



Klinik örneklerden izole edilen enterokok türlerinin identifikasyonu ve antibiyotiklere direncin araştırılması

The identification and research of resistance to antibiotics of enterococcus spesies isolated from clinical specimens

Birsen DURMAZ ÇETİN*, Nuran ÖZCAN**, Mehtap OKTAR*,
Hatice HASMAN*, Hülya KIMİL***

*Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği

**Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı

***Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Kliniği

ÖZET

Amaç: Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yara ve idrar örneklerinden izole edilen 88 enterokok suşunun identifikasyonu ve antibiyotiklere karşı direncinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: 1999-2002 tarihleri arasında hastanemiz laboratuvarına gönderilen yara ve idrar örneklerinden izole edilen suşların safralı eskülinli besiyerinde ve %6,5' luk NaCl' lü besiyerinde üreme, koyun kanlı aşarda hemoliz özelliklerine göre ve katalaz testi, gram boyama, APİ 20 Strep (Bio-Merioux, Fransa) testlerine göre cins ve tür düzeyinde tanımları yapıldı. Enterokokların beta-laktamaz üretiminin araştırılmasında Beta-laktamaz (nitrocefim) Identification Sticks (Oxoid) kullanıldı. Yara ve idrar örneklerinden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları National Committee for Clinical Laboratory Standarts (NCCLS)'in önerdiği antibiyotik grubunda yer alan vankomisin, teikoplanin, penisilin, ampisilin, siprofloksasin, eritromisin, tetrasiklin, nitrofurantoin antibiyotikleri ile disk diffüzyon yöntemi kullanılarak belirlendi. Yüksek düzey aminoglikozid direncini saptamak için yüksek düzey gentamisin (120 µg) diski kullanıldı.

Bulgular: 88 enterokok suşunun 28'i (%32) yara ve abselerden, 60'ı (%68) idrar örneklerinden izole edildi. Bu suşların 54'ü (%61) *E. faecalis*, 27'si (%30) *E. faecium*, 4'ü (%4.5) *E. avium*, 2'si (%2.2) *E. durans* ve birinin (%1.1) *E. raffinosum* olduğu saptanmıştır. Çalışılan antibiyotiklere direnç oranları, penisilin %56, ampisilin %52, siprofloksasin %68, eritromisin %61, tetrasiklin %54, nitrofurantoin %77 olarak tespit edilmiştir. 88 enterokok türünün 26'sında (%29) yüksek düzey gentamisine direnç saptanmıştır. Çalışmamızda izole edilen enterokok türlerinde vankomisin ve teikoplanin'e dirençli suş gözlenmemiştir, beta-laktamaz enzim varlığına rastlanmamıştır.

Sonuçlar: Enterokok enfeksiyonları tedavi protokolünde direnç paterninin türlere göre farklılık göstermesi nedeniyle mutlaka tür ayrımı yapılması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin araştırılması gerekmektedir.

Anahtar sözcükler: Enterokok, antibiyotik direnci, beta-laktamaz.

SUMMARY

Objective: Identification and research of resistance to antibiotics of 88 enterococcus species isolated from wound and urine specimens in Şişli Etfal Training and Research Hospital Microbiology Laboratory is aimed.

Material and Methods: The species that are sent to our laboratory between the dates of 1999 and 2002 were identified by growth in bile esculin agar and 6.5% NaCl, hemolysis characteristics in sheep blood agar, catalase test, Gram stain and API 20 Strep (Bio-Merioux, France) tests. For the search of beta-lactamase activity, Beta-lactamase (nitrocefim) Identification Sticks (Oxoid) were used. The antibiotic sensitivities of the enterococcus species isolated from wound and urine specimens were found by disc diffusion method with vancomycin, teicoplanin, penicillin, ampicillin, ciprofloxacin, erythromycin, tetracycline, nitrofurantoin according to antibiotic groups recommended by NCCLS. High level gentamycin (120 µg) disc was used to show high level aminoglycoside resistance.

Results: 28 of 88 enterococcus species (32%) were isolated from wounds and abscesses, 60 (68%) from urine specimens. It is found that 54 (61%) of them were *E. faecalis*, 27 (30%) *E. faecium*, four (4.5%) *E. avium*, two (2.2%) *E. durans* and one (1.1%) *E. raffinosum*. Resistance ratio to antibiotics were 56% to penicillin, 52% to ampicillin, 68% to ciprofloxacin, 61% to erythromycin, 54% to tetracycline and 77% to nitrofurantoin. High level gentamicin resistance was found in 26 of 88 (29%) enterococcus species. There weren't any resistant species against vancomycin or teicoplanin and no beta-lactamase enzyme in enterococci isolated in our study.

Conclusion: Identification and antibiotic sensitivity tests must be searched because resistance pattern change according to species in treatment regimens in enterococci infections.

Key words: Enterococcus, antibiotic resistance, beta-lactamase.

Yazışma Adresi:

Dr. Birsen DURMAZ ÇETİN
Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik
Mikrobiyoloji Kliniği

GİRİŞ

Enterokoklar, Enterococcus cinsinde yer alan gram pozitif koklar olup insan ve hayvan bağırsak florasının normal üyesidirler. Günümüzde nozokomiyal enfeksiyonların en önemli etkenlerinden olan enterokoklar sıklıkla endokardit, bakteriyemi, karın içi ve idrar yolu enfeksiyonlarından sorumludurlar. Altta yatan başka bir hastalığın varlığı, hastanede yatış süresinin uzun olması, böbrek yetmezliği, cerrahi girişimler ve yoğun bakım ünitelerinde takip ve tedavi nozokomiyal enterokok enfeksiyonları gelişmesinde risk faktörleridir (1, 2). Son zamanlarda dikkatlerin enterokoklar üzerinde yoğunlaşmasının bir nedeni de bir çok antibiyotiğe karşı hızla ve yüksek oranda direnç kazanmalarındır. Özellikle vankomisin direncinin ortaya çıkması, aminoglikozid direncinin yaygınlaşması, enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (3).

Enterokoklar, antibiyotiklere ya intrensek ya da kazanılmış direnç gösterirler. İntrensek direnç, düşük dozlardaki aminoglikozidlere ve özellikle beta-laktamaza dirençli beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı gelişirken, kazanılmış direnç yüksek dozlardaki aminoglikozidlere, kloramfenikol ve kinolon gibi çeşitli grup antibiyotiklere karşı gelişebilir. Bu tür direnç, genellikle plazmid ve transpozonlar ile aktarılmaktadır. Ayrıca enterokoklarda gözlenen glikopeptid direnci ilk defa 1988'de tanımlanmış olup, başta Amerika Birleşik Devletleri'nde olmak üzere dünyada birçok ülkede bildirilmektedir (4, 5). Türkiye'de vankomisine dirençli E.faecium suşu ilk kez 1998 yılında Vural ve ark. (2) tarafından, vankomisine dirençli E.faecalis suşu ise Nisan 2000'de Öngen ve ark. (6) tarafından bildirilmiştir.

Çalışmamızda yara ve idrar örneklerinden izole edilen enterokok türlerinin identifikasyonu, beta-laktamaz aktiviteri, çeşitli antibiyotiklere karşı dirençleri ve bunun yanında yüksek düzeyde aminoglikozid dirençlerinin araştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yara ve idrar örneklerinden izole edilen 88 enterokok suşu çalışmaya alındı. 1999-2002 tarihleri arasında hastanemiz laboratuvarına gönderilen yara ve idrar örneklerinden izole edilen suşların safralı eskülinli besiyerinde ve %6,5'lük NaCl'li besiyerinde üreme, koyun kanlı agarda hemoliz özelliklerine göre ve katalaz testi, gram boyama, API 20 Strep (Bio-Merieux, Fransa) testlerine göre cins ve tür düzeyinde tanımları yapıldı. Enterokokların beta-laktamaz üretiminin araştırılmasında Beta-lactamase (nitrocefim) Identification Sticks (Oxoid) kullanıldı. Yara ve idrar örneklerinden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları NCCLS'in önerdiği antibiyotik grubunda yer alan vankomisin, teikoplanin, penisilin, ampicilin, siprofloksasin, eritromisin, tetrasiklin, nitrofurantoin antibiyotikleri ile disk diffüzyon yöntemi kullanılarak belirlendi. Yüksek düzey aminoglikozid direncini saptamak için yüksek düzey gentamisin (120 µg) diski kullanıldı.

BULGULAR

Laboratuvarımızda izole edilen 88 enterokok suşunun 28'i (%32) yara ve abselerden, 60'ı (%68) idrar örneklerinden saptandı. Bu suşların 54'ünün (%61) E.faecalis, 27'sinin (%30) E.faecium, 4'ünün (%4.5) E.avium, 2'sinin (%2.2) E.durans ve birinin (%1.1) E.raffinsum olduğu saptanmıştır. E.faecalis'in en sık izole edilen enterokok türü olduğu gözlenmiştir (Tablo 1).

Antibiyotikler ve saptanan direnç oranları sıklık sırasına göre penisilin %56, ampicilin %52, siprofloksasin %68, eritromisin %61, tetrasiklin %54, nitrofurantoin %77 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). İzole edilen 88 enterokok türünün 26'sında (%29) gentamisine karşı yüksek düzeyde direnç saptanmıştır. Çalışmamızda izole edilen enterokok türleri arasında, vankomisin ve teikoplanin'e karşı dirençli suş gözlenmemiştir, beta-laktamaz enzim varlığına rastlanmamıştır. İzole edilen enterokok türleri-

Tablo 1: İzole edilen enterokok türleri

Türler	n	%
E.faecalis	54	61
E.faecium	27	30
E.avium	4	4.5
E.durans	2	2.2
E.raffinatum	1	1.1

Tablo 2: Enterokok türlerinin antibiyotiklere karşı direnç oranları

Antibiyotikler	n	%
Penisilin	49	56
Ampisilin	46	52
Siprofloksasin	60	68
Eritromisin	54	61
Tetrasiklin	48	54
Nitrofurantoin	68	77

nin çeşitli antibiyotiklere direnç oranları Tablo 3'de verilmiştir.

TARTIŞMA

Enterokokların üriner sistem enfeksiyonu, nozokomiyal bakteriyemi ve cerrahi yara enfeksiyonlarından sorumlu olduğu bilinmektedir. Son yıllarda ise standart tedavi rejimlerine karşı dirençli suş oranının arttığı gözlenmektedir (1).

Enterokokların neden olduğu sistemik enfeksiyonlarda bakterisidal etki elde edebilmek için, beta-laktam veya glikopeptid grubundan hücre duvarına etkili bir antibiyotiğin yanında aminoglikozid grubu bir antibiyotiğin (gentamisin veya streptomisin) kombine tedavisi önerilmektedir. Kombine olarak kullanılan her iki antibiyotikten birine karşı direnç geliştiğinde bu sinerjik etki ortadan kalkmaktadır. Enterokoklar birçok antibiyotiğe karşı doğal olarak ya da sonradan direnç kazanmış olabilirler (5, 8). Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direncinin giderek yaygınlaşması nedeniyle, aminoglikozidlerden sinerjik etki beklenen enfeksiyonların tedavisinde önemli bir sorundur. Böyle bir direncin varlığında penisilin ve aminoglikozid kombinasyonunun etkisi ortadan kalkmaktadır. Bu nedenle enterokoklar ile oluşan endokardit gibi ağır enfeksiyonlarda yüksek düzey aminoglikozid direncinin belirlenmesi gerekmektedir (3). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) farklı oranlarda bildirilmiştir (Tablo 4). Çalışmamızda 88 enterokok türünün 26'sında (%29) YDGD saptanmıştır.

Enterokok türleri arasındaki direnç özelliklerinin farklı olması nedeniyle türlerin spesifik identifikasyonu da önem kazanmaktadır. Hasçelik ve ark.'nın (14) izole ettikleri 402 enterokok suşunun 318'i (%79) E.faecalis, 48'i (%12) E.faecium, 15'i (%0,3) E.avium, 21'i (%0,5) ise diğer enterokok türleri olarak saptamışlardır. Çalışmamızda ise 88 enterokok suşunun, 54'ü (%61) E.faecalis, 27'si (%30) E.faecium,

Tablo 3: İzole edilen Enterokok türlerinin antibiyotiklere direnç oranları

Suşlar	P		AMP		CIP		E		TET		Nitro	
	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%	n	%
E.faecalis	29	33.0	32	36.3	33	37.5	34	38.6	28	31.8	40	45.5
E.faecium	17	19.3	13	14.7	25	28.4	19	21.6	18	20.5	26	29.5
E.avium	1	1.1	1	1.1					2	2.3	1	1.1
E.durans	1	1.1			2	2.3	1	1.1				
E.raffinatum	1	1.1									1	1.1

P:Penisilin, AMP:Ampisilin, CIP:Siprofloksasin, E:Eritromisin, TET:Tetrasiklin, Nitro: Nitrofurantoin

Tablo 4: Çeşitli çalışmalarda saptanan YDGD oranları

Çalışmalar	YDGD (%)
Akinci ve ark. (9)	8
Kurultay ve ark. (10)	45
Durmaz ve ark. (11)	16
Gülsoy ve ark. (12)	10
Çaylan ve ark. (13)	26

Tablo 5: Çeşitli çalışmalardaki Enterokok türlerinin antibiyotiklere direnç yüzdeleri

Çalışmalar	P	AMP	CIP	E	TET	Nitro
	%	%	%	%	%	%
Ersoy ve ark. (15)	40	40	26			
Çaylan ve ark. (13)	49		61	45		
Moaddap ve ark. (16)	28	22	8	30		3
Torun ve ark. (17)	25		39		51	
Şekercioğlu ve ark. (18)		69	42			
Esen ve ark. (19)	51	32				

4'ü (%4,5) E.avium, 3'ü (%3,5) diğer enterokok suşları olarak bulunmuştur. Çalışmalarda da görüldüğü gibi insanlarda enterokok enfeksiyonlarından en çok E. faecalis ve E.faecium türleri izole edilmektedir (5).

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda izole edilen enterokok türlerinde antibiyotik direnç oranları da oldukça yüksek olarak bulunmuştur (13, 15, 16, 17, 18, 19). Çalışmamızda ise penisilin %56, ampisilin %52, siprofloksasin %68, eritromisin %61, tetrasiklin %54, nitrofurantoin %77 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçların diğer çalışmaların sonuçlarıyla uygunluk gösterdiği izlenmektedir (Tablo 5).

Son yıllarda dünyada ve ülkemizde glikopeptit antibiyotiklere dirençli enterokok bildirimleri yapılmasına rağmen çalışmamızda enterokoklarda vankomisin ve teikoplanin direncine rastlanmamıştır.

Sonuç olarak; enterokok enfeksiyonlarında antibiyotik direnç paterninin türlere göre farklılık göstermesi önem kazanmaktadır. Bu enfeksiyonlar için tedavi protokolü oluşturulurken mutlaka tür ayrımının yapılarak, antibiyotik direncinin araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Karadenizli A, Kolaylı F: Kocaeli Üniv. Tıp Fak. Hastanesinde İzole Edilen Enterokok Türleri ve Antibiyotiklere Duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg. 33, 2002, 212-213
2. Vural T, Şekercioğlu AO. ve ark: Vankomisine Dirençli Enterococcus faecium Suşu. Ankem Derg 13 No:1, 1999, 1-4.
3. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R: Enterococcus Species, Streptococcus bovis and Leuconostoc Species, Principles and Practice of Infectious Diseases 5th Edition, Chapter 189, 2000, 2147-2156.
4. Kocagöz S: Türkiye'de İlk Defa Glikopeptid Dirençli Enterokok Tanımlanması. Ankem Derg 13 No:1, 1999, 5-6.
5. Ünlü M, Ünlü G. ve ark: Klinik Örneklerden Soyutlanan Enterococcus faecalis ve Enterococcus faecium Kökenlerinin Çeşitli Antibiyotiklere Direnci. İnfeksiyon Dergisi 16-4, 2002, 471-475.
6. Öngen B, Gürlü N, Akova M: First Report of The Clinical Isolation of Vancomycin Resistant E.faecalis in Turkey. Clin. Microbiol. Infect. 2001, 7 (suppl.1):92.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standarts for Antimicrobial Disk Susceptibility Test, Approved Standard M2-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standarts, Villanova 1998.
8. Bartoloni A, Stefani S ve ark: High-Level Aminoglycoside Resistance and Glycopeptide Resistance Among Enterococci Isolated From Blood Cultures. Clin Microbiol Infect 3, 1997, 385.
9. Akıncı E, Balık İ, Tekeli E: Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antimikrobiyel Duyarlılıklarının Belirlenmesi. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, 1998, 12-180.
10. Kurultay N, Akgüneş A ve ark: Nazokomiyal Enterokoklarda Glikopeptid Antibiyotiklerin Makro Dilüsyon ve E Test İle MIC Tayinleri. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, 1998, 12-184.
11. Durmaz B, Alibey E ve ark: Dışkı Kültürlerinden İzole Edilen Enterokoklarda Aminoglikozitlere Yüksek Seviyede Direnç Oranlarının Saptanması. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, 1998 12-186.
12. Gülsoy Ö, Kocazeybek B ve ark: Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinden İzole Edilen Enterokokların Antibiyotiklere Duyarlılıkları ve Yüksek Düzey Aminoglikozit Direncinin Araştırılması. X.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Klimik Adana, 2001, 274, P-10/36.
13. Çaylan R, Üstünakın M: Enterokok Suşlarında Vankomisin ve Yüksek Düzey Aminoglikozit Direnci Araştırılması. X.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Klimik Adana, 2001, 275, P-10/37.
14. Haşçelik G, Ercis S, Kocagöz S: Ampisilin, Yüksek Düzey Aminoglikozit ve Glikopeptid Antibiyotik Direnci Olan Enterokokların Servis ve Poliklinik Hastaları Arasındaki Dağılımı. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, 1998, 12-181.
15. Ersoy Y, Şerfhanoglu K ve ark: Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokokların Antibiyotiklere Duyarlılıkları. X.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Klimik Adana, 2001, 274, P-10/33.
16. Moaddab SR, Töreci K: Enterokok Suşlarında Tür Tayini, Vankomisin ve Diğer Bazı Antibiyotiklere Direnç Aranması. Türk Mikrobiyol Cem Derg, 2000, 30:77-84.
17. Torun MM, Bahar H ve ark: Enterokoklarda Yüksek Düzey Aminoglikozit ve Vankomisin Direncinin Araştırılması. Ankem Derg 13 No:2, 1999, 105.
18. Şekercioğlu AO, Vural T ve ark: Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının İdentifikasyonu Antibiyotiklere Duyarlılıkları Yüksek Düzey Gentamisin Direnç Özelliklerinin ve Beta-laktamaz Aktivitelerinin Araştırılması. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, 1998,12-182.
19. Esen Ş, Sümbül M ve ark: Glikopeptid, Beta-laktam ve Aminoglikozit Gurubu Antibiyotiklerin Enterokoklara İn-vitro Etkinliği. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, 1998, 12-187.