

Nozokomiyal Vankomisin Dirençli Enterokok Kolonizasyonunun Araştırılması

Dr. Murat KUTLU*, **Dr. Selda SAYIN KUTLU****,
Dr. Yeşim ÇETİNKAYA ŞARDAN***,
Dr. Önder ERGÖNÜL*, **Dr. Şebnem EREN***,
Dr. Harika ESENER*, **Dr. Aysel K. ÇELİKBAŞ***,
Dr. Serhat ÜNAL***, **Dr. Başak DOKUZOĞUZ***

* Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1. İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara,

** Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli,

*** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İnfeksiyon Hastalıkları Ünitesi, Ankara.

ÖZET

Çalışmamızda, cerrahi yoğun bakım üniteleri (YBÜ) ve yanık ünitesindeki hastalarda, vankomisine dirençli enterokok (VRE) kolonizasyonu prevalansı ve risk faktörlerinin saptanması amaçlanmıştır. Bu prospektif sürveyans çalışması, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde, sekiz ay ara ile iki aşamada yapılmıştır. Çalışmanın ikinci aşaması, çok-merkezli bir çalışmanın parçası olarak yürütülmüştür. İlk aşamada, takip edilen 71 hastadan 126 perirektal örnek alınmış ve *Enterococcus faecalis* olarak tiplendirilen altı suşun, vankomisin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri < 4 µg/mL bulunmuştur. İkinci aşamada, takip edilen 69 hastadan 100 perirektal örnek alınmış ve *E. faecalis* olarak tiplendirilen beş suşun, vankomisin MİK değeri < 4 µg/mL bulunmuştur. Her iki aşamada da VRE koloni-

zasyonu saptanmamıştır. Bu sonucun, 1999 yılından itibaren hastanemizde uygulanan kısıtlı antibiyotik kullanımı politikasına bağlı olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Vankomisin, Enterokok, Sürveyans, Direnç.

SUMMARY

Investigation of Vancomycin-Resistant Enterococci Colonization

The aim of our study was to determine the prevalence and risk factors of colonization with vancomycin-resistant enterococci (VRE) among surgical intensive care and burn unit patients. This prospective surveillance study was designed in two steps with eight months of interval in Ankara Numune Teaching and Research Hospital. The second phase of the study was part of a multicentric study. In the first phase, 71 patients were followed and 126 perirectal samples were obtained. Six strains were speciated as *Enterococcus faecalis*, and vancomycin MIC value of all strains were found to be < 4 µg/mL. In the second phase 69 patients were followed and 100 perirectal samples were obtained. Five strains were speciated as *E. faecalis* with MIC value of < 4 µg/mL. In both phases, no VRE colonization was detected. This result was considered to be the consequence of antibiotic restriction policy, which was active in our hospital since 1999.

Key Words: Vancomycin, Enterococcus, Surveillance, Resistance.

GİRİŞ

Yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı yapısal ve kazanılmış direnç özelliklerinin olması ve hastane kökenli infeksiyonlara giderek artan oranlarda neden olmaları, enterokokları sorun mikroorganizmalar haline getirmiştir (1,2). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde, yoğun bakım infeksiyonlarına neden olan enterokoklar arasında vankomisine direnç oranı 1996 yılında %10.4, 2002 yılında ise %28.5 olarak raporlanmıştır (3). Vankomisine dirençli enterokok (VRE) infeksiyonlarının tedavi seçenekleri sınırlı, pahalı, morbidite ve mortaliteleri yüksektir (4). ABD'de VRE'nin hızlı yayılması, vankomisin ve sefalosporinlerin aşırı kullanımı ile ilişkili bulunmuştur (5,6).

VRE ilk olarak 1988 yılında İngiltere ve Fransa'da rapor edilmiştir (7,8). Türkiye'de ilk VRE izolasyonu 1998 yılında gerçekleşmiştir (9). Bunu takiben klinik örneklerde ve sörveyans çalışmalarında da VRE bildirimleri olmuştur (10-16).

VRE ekzojen yolla da yayılabilmekte ise de en önemli kaynak endojen floradır (17,18). Gastrointestinal sistem (GİS)'de kolonizasyon gelişmesi, genellikle VRE infeksiyonundan önce gerçekleşmektedir (19). VRE ile kolonize olan her hastada infeksiyon oluşmamakta ve kolonize hastaların çoğu asemptomatik kalmaktadır. Bu asemptomatik olgular, VRE infeksiyonları için kaynak oluşturmaktadır (17,20).

Hastanemizde 1993 yılından beri sürdürülen aktif, prospektif nozokomiyal infeksiyon sörveyansında VRE saptanmamış olmakla birlikte, ülkemiz ve çevre hastanelerde VRE infeksiyonlarını gösteren yayınlar gittikçe artmaktadır. Bu nedenle, hastanemizde VRE infeksiyonu potansiyelinin araştırılmasının, olası bir salgının kontrolünü kolaylaştıracığı düşünülmüştür.

MATERYAL ve METOD

Çalışmamız, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinde, VRE infeksiyonu açısından riskli hastane bölümleri olarak kabul edilen yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nde yürütüldü. Toplam 21 yataklı üç farklı cerrahi ve 24 yataklı yanık ünitesi çalışma alanını oluşturdu. Araştırma, hastanede yürütülen rutin sörveyans çalışmasının dışında "prospektif, sınırlı ve periyodik sörveyans modelinde" 2001 yılı içinde sekiz ay ara ile iki etapta yapıldı. Her etapta bir ay süreyle, haf-

tada bir kez olmak üzere YBÜ'lerde bulunan tüm hastalardan, perirektal sürüntü örnekleri alındı. VRE tespit edilmesi halinde ortam kültürleri alınması planlandı. Bu nedenle her hasta ziyaretinde risk faktörleri açısından hastaya ve ortama ait bilgiler kaydedildi. Çalışmanın ikinci etabı, ilimizdeki sekiz hastanede yürütülen çok-merkezli bir çalışmanın da içerisinde yer almıştır.

Perirektal sürüntü kültürleri fizyolojik tuzlu su ile ıslatılmış steril pamuklu eküvyonlarla alındı. Eküvyonlar hasta başında 6 mg/L vankomisin ve 64 mg/L seftazidim içeren D-Coccol agar (bioMerieux®) besiyerine ekildi.

Besiyerlerinin kontrolünde ATCC 29212 *Enterococcus faecalis*, VanA dirençli *Enterococcus faecium* ve VanB dirençli *E. faecalis* suşları kullanıldı. 35°C'de 48 saatlik inkübasyon sonrasında vankomisine duyarlı ATCC 29212 *E. faecalis* suşu üremezken, diğerlerinin ürediği durumda besiyerleri uygun olarak değerlendirildi. Ekim yapılan plaklar 35°C'de 72 saat inkübe edildi. Yirmidört, 48 ve 72'inci saatlerde üreme açısından değerlendirildi. D-Coccol agarda (bioMerieux®) üreyen siyah renkli kolonilerden, kanlı agara pasajları yapıldı. Bu pasajlardan Gram boyama, tuz tolerans testi ve pyrrolidonyl arylamidase (PYR, Difco®) testleri ile enterokok olduğu tespit edilen kolonilerden, API 20 STREP (bioMerieux®) ile son tiplendirme yapıldı. Mikrodilüsyon broth yöntemi ile vankomisin MİK tespiti yapıldı.

BULGULAR

Çalışmanın birinci bölümünde, dört vizitte 71 farklı hasta izlendi ve 126 perirektal sürüntü kültürü alındı. Kültürlerin yedisinde siyah renkli kolonilerin ürediği saptandı. Gram boya incelemesinde bir örnekte gram-pozitif basiller olduğu saptandı ve değerlendirme dışına çıkarıldı. Diğer altı suşun tuz tolerans ve PYR testleri olumlu bulundu. Bu suşlar *Enterococcus* spp. olarak değerlendirildi. Bu suşların hepsi, API 20 STREP (bioMerieux®) ile *E. faecalis* olarak tiplendirildi. Mikrodilüsyon broth yöntemi ile tüm suşların vankomisin MİK değeri < 4 µg/mL bulundu.

İkinci bölümde ise 69 farklı hastadan 100 perirektal sürüntü kültürü alındı. Yüz perirektal sürüntü kültürünün beşinde siyah renkli kolonilerin ürediği saptandı. Birinci bölümdeki ile aynı değerlendirme aşamalarından geçen bu suşların hepsi de *E. faecalis* olarak tiplendirildi ve MİK değerleri < 4 µg/mL bulundu.

Her iki bölümde, 140 farklı hastadan alınan 226 perirektal sürüntü kültüründe VRE kolonizasyonu olmadığı saptandı. Hiçbir hastadan VRE izole edilmediği için, ortam kültürleri alınmadı.

TARTIŞMA

VRE'nin hastane kökenli yayılımının kontrolünü amaçlayan bir hastane programının en önemli bileşenlerinden biri, kolonize veya infekte hastaların erken tespitidir (21). Kolonizasyon ve infeksiyonun tanımlanmasındaki gecikme nedeniyle oluşabilecek sorunlardan kaçınmak için, enterokok suşlarının ve bunlardaki vankomisin direncinin hızlı ve doğru şekilde saptanması gereklidir (22).

VRE ile infekte ve kolonize hastaların belirlenmesi için geniş süreyans çalışmalarına gereksinim olabilir. Başlangıçta yapılan geniş süreyans çalışması ile prevalansın tespit edilmesi, süreyans, identifikasyon ve izolasyon stratejilerinin belirlenmesini sağlar (23). Ancak bu tür geniş çalışmalar zaman alıcı ve pahalıdır. Periyodik süreyans, sürekli süreyans çalışmalarına göre daha az zaman alıcı ve daha ekonomiktir. Süreyans amacıyla yapılan kültürler ile VRE kolonizasyonu araştırılması, riskli hastalar ve ünitelerle de sınırlı olabilir (23-26). Biz de çalışmamızda hastanemizin cerrahi YBÜ'leri ve yanık ünitesini VRE kolonizasyonu açısından riskli değerlendirerek, bu ünitelere yönelik periyodik süreyans uyguladık.

GİS, VRE kolonizasyonunun en fazla geliştiği alandır (17,27). Gastrointestinal kolonizasyonun yanı sıra, özellikle ishal ve fekal inkontinans varlığında, cilt kolonizasyonunun da sık olduğu gösterilmiştir (28). Kolonizasyon için orofarenks, rektum, idrar, trakeal ve mide aspirat kültürlerinin değerlendirildiği bir çalışmada, tüm kültürlerin özgüllükleri benzer olmakla birlikte, rektal kültürler göre diğer alan kültürlerinin duyarlılıklarının çok düşük olduğu saptanmıştır (23). Bu nedenle, çalışmamızda gastrointestinal VRE kolonizasyonunu araştırdık.

Kolonizasyonun saptanmasında perirektal sürüntü ve rektal kültürler duyarlılık ve özgüllükleri yüksek, uygun yöntemler olarak kabul edilmektedir (17,18). Kültürler, vankomisin içeren selektif ortamlara ekilmelidir (29).

Son yıllarda, Avrupa ülkelerindeki hastanelerde VRE prevalansı düşük ve stabil seyretmektedir (30). Hollanda'da yüksek riskli hastaların

alındığı bir çalışmada, 1132 hastanın 15 (%1.4)'ünde gastrointestinal VRE kolonizasyonu saptanmıştır (24). Almanya'da yapılan bir çalışmada ise VRE taşıyıcılığı %1.5 olarak bulunmuştur. Yazarlar, VRE'nin ülkeleri açısından büyük bir problem olmadığını, 2046 izolattan sadece 12'sinde VRE saptanan başka bir çalışmayı da örnek göstererek ileri sürmüşlerdir (31). Norveç'te yedi hastanede yapılan bir çalışmada ise hiç *VanA* tipi VRE saptanmadığı bildirilmiştir. Yazarlar bu durumun, ülkelerinde vankomisin kısıtlı kullanımına bağlı olduğunu ifade etmişlerdir (32). Avrupa'da 27 ülkede yürütülmüş olan bir çalışmada *VanA* tipi VRE 10 ülkede, *VanB* tipi VRE ise dört ülkede saptanmıştır. Bu çalışmada, ülkemiz için *VanA* ve *VanB* prevalansları %1-2 olarak raporlanmıştır (33).

Ankara'da çocuklarda yapılan bir çalışmada ve İzmir'de yenidoğan ünitesinde yürütülen çalışmada, sırasıyla %2 ve %6 oranlarında gastrointestinal VRE kolonizasyonu saptandığı bildirilmiştir (13,14). Yine Ankara'daki bir üniversite hastanesinde 1020 perirektal sürüntü ve 1436 ortam kültürünün alındığı çalışmada, beş farklı hastanın sürüntü kültüründe (%0.5) ve 19 ortam kültüründe (%1.3) VRE saptandığı bildirilmiştir (16).

Hastanelerde VRE yayılımının önlenmesi için oluşturulacak programların ilk adımı, vankomisin doğru kullanımudur (29). VRE prevalansının, vankomisin ve üçüncü kuşak sefalosporinlerin kullanımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Vankomisin ve üçüncü kuşak sefalosporinlerin az kullanıldığı ünitelerde, VRE prevalansı daha düşük bulunmuştur (34,35). Bizim hastanemizde de 1999 yılı başından beri glikopeptid antibiyotikler kontrollü olarak kullanılmaktadır. Yüksek riskli hasta grubunda VRE saptanmamasında, kontrollü antibiyotik kullanımının önemli payı olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızın ikinci etabı ile katıldığımız, Ankara'da sekiz merkezde yürütülen süreyans çalışmasında 543 perirektal sürüntü örneğinden 11 (%2)'inde VRE izole edilmiştir (36). Sonuçlarımız, hastanemiz için halen VRE infeksiyonu riski olmadığını göstermekle birlikte, çevre hastanelerde kolonizasyon saptanmasının, uzun vadede hastanemiz için de risk oluşturabileceğini akla getirmektedir.

Ülkemizde bildirilen VRE prevalansı, halen veriler kısıtlı olmakla birlikte, oldukça düşüktür. Bu tür çalışmalarda, sıvı besiyerinde zenginleş-

tirme basamağı uygulanmasının, düşük konsantrasyonda VRE varlığının tespitinde yararlı olacağı göz önüne alınmalıdır. Çalışmamızda, selektif besiyerinde üreyen 11 enterokok suşunun MİK değerlerinin 4 µg/mL'den düşük bulunması, selektif besiyerinde üreyen suşlarda da, vankomisin direncinin MİK çalışılarak saptanması gerektiğini göstermiştir.

Sonuç olarak; hastanemizin rutin sürveyans çalışması dışında VRE kolonizasyonuna yönelik yapılan ilk sürveyans çalışması olan ve prospektif olarak yürütülen çalışmamızda, hastanemiz cerrahi YBÜ'leri ve yanık ünitesinde, VRE kolonizasyonu için kabul edilen risk faktörlerinin varlığına rağmen, gastrointestinal VRE kolonizasyonu olmadığı saptanmıştır. Hastanemizde, glikopeptid antibiyotiklerin kontrollü kullanımı uygulamasının VRE kolonizasyonu saptanmamasında önemli rolü olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Facklam RR, Sahn DF, Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). Manual of Clinical Microbiology. 6th ed. Washington DC: ASM, 1995:308-14.
2. The "Streptococcus-like" bacteria. In: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Company, 1997:597-649.
3. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report. Data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004;32:470-85.
4. Song X, Srinivasan A, Plaut D, Perl TM. Effect of nosocomial vancomycin-resistant enterococcal bacteremia on mortality, length of stay, and costs. Infect Control Hosp Epidemiol 2003;24:251-6.
5. Donskey CJ, Chowdhry TK, Hoecker MT, et al. Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. N Engl J Med 2000;343:1925-32.
6. Warren DK, Kollef MH, Seiler SM, Fridkin SK, Fraser VJ. The epidemiology of vancomycin-resistant enterococcus colonization in a medical intensive care unit. Infect Control Hosp Epidemiol 2003;24:257-63.
7. Leclercg R, Derlot E, Dural J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teikoplanin in *E. faecium*. N Engl J Med 1988;319:157-60.
8. Uttley AHC, Collins CH, Neidoo J, George R. Vancomycin-resistant enterococci. Lancet 1988;1:57-8.
9. Vural T, Şekercioğlu AO, Öğünç D. Vankomisin dirençli *E. faecium* suşu. ANKEM Derg 1999;13:1-5.
10. Öngen B, Gürler N, Esen F, Karayay S, Töreci K. Glikopeptidlere ve denendiği tüm antibiyotiklere dirençli *E. faecium* suşu. ANKEM Derg 1999;13:501-5.
11. Başustaoğlu A, Özyurt M, Beyan C. Kan kültürlerinden izole edilen ikinci glikopeptid dirençli *E. faecium* suşu. Flora 2000;5:142-7.
12. Başustaoğlu A, Aydoğan H, Beşirbellioğlu B, Alaca R, Özyurt M. GATA'da izole edilen ikinci glikopeptid dirençli *E. faecium*. XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Program ve Özet Kitabı, 2000;14-06.
13. Ceryan N, Ülkar GB, Gürbüz AO, Apaydın N, Oskovi H, Mert A. Enterokoklarda glikopeptid direnci. XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Program ve Özet Kitabı, 2000;12-5.
14. Yüce A, Karaman M, Gülay Z, Yuluğ N. Vancomycin-resistant enterococci in neonates. Scand J Infect Dis 2001;33:803-5.
15. İnan D, Günseren F, Çolak D, Saba R, Gültekin M, Mamıkoğlu L. Vankomisine dirençli *E. faecium*'un etken olduğu fatal seyirli menenjit olgusu. Hastane İnfeksiyonları Kongresi, Kongre Kitabı, 2002;96.
16. Çetinkaya Y, Şahin H, Akdeniz S ve ark. Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi'nde vankomisin dirençli enterokok sürveyansı. Hastane İnfeksiyonları Kongresi, Kongre Kitabı, 2002;112.
17. Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Microbiol Rev 2000;13:686-707.
18. Leclercg R, Courvalin P. Resistance to glycopeptides in enterococci. Clin Infect Dis 1997;24:545-56.
19. Mundy LM, Sahn DF, Gilmore M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. Clin Microbiol Rev 2000;13:513-22.
20. Gültekin M, Günseren F. Vankomisin dirençli enterokoklar. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2000;4:195-204.
21. Boyce JM. Vancomycin-resistant enterococcus: Detection, epidemiology and control measures. Infect Dis Clin North Am 1997;11:367-84.
22. Edberg SC, Hardalo CJ, Kontnick C, Campbell S. Rapid detection of vancomycin-resistant enterococci. J Clin Microbiol 1994;32:2182-4.
23. Hendrix CW, Hammond JM, Swoboda SM, et al. Surveillance strategies and impact of vancomycin-resistant enterococcal colonization and infection in critically ill patients. Ann Surg 2001;2:259-65.
24. van den Braak N, Ott A, van Belkum A, Kluytmans JAJW, et al. Prevalence and determinants of fecal colonization with vancomycin-resistant *Enterococcus* in hospitalized patients in the Netherlands. Infect Control Hosp Epidemiol 2000;21:520-4.
25. D'Agata EMC, Green WK, Schulman G, Li H, Tang YW, Schaffner W. Vancomycin-resistant enterococci among chronic hemodialysis patients; a prospective study of acquisition. Clin Infect Dis 2001;32:23-9.
26. Roghmann MC, Fink JC, Polish L, et al. Colonization with vancomycin-resistant enterococci in the chronic hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 1998;32:254-7.

27. Mollering RCJ. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 1998;26:1196-9.
28. Beezhold DW, Slaughter S, Hayden MK, et al. Skin colonization of vancomycin-resistant enterococci among hospitalized patients with bacteremia. *Clin Infect Dis* 1997;2:704-6.
29. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for preventing spread of vancomycin resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995;16:105-13.
30. Ridwan B, Mascini E, van der Reijden N, Verhoef J, Bonten M. What action should be taken to prevent spread of vancomycin resistant enterococci in European hospitals? *BMJ* 2002;16:666-8.
31. Rennert RR, Conrads G, Schlaeger JJ, Werner G, Wittle W, Lutticken R. Survey of antibiotic resistance among enterococci in North Rhine-Westphaline, Germany. *J Clin Microbiol* 1999;37:1638-41.
32. Simosen GS, Anderson BM, Digrones A, Harthug S, Jacobsen T, Lingaas E. Low fecal carrier rate of vancomycin resistant enterococci in Norwegian hospital patients. *Scand J Infect Dis* 1998;30:465-8.
33. Schouten MA, Hoogkamp-Korstanje JAA, Meis JFG, Voss A; European VRE Study Group. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:816-22.
34. Fridkin SK, Edwards JR, Courval JM, et al. The effect of vancomycin and third-generation cephalosporins on prevalence of vancomycin-resistant enterococci in 126 U.S. adult intensive care units. *Ann Intern Med* 2001;135:175-83.
35. Fridkin SK, Lawton R, Edwards JR, et al. Monitoring antimicrobial use and resistance: Comparison with a national benchmark on reducing vancomycin use and vancomycin-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis* 2002;8:702-7.
36. Çetinkaya Y, Altun B, Arca EA ve ark. Ankara hastanelerinde vankomisin dirençli enterokok sürveysi. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı, 2002;358.

YAZIŞMA ADRESİ

Uzm. Dr. Selda SAYIN KUTLU

Barbaros Caddesi, Çamlaraltı Mahallesi

Altın şehir Sitesi, A-Blok No: 4

Kınıklı-DENİZLİ

e-mail: sayinkutlu@yahoo.com

Makalenin Geliş Tarihi: 08.03.2006 Kabul Tarihi: 15.07.2006