

KISA BİLDİRİ:
YOĞUN BAKIM VE ONKOLOJİ-HEMATOLOJİ HASTALARINDA
GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE KOLONİZE OLAN ENTEROKOK
TÜRLERİ VE VANKOMİSİNE DİRENÇ PROFİLLERİ

SHORT COMMUNICATION:
ENTEROCOCCUS SPP. COLONIZED IN THE GASTROINTESTINAL TRACT
 OF PATIENTS IN HEMATO-ONCOLOGY AND INTENSIVE CARE UNITS AND
 THEIR RESISTANCE PROFILES TO VANCOMYCIN

Özlem MENTEŞ¹, İclal BALCI¹

ÖZET: Bu çalışmanın amacı, hastanemizde ilk kez yapılan süveyans çalışması kapsamında, vankomisine dirençli enterokok (VRE) kolonizasyonu için risk grubu olan hastalarda enterokok türlerinin araştırılması ve vankomisine direnç profillerinin belirlenmesidir. Mart-Aralık 2006 tarihleri arasında Cerrahi ve Dahili Yoğun Bakım, erişkin Onkoloji-Hematoloji ve Pediatrik Onkoloji bölümlerinde yatmakta olan toplam 180 hastadan ayda bir kez olmak üzere alınan rektal sürüntü örneklerinin kültürleri safraskülin besiyerinde yapılmıştır. İzolatların tür düzeyinde tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi, Miniapi (bioMerieux, Fransa) cihazında, sırasıyla Rapid ID 32 Strep (bioMerieux, Fransa) ve ATB Enterococcus (bioMerieux, Fransa) kitleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MİK düzeyleri, beyin-kalp infüzyon agar (Merck, Fransa) besiyerinde vankomisin E-test (AB Biodisk, İsveç) şeritleri kullanılarak araştırılmıştır. Kültür sonuçlarına göre, 126 (%70) hastanın enterokok türleri ile kolonize olduğu saptanmış, en sık izole edilen türler ise sırasıyla *E.faecium* (%42), *E.faecalis* (%31), *E.avium* (%12), *E.gallinarum* (%8) ve *E.casseliflavus*, (%5.6) olarak belirlenmiştir. *E.faecium* izolatlarından dördü (%3.2) antibiyogram ve E-test sonuçlarına (MİK>256 mg/ml) göre vankomisine dirençli olarak bulunmuş ve polimeraz zincir reaksiyonu ile hepsinin VanA genotipinde oldukları saptanmıştır. Nitrosefin (Remel, ABD) diski ile suşların hiçbirisinde beta-laktamaz üretimi tespit edilmemiştir. Çalışmamızda enterokok ve VRE kolonizasyon oranları sırasıyla %70 ve %3.2 olarak bulunmuş, VRE ile kolonize hastaların takibinde VRE'ye bağlı enfeksiyon ortaya çıkmamıştır. Sonuç olarak, hastane ortamında VRE yayılımının engellenmesi için merkezlerde süveyans kültürlerinin düzenli olarak alınması, hastane çalışanlarına gerekli eğitimin verilmesi, vankomisin ve sefalosporin kullanımının kontrol altına alınması ve mikrobiyoloji laboratuvarı ile servisler arasında iyi bir işbirliğinin sağlanması gereklidir.

Anahtar sözcükler: Vankomisine dirençli enterokoklar, gastrointestinal kolonizasyon, yoğun bakım hastaları, E-test.

ABSTRACT: The aim of this study was to identify the *Enterococcus* spp. and to determine their vancomycin-resistance profiles, in the samples collected from the patients who were described as risky groups for vancomycin-resistant enterococcal

¹ Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep. (ozlementes@yahoo.com)

(VRE) colonization, in scope of a survey study carried out in our hospital for the first time. Rectal swab samples were taken once in a month from a total of 180 patients who were hospitalized in the Surgery and Intensive Care Units, adult Oncology-Hematology and Pediatric Oncology Units between March - December 2006. The samples were cultivated onto bile-esculine agar media, and Miniapi system (bioMerieux, France) was used for the identification at species-level (Rapid ID 32 Strep kit, bioMerieux, France) and for the detection of antimicrobial susceptibilities (ATB Enterococcus kit, bioMerieux, France). MIC levels have been determined by the use of vancomycin E-test (AB Biodisk, Sweden) strips in brain-heart infusion agar (Merck, France). According to the culture results, 126 of the patients (70%) have been found to be colonized with *Enterococcus* spp. The most frequently isolated species were as follows respectively; *E.faecium* (42%), *E.faecalis* (31%), *E.avium* (12%), *E.gallinarum* (8%) and *E.casseliflavus*, (5.6%). Four of the *E.faecium* strains (3.2%) were found resistant to vancomycin by both automated antibiotic susceptibility test system and E-test (MIC>256 mg/ml). Vancomycin-resistant strains have been identified as being VanA genotypes by polymerase chain reaction. Beta-lactamase production has not been detected in any one of the strains with the use of nitrocephin (Remel, USA) disk. As a result the colonization rates of enterococcal species and VRE were found as 70% and 3.2%, respectively in our patients. Infections with VRE have not been detected in colonized patients during the follow-up period. In conclusion, in order to detect and prevent the spread of VRE, surveillance cultures should be regularly performed from hospitalized patients, in collaboration with educational studies for hospital personel, controlling the use of vancomycin and cephalosporins and cooperation between microbiology laboratories and inpatient clinics.

Key words: Vancomycin-resistant enterococcus, gastrointestinal colonization, intensive care unit patients, E-test.

GİRİŞ

Enterokoklar; çevre koşullarına dayanıklı olmaları, sefalosporinler, aminoglikozidler, sülfametoksazol, makrolidler gibi bazı antibiyotiklere doğal direnç göstermeleri, penisilinlere azalmış duyarlılıkları ve ortamda yaygın bulunmaları nedeniyle yıllar içinde önem kazanmış, çok çeşitli enfeksiyonlara yol açan bakterilerdir¹. Enterokoklar düşük virülansa sahip olmalarına rağmen, son yıllarda plazmid ve transpozonları sayesinde belirgin bir direnç kazanmışlardır. Bunlar arasında en önemlilerinden biri yüksek düzey glikopeptid direncidir². Doğal direncin yanında kazanılmış direncin de aynı bakteride bulunabilmesi, ciddi enfeksiyonların tedavisinde zorluklara ve mortalite oranının artmasına neden olmaktadır³. En büyük sorun ise vankomisine dirençli enterokoklarda (VRE) bulunan direnç genlerinin stafilokok türleri gibi diğer gram pozitif mikroorganizmalara geçirilebilmesidir^{4,5}. VRE için risk faktörleri arasında malignite, nötropeni, intraabdominal cerrahi, gastrointestinal kolonizasyon, hastanede yatış süresinin uzaması, yoğun bakım, diyaliz, transplantasyon ve hematoloji-onkoloji ünitelerinde yatış, antineoplastik tedavi, vankomisin ve ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporin kullanımı bulunmaktadır^{4,6}.

Hastanede yatan hastalarda VRE kolonizasyonunun erken tespiti, enfeksiyonların kontrolünde çok önemlidir. Dışkı ya da rektal sürüntü kültürleri VRE kolonizasyonunu tespit etmede altın standart olarak kabul edilmektedir⁷.

Bu çalışmada, yoğun bakım ve onkoloji-hematoloji hastalarının gastrointestinal sistemlerinde kolonize olan enterokok türleri ve vankomisine direnç profillerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya, Mart-Aralık 2006 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde, Cerrahi ve Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi (YBÜ), erişkin Onkoloji-Hematoloji ve Pediatrik Onkoloji bölümlerinde yatmakta olan toplam 180 hasta alındı. Hastalardan ayda bir kez olmak üzere, Carry-Blair taşıma besiyerine alınan rektal sürüntü örnekleri laboratuvara ulaştırıldı ve bekletilmeden safra-eskülin (SE) agar plaklarına ekildi. 35°C'de 24 saat inkübasyondan sonra üreyen siyah renkli şüpheli kolonilere Gram boyama, katalaz, PYR hidrolizi ve %6.5 NaCl'de üreme testleri yapıldı. Sonuçları enterokok için olumlu kolonilerin pasajları yapılarak saf kültürleri elde edildi. Bakteriler Miniapi (bioMerieux, Fransa) cihazına alınarak tür düzeyinde tanımlama (Rapid ID 32 Strep, bioMerieux, Fransa) ve antimikrobiyal duyarlılık testleri (ATB Enterococcus, bioMerieux, Fransa) yapıldı. Vankomisine dirençli olarak bulunan suşlara beyin-kalp infüzyon agarda (Merck, Fransa) E-test (AB Biodisk, İsveç) uygulandı ve MİK değerleri tespit edildi. E-test sonuçlarına göre vankomisine dirençli olarak bulunan dört *E.faecium* suşunun genotiplendirmesi Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları bölümünde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile yapıldı. Beta-laktamaz üretimini araştırmak amacıyla nitrosefin (Remel, ABD) diskleri kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 180 hastanın 126'sından (%70) enterokok türleri izole edilmiştir. İzolatların 53'ü (%42) *E.faecium*, 39'u (%31) *E.faecalis*, 15'i (%12) *E.avium*, 10'u (%8) *E.gallinarum*, 7'si (%5.5) *E.casseliflavus* ve birer (%0.8) adedi *E.hirae* ve *E.durans* olarak belirlenmiştir. *E.faecium* suşlarının 4'ü (%3.2) antibiyogram ve E-test (MİK>256 mg/ml) ile vankomisine dirençli bulunmuş ve VanA genotipinde oldukları saptanmıştır. Suşlarda beta-laktamaz üretimi tespit edilmemiştir.

VRE suşlarının ikisi YBÜ'nde, ikisi ise erişkin Onkoloji Ünitesinde yatan hastalardan izole edilmiştir. Bu hastaların birisi akut lenfoblastik lösemi (ALL) nedeniyle immün süpresif tedavi alan; by-pass operasyonu geçiren diğeri ise operasyon öncesi ve sonrası üçüncü kuşak sefalosporin, aminoglikozid, vankomisin tedavisi alan olgulardır. Onkoloji bölümündeki hastaların ikisi de testis tümörlü hastalar olup, immün süpresif ilaç, üçüncü kuşak sefalosporin, aminoglikozid ve radyoterapi almaktadırlar.

TARTIŞMA

Vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşları ilk kez 1986 yılında Avrupa'dan bildirilmiş ve takip eden yıllarda dünyanın birçok bölgesinden rapor edilmiştir⁷. Ülkemizde ise ilk VRE suşu 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi

tarafından bildirilmiştir⁸. VRE kolonizasyonu ile immün süpresif ilaç, vankomisin ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı arasındaki ilişki birçok araştırma ile gösterilmiştir⁹⁻¹³. İsrail’de yapılan bir çalışmada, yoğun bakım ünitesindeki hastaların %23’ünde, diyalize giren hastaların %4.3’ünde VRE kolonizasyonu saptanmış, bu hastaların uzun süreli antibiyotik (özellikle vankomisin) kullandığı tespit edilmiştir⁹. Bir başka çalışmada, cerrahi YBÜ’nde VRE kolonizasyonu %12 olarak bulunmuş ve ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporin kullanımı, uzun süre hastanede yatış, solid organ transplantasyonu ve YBÜ’nde yatış risk faktörleri olarak tespit edilmiştir¹⁰. Yurtdışından bildirilen VRE kolonizasyon oranları bizim sonuçlarımıza göre daha yüksektir^{9,10,12,13}. Bunun sebepleri arasında, Avrupa’da hayvan yemlerinde avoparsin, Amerika’da aşırı antibiyotik özellikle vankomisin kullanımının olduğu bilinmektedir⁸. Ülkemizde hayvan yemlerinde avoparsin kullanımına dair yeterli veri olmaması nedeniyle bu konuda yorum yapılamamaktadır. Çalışmamızda belirlenen %3.2 oranındaki VRE kolonizasyonunun, tedavide kullanılan immün süpresif ve antimikrobiyal ajanlara bağlı olarak geliştiği düşünülmüştür.

Yapılan çalışmalar, hastanede yatan hastalarda *E.faecium*’un *E.faecalis*’e oranla daha sık izole edildiğini ve vankomisin direncinin *E.faecium*’da daha yüksek olduğunu bildirmektedir¹¹⁻¹³. Çalışmamızda da, kolonize hastaların %42’sinde *E.faecium*, %31’inde *E.faecalis* saptanmış ve vankomisin direncinin saptandığı suşların tümünün *E.faecium* olduğu görülmüştür. Ülkemizden bildirilen VRE izolatlarının tümü, en sık rastlanan direnç tipi olan VanA genotipine sahiptir^{8,14,15}. Çalışmamızdaki vankomisin dirençli *E.faecium* suşlarının da hepsi VanA genotipinde bulunmuştur.

Antibiyotik kullanımının sonlandırılmasını takiben VRE kolonizasyonunun 1-2 ay hatta 1 yıla kadar devam ettiği ve bu hastaların ikinci kez hastaneye yattıklarında önemli bir rezervuar olduğu belirtilmektedir⁷. Çalışmamızda Onkoloji ünitesinde VRE saptanan hastaların birinde, taburcu olduktan 3 ay sonra ikinci kez hastaneye yattığında tekrarlanan sürüntü kültüründe kolonizasyonun eradike olduğu tespit edilmiştir. Buna göre VRE ile kolonize hastaların tedavi edilmesinin anlamlı olmadığı, risk faktörlerinin ortadan kalkmasıyla kolonizasyonun da ortadan kalkacağı söylenebilir. VRE ile kolonize hastalarda izolasyon ve bariyer önlemlerinin alınmasının, yayılımı önlemede yeterli olduğu bilinmektedir.

Amerika’da yapılan bir çalışmada, VRE ile kolonize hastaların %13.4’ünde VRE bakteriyemisi geliştiği tespit edilmiş ve mortalite oranının yüksek (%60-70) olduğu bildirilmiştir¹⁶. Çalışmamızda, VRE ile kolonize hastalarda takip sırasında VRE’ye bağlı enfeksiyon görülmemesi olumlu bir sonuçtur. Günümüzde VRE tedavisi için etkinliği kanıtlanmış uygun bir antibiyotik seçeneğinin olmaması, bu bakterilerin hastane ortamında yayılımının engellenmesi üzerindeki çabaların yoğunlaşmasına neden olmaktadır¹⁴. Sonuç olarak, gelecekte ülkemizde de ciddi problemlere yol açacağı öngörülen VRE suşlarının erken tespiti için, her merkezde sürveyans kültürlerinin düzenli olarak alınması, tüm hastane çalışanlarının konunun önemi ile ilgili bilgilendirilmesi, vankomisin belirlenen endikasyonları dışında kullanılmaması, sefalosporin kullanımının kısıtlanması

ve Enfeksiyon Kontrol Komitesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarları ve servisler arasında iyi bir iletişim ve işbirliğinin sağlanması yayılımın önlenmesinde en etkin çözümler gibi görünmektedir.

TEŞEKKÜR

Suşlarımızın genotiplendirmesini yapan Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesi öğretim üyesi Sayın Dr.Pınar Zarakolu ve arkadaşlarına teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Arıkan Ö. Enterokok türlerinin mikrobiyolojisi, s: 5-9. Çetinkaya Y (ed), Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar. Vankomisine Dirençli Enterokoklar. 2004, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
2. Ersoy Y, Bayraktar M, Fırat M, Yağmur M, Durmaz R. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. Ankem Derg 2005; 19: 92-6.
3. 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.
4. Başustaoglu A. Enterokoklarda vankomisin direnci. 6. Antimikrobik Kemoterapi Günleri. Klinik-Laboratuvar Uygulamaları ve Yenilikler. İstanbul 2004. Program ve Özet Kitabı, s: 16-21.
5. Recommendations for the control of vancomycin-resistant enterococcus (VRE). In: Healthcare Facilities in Georgia, with a Focus on Long-Term Care. The Georgia VRE Task Force in conjunction with The Division of Public Health Georgia Department of Human Resources. February 1998.
6. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR Recomm Rep 1995; 44 (RR-12): 1-13.
7. De Lisle S, Perl TM. Vancomycin-resistant enterococci: a road map on how to prevent the emergence and transmission of antimicrobial resistance. Chest 2003; 123: S504-18.
8. Gültekin M, Günseren F. Vankomisin dirençli enterokoklar. Hastane Enfeksiyonları Derg 2000; 4: 195-204.
9. Dan M, Poch F, Leibson L, et al. Rectal colonization with vancomycin-resistant enterococci among high risk patients in Israeli hospital. J Hosp Infect 1999; 43: 231-38.
10. Ostrowsky BE, Venkataraman L, D'Agata EMC, et al. Vancomycin-resistant enterococci in intensive care units. Arch Intern Med 1999; 159: 1467-72.
11. Sümerkan B. Vankomisine dirençli enterokoklar, s: 329-34. Sterilizasyon, Dezenfeksiyon ve Hastane Enfeksiyonları. Samsun Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Araştırmaları Derneği, 2002. Samsun.
12. Endtz HP, van den Braak N, van Belkum A, et al. Fecal carriage of vancomycin-resistant enterococci in hospitalized patients and those living in the community in the Netherlands. J Clin Microbiol 1997; 35: 3026-31.
13. Kolar M, Pantucek R, Vagnerova I, et al. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in hospitalized patients and those living in the community in the Czech Republic. New Microbiol 2006; 29: 121-5.
14. Ulusoy S. Yoğun bakım ünitesinde gram-pozitif mikroorganizmalar ve direnç sorunu. Yoğun Bakım Derg 2003; 2: 118-23.
15. Ulusoy S, Arda B. Dirençli pnömokok ve enterokok enfeksiyonları ve sağaltımı, s: 58-65. Yüce A, Çakır N (ed), Hastane Enfeksiyonları. 2003, Güven Kitapevi, İzmir.
16. Zaas AK, Song X, Tucker P, Perl TM. Risk factors for development of vancomycin-resistant enterococcal bloodstream infection in patients with cancer who are colonized with vancomycin-resistant enterococci. Clin Infect Dis 2002; 35: 1139-46.