

---

# Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde İzole Edilen Enterokok İzolatlarının Üç Yıllık Değerlendirmesi

Füsun CÖMERT\*, Canan KÜLAH\*, Özlem EROĞLU\*, Elif AKTAŞ\*

\* Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ZONGULDAK

## ÖZET

Bu çalışmada Ocak 2002-Nisan 2005 tarihleri arasında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok türlerinin tanımlanması ve antibiyotik direncinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya 222 izolat dahil edilmiştir. API 20 Strep (Biomérieux, Fransa) kullanılarak izolatların 115'inin tür tayini yapılmıştır. Penisilin, streptomisin, gentamisin, vankomisin ve teikoplanin için antibiyotik duyarlılık testi disk difüzyon yöntemi ile yapılmış, yüksek düzey aminoglikozid direncinin (YDAD) belirlenmesi için streptomisin 300 µg ve gentamisin 120 µg diskleri kullanılmıştır. Tür tayini yapılan 115 izolatın 77 (%67.3)'si *Enterococcus faecalis*, 31 (%26.9)'i *Enterococcus faecium*, üçü *Enterococcus casseliflavus* (%2.6) ve biri *Enterococcus durans* (%0.9) olarak belirlenmiştir. Üç izolat (%2.6) için kullanılan sistem ile tür belirlemesi yapılamamıştır. Penisilin direnci, izolatlar genelinde %50 iken, *E. faecalis* izolatlarında %40.2, *E. faecium* izolatlarında ise %70.9 olarak saptanmıştır. İzolatların genelinde YDAD, streptomisin ve gentamisin için sırasıyla %54.9 ve %46.8 olarak belirlenmiştir. İzolatların 21 (%9.4)'inde streptomisin ve gentamisin direnci birlikte bulunmuştur. İzolatların hepsi vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunmuştur. İzolatlarda beta-laktamaz üretimi gözlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Enterokoklar, Antibiyotik direnci, Aminoglikozid

## SUMMARY

### Evaluation of Enterococcus Isolates Isolated in Three Years Period at Zonguldak Karaelmas University Hospital

The aim of the study was to identify *Enterococcus* isolates to species level from various samples obtained at Zonguldak Karaelmas University, Research and Application Hospital Clinical Microbiology Laboratory, between January 2002 and April 2005 and to evaluate their antimicrobial resistance profile. A total of 222 isolates were investigated. One hundred and eighteen isolates were identified at species level by using API 20 Strep identification system. Kirby-Bauer disc diffusion method was used for the determination of penicillin, streptomycin, gentamicin, vancomycin and teicoplanin susceptibility. Streptomycin 300 µg and gentamicin 120 µg discs were used to determine high-level resistance to aminoglycosides. Seventy-seven of the 115 isolates were identified as *Enterococcus faecalis* (67.3%), 31 as *Enterococcus faecium* (26.9%), three as

*Enterococcus casseliflavus* (2.6%) and one as *Enterococcus durans* (0.9%). Three isolates couldn't be identified (2.6%) with the mentioned system. Resistance to penicillin was 50% for the total isolates while it was 40.2% for *E. faecalis* and 70.9% for *E. faecium* strains. In all strains high-level resistance to aminoglycosides for streptomycin and gentamicin were 54.9% and 46.8%, respectively. Resistance to both streptomycin and gentamicin was determined in 21 of the total strains (9.4%). All strains were susceptible to vancomycin and teicoplanin. No beta-lactamase producing isolates were detected.

**Key Words:** Enterococci, Antimicrobial resistance, Aminoglycosides

İnsanlarda ağız, üretra, vajina, safra yolları ve barsak florasının üyesi olan enterokok türleri başta üriner sistem, intraabdominal ve pelvik infeksiyonlar olmak üzere ciddi infeksiyonlara neden olmaktadır<sup>[1]</sup>. Enterokok türleri, halen nozokomiyal üriner sistem infeksiyonu (ÜSİ) ve cerrahi infeksiyonlarda ikinci, nozokomiyal bakteremilerde üçüncü sıklıkla gözlenen etken olarak bildirilmektedir<sup>[2]</sup> Yirmiye yakın enterokok türü içinde *Enterococcus faecalis* klinik örneklerden izole edilen enterokokların %80-90'ını, *Enterococcus faecium* ise %5-15'ini oluşturmaktadır<sup>[1,3]</sup>.

Enterokok türleriyle oluşan hastane infeksiyonları son yıllarda belirgin bir artış göstermektedir. İntravasküler kateter ve protez uygulanmış, bağışıklık sistemi baskılanmış, hastanede yatış süresi uzamış hastalarda uzun süreli ve geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi uygulamaları enterokok türleriyle oluşan infeksiyonlar için zemin hazırlamaktadır<sup>[4]</sup>. Enterokok türlerinin çoğu antibiyotik grubuna doğal ya da kazanılmış direnç göstermesi bu infeksiyonlarda önemli tedavi sorunlarına yol açmaktadır<sup>[2,3]</sup>.

Bu çalışmada Ocak 2002-Nisan 2005 tarihleri arasında laboratuvarımızda çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok türlerinin tanımlanması, antibiyotik direncinin geriye dönük değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOD

Çalışmaya, değişik klinik örneklerden elde edilen toplam 222 suş dahil edilmiştir. Suşların 135 (%60.8)'i yatarak tedavi alan, 87 (%39.2)'si polikliniklere başvuran hastalardan elde edilmiştir. İzole edilen suşlar için infeksiyon/kolonizasyon ayrımı yapılmamıştır. İdrar örnekleri için  $10^5$  cfu/mL ve üzeri üremeler doğrudan değerlendirmeye alınmıştır. 1000-100.000 cfu/mL üremeler örneklerin Gram yayma sonuçları ve idrar lökosit sayıları ile birlikte değerlendirilmiştir. Yara örnekleri için saf üremeler lökosit sayılarına bakılmaksızın değerlendirmeye alınmıştır. Dominant veya birden fazla farklı mikro-

organizma üreyen yara kültürlerinde Gram yayma ve lökosit/epitel hücre sayılarına bakılarak değerlendirme yapılmıştır. Kan ve steril vücut sıvılarından üremeler doğrudan değerlendirilmiştir. Solunum sistemi örneklerindeki dominant üremeler Gram yayma ve lökosit/epitel hücre sayılarına göre değerlendirmeye alınmıştır. Balgam dışı solunum sistemi örnekleri için (trakeal aspirat ve bronşiyal lavaaj) kantitatif kültür yapılarak değerlendirme yapılmıştır<sup>[5]</sup>. Enterokok tanımlanması; koloni morfolojisi, Gram boyama özelliği, bakteri morfolojisi, katalaz özelliği, %40 safra içeren eskülinli besiyerinde eskülin hidrolizi, %6.5 NaCl içeren agarda üreme ve pyrrolidonil arilamidaz (PYR) (Oxoid) hidrolizi özelliklerine göre yapılmıştır<sup>[1]</sup>. API 20 Strep (Biomérieux, Fransa) kullanılarak izolatların 118'inin tür tayini yapılmıştır.

Penisilin, streptomisin, gentamisin, vankomisin ve teikoplanin için antibiyotik duyarlılık testi "Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)" [önceki ismi ile; "National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)"] kriterlerine uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile yapılmış, yüksek düzey aminoglikozid direncinin (YDAD) belirlenmesi için streptomisin 300 µg (Oxoid) ve gentamisin 120 µg (Oxoid) diskleri kullanılmıştır<sup>[6]</sup>. Vankomisin ve teikoplanin için şüpheli zon çapı gözlenen suşlar E-test (AB Biodisk, Solna, İsveç) ile yeniden test edilmiştir.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde rutin kalite kontrol önerilerine uygun olarak *E. faecalis* ATCC 29212 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 kontrol suşları kullanılmıştır.

Beta-laktamaz üretimi nitrosefin içeren çubuklar (Oxoid) kullanılarak üretici firma önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir.

İzolatlara ait veriler Windows tabanlı SPSS 11.01 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programında değerlendirilmiştir. Analiz için ki-kare testi kullanılmış,  $p < 0.05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Hastane kökenli infeksiyon tanımlaması, hastaneye yatıştan 48 saat ve daha sonra gönderilen hasta örneklerinden elde edilen izolatlar için yapılmıştır<sup>[7]</sup>.

### BULGULAR

Yüz on üç idrar, 52 yara, 33 kan, 18 dren ve/veya kateter, beş steril vücut sıvısı ve bir solunum sistemi olmak üzere toplam 222 hasta örneği değerlendirilmiştir. İzolatların elde edildiği örneklerin 110 (49.5%)'u bayan, 112 (50.5%)'si erkek hastalardan gönderilmiştir. Yatarak tedavi gören hastaların kayıtları incelenerek bu hastalardan elde edilen izolatların %81.4'ünün hastane kökenli olduğu belirlenmiştir. Tür tayini yapılan 115 izolatın 77 (%67.3)'si *E. faecalis*, 31 (%26.9)'i *E. faecium*, 3 (%2.6)'ü *E. casseliflavus* ve 1 (%0.9)'i *E. durans* olarak belirlenmiştir. Üç izolat (%2.6) için kullanılan sistem ile tür belirlemesi yapılamamıştır. Tanımlanan enterokok türlerinin örneklere göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir

İzolatların hepsi vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunmuştur. İzolatlar genelinde penisilin direnci %50.0 bulunmuştur. Bu oran *E. faecalis* izolatlarında sırasıyla %40.2 ve *E. faecium* izolatlarında ise %70.9 olarak saptanmıştır (Tablo 2).

İzolatların genelinde YDAD, streptomisin ve gentamisin için sırasıyla %54.9 ve %46.8 olarak belirlenmiştir. İzolatların 21 (%9.4)'inde streptomisin ve gentamisin direnci birlikte bulunmuştur. Yüksek düzey streptomisin direnci (YDSD) *E. faecalis* ve *E. faecium*'da sırasıyla %53.2 ve %54.8 iken, yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) sırasıyla %42.8 ve %48.3 olarak saptanmıştır (Tablo 2). YDAD'nde iki enterokok türü arasında istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).

İzolatlarda beta-laktamaz üretimi gözlenmemiştir.

**Tablo 2. Çalışmaya alınan izolatların direnç durumu**

Enterokok türü	P n (%)	CN n (%)	S n (%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	31/77 (%40.2)	33/77 (%42.8)	41/77 (%53.2)
<i>Enterococcus faecium</i>	22/31 (%70.9)	15/31 (%48.3)	17/31 (%54.8)
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1/3		1/3
<i>Enterococcus durans</i>	1/1		1/1
Tanımlanamayan			
Tüm izolatlar	111/222 (%50)	104/222 (%46.8)	122/222 (%54.9)

n: İzolat sayısı, P: Penisilin, CN: Gentamisin, S: Streptomisin.

### TARTIŞMA

Enterokok türleri düşük virülansa sahip olmalarına rağmen tedaviye dirençli, ciddi infeksiyonlara neden olabilmektedir. Enterokok türleri içinde *E. faecalis* klinik örneklerden izole edilen enterokokların %80-90'ını oluşturmaktadır<sup>[2,3]</sup>. Bu çalışmada tür tayini yapılan 115 izolatın 77 (%67.3)'si *E. faecalis*, 31 (%26.9)'i *E. faecium*, 3 (%2.6)'ü *E. casseliflavus* ve 1 (%0.9)'i *E. durans* olarak belirlenmiştir. Üç izolat (%2.6) için kullanılan sistem ile tür belirlemesi yapılamamıştır. Literatürde de, benzer sistemler kullanılarak tür tanımlamasının yapılamadığı yayınlar yer almaktadır<sup>[8,9]</sup>.

Enterokok türlerinde kromozomal olan düşük düzeyde aminoglikozid direnci (DDAD), hücre duvar geçirgenliğinin azalmasıyla ilişkilidir. Aminoglikozid-

**Tablo 1. Tür düzeyinde tanımlaması yapılan enterokok türlerinin örneklere göre dağılımı**

Enterokok türü	İncelenen hasta örneği					Toplam
	İdrar	Yara	Kan	Dren-kateter	Steril vücut sıvısı	
<i>Enterococcus faecium</i>	9	7	10	3	2	31 (%26.9)
<i>Enterococcus faecalis</i>	25	28	13	9	2	77 (%67.3)
<i>Enterococcus casseliflavus</i>		1	2			3 (%2.6)
<i>Enterococcus durans</i>				1		1 (%0.9)
Tanımlanamayan	2			1		3 (%2.6)
Toplam	36	36	25	14	4	115

lerin beta-laktam veya glikopeptid gibi hücre duvarı sentezini engelleyen bir antibiyotik ile kombine edilmeleri halinde hücre duvarı geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak DDAD sorunu ortadan kalkabilmektedir<sup>[2,10]</sup>. Beta-laktam antibiyotikler ile sinerjistik etkinin ortadan kalkmasına yol açarak enterokok infeksiyonlarının tedavisinde sorun oluşturan YDAD ise bifonksiyonel aminoglikozid modifiye edici enzimler yoluyla gerçekleşmekte, daha çok kazanılmış direnç olarak ortaya çıkmaktadır. YDSD adenil transferaz, YDGD ise 2'-fosfotransferaz-6 asetiltransferaz enzimi ile oluşmaktadır. Gentamisin direnci ile birlikte tobramisin, kanamisin, netilmisin ve amikasin de direnç görülmektedir. Buna göre gentamisin direnci, streptomisin dışındaki diğer aminoglikozidler için de iyi bir yol gösterici olmaktadır<sup>[2,4,10]</sup>. YDGD direnci ilk kez 1979 yılında Fransa'dan bildirilmiş, daha sonra tüm dünyada giderek artan sıklıkta tespit edilme-ye başlanmıştır<sup>[4]</sup>. Avrupa Vankomisine Dirençli Enterokok (VDE) Çalışma Grubu'nun gerçekleştirdiği bir çalışmada Türkiye'de, YDGD'nin %48.1 oranında gözleendiği bildirilmiştir<sup>[11]</sup>. Ülkemizden yapılan ulusal bildirimlere göre ise YDSD'nin %18-54, YDGD'nin %9-65 arasında değiştigi gözlenmektedir<sup>[12-20]</sup>. Bizim çalışmamızda, streptomisin ve gentamisin için sırasıyla %54.9 ve %46.8 oranlarında direnç belirlenmiştir. İzolatların 21 (%9.4)'inde streptomisin ve gentamisin direnci birlikte bulunmuştur. YDSD *E. faecalis* ve *E. faecium*'da sırasıyla %53.2 ve %54.8 iken, YDGD sırasıyla %42.8 ve %48.3 olarak saptanmıştır. YDAD'de enterokok türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ). Son yıllarda gentamisine direnç sağladığı halde diğer aminoglikozidlerin sinerjistik etki sağlamasını engellemeyen direnç genleri bulunmuştur. Bu genleri bulduran izolatların yanlışlıkla bifonksiyonel enzim üreticisi olarak tanımlanmaması için yeni tarama testlerine ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir<sup>[10]</sup>.

Ülkemizden yapılan bildirimlere göre penisilin direnç oranlarının %25-68 arasında, geniş aralıkta farklılık gösterdiği gözlenmektedir<sup>[10,13,17,18]</sup>. Bu çalışmada, izolatlarımız genelinde penisilin direnci %50 oranında bulunmuştur. İzolatlarımızda beta-laktamaz üretimi tespit edilememiş, penisilin direncinin düşük afiniteli penisilin bağlayan proteinlere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Penisilinaz üretimine bağlı olmayan penisilin direnci *E. faecium*'da daha sık görülmektedir<sup>[4,21]</sup>. *E. faecalis* izolatlarımızda penisilin direnci %40.2 iken, *E. faecium* izolatlarımızda bu oran %70.9 olarak saptanmıştır.

Enterokok türlerinde vankomisin direnci özellikle Amerika Birleşik Devletleri (ABD) hastanelerinin yoğun bakım ünitelerinde önemli bir tedavi sorunu oluşturmaktadır. Avrupa'da %2-5 olarak bildirilen VDE oranları, ABD'de %13.6'ya yükselmektedir<sup>[11]</sup>. Ülkemizdeki VDE oranı için geniş çaplı, çok merkezli çalışmalar mevcut olmasa da, bu oranın %1-2 olduğu düşünülmektedir<sup>[11]</sup>. Bu çalışmada değerlendirilen 222 izolatta VDE tanımlanmamıştır.

Ciddi enterokokal infeksiyonlarının tedavisinde aminoglikozidlerin, beta-laktam ve glikopeptidlerle kombinasyonu sinerjistik bakterisidal etkinlik sağlamaktadır. Ancak ülkemizde yüksek oranlarda olduğu gözlenen aminoglikozid direnci bu kombinasyonun yararlılığını azaltmaktadır. Beta-laktamlar için izolatlarımızda türler arasında gözlenen direnç farkı ciddi infeksiyonlarda enterokok izolatları için tür düzeyinde tanımlama yapılmasının gerekliliğini vurgulamıştır. İzolatlarımızda henüz glikopeptid direnci görülmemiş olmakla birlikte, ülkemizde artan bildirimleri nedeniyle VDE bakımından dikkatli olunması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Teixeira LM, Facklam RR. Enterococcus. In: Murray PR, Tenover FC, Tenover FC, Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC (eds). Manual of Clinical Microbiology. 8<sup>th</sup> ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 2003:423-33.
2. Pai HC, Kim M. Antimicrobial resistance in enterococci. Yonsei Medical Journal 1998;39:554-61.
3. Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin resistant enterococci. Clin Microb Rev 2000;13:686-707.
4. Barbara E, Murray DM. Diversity among multidrug resistant enterococci. Emerg Infect Dis 1998;4:37-47.
5. Guidelines for the collection, transport, processing, analysis, and reporting of cultures from specific specimen sources. In: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia PA: Lippincott.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; fifteenth Information Supplement. CLSI/NCCLS document M100-S15 [ISBN1-56238-556-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suit 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2005.
7. Gamer JS, Jarwis WR, Emori TG, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections. In: Olmsted RN (ed). APIC Infection Control and Applied Epidemiology: Principles and Practice. St.Louis, 1996:pp.A1-20.
8. Vandamme P, Vercauteren E, Lammens C, et al. Survey of enterococcal susceptibility patterns in Belgium. J Clin Microb 1996;34:2572-6.

9. Feizabadi MM, Asadi S, Aliahmadi A, et al. Drug resistant patterns of enterococci recovered from patients in Tehran during 2000-2003. *Int J Antimicrob Agents* 2004;24:521-2.
10. Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clin Infect Dis* 2000;31:586-9.
11. Schouten MA, Hoogkamp-Korstanje JAA, Meis JFG, Voss A and the European VRE Study Group. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:816-22.
12. Çınar T, Leblebicioğlu H, Sünbül M, Eroğlu C, Esen Ş, Günaydın M. Enterokoklarda yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direncinin araştırılması. *Flora Dergisi* 1999;4:114-9.
13. Kocagöz S, Çetinkaya Y, Uzun Ö, Akova M, Haşcelik G, Ünal S. Hastane infeksiyonlarından izole edilmiş stafilkok ve enterokok suşlarının çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları. *Flora Dergisi* 1997:284-7.
14. Akıncı E, Kılıç H, Karabiber N ve ark. İki hastanın kan kültüründen izole edilen vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşları. *Flora Dergisi* 2002;7:126-8.
15. Çaylan R, Üstünakın M, Kadımov V, Aydın K, Köksal İ. Klinik örneklerden izole edilen enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *ANKEM Dergisi* 2002, 16 (No.2).
16. Akgül S, Sümerkan B. Enterokok türlerinde vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 1999;13:67-70.
17. Başustaoglu A, Özyurt M, Beyan C ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen glikopeptid dirençli *E. faecium*. *Flora Dergisi* 2000;5:142-7.
18. Hoşgör M, Çavuşoğlu C, Tünger A, Özinel MA, Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci. *İnfeksiyon Dergisi* 1997;11:7-9.
19. Ünlü M, Ünlü G, Bakıcı MZ, Şahin A. Klinik örneklerden soyutlanan *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere direnci. *İnfeksiyon Dergisi* 2002;16:471-5.
20. Kaçmaz B, Altan A. Antimicrobial resistance of enterococci in Turkey. *Int J Antimicrob Agents* 2005:535-8.
21. Huycke MM, Sahm DF, Gilmore MS. Multiple drug resistant enterococci: The nature of the problem and an agenda for the future. *Emerg Infect Dis* 1998;4:239-49.

**Yazışma Adresi:**

Yrd. Doç. Dr. Füsün CÖMERT

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Kozlu-ZONGULDAK

e-mail: fusbeg@yahoo.com

Makalenin Geliş Tarihi: 22.03.2006

Kabul Tarihi: 01.02.2007