

# Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Vankomisin Dirençli Enterokokların Antibiyotik Duyarlılıkları

Neval AĞUŞ, Mümtaz Cem ŞİRİN, Nisel YILMAZ, Pınar ŞAMLIOĞLU, Yeşer KARACA DERİCİ, Sevgi YILMAZ HANCI, Arzu BAYRAM

İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı

## ÖZET

**Amaç:** Vankomisin dirençli enterokoklar, son yıllarda giderek artan bir sıklıkla izole edilen ve çoklu ilaç dirençleri nedeniyle ciddi enfeksiyonlara yol açabilen önemli bir nosokomiyal enfeksiyon etkenidir. Bu çalışmada, 2011-2014 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen vankomisin dirençli enterokok suşlarının servislere, yaşa, örneklere göre dağılımı ve diğer antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Suşların tür tanımlamaları ve antibiyotik duyarlılık testleri, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, VITEK 2 compact otomatize sistemi (bioMérieux, Fransa) ile yapılmıştır. Vankomisin, teikoplanin ve linezolid direnci E-test yöntemi (bioMérieux, Fransa) ile de test edilmiştir.

**Bulgular:** Vankomisine dirençli olarak saptanan 139 enterokok suşunun 126'sı (%91) *Enterococcus faecium*, 13'ü (%9) *Enterococcus faecalis* olarak tanımlanmıştır. Suşların büyük bir kısmı idrar örneklerinden (%60) elde edilmiştir. İzolatların %50'sinin yoğun bakım ünitesinden, %63'ünün 60 yaş ve üzeri hastalardan üretilmiş olduğu ve yaş ile birlikte VRE görülme sıklığının arttığı belirlenmiştir. Vankomisin dirençli enterokokların ampisiline %98, siprofloksasine %97, yüksek düzey gentamisine %90, yüksek düzey streptomisine %98, teikoplanine %94 ve linezolide %6.5 dirençli olduğu saptanmıştır.

**Sonuç:** İzole ettiğimiz vankomisin dirençli enterokoklarda yüksek oranda ampisilin, siprofloksasin, yüksek düzey gentamisin, yüksek düzey streptomisin ve teikoplanin direnci görülmüştür. Diğer çalışmalarla kıyaslandığında linezolid direncimiz yüksek bulursa da linezolidin hastanemizde üretilen vankomisin dirençli enterokoklara karşı en etkili antibiyotik olduğu saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Antibiyotik direnci, *Enterococcus* spp, vankomisin dirençli enterokoklar

## SUMMARY

**Antibiotic Susceptibilities of Vancomycin-Resistant Enterococci Isolated from Various Clinical Specimens**

**Objective:** Vancomycin-resistant enterococci (VRE) which are important nosocomial agents, are frequently isolated at an increasing rate in recent years and they can lead to serious infections which are difficult to treat due to multi-drug resistance. The aim of this study was to determine the distribution of VRE strains isolated from various clinical specimens between the years 2011 and 2014 according to services, age, specimens and to investigate the susceptibilities to the other antibiotics.

**Materials and Methods:** Identification and antibiotic susceptibility testing of the strains were performed using VITEK 2 compact automated system (bioMérieux, France) in Medical Microbiology Laboratory of Tepecik Training and Research Hospital, İzmir, Turkey. Vancomycin, teicoplanin and linezolid resistance was also tested by the E-test method (bioMérieux, France).

**Results:** Of the 139 VRE strains, 126 (91%) were identified as *Enterococcus faecium* and 13 (9%) as *Enterococcus faecalis*. Most of the strains were obtained from urine specimens (60%). It was determined that 50% of the isolates were obtained from intensive care unit and 63% of that were obtained from patients who were 60 years and older. It was observed that the incidence of VRE was increasing with age. The antibiotic resistance rates of VRE were determined as 98% for ampicillin, 97% for ciprofloxacin, 90% for high level gentamicin, 98% for high level streptomycin, 94% for teicoplanin and 6.5% for linezolid.

**Conclusion:** High rate of ampicillin, ciprofloxacin, high level gentamicin, high level streptomycin and teicoplanin resistance was observed in the VRE isolates studied. Although the rate of linezolid resistance was found to be higher in comparison to the previous data, linezolid was determined as the most effective antibiotic against VRE isolates in our hospital.

**Key words:** Antibiotic resistance, *Enterococcus* spp, vancomycin-resistant enterococci

Alındığı tarih: 09.03.2015

Kabul tarihi: 21.04.2015

Yazışma adresi: Mümtaz Cem Şirin, Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konak / İzmir

e-posta: drmcemsirin@yahoo.com

## GİRİŞ

Vankomisin dirençli enterokok (VRE) kökenleri, tüm dünyada nozokomiyal enfeksiyonların etiyojisinde önemli yer tutmakta olup, özellikle kritik hastalarda çoklu ilaç dirençleri nedeniyle ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır<sup>(1)</sup>.

İlk VRE suşları, 1988 yılında İngiltere ve hemen ardından Fransa'dan bildirilmiştir<sup>(2,3)</sup>. Birçok Avrupa ülkesinden ve Kuzey Amerika'dan enterokoklarda glikopeptid direncinin hızla arttığı rapor edilmektedir<sup>(4)</sup>. Türkiye'de ise ilk VRE suşu Antalya'da, 1998 yılında Vural ve ark.<sup>(5)</sup> tarafından saptanmıştır.

Bu çalışmanın amacı, hastanemizde üretilen VRE'lerin servislere, yaşa ve örneklerle göre dağılımı ile diğer antibiyotiklere direnç durumlarının araştırılmasıdır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, Ocak 2011-Aralık 2014 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 139 VRE suşu çalışmaya dâhil edilmiştir. Laboratuvarımıza gönderilen örnekler kanlı agar ve EMB agar (Salubris, Türkiye) besiyerlerine ekilmiş, 35°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Kanlı agarda gram pozitif koloni morfolojisine sahip, katalaz testi negatif, safralı eskülin besiyerinde siyahlık oluşturan, %6.5'lik NaCl içeren besiyerinde üreyen gram pozitif koklar *Enterococcus* spp. olarak tanımlanmış olup, tür tanımlamaları ve antibiyogramları VITEK 2 compact tam otomatize identifikasyon cihazında (bioMérieux, Fransa) yapılmıştır. Vankomisin, teikoplanin ve linezolid direnci E-test (bioMérieux, Fransa) yöntemi ile de test edilmiştir. Vankomisin için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri  $\geq 32$  µg/mL olanlar dirençli olarak kabul edilmiştir. Teikoplanin için MİK değeri  $\leq 8$  µg/mL

olanlar duyarlı, 16 µg/mL orta duyarlı,  $\geq 32$  µg/mL dirençli, linezolid için MİK değeri  $\leq 2$  µg/mL olanlar duyarlı, 4 µg/mL orta duyarlı,  $\geq 8$  µg/mL dirençli olarak kabul edilmiştir<sup>(6)</sup>. Kontrol için *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 standart suşu kullanılmıştır. Aynı hastadan birden fazla olan üremelerden yalnızca bir tanesi çalışmaya dâhil edilmiştir.

## BULGULAR

Vankomisin dirençli olarak saptanan 139 enterokok suşunun 126'sı (%91) *E. faecium*, 13'ü (%9) *E. faecalis* olarak saptanmıştır. İzolatların kliniklere göre dağılımı incelendiğinde 70'inin (%50) yoğun bakım ünitesi (YBÜ), 13'ünün (%10) poliklinik, 56'sının (%40) diğer yataklı servislere geldiği görülmüştür. Hastaların 83'ü (%60) kadın, 56'sı (%40) erkek olup, 88 (%63) hasta 60 yaş ve üzeri, 32 (%23) hasta 40-59 yaş grubu, 16 (%12) hasta 20-39 yaş grubu, 3 (%2) hasta 19 yaş altında bulunmuştur.

Enterokokların 84'ü (%60) idrar, 26'sı (%19) kan, 15'i (%11) yara, 13'ü (%9.3) transtrakeal aspirat ve 1'i (%0.7) BOS örneklerinden izole edilmiştir. VRE'lerin diğer antibiyotiklere direnç oranları Tablo 1'de gösterilmiştir. VRE'lerin tümünde vankomisin E-test değerleri 256 µg/mL'nin üzerinde bulunmuştur. Teikoplaninde en yüksek ve en düşük MİK değerleri sırasıyla 256 ile 16 µg/mL olup MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değeri 64 ile 256 µg/mL bulunmuştur (Tablo 2). Sekiz (%6) VRE suşunun, teikoplanin MİK değeri 16 µg/mL olarak saptanmış olup, orta duyarlı olduğu görülmüştür. VRE suşlarının %94'ünün teikoplanine dirençli olduğu saptanmıştır. Linezolid için en yüksek ve en düşük MİK değerleri sırasıyla 12 ile 0.047 µg/mL olup, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değeri 0.75 ile 4 µg/mL bulunmuştur (Tablo 2). Dokuz (%6.5) VRE suşunun, linezolid MİK değeri 4 µg/mL olarak saptanmış olup orta duyarlı olduğu görülmüştür. VRE suşlarının %6.5'inin linezolide dirençli olduğu saptanmıştır.

**Tablo 1. Vankomisin dirençli enterokokların (n=139) diğer antibiyotiklere direnci (% direnç).**

	Ampisilin	Siprofloksasin	Gentamisin*	Streptomisin*	Teikoplanin	Linezolid
Dirençli suş (n)	136	135	125	136	131	9
Direnç oranı (%)	98	97	90	98	94	6.5

\*yüksek düzey

**Tablo 2. Vankomisin dirençli enterokokların vankomisin ve teikoplanin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri.**

	MİK aralığı (µg/mL)	MİK <sub>50</sub> (µg/mL)	MİK <sub>90</sub> (µg/mL)
Vankomisin	>256	256	256
Teikoplanin	16-256	64	256
Linezolid	0.047-12	0.75	4

## TARTIŞMA

VRE'lar tüm dünyada en önemli nozokomiyal enfeksiyon etkenlerindedir ve çoklu ilaç direnci nedeniyle tedavide ciddi sorunlara yol açarlar. Klinik örneklerden üretilen enterokokların çoğu *E. faecalis* iken, VRE'ların büyük çoğunluğu *E. faecium* olarak belirlenmektedir. VRE'ye bağlı nozokomiyal enfeksiyon riskinin özellikle YBÜ'lerinde giderek arttığı belirtilmektedir<sup>(1,7)</sup>. Çalışmamızda da VRE'ların %91'i *E. faecium* olarak belirlenmiş olup, bunların %50'sinin YBÜ'lerinden geldiği, %63'ünün 60 yaş ve üzeri hastalardan üretilmiş olduğu ve yaş ile birlikte VRE görülme sıklığının arttığı belirlenmiştir. Bunun; yaş ilerledikçe immün direncin azalması, immün direnci düşük ve ağır hastaların YBÜ'de yatması ve YBÜ'de kolonizasyon olasılığının yüksek olmasına bağlı olduğu düşünülmüştür.

Enterokoklar en sık üriner sistem enfeksiyonlarına yol açarlar ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarında en sık idrar kültürlerinden izole edilirler<sup>(8)</sup>. Bu çalışmada da VRE'ların %60'ı idrar örneklerinden üretilmiştir.

Antibiyotik duyarlılık sonuçlarımız incelendiğinde ampisiline %98, siprofloksasine %97, yüksek düzey gentamisin (YDG)'e %90, yüksek

düzye streptomisin (YDS)'e %98, teikoplanine %94, linezolide %6.5 oranında direnç olduğu görülmüştür (Tablo 2). Aslan ve ark.<sup>(9)</sup> klinik örneklerden izole ettikleri 50 VRE suşunda ampisiline %100, YDG'e %94, YDS'e %96, linezolide %0 direnç saptamışlardır. Karakeçe ve ark.<sup>(10)</sup> rektal sürüntü örneklerinden izole ettikleri 48 VRE'de siprofloksasine %70.8, YDG'e %54.2, YDS'e %66.7, teikoplanine %100 direnç saptamışlardır. "Türkiye Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyansı 2011 Raporu"nda klinik örneklerden izole edilen 87 *E. faecium* suşunda ampisiline %98.5, YDG'e %75.6, YDS'e %46.7, teikoplanine %95.3, linezolide %2.8 direnç bildirilmiştir<sup>(11)</sup>. Ülkemizde linezolidin kullanım onayını almasından hemen sonra Aktaş ve ark.<sup>(12)</sup> 2006-2007 yıllarında rektal sürüntü kültürlerinden izole ettikleri 100 VRE suşunun mikrodilüsyon yöntemiyle 66'sının linezolide orta duyarlı, 2'sinin linezolide dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Çakırlar ve ark.<sup>(13)</sup> 2009-2013 yılları arasında izole ettikleri vankomisine dirençli *E. faecium* suşlarında, disk difüzyon yöntemiyle linezolide %40 direnç saptamışlardır. Yurt dışında yapılan araştırmalar incelendiğinde, 2003 yılında ABD ve Kanada'da yapılan SENTRY surveyans çalışmasında linezolid direnci vankomisin dirençli *E. faecium* suşlarında %0.8, vankomisin dirençli *E. faecalis* suşlarında ise %1.8 oranında saptanmıştır<sup>(14)</sup>. 2011 yılında Latin Amerika ülkelerinde yapılan çok merkezli bir çalışmada, linezolide orta duyarlı ve dirençli enterokok suşu oranı Pana-ma'da %13.3, Brezilya'da %2.9 olarak bildirilmiştir<sup>(15)</sup>. Oh ve ark.<sup>(16)</sup> 58 VRE'de ampisiline %100, YDG'e %53, YDS'e %39, teikoplanine %74, linezolide %0 direnç saptamışlardır. Sonuçlarımızın diğer VRE sonuçları

na genel olarak benzer olduğu, ancak siprofloksasin ve linezolid direncimizin daha yüksek olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin hastanemizin İzmir ilindeki büyük hastanelerden biri ve bölge sevk zincirinin son noktası olması, buna bağlı olarak bu tür ilaçların yoğun olarak kullanılıyor olmasına bağlı olduğu düşünülmüştür.

Enterokoklarda VanA ve VanB olmak üzere iki esas fenotipik direnç mekanizması rol oynamaktadır<sup>(17)</sup>. VanA fenotipi vankomisin (MİK:  $\geq 64$ -1000  $\mu\text{g/mL}$ ) ve teikoplanine (MİK:  $\geq 16$ -512  $\mu\text{g/mL}$ ) karşı yüksek düzeyde indüklenbilir dirence yol açması ile tanımlanır. VanB tipi vankomisin direnci ise orta düzeyde olup, dirençli bakteriler vankomisine dirençli (MİK: 4-1000  $\mu\text{g/mL}$ ) ancak teikoplanine duyarlıdır (MİK: 0.5-1  $\mu\text{g/mL}$ )<sup>(18)</sup>. Yurdumuzda saptanan ilk VRE suşunun ve ilk VRE salgınının VanA tipi dirençli olduğu bulunmuştur<sup>(5,19)</sup>. VRE bildiriminde bulunan araştırmaları incelediğimizde, klinik örneklerden izole edilen ve fenotip çalışması ve moleküler çalışma yapılan suşların hemen hepsinin *E. faecium* VanA tipinde olduğunu görülmektedir<sup>(5,9,10,20-23)</sup>. Çalışmamızdaki VRE'lar fenotipik olarak MİK değerlerine göre VanA tipi dirençli görünmektedir. Ancak, genotipik direnç tipinin saptanabilmesi için bu sonuçların moleküler testlerle doğrulanması gereklidir. Laboratuvarımızda moleküler testlerle vankomisin direnci bakılmadığı için bu doğrulama yapılamamıştır.

Sonuç olarak, hastanemizde üretilen VRE'larda ampisilin, siprofloksasin, YDG, YDS ve teikoplanine yüksek oranda direnç olduğu görülmüştür. Hastanemizde üretilen VRE'lara en etkili ilaç linezolid olarak saptanmıştır. Özellikle 60 yaş üzeri ve yoğun bakım hastalarında saptanan VRE enfeksiyonlarının antibiyotik seçiminde hastanelerin kendi antibiyotik duyarlılık profiline saptanmasının yaşam kurtarıcı olabileceği düşünülmüştür.

## KAYNAKLAR

1. Murray BE. Vancomycin-resistant enterococcal infections. *N Engl J Med* 2000; 342:710-21. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200003093421007>
2. Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin resistant enterococci. *Lancet* 1988; 1(8575-6):57-8.
3. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 1988; 319:157-61. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM198807213190307>
4. Yenişehirli G, Bulut Y. Yoğun bakım ünitesinden üretilen enterokok suşlarında antibiyotik direnci. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2006; 26:477-82.
5. Vural T, Şekercioglu AO, Ögünç D ve ark. Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *ANKEM Derg* 1999; 13:1-4.
6. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-fourth Informational Supplement M100-S24, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
7. Moellering RC Jr. *Enterococcus species, Streptococcus bovis* and *Leuconostoc species*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone, 2005: 2411-21.
8. Rosa RG, Schwarzbald AV, Dos Santos RP, Turra EE, Machado DP, Goldani LZ. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* Bacteremia in a tertiary care hospital: epidemiology, antimicrobial susceptibility, and outcome. *BioMed Res Int* 2014; 2014:958469. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/958469>
9. Aslan S, Öztürk C, Delialioğlu N, Emekdaş G. Klinik örneklerden izole edilen enterokokların vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılması. *Mersin Üniv Sağlık Bilim Derg* 2012; 5:14-8.
10. Karakeçe E, Çiftçi İH, Aşık G. Vankomisin dirençli enterokoklarda direncin moleküler yöntemlerle araştırılması. *ANKEM Derg* 2013; 27:135-9.
11. Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyans Sistemi 2011 yıllık raporu. TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Kurumu Başkanlığı. [<http://uamds.thsk.gov.tr>], 2011.
12. Aktaş G, Bozdoğan B, Derbentli Ş. Linezolid ve dalbavansinin vankomisine dirençli enterokok suşlarına karşı in vitro aktivitesi. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46:359-65.
13. Cakirlar FK, Samasti M, Baris I, et al. The epidemiological and molecular characterization of vancomycin-resistant enterococci isolated from rectal swab samples of hospitalized patients in Turkey. *Clin Lab* 2014; 60:1807-12.
14. Deshpande LM, Fritsche TR, Moet GJ, Biedenbach DJ, Jones RN. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 58:163-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.12.022>
15. Jones RN, Guzman-Blanco M, Gales AC, et al. Susceptibility rates in Latin American nations: report from a regional resistance surveillance program (2011).

- Braz J Infect Dis* 2013; 17:672-81.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2013.07.002>
16. **Oh JY, An S, Jin JS, Lee YC, Cho DT, Lee JC.** Phenotypic and genotypic differences of the vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from humans and poultry in Korea. *J Microbiol* 2007; 45:466-72.
17. **Bell JM, Paton JC, Turnidge J.** Emergence of vancomycin resistant enterococci in Australia: phenotypic and genotypic characteristics of isolates. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2187-90.
18. **Çöleri A, Çökmüş C.** Enterokok türlerinde glikopeptid grubu antibiyotiklere direncin moleküler mekanizmaları ve gen aktarım yolları. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2008; 65:87-96.
19. **Colak D, Naas T, Gunseren F, et al.** First outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a tertiary hospital in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50:397-401.  
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkf134>
20. **Kilic A, Baysallar M, Bahar G, Kucukkaraaslan A, Cilli F, Doganci L.** Evaluation of the EVIGENE VRE Detection kit for detection of vanA and vanB genes in vancomycin resistant enterococci. *J Med Microbiol* 2005; 54:347-50.  
<http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.45789-0>
21. **Arslan U, Demir E, Oryaşın E ve ark.** Kan kültürlerinden izole edilen vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşlarının MLST tipleri. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47:432-41.  
<http://dx.doi.org/10.5578/mb.5085>
22. **Altun B, Cengiz AB, Kara A, et al.** First vancomycin-resistant blood isolate of *Enterococcus faecium* in a children's hospital and molecular analysis of the mechanism of resistance. *Türk J Pediatr* 2008; 50:554-8.
23. **Comert FB, Kulah C, Aktaş E, Ozlu N, Celebi G.** First isolation of vancomycin-resistant enterococci and spread of a single clone in a university hospital in northwestern Turkey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007; 26:57-61.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10096-006-0232-x>