

HASTANE KÖKENLİ *ENTEROCOCCUS FAECALIS* VE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* SUŞLARINDA ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ

Hörü GAZİ, Semra KURUTEPE, Süheyla SÜRÜCÜOĞLU, Talat ECEMİŞ, Beril ÖZBAKKALOĞLU

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MANİSA

ÖZET

Bu çalışmanın amacı 2000-2003 yıllarında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde yatan hastaların, çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarında antibiyotik direnç oranlarını belirlemektir. İzole edilen enterokok suşlarında ampisilin, penisilin, vankomisin, teikoplanin, siprofloksasin, levofloksasin ve yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) araştırılmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile teikoplanine ve vankomisine dirençli bulunan suşlarda minimal inhibitör konsantrasyon değerleri E-test yöntemi ile belirlenmiştir. Test edilen 123 suşun % 46'sı penisilin ve ampisiline, % 41'i siprofloksasine, % 22'si levofloksasine ve % 22'si gentamisine dirençli bulunmuştur. YDGD bulunan 27 suşun 14'ü ampisiline de dirençli bulunmuştur. Sadece bir *E. faecium* suşu vankomisine ve teikoplanine dirençli bulunmuş ve direnç fenotipi Van A olarak yorumlanmıştır. Test edilen suşlarda beta-laktamaz aktivitesi saptanmamıştır. Hastanemizdeki yüksek düzeyde gentamisin dirençli suşlarda ampisilin direncinin de yüksek bulunması, ciddi enterokok infeksiyonlarında glikopeptidlerin empirik tedavide dikkate alınabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar sözcükler: antibiyotik direnci, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, hastane infeksiyonu

SUMMARY

Antimicrobial Resistance in Nosocomial *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Strains

The aim of this study was to determine the antimicrobial resistance rates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated from various clinical specimens during 2000-2003 years from patients hospitalized in Celal Bayar University. The resistance of enterococci to ampicillin, penicillin, vancomycin, teicoplanin, ciprofloxacin, levofloxacin, and high level resistance to gentamicin were investigated. Minimum inhibitory concentrations were determined by E-test for all isolates showing decreased susceptibility to vancomycin and teicoplanin by the disk diffusion method. The resistance rates of the 123 isolates for penicillin and ampicillin, ciprofloxacin, levofloxacin, and gentamicin were 46 %, 41 %, 22 % and 22 %, respectively. Fourteen of the 27 strains with high level resistance to gentamicin were also resistant to ampicillin. Only one strain of *E. faecium* was found to be resistant to vancomycin and teicoplanin, and resistance phenotype was interpreted as Van A. Beta-lactamase production was not detected in any strain. The high rate of resistance to ampicillin together with high level of gentamicin resistance in strains isolated in our hospital supports that glycopeptides can be considered in empirical treatment of serious enterococcal infections.

Key words: antibiotic resistance, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, nosocomial infection

Yazışma adresi: Hörü Gazi, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MANİSA

Tel:(0236) 233 19 20/1216

e-posta:horugazi@hotmail.com

Alındığı tarih: 23.01.2004, revizyon kabulü:10.02.2004

GİRİŞ

Son yıllarda dikkatlerin enterokoklar üzerine yoğunlaşmasının nedeni sadece hastane infeksiyonlarına yol açmaları değil, aynı zamanda birçok antibiyotiğe karşı belirgin ve artan derecede direnç kazanmalarıdır. Enterokoklar, bazı antimikrobik maddelere intrinsek olarak dirençli, bazı antimikrobiklere karşı ise kazanılmış dirence sahiptir. İntrinsek direnç yanında, kazanılmış direnç genlerinin de aynı bakteride bulunabilmesi, ciddi infeksiyonların tedavisinde zorluklara neden olmaktadır. Günümüzde enterokoklarda en kaygı verici direnç glikopeptid direncidir. Vankomisine dirençli suşların çoğunlukla diğer antimikrobiyal ajanlara da dirençli bulunması tedavide büyük güçlükler yaratmış ve fatal seyreden infeksiyonlara neden olmuştur⁽⁴⁾. Ülkemizde yapılan araştırma sonuçları, enterokok suşlarında antibiyotik direncinin gözardı edilemeyecek düzeyde olduğunu göstermektedir^(5, 13).

Bu çalışmanın amacı hastanemizde izole edilen hastane kökenli enterokok suşlarında antimikrobiyal direnç oranlarını belirlemek ve bu konuda yapılan araştırma sonuçlarına katkıda bulunmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmada Ocak 2000-Mart 2003 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve hastane infeksiyonu etkeni olarak tanımlanan 123 enterokok suşu incelenmiştir.

Bakterilerin izolasyonu: Koyun kanlı agara (Oxoid) ve MacConkey agara (Oxoid) yapılan ekimler % 5-10 CO₂'li ortamda 35°C'de 24-48 saat enkübe edilmiştir. Enkübasyon sonunda Gram pozitif kok görünümünde, katalaz testi negatif, PYR (pyrrolidonyl aryl amidase) testi olumlu koloniler ileri incelemeye alınmış ve identifikasyon kitleri (Crystal GP, Becton Dickinson, USA) ile tür tayini yapılmıştır.

Antibiyotik direncinin aranması: Antibiyotik direnç oranları penisilin, ampicilin, siprofloksasin, levofloksasin, teikoplanin ve vankomisin için National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)'ın önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır⁽⁹⁾. Yüksek düzeyde gentamisin direncini (YDGD) belirlemek için 120 µg'lık gentamisin diskleri (Oxoid) kullanılmıştır. Disk difüzyon ile teikoplanin ve vankomisine dirençli bulunan suşlarda MİK değerleri E test (AB Biodisk, Sweden) yöntemi ile belirlenmiştir. İncelenen bakterilerde beta-laktamaz üretimi kromojenik sefalosporin yöntemi (Nitrosefin strip, Oxoid) ile araştırılmıştır. Kalite kontrol için *E. faecalis* ATCC 29212 standart suşu kullanılmıştır.

İstatistiksel değerlendirme: Elde edilen veriler SPSS 10.0 (SPSS incorporated, Chicago) programında değerlendirilmiş, analizlerde Fisher'in kesin ki-kare testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 123 klinik izolattan 47'si idrar, 40'ı kan, 20'si yara ve 12'si alt solunum yolu örneğinden, 4'ü de kateter örneğinden izole edilmiştir. Suşların % 54'ü *E. faecalis*, % 46'sı *E. faecium* olarak belirlenmiştir. İncelenen 123 suşun hiçbirinde beta-laktamaz üretimi saptanmamıştır. Sadece bir *E. faecium* suşu hem vankomisine (MİK: 256 µg/ml), hem teikoplanine (MİK: 128 µg/ml) dirençli bulunmuş ve direnç fenotipi Van A olarak yorumlanmıştır. Suşların örneklere göre dağılımı ve test edilen antibiyotiklere direnç oranları tablo 1 ve tablo 2'de gösterilmiştir.

Test edilen *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin arasında ampicilin, penisilin ve gentamisine duyarlılık oranlarında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. YDGD bulunan enterokok suşlarının % 52'si aynı anda ampisiline de dirençli bulunmuştur.

Tablo 1: Enterokok türlerinin örneklere göre dağılımı.

Örnek	E.fecalis	E.faecium	Toplam
	n (%)	n (%)	
Kan	20 (50)	20 (50)	40
İdrar	28 (60)	19 (40)	47
Yara	11(55)	9 (45)	20
Solunum yolu örneği	7 (58)	5 (42)	12
Kateter	-	4 (100)	4
Toplam	66 (54)	57 (46)	123

Tablo 2: 123 enterokok suşunda antibiyotiklere direnç.

Antibiyotik	E.faecalis	E.faecium	Toplam
	n (%)	n (%)	
Penisilin	34 (52)	22 (39)	56 (46)
Ampisilin	34 (52)	22 (39)	56 (46)
Siprofloksasin	29 (44)	22 (39)	51 (41)
Levofloksasin	15 (23)	12 (21)	27 (22)
Gentamisin	14 (21)	13 (23)	27 (22)
Vankomisin	0	1 (2)	1 (1)
Teikoplanin	0	1 (2)	1 (1)

TARTIŞMA

Günümüzde hastane infeksiyonu etkeni olarak izolasyon sıklığı artmakta olan enterokoklarda çoklu ilaç direnci önemli bir sorundur. Bu nedenle klinik örneklerden izole edilen enterokokların duyarlılığının saptanması uygun tedavinin seçilebilmesi için büyük önem taşımaktadır. Enterokok infeksiyonlarının tedavisinde en çok kullanılan antimikrobiyal ajanlar beta-laktam, aminoglikozid ve glikopeptid grubu antibiyotiklerdir. Bu çalışmada 123 enterokok suşu tanımlanmış ve antimikrobiyal duyarlılıkları incelenmiştir. Suşların % 46'sı penisilin ve ampisiline dirençli bulunmuştur. Ülkemizde yapılan çalışmalarda beta-laktam antibiyotiklere dirençli enterokokların giderek arttığına dikkat çekilerek, bu artışta penisilinlere dirençli, beta-laktamaz üretmeyen suşların rol oynadığı gösterilmiştir. Penisilin ve ampisilin direncini Ruhi ve ark.⁽¹⁰⁾ % 60.8 ve 31.8, Berkem ve ark.⁽²⁾ % 16.6 ve 13.3, Esen ve ark.⁽⁶⁾ % 51 ve % 33 oranında saptamışlardır. Kocagöz ve ark.⁽⁸⁾ ise nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak izole edilen enterokoklarda % 72 gibi yüksek oranlarda ampisilin direnci bildirmişlerdir.

Enterokoklarda birçok ilaca karşı görülen intrinsek direncin yanı sıra son 20 yılda enterokoklara etkili hemen hemen tüm antimikrobiklere karşı kazanılmış tipte direnç gelişimi de gözlenmiştir. Bu tür direnç gelişimi, hücre duvarına etkin ilaçlarla aminoglikozidlerin birlikte kullanılması sonucu oluşan sinerjik etkiye karşı da direnç gelişimini sağlar. Bazı merkezlerden enterokokların % 50'sinden fazlasının penisilin ile gentamisin sinerjik etkisine direnç gösterdiği bildirilmektedir⁽¹⁾. Esen ve ark.⁽⁶⁾ 101 klinik izolatla yaptıkları bir çalışmada YDGD gösteren suşların % 56'sının ampisiline de dirençli olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda da YDGD direnci saptanan suşların % 52'si ampisiline de dirençli bulunmuştur. Bu nedenle, hastanemizde ampirik tedavi gereken ciddi infeksiyonlarda, direnç oranlarının göz önünde bulundurularak glikopeptid antibiyotiklerin ilk seçenek olarak kullanılmasının daha doğru olabileceği düşünülebilir.

Kısa bir süre öncesine kadar çoklu ilaç direnci gösteren enterokok infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan en güvenli antibiyotik vankomisin'dir. İlk olarak Fransa ve İngiltere'den bildirilen vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşları günümüzde birçok ülkede infeksiyon veya kolonizasyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde VRE oranında 34 kat artış (% 0.4'den % 13.6'ya) olmuştur⁽³⁾. Ülkemizde ilk VRE suşu, 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesinden bildirilmiştir⁽¹²⁾. Sonraki yıllarda diğer merkezlerden de VRE ile infekte olgular giderek artan sayıda bildirilmeye başlanmıştır^(7,11). Bu çalışmada, E test yöntemi ile MİK değerleri vankomisin için 256 µg/ml, teikoplanin için 128 µg/ml olan bir *E. faecium* suşu idrar örneğinden izole edilmiştir ve direnç fenotipi Van A olarak

yorumlanmıştır. Günümüzde VRE infeksiyonları ülkemiz için henüz ciddi bir sorun oluşturmamakla birlikte gerekli önlemlerin alınmaması ve uygun antibiyotik kullanım politikalarının uygulanmaması durumunda, bu suşlarla oluşan infeksiyonlar da giderek artacaktır. Bu nedenle dirençli suşları saptamak için sürveyans çalışmalarının her merkezde başlatılması ve direnç oranlarının aralıklı olarak bildirilmesi gerekmektedir.

Siprofloksasinin enterokoklara in-vitro aktivitesi olmasına rağmen, bakterisidal olmaması nedeniyle tedavide kullanımı sınırlıdır. Bu çalışmada siprofloksasine dirençli suşların % 49'u levofloksasine duyarlı bulunmuştur. Bu nedenle, hastanemizde kinolon kullanılması gereken olgularda levofloksasin tercih edilmesinin daha uygun olacağı düşünülebilir.

Sonuç olarak hastanemizde yüksek düzeyde gentamisin dirençli suşlarda ampisilin direncinin de yüksek bulunması glikopeptidlerin ampirik tedavide ilk seçenekler olabileceğini düşündürmektedir. Enterokok infeksiyonlarında herhangi bir tedavi rejimine başlamadan önce in-vitro duyarlılık testlerinin mutlaka yapılması önerilmektedir. Ancak ampirik tedavinin çok önemli olduğu yaşamı tehdit eden infeksiyonlarda, klinisyene yol göstermek amacıyla aralıklı olarak her merkezde hastane kökenli enterokokların direnç paternlerinin belirlenmesi infeksiyonların önlenmesi ve yayılması açısından büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Babacan F: Çoğul dirençli enterokok infeksiyonları: Klinik uygulamalarda olanaklarımız nelerdir, 3. Antimikrobik Kemoterapi Günleri: Klinik – Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler Sempozyumu, Kuşadası (1997).
2. Berkem R, Üstün C, Acar NS: Ankara hastanesinde izole edilen enterokok türlerinin in vitro antibiyotik direnci, 8. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Abstr N-3, Antalya (1997).
3. Centers for Disease Control and Prevention: Nosocomial enterococci resistant to vancomycin-United States, 1989-1993, MMWR 1993;42: 597-9.
4. Erbek S, Özakın C, Gedikoğlu S: Enterokok suşlarında saptanan yüksek düzeyli aminoglikozid ve glikopeptid direnci, Hastane İnfeksiyon Derg 2002;6:142-9.
5. Erbek S, Özakın C, Gedikoğlu S: Toplum ve hastane kaynaklı olarak dışkıda enterokok türlerinin dağılımı, İnfeksiyon Derg 2002;4:451-7.
6. Esen Ş, Sünbül M, Barut Ş ve ark: Glikopeptid, beta-laktam ve aminoglikozid grubu antibiyotiklerin enterokoklara in-vitro etkinliği, ANKEM Derg 2001;15:59-63.
7. Gültekin M, Günsereen F: Vankomisin dirençli enterokoklar, Hastane İnfeksiyon Derg 2000;4:195-204.
8. Kocagöz S, Çetinkaya Y, Uzun Ö ve ark: Hastane infeksiyonlarından izole edilmiş stafilocok ve enterokok suşlarının çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları, Flora 1997;2:284-7.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance

- Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard M 100-S9, NCCLS, Villanova, Pa (1999).
10. Ruhi MZ, Aysev D, Aksu G: AÜTF Çocuk Hastalıkları Kliniği'nde izole edilen enterokok suşlarının türlere göre dağılımı ve antimikrobiklere direnç durumu, 8. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Abstr N-7, Antalya (1997).
 11. Şardan YÇ: Vankomisin dirençli enterokoklar: Epidemiyoloji ve kontrol, XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya (2002).
 12. Vural T, Şekercioğlu AO, Öğünç D ve ark: Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu, ANKEM Derg 1999;13:1-4.
 13. Usluer G: Çoklu dirençli patojenler: Epidemiyoloji ve kontrol, Flora 2002;7:135-41.