

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ENTEROCOCCUS FAECALIS* VE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* SUŞLARINDA İN-VİTRO ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI

In-vitro Antibiotic Susceptibility of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Strains Isolated from Various Clinical Samples

Bedia MERT DİNÇ¹, Ebru AYKUT ARCA¹, Serap YAĞCI¹, Nihal KARABİBER¹

¹Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ANKARA

Geliş Tarihi: 10.08.2009
Kabul Tarihi: 18.11.2009

İletişim:
Bedia MERT DİNÇ
Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Mikrobiyoloji Lab.
Kızılay Sokak No:4
06100 Sıhhiye - ANKARA

Tel : +90 312 306 10 61
E-posta : bhdogan@yahoo.com

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesinde 2006 ve 2007 yıllarında servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların kan, steril vücut sıvısı, idrar ve yara sürüntüsü gibi çeşitli klinik örneklerinden izole edilen enterokok suşları arasından random usulü seçilen 100 adet enterokok suşunun antibiyotik duyarlılığının değerlendirilmesidir.

Yöntem: Enterokok suşlarının identifikasyonu, ampisilin, vankomisin, teikoplanin duyarlılıkları ve yüksek düzey aminoglikozid dirençleri (YDAD) Microscan walk away 96 SI (Dade Behring) otomatize sistem ile belirlenmiş, linezolid duyarlılığı ise üretici firmanın önerileri doğrultusunda E -Test (AB-Biodisk) ile araştırılmıştır.

Bulgular: Değerlendirmeye alınan 100 suştan 65'i *Enterococcus faecium*, 35'i *Enterococcus faecalis* olarak tanımlanmıştır. Bu 100 suşun tümü vankomisin, teikoplanin ve linezolide duyarlı bulunurken, ampisilin duyarlılığı *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarında sırasıyla % 11 (7/65) ve % 97 (34/35) bulunmuştur. Yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direnci, *E. faecium* suşlarında sırasıyla % 52 (34/65) ve % 62 (40/65), *E. faecalis* suşlarında ise sırasıyla %14 (5/35) ve %11 (4/35) bulunmuştur.

Sonuç: Sonuç olarak hastanemizde izole edilen *E. faecalis* izolatlarının % 97 gibi büyük bir oranı ampisiline duyarlı iken, *E. faecium* izolatlarının sadece % 11'i ampisiline duyarlı bulunmuştur. Her iki türde de vankomisin, teikoplanin ve linezolide dirençli bir suşa rastlanmamış olması tedavi alternatifi olmaları açısından umut vericidir. Yüksek düzeyde aminoglikozid direnci (YDAD) oranlarının ampisilin direncinde olduğu gibi, *E. faecium* suşlarında *E. faecalis* suşlarına göre çok daha fazla olduğu görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Antibiyotik duyarlılığı, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, hastanede yatan hastalar

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate the in-vitro antimicrobial susceptibility of a hundred *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated randomly from various clinical samples such as blood, sterile body fluid, urine and wound swabs of in-patients from various clinics and Intensive Care Units of Türkiye Yüksek İhtisas Training and Research Hospital between 2006-2007.

Method: The identification and antibiotic susceptibilities of *Enterococcus* strains against ampicillin, vancomycin, teicoplanin and High Level Aminoglycoside Resistance were determined by Microscan-Walkaway 96 SI automated system (Dade Behring) and Linezolid susceptibility was investigated by E-test (AB Biodisk) according to the instructions of the manufacturer.

* Bu çalışma IUMS İstanbul 2008 Kongresinde tebliğ edilmiştir.

Results: Of the 100 *Enterococcus* strains evaluated, 65 were identified as *Enterococcus faecium* and 35 as *Enterococcus faecalis*. While all of 100 strains tested were found susceptible to teicoplanin, vancomycin and linezolid, ampicillin susceptibility was found 11 % (7/65) and 97 % (34/35) in *E.faecium* and *E.faecalis* strains, respectively. High-level resistance ratios to gentamicin and streptomycin of *E.faecium* and *E.faecalis* strains were determined as 52 % (34/65) and 62 % (40/65); 14 % (5/35) and 11 % (4/35), respectively.

Conclusion: In conclusion, high proportion of *E. faecalis* strains as 97 % were susceptible to ampicillin, only 11 % of *E. faecium* strains were susceptible to ampicillin isolated at the hospital. It is encouraging as an alternative treatment that no resistance was found in both of the strains to teicoplanin, vancomycin or linezolid. High level aminoglycoside resistance rates were detected with higher frequency in *E.faecium* isolates than *E.faecalis* isolates as found in ampicillin resistance.

Key Words: Antibiotic susceptibility, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, hospitalized patients

GİRİŞ

İnsan barsağı, ağız, vajina, üretra ve safra yollarında normal flora elemanı olarak bulunan enterokoklar; düşük virülansa sahip olmalarına rağmen hastane enfeksiyonlarında ve toplum kökenli enfeksiyonlarda giderek artan sıklıkta etken olarak saptanmaya başlanmışlardır (1-3). Çevre şartlarına dayanıklı olmaları, çeşitli antibiyotiklere intrinsek dirençli olmaları ve yeni direnç geliştirme yeteneklerinden dolayı son yıllarda enterokokların tedavisinde alternatif ilaçlar konusunda çalışmalara hız verilmiştir (4).

Bu çalışmanın amacı Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde iki yıllık süreçte servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastaların kan, steril vücut sıvısı, idrar ve yara sürüntüsü gibi çeşitli klinik örneklerinden izole edilen, *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesidir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında, 2006-2007 tarihleri arasında servis ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen enterokok suşlarından 100 tanesi randomize olarak seçilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Kanlı agarda uygun koloni morfolojisine sahip, katalaz testi negatif, safıralı eskülinli besiyerinde siyahlık oluşturan ve tuz tolerans testi olumlu olan Gram pozitif koklar

enterokok olarak işleme alınmış (5) ve MicroScan Walk-Away 96 SI (Dade-Behring) otomatize sistemde tanımlanmış, ampisilin, vankomisin, teikoplanin duyarlılıkları ve yüksek düzey aminoglikozid dirençleri yine aynı sistem ile belirlenmiş, linezolid duyarlılığı ise üretici firmanın önerileri doğrultusunda E-Test (AB Biodisk) ile araştırılmıştır.

BULGULAR

Değerlendirmeye alınan enterokok izolatlarının örnekler göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesinde saptanan 100 enterokok suşunun klinik örnekler göre dağılımı

Örnek	<i>E.faecium</i> n	<i>E.faecalis</i> n	Toplam
Kan	15	25	40
Steril vücut sıvısı	15	10	25
İdrar	20	-	20
Yara	15	-	15
Toplam	65	35	100

MicroScan Walk-Away otomatize sistemi ile incelenen 100 enterokok suşunun 65'i *E. faecium* ve 35'i *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır. *E.faecium* suşlarının 45'i, *E. faecalis* suşlarının 24'ü yoğun bakım ünitelerinden, geri kalan suşlar ise yataklı servislerden gönderilen klinik örneklerden izole edilmiştir.

E. faecalis suşlarının 34 (% 97)'ü ve *E. faecium* suşlarının 7 (% 11)'si ampisiline duyarlı iken, 100 enterokok suşunun tamamı teikoplanin, vankomisin ve linezolidde duyarlı bulunmuştur. Yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direnci, sırasıyla 65 *E. faecium* suşunun 34 (% 52) ve 40 (% 61, 5)'ünde gözlenirken, 35 *E. faecalis* suşunun da sırasıyla beş (% 14) ve dördünde (% 11) tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2 : Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesinde klinik örneklerden izole edilen 100 enterokok suşunun antibiyotiklere direnç dağılımı

	<i>E. faecalis</i> n (%)	<i>E. faecium</i> n (%)
Ampisilin	1 (3)	58 (89)
YDGD*	5 (14)	34 (52)
YDSD**	4 (11)	40 (61, 5)
Teikoplanin	0	0
Vankomisin	0	0
Linezolid	0	0

* Yüksek Düzey Gentamisin Direnci

** Yüksek Düzey Streptomisin Direnci

TARTIŞMA

Gram pozitif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan birçok antimikrobiyal ajan enterokok enfeksiyonlarında etkili olmamakta, bu durumdan da enterokokların birçok antibiyotiğe intrensek direnç göstermelerinin yanında, dikkat çekici bir şekilde yeni mekanizmalarla antibiyotik direnci oluşturması ve bu direnci aktarabilmesi sorumlu tutulmaktadır (1). Enterokok türleri içinde de antibiyotik dirençliliğinde oldukça farklılık olduğundan klinik örneklerden izole edilen enterokokların tür tayininin yanı sıra antibiyotik duyarlılığının da saptanması uygun tedavinin seçilebilmesi için büyük önem taşımaktadır (1, 2).

Son yıllarda enterokok türlerinde penisilin ve ampisiline karşı giderek artan oranda direnç bildirilmekte ve bu durum tedavide bu antibiyotiklerin

kullanımını sınırlandırmaktadır (2). Bu çalışmada enterokok enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde önemli bir seçenek olan ampisiline direnç *E. faecalis* suşlarında % 3, *E. faecium* suşlarında ise % 89 bulunmuştur. Ülkemizde yapılan ve tür tayininin yapılmadığı çalışmalarda enterokokların ampisilin direnci % 23 ile % 70 arasındadır (1, 2). Meriç ve ark (6) ve Kaçmaz ve ark (7) ampisilin direncini *E. faecalis* izolatlarında sırasıyla % 4 ve % 11, *E. faecium* izolatlarında ise sırasıyla % 78 ve % 77 olarak tespit etmişlerdir ve sonuçları bu çalışma ile benzerdir. Yurtdışından Simonsen ve ark (8) ve Hallgren ve ark (9) çalışmalarında ampisilin direncini *E. faecium* izolatlarında sırasıyla % 49 ve % 74 olarak tespit ederken, her iki araştırma grubu da *E. faecalis* izolatlarında hiç ampisilin direncine rastlamamışlardır. Yine yurtdışından Rodriguez ve ark (10) ise ampisilin direncini *E. faecalis* suşlarında % 1, *E. faecium* suşlarında ise % 80, olarak bulmuşlardır. *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında ampisilin direnci bakımından belirgin fark tüm bu çalışmaların ortak bulgularıdır.

Çalışmamızda elde edilen yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direnç oranları, ülkemizde bu konuda yapılan diğer çalışmaların bulgularıyla uyumludur (6, 7, 11). Örneğin *E. faecalis* suşlarında yüksek düzey gentamisin direncini (YDGD), % 8 ile % 17; yüksek düzey streptomisin direncini (YDSD) ise % 13 ile 22 arasında değişirken, *E. faecium* suşlarında bu oranlar sırası ile % 41 ile % 49 ve % 35 ile % 67 arasında değişmektedir. Bu çalışmaların ortak özelliği, aminoglikozide direnç oranının *E. faecium* suşlarında, *E. faecalis* suşlarına göre yaklaşık olarak üç kat kadar yüksek olmasıdır. Yurtdışında yapılan bir çalışmada Barisic ve Punda-Polic (12) hastanede yatan hastalardan izole ettikleri *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinde, yüksek düzey aminoglikozid direnci sırasıyla % 37 ve % 76, YDSD ise % 53 ve % 76.2 olarak bildirmişlerdir ki bu çalışmada yüksek düzey aminoglikozid direnci *E. faecalis* kökenlerinde de oldukça yüksektir.

Çalışmamızdaki tüm suşlar vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunmuştur. Yakın döneme kadar

çoğul dirençli enterokok enfeksiyonlarında vankomisin güvenle kullanılabilmekte iken, son yıllarda bildirilen dirençli enterokok suşları nedeniyle vankomisin direncinin de dikkatle araştırılması gerekmektedir. Hastane kaynaklı vankomisine dirençli enterokok enfeksiyonları ilk kez 1980'li yılların sonlarında tanımlandıktan sonra, artarak dünya çapında bir sorun oluşturmaya devam etmektedir. Bu enfeksiyonlara immunosupresyon, damar içi girişimler, hastanede kalış süresinin uzun oluşu ve antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı gibi olumsuz faktörlerin sonucu olarak özellikle glikopeptidlerin sık kullanıldığı birimlerde rastlanmaktadır (13). Hastanede ilk vankomisine dirençli enterokok (VRE), 2000 yılında bir hastanın kan kültüründen, ikincisi de 2001 yılında bir hastanın kan ve safra kültürlerinden izole edilmiştir (14). Vankomisine dirençli suşlar genellikle *E. faecium* suşlarıdır (1). Kaçmaz ve ark., (7) yaptıkları çalışmada sadece beyin-omurilik sıvısından üretilen bir *E. faecalis* suşunda vankomisin ve teikoplanine karşı direnç tespit etmiştir. Erbek ve ark., (15) 2002 yılında yaptıkları çalışmada 264 enterokok suşunda dokuz adet vankomisine dirençli suş tespit etmiş ve VRE ile enfekte hastaların hematolojik malignitesi olan kişiler olmasını istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde vankomisine direnç oranının % 0.4-13.6 arasında olduğu düşünülürse (1, 16), yoğun bakım yatak sayısı fazla olan hastanemizde, 2006 ve 2007 yıllarında vankomisine dirençli enterokok suşunun bulunmaması sevindiricidir.

Linezolid oksazolidinonlar sınıfından yeni bir antibiyotik olup klinik açıdan önemli tüm Gram pozitif bakterilere karşı mükemmel in-vitro aktiviteye sahiptir (17). Diğer protein sentez inhibitörlerinin

çoğu gibi bakteriyostatik olan linezolidin Faz III çalışmalarda çok az toksik veya yan etkisi olduğu görülmekle birlikte, direnç nadiren bildirilmektedir (17). Linezolid direnci ile ilgili yapılan yurtdışı kaynaklı yayınlarda hiç direnç saptanmayan (9, 18, 19) çalışmalar olduğu gibi linezolid direncinin (enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan diğer antimikrobiklerin aksine) *E. faecalis* suşlarında *E. faecium* suşlarına göre daha fazla olduğunu gösteren (10, 20) çalışmalar da mevcuttur. Ballow ve ark., (18) yaptıkları çalışmada, vankomisine duyarlı ve dirençli suşlarda, linezolide direnç saptamadıkları için bu antibiyotiğin çoğul dirençli Gram pozitif koklarda en geniş spektrumlu ampirik seçim olduğunu ifade etmişlerken, Zhanel ve ark. (16) yoğun bakım hastalarına ait klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarında linezolid direncini % 1.8 olarak tespit etmişlerdir. Diğer yandan Jones ve ark., (21) daha önce hiç oksazolidon kullanmamış bir hastada kan kültüründen izole edilen *E. faecium* suşunda linezolid direnci tespit etmişlerdir. Dilek ve ark., (17)'nin yaptığı çalışmada olduğu gibi, bu çalışmada da enterokok suşlarında linezolid direnci görülmemiştir.

Sonuç olarak, hastanelerin mikrobiyoloji laboratuvarlarında, özellikle de servis ve yoğun bakım hastalarından izole edilen enterokokların tür olarak tanımlanmasının ve antibiyotik duyarlılık modellerinin izlenmesinin ve türlerin kliniklere ve örneklere göre dağılımının bilinmesinin, antibiyogram sonuçları elde edilinceye kadar seçilecek ampirik tedavinin belirlenmesinde ve olası yeni enterokok enfeksiyonlarının önlenmesinde oldukça önemli olduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR

1. Ağuş N, Sarıca A, Özkalay N, Cengiz A. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik direnci. ANKEM Derg 2006; 20(3): 145-7.
2. Ersoy Y, Bayraktar M, Fırat M, Yağmur M, Durmaz R. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg 2005; 19(2): 92-9.
3. Ekşi F, Gayyurhan DE. Klinik örneklerden izole edilen streptokok ve enterokok suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. ANKEM Derg 2008; 22(2): 53-8.
4. Şentürk G, Erdem I, Yüksel S, Ertem S, Göktaş P. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci. KLİMİK Dergisi 2003; 16(3): 113-7.
5. Baron EJ, Finegold SM. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 8. baskı, Philadelphia: Mosby Co, 1990.
6. Meriç M, Rüzgar M, Gündeş S, Willke A. Hastanede yatan hastalardan izole edilen enterokok türleri ve antibiyotiklere direnç durumu. ANKEM Derg 2004; 18(3): 141-4.
7. Kaçmaz B, Akça G, Sultan N. Enterokokların antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması. İnfeksiyon Dergisi 2004; 18(3): 287-92.
8. Simonsen GS, Smabrekke L, Monnet DL, et al. Prevalence of resistance to ampicillin, gentamicin and vancomycin in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates from clinical specimens and use of antimicrobials in five Nordic hospitals, J Antimicrob Chemother 2003; 51(2): 323-31.
9. Hallgren A, Abednazari H, Ekdohl C, et al. Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci in intensive care units in Sweden evaluated by different MIC breakpoint systems. J Antimicrob Chemother 2001; 48(1): 53-62.
10. Rodriguez J, Vasquez GJ, Bermudez M, et al. Prospective study using standardized methodology for antimicrobial susceptibility of Gram positive cocci isolated from the Puerto Rico Medical Center. PR Health Sci J 2002; 21(4): 343-7.
11. Karadenizli A, Kolaylı F. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde izole edilen enterokok türleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 2002; 32(3-4): 212-5.
12. Barisic Z, Punda-Polic V: Antibiotic resistance among enterococcal strains isolated from clinical specimens, Int J Antimicrob Agents 2000; 16(1): 65-8.
13. Emiroğlu HH, Kebudi R, Ayan I ve ark. Vankomisine dirençli Enterokok bakteriyemisi olan kanserli bir çocukta linezolid tedavisi. ANKEM Derg 2007; 21(4): 242-4.
14. Akıncı E, Kılıç H, Karabiber N ve ark. İki hastanın kan kültüründen izole edilen Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşları. Flora 2002; 7(2): 126-8.
15. Erbek S, Özakin C, Gedikoğlu S. Enterokok suşlarında saptanan yüksek düzeyli aminoglikozid ve glikopeptid direnci. Hastane İnfeksiyonları 2002; 6(3): 142-9.
16. Zhanel GG, DeCorby M, Laing N, et al. Antimicrobial-resistant pathogens in intensive care units in Canada: results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study, 2005-2006. Antimicrob Agents Chemother. 2008; 52(4): 1430-7.
17. Dilek AR, Yıldız F, Dilek N, Bülent Y, Toraman Z. Linezolidin MRSA ve *Enterococcus* spp suşlarına in-vitro etkinliği ANKEM Derg 2007; 21(4): 211-3.
18. Ballow CH, Biedenbach DJ, Rossi F, Jones RN. Multicenter assessment of the linezolid spectrum and activity using the disk diffusion and Etest methods: report of the Zyvox(R) antimicrobial potency study in Latin America (LA-ZPS). Braz J Infect Dis 2002; 6(3): 100-9.
19. Billström H, Lund B, Sullivan A, Nord CE. Virulence and antimicrobial resistance in clinical *Enterococcus faecium*. Int J Antimicrob Agents. 2008; 32(5): 374-7.
20. Bell JM, Turnidge JD, Ballow CH, Jones RN. Multicentre evaluation of the in vitro activity of linezolid in the Western Pacific. J Antimicrob Chemother 2003; 51(2): 339-45.
21. Jones RN, Della-Latta P, Lee V, Biedenbach DJ. Linezolid resistant *Enterococcus faecium* isolated from a patient without prior exposure to an oxazolidinone: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 42(2): 137-9.

