

Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları

Denef BERZEG, Kadriye KART YAŞAR, Gönül ŞENGÖZ,
Semra BATI KUTLU, Özcan NAZLICAN

(*) SB Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

ÖZET

Mart 2004-Nisan 2005 tarihleri arasında Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen farklı klinik örneklerden izole edilen ve konvansiyonel biyokimyasal testlerle *Enterococcus* cinsi bakteri olarak tanımlanmış 50 suş, Mini API (Bio Merieux, Fransa) ile tür düzeyinde tanımlanmıştır.

İzole edilen 50 enterokok suşunun 25'i *E. faecalis*, 16'sı *E. faecium*, üçü *E. durans*, ikisi *E. gallinorum*, 2'si *E. casseliflavus*, biri *E. hirae* ve biri *E. avium* olarak belirlenmiştir.

Suşların penisilin, rifampisin, siprofloksasin, imipenem, teikoplanin ve vankomisin ve yüksek düzeyde gentamisin ve streptomisin duyarlılıkları disk difüzyon, vankomisin MİK değerleri E test yöntemiyle belirlenmiştir. Tüm suşlar için direnç oranları, penisiline %34, rifampisine %50, gentamisine %34, streptomisine %16, siprofloksasine %34, imipeneme %38 olarak saptanmıştır. Vankomisin için MİK aralığı 1-8 mcg/ml olarak bulunmuştur.

Dünyada yıllar içinde artan vankomisine dirençli enterokok(VRE) oranları gözönüne alındığında hastanemizde 1994 yılından itibaren glikopeptidler dahil çeşitli antibiyotiklerin kullanımının enfeksiyon hastalıkları uzmanlarının kontrolünde olması ve mikrobiyoloji laboratuvarımızın kısıtlı antibiyogram bildirme politikasının bu sonuçlar üzerinde etkili olduğu düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Enterokoklar, yüksek düzey aminoglikozit direnci, Vankomisin dirençli *Enterococcus* (VRE)

SUMMARY

Antibiotic Susceptibilities of *Enterococcus* Strains Isolated from Clinical Samples

Fifty *Enterococcus* strains isolated from different clinical samples sent to Haseki Training and Research Hospital's Clinical Microbiology Laboratory between March 2004 and April 2005 were identified by conventional methods and identified with Mini API (Bio Merieux, France) at species level.

Twentyfive of 50 *Enterococcus* strains were identified as *E. faecalis*, 16 as *E. faecium*, three as *E. durans*, two as *E. gallinorum*, two as *E. casseliflavus*, one as *E. hirae* and one as *E. avium*.

The susceptibilities of the strains to penicillin, rifampicin, ciprofloxacin, imipenem, teicoplanin, vancomycin and high level gentamicin and streptomycin were studied by disk diffusion method and vancomycin MIC values were determined by E-test method. The resistance rates of all strains were found as 34% for penicillin, 50% for rifampicin, 34% for gentamicin, 16% for streptomycin, 34% for ciprofloxacin and 38% for imipenem. The MIC values for vancomycin were between 1-8 mcg/ml.

Although there is an increasing ratio of vancomycin resistant enterococcus (VRE) all over the world, the results are low in our hospital, since to the protocols taken in our hospital, such as control of antibiotic prescriptions by infectious diseases specialists and limited antibiogram results given by our clinical microbiology laboratory.

Key words: *Enterococcus*, high level aminoglycoside resistance, Vancomycin resistant *Enterococcus* (VRE)

GİRİŞ

Enterokokların etken olarak nozokomiyal enfeksiyonlarda artan oranlarda görülmesinin yanısıra, gerek doğal olarak taşıdıkları klindamisin, florokinolon, trimetoprim-sülfometoksazol, düşük düzey penisilin ve düşük düzey aminoglikozit di-

renç özellikleri, gerekse genetik madde aktarımı veya mutasyonla kazandıkları tetrasiklin, eritromisin, rifampisin, kloramfenikol, nitrofurantoin, fusidik asit, yüksek düzeyde aminoglikozit (HLAR), beta laktam, florokinolon ve vankomisin dirençleri nedeniyle günümüzün problemleri

bakterileri arasında yer almaktadır (1). Diğer bir deyişle enterokok infeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilecek antibiyotik seçenekleri oldukça kısıtlıdır.

Özellikle son yıllarda sıklığı giderek artan vankomisine dirençli enterokoklar, günümüzün en sorunlu bakterileridir. Bu nedenle özellikle yoğun bakım ünitelerindeki hastalardan enterokok cinsi bakteri izole edildiğinde dikkatli olunmalı ve suşun, enterokok türleri arasında antibiyotik duyarlılığı farklılıklar gösterdiğinden, tür düzeyinde tanımlanmasının ardından vankomisin MİK değerlerine bakılarak tedavi yönlendirilmelidir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi infeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örnekten hastalık etkeni olarak izole edilen 50 enterokok suşu tür düzeyinde Mini APİ (Bio Merieux) ile isimlendirilmiştir. Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile NCCLS döküman M2A6 önerileri dikkate alınarak Mueller Hinton I agar (Difco) penisilin (Oxoid), rifampisin (Bioanalyse), siprofloksasin (Oxoid), imipenem (Oxoid), vankomisin (Oxoid), teikoplanin (Oxoid) diskleriyle ve yüksek düzey aminoglikozid (HLAR) varlığı da 120 mcg'lik gentamisin (Oxoid) ve 300 mcg'lik streptomisin (Oxoid) diskleri ile, vankomisin MİK değerleri ise E Test (AB Biodisk) ile araştırılmıştır.

BULGULAR

İzole edilen 50 enterokok suşununun 34'ü yatan hastalardan, 16'sı poliklinik hastalarından izole edilmiştir. Suşların 25'i *E. faecalis* (%50), 16'sı *E. faecium* (%32), üçü *E. durans* (%6), ikisi *E. gallinorum* (%4), biri *E. avium* (%2) ve biri *E. hirae* (%2) olarak tanımlanmıştır.

Enterokok izole edilen örneklerin çoğunu idrar (%48), kan (%24) ve cerrahi yara-abse (%20) oluşturmuştur. Enterokok suşlarının çoğu çocuk

(%30), dahiliye (%24) ve yoğun bakım (%14) kliniklerinden gönderilen idrar, kan ve yara-abse materyallerinden izole edilmiştir.

HLAR varlığını araştırdığımız suşlarımızın 17 tanesi gentamisine, 8 tanesi de streptomisine dirençli bulunmuştur. Suşların tür düzeyindeki yüksek düzey gentamisin (HLGR) ve streptomisin (HLSR) direnç oranları Tablo 1'de görülmektedir. Suşlarımızın hiçbirinde teikoplanin di-

Tablo 1. Suşların tür düzeyindeki HLGR ve HLSR oranları.

	HLGR		HLSR	
	Dirençli Suş sayısı	%	Dirençli Suş sayısı	%
<i>E. faecalis</i> (n=25)	4	16	3	12
<i>E. faecium</i> (n=16)	8	50	2	12,5
<i>E. durans</i> (n=3)	1	33,3	0	0
<i>E. gallinorum</i> (n=2)	2	100	0	0
<i>E. casseliflavus</i> (n=2)	1	50	1	50
<i>E. hirae</i> (n=1)	1	100	1	100
<i>E. avium</i> (n=1)	1	0	1	100
TOPLAM (n=50)	0	34	1	16

renci saptanmazken, dört suş E test yöntemiyle vankomisine orta derecede duyarlı bulunmuştur. Bu suşların çeşitli özelliklerine göre dağılımı Tablo 2'de görülmektedir.

E. faecalis suşlarının vankomisin için MİK aralığı 1-8, *E. faecium* suşları içinse 1-6 mcg/ml olarak bulunmuştur. Tüm suşların MİK 50 ve 90 değerleri sırasıyla 2 ve 4 mcg/ml olarak bulunmuştur.

Disk difüzyon yöntemi ile 50 enterokok suşunda çeşitli antibiyotiklere karşı saptanan direnç oranları tabloda gösterilmiştir. Beklendiği üzere

Tablo 2. Vankomisine orta derecede duyarlı bulunan suşların çeşitli özelliklerine göre dağılımı.

	Tür adı	Klinik	Materyal	Altta yatan hastalık	MİK
1.suş	<i>E. faecalis</i>	Dahiliye	Periton mayii	KBY	8 mcg/ml
2.suş	<i>E. faecalis</i>	Dahiliye	Abse	Diabetes	6 mcg/ml
3.suş	<i>E. faecalis</i>	Üroloji	İdrar	mellitus	6 mcg/ml
4.suş	<i>E. faecium</i>	Yoğun bakım	Kan	VUR	6 mcg/m

Tablo 3. Enterokok suşlarında disk difüzyon yöntemiyle saptanan antibiyotik direnç yüzdeleri.

	P	RF	GN	V	CIP	IMP	TP	SM
Tüm enterokoklar (n=30)	34	54	34	2	34	38	0	16
<i>E. faecalis</i> (n=25)	4	40	16	4	8	0	0	12
<i>E. faecium</i> (n=16)	62.5	62.5	50	0	62.5	87.5	0	13
<i>E. durans</i> (n=3)	33.3	33.3	33.3	0	33.3	0	0	0
<i>E. gallinarum</i> (n=2)	100	100	100	0	50	0	0	0
<i>E. casseliflavus</i> (n=2)	0	100	50	0	50	50	0	50
<i>E. hirae</i> (n=1)	0	0	0	0	0	100	0	100

P: Penisilin, **RF:** Rifampisin, **GN:** Gentamisin, **V:** Vankomisin, **CIP:** Siprofloksasin, **IMP:** İmipenem, **TP:** Teikoplanin, **SM:** Streptomisin

E. faecium suşlarında daha yüksek direnç oranları saptanmıştır.

Çalışmamızda 50 enterokok suşunun sadece birinde vankomisin için disk difüzyon ile inhibisyon zon çapı 13 mm (dirençli) bulunmuş, bu suşun E Test ile MİK değeri 3 mcg/ml olarak tespit edilmiştir. Vankomisin için E test ile MİK değerleri orta derecede duyarlı bulunan dört suştan ikisi disk difüzyon yöntemiyle de vankomisine orta derecede duyarlı iken, diğer ikisi hassas olarak saptanmıştır. Diğer 45 suş hem disk difüzyon hem de E test ile vankomisine duyarlı bulunmuştur. Suşlarımızın MİK aralığı 1 ile 8 mcg/ml olarak belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Nozokomiyal patojen olarak saptanan enterokokların çoğunluğunu (%80-90) *E. faecalis* oluşturur. *E. faecium* %5-10 ile ikinci sırada yer alırken diğer türlere daha az sıklıkta rastlanır (2).

İnsanlarda barsak florasının bir parçası olduğundan enterokoklar toplum ve hastane kökenli infeksiyonlar yapabilirler. Geleneksel olarak enterokoklarla meydana gelen infeksiyonların çoğunda etkenin hastanın kendi florasından kaynaklandığı düşünülür. Buna rağmen nozokomiyal infeksiyon yapan enterokoklar bazen hastane personelinin ellerinden ve sıklıkla da hastane içi çevresel kaynaklardan izole edilmiştir (2).

Suşlarımızın tür dağılımları literatürle karşılaştı-

rılmıştır. Bazı çalışmalarda *E. faecalis*'in daha baskın olduğu saptanmıştır (3-5). Çalışmamızda belirlenen bir hastane içi bulaş olmamıştır ve suşların hepsi sporadik olgulardan elde edilmiştir. Farklı çalışmalarda *E. faecalis* oranının beklenenden yüksek olması hastane içi bulaşlara bağlı olabilir.

VRE ile gelişen nozokomiyal infeksiyonların sıklığının 1989 ile 1993 arasında yaklaşık olarak 20 kat arttığı gösterilmiştir (% 0.3'ten % 7.9'a). 1995'te Avrupa'da yürütülen geniş ölçekli bir çalışmada 9 Avrupa ülkesinde VRE insidansı % 2.3 olarak saptanmıştır. 1995-1996'da ABD'de VRE oranı %14.4 olarak tahmin edilmiştir. Avrupa'da da *E. faecium*'da direnç oranı *E. faecalis*'ten 10 kat fazla bulunmuştur (1). Hastanelerin özellikle yoğun bakım ünitelerinde tüm türlerde VRE oranı %20'lere dek artmaktadır. VRE kolonizasyon veya infeksiyonuna predispozan faktörler; hastane ortamında antimikrobiyal tedavi alma süresi, İV vankomisin kullanımı, altta yatan ciddi hastalık varlığı, immünsüpresyon ve abdominal cerrahi geçirmiş olmak gibi faktörlerdir.

Öngen ve ark (6) tarafından bildirilen vankomisine dirençli *E. faecium* izole edilen hasta, crush sendromu nedeniyle YBÜ'de yatan ve sırasıyla sefazol + metronidazol, siprofloksasin + amikasin, seftazidim + vankomisin kullanan bir hasta idi. Çalışmamızda da vankomisine orta derecede duyarlı bulunan dört suşun izole edildiği hastaların ikisi penisilin, metronidazol ve siprofloksasin kullanmaktaydı. Antibiyotik ve özellikle vankomisin kullanımı, kolonizasyona ve infeksiyona zemin hazırladığı için önem taşır.

Yüksek düzey aminoglikozit direnci, streptomisine 50 suşun 8'inde (%16), gentamisine ise 17'sinde (%34) gözlemlendi. Yirmi beş *E. faecalis* suşunun 2'sinde (%8) HLGR, 1'inde (%7,14) HLSR saptadığımız çalışmamızda, 11 *E. faecium* suşunun 5'inde (%45,5) HLGR, 3'ünde (%12) HLSR saptandı. Çalışmamıza benzer olarak *E. faecium* suşlarında HLAR oranları benzer çalış-

malarda da daha yüksek olarak bulunmuştur (7-9).

Çalışmamızda 50 enterokokun sadece birinde vankomisin için disk difüzyon ile inhibisyon zon çapı 13 mm (dirençli) bulunmuş, bu suşun E Test ile MİK değeri 3 mcg/ml olarak tespit edilmiştir. Vankomisin için E test ile MİK değerleri orta derecede duyarlı bulunan dört suştan ikisi disk difüzyon yöntemiyle de vankomisine orta derecede duyarlı iken, diğer ikisi hassas olarak saptandı. Diğer 45 suş hem disk difüzyon hem de E test ile vankomisine duyarlı bulunmuştur. Suşlarımızın MİK aralığı 1 ile 4 mcg/ml olarak belirlenmiştir.

Ülkemizde VRE'lerin seyrek görülmesi de çalışmamızı destekler tarzdadır. Yine de son yıllarda ülkemizde glikopeptid dirençli enterokoklar 1998 yılından itibaren bildirilmeye başlanmıştır. 1998'de Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde ilk VRE suşu *E. faecium* olarak bildirilmiştir (10). Bunu 1999'da İstanbul Tıp Fakültesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi ve Ankara GATA'dan bildirilen suşlar izlemiştir (4, 6, 11).

VRE kolonizasyonu ve infeksiyonu gelişiminde en önemli risk faktörü vankomisin kullanımınıdır. Nitekim ABD'de VRE suşlarının hızla yayılmasının en önemli nedeni aşırı vankomisin kullanımını olmuştur. Bu nedenle vankomisin kullanım endikasyon alanı daraltılmıştır. Antibiyotiğe bağlı ishal olgularında primer ajan olarak kullanılmaması ve metronidazole cevap alınmayan ciddi vakalarda tercih edilmesi önerilmektedir.

Hastanemizde glikopeptidlerin kullanımını 1994 yılından itibaren infeksiyon hastalıkları uzmanlarınca kontrol edilmekte, hastane içinde de özellikle riskli bölgeler direnç açısından takip edilmektedir. Laboratuvarımızda 2001 yılı içinde çeşitli klinik örnekten izole edilen 30 enterokok suşu ile yapılan çalışmadaki sonuçlarla karşılaştırdığımızda, 2005 yılına gelindiğinde vankomisin direnci görülmesi bile MİK değerlerinin

yükseldiği saptanmıştır. 2001 yılındaki MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri ve MİK aralığı sırasıyla 1.5, 3 ve 0.125-4 mcg/ml iken; 2005 yılında sırasıyla 2, 4 ve 1-8 mcg/ml olmuştur (12). Görüldüğü gibi hastanemizde vankomisine dirençli enterokok suşu saptanmasa da vankomisin MİK değerleri yükselmiştir.

Glikopeptid antibiyotiklere dirençli enterokokların tedavisinde yeni ve etkili antibiyotik bulma çalışmaları devam etse de, sonuçta görünen, klinik kullanıma uygun bilinen tüm antibiyotiklere dirençli enterokoklarla karşı karşıya kalınabildiğidir. Buna yol açan en önemli faktörlerden biri de glikopeptid antibiyotiklerin uygunsuz kullanımınıdır. Bu yüzden, her hastanede izole edilen enterokokların tür düzeyinde isimlendirilmesi yapılmalı, antibiyotik duyarlılığı ve vankomisin için MİK değerleri belirlenmelidir. Duyarlı olduklarında birinci basamak antibiyotiklerle tedavi edilerek en önemli silahımız olan glikopeptidlerin gereksiz kullanılmaları önlenmelidir. Hastanelerin her önemli nozokomiyal patojen için olduğu gibi enterokoklar için de duyarlılık paterni dikkatle incelenmeli ve izlenmelidir.

KAYNAKLAR:

1. **Scott GMS:** Enterokoklarda Vankomisin Direnci İle Mücadele (2000).
2. **Moellering JC:** Enterococcus Species. "Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases" 5th ed, p 2147-2156, Churchill Livingstone, New York (2000).
3. **Şekercioğlu AO, Vural T, Çolak D, Ögünç D, Öngüt G:** Kan kültürlerinden izole edilen enterokok türlerinin antibiyotik duyarlılık ve yüksek düzey gentamisin dirençliliklerinin saptanması. *Ankem Derg* 12: 114 (1998).
4. **Torun MM, Bahar H, Altinkum S, Yüksel P:** Enterokoklarda yüksek düzey amiglikozit ve vankomisin direnci araştırılması. *Ankem Derg* 13: 105 (1999).
5. **Yüce A, Özkütük A, Gülay Z, Yuluğ N:** Enterokoklarda aminoglikozit ve vankomisin direncinin araştırılması.

ması. *Ankem Derg* 13: 105 (1999).

6. Öngen B, Gürler N, Esen F, Karayaz S, Töreci K: Glikopeptidlere ve denendiği bütün antibiyotiklere dirençli *E. faecium* suşu. *Ankem Derg* 13: 501 (1999).

7. Gökahmetoğlu S, Sümerkan B, Eşel D, Karagöz S: Kan kültürlerinden izole edilen enterokok suşlarının vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozit dirençlerinin araştırılması. *Ankem Derg* 13: 57 (1999).

8. Mirovic V, Citic J, Tomanovic B, Nonkovic Z: Antimicrobial resistance of enterococci from clinical specimens. *Clin Microbiol Infect* 6: 171 (2000).

9. Toutouza M, Skandami V, Poujiouko-Ber M, Fakiri H, Karabassi V, Komninou Z: Resistance phenotypes in enterococci isolated from clinical specimens during 3 year period. *Clin Microbiol Infect* 6: 394 (2001).

10. Vural T, Şekercioglu AO, Ögünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A, Ünal S, Kocagöz S, Mutlu G: Vankomisine dirençli *E. faecium* suşu. *Ankem Derg* 13: 1 (1999).

11. Başustaoglu A, Özyurt M, Beyaz C, Altun B, Aydoğan H, Haznedaroglu T, Ünal S, Yalçın A: Kan kültürlerinden izole edilen glikopeptid dirençli *E. faecium*. *Flora* 5: 142 (2000).

12. Yaşar KK, Alıcı Ö, Şengöz G, Nazlıcan Ö: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokokların antibiyotiklere duyarlılığı ve yüksek düzey aminoglikozit direncinin araştırılması [özet p 5]. 17. *Ankem Klinikler ve Tıp Bilimleri Kongresi Kitabı*, s. 103 (2002).