

ENTEROKOKLarda AMİNOGLİKOZİD VE VANKOMİSİN DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

Ayşe YÜCE*, Aydan ÖZKÜTÜK**, Zeynep GÜLAY**, Nuran YULUĞ**

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

ÖZET

Cesitli klinik örneklerden izole edilen 60 enterokok siğumun 56'sı (%93) *E. faecalis*, 4'u (%7) *E. faecium* olarak identifiye edilmiştir. Bu suşlarmın bazı aminoglukozidlere ve vankomisine karşı direnç durumları National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) önerilerine uyularak mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır. Vankomisine dirençli köken saptanmamıştır. *E. faecalis* suşlarının 50'si gentamisine, 49'u tobraamisine ve 34'u amikasine, *E. faecium* suşlarının ise tamamı tüm aminoglukozidlere dirençli bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Enterokok, aminoglukozid, vankomisin

SUMMARY

In this study, we examined 60 *enterococcus* strains which were isolated from various clinical materials. 56 *E. faecalis* (93%), 4 *E. faecium* (7%) were the species most frequently isolated. Susceptibility testing to some aminoglycoside and vancomycin for *enterococcus* strains were assessed by the NCCLS microdilution assay. None of strains were found resistant for vancomycin. Resistance against gentamicin, tobramycin and amikacin were determined in 50, 49 and 3 of *E. faecalis* strains respectively. All of the *E. faecium* strains were found resistant against to all aminoglycosides.

Key words: *Enterococcus*, aminoglycoside, vancomycin

Enterokoklar insanlarda başlica idrar yolu infeksiyonları olmak üzere bakteriyemi, menenjit, endokardit, intraabdominal-pelvik infeksiyonlar, deri ve yumuşak doku infeksiyonları, nadiren de pnömoni ve osteomyelit etkeni olarak karşımıza çıkılmaktadır. Nosokomiyal infeksiyonlara da sıkılıkla yol açan enterokokların son yıllarda önemi giderek artmıştır. Enterokoklar nosokomiyal infeksiyon etkenleri arasında ikinci, bakteriyemi etkenleri arasında ise üçüncü sırada yer almaktadır (1-4).

Hastanelerde uzun süreli yatiş, çeşitli invaziv girişimler, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımı ve immunosupresyon gibi olumsuzluklar hastane infeksiyonlarında artışa neden olmaktadır.

Ayrıca enterokokların uygunsuz koşullarda dahi üreyebilmesi hastane malzemelerinde uzun süre canlı kalabilmelerine ve sağlık personeli aracılığı ile hastadan hastaya taşınılmasına yol açar.

Enterokokları önemli kıtanın diğer bir nokta da son yıllarda bu etkenin bir çok antibiyotiğe karşı belirgin bir direnç artışı göstermesidir. Özellikle *E. faecium*'un çoklu direnç göstermesi tedavide büyük sorun yaratmaktadır (1,2,4,5).

Çalışmamızda Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi servis ve polikliniklerinden Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen örneklerden izole ettigimiz enterokokları tiplendirmeyi ve bunların aminoglukozidler ile vankomisine duyarlılığını saptamayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çeşitli hasta örneklerinden izole edilen 60 enterokok suşu incelemeye alındı. Kanlı agarda alfa, beta ya da gama hemoliz yapmış kolonilerden, katalaz negatif bulunan, gram boyamada gram pozitif kok morfolojisinde görünüm veren bakteriler %6,5'luk NaCl'lu besiyerlerindeki üreme, Bile Esculin Mediumda eskülini hidrolize etme özelliklerine ve "Oxoid Diagnostic Reagents Streptococcal Grouping Kit" test ile enterokok olarak değerlendirildi. Daha sonra suşların mannos, sukroz, sorbitol, arginin ve arabinoz gibi şekerleri parçalayabilme özelliklerine göre tür tayini yapıldı (6,7).

Izole edilen 60 suşun gentamisin, tobramisin, amikasin ve vankomisine karşı duyarlılıklarını Mueller-Hinton sıvı besiyerinde NCCLS standartına uygun olarak mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı (1,8). Antibiyotik duyarlılık oranları aminoglikozidler ve vankomisin için 0,5-256 μ g/ml konsantrasyonları arasında hazırlanıp gentamisin için 256 μ g/ml değerinde direnç bulunanlar yüksek düzey direnç yönünden 512 μ g/ml konsantrasyonunda da çalışıldı.

BULGULAR

İdrardan 51, yara infeksiyonlarından 7 ve hemokültürden 2 olmak üzere izole edilen toplam 60 enterokok suşunun 56'sı (%93) *E. faecalis* ve 4'ü de (%7) *E. faecium* olarak tiplendirildi. *E. faecalis* suşlarının değişik aminoglikozidlere duyarlılıkları değerlendirildiğinde suşların %89'u (50/56) gentamisine, %88'i (49/56) tobramisine,

%61'i (34/56) amikasine dirençli saptandı. *E. faecium* için duyarlılık düzeyine baktığımızda suşların tümü üç aminoglikozide de dirençli olarak bulundu. Suşların hiç birinde vankomisin direncine rastlanmadı. Üçü *E. faecalis* ve ikisi *E. faecium* olmak üzere beş suşta gentamisine karşı yüksek düzeyde direnç ($\geq 500\mu$ g/ml) saptandı. Enterokok suşlarının bazı aminoglikozidlere karşı direnç durumları Tablo I'de, MIK değerleri ise Tablo II'de gösterilmiştir.

MIK değerlerine bakıldığında *E. faecalis* suşlarında MIK 50 değeri gentamisine için 64 μ g/ml, tobramisine için 16 μ g/ml, amikasine için 32 μ g/ml ve vankomisine için de 4 μ g/ml bulundu. *E. faecium* suşlarında ise gentamisine için 128 μ g/ml, tobramisine ve amikasine için 64 μ g/ml ve vankomisine için 1 μ g/ml bulundu. *E. faecalis* suşlarında aminoglikozidlere direnç yönünden anlamlı bir fark olup olmadığı Mc Nemar testi ile araştırıldı (SPSS 6.0 versiyonu). Sonuç olarak *E. faecalis* suşlarında duyarlılık yönünden amikasin-gentamisin ve amikasin-tobramisin arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p:0.0002$ ve 0.0004). Gentamisin ve tobramisin arasında ise anlamlı bir fark görülmeli ($p:1.0000$).

Tablo I. Enterokok suşlarının aminoglikozidlere direnç durumları

Çalışılan Suş sayısı	Gentamisin (%)	Tobramisin (%)	Amikasin (%)
<i>E. faecalis</i> 56	50 (89)	49 (88)	34 (61)
<i>E. faecium</i> 4	4 (100)	4 (100)	4 (100)

Tablo 11. Enterokok suşlarında vankomisin ve aminoglikozidlerin MIK değerleri

Antibiyotikler	<i>E. faecalis</i>		<i>E. faecium</i>	
	MIK Dağılım µg/ml	MIK 50 µg/ml	MIK Dağılım µg/ml	MIK 50 µg/ml
Gentamisin	1-512≤	64	32-512≤	128
Tobramisin	1-256≤	16	64-256≤	64
Amikasin	1-256≤	32	64-256≤	64
Vankomisin	1-8≤	4	1-4≤	1

TARTIŞMA

Son yıllarda hem hastane infeksiyonlarından en sık izole edilen etkenlerden biri olması, hem de çeşitli antibiyotiklere karşı gittikçe artan bir direnç göstermesi nedeniyle enterokoklar üzerindeki ilgi artmıştır. Çeşitli salgınlarda bazı suşların çoğul direnç gösterdiği de bildirilmiştir (2).

Enterokoklarda aminoglikozidlere düşük düzeyde intrensek direnç vardır. Bu direnç aminoglikozidin hücre duvarından penetre olmamasına bağlıdır. Bu nedenle aminoglikozidlerin hücre duvarına etkili penisilin ve vankomisin gibi ajanlarla birlikte kullanımı tedavide başarı şansını artırmaktadır. Ancak son yıllarda intrensek direncin yanında kazanılmış direnç sorunu da ortaya çıkmaya başlamıştır. Nitekim aminoglikozidlere karşı gelişen yüksek düzeyde dirençte bu kazanılmış direncin büyük önemi olduğu vurgulanmaktadır. Bu nedenle de hücre duvarına etkili ilaç ile aminoglikozid kombinasyonundaki tedavi başarısı oranı düşmeye başlamıştır. Öte yandan bazı enterokok suşlarının beta-laktamaz üretmesinin de hücre duvarına etkili beta-laktam ajanlarının etkisini azalttığı belirtilmektedir (4).

Gram pozitif koklarda gentamisin direncini AAC (6) enzimi gösterdiği için bu suşların tüm

aminoglikozidlere dirençli olduğu kabul edilir. Aminoglikozidlere karşı görülen dirençte modifiye edici enzimlerin oluşturulması, bunların plasmid ve transpozonlarda da taşınımı olayı alevlendirmekte ve hastaneler arası yayılımlara sebep olabilmektedir (2-5,9-12).

Çalışnamızda *E. faecalis* için gentamisine %89, tobramisine %88, amikasine %61 oranlarında direnç saptanırken *E. faecium* suşlarında üç aminoglikozide de %100 oranında direnç bulundu. Dirençli suşlardan üçü *E. faecalis*, ikisi de *E. faecium* olmak üzere beşinde (%8.3) gentamisine karşı yüksek düzeyde direnç saptandı. Ülkemizdeki direnç durumlarına baktığımızda Öztürk ve arkadaşları (13) çalışmasında %11.2 direnç bulurken, Akan ve arkadaşlarının çalışmasında da %13.3 oranında direnç bulduğunu belirtmektedir. Çırak ve ark.'ları (14) ise %20 oranında gentamisine yüksek düzeyde direnç saptadıklarını bildirmektedir. Avrupa'daki direnç durumlarını incelediğimizde çok merkezli bir çalışmada (15) tüm enterokok suşlarının yalnızca %21'inin gentamisine duyarlı olduğu görülmektedir.

Özellikle beta-laktam + aminoglikozid kombinasyonunda başarısız kalındığında kullanılacak en güçlü ajanlar vankomisin ve

teikoplanındır. Ancak son yıllarda bazı merkezlerden bu ajanlara karşı da direnç gelişimi bildirilmektedir (2,4,16,17). Bizim çalışmamızda vancomisin dirençli suça rastlanmamıştır.

Sonuç olarak enterokok infeksiyonlarının ampirik

sağaltımında gerekli invitro duyarlılık testleri alındıktan sonra ve de infeksiyon bölgesinde göz önünde bulundurularak erken ve uygun tedavi başlatılmasının sağaltımın başarısını önemli ölçüde etkileyebilecegi görüşüne ulaştık.

KAYNAKLAR

1. Facklam RR, Sahm DF. *Enterococcus*. Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, Tenover PC, Yolken RH (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 6th Ed., ASM Press, Washington, 1995;308.
2. Sader HS, Phaller AM, Tenover CF, Hollis RJ, Jones RN. Evaluation and Characterization of Multiresistant *Enterococcus faecium* from 12 U.S. Medical Centers: J Clin Microbiol 1994; 32:2840-2842.
3. Söyletir G, Çerikçioğlu N. Streptokok infeksiyonları. Topcu AW (ed): Infeksiyon Hastalıkları, 1996; 334-335.
4. Babacan E. Coğul Dirençli Enterokok Infeksiyonları: Antimikrobik Kemoterapi Günleri, 1997; 31: 378-385.
5. Sahm DF, Angoor SB, Schulz JE. Detection of Highlevel Aminoglycoside Resistance in *Enterococci* Other Than *Enterococcus faecalis*: J Clin Microbiol 1991; 29:2595-2598.
6. Muellering RC. *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* and *Leuconostoc* species. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Infectious Diseases*, 4th ed. Churchill-Livingstone, New York, 1995; 1826
7. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: *Diagnostic Microbiology* 5th ed., Lippincott Co, Philadelphia 1997; 616-618.
8. Detection of Resistant *Enterococci*. NCCLS 1997; M2-A4.
9. Sahm DF, Torrest C. High-content Aminoglycoside Disks for Determining Aminoglycoside-Penicillin Synergy against *Enterococcus faecalis*; J Clin Microbiol 1988;26: 257-260.
10. Sahm DF, Gilmore M. Transferability and Genetic Relatedness of High-level Gentamicin Resistance among *Enterococci*: Antimic Agents Chemother 1994; 35: 1194-1196
11. Sahm DF. Factors Influencing Determination of High-level Aminoglycoside Resistance in *Enterococcus faecalis*: J Clin Microbiol 1991; 29: 1934-1939.
12. Sahm DF, Torres C. Effects of Medium and Inoculum Variations on Screening for High-level Aminoglycoside Resistance in *Enterococcus faecalis*: J Clin Microbiol 1988; 26: 250-256.
13. Öztürk R, Eroğlu C, Köksal E, Mert A, Aygün G. Enterokoklarda Antibiyotiklere Direnç ve Yüksek Düzeyde Gentamisin Direnci. Ankem Derg 1995; 9: 351-354.
14. Çirak MY, Sultan N. Prevalance of high level aminoglycoside and vancomycin resistance among *enterococci* in Turkey. Acta Microbiol Pol 1998; 47: 267-73.
15. Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC. Prevalance of aminoglycoside resistance in 20 European university hospitals participating in the European

- SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1999 Jun; 18: 414-421.
16. Vural T, Şekercioğlu AO, Oğunc D ve ark'ları. Birlikte ikinci hastadan izole edilen vancomisine dirençli *Enterococcus faecalis/laevis* suşları. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi özet kitabı: 1998: 12-185 no'lu bildiri.
17. Şekercioğlu AO, Vural T, Oğunc D ve ark'ları. Klinik örneklerden izole edilen enterokok türlerinin identifikasiyonu, antibiyotiklere duyarlılıklar, yüksek düzey gentamisin direnç özelliklerinin ve beta laktamaz aktivitelerinin araştırılması. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi özet kitabı: 1998: 12-182 no'lu bildiri.