 100 suşun tamamı vankomisine duyarlı bulunmuştur (MİK ≤4 µg/ml). 316 hastanın dışkı örneklerinden izole edilen 198 suşun ise 11'i vankomisine orta duyarlı (5 suş için MİK 8 µg/ml, 6 suş için 16 µg/ml), diğerleri duyarlı (MİK ≤4 µg/ml) bulunmuştur. MİK₅₀ 1 µg/ml, MİK₉₀ 2 µg/ml olarak saptanmıştır.

Orta duyarlı suşların biri *E.faecalis*, 10'u *E.faecium* olarak belirlenmiştir. Bu suşlar hem antibiyotiksiz hem vankomisin içeren besiyerlerinde izole edilmiş, dışkı kültürünün vankomisinli besiyerinde yapılmasının vankomisine orta duyarlı ve dirençli suşların izolasyonunda bir artışa yol açmayacağı saptanmıştır. Hastanemizdeki başka nedenlerle vankomisin kullanımının barsakta vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonuna yol açmadığı görülmüştür.

(*) Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu (Proje No: T-408/270697)* tarafından desteklenmiştir.

(**) İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

Disk difüzyon yöntemi ile 298 enterok suşunun 89'u eritromisine, 83'ü penisiline, 67'si ampisiline, 25'i siprofloksasine, 20'si norfloksasine, 8'i nitrofurantoina dirençli bulunmuş, vankomisine ve teikoplanine direnç saptanmamıştır. Agar dilüsyonla vankomisine orta duyarlı bulunan 11 suşun 6'sı disk difüzyonla da orta duyarlı, 5'i ise duyarlı bulunmuştur.

54 suş streptomisine (2000 µg/ml), 39 suş gentamisine (500 µg/ml) yüksek düzeyde dirençli bulunmuştur. Bu suşların 21'inde iki antibiyotiğe de yüksek düzeyde direnç saptanmıştır. 28 suş 100 µg/ml, bunların 24'ü 200 µg/ml penisilin; 33 suş 50 µg/ml, bunların 22'si 100 µg/ml ampisilin içeren besiyerlerinde üremiştir. 13 suşta en az bir aminoglikozid ile bir beta-laktam antibiyotiğe yüksek düzeyde direnç birlikte bulunmuştur.

Denenen 298 suşta beta-laktamaz aktivitesi saptanmamıştır.

Anahtar kelimeler: Enterokok, vankomisin, antibiyotik direnci

SUMMARY

Species Level Identification and Investigation of Resistance to Vancomycin and Some Other Antibiotics in Enterococcus Strains.

Five hundred and one stool specimens from 316 inpatients, 143 of whom had received vancomycin and 173 had not, were collected in Stuart transport medium and inoculated onto Slanetz-Bartley Enterococcus agar with and without vancomycin within 24 hours. 198 enterococcus spp. were isolated from stool culture. One hundred strains isolated from various clinical specimens as etiological agents in the laboratories of the Department of Microbiology and Clinical Microbiology were added to 198 stool isolates after confirmation of their identifications.

The identifications of these 298 strains down to the species level were performed by classical methods and by API Rapid ID 32 Strep when necessary. Vancomycin susceptibility of these strains was investigated by agar dilution method according to the NCCLS recommendations, the susceptibility to vancomycin and some other antibiotics by the disk diffusion method, high-level resistance to gentamicin, streptomycin, penicillin and ampicillin by the growth on agar containing specific concentrations of these antibiotics, and beta-lactamase production by nitrocefin sticks.

Out of 298 *Enterococcus* strains, 176 were identified as *E.faecalis*, 96 as *E.faecium*, 15 as *E.avium*, 9 as *E.raffinosis*, 1 as *E.durans* and 1 as *E.hirae*.

All of 100 strains isolated from clinical specimens were found susceptible to vancomycin (MIC \leq 4 μ g/ml). Eleven of the 198 strains isolated from stools of inpatients were found to be moderately susceptible to vancomycin (MIC: 8 μ g/ml for 5 and 16 μ g/ml for 6 strains) and the rest of these strains were found to be susceptible (MIC \leq 4 μ g/ml). MIC₅₀ and MIC₉₀ were 1 μ g/ml and 2 μ g/ml, respectively. One of the vancomycin-moderately susceptible strains was *E.faecalis* and the remaining 10 strains were *E.faecium*. All vancomycin-moderately susceptible isolates were isolated in both media with or without vancomycin. These results were interpreted as addition of vancomycin to isolation medium would not increase the isolation rate of vancomycin-moderately sensitive or vancomycin-resistant strains. It was also observed that vancomycin usage in our hospital did not result in the intestinal colonization of vancomycin-resistant enterococci.

By the disk diffusion tests, 89 of 298 strains were found to be resistant to erithromycin, 83 to penicillin, 67 to ampicillin, 25 to ciprofloxacin, 20 to norfloxacin and 8 to nitrofurantoin. No resistance was observed to vancomycin or teicoplanin. Out of the 11 strains which were found as vancomycin-moderately susceptible by the agar dilution method, 6 were found to be moderately susceptible and 5 susceptible to vancomycin by the disk diffusion tests.

Fifty four strains exhibited high-level resistance to streptomycin (2000 μ g/ml) and 39 strains exhibited high-level resistance to gentamicin (500 μ g/ml). Twenty one of these strains had high-level resistance to both aminoglycosides. Twenty eight strains were resistant to 100 μ g/ml, and 24 of them to 200 μ g/ml penicillin. Thirty three strains were resistant to 50 μ g/ml, and 22 of them to 100 μ g/ml ampicillin. Thirteen strains had high-level resistance to at least one aminoglycoside and one beta-lactam antibiotic.

No beta-lactamase production was detected in 298 strains.

Key words: *Enterococcus*, vancomycin, antibiotic resistance

GİRİŞ

İnsan barsak florasında, ağız, üretra, kadın üreme organlarında bulunan enterokok türleri, toplumda kazanılmış infeksiyonların yanında, hastane ortamının uygunsuz koşullarına dayanaklı olmaları nedeniyle nozokomiyal infeksiyonlardan sıklıkla izole edilmektedir (1-5).

Enterokokal infeksiyonlarının kaynağı, hastanın kendi normal florasında, özellikle VRE infeksiyonlarında hastanede cansız ortamda veya hastane personeli ya da diğer hastaların normal florasında kolonize olmuş suşlardır (1,4,6).

Enterokokların çeşitli antibiyotiklere giderek artan direnç göstermesi ve bazı yayınlarda çoğul dirençli suşlarla oluşan infeksiyon olguları, hatta salgınlar bildirilmesi konunun önemini arttırmaktadır (7-9).

Enterokok türleri ile oluşan sistemik infeksiyonlarda çok defa beta-laktam veya vankomisin gibi hücre duvarına etkili bir antibiyotik ile aminoglikozid grubu bir antibiyotiğin kombine tedavisi kullanılır (10-12).

Bu çalışmada İstanbul Tıp Fakültesi hastanesinde çeşitli nedenlerle yatan hastaların dışkılarından enterokok cinsinden bakterilerin izolasyonu, dışkı

örneklerinden vankomisinli besiyerlerinde de kültür yapılarak vankomisine dirençli suşların çabuk izolasyonu, dışkı örneklerinden izole edilen suşlarla Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında çeşitli muayene maddelerinden daha önce izole edilmiş bir kısım suşların türlerinin belirlenmesi, agar dilüsyon yöntemi ile vankomisinin MİK'larının saptanması, disk difüzyon yöntemi ile bazı antibiyotiklere duyarlılıkların araştırılması, aminoglikozid ve beta-laktam antibiyotiklere yüksek düzeyde direnç varlığı ve beta-laktamaz oluşturmasının aranması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

10 Ekim 1997-1 Eylül 1998 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'nin çeşitli servis ve yoğun bakımında yatan hastaların 143'üne vankomisin uygulanmış, 173'üne uygulanmamış toplam 316 hastadan alınan 501 dışkı örneğinden enterokok izolasyonu amacıyla kültür yapılmıştır. Hastalardan dışkı örnekleri eküviyonlu Stuart transport besiyerine (Cultiplast) alınmış ve 24 saat içinde steril fizyolojik suda hazırlanan koyu bir süspansiyondan biri antibiyotiksiz, diğeri 4 μ g/ml vankomisin (Lilly) içeren 2 enterokok agar Slanetz-Bartley (Oxoid) besiyerine azaltma yöntemiyle

ekilerek 24 saat veya üreme olmadığında 48 saat 35°C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra üreyen ve katalaz negatif, kırmızı-pembe kolonilerden safralı eskülin agara ve %6.5 NaCl içeren besiyerine pasajı yapılmış, eskülini hidrolize eden, %6.5 NaCl içeren ortamda üreyen ve PYR (Oxoid) 'si pozitif olan Gram pozitif kok şeklindeki bakteriler enterokok olarak tanımlanmıştır. Çalışma süresince tüm deneylerde kontrol için Enterococcus faecalis ATCC 29212 standart suşu kullanılmıştır.

Klasik yöntemle identifikasyonda enterokok suşlarının karbonhidrat içeren peptonlu besiyerinde asit oluşturmaları (13,14) ve Thornley besiyerinde arjinin kullanımı incelenmiştir (15).

Enterokok suşlarına agar dilüsyon yöntemiyle ve NCCLS'in standartlarına göre vankomisin Minimal inhibitör Konsantrasyonu (MİK) saptanmıştır. MİK değeri ≤ 4 µg/ml duyarlılık, 8-16 µg/ml orta duyarlılık, ≥ 32 µg/ml dirençlilik işareti olarak kabul edilmiştir (16). Aminoglikozidlere yüksek düzeyde direnç araştırması için kullanılarak suşlar 100 ve 200 µg/ml penisilin (Mustafa Nevzat), 50 ve 100 µg/ml ampisilin (Mustafa Nevzat), 500 µg/ml gentamisin (Fako), 2000 µg/ml streptomisin (İbrahim Ethem) içerecek şekilde hazırlanan Mueller-Hinton agarlara (Biolife) nokta ekim yapılmıştır. Inokulumların penisilin ve ampisilin için yaklaşık 10^4 bakteri, gentamisin ve streptomisin için ise 10^6 bakteri içermesi sağlanmıştır. Üreme olan antibiyotik konsantrasyonlarına suşun dirençli olduğu kabul edilmiştir (16,17).

Enterokok suşlarının NCCLS'in önerdiği (16) antibiyotiklerden vankomisin, teikoplanin, penisilin, ampisilin, eritromisin, siprofloksasin, norfloksasin ve nitrofurantoine duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir.

Enterokok suşlarının beta-laktamaz oluşturmalarını araştırmak için nitrosefin stikleri (Oxoid) kullanılmıştır.

Bütün sonuçların değerlendirilmesinde, sayıların büyüklüğüne göre χ^2 , χ^2 -Yates veya Fisher kesin χ^2 yöntemleri kullanılmıştır.

BULGULAR

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi'nin çeşitli bölümlerinde yatan 316 hastadan alınan 501 dışkı örneğinden 198 enterokok suşu izole edilmiştir. Dışkıdan enterokok izolasyonu vankomisin kullanılmamış 173 hastanın 108'inden (%62.4) 122 suş, vankomisin kullanılmış 143 hastanın 59'undan (%41.2) 76 suş olarak saptanmıştır. Bu şekilde toplam 316 hastanın 167'sinden (%52.8) enterokok izole edilmiş ve vankomisin kullanılmamış hastaların dışkılarından izolasyon anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($\chi^2=14.07$, $p<0.001$) (Tablo 1). Birden fazla dışkı örneği incelenen hastalar ilk incelemede enterokok izole edilmeyenler olduğu için dışkı örneklerinden izolasyon oranı % 39.5 olarak saptanmıştır. Enterokok suşlarının türleri tablo 1'de gösterilmiştir. Hasta dışkılarından izole edilen 198 suşun 12'sinin, önceden izole edilmiş 100 suşun 7'sinin türleri klasik yöntemle belirlenememiş, API Rapid ID Strep kiti ile belirlenmiştir. İki grupta da E.faecalis en sık izole edilen enterokok türü olmuştur.

Tablo 1. Boğaz kültürlerinden üretilen BHS'ların gruplara göre dağılımı

Gruplar	BHS	
	Sayı	%
A	32	78
B	6	15
C	3	7
Toplam	41	100

Toplam 298 enterokok suşundan, muayene maddelerinden izole edilen 100'ünün tamamı vankomisine duyarlı (MİK ≤ 4 µg/ml), yatan hasta dışkılarından izole edilen 198 suşun 11'i vankomisine orta duyarlı (5 suş için MİK: 8 µg/ml, 6 suş için 16 µg/ml), diğerleri duyarlı bulunmuştur. Vankomisine dirençli suş saptanmamıştır. Vankomisine orta duyarlı bulunan 11 suş 4 µg/ml vankomisin içeren Slanetz-Bartley besiyerinde de izolasyon yapılan hasta dışkılarına aittir. Bu suşların biri E.faecalis (MİK: 16 µg/ml), diğerleri E.faecium olarak idantifiye (Tablo 3) edilmiştir. Hasta dışkılarından izole edilen 85 E.faecium suşunun 10'undan, 90 E.faecalis suşunun ise sadece birinin

Tablo 2. Enterokok suşlarının tür dağılımı

Enterokok suşları	Muayene maddelerinden (100 suş)	Yatan hastaların dışkularından (198 suş)	Toplam (298 suş)
E.faecalis	86	90 (%45)	176 (%59)
E.faecium	11	85 (%43)	96 (%32)
E.avium	1	14 (%7)	15 (%5)
E.raffinosis	2	7 (%3.5)	9 (%3)
E.durans	-	1 (%0.5)	1 (%0.5)
E.hirac	-	1 (%0.5)	1 (%0.5)

Tablo 3. Enterokok suşları için agar dilüsyon yöntemi ile vankomisin MİK değerleri (µg/ml).

Suşlar	≤0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	MİK ₅₀	MİK ₉₀
Muayene maddelerinden üretilen (n:100)	4	42	38	14	2	-	-	-	-	1	2
Yatan hastaların dışkı örneklerinden üretilen (n:198)	11	72	61	35	8	5	6	-	-	1	2
Toplam (n:298)	15	114	99	49	10	5	6	-	-	1	2

vankomisine orta duyarlı olarak saptanması anlamlı bulunmuştur ($\chi^2=8.42$, $p<0.01$).

Suşlarda diğer antibiyotikler için disk difüzyon yöntemi ile saptanan direnç oranları tablo 4'de gösterilmiştir. Yalnız ampisiline dirençli suş oranı muayene maddelerinden izole edilen suşlarda dışkılardan izole edilenlerden daha yüksek bulunmuştur ($\chi^2=4.88$, $p<0.05$).

Enterokok suşlarında beta-laktam ve aminoglikozid antibiyotiklere yüksek düzeyde direnç saptananlar tablo 5'de gösterilmiştir. E.faecalis ve E.faecium dışındaki türlerde yüksek düzeyde beta-laktam veya aminoglikozid direnci saptanmamıştır.

298 enterokok suşunda beta-laktamaz üretimi saptanmamıştır.

Tablo 4. Enterokok suşlarında disk difüzyon yöntemi ile saptanan çeşitli antibiyotiklere direnç.

Enterokok suşları	Muayene maddelerinden üretilen (100 suş)	Yatan hastaların dışkı örneklerinden (198 suş)	Toplam (298 suş)
Antibiyotikler			
Eritromisin	36	53 (%27)	89 (%30)
Penisilin	32	51 (%26)	83 (%28)
Ampisilin	30 ^a	37 (%19)	67 (%22)
Siprofloksasin	7	18 (%18)	25 (%8)
Norfloksasin	6	14 (%7)	20 (%7)
Nitrofurantoin	5	3 (%1.5)	8 (%3)
Teikoplanin	-	-	-
Vankomisin	-	-*	-*

^a $\chi^2=4.88$, $p<0.05$ diğerleri $p>0.05$, * Altısı vankomisine duyarlı.

Tablo 5. Beta-laktam ve aminoglikozidlere yüksek düzeyde direnç gösteren enterokok suşları

Antibiyotik	Muayene maddelerinden üretilen (100 suş)		Yatan hastaların dışkı örneklerinden (198 suş)		Türlerin Toplamı		Toplam (298 suş)
	<i>E.faecium</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>E.faecium</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>E.faecium</i>	<i>E.faecalis</i>	
	(11 suş)	(86 suş)	(85 suş)	(90 suş)	(96 suş)	(176 suş)	
Gentamisin (500 µg/ml)	6 ^a (%54)	7 (%8)	14 (%16)	12 (%13)	20 ^c (%21)	19 (%11)	39 (%13)
Streptomisin (2000 µg/ml)	5 (%45)	21 (%24)	13 (%15)	15 (%17)	18 (%19)	36 (%20)	54 (%18)
Gen + Strep (500+2000 µg/ml)	5 ^a (%45)	4 (%5)	8 (%9)	4 (%4)	13 ^b (%14)	8 (%5)	21 (%7)
Penisilin (100 µg/ml)	6 ^b (%54)	11 (%13)	8 (%9)	3 (%3)	14 (%15)	14 (%8)	28 (%9)
Penisilin (200 µg/ml)	3 (%27)	13 (%15)	6 (%7)	2 (%2)	9 (%9)	15 (%9)	24 (%8)
Ampisilin (50 µg/ml)	7 ^b (%64)	15 (%17)	7 (%8)	4 (%4)	14 (%15)	19 (%11)	33 (%11)
Ampisilin (100 µg/ml)	5 ^c (%45)	11 (%13)	6 ^c (%7)	0 (%0)	11 (%11)	11 (%6)	22 (%7)

^ap<0.001, ^bp<0.01, ^cp<0.05; *E.faecium* ve *E.faecalis* arasında diğer farklar için p>0.05

TARTIŞMA

Çalışmamızda çeşitli kliniklerde yatan 316 hastanın, tedavileri sırasında veya profilaktik olarak vankomisin kullanılmış olan 143'ünün 59'undan (%41.2), vankomisin kullanılmamış olan 173'ünün 108'inden (%62.4) enterokok izole edilmiştir (Tablo 1). Bu iki bulgu arasındaki fark çok ileri derecede anlamlıdır (p<0.001) ve bu çalışmada VRE izole edilmemesi ile de tutarlıdır. Bu çalışmanın yapıldığı dönemde hastanemizde VRE suşu bulunmaması nedeniyle vankomisin uygulanan hastaların barsak florasındaki enterokoklar bu antibiyotik verilmesi ile elimine edilmekte ve sonuçta vankomisin verilen hastaların dışkılarında enterokoklar düşük oranla izole edilmektedir.

Çalışmamızda yatan hastaların dışkılarından %52.8 oranında enterokok izole edilmişken Özkuyumcu ve ark. (18) Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi'nde yatan 372 hastanın rektal sürüntüsünde %70.9, Endtz ve ark. (19) 624 hastanın dışkı ve rektal sürüntüsünden %49, Silverman ve ark. (20) 200 hastanın dışkısından %50, Trabulsi ve ark.(21) 93 çocuk hastanın rektal sürüntüsünden

%56 oranında enterokok izolasyonu yapmışlardır. Bölgesel farklılıklar olması doğal ise de, dışkıdan enterokok izolasyon oranımızın yurt dışından yapılan yayınlardaki oranlara Ankara'dan bildirilene göre çok daha yakın olması dikkat çekmiştir. Çeşitli çalışmalarda dışkı veya rektal sürüntüden enterokok izolasyon oranları, bu suşların veya muayene maddelerinden izole edilen enterokokların tür dağılımı bildirilmiştir.

Çalışmamızda *E.faecalis*'in muayene maddelerinden izolasyon oranlarının, dışkıdakine göre çok ileri derecede arttığı, *E.faecium* için ise çok ileri derecede azaldığı saptanmıştır (p<0.001) (Tablo 2).

Özellikle aminoglikozid ve beta-laktam antibiyotiklere yüksek düzeyde direnç gösteren ciddi enterokok infeksiyonlarında çok defa kullanılacak tek antibiyotik olarak elde vankomisin kalır. Bu nedenle enterokoklarda vankomisin direncinin pratikte büyük önemi vardır. Çalışmamızda suşlarımızda agar dilüsyon yöntemi ile vankomisine direnç aranmış ve VRE suşuna rastlanmamıştır (Tablo 3). Hepsisi dışkıdan izole edilen 11 suş vankomisine orta duyarlı (MİK 8-16 µg/ml), diğer suşlar duyarlı (MİK ≤ 4 µg/ml)

bulunmuştur. MİK'in 4 µg/ml olduğu suşlar da 298 suş içinde sadece 10 tanedir. 228 suş için vankomisin MİK değeri 2 µg/ml veya daha düşük bulunmuştur.

İlk VRE suşunun 1986'da bildirilmesinden sonra pek çok çalışmada muayene maddelerinden etken olarak veya dışkıdan izole edilen suşlarda vankomisin direnci aranmıştır. VRE izolasyonuna ait bazı örnekler tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. VRE izolasyonu bildirilen bazı çalışmaların bulguları.

Materyal	Hasta Sayısı	VRE izolasyonu	MİK (µg/ml)	VRE türleri
Endtz ve ark. (19) Dışkı	824	%2	>256	15 E.faecium 1 E.faecalis
Boisvion ve ark. (22) Dışkı	647	%4.9	≥64	%2 E.faecium %2.9 E.gallinarum ve E.casseliflavus
Moulin ve ark. (23) Dışkı	2250	82	?	75 E.faecium 4 E.gallinarum 1 E.faecalis 1 E.casseliflavus 1 E.avium
Wells ve ark. (9) Dışkı	724	187	>512	179 E.faecium 2 E.faecalis 2 E.casseliflavus 1 E.mondtii 1 E.gallinarum 1 E.avium 1 Enterococcus spp.
Gordts ve ark. (2) Dışkı	636	22	≥128	17 E.faecium 1 E.faecalis 8 E.faecium 1 E.gallinarum 3 E.gallinarum
Samet ve ark. (24) Çeşitli	?	49	>256	49 E.faecium

Ayrıca Beezhold ve ark.(25) VRE bakteriyemisi olan 14 hastanın %100'ünde rektal VRE kolonizasyonu, %86'sında deri kolonizasyonu saptamışlardır; bu oranları başka etkenlerle bakteriyemisi olan 30 kontrol hastasında %37 ve %23 olarak bulmuşlardır. Vural ve ark.(26)'nın bir çocuk hastanın 15 gün ara ile alınan iki ayrı plevra sıvısı kültürlerinden izole ettikleri, vankomisin MİK değerini 256 µg/ml buldukları bir E.faecium suşunu başka laboratuvarlara da doğrulamışlar, direnç tipini van A olarak saptamışlardır. Bu nedenle bu suş araştırmacılar tarafından da "ülkemizde vankomisin direncinin belirlendiği ilk enterokok suşu" olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda bulunan 0.25-16 µg/ml MİK aralığı, 1 µg/ml MİK₅₀ değeri ve 2 µg/ml MİK₉₀ değeri, bazılarında 1-2 dilüsyon farkı ile birçok çalışmada bulunan değerler gibidir (27-30).

Teikoplanine ise suşların tamamı duyarlı

bulunmuştur. Genellikle en etkili antibiyotik teikoplanin ve vankomisin bulunmuş, bunları nitrofurantoin izlemiştir. Çalışmamızda siprofloksasin ve norfloksasin glikopeptidler ve nitrofurantoininden sonra en etkili antibiyotikler olmuştur.

Çalışmamızda, yatan hastalardan izole edilen suşların streptomisine yüksek düzeyde direnç göstermesi dışında bütün karşılaştırmalarda yüksek

düzye aminoglikozid ve beta-laktam direnci E.faecium suşlarında E.faecalis suşlarındakinden yüksek oranda bulunmuştur (Tablo 5). Bu fark özellikle muayene maddelerinden izole edilmiş suşlarda daha belirgin olmuş ve istatistik olarak ileri ya da çok ileri derecede anlamlı bulunmuştur. Aminoglikozidlere yüksek düzeyde direncin aminoglikozid + beta-laktam kombinasyonunun etkinliğini azalttığı, beta-laktamlara yüksek düzeyde direncin ise kombinasyonun etkinliğinin azalmasında daha belirsiz bir rol oynadığı yönündeki bulgular nedeni ile NCCLS yüksek düzeyde aminoglikozid direncinin bakılmasını önermektedir (31). Bu nedenle birçok araştırmacı yalnız aminoglikozidlere (gentamisin ve streptomisine) yüksek düzeyde direnç araştırmıştır. Çeşitli araştırmacıların enterokoklarda yüksek düzeyde dirençle ilgili bulguları, tablo 7'de bulgularımızla

karşılaştırılmıştır. Bu çalışmalardan hem *E.faecium* hem *E.faecalis* suşları bulunanların pek çoğunda *E.faecium* suşları için daha yüksek oranlar verilmiştir. Suş sayıları, izole edildikleri kaynaklar ve bölgeler arasındaki farklar nedeniyle çeşitli çalışmalarda oldukça farklı oranların verilmesini doğal karşılamak gerekir.

Vankomisine dirençli enterokok suşlarının ülkemizde yaygın olmaması (vankomisin direnci inandırıcı bir şekilde bildirilmiş tek suş vardır ve o da dışkıdan izole edilmemiştir), vankomisin kullanılması nedeniyle hastaların barsağında duyarlı suşların elimine edildiği ve bir dirençli suş seleksiyonuna (hiç değilse hastanemizde) yol açmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Türkiye’de az sayıda da olsa çeşitli düzeyde

glikopeptid dirençli veya çalışmamızdaki gibi orta duyarlı enterokok suşları görülmeye başlamıştır, fakat henüz yaygın bir problem oluşturmamaktadır. Bununla birlikte izole edilen tüm suşlarda glikopeptid duyarlılığının araştırılması, ortaya çıkacak glikopeptid direncinin erken tanınması açısından yararlı olacaktır. Enterokok suşlarının çeşitli antibiyotiklere de değişik oranlarda dirençli olduğu bilinmektedir. Enterokok suşlarında yüksek düzeyde aminoglikozid direnci saptanmış ve bu nedenle izole edilen suşlarda aminoglikozidlere yüksek düzeyde direnç araştırılmasının gerekliliği anlaşılmıştır. Beta-laktamaz üreten suşa henüz Türkiye’de (doğrulanmamış bir suş dışında) rastlanmadığından rutin olarak bu enzimin araştırılmasının fazla gerekli olmadığı düşünülebilir.

Tablo 7. Çeşitli çalışmalarda enterokoklarda aminoglikozid ve beta-laktamlara yüksek düzeyde direnç oranları (%).

Araştırma	Suş sayısı	Muayene maddesi	YDGD			YDSD			YDPD			YDAD	
			<i>E.faecium</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>Enterococcus spp</i>	<i>E.faecium</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>Enterococcus spp</i>	<i>E.faecium</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>Enterococcus spp</i>	<i>E.faecium</i>	<i>E.faecalis</i>
Töreci ve Öngen (17)	100	İdrar	40	7.9		40	12.5		20	3.4		30	1.1
Aktaş (32)	101	Çeşitli	38.3	34.4		31.9	15.6		51	10.9		48.9	6.25
Özkuyumcu ve ark. (18)	264	Dışkı	3.5	3.7	7.1	3.5	8.8	2.3					
Çınar ve ark. (33)	111	Çeşitli	67.6	42.7		38.2	42.7						
Akıncı ve ark. (34)	70	Çeşitli	55	21.3		35	19						
Gray ve ark. (35)	236	Çeşitli	-	8.2									
Vandamme ve ark. (36)	472	Çeşitli		8.7			50.8						
Watanakunakorn (37)	126	Kan	31	37		62	36						
Guiney ve Urwin (38)	873	Çeşitli	-	15.2									
Ma ve ark. (39)	1799	Çeşitli		22.3									
Venditti ve ark. (40)	97	Çeşitli	22.7	29.3		59.1	48						
Gökahmetoğlu ve ark.(28)	30	Kan	71	22.3		71	33.3						
Öztürk ve ark. (5)	124	Çeşitli	44.4	9.1									
Şekericioğlu ve ark. (41)	30	Kan	57	27									
Yüce ve ark. (42)	60	Çeşitli	50	5.3									
Bu çalışmada	298	Çeşitli	21	11		19	20		15	8		15	11

Yüksek düzeyde YDGD: Gentamisin, YDSD:Streptomisin, YDPD: Penisilin, YDAD: Ampisilin direnci

KAYNAKLAR

1. Crossley K: Vancomycin-resistant enterococci in long-term care facilities, *Infect Control Hosp Epidemiol* 19: 521(1998).
2. Gordts B, Landuyt H V, Ieven M, Vandamme P, Goossens H: Vancomycin-resistant enterococci colonizing the intestinal tract of hospitalized patients, *J Clin Microbiol* 32:2842 (1995).
3. Hoge CW, Adams J, Buchanan B, Sears SD: Enterococcal bacteremia: To treat or not to treat, a reappraisal, *Rev Infect Dis* 13:600 (1991).
4. Bantar CE, Relloso S, Castell FR, Smayevsky J, Bianchini HM: Abscess caused by vancomycin-resistant *Lactobacillus confusus*, *J Clin Microbiol* 29:2063 (1991).
5. Öztürk R, Eroğlu C, Köksal F, Mert A, Aygün G: Enterokoklarda antibiyotiklere direnç ve yüksek düzeyde

gentamisin direnci, *ANKEM Derg* 9: 351 (1995).

6. Green M, Barbadora K, Michaels M: Recovery of vancomycin-resistant Gram-positive cocci from pediatric liver transplant recipients. *J Clin Microbiol* 29:2503 (1991).
7. Caballero-Granado FJ, Cisneros JM, Luque R, Torres-Tortosa M, Gamboa F, Diez F, Villanueva JL, Perez-Cano R, Pasquau J, Merino D, Menchero A, Mora D, Lopez-Ruz MA, Vergara A: Comparative study of bacteremias caused by *Enterococcus spp.* with and without high-level resistance to gentamicin, *J Clin Microbiol* 36:520 (1998).
8. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC): Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol* 16:105 (1995).
9. Wells C L, Juni B A, Cameron SB, Mason KR, Dunn DL,

- Ferrieri P, Rhame FS: Stool carriage, clinical isolation, and mortality during an outbreak of vancomycin-resistant enterococci in hospitalized medical and/or surgical patients. *Clin Infect Dis* 21:45 (1995).
10. Landman D, Quale JM: Management of infections due to resistant enterococci: A review of therapeutic options, *J Antimicrob Chemother* 40:161 (1997).
11. Ravizzola G, Cabibbo E, Peroni L, Longo M, Pollara PC, Corulli M, Pizzi R, Dima F, Fallacara C, Turano A: In-vitro study of the synergy between -lactam antibiotics and glycopeptides against enterococci, *J Antimicrob Chemother* 39:461 (1997).
12. Simjee S, Gill MJ: Gene transfer, gentamicin resistance and enterococci, *J Hosp Infect* 36:249 (1997).
13. Bilgehan H: Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir (1992).
14. Difco Manual: Biochemical Reactions, 26 th, p115, Difco Laboratories, Detroit, Michigan (1984).
15. Claus D: Characterization of bacterial cultures arginin dihidrolase BPZ-17, "Training Course on Running and Management of Culture Collection", Czechoslovak Collection of Microorganisms, JE Purkyne University, Brno, Purkyne (1981). (4 no'lu kaynaktaki site edilmiştir).
16. NCCLS: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 4th ed. Approved Standard. NCCLS Publications M7-A4 and Supplement M100-S7. NCCLS, Wayne Pa (1997).
17. Töreci K, Öngen B: Antibiotic resistance in enterococci isolated from urine with emphasis to high-level resistance to beta-lactams and aminoglycosides, *ANKEM Derg* 7: 217 (1993).
18. Özkuyumcu C, Köseoğlu Ö, Günalp A: Hastanede yatan hastalarda vankomisin ve yüksek düzeyde aminoglikozid dirençli enterokok kolonizasyonunun araştırılması, *Mikrobiyol Bült* 32:185 (1998).
19. Endtz HP, Braak N, Belkum A, Kluytmans JW, Koeleman JGM, Spanjaard L, Voss A, Weersink AJL, Vandembroucke-Grauls CMJE, Buriting AGM, Duin AY, Verbrugh HA: Fecal carriage of vancomycin-resistance enterococci in hospitalized patients and those living in the community in the Netherlands. *J Clin Microbiol* 35: 3026 (1997).
20. Silverman J, Thal LA, Perri MB, Bostic G, Zervos MJ: Epidemiologic evaluation of antimicrobial resistance in community-acquired enterococci, *J Clin Microbiol* 36: 830 (1998).
21. Trabulsi A, Glover AM, Reising SF, Christie CDC: Absence of rectal colonization with vancomycin-resistant enterococci among high-risk pediatric patients, *Infect Control Hosp Epidemiol* 19:109 (1998).
22. Boisvion A, Thibault M, Leclercq R: Colonization by vancomycin-resistant enterococci of the intestinal tract of patients in intensive care units from French general hospitals. *Clin Microbiol Infect* 3:175 (1997).
23. Moulin F, Dumontier S, Saulnier P, Chachaty E, Loubeyre C, Brugieres L, Andreumont A: Surveillance of intestinal colonization and of infection by vancomycin-resistant enterococci in hospitalized cancer patients, *Clin Microbiol Infect* 2: 192 (1996).
24. Samet A, Bronk M, Hellmann A, Kurt J: Isolation and epidemiological study of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from patients of a haematological unit in Poland, *J Hosp Infect* 41: 137 (1999).
25. Beezhold DW, Slaughter S, Hayden MK, Matushek M, Nathan C, Trenholme GM, Weinstein RA: Skin colonization with vancomycin-resistant enterococci among hospitalized patients with bacteremia, *Clin Infect Dis* 24: 704 (1997).
26. Vural T, Şekercioğlu AS, Ögünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A, Ünal S, Kocagöz S, Mutlu G: Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu, *ANKEM Derg* 13:1 (1999).
27. Bantar CE, Relloso S, Castell FR, Smayevsky J, Bianchini HM: Abscess caused by vancomycin-resistant *Lactobacillus confusus*, *J Clin Microbiol* 29:2063 (1991).
28. Gökahmetoğlu S, Sümerkan B, Eşel D, Karagöz S: Kan kültürlerinden izole edilen enterokok suşlarının vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid dirençlerinin araştırılması, *ANKEM Derg* 13: 57 (1999).
29. Kayaokay Y, Haşçelik G, Gür D, Akalın E: Teicoplanin ve vancomycin'in Gram pozitif mikroorganizmalara karşı in vitro aktiviteleri, *Mikrobiyol Bült* 25: 321 (1991).
30. Louie A, Baltch AL, Ritz WJ, Smith RP, Asperilla M: Comparison of in- vitro inhibitory and bactericidal activities of daptomycin (LY 146032) and four reference antibiotics, singly and in combination, against gentamicin-susceptible and high-level-gentamicin-resistant enterococci, *Chemotherapy* 39: 302 (1993).
31. NCCLS: Performance standard for antimicrobial disk susceptibility tests, 6th ed. Approved Standard: M2-A6 and Supplement tables M100-S7. NCCLS, Wayne Pa (1997).
32. Aktaş Z: Çeşitli muayene maddelerinden etken olarak izole edilen *Enterococcus* cinsinden bakteri türlerinin tanısı ve antibiyotik duyarlılıkları, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul (1996).
33. Çınar T, Leblebicioğlu H, Sünbül M, Eroğlu C, Esen Ş, Günaydın M: Enterokoklarda yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direncinin araştırılması, *Flora* 4: 114 (1999).
34. Akıncı E, Balık İ, Tekeli E: Klinik örneklerden izole edilen enterokok türlerinin antimikrobiyal duyarlılığının belirlenmesi, *Flora* 4: 40 (1999).
35. Gray J W, Stewart D, Pedler SJ: Species identification and antibiotic susceptibility testing of enterococci isolated from hospitalized patients, *Antimicrob Agents Chemother* 35:1943 (1991).
36. Vandamme P, Vercauteren E, Lammens C, Pensart N, Ieven M, Pot B, Leclercq R, Goossens H: Survey of enterococcal susceptibility patterns in Belgium, *J Clin Microbiol* 34:2572 (1996).
37. Watanakunakorn C: Rapid increase in the prevalence of high-level aminoglycoside resistance among enterococci isolated from blood cultures during 1989-1991, *J Antimicrob Chemother* 30: 289 (1992).
38. Guiney M, Urwin G: Frequency and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of enterococci, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 12: 362 (1993).
39. Ma X, Kudo M, Takahashi A, Tonimoto K, Ike Y: Evidence of nosocomial infection in Japan caused by high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis* and identification of the pheromone-responsive conjugative plasmid encoding gentamicin resistance, *J Clin Microbiol* 36: 2460 (1998).
40. Venditti M, Tarasi A, Gelfusa V, Nicastrì E, Penni A, Martino P: Antimicrobial susceptibilities of enterococci isolated from hospitalized patients, *Antimicrob Agents Chemother* 37: 1190 (1993).
41. Şekercioğlu AO, Vural T, Çolak D, Ögünç D, Öngüt G: Kan kültürlerinden izole edilen enterokok türlerinin antibiyotik duyarlılıkları ve yüksek düzey gentamisin dirençliliklerinin saptanması, *ANKEM Derg* 12: 114 (1998).
42. Yüce A, Özkütük A, Gülay Z, Yuluğ N: Enterokoklarda aminoglikozid ve vankomisin direncinin araştırılması, *ANKEM Derg* 12: 115 (1998).