

Vankomisine Dirençli Enterokokların İzolasyonunda Değişik Besiyerlerinin Araştırılması †

Defne GÜMÜŞ *, Deniz SERTEL ŞELALE **, Yaşar NAKİPOĞLU **, Mine ANĞ KÜÇÜKER *

* Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

** İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Vankomisin dirençli enterokokların (VRE) etken olduğu hastane enfeksiyonları ve salgınlarında, rezervuar olarak önemli rol oynayan VRE kolonizasyonlu hastaların hızlı ve güvenilir şekilde belirlenmeleri büyük önem taşır. Bu amaçla, özellikle belirli bazı kliniklerdeki hastalar periyodik olarak yapılan sürveyans çalışmalarıyla olası VRE kolonizasyonu açısından taranırlar. Bu çalışmada, VRE kolonizasyonunun saptanmasında kullanılacak farklı besiyerleri ve yöntemlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: VRE kolonizasyonunun saptanmasında kullanılmak üzere tarafımızdan farklı oran ve kombinasyonlarda eskülin, vankomisin, teikoplanin, azid glikoz buyyon (AGB), beyin kalp infüzyon agar ve NaCl içeren 29 katı besiyeri direkt kültürde denenmiş, seçici besiyeri olarak başarılı bulunan dört kombinasyon, bakterinin klinik örneklerden izolasyonları açısından rutin olarak kullanılan zenginleştirme yöntemiyle karşılaştırılmıştır. Ayrıca iki farklı zenginleştirme kültür yöntemi (rutin yöntem ve modifiye yöntem), rektal sürüntü örneklerinden VRE izolasyon başarısı açısından karşılaştırılmıştır. AGB ve vankomisin (6µg/ml) ilavesiyle modifiye edilen vankomisinli AGB (AGBV) besiyerine rektal sürüntü örnekleri inoküle edilmiş; sonrasında AGB'den vankomisin ilave edilmiş Triptik Soy Agar (VTSA) besiyerine ve AGBV'den TSA besiyerine pasaj yapılarak izolasyon oranları karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Hazırlanan 29 besiyeri arasında NaCl ve teikoplanin içermeyen, 8µg/ml vankomisin ile AGB içeren dört tanesi en iyi olmakla birlikte, 20 rektal sürüntü örneğinden VRE izolasyonunda, rutinde kullanılan çoğaltma yöntemine göre daha başarısız bulunmuştur. Hastanede yatan 109 hastadan alınan ve iki farklı çoğaltma besiyerine (AGB ve AGBV) ekilen rektal sürüntü örneklerinde VRE izolasyonu açısından AGBV daha başarılı olsa da, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (AGB %17.4, AGBV %26.6).

Sonuç: VRE izolasyonunda sıvı besiyerinde yapılan çoğaltmanın üretme şansını arttırdığı görülmüştür

Anahtar kelimeler: Vankomisine dirençli enterokok, kolonizasyon, besiyeri

SUMMARY

Evaluation of Different Culture Media for the Isolation of Vancomycin Resistant Enterococci

Objective: Rapid and reliable detection of vancomycin resistant enterococci (VRE) colonized patients who may act as a reservoir for VRE associated nosocomial infections and outbreaks, is of crucial importance. Periodical screening of patients under risk for VRE infections is recommended especially for critically ill patients staying at intensive care units. This study was aimed to evaluate the performance of different culture media and methods for screening VRE colonization.

Materials and Methods: In this study 29 different agar media prepared by different concentrations and ratios of esculin, vancomycin, teicoplanin, azide glucose broth (AGB), brain heart infusion agar and NaCl were tested for direct plating method; four combinations found to be highly selective were used for direct inoculation of clinical samples and the results were compared with routinely used enrichment culture method. In addition, two enrichment culture methods (standard and modified) were compared for their ability to detect VRE from rectal swabs. Rectal swabs were inoculated onto AGB and vancomycin (6µg/ml) added azide glucose broth (AGBV). Subcultures were performed from AGBV to tryptic soy agar (TSA) and from AGB to vancomycin added TSA (VTSA) and the results were compared accordingly.

Results: One hundred and nine rectal swabs taken from hospitalized patients were studied. Among the 29 media investigated the best four were those which did not contain NaCl and teicoplanin and had 8µg/ml vancomycin and AGB. Broth enrichment method was superior to direct plating for the isolation of VRE. VRE detection rate was higher when AGBV was used (AGB 17.4%, AGBV 26.6%), however, the difference was not statistically significant.

Conclusion: Broth enrichment method increases the isolation of VRE

Key words: Vancomycin resistant enterococci, colonization, media

Alındığı tarih: 12.03.2011

Kabul tarihi: 28.08.2011

Yazışma adresi: Defne Gümüş, Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yılanlı Ayazma Cad. No: 26, Cevizlibağ-Topkapı / İstanbul

e-posta: defne_gumus@yahoo.com

† Bu çalışma XXXIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde serbest bildiri olarak sunulmuştur. (21-25 Ekim 2008)

GİRİŞ

Enterokoklar gram pozitif koklar olup, insanlarda ve sıcakkanlı hayvanlarda bağırsak florasında ve ayrıca toprak, yiyecek, su, bitki, kuş ve böceklerde bulunurlar. En sık bakteriyemi, endokardit ve karın içi ve idrar yolu enfeksiyonlarına neden olurlar. Hastane enfeksiyonlarında artan sıklıkta etken olarak izole edilmekte olup, insanlarda enterokok enfeksiyonlarının %80-90'ından *Enterococcus faecalis*, %5-10'undan *E. faecium* sorumludur⁽¹⁻³⁾.

Enterokoklar gerek klindamisin, florokinolon, sülfonamid, düşük düzey beta laktam ve düşük düzey aminoglikozidlere doğal direnç özellikleri gerekse tetrasiklin, eritromisin, rifampin, kloramfenikol, yüksek düzey beta laktam, yüksek düzey aminoglikozid ve glikopeptidlere kazanılmış direnç nedeniyle günümüzün sorunlu bakterileri arasında yer alırlar^(3,4). Bu direnç mekanizmalarından en önemlisi kazanılmış vankomisin direncidir. Vankomisine dirençli enterokoklarda (VRE) fenotipik ve genotipik olarak tanımlanmış altı farklı direnç mekanizması bulunmaktadır⁽⁴⁾. Dirençli genotiplerin fenotipik ayrımı, bir enterokok suşunun vankomisine, teikoplanine veya ikisine birden dirençli olup olmamasına, direncin indüklenbilme ve diğer bakterilere aktarılabilme özelliklerine göre yapılmaktadır⁽⁴⁾.

VRE suşları ilk olarak 1988'de İngiltere ve Fransa'dan bildirilmiştir⁽⁴⁾. Türkiye'de vankomisine dirençli ilk *E. faecium* suşu Vural ve ark.⁽⁵⁾ tarafından 1998'de, *E. faecalis* suşu ise Öngen ve ark.⁽⁶⁾ tarafından 2000 yılında izole edilmiştir. Günümüzde birçok ülkede enfeksiyon veya kolonizasyon etkeni olarak artan sıklıkta izole edilmekte olan VRE suşlarının nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak izole edilme oranı 1989'da %0.3 iken, bu oran 1993'te %11.4'e, yoğun bakım ünitelerinde ise bu oran aynı süre içinde %0.4'ten %13.6'ya yükselmiştir^(1,3).

VRE epidemiyolojisi henüz tam olarak açığa kavuşturulmamış olsa da yatan hastaların bağırsaklarında VRE kolonizasyonu olması en önemli enfeksiyon kaynağını oluşturur. Etkenin kolonize hastalardan başka hastalara direkt temasla veya kontamine olmuş personel elleri, aletler ve yüzeylerden indirekt yolla bulaşarak enfeksiyonlara ve salgınlara yol açması mümkündür^(4,7). Bu nedenle, hastanelerde olası VRE

enfeksiyonlarının ve salgınlının önlenmesi için el yıkama, dezenfeksiyon-sterilizasyon konularında personelin eğitimi, antibiyotik kullanımının kısıtlanması ve VRE ile enfekte hastaların izolasyonu kadar etkin süveyans çalışmalarıyla VRE ile kolonize hastaların erken dönemde saptanması büyük önem taşır. Hastane enfeksiyon kontrol komiteleri, VRE süveyans programlarının düzenli olarak yürütülerek sonuçların takip edilmesi gerektiğini önermektedir^(8,9). Bu bağlamda mikrobiyoloji laboratuvarlarında yapılan VRE taramalarında kısa sürede doğru sonucun alınmasını sağlayacak yöntemlerin belirlenmesi gereklidir⁽¹⁰⁾.

VRE'lerin izolasyonu için genel olarak kabul edilmiş bir tarama metodu bulunmamaktadır. Günümüzde ticari olarak mevcut olan veya in-house olarak hazırlanan sıvı veya katı birçok besiyeri kullanılmaktadır ve yapılan birçok çalışma ile bu besiyerlerinin duyarlılık ve özgüllükleri karşılaştırılmaktadır. Rutin süveyans amaçlı çalışmalarda çoğunlukla sıvı besiyerlerinde zenginleştirme yöntemi tercih edilmektedir⁽¹¹⁾. Hazırlanan seçici besiyerlerinde kullanılan vankomisin konsantrasyonları 4-64 µg/ml arasında değişmektedir; ancak düşük düzeyde glikopeptid direncinin saptanabilmesi için 6 µg/ml vankomisin konsantrasyonunun uygun olduğu belirlenmiştir^(9,11,12). Enterokoklar, laboratuvarlarda genel amaçlı besiyerlerinde kolayca üretilseler de, özellikle VRE suşlarının, dışkı gibi normal flora üyesi olarak çok sayıda ve çeşitte bakterinin bulunduğu örneklerden izolasyonu sorun yaratabilmektedir^(11,12). Nükleik asit amplifikasyon teknikleri, dışkı örneklerinde VRE suşlarının saptanması için günümüzde önem kazanmış olsa da, bu teknolojiyi kullanma olanağı olmayan klinik mikrobiyoloji laboratuvarları için halen güvenilir kültür yöntemlerine gereksinim vardır⁽¹²⁾.

Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada iki amaç güdülmüştür. Birinci amacımız, ön zenginleştirme yapmaksızın VRE suşlarının saptanabilmesi amacıyla kullanılmak üzere içerdikleri maddeler ve miktarları açısından farklı kombinasyonlara sahip katı besiyerleri hazırlayarak izolasyondaki başarılarını değerlendirmektir. İkincisi ise rutin izolasyon yönteminde kullanılan çoğaltıcı besiyerinin vankomisin ilavesi ile aynı zamanda seçici besiyerine dönüştürerek modifiye şeklinin VRE izolasyonundaki başarısının rutin yöntemle karşılaştırılması olarak belirlenmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Suşlar: Rektal örneklerin direkt kültürü için hazırladığımız seçici besiyerlerinin denenmesinde anabilim dalı laboratuvarında rutin sürveyans çalışmaları sırasında yatan hastalara ait rektal sürüntü örneklerinden izole edilmiş ve -20°C'de saklanmış olan dokuz VRE suşu kullanılmıştır.

Standart suşlar: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus subtilis* ATCC 9372, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (vankomisine duyarlı) suşları kontrol olarak kullanılmıştır.

Glikopeptidlere duyarlılık deneyleri: Enterokok olarak tanımlanan suşların glikopeptidlere duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda vankomisin (30 µg) ve teikoplanin (30 µg) diskleri (Oxoid) kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır ⁽¹³⁾.

Ön zenginleştirmeli kültür yöntemi: Rutin mikrobiyolojik incelemelerde VRE izolasyonu amacıyla uygulanan ön zenginleştirmeli kültür yöntemidir. Bu yönteme göre azidli glikozlu buyyon (AGB, Merck-Almanya) ve vankomisinli (6 µg/ml) Triptik Soy Agar (VTSA, Difco-ABD) kullanılmıştır. AGB besiyerine örneklerden ekim yapılmış ve besiyerleri 35°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin ardından bulanıklık oluşan AGB besiyerlerinden VTSA besiyerine ekim yapılmış, üreyen bakterilerin identifikasyonu rutin biyokimyasal deneylerle gerçekleştirilmiştir ⁽¹⁴⁾.

VRE suşlarının direkt izolasyonu amacıyla denemek üzere hazırlanan seçici katı besiyerleri: Farklı miktarlarda eskülin (0.55, 0.64, 0.7 g/l), %6.5 NaCl, üretici firmanın belirttiği miktarlarda AGB ve beyin kalp infüzyon agar ile farklı vankomisin (4,6,8,16,64µg/ml) ve teikoplanin konsantrasyonları (6,16,32µg/ml) içeren 29 farklı kombinasyonda katı besiyerleri hazırlanmıştır. Hazırlanan katı besiyerlerinin içerikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu besiyerlerinin VRE suşlarının seçici olarak izolasyonundaki başarıları araştırılmıştır.

Ön zenginleştirme yapmadan direkt kültür yöntemi. Bu amaçla tarafımızdan denemek üzere hazırlanan

besiyerlerine rutin incelemeler sırasında izole ve identifiye edilen dokuz farklı VRE suşu ile standart suşlardan ekim yapılmıştır. Denenen besiyerinde başarı kriteri olarak gram negatif ve VRE dışındaki diğer gram pozitif bakterilerin üremesinin baskılanması ayrıca tüm VRE suşlarının ise eskülini hidrolize ederek üremesi temel alınmıştır.

Başarılı bulunan besiyerlerinin rutin izolasyon amacıyla kullanılabilirliğinin belirlenmesi: Bu amaçla, 20 farklı rektal sürüntü örneğinden hem bu besiyerlerine direkt ekim yapılmış hem de çoğaltma besiyerine ekim yapılarak ön zenginleştirmenin uygulandığı rutin izolasyon yöntemi ile karşılaştırılmıştır.

Modifiye ön zenginleştirme yönteminin rutin zenginleştirme yöntemiyle karşılaştırılması: Deneylerimizin bu bölümünde VRE izolasyonu için uygulanan rutin kültür yönteminde modifikasyon yapılmış ve bu modifiye yöntem rutin yöntemle karşılaştırılmıştır. Buna göre rutin kültür yönteminde kullanılan çoğaltma besiyerinin (AGB) vankomisin (6µg/ml) ilaveli modifiye şekli (AGBV), katı besiyeri olarak ise rutin kültür yönteminden farklı olarak vankomisinsiz Triptik Soy Agar (TSA) kullanılmıştır. Anesteziyoloji ve reanimasyon anabilim dalı, çocuk sağlığı ve hastalıkları anabilim dalı hematoloji bilim dalı servislerinde yatan hastalardan alınan 109 rektal sürüntü örneğinden biri vankomisinli diğeri vankomisinsiz AGB besiyerine ekim yapılmış ve besiyerleri 35°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin ardından vankomisinli AGB besiyerlerinden TSA besiyerine; vankomisinsiz AGB besiyerlerinden ise vankomisin içeren TSA besiyerine ekim yapılmış ve sonuçlar ki-kare testi ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir

BULGULAR

Besiyerlerinin değerlendirilmesi: Katı besiyerlerinin denendiği çalışmamızda 26, 27, 28 ve 29 nolu besiyerleri, kullanılan dokuz farklı VRE suşunu selektif olarak izole etme açısından diğerlerine göre daha başarılı bulunmuştur. Başarılı bulunan bu dört besiyerinin içerikleri (Tablo 1) tümüyle aynı olmakla beraber, NaCl ve teikoplanin içermezken 8µg/ml vankomisin ile AGB içermektedirler.

Tablo 1. Katı besiyerlerinin içerikleri.

Besiyeri	Eskülin (g/l)			NaCl (%6.5)	*AGB	**BHIA	***VAN (µg/ml)					****TEC (µg/ml)		
	0.55	0.64	0.7				4	6	8	16	64	6	16	32
1		+												+
2		+							+					+
3		+							+					
4		+		+										+
5		+		+					+					+
6		+		+					+					
7		+			+									+
8		+			+				+					+
9		+			+				+					
10		+		+	+									+
11		+		+	+				+					+
12		+		+	+				+					
13	+													
14	+													+
15	+										+			+
16	+				+									+
17	+				+						+			+
18	+				+						+			
19		+												+
20		+			+									+
21		+			+							+		+
22		+		+	+							+		+
23		+		+	+			+						
24		+		+	+									
25		+		+	+	+					+			
26		+		+	+						+			
27		+		+	+	+					+			
28			+		+						+			
29			+		+	+					+			

*AGB: Azitli glikozlu buyyon, **BHIA: Beyin kalp infüzyon agar, *** VAN: Vankomisin. **** TEC: Teikoplanin.

Tablo 2. Rutin ve modifiye kültür yöntemlerinin VRE izolasyonu açısından karşılaştırılması.

Yöntem	VRE izole edilen örnekler	
	n	(%)
Yalnızca Rutin Yöntem	4	3.7
Yalnızca Modifiye Yöntem	14	12.8
Her İki Yöntem	15	13.8
Toplam üreme	33	30.3

Başarılı bulunan besiyerlerinin direkt izolasyon yönteminde değerlendirilmeleri: Başarılı bulunan bu dört besiyerinin kullanıldığı direkt izolasyon yöntemi (rektal sürüntü örneklerinden yapılan direkt ekim) ile rutinde kullanılan çoğaltma yöntemi (AGB + vankomisinli TSA) kıyaslandığında VRE suşlarının izolasyonu açısından başarısız bulunmuştur.

Modifiye ön zenginleştirme yönteminin rutin yöntemle karşılaştırılmasının değerlendirilmesi: AGB ve VTSA kullanılan rutin kültür yöntemi ile AGBV

ve vankomisinsiz TSA'nın kullanıldığı modifiye kültür yönteminin karşılaştırıldığı deneylerde incelenen 109 örneğin 14'ünde (%12.8) yalnızca modifiye yöntemle VRE saptanırken, 15'inde (%13.8) hem rutin kültür yöntemiyle hem de modifiye yöntemle VRE saptanabilmiş, dört örnekte (%3.7) ise VRE varlığı yalnızca rutin yöntemle saptanabilmiştir. Toplam izolasyon oranları incelediğinde modifiye yöntemle 29 (%26.6) örnekte VRE izolasyonu başarılıysa rutin kültür yönteminde bu sayının 19 (%17.4) olduğu görülmüştür (Tablo 2). Modifiye ve rutin kültür yöntemlerinin VRE izolasyon başarılarının arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.14).

TARTIŞMA

Son on yılda glikopeptidlere dirençli enterokoklar ile enfekte veya kolonize olan hastaların ve VRE'lerin etken olduğu nozokomiyal enfeksiyonların prevalansında hızlı artış saptanmıştır⁽⁹⁾. Kolonizasyon oranla-

rı yoğun bakım ünitelerinde, üroloji, onkoloji ve transplantasyon servislerinde yüksektir ⁽⁹⁾. Centers for Disease Control (CDC)'ün 1995'te belirlediği öneriler doğrultusunda VRE olgularının ve salgınlarının saptanarak bulaşma oranlarının azaltılması için VRE ile enfekte veya kolonize hastaların izolasyonu önem taşımaktadır ⁽¹⁵⁾. VRE ile kolonize hastaların zamanında saptanması için yapılan sürveyans çalışmalarında dışkı ve rektal sürüntü kültürleri önerilmektedir. Ancak, optimal kültür yöntemleri henüz netlik kazanmamıştır ^(12,15,16). Bununla birlikte genel olarak uygulanan rutin yöntemlerde örnekler, ön zenginleştirme (çoğaltma) amacıyla önce çoğaltıcı bir sıvı besiyerine ekilmekte, inkübasyondan sonra VRE'lerin selektif izolasyonunun sağlanması için antibiyotik içeren ve içermeyen çeşitli katı besiyerlerine pasaj yapılmaktadır. Seçici katı besiyerleri arasında; aztreonam ve amfoterisin içeren %10 at kanlı agar, kolistinli nalidiksik asitli agar, polimiksin ve streptomisin içeren Mueller Hinton agar, kanamisin eskülün azid agar, neomisin içeren %5 at kanlı agar, klindamisin içeren *Campylobacter* kanlı agar, kolistinli nalidiksik asitli eskülün azid agar, ayrıca vankomisin içeren beyin kalp infüzyon agar (BHIA), Martin Lewis, *Campylobacter* ve safra eskülün azid agar (BEA) gibi katı besiyerleri bulunmaktadır ⁽⁹⁾. Hangi besiyerinin kullanılacağı veya kullanılan besiyerinin hangi oranlarda vankomisin içermesi gerektiği konusunda görüş birliğine varılamamış olsa da vankomisin içeren BEA (BEAV) agar bu grupta safra eskülün hidrolizi reaksiyonu ile VRE suşlarını ayırabilen tek besiyeridir. Ayrıca VRE suşlarının dışkı örneklerinden yapılan direkt kültürlerde saptanmasında diğerlerine göre daha üstün bulunmuştur ^(12,17).

Novicki ve ark. ⁽¹²⁾ çalışmalarında, 528 rektal sürüntü veya dışkı örneğinden BEA agar (vankomisinsiz) ile içine 30µg vankomisin diski eklenmiş BEA çoğaltma besiyerine ekim yapmış ve bu besiyerleri VRE izolasyonu açısından kıyaslanmıştır. Toplam 29 örnekte VRE saptanırken, bunlardan 28'i ön çoğaltmanın yapıldığı kültürlerde, 18'i ise direkt katı besiyerinde izole edilmiştir. Araştırmacılar çoğaltma ile BEA agarın birlikte kullanıldığı yöntemin yalnızca BEA agarda direkt kültürden daha duyarlı ve özgül olduğunu bildirmişlerdir.

Ieven ve ark. ⁽¹¹⁾ VRE izolasyonu için çoğaltma yöntemi ve agar besiyerinde direkt kültür yöntemlerini

kıyaslamak için 306 dışkı ve rektal sürüntü örneğini inceledikleri çalışmalarında 6µg/ml vankomisin içeren enterokok agar (EA) ve enterokok buyyon (EB) kullanılmıştır. Toplam 43 örnekten VRE izole edilmiştir. Bu 43 örneğin tümünde çoğaltma yöntemi ile VRE izole edilirken, çoğaltma yapılmayan direkt kültürlerde ancak 23 örnekten izolasyon başarılmıştır. Araştırmacılar çoğaltma besiyerinin VRE izolasyon şansını arttırdığını ayrıca yalnızca direkt kültür yöntemi ile yapılan prevalans çalışmalarında örneklerde az sayıda bulunan VRE suşlarının atlanabileceğini bildirmiştir.

Brown ve Walpole'un çalışmalarında ⁽⁹⁾ ise diğer çalışmalarda da etkinliği araştırılan EA (6µg/ml vankomisinli) ve EB (antibiyotiksiz) besiyerleri ile 2µg/ml meropenem, 6µg/ml vankomisin içeren VEB (VRE enrichment broth) ve 1µg/ml meropenem, 6µg/ml vankomisin VSA (VRE selective agar) besiyerleri VRE izolasyonu açısından kıyaslanmıştır. Araştırmacılar rektal sürüntü örneklerinde VRE'nin saptanmasında VEB ve VSA besiyerlerinin en az EB ve EA besiyerleri kadar etkili olduğunu saptamıştır. Ayrıca Ieven ve ark.'nın ⁽¹¹⁾ bildirdiği sonuçların aksine VSB veya EB'da yapılan ön çoğaltma yönteminin direkt ekim yöntemi ile kıyaslandığında avantaj sağlamadığını göstermiş ve buna kendi çalışmalarında vankomisinsiz EB besiyeri kullanmalarını ayrıca inceledikleri örneklerin VRE açısından yüksek risk grubundan hastalara ait olmasını neden olarak belirtmişlerdir. Çoğaltma besiyeri kullanımının izolasyon süresini 24-48 saat kadar uzattığı ve çoğaltma besiyerinde altı saatlik inkübasyonun ise direkt ekim yöntemine göre daha başarılı olmadığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda da tarama amaçlı ekim yapılan rektal sürüntü örneklerinde kısa sürede ve doğru şekilde VRE'nin saptanabilmesi amacıyla farklı konsantrasyon ve içeriklerde vankomisin, teikoplanin, NaCl (%6.5), eskülün ve azid içeren katı besiyeri kombinasyonlarının VRE suşlarını ayırt ettiricilik özellikleri araştırılmıştır. Bunlardan dördü daha başarılı bulunmuştur. Bu besiyerlerinin ortak özellikleri tümünün azid ve glikoz içermesi, tümünün içeriğindeki vankomisin konsantrasyonunun 8 µg/ml olması ve hiçbirinin NaCl içermemesidir. Glikoz, besiyerini zenginleştirerek bakterinin çoğalmasında rol oynarken, ilave azid ve vankomisin seçiciliği sağlamaktadır. Bu dört besiyerine ilave edilmiş olan AGB mad-

desi %7.5 oranında NaCl içermektedir; denenen diğer besiyerlerinden farklı olarak AGB buyyon dışında tuz ilave edilmemiş olması daha yüksek tuz konsantrasyonlarının bakterileri inhibe edici etkisini bertaraf etmiş ve böylece bu dört besiyerinin izolasyon oranını arttırmış olmalıdır. Yapılan çalışmalarda düşük düzey vankomisin direncinin atlanmadan saptanabilmesi için besiyerlerine 6µg/ml vankomisin ilave edilmesi önerilmiştir; çalışmamızda başarılı bulunan besiyerlerinin daha fazla miktarda (8 µg/ml) vankomisin içermelerinin besiyerlerinin seçiciliklerini arttırmış olabileceğini düşündürür. Ancak, deneylerimizde kullandığımız suş sayısının düşük (dokuz suş) olması, daha ileri yorumlar için başka çalışmaları gerekli kılmaktadır. Rektal sürüntü örneklerinde VRE saptanması için bu dört katı besiyerinde direkt kültür yöntemi, AGB besiyerinde çoğaltmayı izleyerek agar besiyerinde kültür yöntemi ile kıyaslanmıştır. Bulgularımıza göre, Ieven ve ark.'nın ⁽¹¹⁾ çalışmalarının sonuçları ile benzer şekilde, VRE izolasyonunda sıvı besiyerinde yapılan çoğaltmanın üretme şansını arttırdığı görülmüştür.

Çalışmamızda ayrıca laboratuvarımızda rutin VRE taramasında çoğaltma besiyeri olarak kullanılan AGB besiyeri ve AGBV besiyerinin etkinliği araştırılmış ve AGBV besiyerinin VRE izolasyon şansını arttırdığı saptanmıştır (AGB %17.4, AGBV %26.6). Burada önemli noktanın çoğaltıcı besiyerine vankomisin ilavesinin dirençli bakterilerin önceden çoğaltılırken, seçilmesinin sağlanması olmalıdır. Antibiyotik ilave edilen (VEB) ve edilmeyen (EB) çoğaltma besiyerlerinin etkinliklerinin kıyaslandığı Brown ve Walpole'un ⁽⁹⁾ çalışmalarında belirtildiği gibi, çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış olsa da, bu konuda örnek sayısının artırılmasının bu sonucu değiştirebileceğini öngörüyor ve daha fazla örnekle araştırmalar yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. **Teixeira LM, Charvalho MGS, Facklam RR.** *Enterococcus*. In: Başustaoğlu A. Çev ed. Klinik Mikrobiyoloji. 9. baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık, 2009: 430-42.
2. **Yenen OŞ (Çev ed.).** Tıbbi Mikrobiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2010: 243-5.
3. **Robert C, Moellering JR.** *Enterococcus species, Streptococcus bovis and Leuconostoc species*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000: 2147-66. PMID:11023964 PMCID:88957
4. **Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG.** Vancomycin resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13:686-707. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.13.4.686-707.2000>
5. **Vural T, Şekercioğlu AO, Ögünç D ve ark.** Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *ANKEM Derg* 1999; 13:1-4.
6. **Öngen B, Gürler N, Akova M, et al.** First report of the clinical isolation of vancomycin resistant *E. faecalis* in Turkey. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7(Suppl 1):S92. PMID:11294702 PMCID:2631700
7. **Rice LB.** Emergence of vancomycin resistant enterococci. *Emerging Infectious Diseases* 2001; 7:183-7. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0702.010205> PMID:9836840
8. **Christenson JC, Korgenski EK, Jenkins E, Daly JA.** Detection of vancomycin resistant enterococci colonization in a children's hospital. *Am J Infect Control* 1998; 26:569-71. <http://dx.doi.org/10.1053/ic.1998.v26.a93115> PMID:12562693
9. **Brown DFJ, Walpole E.** Evaluation of selective and enrichment media for isolation of glycopeptide resistant enterococci from faecal specimens. *J Antimicrob Chemother* 2003; 5:289-96. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg076> PMID:19001673
10. **Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A.** Enterococcal infections and antimicrobial resistance. *Indian J Med Res* 2008; 128:111-21. PMID:10203501 PMCID:84795
11. **Ieven M, Vercauteren E, Descheemaeker P, Laer F, Goossens H.** Comparison of direct plating and broth enrichment culture for the detection of intestinal colonization by glycopeptide-resistant enterococci among hospitalized patients. *J Clin Microbiol* 1999; 37:1436-40. PMID:15071018 PMCID:387614
12. **Novicki TJ, Schapiro JM, Ulness BK et al.** Convenient selective differential broth for isolation of vancomycin-resistant *Enterococcus* from fecal material. *J Clin Microbiol* 2004; 42:1637-40. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.4.1637-1640.2004>
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 18th informational supplement, M100-S18. Wayne PA: CLSI, 2008.
14. **Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop G, Schreckenberger PC, Woods G.** Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. New York: Lippincott 2006.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance: recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *Am J Infect Control* 1995; 23:87-94. [http://dx.doi.org/10.1016/0196-6553\(95\)90104-3](http://dx.doi.org/10.1016/0196-6553(95)90104-3) PMID:17329453 PMCID:1865861
16. **Ledeboer NA, Das K, Eveland M, et al.** Evaluation of a novel chromogenic agar medium for isolation and differentiation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolates. *J Clin Microbiol* 2007; 45:1556-60. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02116-06> PMID:8904453 PMCID:228885
17. **Landman D, Quale JM, Oydna E, et al.** Comparison of five selective media for identifying fecal carriage of vancomycin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 1996; 34:751-2.