

# Kan Kültürlerinden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotik Direnci

## The Antibiotic Resistance of Enterococcus Strains Isolated from Blood Cultures

Mustafa Berктаş<sup>1</sup>, Aytekin Çıkman<sup>2</sup>, Mehmet Parlak<sup>3</sup>, Hüseyin Güdücüoğlu<sup>1</sup>, Ayşe Özkaçmaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van

<sup>2</sup>Mengücek Gazi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Erzincan

<sup>3</sup>Van Bölge Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Van.

### Özet

Giriş: Enterokok türleri, toplum ve hastane kökenli infeksiyon etkenleri arasında giderek önem kazanmaktadır. Çalışmada, enterokok türlerinin bölgemizdeki direnç durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya laboratuvarımıza gönderilen kan kültürlerinden izole edilen 113 enterokok suşu alınmıştır. Kanlı agarda uygun koloni morfolojisine sahip, katalaz testi negatif ve pyroolidonyl aryl amidase (PYR-Oxoid) testi pozitif olan Gram pozitif koklar enterokok olarak tanımlanmıştır. Suşların tür düzeyinde identifikasyonu ile antibiyotik duyarlılık testlerinde BD Phoenix (Becton Dickinson, USA) otomatize mikrobiyoloji sisteminden yararlanılmıştır.

Bulgular: İzole edilen enterokok suşlarının kliniklere göre dağılımında; Pediatri %31, Anestezi Yoğun Bakım %28, Göğüs Hastalıkları %13, Enfeksiyon Hastalıkları % 5, Kadın Doğum %5, Beyin Cerrahi %5, İç Hastalıkları %5 ve diğer klinikler %8 olarak belirlenmiştir. Enterokok suşlarının türlere göre dağılımı incelendiğinde; 76'sı Enterococcus faecium, 31'i Enterococcus faecalis, 3'eri Enterococcus casseliflavus/gallinarum ve Enterococcus hirae olarak belirlenmiştir. İzole edilen enterokok türlerinin çeşitli antibiyotiklere direnç oranları tabloda verilmiştir. E. faecalis suşlarının tümü vankomisin ve teikoplanine duyarlı olarak bulunurken E. faecium suşlarında %24 oranında direnç saptanması çalışmanın en dikkat çekici bulgusu olarak görülmüştür. Linezolid direnç saptanmamıştır. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'nin önerileri doğrultusunda çalışmaya sonradan dahil edilen daptomisin, 12 E. faecalis suşunda kullanılmış ve dirençli suşa rastlanmamıştır.

Sonuç: Antibiyotiklere karşı direnç oranlarının yüksek olduğu enterokok suşlarında, türler arasında belirgin bir direnç farkı olması nedeniyle izole edilen suşların tür ayrımı ve antibiyotik direncinin belirlenmesi, ampirik tedavide yol gösterici olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** antibiyotik direnci, enterokok, kan kültürü

**Başvuru Tarihi:** 12.06.2012 **Kabul Tarihi:** 13.09.2012

### Abstract

Objective: Enterococci species increasingly gain importance among community-acquired and hospital-acquired infection factors. The aim of this study was to determine the resistance of Enterococcus species from our region. Materials and Methods: A total of 113 Enterococcus strains isolated from blood cultures sent to our laboratory were included in the study. Catalase-negative, pyroolidonyl aryl amidase (PYR-Oxoid)-positive, Gram-positive cocci with compatible colonial morphology on blood agar were identified as Enterococci. Results: Distribution of isolated Enterococcus strains by clinics was as follows: 31% Pediatrics, 28% Anesthesia-Intensive Care Unit, 13% Chest Diseases, 3% Infectious Diseases, 5% Gynecology 5% Brain Surgery, 5% Internal Medicine and 8% other clinics. Distribution of isolated Enterococcus strains by type was as follows: Enterococcus faecium 76, Enterococcus faecalis 31, Enterococcus casseliflavus/gallinarum 3 and Enterococcus hirae 3. The resistance rates of isolated Enterococcus species to various antibiotics are given in the table. While all E. faecalis strains were found susceptible to vancomycin and teicoplanin, E. faecium strains' resistance rate was 24%, which is the most important finding of this study. No resistance to lincosamide was detected. Daptomycin, included in the study afterwards in accordance with Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'s recommendation was tested on 12 E. faecalis strains and no resistance was detected.

Conclusions: Enterococcus strains with their high antimicrobial resistance rates show significant difference in resistance between species. Therefore, species identification and antibiotics resistance determination will be a useful guide for empiric therapy

**Keywords:** Enterococcus, blood culture, antimicrobial resistance

**Application:** 12.06.2012 **Accepted:** 13.09.2012

## Giriş

Uzun yıllar boyunca insanlar için zararsız olduğu düşünülen ve tıbbi olarak önemsiz kabul edilen Enterokok türleri, son zamanlarda yüksek ölüm oranına sahip olan ve en sık saptanan nozokomiyal patojenlerden biri haline gelmiştir<sup>1</sup>. İnsanlarda gastrointestinal sistem flora elemanı olan enterokoklar, 1970'li yıllardan sonra üçüncü kuşak sefalosporinlerin kullanımının artışına paralel bir şekilde hastane infeksiyonu etkeni olarak saptanmaya başlanmıştır<sup>2</sup>. Enterokoklar genellikle hastane ortamında immün sistemi zayıflamış kişilerin endojen floralarından kaynaklanan bakteriyemi, endokardit, peritonit, menenjit, neonatal sepsis, üriner sistem infeksiyonları, cilt ve yumuşak doku infeksiyonları, intraabdominal veya pelvik infeksiyonlar gibi çeşitli infeksiyonlara sebep olabilmektedir<sup>3</sup>.

Üriner sistem, cilt ve yumuşak doku infeksiyonlarının en sık ikinci nedeni olan enterokoklar, son on yılda bakteriyemilerin en sık üçüncü nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır<sup>4</sup>. İngiltere'de, yaklaşık bir yıllık süreçte enterokok türlerine bağlı bakteriyemilerde %8'lik bir artış olduğu ve bu artış hızına daha önce başka bir bakteriyemi etkeninde rastlanılmadığı belirlenmiştir. ABD'de yaklaşık 15 yıllık süreçte hastane infeksiyonları ile ilişkili vankomisin dirençli enterokoklarda 20 katlık bir artış olduğu rapor edilmiştir<sup>5</sup>.

Enterokokların en önemli özelliği, Gram pozitif bakteri infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan birçok antimikrobiyal ajana karşı kısmi veya tam direnç göstermeleridir. Bu olgularda tedavi seçenekleri sınırlı olduğu için glikopeptid, penisilin ve aminoglikozidlere karşı direnç gelişimi enterokokları önemli kılmaktadır<sup>6</sup>. Enterokokların birçok antibiyotige intrensek direnç göstermelerinin yanında, yeni mekanizmalarla antibiyotik direnci oluşturduğu ve bu direnci aktarabildiği de bilinmektedir. Bu nedenle enterokokların antibiyotik duyarlılığının saptanması, uygun tedavinin seçilebilmesi için büyük önem taşımaktadır<sup>7</sup>.

Çalışmada, bölgemizde kan kültürlerinden izole edilen enterokok türlerinin direnç durumlarının ortaya konulması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2006-Aralık 2010 tarihleri arasında gönderilen kan kültürlerinden izole edilen 113 enterokok suşu çalışmaya dahil edildi.

Kan kültür şişelerinde gönderilen örnekler BacT/Alert (BioMérieux, Fransa) otomatize kan kültür sisteminde inkübe edildi. Pozitif sinyal veren şişelerden koyun kanlı agar besiyerine ekimler yapıldı. 37°C'de 24-48 saat inkübe edilen plaklardan uygun koloni morfolojisine sahip, katalaz testi negatif ve pyrolydonyl aryl amidase (PYR-Oxoid, İngiltere) testi pozitif olan Gram pozitif koklar enterokok olarak tanımlandı. Suşların tür düzeyinde identifikasyonu ile antibiyotik duyarlılık testlerinde BD Phoenix (Becton Dickinson, USA) otomatize mikrobiyoloji sisteminden yararlanıldı. Enterococcus faecium (E.faecium) ve Enterococcus faecalis (E.faecalis) türleri arasında antibiyotik dirençlerinin istatistik analizi için Z testi ile oran karşılaştırması yapıldı.

## Bulgular

İzole edilen enterokok suşlarının kliniklere göre dağılımında; Pediatri %31, Anestezi Yoğun Bakım %28, Göğüs Hastalıkları %13, Enfeksiyon Hastalıkları %5, Kadın Doğum %5, Beyin Cerrahi %5, İç Hastalıkları %5 ve diğer klinikler %8 olarak belirlendi. Toplam 113 enterokok suşunun türlere göre dağılımı incelendiğinde; 76'sı E.faecium, 31'i E.faecalis ile 3'er Enterococcus casseliflavus/gallinarum (E.casseliflavus/gallinarum) ve Enterococcus hirae (E.hirae) olarak belirlendi. E.faecalis suşlarının tümü vankomisin ve teikoplanine duyarlı olarak bulunurken E.faecium suşlarında % 24 oranında vankomisine direnç saptanması çalışmanın en dikkat çekici bulgusu olarak görüldü. E.faecium türleri arasında E.faecalis'e göre saptanan yüksek antibiyotik direnç oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.001). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'nin önerileri doğrultusunda çalışmaya sonradan dahil edilen daptomisin, 12 E. faecium suşunda kullanıldı ve dirençli suşa rastlanmadı. İzole edilen enterokok türlerinin çeşitli antibiyotiklere direnç oranları tabloda verildi.

**Tablo 1:** Enterokok suşlarının çeşitli antibiyotiklere karşı direnç oranları

	E.faecalis			E.faecium			E.casseliflavus/gallinarum			E.hirae		
	n	R	(%)	n	R	(%)	n	R	(%)	n	R	(%)
Eritromisin	30	14	(47)	76	67	(88)	3	1	(33)	3	2	(66)
Ampisilin	30	2	(7)	75	65	(87)	3	1	(33)	3	2	(66)
Siprofloksasin	28	6	(21)	65	39	(60)	-	-		-	-	
Gentamisin*	30	6	(20)	76	40	(53)	3	-		3	1	(33)
Streptomisin*	29	8	(28)	64	44	(69)	3	-		3	2	(66)
Teikoplanin	30	-		76	18	(24)	3	1	(33)	3	-	
Vankomisin	30	-		76	18	(24)	3	3	(100)	3	-	
Linezolid	31	-		76	-		3	-		3	-	
Daptomisin	1	-		12	-		-	-		-	-	

## Tartışma

İzolasyon ve tiplendirilmesinde sorunlar yaşanan enterokokların, 1984 yılından itibaren DNA hibridizasyon ve 16S rRNA dizi analiz tekniklerinin kullanılmasıyla 28 farklı türü tanımlanmıştır<sup>8</sup>. Gastrointestinal florada daha yaygın bulunan E.faecalis'in klinik örneklerden en sık izole edilen enterokok türü olmasına karşın, yapılan bazı çalışmalarda E.faecium suşlarının yıllar içinde anlamlı derecede yükseldiği belirlenmiştir. Özellikle bu yükselmenin kanada izole edilen suşlarda daha belirgin olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır<sup>9</sup>. E.faecium suşlarına daha fazla oranda (%67) rastladığımız çalışmamızda bu durum kullanılan materyalin kan örneği olmasına bağlanmıştır. Son zamanlarda enterokok türlerinde giderek artan oranlarda direnç bildirilmekte ve bu durum türe bağlı olarak değişmektedir. Gales ve ark.<sup>10</sup> çalışmalarında 102 E.faecium ve 625 E.faecalis için direnç oranlarını sırasıyla; ampisilin %84-1, levofloksasin %79-37, gentamisin (yüksek düzey/YD) %11-29, streptomisin (yüksek düzey/YD) %77-25, linezolid %1 ile <1, teikoplanin %64-8, vankomisin %66-8 olarak bildirmişler, daptomisine karşı direnç saptamamışlardır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda ise Meriç ve ark.<sup>11</sup> E. faecium ve E. faecalis için direnç oranlarını sırasıyla; ampisilin %78-4, siprofloksasin %78-21, gentamisin (YD) %41-13, streptomisin (YD) %67-22 olarak belirlerken vankomisin direncine rastlamamışlardır. Gazi ve ark.<sup>12</sup> E.faecium ve E.faecalis için direnç oranlarını sırasıyla; penisilin %39-52, ampisilin %39-52, siprofloksasin %39-44, levofloksasin %21-23, gentamisin

%21-23, vankomisin %0-2 ve teikoplanin %0-2 olarak, Mert Dinç ve ark.<sup>13</sup> 65 E.faecium ve 45 E.faecalis suşları ile yaptıkları çalışmalarında tüm suşları vankomisin, teikoplanin ve linezolide duyarlı bulurken, E.faecium ve E.faecalis suşları için direnç oranlarını sırasıyla; ampisilin %91-3, gentamisin (YD) %52-14 ve streptomisin (YD) %62-11 olarak bulmuşlardır. Çalışmada elde ettiğimiz sonuçların ülkemizde ve yurt dışında yapılan bu çalışmalarla paralellik gösterdiği görülmektedir.

Dünya genelinde, enterokok suşlarının antibiyotik direnç oranlarındaki dramatik artışı, bu bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisini güçleştirmektedir<sup>1,5</sup>. Beta-laktamlar, aminoglikozidler, trimetoprim-sülfametoksazol ve linkozamidlere karşı intrensek dirence sahip olmaları, glikopeptidleri tedavi için önemli bir seçenek haline getirmiştir<sup>2</sup>. Günümüzde glikopeptit dirençli suşlarla oluşan infeksiyonlar henüz ciddi bir sorun oluşturmamaktadır. Bununla birlikte uygun antibiyotik kullanım politikalarının doğru uygulanmaması nedeniyle bu suşlara bağlı infeksiyonlar sorun oluşturmaya devam edecektir<sup>7</sup>. Ülkemizde 1990'lı yılların sonundan başlamak üzere vankomisine dirençli enterokok izolatları birçok merkezden rapor edilmiştir<sup>14</sup>. Ülkemizdeki bir çok çalışmada glikopeptit direncine rastlanmamış olmasına karşın<sup>12,13,15</sup>, Ağuş ve ark.<sup>7</sup> yataklı servisten gelen örneklerde %5 oranında vankomisin ve teikoplanin direnci tespit etmişlerdir. Enterokok türleri arasında infeksiyon etkeni olarak görülme sıklığı ve antibiyotiklere direnç oranları açısından farklılıklar bulunmaktadır. Bu nedenle tür düzeyinde ay-

rıma gidilmesi tedavinin planlanması aşamasında önem arz etmektedir<sup>16</sup>. Çok sayıda çalışmada *E.faecium* suşlarında başta glikopeptitler olmak üzere antibiyotik direnç oranlarının *E.faecalis*'e göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir<sup>10,17,18</sup>. Çalışmamızda izole edilen *E.faecium* suşlarında, vankomisin ve teikoplanin direnci %24 oranında bulunurken, *E.faecalis* ile *E.hirae* suşlarının tümü vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunmuştur. İzole edilen 3 *E.casseliflavus/gallinarum* suşunun tümünde vankomisin ve birinde ise teikoplanin direncine rastlanmıştır. *E.faecium* türleri arasında *E.faecalis*'e göre saptanan yüksek antibiyotik direnç oranları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Bu durum *E.faecium* suşlarında başta glikopeptitler olmak üzere direnç oranlarının

daha yüksek olduğu görüşünü desteklemektedir.

Sonuç olarak hastanemizde kan kültürlerinden izole ettiğimiz enterokok suşlarında türlere göre farklı direnç oranları elde edilmiştir. Kan kültürlerinde en sık olarak karşılaştığımız *E.faecium* suşlarında yüksek düzeyde glikopeptit direncine rastlanmıştır. Bu durum özellikle bakteriyemi etkeni enterokoklarda tedavinin düzenlenmesi için tür tayini yapılarak antibiyotik direnç durumunun belirlenmesini gerekli kılmaktadır. Ayrıca gastrointestinal flora elemanı olan bu bakterilerle oluşacak infeksiyonların önlenmesi için eğitim programları düzenlenerek başta el hijyeni olmak üzere infeksiyon kontrol önlemleri alınmalıdır.

## Kaynaklar

- Teixeira LM, Siqueira Carvalho MdG, Facklam RR (Çeviren Ö.Akan). Enterococcus "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds) (Çeviri ed: A.Başustaoğlu): Klinik Mikrobiyoloji, 9.baskı" kitabında s.430-442, Atlas Kitapçılık, Ankara (2009).
- Taşbakan Mİ. Vankomisine dirençli enterokok olguları. ANKEM Derg 2010;24(Ek 2):82-84.
- Sava IG, Heikens E, Huebner J. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections. Clin Microbiol Infect 2010;16:533-540.
- De Fátima Silva Lopes M, Ribeiro T, Abrantes M, Figueiredo Marques JJ, Tenreiro R, Crespo MT. Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of enterococci. Int J Food Microbiol 2005;103:191-198.
- Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. Microbiology 2009;155:1749-1757.
- Conceição N, Oliveira CD, Silva PR, Avila BG, Oliveira AG. Trends in antimicrobial resistance among clinical isolates of enterococci in a Brazilian tertiary hospital: a 4-year study. Rev Soc Bras Med Trop 2011 Apr 1. pii: S0037-86822011005000009.
- Aguş N, Sarıca N, Özkalay N, Cengiz A: Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik direnci. ANKEM Derg 2006;20:145-147.
- Foulquié Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. The role and application of enterococci in food and health. Int J Food Microbiol 2006;106:1-24.
- Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A. Enterococcal infections & antimicrobial resistance. Indian J Med Res 2008;128:111-121.
- Gales AC, Sader HS, Ribeiro J, Zoccoli C, Barth A, Pignatari AC. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY Program (2005-2008). Braz J Infect Dis 2009;13:90-98.
- Meriç M, Rüzgar M, Gündeş S, Willke A. Hastanede yatan hastalardan izole edilen enterokok türleri ve antibiyotiklere direnç durumu. ANKEM Derg 2004;18:141-144.
- Gazi H, Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Ecemiş T, Özbakkaloğlu B. Hastane kökenli Enterococcus faecalis ve Enterococcus faecium suşlarında antimikrobiyal direnç. ANKEM Derg 2004;18:49-52.
- Mert Dinç B, Aykut Arca E, Yağcı S, Karabiber N. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Enterococcus faecalis ve Enterococcus faecium suşlarında in-vitro antibiyotik duyarlılığı. Türk Hij Den Biyol Dergisi 2009;66:117-121.
- Sümerkan B. Streptococcus pneumoniae ve enterokoklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye haritası. ANKEM Derg 2005;19(Ek 2):61-65.
15. Ersoy Y, Bayraktar M, Fırat M, Yağmur M, Durmaz R. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg 2005;19:92-96.
- Hoşgör M, Çavuşoğlu C, Tünger A, Özinel MA. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci. Infeksiyon Derg 1997;11:7-9.
- Patterson JE, Sweeney AH, Simms M et al. An analysis of 110 serious enterococcal infections: Epidemiology, antibiotic susceptibility and outcome. Medicine 1995;74:191-200.
- Ünlü M, Vardar Ünlü G, Bakıcı MZ, Şahin A. Klinik örneklerden soyutlanan Enterococcus faecalis ve Enterococcus faecium kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere direnci. Infeksiyon Derg 2002;16(4):471-475.