

Vankomisine Dirençli Enterokoklar

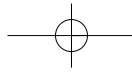
◆ Prof. Dr. Bülent Sumerkan

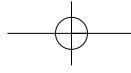
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. - Kayseri

Enterokoklarda Taksonomi ve Mikrobiyoloji

Streptococcus faecalis ve *S. faecium*'un *Streptococcus* genusundan değişik bir genetik yapıya sahip olmaları nedeniyle farklı bir genusa alınmalarını ilk kez 1970 yılında Kalina önermiştir (1). Schleifer ve Kilpper-Balz (2) ise 1984 yılında bu bakterilerin *Enterococcus* genusunda incelenmelerini sağlamış ve *Enterococcus faecalis* ve *E. faecium* yanısıra genus içersine 17 tür daha eklenmiştir.

Enterokoklar tek, ikili ya da kısa zincirler halinde bulunan Gram pozitif koklardır. Gram boyama aşarındaki kolonilerden yapıldığında kokobasil şeklinde görülürler. Fakültatif anaerop olup optimal üreme sıcaklığı 35 °C'dir. Birçok köken +10 °C ile +45 °C arasında üreyebilir. Bütün kökenler %6.5 NaCl eklenmiş buyyon besiyerinde ürer ve %40 safra tuzlu besiyerinde eskülini hidrolize eder. Bazı türler hareketlidir. *E. cecorum*, *E. columbiae* ve *E. saccharolyticus* dışındaki türler pirolidonil-β-naftilamidi (PYR), tüm kökenler lösin-β-naftilamidi (LAP) hidrolize eder. Sitokrom enzimleri yoktur ve glukozdan gaz yapmazlar. Elverişsiz çevre şartlarında üremeye ve canlılıklarını sürdürmeye izin veren doğaları bu bakterilerin hemen her yerde bulunmalarına neden olur. Toprakta, suda, bitkilerde, besinlerde, çeşitli cins hayvanlarda, kuşlarda ve böceklerde bulunabilirler. Diğer hayvanlarda olduğu gibi enterokoklar insanlarda da gastrointestinal flora (1 g dışkıda 10⁵ ila 10⁷ organizma) ile kadın genital florasının üyesidirler (3). Agregasyon maddesi, sitolizin, süperoksid (O₂⁻) yapımı, lipoteik asit, çinko metalloproteaz (jelatinaz) gibi virulans faktörleri vardır, ancak yine de düşük virulanslı mikroorganizmalardır. Neden oldukları başlıca infeksiyonlar bakteriyemi, cerrahi yara infeksiyonu, üriner infeksiyon ve endokardittir (4). Entero-



**◆ Bülent Sumerkan**

koklar çevre şartlarına son derece dayanıklı bakterilerdir, 60 °C'de 30 dakika ısıtılmaya dayanırlar. Geniş bir pH spektrumunda üreyebilirler. *E. faecalis*'in safra tuzları ile deterjanların letal düzeylerine adapte oldukları gösterilmiştir. Uygun olmayan temizlik (dekontaminasyon ve dezenfeksiyon) rejimlerinde canlılıklarını sürdürebilirler, bu da özellikle hastane ortamında kalıcı olmalarını sağlar (4). Birçok epidemiyolojik çalışma enterokokların hastane ortamında insandan insana sağlık çalışanlarının elleri aracılığı ile veya kontamine araç gereç ile yayıldığını göstermiştir.

Epidemioloji

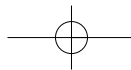
Günümüzde enterokoklar bölgeden bölgeye değişmekle birlikte hastanede yatan hastalar arasında sık görülen patojenler arasında üçüncü sıraya yükselmiştir. Nozokomiyal infeksiyonların yaklaşık %12'sinden sorumludur. Kan kültürlerinden izole edilen enterokokların %69,9'u gerçek bakteriyemi etkeni, bunların da %79,9'u nozokomiyaldir. Bakteriyemi kaynağı genellikle genitoüriner sistem veya kontamine intravenöz gereçlerdir. Enterokok infeksiyonlarında mortalite %13,1'dir (5). Türler arasında nozokomiyal infeksiyona en sık neden olan *E. faecalis*'tir (%85-89). *E. faecium* ise infeksiyonların yaklaşık %10-15'inden sorumludur. Diğer türler (*E. durans*, *E.gallinarum* ve *E.casseliflavus*) daha nadir görülür (<%5). Son zamanlarda özellikle kan kültürü izolatlarında, *E.faecalis*'in *E.faecium*'a 3,7:1 olan oranı 1,9:1'e düşmüştür (6). *E. faecalis* ve *E. faecium* hastaların yaşamını en fazla tehdit eden türlerdir ve antibiyotik direnci özellikle bu türler arasında problem oluşturmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da birçok merkezde nozokomiyal *E. faecium* izolatlarının %50'si vankomisine dirençli bulunmaktadır. Bu kökenlerin büyük bir çoğunluğu enterokok infeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilircek çoğu antibiyotiğe de dirençlidir (7).

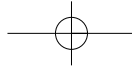
Enterokoklarda Glikopeptidlere Direnç Mekanizmaları

Glikopeptid antibiyotikler gram pozitif bakterilerde hücre duvarı sentezini inhibe ederler. Bunun için peptidoglikan prekürsörlerinin D-alanyl-D-alanine (D-Ala-D-Ala) rezidülerine bağlanırlar. Çoğalmakta olan peptidoglikan zincirleriyle bu prekürsörlerin birleşmesi engellenir ve hücre duvarı sentezi yapılamaz (8).

Gram negatif bakteriler intrinsek olarak glikopeptidlere dirençlidirler. Büyük, rijid ve hidrofobik olan bu moleküller gram negatif bakterilerin hücre dışı membranlarını aşamazlar. Ayrıca gram pozitif bakteriler arasında *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* türleri ile *Erysipelothrix rhusiopathiae* glikopeptidlere intrinsek olarak dirençli bakterilerdir.

Günümüzde enterokoklarda bilinen VanA, VanB, VanC, VanD ve VanE olarak isimlendirilen beş fenotipik glikopeptid direnci vardır (Tablo 1) (7). VanA fenotipi ilk





Vankomisine Dirençli Enterokoklar ◆

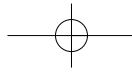
Tablo 1. Glikopeptidlere dirençli enterokoklarda genotipik ve fenotipik özellikler (a)

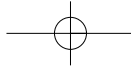
Direnç Genotipi	Predominant Fenotip ^b	Ekspresyon Şekli	Predominant Lokasyon	Transferabl Elemanlar	Alternatif Prekürsör	Bulunduğu Türler
<i>vanA</i>	Vanko ≥ 256 Teiko ≥ 32	İndüklenebilir	Plazmid (kromozom)	Tn1546	D-Ala-D-Lac	<i>E.faecium</i> , <i>E.faecalis</i> , <i>E.hirae</i> , <i>E.avium</i> , <i>E.durans</i> , <i>E.mundtii</i>
<i>vanB</i>	Vanko 4- 1.000 Teiko ≤ 1	İndüklenebilir	Kromozom (Plazmid)	Tn1547 Tn5382	D-Ala-D-Lac	<i>E.faecium</i> , <i>E.faecalis</i>
<i>vanC1</i> <i>vanC2</i> <i>vanC3</i>	Vanko 2-32 Teiko ≤ 1	Yapısal veya indüklenebilir	Kromozom	?	D-Ala-D-Ser	<i>E.gallinarum</i> (<i>vanC1</i>), <i>E.casseliflavus</i> (<i>vanC2</i>), <i>E.flavescens</i> (<i>vanVC3</i>)
<i>vanD</i>	Vanko 64-256 Teiko 4-32	Yapısal veya indüklenebilir	Kromozom	?	D-Ala-D-Lac	<i>E.faecium</i>
<i>vanE</i>	Vanko = 16 Teiko = 0.5	?	Kromozom	?	D-Ala-D-Ser	<i>E.faecalis</i>

kez 1988 yılında İngiltere ve Fransa'da tarif edilmiştir ve halen en sık rastlanan direnç formudur (9,10). VanA ve VanB direnç fenotipleri kazanılmış direnç özelliğindedir. VanC fenotipi ise bazı hareketli enterokoklara ait intrinsek özelliktir ve yapısal olarak eksprese edilir. VanA fenotipindeki enterokoklarda vankomisin ve teikoplanine indüklenebilir tipte bir direnç söz konusudur. Direnç konjugasyon yoluyla duyarlı enterokoklara transfer edilebilir. Bu fenotipin ekspresyonu için gerekli ve yeterli genler 11 kb'lık Tn1546 transpozonunda yer alır. Bakterilerde pentapeptidin yan zinciri olan terminal D-Ala-D-Ala dipeptidi vankomisin varlığında (indüksiyon sonucu) D-Ala-D-Laktat depsipectidi ile yer değiştirir. Değişikliğe uğramış olan bu prekürsörler vankomisinin bağlanma afinitesinde önemli bir azalmaya neden olur. D-Ala-D-Laktat ile sonlanım teikoplanininin bağlanmasını da engeller. VanB fenotipindeki suşlar sadece vankomisin tarafından indüklenebilir, indüklenen suşlar vankomisin ve teikoplanine çapraz direnç gösterirler. VanC fenotipindeki enterokoklarda ise prekürsörler D-Ala-D-Serin ile sonlanırlar

Enterokok ve Vankomisine Dirençli Enterokok (VRE) İnfeksiyonu için Risk Faktörleri

VRE kolonizasyonu ve/veya infeksiyonu için risk faktörlerini araştıran pek çok çalışma vardır (11-13). Bu çalışmaların sonuçlarına göre risk faktörleri üç ana kategoria toplanabilir:



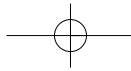
**◆ Bülent Sumerkan**

- 1) *Demografik risk faktörleri:* Hastanede veya Yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) yatış süresi, VRE ile kolonize ya da infekte hastanın yakınında olmak ve VRE ile kolonize hastaya bakım veren bir hemşireden bakım almak,
- 2) *Alt hastalığın ağırlığı ile ilgili risk faktörleri:* Yüksek APACHE II skoru, böbrek yetmezliği, yakın zamanda ameliyat geçirme, *C.difficile*'e bağlı kolit, hepatobiliyer hastalık, immünoşüpresyon ve organ alıcısı olmak,
- 3) *Antimikrobiklerle ilgili risk faktörleri:* Daha önceden vankomisin, seftazidim, siprofloksasin, metronidazol gibi antimikrobik ilaçları almış olmanın yanı sıra bu ilaçların kullanılan doz ve süreleri.

YBÜ'lerinde yatan hasta popülasyonunda yukarıda belirtilen risk faktörleri nedeniyle yoğun bakım dışında yatan hastalara göre VRE insidansı çok daha yüksektir. Bu ünitelerdeki VRE salgınlarında hem aynı VRE suşunun çapraz bulaşı, hem de seleksiyona uğramış başka VRE suşlarının bulaşı gösterilmiştir. Karyola demirleri, tezgahlar, lavabo gibi yüzeyler ile hastalarla temas eden stetoskop, tansiyon aleti, termometre gibi gereçlerin VRE ile kontaminasyonu hastalar arası çapraz bulaşa neden olmaktadır. Enterokok infeksiyonu için selektif etkinin önemi VRE'ler daha ortaya çıkmadan önce gösterilmiştir. Moksolaktam kullanılan hastalarda enterokok ile süperinfeksiyon gösterilmiştir. Enterokoklar üzerine etkisi olmayan tüm sefalosporinler de enterokok seçici ilaçlardır. VRE ile infeksiyon riski taşıyan hospitalize hastaların çoğu seftazidim gibi antipsödomonal bir ilaçla tedavi edilmekte, bunun sonucunda VRE "overgrowth"u olmakta ve en sonunda VRE süperinfeksiyonu gelişmektedir.

Korunma ve Kontrol

VRE kolonizasyonu/infeksiyonu ile ilgili risk faktörlerinin nedenleri bilindikçe, birçok çalışma VRE insidansını yok etmeye ya da asgariye indirmeye doğru yönelmiştir. Bugün vankomisinin fazla kullanımının VRE ile direkt ilişkisi bilinmektedir. Kentucky ve Minnesota Üniversitelerinde yapılan iki araştırma, vankomisinin %66 ve %60 gibi büyük oranlarda uygun kullanılmadığını göstermiştir (14,15). Van der Auwara (16) vankomisinin VRE için seçici etkisini gönüllüler üzerinde net bir şekilde göstermiştir. Oral vankomisin verilen bu kişilerde VRE'nin barsak kolonizasyonunda 6log'luk bir artış olmuştur. Vankomisin ve diğer enterokok seçici antibiyotiklerin kontrolü ile VRE insidansının azaldığını gösteren çalışmalar vardır. Quale ve ark. (17) altı aylık bir dönemde hastanede vankomisin, seftazidim ve klindamisin kullanımını azaltıldığında VRE kolonizasyonunun %47'den %15'e düştüğünü göstermişlerdir. Çapraz bulaşı önlemek için eldiven kullanımına ek olarak önlük kullanılmış ve VRE yayılımı azalmıştır (18). Dışkı sürveyans kültür sonuçlarına bakarak VRE ile kolonize olan hastaları aynı koşullarda yatırmak ve bu koşullara giriş çıkışlarda ciddi önlemler almak suretiyle VRE kolonizasyonlu hastaların sayısında anlamlı bir düşüş sağlanmıştır (19). VRE barsak taşıyıcılığını eradike etmeye yönelik



Vankomisine Dirençli Enterokoklar

çalışmalar da yapılmış (basitrasin, tetrasiklin + rifampisin, novobiosin gibi ilaçlarla) ancak bunların etkisi geçici olmuştur.

Enterokoklarda Vankomisin Direncinin Saptanması

VanA fenotipindeki dirençli enterokoklarda vankomisin direnci disk diffüzyon, E test ve otomatize buyyon mikrodilüsyon yöntemleriyle kolaylıkla belirlenir, ancak düşük düzey vankomisin direnci gösteren suşlarda (VanB fenotipi) vankomisin direncini ne buyyon dilüsyon ne de diffüzyon yöntemleriyle belirlemek kolay değildir. Bu nedenle NCCLS 1992 yılında Mueller Hinton agarda disk diffüzyon yönteminde duyarlılık zon çapı kriterini ≥ 17 mm ye çıkarmıştır (20). Otomatize test yöntemlerinde de bazı düzeltmeler yapılmıştır. Yine de bazı vankomisine dirençli enterokoklar bu yöntemlerle duyarlı olarak rapor edilmiştir. Kritik sonuçlar elde edildiğinde ya da en iyisi tüm suşlar 6 mg/mL vankomisin içeren Brain Heart Infusion agarda test edilmelidir (Tablo 2) (7).

Tablo 2. Enterokoklarda vankomisin direncini saptamada kullanılan agar tarama yöntemi

Besiyeri	Brain Heart Infusion (BHI)
Inokulum	105-106 CFU/spot
İnkübasyon süresi (saat)	24
Vankomisin	6 mg/mL
Son nokta	> 1 koloni

Kalite kontrol suşları: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Duyarlı), *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 (Dirençli)

Sonuç olarak enterokoklar düşük virulanslı mikroorganizmalar olmalarına rağmen, glikopeptid antibiyotiklere dirençleri nedeniyle özellikle nozokomiyal infeksiyonlarda önemli etkenlerdir. Henüz ülkemizde VRE insidensi sınırlı olmakla birlikte VRE kolonizasyonu ve yayılımını önlemeye yönelik önlemlerin alınması zorunludur.

Kaynaklar

1. Kalina AP. The taxonomy and nomenclature of enterococci. *Int J Syst Bacteriol* 20:185-189,1970.
2. Schleifer KH, Kilpper-Balz R. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* com. nov. and *Enterococcus faecium* com. nov. *Int J Syst Bacteriol* 34: 31-34, 1984.
3. Facklam RR, Sahm DF, Martins Teizeira L. *Enterococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds), *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed, ASM Press, Washington D.C., p.297-305, 1999.

◆ Bülent Sumerkan

4. Hancock LE, Gilmore MS. Pathogenicity of Enterococci. In: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JI (eds), *Gram-Positive Pathogens*, ASM Press, Washington D.C., p.251-258, 2000.
5. Jones RN, Marshall SA, Pfaller MA, Wilke WW, Hollis RJ, Rwin ME, Edmond MB, Wenzel RP, the SCOPE Hospital Study Group. Nosocomial enterococcal blood stream infections in the SCOPE Program: Antimicrobial resistance, species occurrence, molecular testing results and laboratory accuracy. *Diagn Microbiol Infect Dis* 29: 95-102, 1997.
6. Edwards DD. Enterococci attract attention of concerned microbiologists. *ASM News* 66: 540-545, 2000.
7. Fraimow HS, Courvalin P. Resistance to glycopeptides in Gram positive pathogens. In: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Rood JI (eds), *Gram-Positive Pathogens*, ASM Press, Washington D.C., p.621-634, 2000.
8. Woodford N, Johnson AP, Morrison D, Speller DCE. Current perspectives on glycopeptide resistance. *Clin Microbiol Rev* 8: 585-615, 1995.
9. Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* i: 57-58, 1988.
10. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium* *N Engl J Med* 319: 157-161, 1988.
11. Boyce JM, Opal SM, Chow JW, Zervos MJ, Potter-Bynoe G, Sherman CB, Romulo RL, Fortna S, Medeiros AA. Outbreak of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with transferable vanB class vancomycin resistance. *J Clin Microbiol* 32: 1148, 1994.
12. Edmond MB, Ober JF, Weinbaum DL, Pfaller MA, Hwang T, Sanford MD, Wenzel RP. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: Risk factors for infection. *Clin Infect Dis* 20: 1126, 1995.
13. Montecalvo MA, Shay DK, Patel P, Tasca L, Maloney SA, Jarvis WR, Wormser GP. Bloodstream infections with vancomycin-resistant enterococci. *Arch Intern Med* 156:1458-1462, 1996.
14. Evans ME, Kortas KG. Vancomycin use in a university medical center: Comparison with hospital infection practices advisory committee guidelines. *Infect Control Hosp Epidemiol* 17: 356-359, 1996.
15. Johnson SV, Hoey LL, Vance-Bryan K. Inappropriate vancomycin prescribing based on criteria from the Centers for Disease Control and Prevention. *Pharmacotherapy* 15: 579-585, 1995.
16. Van der Auwera P, Pensart N, Korten V, Murray BETA LAKTAM, Leclercq R. Influence of oral glycopeptides on the fecal flora of human volunteers: selection of highly glycopeptide-resistant enterococci. *J Infect Dis* 173: 1129-1136, 1996.
17. Quale J, Landman D, Saurina G, Atwood E, DiTore V, Patel K. Manipulation of a hospital antimicrobial formulary to control an outbreak of vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 23: 1020-1025, 1996.
18. Boyce JM, Mermel LA, Zervos MJ, Rice LB, Potter-Bynoe G, Giorgio C, Medeiros AA. Controlling vancomycin-resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 16: 634-637, 1995.
19. Linden PK, Pokrywka M, Krystofiak S. The effect of ICU cohorting on the cross infection rates of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Crit Care Med* 22: A228, 1994.
20. Willey BM, Kreishwirth BN, Simor AE, Williams G, Servier R, Phillips A, Low DE. Detection of vancomycin resistance in *Enterococcus* species. *J Clin Microbiol* 30: 1621-1624, 1992.