

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Prof. Dr. Feriha ÇİLLİ

***EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ'NDE 2001-2011
YILLARI ARASINDA VANKOMİSİN DİRENÇLİ
ENTEROKOKLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ***

UZMANLIK TEZİ

Dr. Alp ASLAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Feriha ÇİLLİ

İZMİR - 2013

TEŐEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını ve anlayışını hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Feriha illi'ye, uzmanlık eğitimimde emeği bulunan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki sayın hocalarıma, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli asistan arkadaşlarıma, mikrobiyoloji eğitimim boyunca dostluk ve yardımlarına minnettar olduğum tüm mikrobiyoloji çalışanlarına çok teőekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında, önerileri ve bilgilerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Ramazan İnci ve istatistik analiz hesaplamalarında yardımlarından dolayı Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan Dr. Sezgin Sevim'e ve Microsoft Excel programı hakkında bilgisi ve desteklerinden dolayı anabilim dalımız sağlık teknisyenlerinden Ercan Özdemir'e ayrıca teőekkürlerimi sunarım.

Dr. Alp Aslan

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR.....	v
TABLO DİZİNİ.....	vi
ŞEKİL DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1 MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER.....	2
2.2 BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNE GÖRE ENTEROKOK TÜRLERİNİN TANIMLANMASI	4
2.3 ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ.....	5
2.3.1 Penisilin ve Ampisilin Direnci.....	5
2.3.2 Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci.....	6
2.3.3 Glikopeptid Antibiyotiklere Direnç.....	7
2.3.4 Vankomisin Bağımlı Enterokoklar.....	10
2.4 PATOGENEZ VEİRÜLANS FAKTÖRLERİ.....	10
2.5 EPİDEMİYOLOJİ VE KLİNİK ÖNEMİ.....	11
2.5.1 Enterokoklarla İlişkili Hastalıklar.....	11
2.5.2 Dünyada ve Ülkemizde VRE Enfeksiyonları.....	11
2.5.3 VRE Enfeksiyonlarında Tedavi.....	12
2.5.4 Rezervuarlar, Bulaş Yolları.....	13
2.5.5 VRE Enfeksiyonu Gelişimi Açısından Yüksek Riskli Kişiler.....	14
2.5.6 Enfeksiyon Kontrol Önlemleri.....	14

3. GEREÇ YÖNTEM.....	17
4. BULGULAR.....	20
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	34
6. ÖZET.....	41
7. SUMMARY.....	42
8. KAYNAKLAR.....	43

KISALTMALAR

VRE : Vankomisine dirençli enterokok

PYR : Pirrolidonil- β -naftilamid hidroliz testi

LAP : L \ddot{o} sin aminopeptidaz

MGP : Metil- α -d-glikopiranozid

PBP : Penisilin bağlayıcı proteinler

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

HICPAC: "The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee"

CDC : "Centers for Disease Control and Prevention"

KA : Koyun Kanlı Agar

EMB : Eosin Methylen Blue Agar

CLSI : "Clinical and Laboratory Standards Institute"

EUCAST: "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing"

MİK : Minimal İnhibitör Konsantrasyon

YDAD : Yüksek düzey aminoglikozid direnci

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Fakültatif anaerobik, katalaz negatif, gram olumlu kokların fenotipik özellikleri

Tablo 2. Enterokok türlerinin biyokimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması

Tablo 3. Yüksek düzey aminoglikozid direnci araştırılmasında kullanılan ve temsil ettiği antimikrobiyal ajanlar

Tablo 4. Glikopeptid dirençli enterokokların özellikleri

Tablo 5. Disk difüzyon yönteminde duyarlılıkları araştırılan ajanlar, disk içerikleri ve zon çaplarının değerlendirilmesi

Tablo 6. Enterokoklarda glikopeptid MİK sınır değerleri

Tablo 7. VRE açısından incelenen kişilerin cinsiyet dağılımı

Tablo 8. VRE yönünden incelenen tarama ve hastalık örneklerinin dağılımı

Tablo 9. VRE yönünden incelenen örneklerin kültür sonuçları

Tablo 10. VRE yönünden incelenen tarama ve hastalık örneklerinin yıllara göre dağılımı

Tablo 11. VRE soyutlanan enfekte ve rektal kolonizasyon olgularının yıllara göre dağılımı

Tablo 12. Hastalık ve tarama örneklerinden soyutlanan VRE türleri

Tablo 13. VRE soyutlanan olguların kliniklere göre dağılımı

Tablo 14. VRE soyutlanan hastalık örnekleri

Tablo 16. Teikoplanin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı

Tablo 17. Glikopeptid dirençli bulunan enterokoklarda vankomisin MİK değerleri dağılımı

Tablo 18. Glikopeptid dirençli bulunan enterokoklarda teikoplanin MİK değerleri dağılımı

Tablo 19. Yüksek düzey gentamisin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı

Tablo 20. Yüksek düzey streptomisin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı

Tablo 21. Penisilin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı

Tablo 22. Linezolid direnç oranlarının yıllara göre dağılımı

Tablo 23. Tigesiklin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı

Tablo 24. Levofloksasin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı

Tablo 25. Tetrasiklin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı

Tablo 26. Kloramfenikol direnç oranlarının yıllara göre dağılımı

Tablo 27. Eritromisin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. 2001-2011 arasında yapılan VRE tarama kültürlerinin yıllara dağılımı

Şekil 2. 2001-2011 arasında yapılan VRE tarama kültürlerinin sonuçları.

Şekil 3. Enfeksiyon olgularının yıllara göre dağılım grafiği.

Şekil 4. VRE soyutlanan enfekte ve rektal kolonizasyon olgularının yıllara göre dağılım grafiği.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İçinde bulunduğumuz yüzyılda, ortalama insan ömründeki uzamanın bir yansıması olarak kronik hastalıklar ve bunlara bağlı sorunlar enfeksiyon hastalıklarının önüne geçmiş olmasına rağmen enfeksiyon hastalıkları önemli bir sorun olarak hala karşımızda durmaktadır.

Sağlanan çok sayıda olumlu gelişmeye rağmen gerek tanı ve tedavi olanaklarının yerinde ve uygun kullanılmaması, gerekse de yoğun bakım hastaları ve immunsupresif hastalar gibi yoğun antimikrobiyal tedavi uygulanan hasta popülasyonlarında son yıllarda gözlenen dramatik artışlar gibi nedenlerle eskiden hastalık yapıcı olarak kabul edilmeyen, günümüzün yeni patojenleriyle ve çok sayıda antimikrobiyal ajana karşı direnç geliştirmiş mikroorganizmalarla mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla karşılaşmaktadır.

Uzun yıllar boyunca sadece endokardit gibi belli başlı enfeksiyonların etkeni olarak kabul edilmiş olan enterokokların çok sayıda toplum kökenli ve hastane kaynaklı enfeksiyona neden olduğu bilinmektedir. Bu mikroorganizmaların hastane kaynaklı enfeksiyonlardaki rolleri ve önemi 70'li yılların ikinci yarısında iyice belirginleşmiştir. Enterokoklar, zaman içerisinde hastane enfeksiyonlarında giderek artan sıklıkta görülmeleri yanı sıra çok sayıda antimikrobiyal ajana karşı direnç geliştirmeleri sebebiyle günümüzde artık önemli bir sorun kaynağı oluşturmaktadır (1).

Enterokoklarla ilişkili enfeksiyonlarda elimizde kullanılabilecek belli başlı, kısıtlı sayıda antibiyotik bulunmaktadır. Zamanla bu antibakteriyel ajanlara karşı da direnç gelişimi sonucunda, tek seçenek ilaç olarak vankomisin kalmıştır. Bin dokuzyüz seksenli yıllardan itibaren hastane ortamını ve hastaları kısa sürede kolonize ederek yayılım gösterebilen, hastane içinde büyük salgınlar oluşturabilme yeteneğinde olan vankomisine dirençli enterokok (VRE) türleri görülmeye başlamıştır. Enterokoklarda vankomisin direncinin görülme sıklığı 1990'lı yıllardan itibaren keskin bir şekilde artış göstermeye başlamış ve bu 2000'li yılların başlarında da devam etmiştir. Günümüzde her türlü hasta izolasyonu ve enfeksiyon kontrol önlemine rağmen bu artışın durdurulabilmesi hala pek mümkün gibi görülmektedir (1, 2).

Bu çalışmada; dünyada olduğu gibi ülkemiz için de önemli bir problem haline gelen ve hastanelerde oluşturduğu salgınlar ile gerek sağlık harcamalarında, gerekse de mortalite ve morbiditede büyük artışlara yol açan, glikopeptid dirençli enterokok sorununun 2001 ile 2011 yılları arasındaki 11 yıllık süre içerisinde hastanemizde izlediği ve geldiği nokta yanı sıra zaman içerisinde gösterdiği değişimlere ilişkin sayısal ve oransal değerlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Enterokok teriminin ilk kez kullanılışı 1899 yılında Fransız araştırmacı Thercilin tarafından dışkidan izole ettiği kısa zincirler oluşturacak şekilde üremiş olan kok yapılarına, bu adı vermesiyle olmuştur. 1906 yılında Andrews ve Harder adlı iki araştırmacı dışkı kökenli mannitol ve laktozu fermente eden bakterileri *Streptococcus faecalis* olarak adlandırmışlardır. 1919 yılına gelindiğinde farklı fermantasyon özellikleriyle diğerlerinden ayrılan *Streptococcus faecium* tanımlanmıştır (3).

1930'lu yıllarda yapılan Lancefield sınıflandırmasına göre D grubu streptokoklar içerisine dahil edilen enterokoklar uzun yıllar boyunca bu grubun içinde tutulmuşlardır. Streptokoklardan farklı olarak kendilerine has karakteristik özellikler göstermeleri ve 1980'li yılların ortalarından itibaren moleküler tanı ve tiplendirme yöntemlerinin de kullanıma girmesiyle *Enterococcus* adı altında yeni bir cins kabul edilmiştir (3).

2.1 MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER:

Enterokoklar; tekli, ikili ya da kısa zincirler halinde bulunan, spor oluşturmayan, kapsülsüz, gram olumlu kok morfolojisinde bakterilerdir. Mikroskopik olarak streptokok türlerinden ayırt edilemezler (3, 4).

Enterokokların gram boyamasındaki morfolojik görünümleri üretildikleri besiyerine göre değişebilmektedir. Katı besiyerinde üreyen kolonilerden yapılan preperatlar gram boyasıyla boyandığında, zaman zaman gram olumlu kokobasiller şeklindeki mikroorganizma yapılarıyla karşılaşılabilmektedir (3, 4).

Enterokoklar fakültatif anaerob metabolizmaya sahip olup geniş bir ısı dağılımında (10-45°C arasında) üreyebilirler. Enterokoklar için optimal üreme sıcaklığı 35 °C civarındadır (3, 4).

Kanlı agar, enterokokların üretilmesinde klinik mikrobiyoloji laboratuvarında en çok kullanılan seçici özellik göstermeyen besiyeridir. Enterokoklar kanlı agarda 0,5-1,5 mm çapında, görece streptokoklardan daha büyük koloniler oluştururlar. Enterokokların kanlı agarda üretilen kolonileri gri, parlak ve buğulu görünümde ve hemoliz oluşturma özelliklerine göre sıklıkla α ve non-hemolitik özellikler göstermekle birlikte nadiren bazı türleri β -hemolitikdir. *E. faecalis* ve *E. durans* suşları β -hemoliz yapabilir (3-6).

Rutin mikrobiyoloji laboratuvarı pratik uygulamasında, gram olumlu kokların ön tanısında kullanılan algoritmanın ilk basamağındaki test olan katalaz testi ile enterokoklar, porfirin sentezleyememeleri ve sitokrom enzimi içermemeleri dolayısıyla streptoklara benzer şekilde katalaz

olumsuz reaksiyon göstermektedirler. Nadiren bazı *E. faecalis* suşları ilk izolasyonda gözlenen ve sonraki pasajlarda kaybolan psödokatalaz üretirler ve katalaz testinde zayıf olumluluk gösterebilirler (3-6).

Enterokokların katalaz olumsuz diğer gram pozitif koklardan ayrımı ise kendilerine has üreme özellikleri ve çeşitli ayırt edici testlere verdikleri reaksiyon sonuçlarına göre yapılır. Enterokoklar streptokok grubu bakterilerden 10 °C'de ve 45 °C'de üreyebilmeleri, % 6.5 NaCl varlığında ve ph 9.6 da üreyebilmeleri , % 40 safra tuzu varlığında eskülini hidrolize edebilmeleriyle ayrılırlar (3-6).

Hastalıklarla nadir olarak ilişkili olarak görülebilen türler ve bazı yeni tanımlanmış enterokok türleri dışında (*E. cecorum*, *E. columbae*, *E. saccharolyticus*) enterokok türlerinin hepsi pirrolidonil arilamidaz enzimine sahiptir ve bu enzim, L-pirrolidonil-β-naftilamid adlı maddeyi hidrolize etmektedir. Bu özelliklerinden yararlanılarak hızlı ve pratik bir test olan Pirrolidonil-β-naftilamid hidroliz (PYR) testi klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında A grubu β-hemolitik streptokok ve enterokok tanımlanmasında kullanılmaktadır. PYR testi ile enterokokları, gösterdikleri vankomisin direnci nedeniyle hatalı bir şekilde VRE olarak bildirilebilecek lökonostok ve pediokok cinslerinden ve ayrıca A grubu dışı streptokoklardan ayırt etmekte önem taşımaktadır (3-6).

Tüm enterokok kökenleri, lösin-β-naftilamidi, lösin aminopeptidaz (LAP) aktiviteleriyle hidrolize ederler ve glikozu gaz oluşturmadan fermente ederler. LAP yapımı ve glikozdan gaz oluşturmamaları lökonostok cinsinden ayrımlarında önemli özellikleridir (3-6).

Tablo 1. Fakültatif anaerobik, katalaz negatif, gram olumlu kokların fenotipik özellikleri (7, 8).

GENUS	Van	Gaz oluşturma	PYR	LAP	BE	NaCl	Gelişme		Motilite	Hemoliz
							10°C	45°C		
<i>Enterococcus</i>	S ¹	-	+	+	+	+	+	+	v	α/β/n
<i>Lactococcus</i>	S	-	+	+	+ ⁵	v	+	v	-	α/n
<i>Vagococcus</i>	S	-	+	+	+	+	+	v	+	α/n
<i>Streptococcus</i>	S	-	- ²	+	- ³	- ⁴	-	v	-	α/β/n
<i>Abiotrophia</i>	S	-	+	+	-	-	v	-	-	α/n
<i>Globicatella</i>	S	-	+	-	-	+	-	-	-	α
<i>Leuconostoc</i>	R	+	-	-	v	v	+	v	-	α/n
<i>Pediococcus</i>	R	-	-	+	v ⁵	v	-	+	-	α/n

Van: Vankomisine duyarlılık; LAP: lösin aminopeptidaz aktivitesi; BE: safra eskülin besiyerinde reaksiyon; NaCl: % 6.5 NaCl içeren buyyonda üreme; S: duyarlı; R: dirençli; +: olumlu reaksiyon; -: olumsuz reaksiyon; v: değişken reaksiyon

¹ Tanımlanan test kriterine göre vankomisine dirençli türler de bulunmaktadır.

² *Streptococcus pyogenes* (A grubu streptokok), *S. iniae*, ve *S. porcinus* PYR testi olumludur.

³ Viridans grubu streptokokların % 5-10 arasında safra eskülin pozitifdir.

⁴ Bazı β -hemolitik streptokok türleri % 6.5 NaCl içeren buyyonda üreyebilir.

⁵ Suşların çoğu olumlu reaksiyon verir.

Sonuçta temel olarak gram olumlu kok morfolojisinde, katalaz negatif bir mikroorganizma için enterokok cins tanısının doğru bir şekilde konulması için suşun safra eskülin besiyerinde üreme ve görünüm özelliği, PYR ve LAP testlerinin pozitif olması, % 6.5 NaCl varlığında ve 45 °C'de üreyebildiğinin gösterilmesi gerekir.

2.2 BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNE GÖRE ENTEROKOK TÜRLERİNİN TANIMLANMASI:

Enterokok türleri karbonhidrat içeren buyyonlarda asit üretmeleri, arjinini hidrolize etmeleri, % 0.04 tellüriti tolere edebilmeleri, pirüvatı metabolik yollarında kullanmaları, metil- α -d-glukopiranozid (MGP)'den asit üretmeleri ve hareketlilik özellikleriyle birbirlerinden ayrılırlar (6).

Tablo 2. Enterokok türlerinin biyokimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması (6).

Enterokok türü	MAN	SOR	ARA	RAF	TEL	ARG	PYU	MGP	Motilite
<i>E. faecalis</i>	+	-	-	-	+	+	+	-	-
<i>E. faecium</i>	+	-	+	V	-	+	-	-	-
<i>E. durans</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>E. avium</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	-
<i>E. casseliflavus</i>	+	-	+	+	-	+	V	+	+**
<i>E. gallinarum</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	+**
<i>E. raffinosus</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	-

MAN: mannitol; SOR: sorboz; ARA: arabinoz; RAF: rafinoz; TEL: tellürit; ARG: arjinin; PYU: pirüvat; MGP: metil α -D-glukopiranozid; +: olumlu test sonucu; -: olumsuz test sonucu; V: değişken test sonucu

**E. faecalis*'in tellürit varlığında üreyebilmesi, diğer enterokoklardan ayırt edici önemli bir özelliğidir. Bu özelliğe dayanarak *E. faecalis*' i diğer enterokoklardan ayırt eden ticari olarak geliştirilmiş testler bulunmaktadır.

**Enterokok türleri arasında *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* dışındaki tüm enterokok türleri hareketsizdir.

2.3 ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ:

Enterokoklar; aminoglikozidler, β -laktam ve glikopeptid grubundan çok sayıda antibiyotiğe karşı doğal ya da kazanılmış direnç taşımaktadırlar (9).

Enterokoklar, β -laktam ve aminoglikozidlere karşı doğal olarak taşıdıkları düşük düzeyde direnç yanı sıra, klindamisin, linkomisin, trimetoprim-sülfometoksazol gibi ajanlara karşı da dirençlidirler. Ayrıca genetik madde aktarımı ya da mutasyon sonucu kazanılmış yüksek düzeyde β -laktam ve bunların yanı sıra aminoglikozid ile vankomisin dirençleri başta olmak üzere tetrasiklin, eritromisin, kloramfenikol, florokinolona karşı gösterdikleri direnç özellikleri ile günümüzde oldukça sorunlu mikroorganizmalardandır (3, 9, 10).

Enterokokların klinikte yoğun olarak kullanılan çok sayıda antibiyotiğe direnç göstermelerinden dolayı, streptokok türlerinden ayırt edilmeleri ve duyarlılık testlerinin yapılmasında titiz davranılması önem taşımaktadır (3, 9, 10).

Enterokokların intrensek dirençli oldukları antibiyotikler (sefalosporinler, metisilin, oksasilin, klindamisin, standart yoğunlukta aminoglikozidler) için duyarlılık testleri yapılmamalıdır (3, 9, 10).

Trimetoprim-sülfometoksazol için de benzer şekilde duyarlılık testleri yapılmasına gerek yoktur; çünkü enterokoklar trimetoprim-sülfometoksazol'e *in-vitro* duyarlı saptanabilir; ancak bu antibiyotiğin *in-vivo* klinik etkisi olmadığı için tedavide kullanılmamaktadır (3, 9, 10).

2.3.1 Penisilin ve Ampisilin Direnci:

Enterokoklar ampisilin ve penisiline, düşük afiniteye sahip penisilin bağlayıcı proteinlerin (PBP) üretimi ya da nadir gözlenen β -laktamazların üretimiyle direnç geliştirirler. Agar ve sıvı dilüsyon yöntemleri PBP'lerdeki değişikliğe bağlı direnci saptayabilirken, β -laktamaz üretimine bağlı direnci saptayamamaktadırlar. Bu nadir görülen β -laktamaz üreten enterokok türleri kromojenik sefalosporin (nitrosefin) ile β -laktamaz üretimleri açısından test edilebilir. Olumlu β -laktamaz test sonucu penisilin, -amino, -karboksi, -üreido penisilinlere direnci gösterir. Enterokoklarda β -laktamaz yapımı nadir olduğu için rutinde β -laktamaz aktivitesi araştırılması önerilmez (3, 10).

Streptokoklarla karşılaştırıldığında enterokoklar β -laktam antibiyotiklere daha dirençlidir. *E. faecium* suşlarında dirençli suş oranı artış göstermektedir. *E. faecium* suşlarının PBP'lerinin penisiline afinitesi son yıllarda belirgin azalma göstermiş ve *E. faecium* suşlarının % 85-90'ı ampisiline dirençli hale gelmiştir. *E. faecalis* suşlarında ise ampisilin direnci % 2-3 oranındadır. *E. faecium*'da ampisilin ve vankomisin direnci birbiriyle ilişkilidir. VRE'lerde direnç geninin transferi ampisilin direnciyle bağlantılıdır. Ampisilin direnci genellikle vankomisin direncinden önce meydana gelmektedir (3, 10).

Ampisilin direnci disk difüzyon yöntemiyle araştırılıp değerlendirildiğinde, elde edilen ampisilin test sonucu, β -laktamaz üretmeyen suşlarda amoksisilin klavulanik asit, ampisilin sülbaktam, piperasilin ve piperasilin tazobaktam sonuçlarını da temsil eder. Ampisilin duyarlılığı *E. faecalis* türlerinde imipenem duyarlılığını da gösterir. Penisilin ya da ampisilin dışı diğer β -laktam ajanlar ampisiline göre daha üstün bir klinik değer göstermez, fakat enterokok ve gram negatif bakterilerin birlikte etken oldukları polimikrobiyal enfeksiyonlarda bu antibiyotiklere duyarlılık araştırılabilir (3, 10)

Klinik ve Laboratuvar Standartlar Enstitüsü (CLSI) tarafından penisilin ve ampisiline karşı direnç sınır değeri MİK ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ olarak kabul edilmektedir. Penisilin sonuçları ampisilin, amoksisilin, piperasilin ve β -laktam- β -laktamaz inhibitör kombinasyonlarını temsil eder. Ayrıca test sonucu ne olursa olsun penisilin veya ampisilin dirençli bir enterokok izolatu imipeneme dirençli kabul edilir (3, 10).

β -laktamaz üretmeyen penisilin'e duyarlı enterokok türlerinde penisilin duyarlılığı; ampisilin, amoksisilin, amoksisilin klavulanik asit, ampisilin sülbaktam, piperasilin ve piperasilin tazobaktama karşı da duyarlılığı gösterir. Ancak, ampisilin'e duyarlı olan enterokok türleri penisilin'e duyarlı olarak kabul edilmemelidir ve penisilin sonuçları isteniyorsa penisilin'in de test edilmesi gerekir (3, 10).

2.3.2 Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci:

Enterokoklar aminoglikozidlerin düşük düzey konsantrasyonlarına karşı doğal olarak dirençlidir. Bu düşük düzey direnç, enterokok hücreleri içine ilaç alımının azaltılmasıyla ilişkilidir (3, 10, 11).

Bazı enterokok türleri ise yüksek düzey aminoglikozid direnci göstermektedir. Enterokoklardaki yüksek düzey aminoglikozid direnci başlıca bu ilaçların enzimatik inaktivasyonu veya gentamisin başta olmak üzere tobramisin, amikasin ve kanamisin gibi ilaçları tahrip eden enzimlerle olmaktadır. Bu direnç plazmidler üzerinde kodlanmış olan aminoglikozid modifiye edici enzimlerin kazanılmasıyla gelişmektedir (3, 10, 11).

Enterokoklarda gentamisin ve streptomisin direnci farklı mekanizmalarla oluştuğu için her iki ajan için de duyarlılık testleri önem taşımaktadır. Eğer, yüksek düzey direnç mutasyonla oluştuysa, bu direnç ribozomal olup streptomisin'in ribozoma bağlanmasında azalma söz konusudur, türler arasında transfer edilmez ve bu direnç sadece streptomisine karşıdır (3, 10, 11).

In-vitro olarak yüksek düzey aminoglikozid direncini göstermek amacıyla sıvı dilüsyon, agar dilüsyon ve disk difüzyon yöntemleri kullanılabilir. Tarama amacıyla sıvı ya da agar dilüsyon yöntemi

kullanıldığında gentamisin besiyeri içerisine 500 µg/ml konsantrasyonda eklenir. Streptomisin ise agar dilüsyon yönteminde 2000 µg/ml, sıvı dilüsyon yönteminde ise 1000 µg/ml konsantrasyonda kullanılır. Testler tanımlanmış rutin dilüsyon test prosedürlerine göre çalışılır ve yüksek konsantrasyonlarda üreme olması durumunda antimikrobiyale karşı izolatın yüksek düzey direnç gösterdiği saptanır. Yüksek düzey konsantrasyonlar olan 120 µg gentamisin ve 300 µg streptomisin disklerinin kullanıldığı disk difüzyon testleri ise daha çok rutinde tarama amacıyla kullanılmaktadır (11).

Tablo 3. Yüksek düzey aminoglikozid direnci araştırılmasında kullanılan ve temsil ettiği antimikrobiyal ajanlar (11).

Test edilen ajan	Temsil ettiği aminoglikozid grubu antibiyotik
Gentamisin*	Gentamisin Amikasin Kanamisin Tobramisin
Streptomisin**	Streptomisin

* Gentamisine karşı yüksek düzeyde direnç gösteren bir izolat listedeki diğer aminoglikozidlere de direnç gösterir; çünkü gentamisini modifiye eden enzim diğer antimikrobiyalleri de modifiye eder.

** Streptomisine yüksek düzey direnç gösteren bir izolat ayrıca yüksek gentamisin konsantrasyonlarıyla test edilip yüksek düzey gentamisin direnci saptanmadıkça sadece streptomisine karşı yüksek düzey dirençli olarak bildirilmelidir.

2.3.3 Glikopeptid Antibiyotiklere Direnç:

Vankomisin *Streptomyces orientalis*'ten elde edilen, kompleks glikopeptid yapıda bir antibiyotik olup üreme fazında olan gram pozitif bakterilerde hücre duvarında peptidoglikan sentezini engeller.

Uzun yıllar glikopeptid alanında tek başına kullanımda olan vankomisine 1978 yılında teikoplanin de eklenmiştir. Teikoplanin 1984 yılından itibaren klinik çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır. *Actinoplanes teichomyceticus*'tan elde edilen bu ajan hem yapı hem de antimikrobiyal aktivite açısından vankomisine benzerlik göstermektedir ve vankomisine göre daha az yan etki göstermesi nedeniyle vankomisine alternatif bir ajan olmuştur (9).

Glikopeptid yapıdaki antibiyotikler (Vankomisin ve Teikoplanin) gram olumlu bakterilerin sitoplazmik membranda bulunan pentapeptid peptidoglikan prekürsör molekülüne bağlanarak, sağlam bir hücre duvarı oluşumu için gereken peptidoglikan prekürsörlerin çapraz bağlanmasını (transpeptidasyonunu) engeller. Vankomisin'in bağlandığı özgül bölüm pentapeptidin ucundaki "D-alanil-D-alanin"dir. Çoğunlukla, vankomisin duyarlı türler depsipectid yapıda "D-alanil-D-alanin" yan zincirle sonlanan peptidoglikan yan zincire sahip olup, glikopeptid yapıda antibiyotikler bu yan zincirlere bağlanırlar (4, 9).

Glikopeptid direnci ise farklı peptidoglikan prekürsörlerinin sentezi ve hücre duvarında birikmeleri ile vankomisin, teikoplanin veya her ikisinin bağlanma afinitesinin azaltılmasıyla sonuçlanır. Glikopeptidlere dirençli türlerde bu depsipectid yapılar *Van A*, *Van B*, *Van D* fenotiplerinde "D-alanil-D-laktat", *Van G* ve *Van C* fenotiplerinde ise "D-alanil-D-serin" ile yer değiştirirler (4, 9).

Glikopeptid direnci ile ilişkili Van genotipleri bir gen kümesini tanımlar ve ve fenotipik dirençle ilişkili yapısal komponentleri oluşturacak çeşitli enzimleri kodlarlar (4, 6, 9, 10).

Van A'dan *Van E*'ye kadar olan beş adet direnç genotipine yeni bulunan *Van G*'ninde eklenmesiyle birlikte toplamda altı vankomisin direnç genotipi gözlenmektedir (4, 6, 9, 10).

En sık karşılaşılan ve epidemiyolojik açıdan çok önemli olan genotipler *Van A* ve *Van B*'dir. *Van A* genotipi indüklenebilen bir transpozon türü olan (Tn 1546) üzerinde taşınmakta olup vankomisine (MIK > 32 µg/ml) ve teikoplanin'e (MIK > 16 µg/ml) değerleriyle yüksek düzey dirençle ilişkilidir. *Van A* tipi direnç en sık karşılaşılan direnç olup vankomisin ve teikoplanin ile indüklenebilmektedir. *Van A* tipi direnç, glikopeptid antibiyotikler (vankomisin, teikoplanin, avoparsin, ristosetin) dışında basitrasin, polimiksin B gibi glikopeptid olmayan ajanların kullanımıyla da indüklenebilir (4, 6, 9, 10).

Van B genotipi vankomisine değişken düzeyde dirençli ve teikoplanine duyarlı bulunmakta, kromozom üzerinde yerleşim göstermekte ve transpozon ve plazmid üzerinde de bulunabileceğinden bu şekilde aktarılmaktadır. Vankomisin tarafından indüklenebilmekte fakat teikoplanin tarafından indüklenememektedir (4, 6, 9, 10).

Van C genotipi ise vankomisine karşı düşük düzey direnç (MIK 8-16 µg/ml) ve teikoplanine duyarlılık ile karakterize ve yapısal özellikte olup sadece *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ve *E. flavescens* suşlarında varlığı bildirilmiştir. Bu direnç tipinin *Van C-1*, *Van C-2*, *Van C-3* olmak üzere üç alt tipi bulunmaktadır ve indüklenebilme ve transfer edilebilme özelliği göstermemektedir (4, 6, 9, 10).

Diğer direnç genotipleri nadir görülmektedir ve VRE epidemiyolojisinde önemleri yoktur (4, 6, 9, 10).

Tablo 4. Glikopeptide dirençli enterokokların özellikleri (9, 10).

Fenotip	<i>Van A</i>	<i>Van B</i>	<i>Van C</i>	<i>Van D</i>	<i>Van E</i>	<i>Van G</i>
Vankomisin (µg/ml)	MİK: 64-1000 (Yüksek düzey)	MİK: 64-1000 (Değişken)	MİK: 2-32 (Düşük düzey)	MİK: 64-128 (Orta düzey)	MİK:16 (Düşük düzey)	MİK: 8-16 (Düşük düzey)
Teikoplanin (µg/ml)	MİK: 16-512 (Değişken)	MİK: 0.5-1 (Duyarlı)	MİK: 0.5-1 (Duyarlı)	MİK: 4-64 (Duyarlı)	MİK: 0.5 (Duyarlı)	MİK: 0.5 (Duyarlı)
Gen yerleşimi	Tn 1546 Tn 5482	Tn 1547 Tn 5382	Kromozom	Kromozom	Kromozom	Kromozom
Genin kaynağı	Edinsel	Edinsel	İntrensek	Edinsel	Edinsel	-
Peptidoglikan terminal yapı	D-ala-Lak	D-ala-Lak	D-ala-Ser	D-ala-Lak	D-ala-Ser	D-ala-Ser
Transfer edilebilirliği	Evet	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
İndüklenebilme Vankomisin Teikoplanin	+ +	+ -	İndüklenebilir ve Konstitütif	Konstitütif	İndüklenebilir	-
Mikroorganizma	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. durans</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. raffinosus</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>

Enterokoklarda vankomisin direncinin insidansı 1990'lı yıllardan itibaren keskin bir şekilde artış göstermeye başlamış ve 2000'li yılların erken dönemlerinde de bu artış devam etmiştir (4, 6, 9, 10).

Klinik örneklerden soyutlanan enterokok suşları arasında vankomisin direncinin en yaygın görüldüğü tür *E. faecium* olup bunu *E. faecalis* izler. *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* gibi enterokok türlerinde intrensek olarak düşük düzey vankomisin direnci görülmektedir. Bu türlerdeki direnç *Van A* ve *Van B*'deki edinsel ve yüksek düzey bir direnç olmayıp bu suşların enfeksiyon kontrolü çalışmalarında VRE türlerinden ayrılması gerekir. *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Erysipelothrix* gibi bakteriler de hücre duvar yapılarında "D-alanil-D-laktat" yapısındaki terminal sonlanmalar bulunması nedeniyle vankomisini bağlayamaz, vankomisine karşı doğal direnç gösterirler. Morfolojik olarak benzer görünümde olan bu mikroorganizmaların enterokoklardan ayrılmaları gerekir (4, 6, 9, 10).

Vankomisin; enterokoklar dışında metisilin dirençli stafilokok ve diğer β-laktam antibiyotiklere dirençli gram pozitif bakteri enfeksiyonlarında da kullanılır. Vankomisin gram negatif

bakterilere karşı etkisizdir çünkü ajanın molekülünün yapısı gram negatif mikroorganizmaların dış membran porlarından geçemeyecek kadar büyüktür ve bu yüzden molekül etki göstereceği hedef bölgeye ulaşamaz (4, 6, 9, 10).

Vankomisin direnci ile ilişkili önemli bir sorun da transpozonlar aracılığıyla çoklu dirençli konjugatif plazmitler üzerinde taşınan genlerin *in-vivo* olarak *E. faecalis*'ten çoklu dirençli *S. aureus*'a transfer edilmesidir. Bu transfer sonucunda direnç genlerini kazanan *S. aureus* suşları; β -laktam antibiyotikler, vankomisin, aminoglikozid grubu antibiyotikler, ve çok sayıda diğer antibiyotiklere direnç geliştirmiş olur ve bu direnci diğer stafilokoklara konjugasyon yoluyla aktarılabilir. Bu direncin yayılması global ölçekte gerçekleşirse, medikal sonuçlarının dramatik olabileceğinden korkulmaktadır (5).

2.3.4 Vankomisin Bağımlı Enterokoklar:

Vankomisin bağımlı enterokoklar defektif ve glikopeptide dirençli enterokoklar olarak da bilinmektedir. Bu mikroorganizmalar vankomisin indüksiyonu sonucunda, *Van A* ve *Van B* genleri tarafından sentezlenen D-ala-D-Lak üreterek canlılıklarını sürdürmektedirler diğer bir deyişle vankomisin eksikliğinde hücre duvarı sentezi için gerekli komponentleri üretememektedirler. Vankomisin bağımlı enterokok izole edilen hastaların, çoğunlukla vankomisin veya geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi almakta olan veya geçmişlerinde VRE hikayesi bulunan kişiler olduğu görülmüştür (10).

2.4 PATOGENEZ VE VİRÜLANS FAKTÖRLERİ:

Enterokokların güçlü etkili toksinleri yoktur ve virülans faktörleri henüz tam anlamıyla anlaşılammıştır (5).

Enterokoklar bu nedenlerle düşük virülanslı bakteriler olarak kabul edilmektedirler; ama çok sayıda antibiyotiğe karşı doğal olarak dirençli olmaları, diğer antibiyotiklere de kolaylıkla direnç geliştirebilmeleri ve zorlu çevresel koşullara dayanıklı olmaları hastalık oluşturma güçlerini belirleyen temel özellikleridir (5).

Enterokokların bilinen virülans faktörleri; konak hücrelerin yüzeylerine tutunmayı sağlayan agregasyon maddesi, enterokokal yüzey proteini ve karbonhidrat adhezinlerdir. Bunların yanı sıra enterokoklar tarafından salgılanan, hemolitik aktivite gösteren sitolizin ve proteolitik aktivite gösteren jelatinaz, serin proteaz gibi protein yapıdaki maddeler ile inflamatuvar yanıtı düzenleyip nötrofiller için kemotaktik özellik gösteren feromonlar da virülans faktörleri arasında yer alır (5).

2.5 EPİDEMİYOLOJİ VE KLİNİK ÖNEMİ:

2.5.1 Enterokoklarla İlişkili Hastalıklar:

Uzun yıllar boyunca, önemli bir endokardit etkeni olarak kabul edilen enterokoklar, 1970'li yılların ortalarında nozokomiyal enfeksiyon etkenleri arasında öne çıkarak önemli bir yer edinmiştir (1,2).

Hem toplum kökenli hem de nozokomiyal enfeksiyonlarda etken olabilen enterokoklar çoğunlukla üriner, intraabdominal ve pelvik enfeksiyonlar, cerrahi alan enfeksiyonu, bakteremi veya vasküler kateterlerle ilişkili enfeksiyonlara neden olmaktadır (1-4).

Enterokoklar, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde bakteremi etkenleri arasında üçüncü sırada; nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonu ve yara enfeksiyonu etkenleri arasında ise ikinci sırada yer almaktadır (12).

2.5.2 Dünyada ve Ülkemizde VRE Enfeksiyonları:

Vankomisine dirençli enterokoklar ilk olarak 1988 yılında İngiltere'den ve Fransa'dan bildirilmiş bunu diğer Avrupa ülkelerinden yapılan bildirimler takip etmiştir (13, 14).

ABD'de ise 1989'da New York'dan bildirilmiş ve bu bildirimden sonra hızla tüm ülkeye yayılmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde ilk büyük VRE salgını Cleveland'da 1992-1994 yılları arasında meydana gelmiştir (15).

VRE'nin epidemiyolojisi açısından Avrupa ülkeleri ile ABD arasında dikkat çekici farklılıklar bulunmuştur. Avrupa ülkelerinde VRE rezervuarı olarak sıklıkla kanalizasyon sistemi ve çiftlik hayvanları sorumlu tutulurken, ABD'deki en önemli VRE rezervuarı hospitalize hastaların gastrointestinal sistem kolonizasyonu olabileceği düşünülmüştür (9).

ABD'de VRE kolonizasyonu hastane dışında sık görülmemiş ve nozokomiyal bir sorun olarak kabul edilmemiştir. Avrupa ülkeleri ve ABD arasındaki bu epidemiyolojik farklılığın, Avrupa ülkelerinde hayvan yemlerine kümes hayvanlarının büyüme ve gelişimini hızlandıran bir glikopeptid antibiyotik olan avoparsin katılmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Avoparsin, Avrupa'da 1970'li yıllarda çiftlik hayvanlarının hızlı büyümesi için kullanılmış glikopeptid yapıda bir antibiyotiktir. ABD'de ise avoparsin, hayvan yemleri için lisans almış bir katkı maddesi olmadığı için kullanılmamış ve yapılmış olan sürveyans çalışmalarında ABD'deki çiftlik hayvanlarında VRE saptanmamıştır (9, 16).

Almanya'da hayvan yemlerinde avoparsin kullanımına son verilmesinden sonra sağlıklı kişilerde VRE'nin barsak kolonizasyonu prevalansı, % 12'den % 3'e düşmüştür. Bu bulguları destekleyen diğer bir çalışmada, avoparsin kullanan çiftliklerdeki tavuk dışkı örneklerinden *Van A* tipi VRE izole edildiği halde, avoparsin kullanmayan çiftliklerden alınan örneklerden VRE izole

edilmemiştir. Bu bulgular, avoparsinin hayvan yemlerinde katkı maddesi olarak kullanılmasının yasaklanmasına yol açmıştır (16).

Avrupada VRE prevalansı % 1'in altı ile % 40'ın üzerindeki aralıkta değişiklik göstermektedir. Kontrol önlemleri ve büyük çabalar ile direnç prevalansında düşüşler saptansa da bundan sonra hiçbir zaman direncin tekrar sıfıra inmeyeceği tahmin edilmektedir. Zaman içerisinde İrlanda, Almanya, Yunanistan gibi bazı Avrupa ülkelerinde kazanılmış vankomisin direnci ciddi tedavi güçlüklerine yol açmıştır. Özellikle kuzey Avrupa ülkelerinde VRE prevalansı hala çok yüksek değildir (17-19).

Dünyanın diğer yerlerinde olduğu gibi Avrupa'da da değişik kümelenmeler gözlenmekle birlikte sıklıkla *Van A* ve daha az sayıdaki *Van B* tipleri ile karşılaşılmaktadır (17).

Bilindiği gibi *Van A* ve *Van B* genlerinin en sık rastlandığı enterokok türü *E. faecium*'dur. ABD ve diğer ülkelerde ampisilin dirençli *E. faecium* kökenlerinin yayılımından yıllar sonra bunu VRE gelişiminin izlediği tecrübe edilmiştir. Bu nedenle Avrupa kıtasında genel olarak bütün bölgelerde vankomisin duyarlı ancak ampisilin dirençli *E. faecium* suşlarının yaygın olması endişe vericidir (10, 17).

Avrupa ve Amerika VRE suşlarındaki antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre, tüm ABD suşları ampisiline yüksek düzeyde dirençli bulunurken, Avrupa izolatlarında bu oran % 33 bulunmuştur. Bu sonuç Avrupa'da sağlıklı hayvanın sindirim sistemi lümenindeki enterokoklarda vankomisin direnci gelişmesine yol açan genetik değişikliğin, ABD'deki suşlardan tamamen farklı bir enterokok popülasyonunda meydana geldiğini gösterir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ise, vankomisin direnci, ciddi hastalığı olan hastaların sindirim sistemlerindeki enterokoklarda meydana gelen genetik değişiklik sonucunda gelişmiştir (9, 16, 17).

Türkiye'de tanımlanan ilk VRE kökeni *E. faecium* olup 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nden, malign histiozisli bir pediatrik hastadan izole edilmiştir. Daha sonra Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi Hastaneleri'nden 2 olguda, VRE kökenleri ile oluşan enfeksiyonlar bildirilmiştir (20, 21).

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ndeki ilk VRE olgusu, 2001 yılında Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Yoğun Bakım Ünitesi (YBÜ)'nde saptanmış olup, olgu karaciğer transplantasyonu sonrası immünsupresif tedavi alan 52 yaşında kadın hastadır (22).

2.5.3 VRE Enfeksiyonlarında Tedavi:

Enterokokal enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotik seçenekleri oldukça kısıtlıdır. Penisilinler, aminoglikozidler ve glikopeptidler enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan başlıca antibiyotiklerdir (11, 12, 23).

Enterokok suşlarına karşı ampisilin ve penisilin *in-vitro* etkinliğinin iyi olduğu bildirilmiş olmakla birlikte özellikle endokardit, bakteriyemi ve menenjit gibi olgularda tek başına β -laktam tedavisinin yetersiz olduğu gösterilmiştir. Bakterisidal etkinlik elde edebilmek için yüksek düzey aminoglikozid direnci olmamak kaydıyla bir aminoglikozid ile kombine edilmesi önerilmektedir (11, 12, 23).

Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid ve penisilin direncinin yanı sıra vankomisin direncinin de ortaya çıkmış olması, enterokoklara bağlı enfeksiyonların tedavisini daha da karmaşık hale getirmiştir.

Glikopeptid dirençli enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde uygulanabilecek sınırlı sayıda antibiyotik bulunmaktadır ve bunların etkinliği henüz tam olarak kanıtlanmamıştır. Bunda VRE enfeksiyonlarına ait bazı özel faktörler önemli rol oynamaktadır. Bunlar arasında, hastalarda tedavi başarısını etkileyebilecek altta yatan başka hastalıkların bulunması, tek başına antibiyotik tedavisinin yeterli olmadığı ciddi cerrahi enfeksiyonların varlığı, VRE enfeksiyonlarının birçoğunun polimikrobiyal özellikte enfeksiyonlar olması gibi faktörler sayılabilir (12, 23-25).

Yine de son yıllarda VRE enfeksiyon tedavisinde yerini alan ajanlar arasında kinupristin-dalfopristin, linezolid, daptomisin ve tigesiklin sayılabilir. Bunların dışında henüz kullanıma girmemiş, orivansin, dalbavansin, televansin gibi yeni glikopeptidler yanı sıra yeni kullanıma girmiş beşinci kuşak sefalosporinlerden seftarolin ve seftobiprol enterokok enfeksiyonlarında tedavi alternatifi olabilecek gibi gözükmemektedir (12, 23-25).

2.5.4 Rezervuarlar, Bulaş Yolları:

Enterokoklar, insanların ve hayvanların gastrointestinal sistemlerinde flora üyesi veya kolonize olarak bulunabilen bakterilerdendir. Daha az oranda safra kanalları, genitoüriner sistemde üretra, vaginada ve ağız boşluğunda yer alırlar. Doğada; toprakta ve suda yaygın olarak bulunurlar (2, 9, 16).

Çevre koşullarına oldukça dayanıklı olmaları, hastane ortamında cansız yüzeyler üzerinde kolonize olup uzun süre canlılıklarını sürdürebilmelerini sağlar. VRE ile kolonize veya enfekte hastaların odalarındaki yüzeyler ve tıbbi aletler sıklıkla bu mikroorganizma ile kontamine olur ve hastane içinde önemli bir VRE rezervuarı oluşturur (2, 9, 16).

Enterokokların hastane ortamındaki yoğun antibiyotik baskısının altında üreyebilme yetenekleri, onların nozokomiyal patojenler olarak ortaya çıkmasına yol açar (2, 9, 16). Enterokoklar ile kolonizasyon ve enfeksiyonunun gelişmesinde, antibiyotiklerin seçici baskısının rol oynadığı bilinmektedir. Örneğin geniş spektrumlu olan sefalosporin, vankomisin, imipenem ve antianaerop

etkili metronidazol ve klindamisin gibi antibiyotiklerin uzun süreli ve yaygın kullanımı ile enterokok kolonizasyon veya enfeksiyon oranlarında artış olmaktadır (2, 9, 16).

VRE yayılımı için en önemli rezervuar gastrointestinal sistem taşıyıcılığı bulunan hastalardır. VRE'ler hastadan hastaya direkt olarak veya kontamine eller, kontamine yüzeyler veya tıbbi aletler yoluyla indirekt olarak bulaşabilmektedir (2, 9, 16).

VRE enfeksiyonları genellikle gastrointestinal kolonizasyonu takiben gelişen endojen enfeksiyonlar olarak kabul edilse de, gaita veya perirektal kültürlerin negatif olarak saptandığı bazı hastalarda çeşitli klinik örneklerden VRE'lerin izole edilmesi VRE'lerin ekzojen yolla da alınabileceğini göstermektedir (2, 9, 16).

Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar ve bu hastaların bakımlarını üstlenen personelin gastrointestinal sisteminde de VRE'ler kolonize olabilir. Sağlıklı bireylerde kolonizasyon genellikle enfeksiyona yol açmaz (2, 9, 16).

2.5.5 VRE Enfeksiyonu Gelişimi Açısından Yüksek Riskli Kişiler:

Amerika Birleşik Devletleri'ndeki 'The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee' (HICPAC), VRE enfeksiyon riski taşıyan kişileri; hastanede yatanlar, uzun süre vankomisin ve diğer antibiyotiklerle tedavi edilenler, onkoloji, yoğun bakım ve transplantasyon ünitelerinde yatan bağışık sistemi baskılanmış hastalar, cerrahi girişim uygulananlar, üriner ya da santral venöz kateterli hastalar ve VRE ile kolonize olmuş hastalar olarak tanımlamıştır (26).

2.5.6 Enfeksiyon Kontrol Önlemleri:

VRE'nin Yayılmasını önlemek için Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ve Hospital Infections Control Practices Advisory Committee (HICPAC) kontrol önlemleri geliştirmiştir. Bu önlemler VRE ile kolonize ve/veya enfekte olan hastaların belirlenmesi için sürveyans çalışması yapılması, çapraz enfeksiyonların önlenmesi için temas izolasyonu önlemlerinin alınması ve kontrollü antibiyotik kullanımınıdır (27).

HICPAC izolasyon yöntemleri:

- a. VRE ile enfekte veya kolonize hastaların ayrı odalarda izole edilmesi veya VRE pozitif hastalarla aynı odaya alınması
- b. VRE pozitif hastaların odasına girerken steril olmayan temiz eldiven giyilmesi,
- c. VRE pozitif hastayla veya hasta odasındaki yüzeylerle temas edilecekse; hastada idrar veya gaita inkontinansı, ileostomi, kolostomi veya açık yara drenajı varsa odaya girerken steril olmayan temiz bir önlük giyilmesi (bazı merkezlerde, bu maddede belirtilen koşullar olmaksızın, VRE pozitif her hastanın odasına girerken önlük giyilmesi önerilmektedir.)

d. Hasta odasından ayrılmadan önce önlük ve eldivenin çıkarılması ve ellerin antiseptik içeren bir sabunla veya su içermeyen antiseptik ajanlarla yıkanması,

e. Önlük ve eldiven çıkarılıp, eller yıkandıktan sonra hasta odasındaki yüzeylerle tekrar temas edilmemesidir.

Ek olarak VRE pozitifliği devam ederken taburcu olan hastaların, tekrar hastaneye başvurdıklarında izole edilebilmelerini sağlamak amacıyla, hastane kayıtlarına hastanın başvurusu sırasında fark edilecek bir uyarının eklenmesi gereklidir.

Belirtilen önlemlere uyulmasına rağmen VRE yayılımının devam ettiği veya VRE'nin yaygın olduğu hastanelerde HICPAC tarafından bazı ek önlemler tanımlanmıştır;

- Öncelikle yoğun bakım üniteleri ve VRE yayılımının en hızlı olduğu servislerde kontrol çalışmaları yoğunlaştırılması gerekir ve bu servislerden diğer servislere hasta transferinin VRE yayılımı açısından önemli bir kaynak oluşturduğu akılda tutulmalıdır.

- VRE pozitif hastaların odalarındaki yüzeylerin ve cihazların temizliğine ve dezenfeksiyonuna önem verilmeli, VRE pozitif hastanın taburculuğu sonrası gereken temizlik ve dezenfeksiyon uygulanmalı ve odadaki tüm yüzeylerden kültür alınmalıdır. Bu uygulamaların, enfeksiyon kontrol komitesi tarafından yönlendirilmesi ve standart bir politika oluşturularak sürdürülmesi gereklidir.

- VRE'nin yayılım şekillerini ve rezervuarlarını belirlemek amacıyla, seçilmiş suşların uygun aralıklarla, uygun moleküler tiplendirme yöntemleriyle klonal ilişki yönünden araştırılması önerilir.

- VRE pozitif hasta grubuna bakım hizmeti veren sağlık personelinin VRE negatif hastalara bakım hizmeti vermesinden kaçınılmalıdır.

- Sağlık personelinde VRE taşıyıcılığı ve buna bağlı VRE yayılımı bildirilmiş olmakla birlikte, sağlık personelindeki taşıyıcılık VRE için tanımlanmış önemli bulaş yollarından biri değildir. Ancak, VRE yayılımının kontrol altına alınamaması söz konusu ise, sağlık personelinin kronik cilt ve tırnak problemleri yönünden incelenmesi, epidemiyolojik olarak VRE yayılımı ile ilişkili olduğu saptanan VRE taşıyıcısı personelin, taşıyıcılık durumu sonlanıncaya kadar VRE negatif hastalara bakım hizmeti vermesinden kaçınılmalıdır.

Hastanede yatan hastalarda gastrointestinal sistem kolonizasyonu en önemli VRE rezervuarı olduğu ve VRE ile kolonize hastalar genellikle asemptomatik olduğu için, yüksek risk grubuna giren hastalardan sürveyans kültürleri alınarak kolonizasyon saptanabilmektedir. VRE taraması amacıyla perirektal ya da rektal kültüre dayalı sürveyans uygulanan bazı hastanelerde kolonize/enfekte hasta oranının 10/1'e kadar çıktığı bildirilmiştir (2, 9).

VRE sorunu bulunan bir merkezde periyodik prevalans taramaları yapılmadığı takdirde kontrol programının başarıya ulaşması güçtür. Prevalans taramaları yeni bir VRE pozitif olgu saptandığında sadece aynı odada izlenmekte olan hastaların taranması ile sınırlı olabileceği gibi, aynı servisteki tüm hastaların veya hematoloji-onkoloji servisi, yoğun bakım ünitesi, transplantasyon

ünitesi gibi birimlerde izlenen yüksek risk grubundaki hastaların da taranması şeklinde çok daha geniş kapsamlı olabilir (2, 9, 16, 27).

Gastrointestinal kolonizasyonun saptanması amacıyla uygulanabilecek diğer bir yaklaşım ise, *Clostridium difficile* toksini araştırılmak üzere gönderilen dışkı örneklerinin VRE yönünden taranmasıdır. Ayrıca, VRE'nin yaygın olduğu hastanelerden veya bakımevlerinden transfer edilen hastalardan perirektal kültür alınması da gastrointestinal kolonizasyonun saptanması amacıyla uygulanmaktadır (2, 9, 16, 27).

VRE yayılımının önlenmesi için VRE ile kolonize veya enfekte hastaların mümkün olan en kısa süre içinde saptanması gerekir. Mikrobiyoloji laboratuvarı VRE yayılımına karşı verilen savaşta oldukça önemli bir rol üstlenmektedir; çünkü tüm kontrol önlemleri laboratuvarından gelen kültür ve duyarlılık sonuçlarına göre yönlendirilmektedir. Mikroorganizmanın tanımlanması ve duyarlılık sonuçlarının doğru ve hızlı bir şekilde bildirilmesi, kontrol önlemlerinin erken dönemde uygulanabilmesini ve yayılımın sınırlandırılmasını sağlar (2, 9)

VRE'nin bir kez izole edildiği her hastanede tüm enterokok izolatlarının vankomisin duyarlılığı yönünden test edilmesi gereklidir. Klinik bir örnekten VRE izole edildiğinde duyarlılık testinin önerilen kılavuzlar doğrultusunda tekrarlanması ve tekrarlanan testin sonucu beklemeksizin enfeksiyon kontrol komitesine ve hastanın izlenmekte olduğu servise haber verilmesi gereklidir (2, 9).

VRE pozitif hastalardan ne sıklıkta kültür alınması gerektiği; izolasyonun ne zaman sonlandırılacağı; yeni bir VRE pozitif olgu saptandığında taramanın hangi hastaları içermesi gerektiğine ve taramanın hangi sıklıkta yapılacağına dair, enfeksiyon kontrol komitesi tarafından belirlenmiş yazılı politikaların olması gereklidir. Özellikle yüksek riskli hasta grubunda VRE ile uzun süre boyunca kolonize kalma olasılığının yüksek olması nedeniyle, genellikle izolasyonun en az birer hafta arayla alınmış ardışık üç veya daha fazla negatif kültür sonucu elde edildikten sonra sonlandırılması önerilir (2, 9, 16, 27).

Belli aralıklarla yapılan sürveyans kültürleri ile birlikte alınan bu izolasyon önlemlerinin sıkı bir şekilde uygulanmasının, bir tek klonun yayılması ile oluşabilecek küçük VRE salgınlarını önlemede etkili olduğu gösterilmiştir. Fakat izolasyon önlemleri ve sürveyans kültürlerinin yapılması da dahil tüm enfeksiyon kontrol uygulamalarının büyük poliklonal salgınların oluşmasında ve VRE yayılımını azaltmada etkili olmadığı bildirilmiştir (2, 9, 16, 27).

3. GEREÇ YÖNTEM

Bu çalışmada, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Ocak 2001 – Aralık 2011 tarihleri arasında çeşitli kliniklerde yatarak izlenen hastaların Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bakteriyoloji Laboratuvar'ına mikrobiyolojik inceleme amacıyla gönderilen örnekleri dahil edilmiştir. Çalışmada incelenen kültürler; yatan hastalara ait VRE soyutlanmış hastalık örnekleri yanı sıra rektal kolonizasyon araştırılması amacıyla bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen rektal sürüntü örneklerinin kültürlerini kapsamakta olup, kültür sonuçlarının tümü retrospektif olarak değerlendirilmiştir.

Kültürü yapılmak üzere gönderilen hastalık örnekleri Koyun Kanlı Agar (KA) ve Eosin Methylen Blue Agar'a (EMB) ekilmiştir. Barsaklarda VRE taşıyıcılığının araştırılması amacıyla gönderilen rektal sürüntü örneklerinin kültürleri ise vankomisin direnç taraması amacıyla laboratuvarımızda hazırlanmış 6 µg/ml vankomisin içeren beyin kalp infuzyon agara ve hazır Biomerieux kromojenik VRE tarama besiyerine ekilerek yapılmıştır.

Tüm kültürler normal atmosferde, 35-37 °C'de 24 saatlik inkübasyon sonrasında değerlendirilmiştir. KA'da ve VRE tarama besiyerlerinde üreyen şüpheli kolonilerden gram boyama incelemesi yapılmıştır. İnceleme sonucunda gram olumlu kok görünümünde, katalaz testi olumsuz, PYR testi olumlu bulunan bakterilerin cins ve tür düzeyinde tanımlaması için VİTEK 2 (BioMerieux, Fransa) ve API Strep (BioMerieux, Fransa) otomatize identifikasyon sistemi kullanılmıştır.

Tür düzeyinde tanımlanan enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılık testleri CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute) önerileri doğrultusunda Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır (28). Antibiyotik duyarlılık testlerinde penisilin, gentamisin, teikoplanin, levofloksasin, vankomisin, tetrasikin, streptomisin, linezolid, eritromisin ve kloramfenikol duyarlılıkları incelenmiştir. Tigesiklin için değerlendirme EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) kriterlerine göre yapılmıştır (29).

Tablo 5. Disk difüzyon yönteminde duyarlılıkları araştırılan ajanlar, disk içerikleri ve zon çaplarının değerlendirilmesi. (28, 29)

Antimikrobiyal	Disk İçeriği	Zon Çapı(mm)		
		Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Penisilin	10µg	≤14	-	≥15
Vankomisin	30 µg	≤14	15-16	≥17
Teikoplanin	30µg	≤10	11-13	≥14
Eritromisin	15µg	≤13	14-22	≥23
Tetrasiklin	30µg	≤14	15-18	≥19
Levofloksasin	5µg	≤13	14-16	≥17
Kloramfenikol	30µg	≤12	13-17	≥18
Linezolid	30µg	≤20	21-22	≥23
Tigesiklin	15µg	≤14	-	≥18
Gentamisin*	120µg	≤6	7-9	≥10
Streptomisin**	300µg	≤6	7-9	≥10

* Yüksek düzey gentamisin

** Yüksek düzey streptomisin

Tablo 6. Enterokoklarda glikopeptid MİK sınır değerleri (µg/ml) (28).

ANTİBİYOTİK	MİK (µg/ml)	
	Duyarlı	Dirençli
Vankomisin	≤4	≥32
Teikoplanin	≤8	≥32

Disk difüzyon yöntemi ile vankomisine karşı direnç saptanan suşlar için paralel olarak CLSI önerileri doğrultusunda E-test yöntemiyle vankomisin ve teikoplanin Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri araştırılmıştır. Her iki glikopeptid ajanın MİK değerleri ≥32 µg/mL saptanan suşlar vankomisin ve teikoplanine karşı dirençli olarak kabul edilmiştir.

Yüksek düzey aminoglikozid direnci (YDAD) araştırmak amacıyla disk difüzyon yöntemi uygulanmış, bu amaçla 120 µg'lık gentamisin ve 300 µg'lık streptomisin diskleri kullanılmıştır. Her iki aminoglikozid test edildiğinde ≥ 10 mm zon çapı saptanan suşlar bu ajanlara duyarlı olarak değerlendirilmiş, daha dar zon çapı ölçülen suşlarda ise YDAD varlığı kabul edilmiştir.

Çalışmanın kapsadığı 11 yıl süresince hastanemizde yatarak izlendikleri sırada kültürleri incelenmiş hastalara ait demografik bilgiler hastane kayıtlarından taranarak değerlendirmeye alınmıştır. Bu hastaların mikrobiyolojik incelemelerine ait sonuç raporları, üreyen mikroorganizmalar, duyarlılık paternleri ve diğer verilerine bakteriyoloji laboratuvarı kayıtlarından geriye dönük olarak ulaşılmıştır.

Gerek Mikrobiyoloji Laboratuvarından ve gerekse hastane kayıtlarından derlenen tüm bilgiler Microsoft Excel programına aktarılmış, bir sonraki adımda veriler SPSS 12 programı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

İstatistiksel hesaplamalar sonucunda hastanemizde 11 yıllık süre içerisinde, glikopeptid dirençli enterokok sorununun izlediği ve geldiği nokta yanı sıra zaman içerisinde gösterdiği değişimlere ilişkin sayısal ve oransal değerler belirlenerek sunulmuştur.

4. BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan hastaların cinsiyet ve yaş dağılımları incelenmiş olup aşağıda sayı ve oranları ile sunulmuştur.

Tablo 7. VRE açısından incelenen kişilerin cinsiyet dağılımı.

Cinsiyet	Sayı (%)
Kadın	1385 (54)
Erkek	1626 (46)
Toplam	3011 (100)

VRE soyutlanan olguların yaşa göre dağılımları incelendiğinde hastanede kayıtları (tarama+ hastalık örnekleri) bulunan toplam 642 kişinin yaşlarının 7 gün ile 108 yaş arasında değiştiği ve yaş ortalamasının 50,1 olduğu görülmüştür. Özellikle tarama yapılan olgularda yaşa ait veriler kayıtlara geçmediği için dağılım grafiği verilememiştir.

Tablo 8. VRE yönünden incelenen tarama ve hastalık örneklerinin dağılımı.

Örnekler	Sayı (%)
Tarama	5408 (92,5)
Hastalık örneği	441 (7,5)
Toplam	5849 (100)

VRE yönünden gerek enfeksiyon tanısı, gerekse rektal kolonizasyon araştırması ve izlenmesi amacıyla yapılan tüm kültürlerin sayı ve sonuçları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 9. VRE yönünden incelenen örneklerin kültür sonuçları.

Kültür sonucu	İncelenen Örnekler		Toplam
	Hastalık örneği	Tarama örneği	
Olumlu	441	1621 *	2062
Olumsuz	-	3787	3787
Toplam	441	5408	5849

*Tarama 584 kişiden yapılmış ancak taşıyıcılık izlemi nedeniyle pozitif saptanan kişilerden birden çok örnek alınmıştır.

Yine 2001 ile 2011 yılları arasında kültürü yapılan tüm örneklerin sayı ve oranlarının yıllara göre dağılımları tablo 10'da gösterilmiştir.

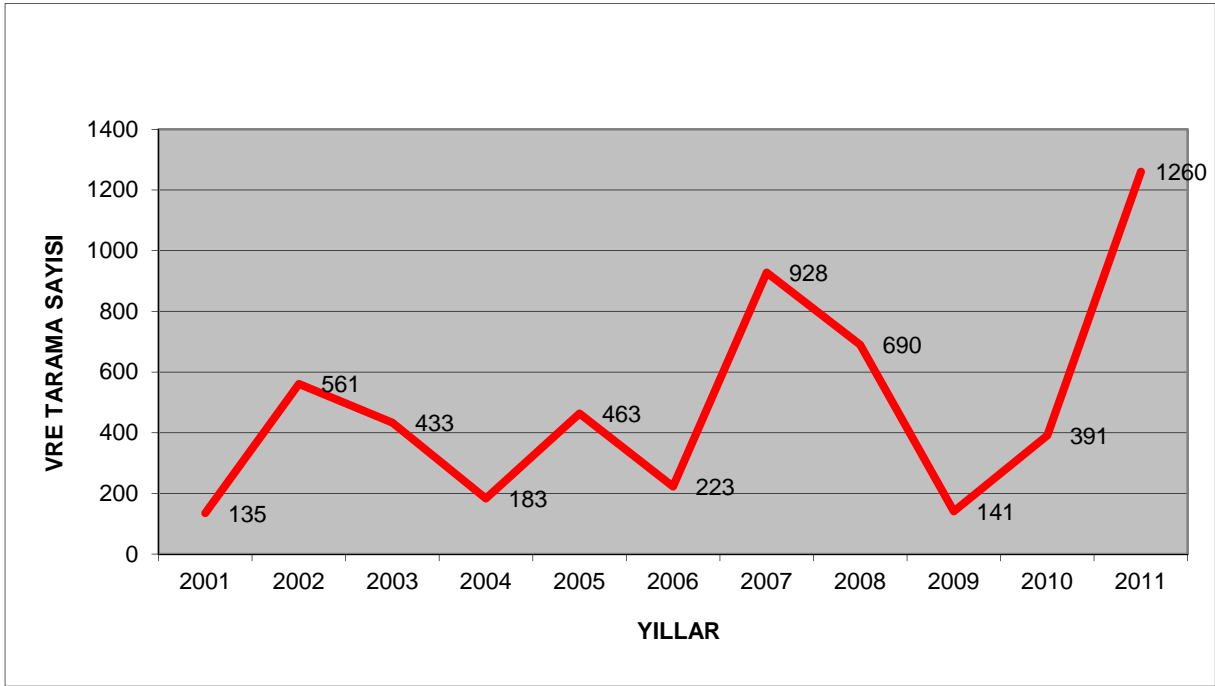
Tablo 10. VRE yönünden incelenen tarama ve hastalık örneklerinin yıllara göre dağılımı.

Yıllar	VRE yönünden incelenen örnek sayıları (%)		
	Hastalık örneği	Tarama örneği*	Toplam (%)
2001	9 (2)	135 (2,5)	144 (2,46)
2002	8 (1,8)	561 (10,4)	569 (9,72)
2003	20 (4,5)	433 (8)	453 (7,74)
2004	14 (3,2)	183 (3,4)	197 (3,36)
2005	37 (8,4)	463 (8,6)	500 (8,54)
2006	21 (4,8)	223 (4,1)	244 (4,17)
2007	47 (10,7)	928 (17,2)	975 (16,66)
2008	73 (16,6)	690 (12,7)	763 (13,04)
2009	15 (3,4)	141 (2,6)	156 (2,66)
2010	31 (7)	391 (7,2)	422 (7,21)
2011	166 (37,6)	1260 (23,3)	1426 (24,38)
Toplam	441 (100)	5408 (100)	5849 (100)

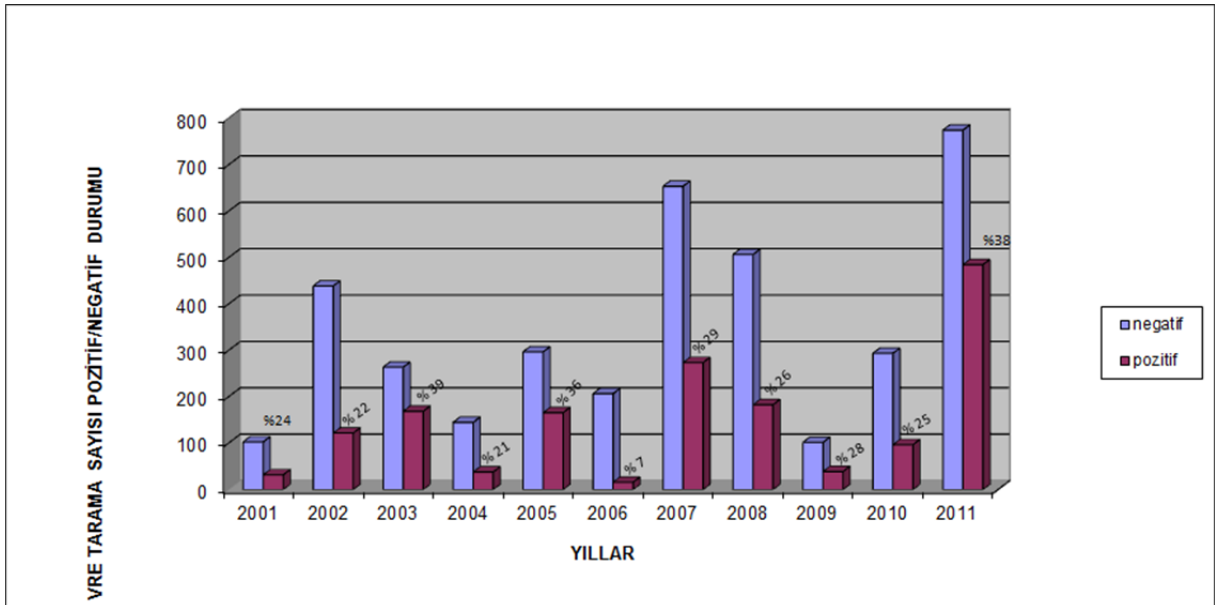
* VRE taraması amacıyla gönderilen rektal sürüntü örnekleri

Çalışma süresince hastanemizde yapılan VRE tarama kültürlerinin yıllara göre dağılımı ve sonuçları aşağıda şekil 1 ve şekil 2' de görülmektedir.

Şekil 1. 2001-2011 arasında yapılan VRE tarama kültürlerinin yıllara dağılımı.



Şekil 2. 2001-2011 arasında yapılan VRE tarama kültürlerinin sonuçları.



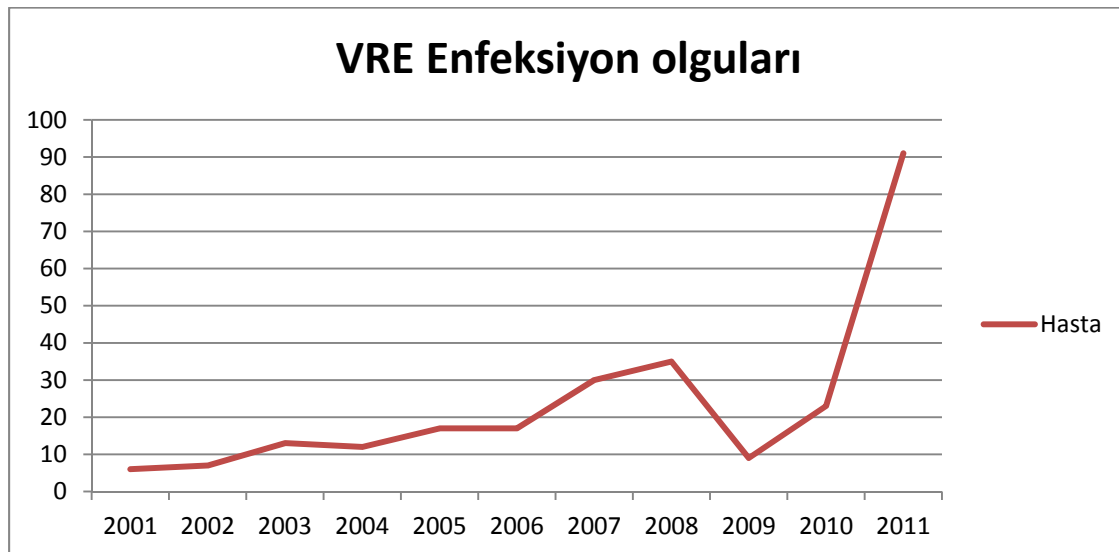
2001 ile 2011 yılları arasında kültürü yapılan ve VRE pozitifliği saptanan tüm olguların sayı ve oranlarının yıllara göre dağılımı aşağıda tabloda gösterilmiştir.

Tablo 11. VRE soyutlanan enfekte ve rektal kolonizasyon olgularının yıllara göre dağılımı.

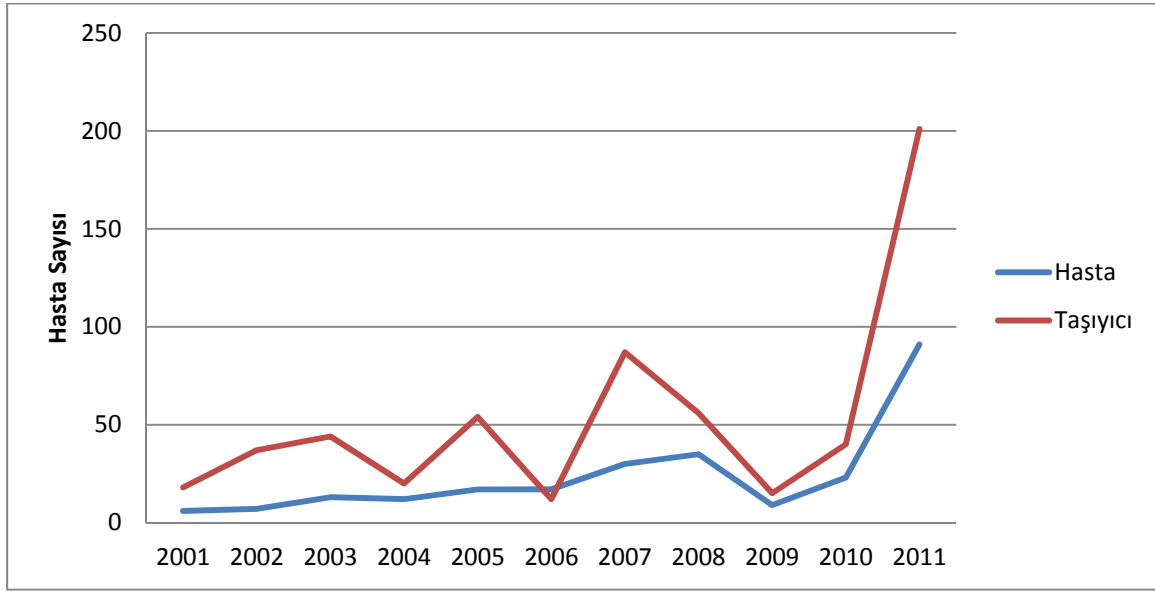
Yıllar	VRE pozitifliği sayı (%)	
	Hasta	Taşıyıcı
2001	6 (2,3)	18 (3,1)
2002	7 (2,7)	37 (6,3)
2003	13 (5)	44 (7,5)
2004	12 (4,6)	20 (3,4)
2005	17 (6,5)	54 (9,2)
2006	17 (6,5)	12 (2,1)
2007	30 (11,5)	87 (14,9)
2008	35 (13,5)	56 (9,6)
2009	9 (3,5)	15 (2,6)
2010	23 (8,8)	40 (6,8)
2011	91 (35)	201 (34,4)
Toplam	260 (100)	584 (100)

Çalışma süresince hastanemizde görülen enfeksiyon olgularının yıllara göre dağılımı ve sonuçları aşağıda şekil 3'te sunulmuştur.

Şekil 3. Enfeksiyon olgularının yıllara göre dağılım grafiği.



Şekil 4. VRE soyutlanan enfekte ve rektal kolonizasyon olgularının yıllara göre dağılım grafiği.



Çalışma süresince hastanemizde kültürlerden soyutlanan tüm VRE suşları tür düzeyinde tanımlanmış ve türe göre dağılımları incelendiğinde en sık saptanan türün *E. faecium* olduğu belirlenmiştir.

Tablo 12. Hastalık ve tarama örneklerinden soyutlanan VRE türleri.

Türler	Soyutlanan Örnekler sayı (%)		Toplam
	Hastalık örneği	Tarama	
<i>E. faecium</i>	406 (%92,1)	1577 (%97,3)	1983 (%96,2)
<i>E. faecalis</i>	29 (%6,6)	20 (%1,2)	49 (%2,4)
<i>E. gallinarum</i>	6 (%1,3)	21 (%1,3)	27 (%1,3)
<i>E. durans</i>	-	3(%0,2)	3 (%0,1)
Toplam	441 (%100)	1621 (%100)	2062 (%100)

Enfekte ve kolonize olguların birimlere göre dağılımı incelenmiş ve VRE'nin en sık saptandığı birimin İç Hastalıkları Anabilim Dalı olduğu, ikinci sıklıkta Anestezi ve Reanimasyon kliniğinin bunu izlediği görülmüştür. Diğer kliniklerin detaylı dağılımları tablo 13'de sunulmuştur.

Tablo 13. VRE soyutlanan olguların kliniklere göre dağılımı.

Klinik	Enfekte olgu - Sayı(%)	Kolonize olgu - sayı (%)	Toplam olgu
İç Hastalıkları	81 (31,1)	252 (43,2)	333
Anestezi ve Reanimasyon	80 (30,7)	145 (24,9)	225
Kalp ve Damar Cerrahisi	19 (7,3)	49 (8,4)	68
Çocuk Sağlığı ve Çocuk Cerrahisi	26 (10)	30 (5,1)	56
Göğüs Hastalıkları	16 (6,2)	46 (7,9)	62
Beyin Cerrahisi	4 (1,6)	12 (2,1)	16
Nöroloji	6 (2,3)	20 (3,4)	26
Genel Cerrahi	10 (3,9)	14 (2,4)	24
Diğer servisler*	18 (6,9)	16 (2,6)	34
Toplam	260 (100)	584 (100)	844

*Ortopedi ve Travmatoloji, Kardiyoloji, Enfeksiyon Hastalıkları, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon, Üroloji, Göğüs Cerrahisi, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi, Dermatoloji, Acil Servis)

Pozitif kültürler incelendiğinde enfekte hastalardan en sık VRE soyutlanan örneklerin kan ve idrar örnekleri olduğu görülmüş ve bunları izleyen diğer hastalık örneklerinin dağılımları tablo 14'de belirtilmiştir.

Tablo 14. VRE soyutlanan hastalık örnekleri.

Hastalık örnekleri	Sayı (%)
Kan	257 (53,9)
İdrar	125 (28,4)
Diğer*	59 (17,7)
Toplam	441 (100)

* İki abse, 3 assit sıvısı, 3 batın ponksiyon sıvısı, 15 doku, 1 dren sıvısı, 6 derin ve trans trakeal aspirasyon, 1 kornea sürüntüsü, 1 perikard sıvısı, 3 periton diyaliz sıvısı, 2 plevra sıvısı, 1 safra sıvısı, 21 yara sürüntüsü örneği

Antibiyotik direnç oranlarının analizi sırasında hesaplamalar, tekrarlamaları önlemek amacıyla olguların ilk pozitif hastalık örneği veya ilk pozitif tarama örneği değerlendirmeye alınarak yapılmıştır.

Bunun sonucunda hastalık örneği veya tarama amacıyla incelenen rektal sürüntü örneği pozitif olan toplam 688 olgu saptanarak değerlendirilmeye alınmıştır.

Çalışmanın kapsadığı 11 yıllık süre içerisinde gerek standartlardaki değişiklik önerileri gerekse zaman zaman laboratuvarımızdaki antibiyotik duyarlık testlerinde kullanılan antibiyotik listelerindeki güncellemeler nedeniyle direnç araştırması yapılan test sayıları değişiklik göstermektedir.

Tablo 15. Disk difüzyon yöntemiyle duyarlılığı araştırılan ajanlar, çalışılan test sayıları ve duyarlılık oranları.

Antibiyotik	Çalışılan test sayısı	S	İ	R
Penisilin	(630)	-	-	% 100
Gentamisin	(678)	% 9	-	% 91
Teikoplanin	(685)	% 1,5	% 34,8	% 63,7
Levofloksasin	(616)	% 10,2	-	% 89,8
Vankomisin	(688)	-	-	% 100
Tetrasiklin	(634)	% 36,8	-	% 63,2
Streptomisin	(478)	% 32,6	-	% 67,4
Linezolid	(532)	% 99,6	-	% 0,4
Tigesiklin	(288)	% 99,3	% 0,7	-
Eritromisin	(77)	% 3,9	-	% 96,1
Kloramfenikol	(84)	% 55,9	-	% 44,1

S: Duyarlı İ: Orta duyarlı R: Dirençli

Glikopeptid direnci yönünden araştırılan 688 suşun tümünde E-test yöntemiyle vankomisin direnci varlığı doğrulanmıştır. Buna karşılık teikoplanin direnci 685 suшта incelenmiş ve suşların % 63,7 'sinde direnç belirlenmiştir. Teikoplanin direnç oranları ve incelenen suşların yıllara göre dağılımı tablo 16'da görülmektedir.

Tablo 16. Teikoplanin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıllar	n*	S	İ	R
2001	20	% 0	% 10	% 90
2002	41	% 14,6	% 34,2	% 51,2
2003	43	% 0	% 51,2	% 48,8
2004	23	% 4,3	% 34,8	% 60,9
2005	57	% 0	% 45,6	% 54,4
2006	26	% 0	% 69,2	% 30,8
2007	111	% 1,8	% 89,2	% 9
2008	64	% 0	% 64,1	% 35,9
2009	20	% 0	% 20	% 80
2010	57	% 0	% 3,5	% 96,5
2011	223	% 0	% 1,3	% 98,7
Toplam	685	% 1,3	% 34,9	% 63,8

* n= Teikoplanin duyarlılığı araştırılan test sayısı S: Duyarlı R: Dirençli İ: Orta duyarlı

Soyutlanan VRE suşlarında vankomisin ve teikoplanin MİK değerleri araştırılmış ve bulunan MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri aşağıda Tablo 17 ve 18' de sunulmuştur.

Tablo 17. Glikopeptid dirençli bulunan enterokoklarda vankomisin MİK değerleri dağılımı.

Vankomisin MİK değerleri	Sayı (n)
48	8
64	17
96	15
128	82
256	566
TOPLAM	688

n=vankomisin MİK değerleri incelenen enterokok suşu sayısı

Soyutlanan tüm enterokok suşlarına karşı vankomisin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değeri 256 mcg/ml olarak hesaplanmıştır.

Tablo 18. Glikopeptid dirençli bulunan enterokoklarda teikoplanin MİK değerleri dağılımı.

Teikoplanin MİK değerleri	Sayı (n)
4	4
8	6
12	38
16	92
24	108
32	29
48	21
64	48
96	17
128	66
192	4
256	252
TOPLAM	685

n=teikoplanin MİK değerleri incelenen enterokok köken sayısı

İncelenen tüm enterokoklara karşı teikoplanin MİK₅₀ değeri 64 mcg/ml ve MİK₉₀ değeri ise 256 mcg/ml olarak hesaplanmıştır.

Çalışmada incelenen toplam 688 suşun 678'inde gentamisin, 478'inde ise streptomisin diskleri kullanılarak YDAD araştırılmıştır. Gentamisin ile direnç araştırılan 678 suşun 617 (% 91)'inde, streptomisin ile direnç araştırılan 478 suşun ise 321 (% 67.4) 'inde YDAD saptanmıştır.

Tek başına gentamisin yüksek düzey direnci 140 suşta saptanırken, tek başına streptomisin yüksek düzey direnci ise 20 suşta belirlenmiştir.

Streptomisin ve gentamisinin ikisinin birden bakıldığı 478 kökende her iki ajana karşı YDAD saptanan köken sayısı 300 (% 62.8) bulunmuştur.

Her iki ajana karşı saptanan yüksek düzey aminoglikozid direnç oranları ve incelenen suşların yıllara göre dağılımı Tablo 19 ve Tablo 20'de görülmektedir.

Tablo 19. Yüksek düzey gentamisin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıllar	n*	S	R
2001	19	% 26,3	% 73,7
2002	40	% 22,5	% 77,5
2003	36	% 16,7	% 83,3
2004	23	% 13	% 87
2005	59	% 1,7	% 98,3
2006	26	% 0	% 100
2007	111	% 8,1	% 91,9
2008	64	% 6,2	% 93,8
2009	20	% 10	% 90
2010	57	% 0	% 100
2011	223	% 9,9	% 90,1
Toplam	678	% 9	% 91

* n= Gentamisin duyarlılığı araştırılan test sayısı S: Duyarlı R: Dirençli

Tablo 20. Yüksek düzey streptomisin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıllar	n*	S	R
2001	6	% 16,7	% 83,3
2002	3	% 100	% 0
2003	2	% 50	% 50
2004	3	% 0	% 100
2005	59	% 3,4	% 96,6
2006	26	% 0	% 100
2007	110	% 70	% 30
2008	37	% 83,8	% 16,2
2009	15	% 6,7	% 93,3
2010	36	% 2,8	% 97,2
2011	141	% 22,1	% 77,9
Toplam	478	% 32,8	% 67,4

* n= Streptomisin duyarlılığı araştırılan test sayısı S: Duyarlı R: Dirençli

Çalışma kapsamında incelenen 688 VRE suşunun 630'unda penisilin duyarlılığı araştırılmış ancak penisiline duyarlı suş bulunmamıştır. Yıllara göre incelenen suş sayıları tablo 21'de görülmektedir.

Tablo 21. Penisilin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıllar	n*	R
2001	9	% 100
2002	20	% 100
2003	18	% 100
2004	23	% 100
2005	59	% 100
2006	26	% 100
2007	110	% 100
2008	64	% 100
2009	20	% 100
2010	57	% 100
2011	224	% 100
Toplam	630	% 100

* n= Penisilin duyarlılığı araştırılan test sayısı R: Dirençli

Son yıllarda kullanıma girmiş olan linezolid ve tigesiklin, 2005 yılından itibaren laboratuvarımızda duyarlık testlerinde rutin olarak yerini alan antibakteriyel ajanlardır. Her iki ajana karşı direnç oranlarının ve incelenen suşların yıllara göre dağılımı tablo 22 ve tablo 23'de verilmiştir.

Tablo 22. Linezolid direnç oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıllar	n*	S	R
2005	37	% 100	-
2006	26	% 100	-
2007	108	% 98,1	% 1,9
2008	62	% 100	-
2009	19	% 100	-
2010	57	% 100	-
2011	220	% 100	-
Toplam	532	% 99,6	% 0,4

* n= Linezolid duyarlılığı araştırılan test sayısı S: Duyarlı R: Dirençli

Tablo 23. Tigesiklin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıllar	n*	S	İ
2005	1	% 100	-
2006	1	% 100	-
2007	3	% 100	-
2008	22	% 100	-
2009	14	% 100	-
2010	52	% 98,1	% 1,9
2011	195	% 99,5	% 0,5
Toplam	288	% 99,3	% 0,7

* n= Tigesiklin duyarlılığı araştırılan test sayısı S: Duyarlı İ: Orta duyarlı

Enterokoklara karşı etkinliği araştırılan florokinolonlardan levofloksasin direnç oranları ve yıllara göre dağılımı tablo 24’de sunulmuştur.

Tablo 24. Levofloksasin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıllar	n*	S	R
2001	20	% 25	% 75
2002	39	% 56,4	% 43,6
2003	42	%33,3	% 66,7
2004	23	% 13	% 87
2005	59	% 0	% 100
2006	26	% 3,8	% 96,2
2007	65	% 3,1	% 96,9
2008	63	% 14,3	% 85,7
2009	20	% 20	% 80
2010	57	% 0	% 100
2011	202	% 1,5	% 98,5
Toplam	616	% 10,2	% 89,8

* n=Levofloksasin duyarlılığı araştırılan test sayısı S: Duyarlı R: Dirençli

Tedavide daha kısıtlı kullanım alanı bulan tetrasiklin, kloramfenikol ve eritromisin için direnç oranları ve yıllara göre dağılımı sırasıyla tablo 25-26-27 ‘de görülmektedir.

Tablo 25. Tetrasiklin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıllar	n*	S	R
2001	18	% 77,8	% 22,2
2002	38	% 28,9	% 71,1
2003	36	% 36,1	% 63,9
2004	23	% 65,2	% 34,8
2005	58	% 15,5	% 84,5
2006	26	% 57,7	% 42,3
2007	109	% 75,2	% 24,8
2008	63	% 69,8	% 30,2
2009	20	% 95	% 5
2010	57	% 5,3	% 94,7
2011	186	% 14,5	% 85,5
Toplam	634	%39,7	% 60,3

* n= Tetrasiklin duyarlılığı araştırılan test sayısı S: Duyarlı R: Dirençli

Tablo 26. Kloramfenikol direnç oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıllar	n*	S	R
2001	15	% 100	% 0
2005	3	% 66,7	% 33,3
2007	27	% 55,6	% 44,4
2008	8	% 100	% 0
2009	3	% 100	% 0
2010	27	% 14,8	% 85,2
Toplam	37	% 56	% 44

* n= Kloramfenikol duyarlılığı araştırılan test sayısı S: Duyarlı R: Dirençli

Tablo 27. Eritromisin direnç oranlarının yıllara göre dağılımı.

Yıllar	n*	S	R
2005	1	% 0	% 100
2007	39	% 2,6	% 97,4
2008	5	% 20	% 80
2009	3	% 0	%100
2010	26	% 0	% 100
2011	2	% 0	% 100
Toplam	74	% 3,9	% 96,1

* n= Eritromisin duyarlılığı araştırılan test sayısı S: Duyarlı R: Dirençli

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde VRE kökenlerinin enfeksiyon veya kolonizasyon etkeni olarak karşımıza daha sık çıkması, tüm dünyada önemi gittikçe artan bir sorun oluşturmaktadır.

Hastanelerde VRE kontrol programının en önemli basamaklarından biri, kolonize veya enfekte hastaların hemen belirlenmesidir. Bu nedenle hastanedeki enfeksiyon kontrol programında mikrobiyoloji laboratuvarı kilit bir rol oynamaktadır. Çünkü enfeksiyon kontrol çalışmaları laboratuvarından gelen sonuçlara dayanarak yapılmaktadır. Hastalardan VRE suşlarının soyutlanması, tür düzeyinde tanımlaması ve antibiyotik duyarlılık testlerinin doğru ve mümkün olan en hızlı şekilde yapılması, enfeksiyon kontrol önlemlerinin hemen uygulanabilmesine ve mikroorganizmanın yayılımının sınırlandırılmasına büyük katkı sağlar. Ayrıca laboratuvarın belli aralarla kendi verilerini inceleyerek durum tespiti yapması, hastanelerin VRE sorunuyla ilgili ileriye yönelik enfeksiyon kontrol politikalarının oluşturulması açısından değerli katkılar sağlayabilir.

Sunulan bu çalışmada bakteriyoloji laboratuvarında 2001 yılında hastalık örneklerinden ilk kez soyutlanan VRE suşu ile başlayarak bunu izleyen on bir yıllık süre içerisinde Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde VRE sorununun izlediği yol ve gelinen nokta detaylarıyla incelenmiştir. Hastanemizde de diğer ülkelerle paralel olarak VRE sorununun boyutunun büyüdüğü görülmüştür.

VRE kolonizasyonu ve enfeksiyonu için risk oluşturan durumlar araştırıldığında; demografik risk faktörleri, altta yatan hastalığın ağırlığı ile ilişkili risk faktörleri ve kullanılan antimikrobiyaller ile ilgili risk faktörleri olmak üzere üç ana kategoride toplanmaktadır: (2, 27, 30).

İlk kategoriyi oluşturan demografik risk faktörleri arasında hastanede veya yoğun bakım ünitesinde uzun süreli yatış, VRE ile enfekte veya kolonize hastalar ile aynı ortamı paylaşma, kolonize veya enfekte bir hastaya bakım veren sağlık personelinin bakım almak gibi durumlar bulunmaktadır (2, 27, 30).

İkinci kategoride ise altta yatan hastalığın ağırlığı ile ilişkili risk faktörleri sıralanmaktadır. Bu risk faktörleri böbrek yetmezliği, hepatobiliyer hastalık, *Clostridium difficile*'ye bağlı kolit öyküsü, yüksek APACHE Skoru, immünsupresyon ve organ nakli alıcısı olmaktır (2, 27, 30).

Kullanılan antimikrobiyaller ile ilişkili risk faktörleri incelendiğinde daha önceden vankomisin, geniş spektrumlu sefalosporinler, siprofloksasin ve metranidazol gibi bazı ajanların kullanılması yanı sıra bu ilaçların kullanım doz ve süreleri de rol oynamaktadır (2, 27, 30).

Son yıllarda birçok çalışmada da bildirildiği üzere; özellikle yoğun bakım birimlerinde yatan hastalarda bu risk faktörleri nedeniyle yoğun bakım birimi dışında yatan hastalara göre VRE insidansı daha yüksektir(27, 31). Sunulan bu çalışmada da literatür bilgisi ile uyumlu olarak enfekte ve kolonize olgulardan izole edilen toplam 844 VRE suşunun 333 (% 39,5)'ünün İç Hastalıkları ve 225 (% 26,7)'inin de Anestezi ve Reanimasyon Kliniği'nde yatan hastalardan izole edildiği görülmüştür. Mikroorganizmanın soyutlandığı kişiler arasında sayıca en büyük grubu oluşturan bu olguların, diğer çalışmalarda da belirtildiği gibi VRE enfeksiyonu açısından en yüksek risk faktörlerine sahip Hematoloji, Diyaliz, Onkoloji ve Yoğun Bakım ünitelerinde yatan kritik hastalar olduğu belirlenmiştir.

VRE pozitif olguların sayısı, operasyon nedeniyle cerrahi ve dahili klinikler arası gerçekleşebilen transferler nedeniyle olguların ilk kez saptandıkları birimler baz alınarak hesaplanmıştır.

Enterokok enfeksiyonları yeni doğan dönemi dışında çocuklarda erişkinlerden daha az görülür. Enterokoklar çocuk hastalarda hastane kaynaklı bakteremi, üriner sistem enfeksiyonu, yeni doğan sepsisi ve cerrahi yara enfeksiyonu etkenleri arasında son yıllarda giderek artmaktadır (32). Bu çalışmada VRE soyutlanan çocuk olgu sayısı hesaplanırken, Mikrobiyoloji laboratuvarı istek formlarındaki bilgilerin kliniklerde tam doldurulmamış olmasına bağlı olarak ulaşılabilen eksik veriler nedeniyle Çocuk Sağlığı kliniğinin kapsadığı Yenidoğan ve diğer alt birimler ayrı ayrı hesaplanamamış ve Çocuk Sağlığı kliniğindeki alt birimlere ilişkin net sayısal değerler verilememiştir. Bunun yanı sıra Çocuk Sağlığı ve Çocuk Cerrahisi kliniklerindeki olgular bir arada değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada, hastalık örneklerinden enfeksiyon etkeni olarak soyutlanan VRE suşlarının yıllara göre dağılımı incelendiğinde, VRE enfeksiyon olgu sayılarının, direncin ilk kez saptandığı 2001 yılından başlayarak bunu izleyen dokuz yıl boyunca 2004 ve 2009 yılları dışındaki tüm yıllarda bir önceki yıla göre sürekli artış gösterdiği belirlenmiştir. VRE enfeksiyon olgu sayısında 2009 yılında görülen bu belirgin düşüşün hemen ardından hızlı bir artış eğilimi ile en yüksek olgu sayısına 2011 yılında ulaşıldığı görülmüştür. Son iki yıldaki yükseliş eğilimine bakılacak olursa VRE enfeksiyonlarının hastanemizde ilerleyen yıllarda da gittikçe artan oranda sorun olmaya devam edeceği rahatça öngörülebilmektedir.

Hastanelerde salgınların önlenmesi ve kontrol altına alınabilmesi için, VRE enfeksiyonu ya da rektal kolonizasyonu saptanan olguların izole edilmesi ve izolasyon yanı sıra diğer enfeksiyon kontrol önlemlerine de dikkat edilmesi önerilmektedir (2, 9, 16). Yeni saptanan bir VRE pozitif olgu ile aynı odada izlenmiş olan hastalar, rektal sürüntü örnekleri alınıp tarama kültürleri yapılarak VRE kolonizasyonu yönünden araştırılmalıdır.

VRE sorunu bulunan bir merkezde periyodik rektal kolonizasyon taramaları yapılmadığı takdirde kontrol programının başarıya ulaşması güçtür. Kolonizasyon taramaları, yeni bir VRE pozitif

olgu saptandığında sadece aynı odada izlenmekte olan hastaların taranması ile sınırlı olabileceği gibi, aynı servisteki tüm hastaların veya Hematoloji-Onkoloji servisi, Yoğun Bakım ünitesi, Transplantasyon ünitesi gibi birimlerde izlenen, yüksek risk grubundaki tüm hastaların da taranması şeklinde çok daha geniş kapsamlı olabilir.

VRE pozitif hastalardan ne sıklıkta kültür alınması gerektiği, izolasyonun ne zaman sonlandırılacağı, yeni bir pozitif olgu saptandığında taramanın hangi hastaları içermesi gerektiği ve taramanın hangi sıklıkta yapılacağına dair, Enfeksiyon Kontrol Komitesi tarafından belirlenmiş yazılı politikaların olması gereklidir. VRE kolonizasyonu uzun süre devam edebildiği için, genellikle izolasyonun en az birer hafta arayla alınmış ardışık üç veya daha fazla negatif kültür sonucu elde edildikten sonra sonlandırılması önerilir (2, 9, 16). Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde VRE pozitif olgu saptanmadığı durumlarda, VRE kolonizasyonu araştırmak üzere birimlerde düzenli olarak rektal tarama kültürleri yapılmamaktadır. Hastanemizdeki tarama programı; bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen hastalık örneklerinden VRE izole edildiği durumlarda, VRE soyutlanan indeks olguya bağlı olarak bu hastanın ve yattığı klinikte ilişkide bulunduğu tüm hastaların VRE taşıyıcılığı yönünden taranması şeklinde yürütülmektedir. Tarama kültürlerinde pozitiflik saptanması durumunda bu hastalar izolasyona alınmaktadır. İzolasyona alınan tüm hastaların birer hafta arayla rektal sürüntü kültürleri tekrar edilmekte ve ardışık üç negatif kültür sonucu alınana dek olguların izolasyonu sürdürülmektedir.

Hastanemizde tarama amaçlı rektal sürüntü örneklerinden izole edilen VRE suşlarının dağılım grafiği incelendiğinde, kolonize olgu sayılarının 2001 ile 2011 yılları arasında, dalgalanmalar gösteren bir seyir izlediği ancak 2001 yılındaki ilk epidemiden başlayarak kolonize olgu sayılarında genel olarak artış gözlemlendiği anlaşılmaktadır.

Gerek enfekte gerekse kolonize olgu sayılarındaki artışlar bir arada değerlendirildiğinde Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde ilerleyen yıllarda da VRE sorununun devam edeceği ve buna bağlı olarak yapılması beklenen tarama sayılarının da artacağı ve bunun hastaneye ek maliyet yükü, bakteriyoloji laboratuvarına ek iş yükü olarak yansıtacağı beklenmektedir.

VRE sorunu olan merkezlerde hastaların çoğunun bu mikroorganizma ile yalnızca kolonize olması ve VRE enfeksiyon oranlarının yüksek olmaması sevindiricidir. VRE taraması amacıyla perirektal ya da rektal kültüre dayalı rutin sürveyans tarama programı uygulanan bazı hastanelerde VRE kolonize olgu sayısının enfekte olgu sayısına oranının 10/1 oranına kadar çıktığı bildirilmektedir (2). Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde rutin sürveyans tarama programı uygulanmadığı için 2001-2011 yılları arasında saptanan kolonize ve enfekte olgu sayılarının oranları konusunda herhangi bir hesaplama yapılmamıştır. Ancak yapılan taramalarda saptanan kolonize olgu sayılarının gerçekte olması beklenen sayıdan az olduğu düşünülebilir.

Enterokok enfeksiyonlarının % 85-90'undan *E. faecalis* ve % 5-10'undan *E. faecium* sorumludur. Ancak yapılan çalışmaların çoğunda vankomisin direnç oranının en yüksek bulunduğu türün *E. faecium* olduğu, *E. faecalis*'te daha düşük oranlarda direnç belirlendiği bildirilmektedir (33). Bu literatür bilgisiyle uyumlu olarak hastanemizde 2001-2011 yılları arasında gerek enfekte gerekse kolonize olgulardan en sık soyutlanan türün *E. faecium* olduğu belirlenmiştir.

Sunulan çalışmada *E. faecium*, hastalık örneklerinden % 92, tarama örneklerinden ise % 97,3 oranlarında soyutlanmıştır. *E. faecalis* soyutlanma oranları ise hastalık ve tarama örneklerinde sırasıyla %6,6 ve %1,2 olarak belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda *E. faecium*'un bu kadar yüksek oranda ve son yıllarda baskın tür olarak görülmesi sebebiyle ilerleyen yıllarda da bu türe bağlı enfeksiyonların devam edeceği öngörülebilmektedir.

VRE'ye bağlı enfeksiyonlar genellikle intraabdominal, üriner sistem, kan dolaşımı, cerrahi alan ya da vasküler kateter ile ilişkili enfeksiyonlardır (12). Yine literatürde, VRE salgınları incelendiğinde soyutlanan kökenlerin % 45-50'sinin idrar veya kan örneklerinden izole edildiği bildirilmektedir (1, 2). Hastanemizde en sık VRE soyutlanan hastalık örneklerinin de buna uyumlu olarak sırasıyla % 53,9 oranında kan ve % 28,4 oranında idrar olduğu belirlenmiştir.

Enterokoklar günümüzde geleneksel antibiyotik tedavisine gittikçe artan oranlarda direnç göstermeye başlamışlardır. Yüksek düzey aminoglikozid, ampicilin ve penisilin direncinin yanı sıra hızla yayılan vankomisin direnci de tedavi alternatiflerinin iyice sınırlanmasına yol açmıştır. Vankomisin direnci gelişen enterokokların neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için ise seçenekler gittikçe daralmış olup elimizde güvenilir bakterisidal etki gösterebilecek bir tedavi rejimi bulunmamaktadır.

Çalışmada hastanemizde soyutlanan VRE suşları arasında beklendiği şekilde penisiline duyarlı tür saptanmamış, yüksek düzey gentamisin ve yüksek düzey streptomisin direnç oranları da yüksek oranlarda sırasıyla % 91 ve % 67,4 olarak bulunmuştur.

Teikoplanin *in-vitro* olarak *Van B* fenotipindeki enterokokların birçoğuna karşı etkin bir glikopeptid ajandır. Yüksek düzeyde direnç saptanmamış bir aminoglikozid ile birlikte kullanıldığında, hayvan endokardit modellerinde yeterli etki gösterdiği bildirilmiştir (1). Teikoplanin, ABD'de ticari olarak bulunmamaktadır. Avrupa'da ise vankomisine duyarlı enterokoklarda kullanıldığında % 84-87 klinik başarı oranları bildirilmiştir (34). *Van B* dirençli enterokok enfeksiyonlarında bu ilacın kullanımına ilişkin çalışmalar yetersizdir. VRE enfeksiyonlarında teikoplanine duyarlılık söz konusu ise teikoplanin-aminoglikozid kombinasyonu verilebilir, ancak teikoplanin tedavisi alan hastalarda tedavi sırasında direnç gelişme ihtimali her zaman akılda tutulmalıdır (34).

Çalışmada, hastanemizdeki suşlarda teikoplanine karşı duyarlılık % 1.5 oranında saptanırken orta duyarlı suşların oranının % 34.8 olarak bulunması dikkat çekicidir. Ancak 2009 yılından itibaren orta duyarlı suşlar azalmış ve yıllar içerisinde dirençli suşlar giderek artan oranlarda görülmeye başlamış, 2011 yılında teikoplanine direnç oranı % 98.7 'ye ulaşmıştır. *Van A* tipi direnç, diğer direnç tipleri arasında en sık rastlanan ve Avrupa'da baskın bulunan, vankomisin ve teikoplanine karşı yüksek düzey direnç belirlenen genotiptir. Sunulan çalışmada hastanemizdeki VRE suşlarında direnç genleri araştırılmamış, ancak 2001-2004 yılları arasında hastanemizde soyutlanan VRE suşları çok merkezli bir çalışmada incelenmiş ve tümünde *Van A* tipi direnç belirlenmiştir (35). Bu sunulan çalışmada suşlarda belirlenen yüksek teikoplanin direnç oranı, hastanemizde *Van A* tipi direncin halen yaygın olabileceğini düşündürmektedir.

Kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin ve florokinolonlar VRE enfeksiyonlarının tedavisinde daha az sıklıkla kullanılabilen antimikrobiyal ajanlardır. Bu ilaçların kullanımı, duyarlı bulunan suşların tedavisinde ve genellikle kombinasyonda önerilmektedir. Bu ajanlar içerisinde VRE suşlarına karşı *in-vitro* etkinliği en iyi olan kloramfenikoldür. Ancak direnç gelişim potansiyeli ve yan etkileri nedeniyle kullanımı kısıtlanmaktadır (36). Hastanemizde soyutlanan VRE kökenlerinin %44'ünde kloramfenikol direnci saptanmıştır.

Tetrasiklin, rifampisin ve florokinolonların VRE enfeksiyonlarındaki kullanımına ilişkin *in-vitro* ve klinik çalışmalar oldukça sınırlıdır. VRE suşlarına karşı bu ajanların etkinliği değişken olup bazı serilerde %50'nin üzerinde direnç oranları bildirilmiştir (37). Bizim suşlarımızda da tetrasikline karşı direnç oranının % 60,3 olduğu görülmüştür.

Günümüzde enterokokların büyük çoğunluğunda eritromisine, dolayısıyla da makrolidlere karşı direnç gelişimi söz konusudur. Bunun yanı sıra benzer durum kinolonlar için de geçerlidir (12). Sunduğumuz çalışmada benzer şekilde suşlarımızın eritromisine karşı % 96,1 ve levofloksasine karşı % 89.8 oranlarıyla çok yüksek direnç geliştirdiği belirlenmiştir.

ABD, Avrupa ve Asya ülkelerinde 2000 yılından sonra yürütülen sürveyans çalışmalarında VRE enfeksiyon tedavisinde kullanılabilen çok sayıda ajanın *in-vitro* etkisi araştırılmıştır ve gerek *E. faecium* ve gerekse *E. faecalis*'e karşı en etkili antibiyotiklerin linezolid ve daptomisin olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra *E. faecalis* suşlarına karşı ampisilin etkili bulunurken, *E. faecium* suşlarına karşı etkinlik göstermemiştir. Kinupristin-dalfopristinin *E. faecalis* suşlarına hiç etkili olmadığı, *E. faecium* suşlarında da direnç oranlarının özellikle Avrupa ve Asya ülkelerinde giderek arttığı bildirilmiştir (38, 39).

Son yıllarda VRE enfeksiyon tedavisinde yerini alan ajanlar arasında kinupristin-dalfopristin, linezolid, daptomisin ve tigesiklin sayılabilir. Bunların dışında henüz kullanıma girmemiş, orivansin, dalbavansin, televansin gibi yeni glikopeptidler yanı sıra yeni kullanıma girmiş beşinci kuşak sefalosporinlerden seftarolin ve seftobiprol enterokok enfeksiyonlarında iyi bir tedavi alternatifi olabilecek gibi gözükmetedir (12, 23-25).

Yeni kuşak ilaçlardan linezolid ve tigesiklin, 2005 yılından itibaren laboratuvarımızda rutin duyarlılık testlerinde yer alan ajanlar arasına girmiştir. Linezolide karşı direnç sadece 2007 yılında görülmüş olup test edilen tüm suşların %0.4'ünde saptanmıştır. Tigesikline karşı tüm suşların %0.7'si orta duyarlı olarak değerlendirilmiş, bu suşlar 2010 ve 2011 yıllarında gözlenmiştir. Tigesikline dirençli suş saptanmamıştır.

Linezolid VRE enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir bileşiktir. Oksazolidinon sınıfından olan ajan, protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterir. Direnç gelişimi linezolid kullanımını kısıtlayan en önemli faktördür. Enterokoklarda linezolid direncinin 23 s RNA'yı kodlayan gendeki tek bir baz çiftindeki mutasyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Mutasyonal olan bu direnç moleküler yöntemlerle doğru bir şekilde saptanabilmekte, fenotipik yöntemler kullanıldığında hatalı sonuçlar alınabilmektedir. Hastanemizde VRE suşlarında linezolid direnci disk difüzyon ve E-test yöntemleri ile araştırılmış, ancak moleküler yöntemlerle doğrulanmamıştır (40).

Tigesiklin, glisilsiklinlerin ilk üyesi olan minosiklinden türetilmiş bir antibiyotiktir. 30S ribozomal alt üniteye bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Tigesiklinin VRE enfeksiyonlarına etkisine ilişkin klinik çalışmalar oldukça sınırlıdır. VRE'ye karşı *in-vitro* duyarlılık sınırları da net değildir (41).

Hastanelerde VRE salgınlarının önlenmesinde enfekte ve kolonize hastaların saptanması temel koşuldur. Daha önce de belirtildiği gibi, enterokoklarda vankomisin direncinin saptanmasında mikrobiyoloji laboratuvarı kilit bir rol oynamaktadır. Laboratuvarda bu amaçla klasik kültür yöntemleri ya da moleküler yöntemler kullanılabilir. Klasik yöntemlerde; tür düzeyinde tanımlama, diğer ajanlara karşı duyarlılık araştırılabilmesi, test birim maliyetinin düşük olması gibi avantajlara karşılık, emek yoğun çalışma ve uzun sürede sonuç verebilme dezavantajları oluşturmaktadır (42).

Moleküler yöntemlerde; hızlı sonuç verebilme ve daha az iş yükü gereksinmesi gibi avantajlar bulunmakta ancak taramalarda dışının inhibitör etkisi, *Van A* ve *Van B* elemanlarını taşıyabilecek enterokok dışında diğer bakterilerin bulunabilmesi, bakterinin ölü olmasına rağmen DNA pozitifliğinin

sürmesi, bakterinin stoklanamaması ve test birim maliyetlerinin yüksek olması başlıca dezavantajlardır (42). Her iki yöntemin yukarıda sayılan avantaj ve kısıtlılıkları değerlendirildiğinde rutin işlemlerde laboratuvarımızda klasik yöntemler uygulanmaktadır.

Sonuç olarak bu çalışmada;

- Gerek enfekte gerekse kolonize hastalardan elde edilen VRE suşları en sık İç Hastalıkları ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniklerinden soyutlanmıştır.
- Soyutlanan VRE suşları arasında en sık rastlanan tür *E faecium* olmuştur.
- VRE suşları en sık kan ve ikinci sıklıkta idrar örneklerinden soyutlanmıştır.
- İncelenen suşlar arasında penisiline duyarlılık gözlenmemiştir.
- Eritromisin, levofloksasin ve teikoplanine karşı direnç oranları oldukça yüksek saptanmıştır.
- Gentamisine karşı yüksek düzey direnç oranı %90'ın üzerinde bulunmuştur.
- Test edilen antimikrobiyal ajanlar arasında etkinliği en yüksek olan linezolid olarak belirlenmiştir.
- Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2001-2011 yılları arasında hem enfeksiyon hem kolonizasyon olgularının sayısı 2001 yılından itibaren sürekli artış göstermekle birlikte bu artış özellikle 2009 yılından sonra hızlı bir ivme kazanmıştır.

En ideal koşullarda ve eksiksiz uygulanan tüm enfeksiyon kontrol önlemlerine rağmen VRE salgınları uzun süre devam edebilmekte, özellikle hastanemiz gibi büyük merkezlerde VRE salgınlarının kontrolü oldukça zor olmaktadır. Hastanemizde de enfeksiyon kontrol önlemlerinin tam olarak uygulanamaması sonucunda VRE salgınlarının kontrolünde istenen başarı sağlanamamıştır. Enfeksiyon kontrol önlemlerinin tam anlamıyla kesintisiz uygulanabilmesi, akılcı antibiyotik kullanımının yaygınlaştırılması, tüm sağlık personelinin eğitilmesi, klinik- mikrobiyoloji laboratuvarı-enfeksiyon kontrol ekibi işbirliğinin artırılabilmesi ve hastane idarelerinin desteği ile VRE salgınlarının kontrolünde başarı sağlanabilir. Kontrol önlemleri ve büyük çabalar ile direnç prevalansında düşüşler saptanabilmekte ise de bundan sonra hiçbir zaman direncin tekrar sıfırlanmayacağı tahmin edilmektedir.

6. ÖZET

Günümüzde vankomisin dirençli enterokok (VRE) kökenlerinin enfeksiyon veya kolonizasyon etkeni olarak karşımıza daha sık çıkması, önemi her geçen gün artan bir sorun oluşturmaktadır. Tedavi seçeneklerinin kısıtlılığı nedeniyle önemli bir nozokomiyal patojen olan bu organizmaların izlem ve kontrolü büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2001-2011 yılları arasında enterokoklarda glikopeptid direnç gelişiminin izlenerek değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Hastanemizde çalışma kapsamı süresince yatarak izlenen VRE enfeksiyon ve kolonizasyon olgularının bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen klinik hastalık ve rektal sürüntü örneklerinin kültür sonuçları, üreyen mikroorganizmalar, duyarlılık paternleri ve hastalara ait demografik bilgilere, Bakteriyoloji laboratuvarı kayıtlarından ulaşılarak retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Mikrobiyoloji Laboratuvarından ve hastane kayıtlarından derlenen tüm bilgiler Microsoft Excel programına aktarılmış, bir sonraki adımda veriler SPSS 12 programı kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

VRE suşları en sık İç Hastalıkları ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniklerinden soyutlanmıştır. En sık rastlanan tür *E faecium*, en sık VRE soyutlanan örnekler kan ve idrar örnekleri olarak bulunmuştur.

İncelenen suşlar arasında penisiline duyarlılık gözlenmemiş, eritromisin, levofloksasin ve teikoplanine yüksek oranda direnç saptanmıştır. Gentamisine karşı yüksek düzey direnç oranı %91 olarak bulunmuştur. Test edilen antimikrobiyal ajanlar arasında etkinliği en yüksek olan linezolid olarak belirlenmiştir. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2001-2011 yılları arasında hem enfeksiyon hem kolonizasyon olgularının sayısı 2001 yılından itibaren sürekli artış göstermekle birlikte bu artış özellikle 2009 yılından sonra hızlı bir ivme kazanmıştır.

7. SUMMARY

Today, appearance of vancomycin-resistant enterococcus (VRE) as an infection or colonization agent constitutes a problem of increasing importance. Due to the limited therapy choices, monitoring and controlling of these organisms as nosocomial pathogens is of a great importance.

This study was aimed to monitor and evaluate the development of glycopeptide resistance in enterococci in Medical Faculty Hospital of Ege University between 2001 and 2011.

Of the VRE infection and colonization cases who were hospitalized in the hospital during the study period, bacteriology laboratory records were evaluated retrospectively. Both culture results of the clinical samples and rectal smears, the microorganisms isolated and their sensitivity patterns and the demographic data of patients were accessed through laboratory and hospital records. All the data were transferred into Microsoft Excel Program and in the following step they were statistically analyzed using SPSS program version 12.

VRE strains were most frequently isolated from the cases that hospitalized in Internal Medicine and Anesthesiology and Reanimation clinics. The most frequently encountered species was *E. faecium*. The samples from which VRE is most frequently isolated were found to be blood and urine samples.

Among the strains examined, sensitivity to penicillin was not detected whereas high rate of resistance was seen against erythromycin, levofloxacin and teicoplanin. The high-level gentamicin resistance was found to be 91 %. Among the antimicrobial agents tested linezolid had the highest effectivity. In Medical Faculty Hospital of Ege University, although the number of both infection and colonization cases has increased since 2001, this increase has gained a rapid momentum especially after 2009.

8. KAYNAKLAR

1. Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall G. Vancomycin-resistant Enterococci. *American Journal of Microbiology. Clinical Microbiology Reviews* 2000; 13 (4): 686–707.
2. Şardan YÇ. Vankomisine dirençli enterokoklara bağlı hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. Ed: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Önemli ve Sorunlu Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları*. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara; 2012: 263-280.
3. Gültekin M. Enterokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenez. Ed: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Önemli ve Sorunlu Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları*. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara; 2012: 189-220.
4. Winn WJ, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Sixth edition. Philadelphia: Lippincott Co 2006: 700-709.
5. Murray P, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. Sixth edition. Philadelphia: Mosby Elsevier Co 2009: 243-246.
6. Lehman DC, Mahon CR, Suvarna K. Streptococcus, enterococcus, and other catalase-negative gram-positive cocci. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G, eds. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fourth Edition. Missouri: W.B Saunders Co 2011: 330-351.
7. Facklam RR, Sahm DF, Teixeira LM. Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Yolken RH, eds. *Manuel of Clinical Microbiology*. Seventh edition. Washington: American Society for Microbiology Press 1999: 297-305.
8. Ruoff KL. Leuconostoc, Pediococcus, Stomatococcus, and Miscellaneous gram-positive cocci that grow aerobically. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, eds. *Manuel of Clinical Microbiology*. Seventh edition. Washington: American Society for Microbiology Press 1999: 306-315.
9. Aktaş G, Derbentli Ş. Vankomisine dirençli enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 2009; 23 (4): 201-209.
10. Başustaoğlu A, Kılıç A. Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu. Ed: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Önemli ve Sorunlu Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları*. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara; 2012: 221-244.

11. Marsik FJ. Antimicrobial susceptibility testing. In: Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G, eds *Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fourth Edition. Missouri: W.B Saunders Co 2011: 277-307.
12. Esen Ş. Enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar ve tedavi seçenekleri. Ed: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Önemli ve Sorunlu Gram-Pozitif Bakteri İnfeksiyonları*. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara; 2012: 245-261.
13. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1988; 1: 57-58.
14. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 1988; 319: 157-161.
15. Frieden TR, Munsiff SS, Lowe DE, et al. Emergence of vancomycin resistant enterococci in New York City. *Lancet* 1993; 342: 76-79.
16. Alp Ş, Çetinkaya Şardan Y. Vankomisine dirençli enterokokların epidemiyolojisi ve kontrolü. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2008; 39: 89-95.
17. Werner G, Coque TM, Hammerum AM, et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill*. 2008; 13(47): 1-11.
18. Söderblom T, Aspevall O, Erntell M, et al. Alarming spread of vancomycin resistant enterococci in Sweden since 2007. *Euro Surveill*. 2010; 15(29): 1-6.
19. The European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *EARSS Annual Report 2008*. Bilthoven, The Netherlands, October 2009.
20. Vural T, Şekercioğlu AO, Öğünç D. Vankomisin dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *Ankem Dergisi* 1999; 13: 1-4.
21. Başustaoğlu A, Özyurt M, Beyan C. Kan kültüründen izole edilen glikopeptid dirençli *Enterococcus faecium*. *Flora* 2000; 5: 142-147.
22. Arda B, Yamazhan T, Aydemir Ş, Tünger A, Özinel MA, Ulusoy S. Vankomisine dirençli enterokok epidemisi Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi deneyimi. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* 2002; 6: 202-206.

23. Meriç M, Rüzgar M, Gündeş S, Willke A. Hastanede yatan hastalardan izole edilen enterokok türleri ve antibiyotiklere direnç durumu. *Ankem Dergisi* 2004; 18(3): 141-144.
24. Tünger Ö. Vankomisine dirençli enterokok infeksiyonlarının tedavisinde eski ve yeni tedavi seçenekleri. *Ankem Dergisi* 2012; 26(4): 215-227.
25. Barrett JF. Recent developments in glycopeptide antibacterials. *Curr Opin Investig Drugs* 2005; 6(8): 781-790.
26. Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 2003; 24(5): 362-386.
27. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Recomm Repp* 1995; 44: 1-14.
28. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. M100-22. 2012; 90-92.
29. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (Version 2.0) 2012: 22-26.
30. Rice BL. Emergence of vancomycin-resistant enterococci. *Emerging infectious diseases*. 2001; 7(2): 183-187.
31. Kim YJ, Kim IS, Kim YR, Lee JY, Park YJ, Kang MW. Risk factors for vancomycin-resistant enterococci infection and mortality in colonized patients on intensive care unit admission. *American journal of infection control*. 2012; 40: 1018-1019.
32. Çelebi S, Hacimustafaoğlu M, Demiral M, Sınırtaş M, Demirtaş F, İpek K, Bayram G. Çocuklarda enterokokkal enfeksiyonlar: sekiz yıllık çalışma sonuçları. *J Pediatr Inf* 2010; 4: 148-51.
33. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, eds. *Jawetz, Melnick, & Adelberg Tıbbi Mikrobiyoloji*. Çeviri editörü, Yenen OŞ. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2010; 233-248.
34. Schmit JL. Efficacy of teicoplanin for enterococcal infections: 63 cases and review. *Clin Infect Dis* 1992; 15(2): 302-306.

35. Kılıç A, Baysallar M, Bahar G, Küçükkaarslan A, Çilli F, Doğanç L. Evaluation of the EVIGENE VRE Detection kit for detection of Van A and Van B genes in vancomycin-resistant enterococci genes. *Journal of Medical Microbiology* 2005; 54: 347-350.
36. Ricaurte JC, Boucher HW, Turett GS, Moellering RC, Labombardi VJ, Kislak JW. Chloramphenicol treatment for vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7(1): 17-21.
37. Arias CA, Contreas GA, Murray BE. Management of multidrug-resistant enterococcal infections, *Clin Microbiol Infect* 2010; 16(6): 555-562.
38. Wang JL, Hsueh PR. Therapeutic options for infections due to vancomycin-resistant enterococci. *Expert Opin Pharmacother* 2009; 10(5): 785-796.
39. Deshpande LM, Fritsche TR, Moet GJ. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance program. *Diag Microbiol Infect Dis* 2007; 58(2): 163-170.
40. Scheetz MH, Knechtel SA, Malczynski M. Increasing incidence of linezolid-intermediate or resistant, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strains parallels increasing linezolid consumption. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52(6): 2256-2259.
41. Tsai HY, Liao CH, Chen YH et al. Trends in susceptibility of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* to tigecycline, daptomycin, and linezolid and molecular epidemiology of the isolates: result from the Tigecycline In Vitro Surveillance in Taiwan (TIST) Study, 2006 to 2010. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56(6): 3402-3405.
42. Gülşay Z. Çoklu dirençli hastane infeksiyonu etkenlerinin kontrolünde hızlı tanı testleri. *Ankem Dergisi* 2009; 23(2): 193-200.