

YENİDOĞANLARDA VANKOMİSİN DİRENÇLİ ENTEROKOKLARIN FEKAL TAŞIYICILIĞI

Ayşe YÜCE¹, Meral KARAMAN², Zeynep GÜLAY²,
Nuran YULUĞ²

ÖZET

İnsan gastrointestinal sistem normal flora mikroorganizmaları olan enterokokların vankomisin dirençli kökenleri son yıllarda nosokomial infeksiyonlara neden olabilmektedir. Bu salgınlarda ise kaynak olarak sıklıkla mikroorganizmanın fekal taşıyıcılığı rol oynamaktadır.

Çalışmamızda yenidoğanlarda vankomisin dirençli enterokokların fekal taşıyıcılık oranını, bu taşıyıcılığın hangi faktörlerle etkilendiğini araştırmak amaçlanmıştır. Bunun için Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın izni alınarak toplanan 110 rektal sürüntü örneği enterokok yönünden incelenmiş, sekizinden vankomisin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) 8-64 µg/ml olan enterokoklar izole edilmiştir. Bu suşlara teikoplaninin MİK değerleri 2-32 µg/ml arasında bulunmuştur. Bu suşların izole edildiği olguların anamnezlerine bakıldığında düşük doğum ağırlığı, uzun süreli antibiyotik kullanımı gibi ortak risk faktörleri gözlenmiştir.

SUMMARY

Fecal carriage of vancomycin resistant enterococci in newborn.

Vancomycin resistant strains of enterococci, which are the members of human gastrointestinal systems flora, may lead to nosocomial infections in the recent years. The main source of these infections is usually fecal carriage of the microorganism.

The aim of our study is to establish the fecal transmission rate of vancomycin resistant enterococci in newborn and factors related with fecal carriage. By the help of the Department of Pediatrics of Dokuz Eylül University, 110 rectal swab specimens were examined to detect enterococci and eight strains were isolated for which minimal inhibitory concentrations (MICs) of vancomycin were 8-64 µg/ml. MICs of teicoplanin were 2-32 µg/ml for these strains. All patients carrying these strains had history of risk factors such as low birth weight or long term antibiotic therapy.

GİRİŞ

İnsan gastrointestinal sistem normal flora mikroorganizmaları olan enterokokların ağız boşluğu, safra yolları ve genitouriner sistemde kolonizasyon gösterdiği bilinmektedir (6). 1980'li yıllardan itibaren vankomisin dirençli enterokokların (Vancomycin-resistant enterococci; VRE) ortaya çıkışı ile birlikte bu mikroorganizma ile kolonize ya da infekte kişilerin bir rezervuar oluşturduğuna dikkat çekilmiş ve konuya verilen önem artmıştır (10).

* 13. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresinde sunulmuştur (1-5 Haziran 1998, Antalya).

Dokuz Eylül Üniversitesi, 1- Klinik Bakterioloji ve Infeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, 2- Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Inciraltı, İzmir.

Son yıllarda ABD ve Avrupa'da VRE'lar nozokomiyal salgın etkeni olarak görülebilmektedir. Tedavi seçeneklerinin kısıtlılığı, infeksiyonun yayılmaya doğal eğilimi, kontrol ve önleme tedbirlerinin yetersizliği de bu duruma olumsuz etki yapabilmektedir (16).

VRE'ların etken olduğu hastane kökenli infeksiyonlar, hastanın kendi florasından ve/veya epidemik bir suşun yayılımından kaynaklanabilmektedir. Buna karşın, hastane dışı infeksiyonlar; atık sularından ve sağlıklı kişilerin feçesinden köken almaktadır (11). Bunların yanısıra VRE'ların bir kaynağının da gıda zinciri olduğu belirtilmektedir (11).

VRE ile kolonizasyon ya da infeksiyon gelişimini etkileyen birçok faktör vardır. Bunlar arasında; hastanede yatma öyküsü, 3. kuşak sefalosporinlerin, oral ya da parenteral glikopeptid ajanların rastgele kullanımı, VRE ile infekte hastaların izolasyonunun eksikliği, rektal termometrelerin kullanımı, hastane personelinin yetersiz el yıkama alışkanlığı sayılabilir (1,3).

Çalışmamızda yenidoğanlarda VRE'ların fekal taşıyıcılık oranı ve bu taşıyıcılığın hangi faktörlerle etkilendiğinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Örnekler: Temmuz 1997 - Mart 1998 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın izni alınarak yenidoğan servisinde yatan 110 yenidoğanın rektal sürüntü örnekleri incelenmiştir.

VRE araştırması: Rektal sürüntü örnekleri, Stuart transport medium (Merck) içinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Bu sürüntüler 6 µg/ml vankomisin içeren Columbia colistin nalidixic acid agar (CNA; BBL) ve bile esculine azide agara (BEA; Difco) ekilmiş, BEA ortasına 30 µg vankomisin (Oxoid) diski yerleştirilmiş, 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir (1). Disk zonu içinde üreyen ve eskülini hidrolize eden kolonilerden Gram boyamada Gram pozitif kok görünümünde olup, katalaz testi negatif olanlar, % 6.5 NaCl içeren kanlı agarda üreme ve PYR (pyrrolidonyl-beta naphthylamide) testi pozitifliğine göre *Enterococcus* spp. olarak tanımlanmıştır (10).

Tür analizi: VRE'ların tür analizi Vitek otomatik bakteri identifikasyon sistemi (Bio-Merieux) ile yapılmıştır.

Duyarlılık testleri: Suşların vankomisin ve teikoplanine direnç durumları NCCLS kriterleri esas alınarak buyyonda mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır (13). Kalite kontrol suşu olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 110 rektal sürüntü örneğinin 8'inden (% 7) elde edilen VRE'ların 5'i *E. faecalis*, 2'si *E. faecium* ve 1'i *E. gallinarum* olarak tanımlanmıştır.

Bu suşlar için vankomisinin MİK'ları 2'sinde 8 µg/ml, 5'inde 16 µg/ml ve 1'inde 64 µg/ml; teikoplaninin MİK'ları ise 1'inde 2 µg/ml, 3'ünde 4 µg/ml, 3'ünde 8 µg/ml ve 1'inde 32 µg/ml olarak bulunmuştur. Olgulara ait özellikler ve MİK sonuçları tabloda belirtilmiştir.

Tablo. Dirençli enterokok suşları için vankomisin ve teikoplaninin MİK değerleri ve olgulara ait özellikler.

Suş	MİK (µg/ml)		Antibiyotik kullanımı		Doğum			VT	TPN
	VA	TEI	Antibiyotik	Süre (gün)	Haftası	Ağırlığı (g)	Şekli		
1. E. faecalis	16	8	SAM+CTX	10	29	1400	Nspd	+	+
2. E. faecium	8	8	SAM+CTX	10	40	3200	Nspd	-	-
3. E. faecium	16	8	SAM+CTX	10	39	2400	C/S	-	-
4. E. faecalis	64	32	SAM+CTX, VA+CAZ	10	28	1330	C/S	+	+
5. E. gallinarum	16	2	SAM+CTX	10	39	3400	C/S	-	-
6. E. faecalis	16	4	SAM+CTX	10	38	3300	Nspd	-	-
7. E. faecalis	16	4	SAM+CTX+IPM	10	34	2400	C/S	+	-
8. E. faecalis	8	4	SAM+CTX	10	37	2400	C/S	-	-

Kısaltmalar : SAM: Sulbaktam/ampisilin; CTX: Sefotaksim; CAZ: Seftazidim; IPM: İmipenem, VA: Vankomisin, TEI: Teikoplanin, Nspd: Normal spontan doğum; C/S: Cesariane/Sectio; TPN: Total parenteral nutrisyon, VT: Ventilasyon tedavisi.

TARTIŞMA

İnsan gastrointestinal sistem normal flora mikroorganizmaları olan enterokokların glikopeptid ajanlara karşı direnci günümüzde önemli bir problemdir. Kaplan ve arkadaşları (9) 1980'li yıllarda bu konuya dikkati çekmiş ve barsaktaki kolonizasyonun VRE infeksiyonunun bir habercisi olabileceğini belirtmişlerdir.

Yapılan çalışmalar normal intestinal mikroflorada dirençli bakterilerin ortaya çıkışı ile antimikrobiyal ajan kullanımı arasında korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalardan birinde Edlund ve arkadaşları (4), 20 sağlıklı gönüllüye peroral 1 hafta süreyle günde 2 kez 250 mg sefuroksim aksetil tablet ve bu gönüllülerden 10 tanesine ilave olarak peroral 1 hafta süreyle günde 4 kez vankomisin kapsül uyguladıklarını, 1 hafta sonra her iki grubun feçes örneklerini incelediklerinde birinci grupta ilaç öncesine göre enterokok türlerinin arttığını, anaerobik mikroflorada bifidobakterilerin ve laktobasillerin azaldığını gözlediklerini, buna karşılık ikinci grupta yine enterokok türleri artarken, vankomisin dirençli pediokokların floraya hakim olduğunu saptadıklarını bildirmişlerdir.

Birçok araştırmacı, sefalosporin ya da beta-laktam ajanlarla tedavilerin, oral ya da parenteral glikopeptid kullanımının, glikopeptid dirençli kolonizasyon ya da infeksiyon gelişimi için risk faktörü olduğu konusunda hemfikirdir (11). Gerding (8), *Clostridium difficile* ile ilişkili diyarenin tedavisinde vankomisin veya metronidazol kullanımının VRE gelişimine nasıl bir etkisi olduğunu tespit etmek amacıyla çeşitli ülkelerde, farklı yıllarda yapılan 18 çalışmayı derlemiş ve şu noktalara dikkat çekmiştir. Yapılan 18 araştırmadan 15'inde hem oral, hem de parenteral vankomisin kullanımının, VRE kolonizasyonu veya infeksiyonu ile anlamlı ilişki içinde olduğu, parenteral uygulama ile karşılaştırıldığında, oral vankomisin minör etkili olduğu görülmüştür. Yine 5 çalışmadan 4'ünde metronidazol ile karşılaşmış olmanın VRE gelişimi için risk faktörü olduğu belirtilmiştir.

Edmond ve arkadaşlarının (5) yaptığı bir çalışmada da metronidazol kullanımı, glikopeptid dirençli enterokok bakteriyemisi gelişiminde risk faktörü olarak gösterilmiş, bu ajanın barsaklardan anaerob florayı elimine ederek enterokok kolonizasyonunu kolaylaştırdığı belirtilmiştir.

Enterokoklar ve stafilokoklar başta olmak üzere Gram pozitif bakterilerin etken olduğu infeksiyonların sağaltımında en sık kullanılan glikopeptid ajan vankomisindir (2,11). Vankomisin, 1956 yılında kullanıma girmiş, ancak bu yıllarda preparatların saf olmaması

ve yan etkileri nedeniyle önemini yitirmiş, son yıllarda metisilin dirençli stafilokokların ortaya çıkışı ile yeniden dikkatleri üzerinde toplamıştır (2). Glikopeptid antibiyotikler Gram pozitif bakterilerin hücre duvarını oluşturan peptidlerin terminal D-ala-D-ala dizisine bağlanarak transglikozilasyon reaksiyonunu ve peptidoglikan oluşumunu inhibe ederek bakterisidal etki gösterirler (7). Enterokoklardaki vankomisin direnci üç değişik gruptur: Van A tipinde bakteriler hem vankomisin hem de teikoplanine dirençlidir ve bu direnç plazmidde kodlanır, transfer edilebilir. Van B direnci yalnız vankomisine düşük ya da yüksek düzeyde dirence neden olan kromozomal ve indüklenebilir bir dirençtir. Van C direnci ise yalnızca vankomisine düşük düzeyde direnç sağlar (15,18). Son zamanlarda tanımlanan Van D direnci *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerinde görülen vankomisine ılımlı düzeyde dirençli ve teikoplanine duyarlı ya da düşük düzeyde dirençli bir fenotiptir (7,11).

VRE'lara bağlı infeksiyon ilk kez 1988'de iki bildiri ile tanımlanmıştır. Ulttley (17), İngiltere'de 22 hastadan izole edilen 55 VRE suşu bildirmiştir. Fransa'da Leclercq ve arkadaşları (12) hem vankomisine hem de teikoplanine dirençli iki *E. faecalis* suşu bildirmişlerdir. Günümüzde bu oranlar oldukça artmıştır. CDC (Hastalık Kontrol Merkezi) Ulusal Nozokomiyal İnfeksiyon Tarama sistemine bildirilen verilere göre, 1989'dan (% 0.3) 1993 ortalarına kadar (% 7.9) VRE ile ilgili hastanede edinilmiş infeksiyon yüzdesinde 20 kat artış olduğu bildirilmektedir. Bu suşların pek çoğu eldeki bütün antimikrobik ajanlara dirençliydi. Yoğun bakım birimlerindeki hastalar arasında, VRE'dan kaynaklanan hastanede edinilmiş infeksiyonlar 1989'da % 0.4'ten, 1993'te % 13.6'ya yükselmiştir (14).

Ülkemizde henüz VRE kolonizasyonu ve infeksiyonu ile ilgili kesin rakamlar mevcut olmamakla birlikte, bu konuda yapılan çalışmaların sayısı artmaktadır. Son olarak Vural ve arkadaşları (19) plevra sıvısından izole ettikleri vankomisine dirençli bir *E. casseliflavus* suşunu bildirmişlerdir.

Yenidoğanlarda VRE'ların fekal taşıyıcılığını araştırmak amacıyla yaptığımız çalışmada, VRE infeksiyonu ya da kolonizasyonu için tanımlanan risk faktörleri gözlemlenmiştir. Buna göre olguların tamamında hastanede uzun süre yatma öyküsü mevcuttu. 7 olguda sulbaktam-ampisilin (SAM) ile kombine sefotaksim (CTX) kullanımı, MİK değeri 64 µg/ml olan suşun izole edildiği olguda ise ilave olarak vankomisin ve seftazidim (VA+CAZ) kullanımı mevcuttu (Tablo). Bulgularımız VRE kolonizasyonu veya infeksiyonu açısından tanımlanan risk faktörleri ile uyumluydu.

Özellikle son yıllarda oluşturdukları infeksiyonların sağaltımları sorun olan mikroorganizmalar arasında VRE'lar önemli bir yer almaktadır. Bu nedenle antimikrobiyal ajanlar kullanılırken daha dikkatli bir yaklaşım ile her hastanenin belirli antibiyotik kullanım protokolleri uygulama gerekliliğini bir kez daha vurgulamak istedik. Bunların yanısıra, hastane personelinin eğitimi, kan ve steril vücut sıvılarından elde edilen tüm enterokok izolatlarının rutin testlerinin yapılması, eğer VRE tanımlanmışsa genel taramaların yapılması ve VRE ile kolonize ya da infekte tüm olguların izolasyonunun sağlanması konularına gerekli önem verilmelidir.

KAYNAKLAR

- 1- 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).
- 2- Çetinkaya Y, Ünal S: Glikopeptid antibiyotikler: Vankomisin ve teikoplanin, *Flora* 2 (1 Ek): 3 (1997).

- 3- Dembry LM, Uzokwe K, Zervos MJ: Control of endemic glycopeptide resistant enterococci, *Infect Control Hosp Epidemiol* 17: 286 (1996).
- 4- Edlund C, Barkholt L, Olsson-Liljequist B, Nord CE: Effect of vancomycin on intestinal flora of patients who previously received antimicrobial therapy, *Clin Infect Dis* 25: 729 (1997).
- 5- Edmond MB, Ober JF, Weinbaum DL: Vancomycin - resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: risk factors for infection, *Clin Infect Dis* 20: 1126 (1995).
- 6- Fekety R: Vancomycin and teicoplanin, "Mandell GL, Douglas RB, Bennett JE (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4th ed" kitabında s. 347, Churchill Livingstone, New York (1995).
- 7- French GL: Enterococci and vancomycin resistance, *Clin Infect Dis* 27: 75 (1998).
- 8- Gerding DN: Is there a relationship between vancomycin-resistant enterococcal infection and *Clostridium difficile* infection? *Clin Infect Dis* 25: 206 (1997).
- 9- Kaplan AH, Gilligan PH, Facklam RR: Recovery of resistant enterococci during vancomycin prophylaxis, *J Clin Microbiol* 26: 1216 (1988).
- 10- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Win WC: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed, s. 577, Lippincott, New York (1997).
- 11- Leclercq R, Courvalin P: Resistance to glycopeptides in enterococci, *Clin Infect Dis* 24: 545 (1997).
- 12- Leclercq R, Dutka-Malen S, Brisson-Noel A, Molinas C, Derlot E, Arthur M, Duval J, Courvalin P: Resistance of enterococci to aminoglycosides and glycopeptides, *Clin Infect Dis* 15: 495 (1992).
- 13- National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically*, 4th ed, Vol. 17, No. 2, Approved Standard M7-A4, NCCLS, Wayne Pa (1997).
- 14- Nosocomial enterococci resistant to vancomycin, *MMWR* 42: 597 (1993).
- 15- Özinel MA: Gram olumlu bakteri infeksiyonlarında florokinolon ve glikopeptidler, *ANKEM Derg* 11: 251 (1997).
- 16- Rao GG, Ghanekar K, Ojo F: Selective medium for screening for vancomycin-resistant enterococci in faeces, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 15: 175 (1996).
- 17- Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J: Vancomycin resistant enterococci, *Lancet* 1: 57 (1988).
- 18- Vincent S, Minkler P, Binczewski B: Vancomycin resistance in *Enterococcus gallinarum*, *Antimicrob Agents Chemother* 36: 1392 (1992).
- 19- Vural T, Şekercioğlu AO, Öğünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A, Kocagöz S, Ünal S, Mutlu G: Vankomisine dirençli *Enterococcus casseliflavus* suşu, *ANKEM Derg* 12: 113 (1998).