



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**YOĞUN BAKIM, ONKOLOJİ-HEMATOLOJİ
HASTALARINDA GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE
KOLONİZE OLAN ENTEROKOK TÜRLERİ VE
VANKOMİSİNE DİRENÇ PROFİLLERİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Gül Özlem MENTEŞ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İclal BALCI**

TEMMUZ 2007

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**YOĞUN BAKIM, ONKOLOJİ-HEMATOLOJİ
HASTALARINDA GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE
KOLONİZE OLAN ENTEROKOK TÜRLERİ VE
VANKOMİSİNE DİRENÇ PROFİLLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gül Özlem MENTEŞ

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM
DALI**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. İclal BALCI

**Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından
TF.06.06 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresinde en iyi şekilde yetişebilmem için yardımlarını esirgemeyen başta bölüm başkanımız ve tez hocam sayın Prof. Dr. İclal Balcı'ya, ayrıca sayın Doç. Dr. Tekin Karslıgil ve sayın Doç. Dr. Ayşen Bayram'a, tez çalışmam sırasında yardımcı olan mesai arkadaşlarım ve bölümümüzdeki tüm personele teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Gül Özlem Menteş
Gaziantep 2007

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
KISALTMALAR.....	VI
TABLO LİSTESİ.....	VII
RESİM LİSTESİ.....	VII
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 ENTEROKOKLAR.....	5
2.2 MİKROBİYOLOJİK, ÜREME VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ.....	5
2.3 VİRÜLANS VE PATOJENİTE FAKTÖRLERİ.....	9
2.4 ENTEROKOKLARIN NEDEN OLDUĞU KLİNİK TABLOLAR.....	10
2.5 ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ.....	13
2.6 ENTEROKOK TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONU.....	19
2.7 EPİDEMİYOLOJİ.....	20
2.8 ENTEROKOKLARDA GLİKOPEPTİD DİRENCİNİN ANTİBİYOTİK KULLANIMI İLE İLİŞKİSİ.....	22
2.9 VANKOMİSİNE DİRENÇLİ ENTEROKOKLARIN SAPTANMASI.....	23
2.10 ENTEROKOK İNFEKSİYONLARININ TEDAVİSİ.....	26
2.11 VRE RİSK FAKTÖRLERİ VE BULAŞ YOLLARI.....	30
2.12 KORUNMA VE KONTROL ÖNLEMLERİ.....	32
2.13 VRE' LERİN ENDEMİK OLDUĞU VEYA VRE YAYILIMININ BELİRTİLEN TÜM ÖNLEMLERE RAĞMEN DEVAM ETTİĞİ HASTANELER İÇİN HICPAC' IN ÖNERİLERİ.....	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	37
3.1 ÖRNEKLERİN ALINMASI, EKİMİ VE İDENTİFİKASYONU.....	37
3.2 SAFRA-ESKÜLİN TESTİ.....	37
3.3 GRAM BOYAMA.....	38
3.4 KATALAZ TESTİ.....	38
3.5 % 6.5 'LUK NaCl ÜREME TESTİ.....	38
3.6 PYR TESTİ.....	38
3.7 MİNİ APİ CİHAZI.....	38
3.8 BRAİN-HEART İNFÜZYON AGAR.....	38
3.9 E-TEST YÖNTEMİ.....	38
3.10 NİTROSEFİN DİSKİ.....	39
4.BULGULAR.....	41
5.TARTIŞMA.....	43
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	47
7. KAYNAKLAR.....	48

ÖZET

**YOĞUN BAKIM, ONKOLOJİ - HEMATOLOJİ HASTALARINDA
GASTROİNTESTİNAL SİSTEMDE KOLONİZE OLAN ENTEROKOK TÜRLERİ
VE VANKOMİSİNE DİRENÇ PROFİLLERİ**

Dr. Gül Özlem MENTEŞ

Uzmanlık tezi; Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. İclal BALCI

Temmuz 2007, 52 sayfa

Enterokoklar; *Streptococcaceae* familyası içinde yer alan gram pozitif koklardır. Toprak, su, yiyeceklerde; insan ve hayvanların barsak, safra yolları, ağız ve bazen de derilerinde normal florada bulunurlar.

Virülansı düşük olan bu mikroorganizma çoğu kez hastanın kendi endojen florasından kaynaklanan infeksiyonlara yol açar. Vankomisin dirençli enterokoklar (VRE) dahil tüm enterokoklar hastadan hastaya direkt olarak ya da kontamine eller, kontamine yüzeyler, kontamine tıbbi cihazlar vasıtasıyla indirekt olarak bulaşabilmekte, hastane içinde veya hastaneler arası yayılabilmektedir.

Çalışmamız Mart 2006-Aralık 2006 tarihleri arasında Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Cerrahi ve Dahili Yoğun Bakım, erişkin Onkoloji-Hematoloji ve Pediatrik Onkoloji bölümlerinde yatmakta olan VRE için risk grubu olarak tarif edilen hastalarda yapılmıştır. Toplam 180 hastadan rektal sürüntü örnekleri alınmış ve kültür sonuçlarına göre 126 (%70) tanesinde enterokok üremiştir. Tür düzeyinde yapılan tanımlama sonucunda 53 suş (%42.06) *E. faecium*, 39 suş (%30.95) *E. faecalis*, 15 suş (%11.90) *E. avium*, 10 suş (%7.93) *E. gallinarum*, 7 suş (%5.55) *E. casseliflavus*, 1 suş (%0.79) *E. hirae*, 1 suş (%0.79) *E. durans* olarak belirlenmiştir. Toplam 4 (%3.17) hastanın VRE ile kolonize olduğu tespit edilmiştir. *E. faecium* olarak tanımlanan 4 suş antibiyogram ve E-test sonuçlarına göre vankomisine dirençli olarak bulunmuştur. E-test MİK>256 mg/ml). Dirençli olarak bulunan suşlara PCR yöntemiyle direnç genotipleri bakılmış ve dördüde VanA genotipi olarak tespit edilmiştir. Vankomisine dirençli olarak bulunan suşlardan 1 tanesi Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesinden, 1 tanesi Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesinden, 2 tanesi ise erişkin Onkoloji ünitesinden tespit edilmiştir. Onkoloji ünitesinde VanA tipi dirence sahip *E. faecium* saptanan hastalardan bir tanesinde taburcu edildikten 3 ay sonra, hastaneye ikinci kez yattığında tekrarlanan kültürde vankomisin direnci saptanmamıştır. Nitrosefin diski ile beta-laktamaz üretimi araştırılması yapılmış ve suşların hiçbirisinde beta-laktamaz üretimi saptanmamıştır.

Anahtar kelimeler: Vankomisine dirençli enterokoklar, Gastrointestinal kolonizasyon, Risk grubu hastalar, E-test

ABSTRACT**DISTRIBUTION OF ENTEROCOCCUS SPECIES COLONIZED IN GASTRO-
INTESTINAL TRACT OF PATIENTS IN HEMATO-ONCOLOGY, INTENSIVE
CARE UNITS AND THEIR RESISTANCE PROFILES AGAINST VANCOMYCIN****Dr. Gül Özlem MENTEŞ****Specialty Thesis, Department of Microbiology and Clinical Microbiology****Thesis Supervisor: Prof. Dr. İclal BALCI****July 2007, 52 pages**

Enterococci are the gram-positive cocci within the family of *Streptococcaceae*. They are found in the soil, water and foods; and present in the human and animal intestines, biliary tracts, mouths and sometimes in their skins, in normal flora.

This microorganism, the virulence of which is low generally causes infections resulting from the patient's own endogenous flora. All enterococci including vancomycin-resistant enterococci (VRE) are passed to others from a patient directly or indirectly via contaminated hands, contaminated environmental surfaces, contaminated medical devices, and it can be spread intra-hospital or inter-hospitals.

Our study was carried out with the patients defined as the risk group for VRE lining in the Surgical and Internal Intensive Care Unit, Adult Oncology-Hematology and Pediatric Oncology Departments in the hospital of Gaziantep University Faculty of Medicine between the March 2006 and December 2006. Rectal swabs samples were taken from 180 patients in total, and according to the results of cultures, enterococci production was observed in 126 patients (70%). As a result of the identification in terms of species, they were identified as 53 strains of (42.06%) *E. faecium*, 39 strains of (30.95%) *E. faecalis*, 15 strains of (11.90%) *E. avium*, 10 strains of (%7.93) *E. gallinarum*, 7 strains of (%5.55) *E. casseliflavus*, 1 strain of (%0.79) *E. hirae*, 1 strain of (%0.79) *E. durans*. Four patients in total (3.17%) were detected to be colonized with VRE. Four strains identified as *E. faecium* were found to show resistance to vancomycin according to antibiogram and E-test results. (E-test is MIC>256 mg/ml). The strains which were found to show resistance were examined for their resistance genotypes via PCR method, and the four strains were found to be VanA genotype. One of the strains with resistance to vancomycin was detected in Internal Intensive Care Unit, one in Surgical Intensive Care Unit and the other two in Adult Oncology Unit. Three months after the discharge of one of the patients *E. faecium* containing VanA-type resistance had been detected in the oncology unit, vancomycin resistance was not detected in the culture repeated when the patient was hospitalized for the second time. Beta-lactamase production was studied with Nitrocefim Disk, and beta-lactamase production was detected in none of the strains.

Key words: VRE, Gastro-intestinal colonization, Patients at risk group, E-test.

KISALTMALAR

VRE	: Vankomisin Dirençli Enterokok
GİS	: Gastrointestinal Sistem
BHI agar	: Beyin-Kalp İnfüzyon Agar (Brain-Heart İnfüzyon)
PYR	: Pyrrolidonyl-beta-naphtylamide
LAP	: Lösinamino peptidaz
HICPAC	: Hastane İnfeksiyonları Kontrol ve Tavsiye Komitesi (Hospital Infection Control Practices Advisory Committe)
CDC	: Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (Center for Disease Control and Prevention)
APACHE	: Akut Fizyolojik ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation)
NNIS	: Ulusal Hastane İnfeksiyonları Sürveyansı (National Nosocomial Infections Surveillance)
VAN	: Vankomisin
PBP 5	: Penisilin Bağlayan Protein 5
6' AAC	: Aminoglikozid 6'asetiltransferaz
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
PFGE	: Pulsed-Field Gel Electrophoresis
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
MRSA	: Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSE	: Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus epidermidis</i>
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyon (American Type Culture Collection)
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standarts Institutes)
VREF	: Vankomisin Dirençli <i>Enterococcus faecium</i>
AHA	: Amerika Kalp Cemiyeti (American Heart Association)
İKK	: İnfeksiyon Kontrol Komitesi

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Enterokok genusunun üyeleri.....	8
Tablo 2. Fakültatif anaerobik, katalaz negatif, gram pozitif kokların fenotipik özellikleri.....	8
Tablo 3. Enterokokların ayırımında kullanılan testler.....	9
Tablo 4. Enterokoklarda glikopeptid direnci.....	19
Tablo 5. Türkiye’de VRE bildirimini.....	25
Tablo 6. Enterokoklarda Tedavi Seçenekleri	29
Tablo 7. Ülkemizde 1997 yılı ilk 10 ayında kullanılan glikopeptidler.....	31
Tablo 8. Ülkemizde 1997 yılı ilk 10 ayında kullanılan III. ve IV. kuşak parenteral sefalosporinler.....	31
Tablo 9. Ülkemizde 1997 yılı ilk 10 ayında kullanılan I. ve II. kuşak parenteral sefalosporinler.....	31
Tablo 10. Ülkemizde 1997 yılı ilk 10 ayında kullanılan antibiyotikler.....	32
Tablo 11. Suşların dağılımı.....	41
Tablo 12. Rektal kültürlerde üreyen enterokokların klinik dağılımı.....	42

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Pozitif PYR testi	39
Resim 2. Vankomisin E-test.....	40
Resim 3. Kanlı agarda enterokok kolonisi	40
Resim 4. Safra-eskulin agarda enterokok kolonisi	40

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tıp alanında sağlanan gelişmeler sonucu, bir taraftan insanoğlunun yaşam kalitesi ve süresi artarken, diğer taraftan tanı ve tedavi amacıyla uygulanan girişimler, yoğun ve kontrolsüz antibiyotik kullanımı gibi etkenlerin faturası karşımıza hastane infeksiyonları olarak çıkmaktadır (1).

Ülkemizde antibiyotik kullanımında ciddi sorunlar yaşandığı bir gerçektir. Bu ilaçların uygun olmayan kullanımları birçok sorunun da kaynağını oluşturur. Kuşkusuz bu sorunların başında antibiyotiklere direnç gelir. Zamanla toplumda dirençli kökenlerin oluşturduğu infeksiyonların artması; sağaltımın hem maliyetini artırır hem de zorlaşmasına neden olur (2).

Direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü ya da üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneğidir. Direnç gelişimi ve yayılımı gereksiz -uygunsuz antibiyotik kullanımına bağlansa da bakterilerin olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürebilmek için kullandığı savunma sürecinin bir parçası olduğu da belirtilmektedir (3).

Mikroorganizmalara karşı modern kemoterapinin ilk kullanımı 1930'lu yıllarda sülfonamidlerin, 1940'larda penisilinlerin ve 1940'ların ortasında streptomisin'in keşfi ile başlamış ve mikroorganizmaların neden olduğu birçok infeksiyon kontrol altına alınabilmiştir. Ancak bu savaşta mikroorganizmalar yenilgiyi kabul etmemiş ve her yeni çıkan antibiyotiğe değişik yollarla direnç geliştirmişlerdir. Penisilin direnci ilk olarak 1940'ların ortalarında saptanmış, 1960'larda penisilina dayanıklı penisilinler kullanıma girmiş ve kısa süre sonra bu ilaçlara dirençli bakteriler görülmeye başlanmıştır. Zaman içinde alternatif olarak kullanıma giren birçok antibiyotiğe karşı bakterilerin direnç geliştirmesi değişmez bir kural haline gelmiştir (4).

Antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlarda hastalık daha şiddetli seyretmekte, hastanede kalış süresi artmakta ve ölüm oranı daha yüksek olmaktadır. Ayrıca daha etkili ve pahalı ilaçların gerekmesi nedeniyle tedavi maliyeti yükselmektedir (4).

Bugün için ilaç endüstrisinde yeni ve mükemmel denebilecek antibiyotikler ile ilgili az sayıda çalışma bulunmakta ve 1990'lı yıllar bazı araştırmacılar tarafından antibiyotik sonrası dönem olarak nitelendirilmektedir (4).

Enterokoklar; çevre koşullarına dayanıklı olmaları, sefalosporinler, aminoglikozidler, sülfametoksazol, makrolidler gibi bazı antibiyotiklere doğal olarak direnç göstermeleri, penisilinlere azalmış duyarlılıkları ve ortamda yaygın bulunmaları nedeniyle yıllar içinde önem kazanmış, çok çeşitli infeksiyonlara yol açan bakterilerdir. Toprak, su ve yiyeceklerde, çeşitli hayvanların ve insanların florasında yer alabilirler (5).

Enterokoklar düşük virülansa sahip olmalarına rağmen, sahip oldukları plazmid ve transpozonlar sayesinde son yıllarda belirgin bir şekilde direnç kazanmışlardır. Bunlar arasında en önemlilerinden biri yüksek düzey glikopeptid direncidir (6). Doğal direncin yanında kazanılmış direncin de aynı bakteride bulunabilmesi ciddi infeksiyonların tedavisinde zorluklara ve fatal seyreden infeksiyonlara neden olmaktadır (7).

Enterokokal infeksiyonların genellikle hastanın kendi florasından kaynaklanan endojen infeksiyonlar olduğu düşünülmeyle birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalar ekzojen yolla da yayılabileceklerini göstermiştir (8). Bulaşta en önemli kaynak hastanede yatan, GİS'de VRE taşıyan hastalardır. GİS, E.faecium'un major rezervuarıdır ve bu kişiler genellikle asemptomatik olduklarından ancak sürveyans çalışmaları sırasında VRE taşıdıkları saptanabilir. Hastadan hastaya veya kolonize hastane personeli tarafından hastalara bulaştırılabilmekte, hastaneler arası yayılabilmektedir (1).

Özellikle üzerinde durulması gereken potansiyel tehlike, hareket edebilen, diğer bir deyişle aktarılabilen ve VRE'lerde bulunan direnç genlerinin *Staphylococcus aureus* gibi diğer gram pozitif mikroorganizmalara (*Listeria monocytogenes*, grup A ve viridans streptokoklar) transfer edilebilmesidir. Vankomisin ve teikoplanin dirençli enterokoklarda bulunan plazmid kaynaklı ve yüksek düzey vankomisin direncinden sorumlu VanA geninin invitro koşullarda S.

aureus da dahil olmak üzere birçok gram pozitif mikroorganizmaya transfer edilebileceği gösterilmiştir (9).

Vankomisin dirençli enterokok (VRE) suşları ilk kez 1986 yılında Avrupa ve takiben 1987 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nden; daha sonra Asya, Avustralya, Güney Amerika ve Afrika'dan rapor edilmiştir (10).

Ülkemizde ilk olarak 1997 yılında hasta dışkıları ve kanalizasyon su örnekleri ile yapılan bir çalışmada VRE tespit edilmezken, ilk VRE suşu 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi tarafından bildirilmiştir (1). Bunu 1999 yılı içinde İstanbul Tıp Fakültesi ve Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nden bildirilen olgular takip etmiştir. 2003 yılı itibariyle VRE sorunu ile karşılaşan merkez sayısı 10'u aşmıştır (7, 11-16).

CDC verilerine göre, Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) VRE suşları 1989 yılında nozokomiyal infeksiyonların %0.3'ünden sorumlu iken, bu oran 1993'te %11.4'e, yoğun bakım ünitesinde (YBU) ise %0.4'den %13.6'ya çıkmıştır (1). National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) verilerine göre ABD'de 1989-1997 yılları arasında, yoğun bakım dışındaki kliniklerde VRE oranının %0.3'ten %15.4'e yükseldiği belirtilmekte (8) ve 1989-1993 yılları arasında nosokomiyal infeksiyonlarla ilişkili olarak VRE insidansının 20 kat arttığı bildirilmektedir (17-19). NNSI verilerine göre VRE'ler, ABD'de tüm hastane infeksiyonlarının ikinci, nozokomiyal bakteremilerin ise üçüncü en sık etkenidir (20).

Hastanede yatan hastalarda dirençli enterokok kolonizasyonunun erken tespiti, enterokokal infeksiyonların kontrolünde önem arz etmektedir. Dışkı ya da rektal sürüntü kültürleri ile kolonizasyonun ortaya çıkarılması infeksiyonun yayılımını önlemektedir. Bilinen en önemli VRE rezervuarı hospitalize hastaların gastrointestinal sistemidir (1,10). VRE kolonizasyonunu saptamada dışkı, perirektal veya rektal sürüntü kültürleri altın standart olarak kabul edilmektedir (10).

Her hastanede olası VRE kolonizasyonunu erken tespit etmek amacıyla düzenli olarak ayda bir kez yapılması gerekli olan bu süreyans çalışması hastanemizde ilk kez yapılmaktadır. Amacımız Yoğun Bakım, erişkin Onkoloji-

Hematoloji ve Pediatrik Onkoloji servislerinde yatmakta olan immunsupressif ve geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi alan hastaların rektal sürüntü örneklerinde olası VRE kolonizasyonunu tespit etmek, HICPAC (Hospital Infection Control Practices Advisory Committee)'ın önerileri doğrultusunda izolasyon ve bariyer önlemlerinin alınmasını sağlayabilmektir. Böylece dirençli suşların diğer hastalara, hastane içinde diğer servislere ve belki de hastaneler arası yayılmasının önlenmesinde katkıda bulunmamız mümkün olacaktır. Son yıllarda VRE ile ilgili tüm gelişmeler ülkemizde de ciddi problemlerle karşılaşabileceğimizin habercisidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ENTEROKOKLAR

Bu güne kadar streptokokların sınıflandırılmasında çeşitli yöntemler uygulanmıştır. Brown hemolitik özelliklerine göre α , β , γ olarak isimlendirmiş, 1930 yılında Rebecca Lancefield hücre duvarındaki karbonhidrat antijenlerine göre serolojik gruplara ayırmıştır. Sherman ise hemoliz, üreme sıcaklıkları (10°-45°C), biyokimyasal özellikleri ve antijenik yapılarına göre streptokokları gruplandırmıştır. Buna göre piyojen, laktik, viridans streptokoklar ve enterokoklar olarak isimlendirmiştir. Son olarak 1978 yılında Jones bu sınıflamayı genişleterek oral, laktik, anaerob, piyojenik ve diğer streptokoklar olarak isimlendirmiştir (21).

Enterokoklar 1984 yılına kadar Lancefield sınıflamasında D grubu streptokoklara dahil edilmiş ve bu yıldan sonra Schleifer ve Kilpper-Balz tarafından yapılan genetik çalışmalar sonucunda *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium* suşlarının ayrı bir genus olarak ele alınmasına karar verilmiştir. Bu genus Enterococcus olarak isimlendirilmiştir (22). Yıllar süresince devam eden çalışmalarda *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. malodoratus*, *E. mundtii* (22-26), *E. raffinosus*, *E. solitarius* ve *E. pseudoavium* olarak yeni türler tanımlanmış ve enterokok ailesine dahil edilmişlerdir (27). Son birkaç yıldır klinik örneklerden (*E. gilvus*, *E. pallens*, CDC PNS-E1, CDC PNS-E2, CDC PNS-E3), hayvanlardan (*E. canis*, *E. villorum*, *E. rattii*, *E. asini*, *E. phoeniculicota*) ve çevreden (*E. haemoperoxidus*, *E. moraviensis*) izole edilen yeni enterokok türleri tanımlanmıştır. İnsan infeksiyonlarından izole edilen nadir ve alışılmadık enterokok türleri zaman zaman literatürlerde rapor edilmeye devam etmektedir (28)

2.2 MİKROBİYOLOJİK, ÜREME VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Enterokoklar, Streptococcaceae familyası içinde yer alan gram pozitif koklardır. Toprak, su, yiyeceklerde; insan ve hayvanların barsak, safra yolları, ağız ve bazen de derilerinde normal florada bulunurlar,

Tekli, ikili ya da kısa zincirler halinde görülebilen, fakültatif anaerob koklardır. Normalde 35°C 'de üremekle birlikte, 10-45° C arasında üreyebilirler, 60°C'ye 30 dakika dayanabilirler. Kuruluğa ve uç ısılara dirençlidirler, buzdolabı ortamında aylarca, -70°C' de yıllarca saklanabilirler (5, 21, 28- 30).

Enterokoklar, %40 safralı ortamda ve %6.5 NaCl varlığında ürerler, eskülünü hidroliz ederler (6, 21, 28-31) %6.5 NaCl varlığında üremeleri identifikasyonlarında çok önemli bir özellikleri olmasına karşın, *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. pallens*, *E. saccharolyticus* türleri üremezler yada zayıf olarak ürerler (5, 28).

Enterococcus avium Lancefield grup D ve Q karbonhidrat antijeninin her ikisini birlikte taşıyabilir, *E. avium* ve *E. malodoratus* H₂S oluşturan türlerdir (28).

Kanlı agarda gri renkli, parlak, büyükçe koloniler yaparlar. Bazen zayıf bir alfa hemoliz oluştursalar da, genel olarak non-hemolitiklerdir. *E. faecalis* insan ve at kanı içeren ortamlarda beta-hemoliz yapar. Koyun kanı içeren ortamlarda non-hemolitiklerdir. *E. durans* türleri kanın cinsine bağlı olmaksızın beta-hemoliz yaparlar (5).

Sitokrom enzimleri olmadığından dolayı katalaz negatif olmakla beraber bazı kökenleri (özellikle *E. faecalis* kan içeren besiyerine üretildiğinde) "pseudo catalase" yapar (5, 31-32). Pyrrolidonyl-beta-naphtylamide (PYR) adlı bir maddeyi hidroliz ederler. Bunun istisnai olduğu bazı kökenler *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. pallens* ve *E. saccharolyticus* olup, PYR testi negatiftir (5, 28-29, 31-32).

Tüm kökenlerde lösinamino peptidaz (LAP) üretimi mevcuttur (5, 29). Pozitif PYR testi *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Pediococcus* cinsinden ayırımında önemlidir (5).

Hücre duvarında bulunan grup D antijeni enterokokların tanımlanmasında spesifik olmayıp, *S. bovis*, *S. equinis*'te bu antijene sahiptir. Ayrıca *leuconostoc* ve *pediococ*'ların bazı suşlarında grup D antijeni ihtiva ederler (33).

E. flavescens, *E. casseliflavus* ve *E. gallinorum* gibi bazı türler hareketlidirler. *E. mundtii*, *E. casseliflavus* gibi bazı türleri pigment yapmaktadır (33).

Enterokok türleri L-arabinoz, mannitol, sorbitol, rafinoz, sakkaroz, melibioz'dan asit oluşturma, hareket, pigment, PYR hidrolizi, %6.5 NaCl varlığında üreme gibi özellikleriyle birbirlerinden ayrılırlar (33).

Hastane epidemiyolojilerini araştırmada faj tiplemesi, serotipleme, biyotipleme ile birlikte bakteriyosin (enterococcin) tiplemesi kullanılmaktadır (34).

Facklam ve arkadaşları (31) enterokok türlerini mannitol ve sorboz sıvı besiyerinde asit yapımına ve arjinin hidrolizine göre beş gruba ayırmıştır. Son sınıflamada daha önce kullanılan testlere MGP (methyl-alpha-D-glucopyranoside) ve EFRO (efrotomycin disk,100 µg) ilave edildiği dikkat çekmektedir. EFRO diskleri henüz ticari olarak bulunmamaktadır.

Grup I: Mannitol, sorbitol, sorboz sıvı besiyerinde asit oluşturur, arjinini hidrolize etmez.

Grup II: Mannitol sıvı besiyerinde asit oluşturur, arjinini hidrolize eder ancak sorbozda asit yapmaz, sorbitolde ise değişken reaksiyon verirler.

Grup III: Arjinini hidroliz eder, ancak üç karbonhidrattan da asit yapmaz.

Grup IV: Grup D antijeni içermez. Mannitol, inülin, arabinoz, arjinin testlerinde reaksiyon vermez

Grup V: Sorbitol besiyerinde asit oluşturmaz, arjinini hidroliz etmez. Mannitol'den asit oluşturur.

Tablo 1. Enterococcus genusunun üyeleri (28)

GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	GRUP 5
<i>E. avium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. dispar</i>	<i>E. asini</i>	<i>E. columbae</i>
<i>E. gilvus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. cecorum</i>	<i>E. canis</i>
<i>E. pallens</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. sulfureus</i>	<i>E. moraviensis</i>
<i>E. pseudoavium</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. ratti</i>	<i>E. phoeniculicola</i>	
<i>E. raffinosus</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>E. villorum</i>	<i>Enterococcus spp. CDC PNS-E1</i>	
<i>E. saccharolyticus</i>	<i>E. haemoperoxidus</i>			
	<i>Enterococcus spp. CDC PNS E2</i>			

Tablo 2. Fakültatif anaerobik, katalaz negatif, gram pozitif kokların fenotipik özellikleri (31)

GENUS	VAN	GAZ	PYR	LAP	%6.5 NaCl	10°C'de üreme	45°C'de üreme	Eskülin hidrolizi
<i>Enterococcus</i>	S-R	-	+	+	+	+	+	+
<i>Streptococcus</i>	S	-	*	+	D	-	-	D
<i>Lactococcus</i>	S	-	+	+	D	+	-	+
<i>Aerococcus</i>	S	-	D	D	+	D	-	-
<i>Leuconostoc</i>	R	+	-	D	D	+	D	D
<i>Pediococcus</i>	R	-	-	-	D	-	D	+
<i>Gemella</i>	S	-	D	+	-	-	-	-
<i>Vagococcus</i>	S	-	+	+	+	+	-	+

VAN: Vankomisin, **GAZ:** Glikozdan gaz oluşumu, **LAP:** Lösinamino peptidaz, **PYR:** Pyrrolidonyl-betanaphthylamine, **D:** Değişken, ***Streptococcus pyogenes, S.iniae, S.porcinus pozitif, S:** Duyarlı, **R:** Dirençli, **NaCl:** %6.5 NaCl'de üreme

Tablo 3. Enterokokların ayırımında kullanılan testler (33)

TEST	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. gallinarum</i>
Asit oluşturma					
L-arabinoz	-	+	-	-	+
Mannitol	+	+	-	-	+
Sorbitol	+	-	-	-	-
Raffinoz	-	D	D	-	+
Sakkaroz	+	D +	+	-	+
Melibiyoz	D -	+	+	-	+
Hareket	-	-	-	-	+
Pigment	-	-	-	-	-
%6.5 NACl	+	+	+	+	+
PYR	+	+	+	+	+

D:Değişken

2.3 VİRÜLANS VE PATOJENİTE FAKTÖRLERİ

Enterokokların insanda patojenitelerine katkıda bulunan faktörler hakkındaki bilgilerimiz kısıtlıdır. Çoğu enterokokta klasik virülans faktörü yoktur. İntrensek olarak çoğu antimikrobiyale dirençli olmaları, geniş spektrumlu antibiyotik alan hastalarda süperinfeksiyon yapmalarına yol açar. Ayrıca çevre koşullarına dayanıklı olmaları diğer patojenlerden daha avantajlı olmalarını sağlar. Bu güne kadar patojenitede rol oynadığı düşünülen virülans faktörleri şunlardır (5, 28- 30).

Agregasyon faktörü: Bir yüzey proteindir. Enterokoklar kalp kapakçıkları ve üriner epitel hücrelerine yapışarak infeksiyon yaparlar. Agregasyon faktörünün adheransda rol oynadığı düşünülmektedir. *E. faecalis* ve *E. faecium*'da bulunur (35).

Hemolizinler (sitolizin) : Özellikle *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarında bulunabilen, tavşan, insan, at, sığır eritrositlerini hemoliz eden hemolizinler virülansda rol oynar. Toksik aktivitesi ile birlikte çok sayıda gram pozitif bakteriyi etkileyebilen bakteriosin olarak da işlev gördüğü gösterilmiştir. Ayrıca immun sistem üzerinde makrofaj ve polimorfonükleer lökositlere zarar verici etkisi olduğu ve direkt doku harabiyeti yaptığı da gösterilmiştir (5, 35).

Feromonlar: Enterokoklar tarafından sentezlenen küçük peptitlerdir. Suşlar arası plazmid DNA'sının konjugasyonunu denetler. Nötrofiller için kemotaktik olduklarından infeksiyonlarda inflamatuvar cevabı artırır (35).

Lipoteikoik asit: Enterokokların D grubu antijenlerini oluşturur. Tümör nekroz faktör ve interferon salınmasına yol açarak immun cevabın düzenlenmesini sağlar.

Jelatinaz: Jelatinaz üreten enterokok suşlarının toksik etkilerinin üretmeyenlere kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır (35).

Ekstrasellüler süperoksit: *E. faecalis* suşlarının büyük bir çoğunluğu ve bazı *E. faecium* türleri tarafından sentezlenmektedir. Bakterinin yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir (35).

Ekstrasellüler yüzey proteini (Esp): İlk kez *E. faecalis* suşlarında tanımlanan yüzey proteindir. Bakterinin immun yanıtı kaçışını kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Ayrıca, serin proteaz, hyalüronidazın da patojenitede rol oynadığı düşünülmektedir (35).

Cocolysin: Ekstrasellüler metalloendopeptidazdır ve virülansta rol oynadığı düşünülmektedir. *E. faecalis* suşları tarafından üretilmektedir (28).

2.4 ENTEROKOKLARIN NEDEN OLDUĞU KLİNİK TABLOLAR

Enterokoklar barsak ve genitoüriner sistem dışında, hepatobilier sistem ve yumuşak dokuda da kolonize olabilirler. Virülansı düşük olan bu bakteri çoğu kez hastanın kendi endojen florasından kaynaklanan infeksiyonlara yol açar. Ekzojen kaynakların ne olduğu tam olarak bilinmemekle beraber olguların %39'undan sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Genel olarak enterokokal infeksiyonların %80-90'ı *E. faecalis* ile gelişir. İkinci sık etken %5-15 ile *E. faecium*'dur (1, 11). Endokardit, üriner infeksiyonlar, intraabdominal abseler, yara ve dekübitus infeksiyonları, kolesistit, menenjit, hastane kaynaklı pnömoni ve septisemi gibi infeksiyonlara neden olabilirler (8, 21, 28, 30-32, 35, 36). Safra yolları infeksiyonlarında *Escherichia coli*'den sonra ikinci sırayı alırlar (21). Enterokoklar

nozokomiyal bakteremide üçüncü, üriner sistem ve yara infeksiyonların da ikinci en sık saptanan etkidir (1, 8, 11).

Enterokokların en sık neden olduğu infeksiyonlar arasında üriner sistem infeksiyonları ilk sırayı almaktadır (8, 31, 36).

Üriner sistem infeksiyonları

Enterokokların en sık neden olduğu klinik tablo üriner sistem infeksiyonlarıdır. Enterokok türleri tüm nozokomiyal üriner sistem infeksiyonlarının %16'sını oluşturur. Enterokoklar, toplumda gelişen üriner sistem infeksiyonlarında sağlıklı genç kadınlarda %5 sıklıkta etken iken, üriner katater, genitoüriner patoloji, önceden antibiyotik alma gibi risk faktörleri bu oranı artırmaktadır. Yaşlı erkeklerde de en sık görülen patojenlerden biridir. Komplikasyonsuz sistit veya piyelonefrit, prostatit ve perinefritik apseye yol açabilirler. Klinik bulguları diğer üriner sistem infeksiyonlarından farklı değildir. Enterokokal üriner infeksiyonlarda bakteremi gelişmediği sürece mortalite nadirdir (8, 30, 31, 36).

İnfektif Endokardit (İE)

En sık toplumda gelişir. Tüm endokarditlerin üçüncü en sık nedenidir (31). Tüm İE'lerin %10-15'ini oluşturur. (8, 36) En sık *E. faecalis*'e bağlı olarak gelişir. Erkeklerde 50-60 yaş arasında, kadınlarda ise doğurganlık yaşında daha sıktır. Enterokokal bakteremilerin kötü bir komplikasyonudur (8). Altta yatan kalp kapak hastalıkları önemli bir risk faktörüdür. Ancak normal kalp kapaklarında da infeksiyona yol açabilirler (8, 31, 36). En sık mitral ve aort kapak tutulmaktadır (31). Genelde kaynak bulunamayan çoğu olguda genitoüriner sistem sorumlu tutulur. İE için risk faktörleri; toplum kökenli bakteremi, altta yatan valvülopati, prostetik kapak ve ileri yaştır (8).

Bakteremi

Enterokokal bakteremilerin %78'i nozokomiyaldir. Nozokomiyal enterokokal bakteremilerin çoğunda infektif endokardit yoktur (8, 36). Ancak hastane dışında gelişen bakteremilerin 1/3'üne endokardit eşlik eder. Polimikrobiyal bakteremilerde en sık izole edilen gram-pozitif bakterilerdir (8).

Genellikle altta yatan hastalığı olanlarda daha sık görülür. Bakteremiye bağlı mortaliteleri %13-68 arasında değişirken, VRE'de mortalite %17-100 arasındadır (8). Enterokokal bakteremilerde mortaliteyi artıran faktörler ampisiline direnç, önceden antibiyotik kullanımı ve uygunsuz antibiyotik kullanımı, hemodinamik bozukluk, önceden mekanik ventilasyon ve altta yatan hastalıktır. Bakteremilerin en sık kaynağı üriner sistemdir. Bunu genital sistem, intraabdominal ve pelvik infeksiyonlar ve intravenöz kataterler izlemektedir. Enterokokal bakteremide risk faktörleri; ileri yaş, altta yatan ağır hastalık, immun yetmezlik, nozokomiyal kazanım, polimikrobiyal etiyoloji, multipl travma, major yanıklar, intraabdominal veya cerrahi yara infeksiyonları, uzun süreli hastanede yatma, önceden antibiyotik kullanımı, nötropeni, uygunsuz antibiyotik kullanımı, hemodiyaliz, intravenöz kateter ve üretral kateterizasyondur (8).

Klinik enterokokların tek başına etken olduğu olgularda sessizdir. Ateş sıktır. Nadiren dissemine intravasküler koagülopati (DIC) ve septik şok gelişir (8).

İntraabdominal ve Pelvik İnfeksiyonlar

Enterokoklar vajen ve gastrointestinal sistemin normal flora elemanları olduğundan bu infeksiyonlardaki rolü tartışmalıdır (8, 31). Genel görüş, intraabdominal ve pelvik infeksiyonlarda tek başına izole edilmediği sürece enterokokların tedavi edilmemesidir (8). VRE'ye bağlı intraabdominal infeksiyonlar özellikle periton diyalizi yapılan hastalarda peritonit ve karaciğer transplantasyonu yapılanlarda bilier sepsise yol açmaktadır (8).

Deri ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları

Bu bölgelerin infeksiyonlarından nadiren saf olarak elde edilirler. Sıklıkla cerrahi yara infeksiyonlarından, diyabetik ayak ülserlerinden ve yanıklardan diğer bakteriler ile birlikte izole edilirler (8, 31).

Yenidoğan ve Pediatrik İnfeksiyonlar

Yenidoğanlar enterokokal infeksiyonlar için risk gruplarıdır. En sık sepsis ve menenjit görülür. Yenidoğan sepsis ve menenjitlerinin %13'ünde enterokoklar etken olarak gösterilmiştir. Düşük doğum ağırlığı, erken doğum, uzun süreli santral venöz kateterizasyon, barsak rezeksiyonu, abdominal girişimler, uzun süreli

hastanede yatış ve sefalosporin kullanımı risk faktörleridir. VRE salgınları bu yaş grubunda da özellikle onkoloji ünitelerinde görülmüştür. VRE kolonizasyonundan infeksiyona geçiş için risk faktörleri nütropenin süresi, seftazidim, amikasin, teikoplanin kullanımı ve kullanılan antibiyotiklerin sayısıdır (8).

Menenjitler

Enterokokal menenjit seyrek görülen fakat çok ciddi seyirli akut bakteriyel menenjitlerden biridir. Bakteriyel menenjitlerin %0.3-4'ünü oluştururlar. Kafa travması, şant veya nöroşirurjik bir prosedür olup olmamasına göre spontan (hematojen) ve postoperatif menenjit olarak gelişebilir. Spontan menenjit santral sinir sistemi (SSS) dışında başka bir yerde olan enterokokal infeksiyona sekonder olarak gelişir. Postoperatif olan ise genellikle hastanede ve kafa travması, nörolojik cerrahi, SSS 'de yabancı cisim olması, BOS sızıntısı gibi risk faktörlerine bağlı olarak gelişir. Çocuk hastalarda konjenital hidrosefali ve SSS malformasyonları için cerrahi operasyonu takiben gelişir. Mortalite %10-58 arasında değişir (8).

Respiratuvar İnfeksiyonlar

Enterokokların neden olduğu respiratuvar infeksiyonlar nadirdir. Pnömoni ve akciğer abseleri hariç olmak üzere genelde debil hastalarda görülürler (30, 36).

2.5 ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ

Enterokoklar 1970'li yıllardan beri hastane kaynaklı infeksiyonların en sık sebeplerinden biri olarak tanımlanmaktadır. Enterokokların doğal olarak dirençli oldukları üçüncü kuşak sefalosporinlerin yaygın kullanımı bu artıştan sorumlu tutulmaktadır. Bu bakterinin hastane ortamında yaşamasının nedenleri yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe intrensek olarak dirençli olmaları, ayrıca kullanımda bulunan tüm antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilme (mutasyon veya plazmid/transpozon aracılığıyla genetik materyalin transfer edilmesi) özelliğine sahip olmalarıdır. Enterokoklar klinik kullanımda olan antibiyotik gruplarının çoğuna toleran ya da dirençlidir. Bu nedenle özellikle ciddi enterokokal infeksiyonların tedavisi oldukça güçtür ve bakterisidal etki sağlayabilmek için kombinasyon tedavileri yapılmalıdır.

Enterokokların çeşitli antimikrobiklere direnç mekanizmaları 2 grupta incelenir (37).

1. İntrensek (doğal) direnç
2. Ekstresek (kazanılmış) direnç

İntrensek Direnç

Enterokokların doğal direnç özellikleri türe özgüdür ve enterokok türlerinin birçoğunda bulunur. Düşük düzeyde klindamisin direnci ve düşük düzeyde aminoglikozid direnci enterokoklardaki intrensek direncin en tipik örnekleridir. Polimiksine, sefalosporinlere, penisilinaz dirençli semisentetik penisilinlere, aztreonama direnç ve florokinolonlara sınırdaki duyarlılık da enterokokların karakteristik özelliğidir. Penisilinaz dirençli semisentetik penisilinlerin yanı sıra enterokokların diğer penisilinlere duyarlılığı da azalmıştır. Betalaktam antibiyotikler için MİK değerlerinin yüksek olması enterokoklarda bulunan penisilin bağlayan proteinler (PBP5)'in afinitesinin doğal olarak düşük olması ile ilişkilidir. Enterokoklar üzerinde tek başına bakterisidal etkili antibiyotik bulunmaması enterokokal endokardit tedavisinde tek ilaç kullanıldığında başarısızlığa neden olur.

E. faecium beta-laktam grubu antibiyotiklere doğal olarak daha dirençli olmasının yanında aminoglikozid direncinde de türe özgü farklılık gösterir. *E. faecium* suşlarının tobramisin ve kanamisin için MİK değerleri, *E. faecalis* suşlarına oranla daha yüksektir. Bunun nedeni *E. faecium* suşlarının düşük düzeyde aminoglikozid 6'asetiltransferaz (6'AAC) enzimi salgılamasıdır. Bu enzimin yapımı kromozomaldır ve transfer edilemez (37).

Kazanılmış Direnç

Bu direnç genellikle bir DNA mutasyonu ya da yeni bir DNA segmentinin transferine bağlı olarak gelişir. Bu transferden en sık sorumlu mekanizma konjugasyondur. Tetrasiklin direnci enterokoklarda konjugasyon yoluyla kazanılmış direncin en tipik örneğidir (37).

Kloramfenikol, Eritromisin ve Klindamisin Direnci

Direnç genlerinin bir enterokoktan diğerine transferi ilk kez 1964 yılında gösterilmiştir (kloramfenikol direnci). Enterokokların %20-42'sinin kloramfenikole karşı dirençli olduğu ve bu direçten sorumlu mekanizmanın kloramfenikol asetil transferaz üretimi olduğu bildirilmiştir.

Eritromisin direnci enterokoklarda çok sık görülen diğer bir dirençtir ve ermB geni ile ilişkilidir. Bu gen ribozomal RNA'nın metilasyonundan sorumludur. Metilasyon nedeniyle eritromisin ribozomlara bağlanamaz. Aynı mekanizma klindamisine yüksek düzeyde dirençten de sorumludur (37).

Tetrasiklin Direnci

Enterokoklarda tetrasiklin grubu antibiyotiklere dirençten sorumlu çok sayıda gen tanımlanmıştır. Bunlardan tetM, tetO, tetE genleri tetrasiklinlerin ribozomlar üzerindeki etkisini inhibe eder, tetL ise tetrasiklinlerin hücre dışına pompalanmasını sağlayan bir aktif transport sistemini kodlar (37).

Aminoglikozid Direnci

E. faecalis suşlarındaki intrinsek düşük düzeyde aminoglikozid direncini hemen her zaman hücre duvarı üzerinde etkili bir antibiyotik (penisilin veya vankomisin gibi) kombinasyonu yoluyla yenmek mümkündür. Bu kombinasyon *E. faecalis* suşlarında sinerjistik etki yaratmaktadır. *E. faecium* için ise sadece streptomisin ve gentamisin ile sinerji görülürken, 6'asetil transferaz grubu içeren aminoglikozidlerle (tobramisin, netilmisin, amikasin, kanamisin, sisomisin) sinerjistik etki ortaya çıkmaz (37).

Günümüzde enterokokların çoğunda aminoglikozidlere karşı kazanılmış yüksek düzeyde direnç mevcuttur. Bu direnç varlığında hücre duvarına etkili antibiyotiklerle aminoglikozidler arasındaki sinerji ortadan kalkar. Bu durum ilk kez streptomisin için tanımlanmıştır. Streptomisine yüksek düzey dirençten iki mekanizma sorumludur. Birincisi mutasyonlara bağlı gelişen ribozomal dirençtir. Bu dirençte streptomisin MİK değerleri yüksektir. İkincisi ise streptomisin adenil transferaz enzimini kodlayan bir genin kazanılması ile ilişkilidir (37).

Gentamisine yüksek düzeyde dirençten sorumlu olan enzim bir füzyon proteindir. Bu protein hem 6'-asetiltransferaz hem de 2'-fosfotransferaz

aktivitesine sahiptir (38). Bu iki özellik spektinomisin ve streptomisin dışında tüm aminoglikozidlerin sinerjistik etkisini ortadan kaldırır (37).

Spektinomisin enterokoklar üzerinde sinerjistik etki gösteren bir aminoglikozid değildir. Gentamisine yüksek düzeyde direnç gösteren bir suşun streptomisin ve spektinomisin dışındaki tüm aminoglikozidlere yüksek düzeyde dirençli olduğu akılda tutulmalı ve streptomisin direnci yönünden araştırılmalıdır (37).

Beta-laktam Direnci

Beta-laktam direnci enterokok türlerinde tam ya da kısmi karakteristik bir özelliktir, iki ayrı direnç mekanizması ile beta-laktam grubu antibiyotiklere direnç kazandığı gösterilmiştir. Bunlardan ilki, kromozomal olan ve penisilin afinitesinin azalması sonucu penisilin bağlayan protein 5 (PBP5)'in artması ile oluşan dirençtir. İkincisi ise beta-laktamaz üretimidir. Enterokoklardaki beta-laktamazlar penisilin, ampisilin, piperasilin ve diğer üreidopenisilinleri hidroliz ederken, penisilinaza dirençli penisilinleri, sefalosporinleri, imipenemi etkilemez. *E. faecalis* penisiline diğer streptokoklardan 10-100 kez daha az duyarlı iken, *E. faecium* ondan 4-16 kez daha az duyarlıdır. *E. faecalis*'in çoğu izolatları ampisilin yada penisilin 1-8 µg/ml konsantrasyonlarında inhibe olurken, *E. faecium* 'da bu değer 16-64 µg/ml 'dir ve bazı izolatları daha da dirençlidirler. PBP5 üretimi Fontana ve arkadaşları tarafından *E. faecium* suşunda gösterilmiştir (38).

Enterokoklarda beta-laktamaz üretimi esas olarak düşük seviyededir ve inokulumla bağlıdır(37, 38). İnokulum etkisinin bir sonucu olarak disk difüzyon veya mikrotitrasyon gibi düşük inokulumla çalışılan rutin laboratuvar testlerinde beta-laktamaz üreten enterokokların saptanması mümkün değildir (37).

Glikopeptid Direnci

Enterokoklarda peptidoglikan sentezi için iki D-Alanin molekülünün bir ligaz enzimi tarafından birbirine bağlanması, oluşan D-ala-D-ala 'nın UDP-N-asetilmuramil-tripeptide eklenerek UDP-N-asetilmuramil-pentapeptidin oluşması ve bunun da transglikozilasyon yoluyla mevcut peptidoglikana eklenmesi gerekmektedir. Vankomisin ve teikoplanin bu pentapeptidin D-ala-D-ala terminal ucuna bağlanarak peptidoglikan sentezinin transglikozilasyon aşamasını inhibe

eder. Böylece hücre duvarı sentezi inhibe olur. VRE ise ligaz enzimi ile D-ala-D-ala ucunun yapısını değiştirir ve D-ala-D-laktat veya serin meydana gelerek vankomisin bağlanma yeteneğinin azalmasına neden olur. Sonuçta hücre duvarı sentezlenmeye devam eder ve üreme sürer.

Enterokoklarda 2 tip direnç mevcut olup birisi vankomisine düşük düzeyde direnç gösteren intrinsik ve diğeri edinsel dirençtir. Direnç sınıflandırması önceleri izolatların MİK değerlerine göre yapılmakta iken, günümüzde ligaz genlerinin varlığına göre yapılmaktadır. Vankomisin direncinde tanımlanmış 6 fenotip vardır. Bunlar VanA, VanB, VanC, VanD, VanE, VanG'dir. VanD, VanE, VanG fenotiplerinin epidemiyolojik önemi tam olarak anlaşılamamıştır. Bilinen fenotipler arasında sadece VanC intrensek olma özelliğine sahiptir. VanA ve VanB tipi direnç *E. faecium* ve *E. faecalis*'te tanımlanmış olup kazanılmış dirençlerdir. VanA, VanB, VanD tipi direnç D-ala-Dala-laktat ve VanC, VanE tipi direnç D-ala-D-ala-serin üretimiyle ilişkilidir (9, 37, 38).

VanA tipi direnç: Bugüne kadar en iyi incelenmiş direnç tipidir. Bu direnç kümesi hayvanlarındaki koksidiyal infeksiyonların tedavisinde glikopeptidler (vankomisin, teikoplanin, avoparsin, ristosetin) ya da glikopeptid olmayan (basitrasin, polimiksin B, robenidin) gibi ajanların kullanımına bağlıdır. Vankomisin (MİK ≥ 64 $\mu\text{g/mL}$) ve teikoplanin (≥ 16 $\mu\text{g/mL}$) 'e karşı yüksek düzey direnç görülür. Başta *E. faecium* olmak üzere *E. faecalis*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. avium*, *E. mundtii*, *E. casseliflavus*, *E. raffinosus* ve bazı enterokok dışı türlerde gösterilmiştir.

Bu dirençten Tn1546 transpozonu ve bu genle ilgili elemanlar üzerinde taşınan VanA geni kümesi esas olarak sorumludur. Tn 1546 transpozonu 9 ayrı gen içerir. Bu genlerden ikisi transpozaz ve rezolvaz aktivitesi göstermektedir. Bu iki gen Tn1546'nın transpozisyonundan transpozon üzerindeki diğer genler (VanR, VanS, VanH, VanA, VanX, VanY, VanZ) ise glikopeptid direncinden sorumludur. VanZ'nin glikopeptid direncindeki yeri tam olarak bilinmemekte ve teikoplanin direncinde rolü olduğu düşünülmektedir (37, 38).

VanB tipi direnç: VanB tipi glikopeptid direnci VanA ligaza yapısal benzerlik gösteren VanB ligaz ile oluşur. VanB geni D-ala-ala-lac pentapeptidinin oluşumuna

neden olur. Kromozomal yerleşimlidir, ancak transpozon ya da plazmid üzerinde de olabilir ve transfer edilebilir. Bu direnç tipinde vankomisine değişik düzeyde direnç (MİK 4-≥1024 µg/L) gösterirken, teikoplanine (MİK 0.5-2 µg/mL) duyarlıdır. VanB tipi direnç esas olarak *E. faecalis*, *E. faecium*'da tanımlanmıştır. Nadiren de *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* ve enterokok dışı bazı türlerde saptanmıştır (37, 38).

VanC tipi direnç: Vankomisine düşük düzeyde kromozomal direnç söz konusudur. *E. gallinarum*'da VanC-1, *E. casseliflavus*'da VanC-2, *E. flavescens*'de VanC-3 genleri rapor edilmiştir. Teikoplanin'e duyarlıdır. Yapısal olarak indüklenemez ve transfer edilemez bir dirençtir. D-ala-D-ala-serin pentapeptidleri oluşturarak dirence neden olur. Vankomisin için MİK değerleri 8-16 µg/mL arasındadır (37, 38).

VanD tipi direnç: Az sayıda *E. faecium* suşunda tanımlanmış bir dirençtir. VanD tipi izolatlar konstitütif olarak vankomisin (MİK 64-256 µg/mL) ve teikoplanine (MİK 4-32 µg/mL) dirençlidirler. VanD geni kromozomaldır ve konjugasyon ile transfer edilemez (37, 38).

VanE tipi direnç: *E. faecalis* BM4405 izolatında tanımlanmıştır. Düşük düzeyde vankomisine dirençli (MİK 16 µg/mL) ve teikoplanin (MİK 0.5µg/mL)' e duyarlıdır. Bu yeni direnç fenotipi intrensek VanC tipi direnç ile benzerlik gösterir. Diğer direnç tipleri ile aminoasit dizilimlerinde benzerlikler gösterir. İndüklenebilir özelliktedir ve vankomisinle indüksiyon ile D-ala-D-ala-ser terminal dipeptiti üretir (37, 38).

VanG tipi direnç: Bu tip direnç *E. faecalis* WCH9 suşunda tanımlanmıştır. Vankomisine düşük düzeyde direnç (MİK 16 µg/mL) gözlenirken, teikoplanine (MİK 0.5 µg/mL) duyarlıdır. VanC ve VanE 'de olduğu gibi D-ala-D-ala-ser prekürsörleri oluşturarak dirence neden olur. Nadir görülen bu direncin transfer edildiğine dair bir bulgu elde edilememiştir (37).

Tablo 4. Enterokoklarda glikopeptid direnci (1, 36)

Fenotip	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE	VanG
Vankomisin MİK(µg/ml)	64->1000	4-1024	2-32	64-128	16	16
Teikoplanin MİK(µg/ml)	16-512	<0.5	<0.5	4	0.5	0.5
Direnç geni	Kazanılmış	Kazanılmış	İntrensek	Kazanılmış	Kazanılmış	Kazanılmış
AktarılabİLme	Evet	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
Sık görüldüğü suş	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. flavescens</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu

2.6 ENTEROKOK TÜRLERİNİN İZOLASYONU VE İDENTİFİKASYONU

Enterokokları üretmek için herhangi bir kanlı agar kullanılabilir. Gram negatif bakteri içeren karışık klinik örneklerden enterokok izolasyonu için seçici besiyerleri kullanılabilir. Bu amaçla en sık azid içeren safra-eskulin-azid veya enterococcosel agar kullanılır. Azid gram-negatif bakterileri inhibe eder ve besiyerindeki eskülini hidrolize ederek siyah koloniler oluşmasına neden olur. Colombia kolistin-nalidiksik asit (CNA) veya phenyl-ethyl alcohol agar (PEA) enterokokların seçici izolasyonlarında kullanılabilir. (5, 31). PEA'dan hemolitik reaksiyon değerlendirilmesi mümkün değildir. Oksolineskülin agar çok yaygın olmamakla birlikte enterokok izolasyonunda kullanılır (5). Kontamine alanlardan özellikle *E. faecium* izolasyonu için sefaleksim-aztreonam-arabinoz agar kullanılabilir (31).

Klinikte izole edilen enterokokların büyük çoğunluğu *E. faecalis* ve *E. faecium* olmakla beraber diğer türler de rastlanabilmektedir. Bazı enterokoklar ise sadece insan dışı kaynaklardan izole edilirler. (*E. malodoratus*, *E. pseudoaerium*, *E. saccharolyticus*, *E. sulfureus*, *E. columbae*, *E. cecorum*) Non-faecalis enterokokların ayırımı ciddi infeksiyonlarda veya hastanelerde epidemiyolojik amaçlarla yararlı olmaktadır (31). İzole edilen kolonilerin identifikasyonunda gram boyama, PYR testi, katalaz testi, %6.5 NaCl 'de üreme, hareket testleri yapılmalı; koloni morfolojisi ve pigment üretimi incelenmelidir. *E. gallinarum* hareketli ve pigmentsiz, *E. casseliflavus* hareketli ve pigmentli, *E. faecium* hareketsiz ve pigmentsizdir.

Enterokokların tür düzeyinde manuel olarak identifiye edilmesi zordur. Bu yüzden tanıda fenotipik özellikleri göz önüne alarak tiplendirme yapan ticari kitler kullanılabilir. Diğer taraftan unutulmaması gereken nokta tüm identifikasyon sistemlerinin %100 başarılı sonuç vermemekle birlikte, genetik çalışmalarla da desteklenen incelemelerde genel olarak enterokokların %90'ında doğru tiplendirme yapabildiğidir. API 20S, API Rapid ID 32, Vitek 1-2 sistemi, Crystal gram pozitif ve hızlı gram-pozitif tiplendirme kiti, Sceptor, Phoenix ve Microscan sistemleri ticari olarak tür düzeyinde identifikasyon için kullanılan sistemlerdir (5).

Enterokokları tiplerede kullanılan metotlar arasında en başarılıları PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), multilokus enzim elektroforezi, ribozom tiplemesi ve PCR'a dayalı metotlardır. Yapılan çalışmalar en faydalı ve güvenilir yöntemin PFGE olduğu göstermektedir (31).

2.7 EPİDEMİYOLOJİ

Enterokokal infeksiyonlar arasında en sık *E. faecalis* görülmekte ve bunu *E. faecium* izlemektedir (1, 10-11, 29, 39). Diğer türler daha nadir olarak görülmektedir. Amerika'da *E. faecalis*, Avrupa'da *E. faecium* türleri daha sık izole edilmektedir (40). VRE kolonizasyonu ve infeksiyonlarının insidansı da Amerika ve Avrupa'da farklılık göstermektedir (41). ABD'de aşırı antibiyotik kullanımı ve artan kolonizasyon VRE' nin ortaya çıkmasında en önemli faktördür (1, 41). ABD'de

1993 yılında vankomisin kullanımı 4823g/100 000 kişi iken, Danimarka'da 424/100 000 kişi olarak tespit edilmiştir. ABD'de MRSA (metisiline dirençli *S. aureus*) sorunu dolayısı ile vankomisin çok yaygın olarak kullanılmaktadır ve 1981 yılından sonra on yıl içerisinde 20 kat artış göstermiştir (1). Avrupa'da ise hayvanlarda büyümeyi artırıcı olarak kullanılan bir glikopeptid türevi olan avoparsin kullanımı vankomisin direncinin artmasına neden olan en önemli faktördür (1, 9, 41). Yemlerinde glikopeptid kullanılan hayvanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda hayvanların gastrointestinal sistemlerinde VanA tipi dirence sahip VRE'lerin kolonize olduğu gözlenmiş ve daha sonra bunların insanlarda da kolonize olduğu saptanmıştır. Hayvansal gıdaların VRE yayılımı üzerine etkinliğinin en güzel göstergesi Hollanda'da toplam 104 kişi üzerinde yapılan bir araştırmada vejeteryan olan 42 kişide hiç VRE saptanmaz iken, vejeteryan olmayan 62 kişiden 6 tanesinin VRE taşıyıcısı olduğu saptanmıştır. ABD'de avoparsin kullanılmamaktadır ve yapılan çalışmalarda hayvanların florasında VRE saptanmamıştır. Avrupa ülkelerinin çoğunda epidemiyolojik veriler üzerine avoparsin kullanımı yasaklanmıştır (9). Ülkemizde avoparsin kullanımına ilişkin yeterli veri bulunmamakla birlikte, kümes hayvanları üreticileri ile yapılan kişisel görüşmede avoparsinin kullanıldığı Gültekin M ve arkadaşları (1) tarafından öğrenilmiştir.

İnsanlar VRE ile infekte ya da kolonize olabilirler ve kolonizasyon her zaman enfeksiyona yol açmaz. Kolonizasyon genellikle GİS'de olmakla birlikte deri ve genitoüriner sistemde de görülebilir (42). Sağlıklı kişilerde VRE kolonizasyonu ciddi bir enfeksiyon riski oluşturmazken, risk gruplarında mortalite ile sonuçlanan enfeksiyonlara yol açmaktadır. Gastrointestinal sistem *E. faecium*'un major rezervuarıdır ve bu kişiler genellikle asemptomatik olduklarından ancak sürveyans çalışmaları sırasında VRE taşıdıkları saptanabilir (1). Özellikle risk grubu hastalarda VRE kolonizasyonu haftalarca hatta aylarca devam edebilir (1, 10, 38).

Enterokokal enfeksiyonların genelde hastanın kendi florasından kaynaklanan endojen enfeksiyonlar olduğu düşünülmeyle birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar eksojen yolla da yayılabileceklerini göstermiştir (8, 38). VRE ve diğer enterokokal

infeksiyonlar direkt olarak hastane personelinin elleriyle, hastadan hastaya indirekt olarak, kontamine tıbbi cihazlar ve yüzeylerden bulaşabilmekte; hastane içinde veya hastaneler arası yayılabilmektedir (1, 10, 38). Ayrıca hastalarda ortak olarak kullanılan stetoskop, tansiyon ölçme aletleri, elektronik termometrelerin infeksiyonun yayılımında önemli rol oynadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (1, 10, 43).

2.8 ENTEROKOKLARDA GLİKOPEPTİD DİRENCİNİN ANTİBİYOTİK KULLANIMI İLE İLİŞKİSİ

VRE infeksiyonu ya da kolonizasyonu için risk faktörlerini araştıran çok sayıda epidemiyolojik çalışmada antibiyotik kullanımının önemli bir risk faktörü olduğu sonucuna varılmıştır. Bu çalışmalarda VRE kolonizasyonu veya infeksiyonu yönünden bağımsız bir risk faktörü olduğu saptanan antibiyotikler şunlardır:

- Oral veya i.v. vankomisin kullanımı
- 3. kuşak sefalosporin kullanımı
- Antianaerobik etkinliği olan antibiyotikler

Antibiyotik kullanımının VRE kolonizasyonu veya infeksiyonuna en az iki mekanizma ile zemin hazırladığı kabul edilmektedir.

1. Normal floranın süpresyonu ve çapraz bulaş yolu ile alınan VRE'ye duyarlılığın artması, VRE' nin hayatta kalması için selektif bir avantaj sağlaması.
2. VRE ile kolonize ya da infekte olan hastaların gaitalarındaki VRE konsantrasyonunun artması ve bulaş şansının artması (daha fazla VRE kontaminasyonu).

Enterokoklar intrensek olarak sefalosporinlere dirençlidir. Safrada ulaşılan yüksek sefalosporin konsantrasyonları ile üst gastrointestinal sistem florasını tamamen inhibe etmek ya da öldürmek mümkündür. Bu durum intrensek olarak dirençli olan enterokoklar (VRE dahil) için selektif bir avantaj sağlamaktadır. Diğer yandan piperasilin gibi antienterokokal bazı penisilinlerin VRE için koruyucu olabileceği düşünülmektedir. Bunun nedeni piperasilinin insanlarda standart dozlarda kullanımını takiben safrada 1000 µg/mL'yi aşan konsantrasyonlara

ulaşabilmesidir. Bu konsantrasyon bir çok VRE suşunun piperasilin için MİK değerini (256-1024 µg/mL) aşmaktadır ve VRE için koruyucu etki oluşturabileceği düşünülmektedir. Bu hipotez hayvan modellerinde test edilmiştir. Subkutan yolla 2 gün süreyle farklı antibiyotikler verilen farelere intragastrik VRE (100cfu) enjeksiyonu yapılmış ve gaita kültürleri 2-3 hafta süreyle yüksek düzey VRE kolonizasyonu yönünden takip edilmiştir. Bu deneyler sonucunda piperasilin-tazobaktamın yüksek düzey VRE kolonizasyonuna karşı koruyucu olduğu, tikarsilin-klavulanik asit ve seftriaksonun ise VRE kolonizasyonunu kolaylaştırdığı görülmüştür (37, 44, 45).

Anaerobik etkinliği olan antibiyotiklerin VRE kolonizasyonu üzerindeki etkilerini anlamak daha güçtür. Hem anaerobik hem de güçlü enterokokal etkiliği olan ampisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, sefoksitin, klindamisin, metranidazol gibi antibiyotikler VRE ile kolonize olmuş bir gastrointestinal sistemde bu kolonizasyonun uzun süreli olmasını sağlamaktadır. Bu hipotez bir başka hayvan modelinde test edilmiştir. İntragastrik yolla 10^6 cfu VRE enjeksiyonu yapılan ve gastrointestinal sistemlerinin VRE ile kolonize olması sağlanan farelerde bu kolonizasyonun 3 hafta sürdüğü saptanmıştır. VRE kolonizasyonunu takiben bu farelere farklı antibiyotikler verildiğinde güçlü anaerobik etkinliği olan antibiyotiklerin (ampisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, sefoksitin, metronidazol, tikarsilin-klavulanik asit, klindamisin) anaerobik etkinliği az olan antibiyotiklere (sefepim, aztreonam, seftriakson, siprofloksasin) oranla VRE kolonizasyonunun daha uzun süreli olmasına yol açtığı görülmüştür. Ancak klinik çalışmalarla kanıtlanana kadar hayvan deneylerinde elde edilen bu sonuçlara temkinli yaklaşmak gerekmektedir. Bazı klinik çalışmalarda geniş spektrumlu sefalosporinlerin piperasilin-tazobaktam gibi bir beta-laktamaz inhibitörü ile değiştirilmesinin enterokoklarda vankomisin direnç sıklığını azalttığı görülmüştür (37, 45).

2.9 VANKOMİSİNE DİRENÇLİ ENTEROKOKLARIN SAPTANMASI

Laboratuvar her şeyden önce hangi duyarlılık test yöntemini uygulayacağına, hangi antibiyotikleri test edeceğine, nasıl yorumlayacağına ve rapor edeceğine

karar vermelidir. Bu konuda bilimsel doğrulara, ÷lke gerçeklerine ve hastane Őartlarına uygun sağlıklı bir politika oluŐturulmalı ve uygulanmalıdır. Bu amaçla disk difüzyon, agar dilüsyon, sıvı dilüsyon ve E-test gibi bilinen duyarlılık yöntemlerinden birisi kullanılabilir (9).

Enterokoklardaki vankomisin direnci polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi kullanılarak da saptanabilir. PCR özellikle düşük düzeyde vankomisin direnci taşıyan enterokok suşlarındaki (VanC, VanB) direncin saptanmasında yararlı bir yöntemdir.

Vankomisin direncinin saptanmasında otomatize sistemler de kullanılabilmele beraber, özellikle VanB tipi direncin saptanmasında hepsi aynı derecede başarılı değildir.

VRE sayısındaki artış nedeniyle bu bakterinin insan ve hayvanlarda erken izolasyonunu sağlamak amacıyla vankomisin içeren besiyerlerine ihtiyaç duyulmaktadır. VRE kolonizasyonunun saptanmasında kullanılan standart bir yöntem olmamasına karşılık, enterokokosel-vankomisin buyyonu, beyin kalp infüzyon–vankomisin agar VRE' nin fekal örneklerde hızlı ve selektif izolasyonunu sağlayan yöntemler olarak göze çarpmaktadır. Enterokokosel sıvı besiyeri ve beyin kalp infüzyon agar ticari olarak bulunabilen besiyerleridir. Agar tarama yönteminin sensitivite (%96-99) ve spesifitesi (%100) yüksektir. Surveyans çalıŐmalarında hastalardan ve çevreden alınan kùltürler için 6mg/L vankomisin ve 4mg/L seftazidim içeren D-coccosel agara ekim yapılarak 37° C'de 24-72 saat süreyle inkübe edilmelidir. Selektif besiyerinde üreyen siyah renkli kolonilerden kanlı agara pasaj yapılarak tür düzeyinde identifiye edilmelidir. Negatif kùltürler birer hafta arayla en az üç kez tekrarlanmalı, *E. faecalis* ATCC 29212 suşu duyarlılığın, *E. faecalis* ATCC 51299 ise direncin kontrolünde kullanılmalıdır. CLSI önerilerine göre disk difüzyon yöntemiyle orta duyarlı olarak değerlendirilen izolatta mutlaka MİK alıŐması yapılmalıdır. Disk difüzyon ya da MİK değerlendirilmesinde inkübasyon süresi 24 saate tamamlanmalıdır (9).

Snell ve arkadaşları (1), düşük düzey vankomisin direncinin saptanmasında, yoğun vankomisin içeren disklerin duyarlılığı az olduğundan 5µg'lıkdisklerin

kullanılmasını önermektedir. Kohner ve arkadaşları (1) 5 µg/mL vankomisin içeren agar tarama testinde VanC fenotipi direncinin saptanamadığını, agar dilüsyon yönteminde "Brain-heart infusion" agar ile alınan sonuçların Mueller-Hinton agar' a göre daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir.

Ciddi enterokok infeksiyonlarında hücre duvarına etkili antibiyotiklerin sonuçları ne olursa olsun gentamisin veya streptomisine yüksek düzey direnç rapor edilmelidir. Eğer bu ajanlara direnç varsa sinerjistik etkiden bahsedilemez. Enterokoklarda aztreonam, sefalosporinler, klindamisin, metisilin veya oksasilin, trimetoprim-sulfametoksazol ve standart konsantrasyonlarda aminoglikozidler test edilmemesi gereken antibiyotiklerdir (9).

Tablo 5. Türkiye’de VRE bildirimleri (1)

Araştırmacılar	Tür	Fenotip	Özellikler
Başustaoğlu ve ark.	<i>E. faecium</i>	VanA	Kan kültürü
Başustaoğlu ve ark.	<i>E. faecium</i>	VanA	Pü
Ceryan ve ark.	<i>Enterococcus spp.</i> (n=5)		Sürveyans(n= 244)
Çırak ve ark.	<i>E. faecium</i> (n= 4) <i>E. faecalis</i> (n= 2)		Klinik örnekler (n= 60)
Öngen ve ark.	<i>E. faecium</i>	VanA	Santral venöz-katater
Torun ve ark.	<i>E. faecium</i>		Klinik örnekler (n= 111)
Vural ve ark.	<i>E. faecium</i>	VanA	Plevra sıvısı
Yüce ve ark.	<i>E. faecalis</i> (n= 5) <i>E. faecium</i> (n= 2) <i>E. gallinarum</i> (n= 1)		Yenidoğanlarda Sürveyans(n= 110)
Celkan ve ark.	<i>E. faecium</i> (n= 1) <i>E. faecium</i> (n= 2)		Kan kültürü Dışkı kültürü(n=2)
Gündeş ve ark.	<i>E. faecalis</i>	VanA	Kan kültürü
Fışkın ve ark.	<i>E. faecium</i> (n=1) <i>E. faecium</i>	VanA VanA	İdrar Rektal sürüntü
Baysallar ve ark.	<i>E. faecium</i>	VanA	BOS

2.10 ENTEROKOK İNFEKSİYONLARININ TEDAVİSİ

Enterokok infeksiyonlarının tedavisi oldukça zor ve karmaşıktır. Penisilin G, ampisilin, vankomisin ve teikoplanin gibi ilaçlar klinik olarak erişilebilir konsantrasyonlarda enterokokların çoğuna bakteriyostatik etkilidir (46) .

Bakteriyostatik etkili ilaçlar derin yerleşimli ve intravasküler olmayan enterokok infeksiyonlarının tedavisinde yeterlidir ve penisilin G veya ampisiline duyarlı enterokokların neden olduğu üriner sistem infeksiyonları, peritonit ve yara infeksiyonları gibi durumlarda tek başlarına yeterli tedavi sağlarlar. Eğer bu hastalarda penisilin allerjisi ya da yüksek düzey penisilin direnci varsa glikopeptidler alternatif ajan olarak kullanılabilir (46) .

Tetrasiklinler, özellikle doksisisiklin ve minosiklin enterokok suşlarına etkilidir. Çoğu enterokok suşu kloramfenikole duyarlıdır (46) .

1950'li yıllardan itibaren enterokokların neden olduğu bakteriyel endokarditin penisilin ile tedavisinde yaşanan güçlükler, bakterinin glikopeptidlerin ve beta-laktam antibiyotiklerin bakterisidal etkisini tolere etmesi yüzündendir. Bu yüzden endokardit, menenjit gibi hastalıkların tedavisinde bakterisidal sinerji oluşmasını sağlamak amacıyla aminoglikozidlerle beta-laktam yada glikopeptidler kombine olarak kullanılmalıdır. Bu sinerji yüksek düzey beta-laktam, glikopeptid ya da aminoglikozid direncinin olması durumunda kaybolmaktadır. Tek başına penisilin G veya ampisilin tedavileri ile enterokok endokarditlerinde kür oranı %50' nin altındadır. Kombine tedavide ise kür oranı %70-80'dir. Eğer hastada penisilin allerjisi ya da yüksek düzey penisilin direnci varsa glikopeptidler aminoglikozitlerle kombine edilmelidirler. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci, ampisilin direnci ve hızla yayılan vankomisin direnci tedavi alternatiflerini kısıtlamaktadır (38, 46) .

Hem streptomisin hem de gentamisine yüksek düzeyde dirençli suşların etken olduğu endokardit ve menenjitlerde kombinasyon tedavisinde sinerjistik etki sağlanamaz ve en iyi tedavi seçeneğinin ne olduğu tam olarak bilinmemektedir.

Endokarditlerde daha uzun süreli (8-12 hafta) yüksek doz ampisilinin tek başına sürekli infüzyonu yararlı olabilir. Glikopeptid antibiyotikler de tek ilaç olarak enterokokal endokarditlerin tedavisinde kullanılmaktadır (38, 46).

Enterokoklarda beta-laktamaz üretimi sık olmasa da tesit edilebilir. Üretilen beta-laktamaz penisilinaza dirençli yarı sentetik penisilinler ve beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara karşı etkisizdir. Böyle suşların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde imipenem ve beta-laktamaz inhibitörleri ile penisilinlerin kombine olduğu ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulanik asit ve piperasilin-tazobaktam gibi ilaçlar kullanılabilir. Ayrıca vankomisin ve teikoplanin' de alternatif olarak kullanılabilir (38, 46).

Yüksek düzeyli penisilin dirençli suşlarda penisilin-aminoglikozid kombinasyonu ile sinerjistik etki sağlanabilmesi için, serum penisilin konsantrasyonunun MİK değerinin iki katı olması gereklidir. Ancak yüksek düzeyli aminoglikozit direnci varsa penisilinlerin MİK değerine bakılmaksızın tedavi olanaksız hale gelir (38, 46).

Vankomisine dirençli *E. faecium* infeksiyonları mortalite ve morbidite artışı ile birlikte ve standart tedavi seçenekleri olan ilaçların hepsine yüksek düzeyde direnç gösterir (38, 46).

VRE izole elden hastalarda tedaviye başlamadan önce kolonizasyon-infeksiyon ayırımı yapılmalıdır. Lokal veya sistemik infeksiyon bulgusu olmayan hastada yüzeysel alanlardan, değiştirilen intravasküler kataterlerden, intraperitoneal ve safra drenlerinden ve pyüri olmadan idrardan VRE izole edildiğinde kolonizasyon olarak değerlendirilmeli ve tedavi edilmemelidir (46).

Vankomisine dirençli *E. faecalis* infeksiyonları penisiline alerjisi olmayan hastalarda ampisilin ile tedavi edilebilir (38, 46).

Vankomisine dirençli *E. faecium* (VREF) suşları ise penisilin ve ampisiline daha dirençlidir. Ampisilinin sulbaktam ile kombinasyonu ya da yüksek doz ampisilin endokarditlerin de yer aldığı VRE infeksiyonlarında başarı ile kullanılmıştır (38, 46).

Teikoplanin VanB tipi VRE' lerin çoğuna etkilidir. Eğer yüksek düzey aminoglikozid direnci yoksa bir aminoglikozid ile kombine kullanılabilir (20, 38, 46).

Eğer VRE infeksiyonunda ampisiline karşı yüksek düzeyde direnç gözlenirse alternatif olarak denenecek antimikrobialler tetrasiklin, kloramfenikol, florokinolonlar, novobiyosin ve idrar yolu infeksiyonları için nitrofurantoin olmalıdır (38, 46).

Kloramfenikol çoğul ilaç dirençli *E. faecium*'un birçok kökenine karşı invitro aktivitesi bulunan ajanlardan biridir (20). VRE menenjitinde tek başına 21 gün süreli kloramfenikol tedavisi ile klinik ve bakteriyolojik olarak kür sağlamıştır (46).

Yeni kinolonlar, klinafloksasin ve sitafloksasin VRE' lere karşı eski kuşak kinolonlara göre daha etkilidir (38, 46).

Novobiyosin invitro olarak VRE'ye etkili bulunmuştur. Novobiyosin, siprofloksasin ya da ofloksasin ile birlikte kullanıldığında bakterisidal sinerjistik etki sağlanmıştır. Nitrofurantoin birçok VRE izolatına etkilidir ve alt üriner sistem infeksiyonlarında kullanılabilir (20, 38, 46). Siprofloksasin ve diğer kinolonlar enterokoklara karşı orta derecede aktiviteye sahiptir. Bu ilaçların klinik kullanımı üriner sistem infeksiyonları ile sınırlıdır. Levofloksasin gibi yeni kinolonlar enterokoklara siprofloksasinden daha etkilidir. Ancak siprofloksasin dirençli enterokok suşlarına karşı bu ilaçlarında etkinliği sınırlanmaktadır (46) .

Tetrasiklin bazı VRE izolatlarına etkilidir. Doksisiklin ve minosiklin diğer ajanlarla VRE infeksiyonlarında kullanılabilir (20, 38, 46).

Kinupristin-dalfopristin gram pozitif bakterilere etkili yarı sentetik streptogramindir. *E. faecalis*'e etkinliği yoktur. *E. faecium*'a bağlı VRE infeksiyonlarının tedavi edildiği bir çalışmada %83 klinik, %74 bakteriyolojik kür sağlanmıştır (20, 38, 46).

Linezolid, oksazolidon sınıfından sentetik bir antibiyotiktir. Vankomisine dirençli *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında karşı bakteriyostatik etkilidir. Oral kullanıldığında da etkilidir. Linezolidin endokardit ve menenjit gibi bakterisidal tedavi gerektiren infeksiyonlardaki etkinliğine ilişkin yeterli veri yoktur (38, 46).

Bir lipopeptid olan daptomisin invitro olarak VREF dahil tüm enterokoklara tek başına bakterisidal etkilidir (38,46). Ancak ileri derecede toksik etkileri invivo kullanımlarını engellemektedir (20).

LY33328 (oritavancin) VRE, MRSA ve GISA ve streptokoklara in vitro etkili semisentetik bir glikopeptitir. Bu ajan bir vankomisin analogu olan LY 264826' nın semisentetik derivesidir (38, 46).

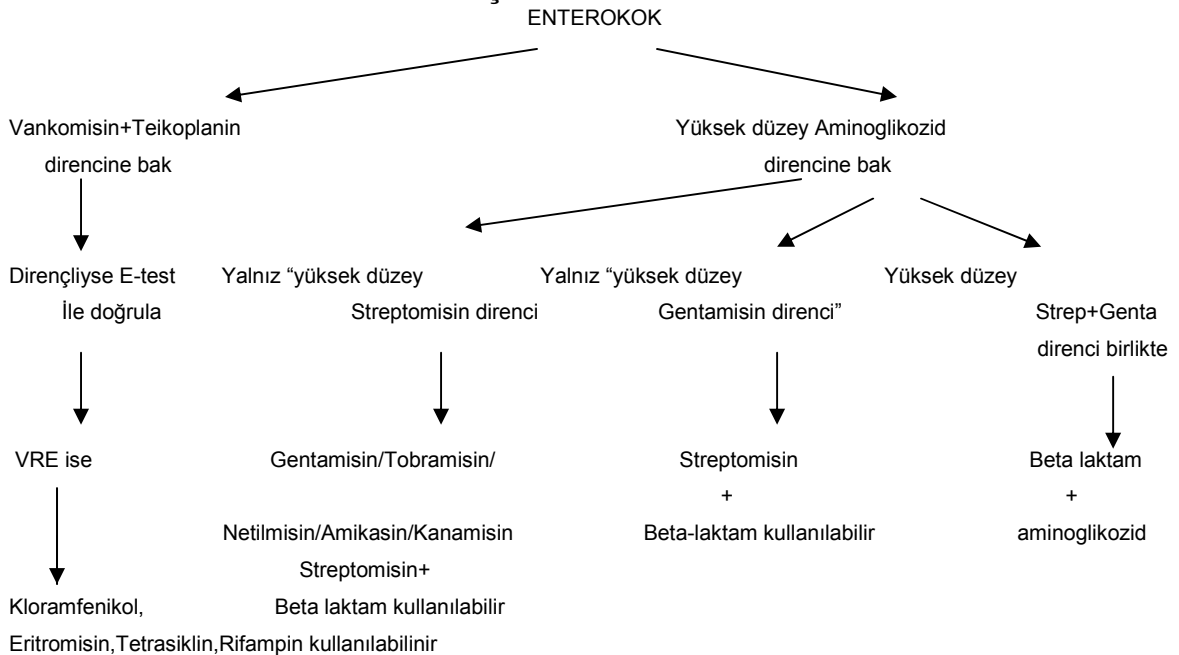
Glisilsiklinler olarak bilinen tetrasiklin türevleri çoklu ilaç direnci gösteren suşlar da dahil olmak üzere enterokoklara invitro etkilidir. Özellikle tigesiklin (GA936) VRE 'ye karşı linezoliden 8, kinupristin-dalfopristinden 32 kat daha fazla etkili olduğu invitro çalışmalarda gösterilmiştir. Yine glisilsiklin olan CL331002 ve CL344672 kodlu iki bileşik ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (38, 46).

Ramoplanin Actinoplanes 'den elde edilen teicoplanin benzeri yeni bir glikopeptitdir. Ancak toksisitesi nedeniyle klinik kullanıma uygun değildir (38, 46).

Yeni bir makrolid derivesi sınıfı olan ketolidler güçlü gram pozitif aktiviteye sahiptir (38).

Rifampin tek başına enterokokal infeksiyonların tedavisinde yetersiz iken, diğer ajanlarla kombine edilmesi durumunda dirençli enterokoklara etkili olabilmektedir (38).

Tablo 6. Enterokoklarda Tedavi Seçenekleri



2.11 VRE RİSK FAKTÖRLERİ VE BULAŞ YOLLARI

Enterokokların gastrointestinal sistem ve genital sistem normal mukozasında bulunması risk faktörü altındaki hastalarda endojen infeksiyonların gelişmesiyle ilişkili olmakla beraber en önemli risk faktörü vankomisin kullanımınıdır. Vankomisin, barsak ekosisteminde bulunan gram pozitif bakterilerin üremesini inhibe ederek, VRE suşlarına üremeleri için avantaj sağlar. VRE dahil tüm enterokoklar hastadan hastaya direkt olarak ya da kontamine eller, kontamine yüzeyler, kontamine tıbbi cihazlar vasıtasıyla indirekt olarak bulaşabilir (1, 29, 38, 42, 47). Özet olarak VRE risk faktörleri hastaya ait faktörler, hastaneye ait faktörler ve antibiyotik kullanımı şeklinde gruplandırılmıştır

Hastaya Ait Faktörler:

- Kronik böbrek yetmezliği
- Malignite
- Nötropeni
- Diabetes mellitus
- İntraabdominal cerrahi
- Organ transplantasyonu (özellikle karaciğer ve kemik iliği)
- APACHE II skorunun yüksekliği (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation)
- Gastrointestinal kolonizasyon
- Üriner ve vasküler kateter varlığı

Hastaneye Ait Faktörler:

- Hastanede yatış süresinin uzun olması
- Yoğun bakım, diyaliz, transplantasyon, hematoloji-onkoloji ünitelerinde yatış
- VRE ile kontamine tıbbi aletlere maruziyet
- VRE'li hastalar ya da sağlık personeli ile temas
- Antineoplastik tedavi uygulanması
- Sukralfat kullanımı

Antibiyotik Kullanımı

- Vankomisin

- 2. ve 3. kuşak sefalosporinler
- Metronidazol
- Klindamisin
- İmipenem
- Tikarsilin - klavulanik asit
- Aminoglikozidler
- Diğer antibiyotikler (Aztreonam, siprofloksasin)

Tablo 7. Ülkemizde 1997 yılı ilk 10 ayında kullanılan glikopeptidler (2)

Glikopeptid	Doz(kutu)	Birim fiyatı(US\$)	Toplam(US\$)
Vankomisin	67 000	24.3	1 600 000
Teikoplanin	26 000	26.3	700 000
Toplam	93 000		2 300 000

Tablo 8. Ülkemizde 1997 yılı ilk 10 ayında kullanılan III. ve IV. Kuşak parenteral sefalosporinler (2).

Sefalosporin	Sağaltım dozu (x bin kutu) U	Birim fiyatı (S\$)	Toplam (S\$)
Sefodizim	33	17.6	600 000
Sefoperazon	31	13.5	400 000
Sefotaksim	572	8.1	4 600 000
Seftizoksım	96	12.8	800 000
Seftriakson	1 096	10.8	12 200 000
Seftazidim	208	10.1	2 100 000
Sefoperazon/Sulbaktam	234	18.6	4 300 000
Sefepim (IV)	261	20.3	5 300 000
Toplam	3 350		30 300 000

Tablo 9. Ülkemizde 1997 yılı ilk 10 ayında kullanılan I. ve II. kuşak parenteral sefalosporinler. Parantez içindeki rakamlar kuşakları ifade etmektedir (2).

Sefalosporin	Sağaltım dozu (x bin kutu)	Birim fiyatı (S\$)	Toplam (S\$)
Sefradin (I)	6	4.7	27 000
Sefalotin (I)	6	4.5	27 000
Sefazolin (I)	655	33	21 600 000
Sefuroksim (II)	66	6.8	400 000
Sefoksitin (II)	376	6.8	2 500 000
Toplam	1 109		24 600 000

Tablo 10. Ülkemizde 1997 yılı ilk 10 ayında kullanılan antibiyotiklerAntibiyotikler kutu birim bazında listelenmiştir. Parenteral kullanım miktarları tek uygulanımlık miktarlardır (2).**

Geniş spektrumlu oral penisilinler	23 722 400
Orta/dar spektrumlu penisilinler	17 867 300
Makrolidler	15 564 900
Aminoglikozidler	24 587 600
İnjektabl sefalosporinler	10 418 500
Geniş spektrumlu penisilinler	7 518 100
Oral sefalosporinler	4 735 600
Oral florokinolonlar	3 328 500
Amfenikoller	2 872 600
Diğer antibiyotik grupları	4 549 600
Toplam	115 165 100

2.12 KORUNMA VE KONTROL ÖNLEMLERİ

VRE yayılımının önlenmesi ve korunma amaçlı olarak oluşturulan rehberler arasında en çok kabul gören HICPAC' tır. VRE geçişinin önlenmesinde ve kontrolünde HICPAC tarafından önerilen izolasyon önlemleri şunlardır (1, 38, 42, 47).

* VRE ile infekte ya da kolonize hastaların tek kişilik odalara ya da diğer VRE pozitif hastalarla aynı odaya alınması

* Hasta ile veya hasta odasındaki yüzeylerle temasın fazla olmasının beklendiği durumlarda, hastada idrar veya gaita inkontinansı olması, ileostomi, kolostomi veya açık yara drenajı varlığında VRE pozitif hastanın odasına girerken steril olmayan temiz önlük giyilmesi. Bazı merkezlerde bu öneri VRE pozitif her hastanın odasına girerken önlük giyilmesi şeklinde modifiye edilerek uygulanmaktadır.

* Eldiven ve önlüğün hastanın odasını terk etmeden hemen önce çıkarılması ve ellerin antiseptikli bir sabunla ya da su içermeyen antiseptik ajanlarla yıkanması, eldiven ve önlük çıkarılıp eller yıkandıktan sonra odadaki yüzeylerin hiçbirleriyle temas edilmemesi.

Ayrıca VRE pozitif hastalar için kullanılan stetoskop, tansiyon aleti, rektal termometre gibi aletlerin diğer hastalara kullanılmaması, odalar arası eşya transferi yapılmaması önerilmektedir. Bu gibi durumlarda mutlaka temizlik ve dezenfeksiyon yapılmalıdır.

HICPAC önerilerinde özellikle şu noktalar önemle vurgulanmaktadır;

- * Uygun vankomisin kullanımı
- * Hastane personelinin eğitimi
- * Mikrobiyoloji laboratuvarlarının etkin kullanımı
- * Kontrol önlemlerinin uygulanması

Uygun Vankomisin Kullanımı

Vankomisin Streptomyces orientalis'ten elde edilen, 1450 dalton molekül ağırlıklı bir glikopeptittir. Etkisini bakteri hücre duvar yapımını bozarak gösterir. Esas olarak gram pozitif koklara ve Clostridium' lara etkilidir. Gram negatif basillere ve bakteri dışı mikroorganizmalara etkisizdir.

Vankomisin kullanımının VRE infeksiyonu ve kolonizasyonu için en önemli risk faktörü oluşturduğu bilinmektedir. Bu yüzden vankomisin kullanımının uygun olduğu ve olmadığı durumlar HICPAC tarafından belirlenmiştir (47).

Vankomisin Kullanımının Uygun ya da Kabul Edilebilir Olduğu Durumlar

- * Beta-laktam antibiyotiklere dirençli gram pozitif mikroorganizmaların neden olduğu ciddi infeksiyonlar
- * Beta-laktam antibiyotiklere ciddi alerjisi olan kişilerde gram pozitif mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonlar
- * Metronidazole yanıt vermeyen veya çok ağır seyreden antibiyotiğe bağlı ishal olguları
- * "American Heart Association" önerilerine uygun olarak infektif endokardit profilaksisi
- * MRSA veya MRSE infeksiyonlarının oranının yüksek olduğu merkezlerde protez cihaz implantasyonu içeren majör cerrahi girişimler (kardiyak veya vasküler girişimler, total kalça replasmanı vb.) öncesindeki profilaksi. Anestezi indüksiyonu

sırasında tek doz yapılmalı, altı saatten uzun süren operasyonlarda ikinci bir doz verilmelidir. Maksimum iki dozdan sonra profilaksi sonlandırılmalıdır.

Vankomisin Kullanımından Kaçınılması Gereken Durumlar

- * Rutin cerrahi profilaksi
- * Febril nötropenik hastaların ampirik tedavisi, sadece MRSA prevalansının yüksek olduğu hastanelerde ve febril nötropeni epizodunun başlangıcında, gram pozitif infeksiyon şüphesinin yüksek olduğu durumlarda (katater giriş yerinde inflamasyon vb.) ampirik vankomisin tedavisi önerilebilir.
- * Diğer kan kültürlerinin negatif olduğu durumlarda kan kültüründeki tek bir MRSE üremesinin tedavisi.
- * Ampirik olarak başlanan vankomisin tedavisine kültürde beta-laktam dirençli mikroorganizma izole edilmemiş olmasına rağmen devam edilmesi.
- * Periferik ya da santral vasküler kateteri olan hastalarda kolonizasyon veya infeksiyon gelişimini önlemek amacıyla profilaktik kullanım.
- * Gastrointestinal sistemin selektif dekontaminasyonu.
- * Antibiyotiğe bağlı ishal vakalarının primer tedavisi.
- * MRSA kolonizasyonunun eradikasyonu.
- * Düşük doğum ağırlıklı bebeklere rutin profilaksi.
- * Devamlı ambulatuar periton diyalizi veya hemodiyaliz uygulanan hastalarda rutin profilaksi
- * Böbrek yetmezliği olan hastalarda beta-laktam antibiyotiklere duyarlı infeksiyonların tedavisi
- * Vankomisin içeren solüsyonların irrigasyon amacıyla ya da topikal olarak uygulanması

Eğitim Programı

VRE yayılımının önlenmesinde eğitim programları büyük önem taşımaktadır. Devamlı eğitimin hemşire, laboratuvar personeli, eczacı, konsültan ve asistan doktorlar, öğrenciler, temizlik işlerinden sorumlu personel ve hasta bakımı ile ilgili tüm personeli kapsayacak şekilde verilmesi gerekir. Eğitim programında öncelikle

VRE' nin neden olduğu maliyet ve tedavi güçlüğü açıklanmalı, ayrıca VRE epidemiyolojisi ve kontrol yöntemleri hakkında bilgi verilmelidir.

VRE ' lerin Tespiti, Raporlanması ve Kontrolünde Mikrobiyoloji

Laboratuvarlarının Rolü

Mikrobiyoloji laboratuvarları VRE' ye karşı mücadelede ilk basamak kabul edilirler. VRE ile kolonize ya da infekte olguların erken tespiti, identifikasyon ve duyarlılık sonuçlarının hızlı ve doğru bir şekilde verilmesi, kontrol önlemlerinin erken alınmasına ve yayılımın önlenmesine yardımcı olmaktadır. VRE' nin bir kez izole edildiği her hastanede tüm örneklerde üreyen enterokokların vankomisin duyarlılığı yönünden test edilmesi gereklidir.

Daha önceki yıllarda sadece kan, idrar ve diğer steril vücut sıvılarında VRE üremesi göz önüne alınır iken, VRE salgınlarında izolatların sadece yarısının bu örneklerden izole edildiği görülmüştür. Diğer yarısının izolasyon yerlerinin dışkı, boğaz, göbek çevresi, perianal bölge gibi vücudun diğer bölgeleri olması mikrobiyoloji laboratuvarlarının herhangi bir klinik örnekte enterokok izole ettiğinde tür tayini ve antibiyotik duyarlılık testlerini yapmasını gerektirmektedir.

Mikrobiyoloji laboratuvarları enterokokları tür düzeyinde tanımlayabilmelidir. *E. fecalis* ya da *E. faecium* tanımlaması tedavi yönlendirmede çok önemlidir. Tür düzeyinde tanımlama geleneksel ve/veya otomatize identifikasyon yöntemleri ile doğru olarak yapılabilirdir. Laboratuvar sadece otomatize sistemlere güvenmemelidir ve moleküler yöntemlerle sonuç doğrulanmalıdır. Özellikle VanB fenotipini saptamada otomatize sistemlerin duyarlılıkları düşüktür. Direnç genlerinin hızlı yayılım riski nedeniyle, direnç profillerini çok iyi değerlendirmemiz gerektiğinden, VRE izolasyonu olduğunda suş saklanmalı ve diğer merkezlerle ilişkiye girerek verilerini tartışmaya açmaktan kaçınmamalıdır.

2.13 VRE' LERİN ENDEMİK OLDUĞU VEYA VRE YAYILIMININ BELİRTİLEN TÛM ÖNLEMLERE RAĞMEN DEVAM ETTİĞİ HASTANELER İÇİN HICPAC' IN ÖNERİLERİ

- * Kontrol çalışmalarının öncelikle yoğun bakım ünitelerinde ve VRE yayılımının en hızlı olduğu servislerde yoğunlaştırılması
- * Mümkünse VRE pozitif hasta grubuna bakım veren sağlık personelinin VRE negatif olanlara bakım vermesinden kaçınılması
- * VRE' nin kontrol altına alınamadığı durumlarda personelin kronik cilt ve tırnak problemleri yönünden incelenmesi.
- * Epidemiyolojik olarak VRE yayılımı ile ilişkisi olduğu saptanan taşıyıcı personel, taşıyıcılık durumu sonlanana kadar VRE negatif hastalara bakım vermemesi
- * VRE pozitif hastaların yattıkları odalardaki yüzeylerin ve eşyaların temizliğine, dezenfeksiyonuna önem verilmesi.

Henüz VRE saptanmamış hastanelerde ise, VRE' nin en önemli rezervuarı GİS olduğundan hastane infeksiyonlarını önlemeye yönelik standart kuralların yanı sıra, özellikle riskli servislerde yatan hastalardan periyodik olarak rektal kültürler alınmalıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalında Mart 2005-Aralık 2006 tarihleri arasında yapılmıştır. VRE için risk grubu olarak tarif edilen Cerrahi ve Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi, erişkin Onkoloji-Hematoloji, Pediatrik Onkoloji bölümlerinde yatmakta olan toplam 180 hasta çalışmamıza dahil edilmiştir. Bu hastalardan ayda bir kez olmak üzere rektal sürüntü örnekleri alınarak olası VRE kolonizasyonu araştırılmıştır. Tür düzeyinde tanımlanan, antibiyogram ve E-test sonuçlarına göre dirençli olarak bulunan 4 suş genotiplendirme amacı ile Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesine gönderilmiştir. Genotiplendirmede PCR yöntemi kullanılmıştır.

3.1 Örneklerin alınması, ekimi ve identifikasyonu

Rektal sürüntü örnekleri steril eküvyonlar kullanılarak alındı ve Carry-Blair transport besiyeri ile taşındı. Örnekler bekletilmeden safra-eskülin agar plaklarına ekildi. 35°C' de, 24 saat inkübe edildi. Safra-eskülin agarda üreyen siyah renkli şüpheli kolonilere öncelikle gram boyaması yapıldı. Daha sonra katalaz, PYR ve %6.5 NaCl'de üreme testleri yapıldı. Sonuçları enterokok için olumlu kolonilerin pasajları yapılarak saf kültürleri elde edildi. Tür düzeyinde tanımlama ve antimikrobiyal hassasiyeti belirlemek amacıyla Miniapi (bioMerieux, Fransa) cihazına alındı. Tür düzeyinde tanımlama için Rapid ID 32 Strep (bioMerieux, Fransa) antimikrobiyal hassasiyet için ATB Enterokok (bioMerieux, Fransa) kitleri kullanıldı. Vankomisine orta derecede duyarlı ve dirençli olarak bulunan suşlara Brain-Heart infüzyon agar besiyerinde, E-test yöntemiyle tekrar duyarlılık testi yapılarak MİK değerleri bakıldı.

3.2 Safra-eskülin testi (Oxoid, İngiltere): Bile aesculin agar toz halinde alındı. Üretici talimatlarına göre hazırlanarak plaklara döküldü. Bu besiyerine örneklerin ekimi yapıldı ve 35°C' de 24 saat inkübe edildi. Besiyerinde eskülinin hidroliz

edilmesi sonucu oluşan siyah renkli koloniler enterokok açısında değerlendirilmek üzere işleme alındı.

3.3 Gram boyama: Şüpheli koloniye gram boyaması yapıldı ve incelemede gram pozitif, tekli, ikili ya da zincir yapan bakteriler görüldüğünde diğer testlere geçildi.

3.4 Katalaz testi: Enterokok olduğu düşünülen koloni lama konuldu ve üzerine %3'lük hidrojen peroksitten damlatıldı. Kabarcıklar oluşmaması katalaz negatif reaksiyon olarak değerlendirildi.

3.5 % 6.5 'luk NaCl üreme testi: Besiyeri laboratuvarımızda Müller-Hinton buyyon sıvı besiyerine NaCl ilave edilerek hazırlandı. Şüpheli koloni besiyerine ekildi ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Bulanıklık oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

3.6 PYR testi (Oxoid, İngiltere): PYR testi PYR'az aktivitesini tespit etmek için hazırlanmış kolorimetrik bir testtir. PYR testi ticarettten hazır olarak alındı. Test kartları üzerine araştırılacak saf koloniden 1-2 tanesi konularak üzerine 1 damla buffer solüsyonu damlatıldı. Beş dakika oda sıcaklığında beklendi ve üzerine 1 damla developing solüsyon damlatıldı. Oda sıcaklığında 20 dakika beklendikten sonra oluşan menekşe renk pozitif reaksiyon olarak değerlendirildi.

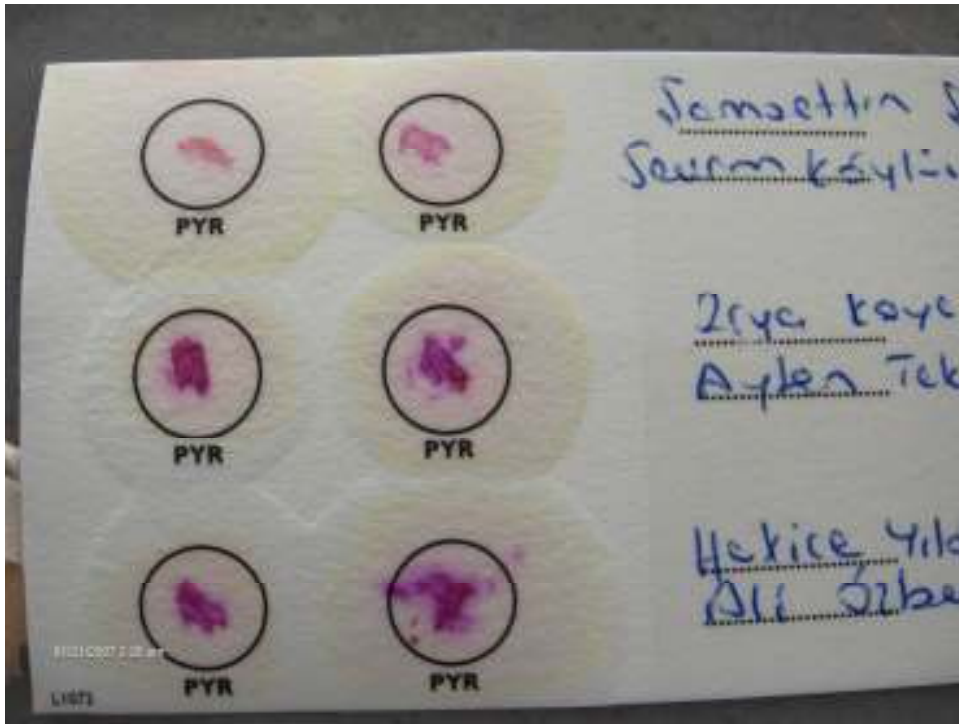
3.7 Mini Api cihazı (bioMerieux, Fransa): Enterococcus spp. olarak belirlenen bakteriler tür düzeyinde identifikasyon ve vankomisine hassasiyet profillerini incelemek amacıyla mini api cihazına alındı. Rapid ID 32 Strep (bioMerieux,Fransa) kitleri tür düzeyinde identifikasyon, ATB Enterokok (bioMerieux, Fransa) kitleri antimikrobiyal hassasiyet testleri için kullanıldı.

3.8 Brain-heart infüzyon agar (Merck, Fransa):Brain-heart infüzyon (BHI) agar toz olarak alındı ve üretici firmanın talimatları doğrultusunda hazırlanarak petri plaklarına döküldü. Antibiyogram testinde vankomisin dirençli olarak çıkan sonuçları doğrulamak amacı ile yapılan E-test yönteminde besiyeri olarak kullanıldı.

3.9 E-test yöntemi (AB Biodisk): Vankomisin dirençli olarak bulunan *E.faecium* suşlarının MİK değerlerini tespit etmek amacıyla yapıldı. E-test yöntemi yayılım temeline dayanan, diskler yerine plastik stripler kullanılan bir yöntemdir. Plastik

stripin bir tarafında ilaç belirli ve sürekli bir konsantrasyon değişimi olacak şekilde kurutulmuş olarak bulunur. Diğer tarafında antimikrobiyal ajanın stripin ucundan olan uzaklığa karşılık gelen konsantrasyonları bir cetvel gibi sıralanmıştır. 0.5 Mc Farland yoğunluğuna göre hazırlanan bakteri süspansiyonları BHI agar yüzeyine inoküle edilerek üzerine vankomisin E-test stripi yerleştirildi. 35°C' de 24-48 saatlik inkübasyon sonrası besiyerinde oluşan elipsin stripi kestiği nokta MİK değeri olarak okundu. MİK değerleri CLSI'nın önerileri doğrultusunda değerlendirildi.

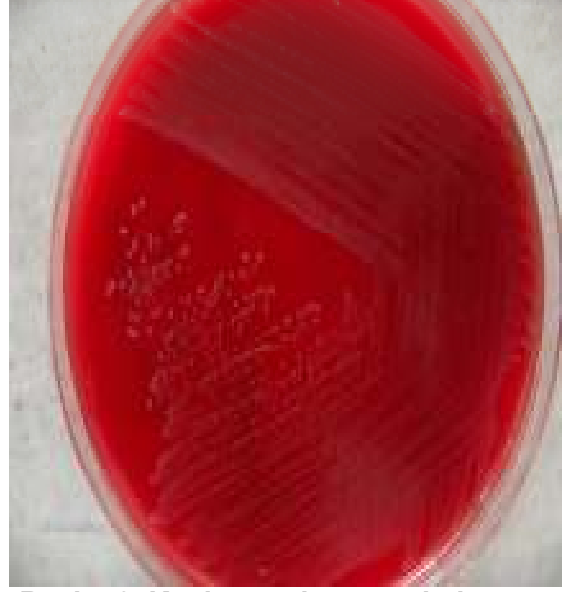
3.10 Nitrosefin (Remel, ABD) Diski: Beta-laktamaz üretimini araştırmak için kullanıldı. Ticaretten hazır olarak alındı. Diskler bir öze dolusu distile su ile nemlendirildi ve üzerine şüpheli saf koloniden 1-2 tane konuldu. Rengin mora dönüşmesi test prosedürüne göre pozitif olmakla beraber bizim suşlarımızda sonuçlar negatif olarak bulundu. Pozitif kontrol olarak *S. Aureus* ATCC® 25923 kullanıldı.



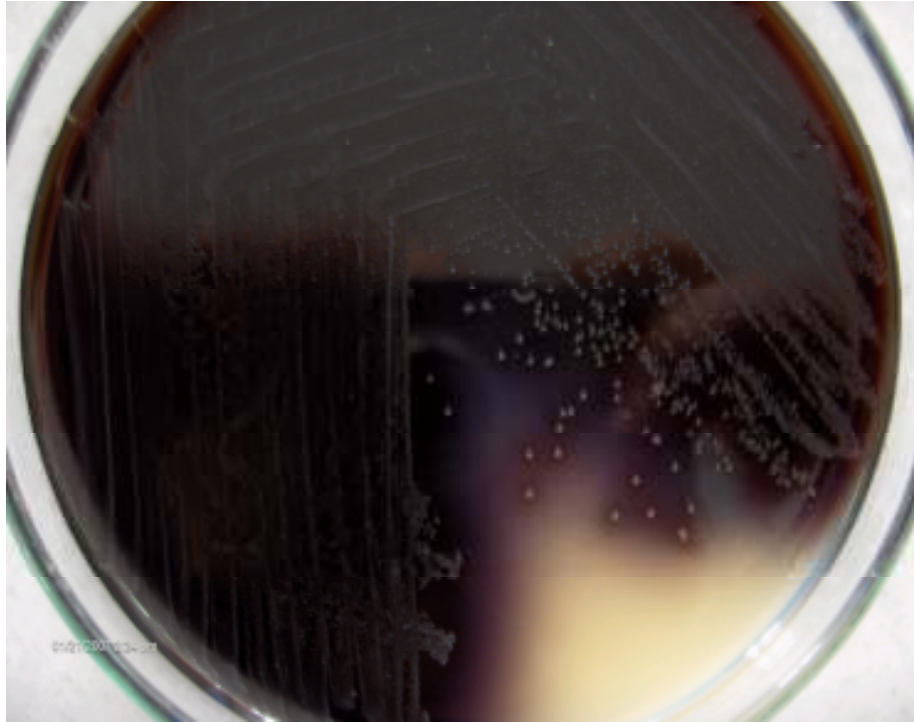
Resim 1. Pozitif PYR testi (çalışmadan)



Resim 2. E-test (alıřmadan)



Resim 3. Kanlı agarda enterokok kolonisi (alışmadan)



Resim 4. Safra eskülin agarda enterokok görüntüsü (alıřmadan)

4. BULGULAR

Erişkin Onkoloji-Hematoloji, Cerrahi, Dahili Yoğun Bakım ve Pediatrik Onkoloji Ünitelerinde yatmakta olan toplam 180 hastadan rektal sürüntü örneği alındı. Kültür sonuçlarına göre 180 örnekten 126 (%70) tanesinde enterokok üredi. Tür düzeyinde yapılan tanımlama sonucunda 53 suş (%42.06) *E. faecium*, 39 suş (%30.95) *E. faecalis*, 15 suş (%11.90) *E. avium*, 10 suş (%7.93) *E. gallinarum*, 7 suş (%5.55) *E. casseliflavus*, 1 suş (%0.79) *E. hirae*, 1 suş (%0.79) *E. durans* olarak belirlendi. Toplam 4 (%3.17) hastanın VRE ile kolonize olduğu tespit edildi. *E. faecium* olarak tanımlanan 4 suş antibiyogram ve E-test sonuçlarına göre vankomisine dirençli olarak bulundu (MİK>256 mg/ml). PCR yöntemi ile genotiplendirmesi yapılan suşlar VanA genotipi olarak bulundu. Nitrosefin diski ile beta-laktamaz üretimi araştırılması yapıldı ve suşlarda beta-laktamaz üretimi saptanmadı.

Tablo 11. Çalışmada izole edilen Enterokok suşlarının türlere göre dağılımı

TÜR	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. avium</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. hirae</i>
SAYI	53	39	15	10	7	1	1
YÜZDE	%42.06	%30.95	%11.90	%7.93	%5.55	%0.79	%0.79

Tablo 12. Rektal sürüntü kültürlerinde üreyen enterokokların izole edildikleri kliniklere göre dağılımı.

KLİNİK	SÜRÜNTÜ ALINAN HASTA SAYISI	ÜREYEN ENTEROKOK
DYBÜ	33	24
CYBÜ	34	29
ONKOLOJİ-HEMATOLOJİ	77	46
PEDİATRİK ONKOLOJİ	36	27
TOPLAM	180	126

DYBÜ: Dahiliye yoğun bakım ünitesi, CYBÜ: Cerrahi yoğun bakım ünitesi

5. TARTIŞMA

Enterokoklar düşük virülanslı bakteriler olmalarına rağmen, sahip oldukları plazmid ve transpozonlar sayesinde son yıllarda belirgin bir şekilde kazanılmış direnç geliştirmiştir. Bunlar arasında en önemlilerinden biri yüksek düzey glikopeptid direncidir (6). Özellikle üzerinde durulması gereken, hareket edebilen diğer bir deyişle aktarılabilen ve VRE'lerde bulunan direnç genlerinin *Staphylococcus aureus* gibi diğer gram pozitif mikroorganizmalara transfer edilebilmesidir (9).

Hastanede yatan hastalarda dirençli enterokok kolonizasyonunun erken tespiti, enterokokal infeksiyonların kontrolünde oldukça önemlidir. Dışkı ya da rektal sürüntü kültürleri ile kolonizasyonun erken ortaya çıkarılması infeksiyonun yayılımını önlemektedir (1, 10, 38, 42).

VRE kolonizasyonunu erken tespit etmek amacı ile yaptığımız sürveyans çalışması hastanemizde ilk kez yapılmaktadır. VRE için risk grubu olarak tarif edilen yoğun bakım, hematoloji-onkoloji bölümlerinde yatmakta olan 180 hasta çalışmamıza dahil edilmiştir. Rektal sürüntü örneklerinin kültür sonuçlarında 126 hastada enterokok kolonizasyonu saptanmıştır (%70). Kolonize olan hastaların 4 tanesinde VRE tespit edilmiş ve bu hastaların tedavi amacı ile uzun süredir immunsupressif ajanlar, vankomisin, 2. ve 3. kuşak sefalosporin, aminoglikozid aldığı öğrenilmiştir. Hastalarımızda tespit edilen VRE kolonizasyonunun tedavide kullanılan bu ilaçlarla ilişkili olarak geliştiği düşünülmektedir. İmmunsupressif ilaçlar, vankomisin ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ile VRE kolonizasyonu arasındaki ilişki birçok araştırma ile gösterilmiştir.

İsrail'de yapılan bir çalışmada, VRE kolonizasyonu yoğun bakım ünitesinde 61, diyalize giren 92 hastada araştırılmıştır. Yoğun bakım ünitesindeki hastaların 14'ünde (%23), diyalize giren hastaların 4'ünde (%4.3) VRE kolonizasyonu saptanmıştır. Her iki grup hastanın da uzun süreli antibiyotik (özellikle vankomisin) kullandığı tespit edilmiştir (48). Ostrowsky ve arkadaşları (49) cerrahi yoğun bakım ünitesinde VRE kolonizasyonunu %12 olarak bulmuş ve risk faktörleri

olarak ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporin kullanımı, uzun süre hastanede yatış, solid organ transplantasyonu, yoğun bakım ünitesinde yatışı tespit etmişlerdir. Avustralya'da yapılan bir çalışmada nefroloji, onkoloji ve yoğun bakım ünitelerinde yatan 574 hastanın rektal sürüntü kültürlerinde 12 VRE bulunmuş ve hastalardan dokuz tanesinin vankomisin, üç tanesinin ise 3. kuşak sefalosporin tedavisi aldığı tespit edilmiştir (50). Vankomisin kullanımının sınırlandırıldığı bazı merkezlerde VRE kolonizasyon ve infeksiyonlarının azaldığı görülmüştür. Kolar ve arkadaşları (51) yaptıkları bir çalışmada 1998 yılında %15.1 olan VRE oranının glikopeptid ve 3. kuşak sefalosporinlerin kullanımının kısıtlanmasıyla 2000 yılında %6.1'e düştüğünü bildirmişlerdir. Biz de hastanemizde vankomisin ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımında yapılacak kısıtlamalarla bulduğumuz VRE oranının (%3.17) düşeceğini tahmin ediyoruz.

Yurt dışında yapılmış çalışmalarda VRE kolonizasyonunun bizim sonuçlarımıza göre daha yüksek oranlarda olduğu görülmektedir (48, 49, 50, 51). Bunun sebepleri arasında Avrupa'da hayvan yemlerinde avoparsin, Amerika'da aşırı antibiyotik özellikle vankomisin kullanımının olduğu bilinmektedir. Ülkemizde hayvan yemlerinde avoparsin kullanımına dair yeterli veri olmaması nedeniyle bu konuda yorum yapılamamaktadır. Sadece tavuk üreticileri ile yapılan kişisel bir görüşmede tavuk yemlerinde avoparsin kullanıldığı öğrenilmiştir (1).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda *E. faecium*'un *E. faecalis*'e oranla daha sık izole edildiği bildirilmektedir (29). Hollanda'da yapılan bir araştırmada 9 hastanenin yoğun bakım, hematoloji-onkoloji ünitelerinde yatan 624 hastada VRE kolonizasyonu %49 olarak bulunmuş ve kolonize enterokokların %43'ünün *E. faecium* olduğu tespit edilmiştir (52). Çek Cumhuriyeti'nde yapılan bir araştırmada hastanede yatan 2647 hastanın rektal sürüntü örneğinde 31 (%1.9) VRE bulunmuştur. VanA tipi dirence sahip *E. faecium* %61.3 oranında tespit edilmiştir. (53) Celkan ve arkadaşları (16) yaptıkları bir çalışmada hematoloji servislerinde yatmakta olan üç hastadan ikisinde VRE kolonizasyonu, birinde VRE sepsisi geliştiğini, sepsis gelişen hastanın kaybedildiğini bildirmişlerdir. Her üç suşta *E. faecium* olarak tespit edilmiştir. Fışkın ve arkadaşları (15) sepsis tedavisi gören bir

hastanın idrar örneğinde VRE izole etmişler ve aynı gün hastayı kaybetmişlerdir. Yaptıkları tarama kültürleri sonucu iki VRE suşu daha bulmuşlar, her iki suşun VanA fenotipine sahip *E. faecium* olduğunu bildirmişlerdir. Baysallar ve arkadaşları (54) ventriküler drenajlı bir hastanın beyin omurilik sıvısından vankomisine dirençli *E. faecium* izole etmişlerdir. Biz de araştırma sonuçlarımızda bu verilere uygun olarak hem kolonize olan hastalarda *E. faecium*'un daha yüksek oranlarda (%42.06) olduğunu, hem de VRE suşlarının hepsinin *E. faecium* (%100) olduğunu tespit ettik.

VRE ile kolonize hastalarda taburcu olduktan sonra kolonizasyonun uzun süre devam ettiği ve bu hastaların ikinci kez hastaneye yattıklarında önemli bir rezervuar olduğu belirtilmektedir. Çalışmamız sırasında VRE ile kolonize olan immunsupressif bir hastada taburcu olduktan sonra ikinci kez hastaneye yattığında kolonizasyonun eradike olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç bize VRE ile kolonize hastaların tedavi edilmesinin anlamlı olmadığını, VRE için belirlenmiş risk faktörlerinin ortadan kalkması durumunda kolonizasyonun da ortadan kalktığını düşündürmektedir. VRE ile kolonize hastalarda izolasyon ve bariyer önlemlerinin alınmasının yayılımı önlemede yeterli olduğu bilinmektedir.

Çalışmamızda vankomisin dirençli *E. faecium* suşlarının tamamında PCR yöntemi ile VanA genotipi tespit edilmiştir. Bunun sebebi VanA genotipinin en sık rastlanan direnç tipi olması (36) ve Türkiye'de saptanmış VRE kökenlerinin tümünün VanA tipi direnç olarak tespit edilmiş olmasıdır (1, 20). VanA tipi direnç ilk kez 1986 yılında İngiltere ve Fransa'da vankomisin ve teikoplanine dirençli *E. faecium* kökenlerinde bildirilmiştir (36).

Amerika'da yapılan bir çalışmada VRE ile kolonize 179 kanserli hastanın 24'ünde (%13.4) VRE bakteremisi geliştiği görülmüştür. (55) VRE ile kolonize hastalarımızda VRE'ye bağlı infeksiyon görülmemesi bizim için sevindirici bir diğer sonuçtur çünkü VRE infeksiyonlarının tedavisi oldukça zordur. VRE bakteremili hastalarda mortalite oranı %60-70 civarındadır. Özellikle VanA genotipine sahip VRE'lerde optimal tedavi halen bir soru işaretidir. VRE ile infekte hastalar infeksiyonla savaşta çok büyük olasılıkla yenilgiye aday kişilerdir. Günümüzde

çoğul dirençli VRE'lere gerçekten etkinliği kanıtlanmış uygun bir antibiyotik seçeneğinin bulunmaması nedeniyle çabalar daha ziyade bu bakterilerin hastane ortamında yayılımının engellenmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Vankomisin kullanımının kısıtlanmasının VRE salgınlarının kontrolünde etkin olduğu gösterilmiştir. Bazı araştırmacılar VRE'lerin gastrointestinal kolonizasyonunun eradikasyonunun yararlı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Novobiyosin ile tetrasiklin veya doksisisiklin kombinasyonu sekiz hastanın yedisinde dışkıdan VRE eradikasyonunda başarısız olmuştur. Oral basitrasinele daha iyi sonuçlar alınmakla birlikte, gastrointestinal eradikasyonun yararı hakkında bir şey söyleyebilmek mümkün değildir (20).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamız sırasında toplam 180 hastadan rektal sürüntü örneği alındı ve bunların 126 (%70) tanesinde enterokok üretildi. Tür düzeyinde yapılan tanımlama sonucunda 53 suş (%42.06) *E. faecium*, 39 suş (%30.95) *E. faecalis*, 15 suş (%11.90) *E. avium*, 10 suş (%7.93) *E. gallinarum*, 7 suş (%5.55) *E. casseliflavus*, 1 suş (%0.79) *E. hirae*, 1 suş (%0.79) *E. durans* olarak belirlendi. Toplam 4 (%3.17) hastanın VRE ile kolonize olduğu tespit edildi. *E. faecium* olarak tanımlanan 4 suş antibiyogram ve E-test sonuçlarına göre vankomisine dirençli olarak bulundu. (MİK>256 mg/ml) Suşlara PCR yöntemiyle direnç genleri bakıldı ve dördüde VanA genotipi olarak tespit edildi. Nitrosefin diski ile beta-laktamaz üretimi araştırılması yapıldı ve suşlarda beta-laktamaz üretimi saptanmadı.

Bu çalışmanın sonucunda yapabileceğimiz öneriler, herhangi bir klinik örnekte VRE saptandığında Mikrobiyoloji Laboratuvarı acil olarak Enfeksiyon Kontrol Komitesine (İKK) bildirmeli ve İKK gerekli izolasyon ve bariyer önlemlerinin alınmasını sağlamalıdır. Böylece hastanede tek bir birimde VRE saptandığında yayılımın önlenmesi, çok sayıda serviste VRE'li hasta saptanmasını önlemiş olacak ve buna bağlı hastane giderleri daha az olacaktır. Ayrıca tüm hastanelerde akılcı antibiyotik kullanım politikaları belirlenmelidir. Özellikle vankomisin belirlenen endikasyonları dışında kullanılmamalı, sefalosporin kullanımı kısıtlanmalıdır. İKK, Mikrobiyoloji Laboratuvarları ve diğer servisler arasında sağlanan iyi iletişimler VRE'lerin erken tespiti, yayılımını önlemede tek yol olarak görünmektedir. Ülkemizde bildirimi artmaya devam eden VRE suşlarının erken tespiti için her merkezde olduğu gibi hastanemizde de sürveyans kültürlerinin düzenli olarak alınması, öğrenciler de dahil olmak üzere doktorlara, hemşirelere, hasta bakıcılara, tüm hastane çalışanlarına VRE'nin önemi, salgınları önleme yolları ile ilgili eğitim programları yapılmalıdır. Son yıllarda VRE ile ilgili tüm gelişmeler gelecekte ülkemizde de ciddi problemlerle karşılaşabileceğimizin habercisidir.

7. KAYNAKLAR

1. Gültekin M, Günseren F. Vankomisin dirençli enterokoklar. Hastane İnfeksiyonları Derg 2000; 4:195-204
2. Çakır N. Rasyonel olmayan antibiyotik kullanımının klinik sonuçları. Klimik Derg 2001; 2: 35-40
3. Yüce A. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. Klimik Derg 2001; 2: 41-46
4. Durupınar B. Antibiyotiklere dirençte yeni eğilimler. Klimik Dergisi 2001; 2: 47-56
5. Arıkan Ö. Enterokok türlerinin mikrobiyolojisi. Yeni Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar. Bilimsel Tıp Yayınevi; Ankara 2004; 5-9
6. Ersoy Y, Bayraktar M, Fırat M, Yağmur M, Durmaz R. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. Ankem Derg 2005; 19(2) : 92-96
7. Gazi H, Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Ecemiş T, Özbakkaloğlu B. Hastane kökenli *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarında antimikrobiyal direnç. Ankem Derg 2004; 18: 49-52
8. Taşova Y, İnal S. Enterokok infeksiyonlarında klinik. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar. Vankomisine dirençli enterokoklar. Ankara, Bilimsel tıp yayınevi 2004; 17-22
9. Başustaoğlu A. Enterokoklarda vankomisin direnci. 6. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı 2004; 16-21
10. DeLisle S, MD, MBA and Perl Trish M, MD, MSc. Vancomycin-resistant enterococci. Chest 2003;123: 504S-518S.
11. Gündeş S, Wilke A, Karadenizli A, Ateş B. Kocaeli Üniversitesi Hastanesinde İlk Vankomisine Dirençli Enterokok İzolasyonunu Takiben Yapılan Nokta Prevalansı Çalışmasının Sonuçları. Klimik Derg 2002; 3: 78-81
12. Vural T, Şekercioğlu AS, Öğünç D ve arkadaşları. Vankomisine Dirençli *Enterococcus faecium* suşu. Ankem Derg 1999;13: 1-4.
13. Akıncı E, Kılıç H, Karabiber N ve arkadaşları. İki farklı hastanın kan kültürlerinden izole edilen vankomisine dirençli *E. faecium* suşları. Flora 2002, 7: 126-128

14. Başustaoğlu A, Özyurt M, Beyan C ve arkadaşları: Kan kültüründe izole edilen glikopeptid dirençli *Enterococcus faecium*. Flora 2005;142-147
15. Fışkın N, Darka Ö, Sünbül M ve arkadaşları. Olgu Sunumu: Vankomisine dirençli enterokoka bağlı bir hastane enfeksiyonu. Mikrobiol Bült 2005; 39: 351-355
16. Celkan T, Apak H, Özkan A ve ark. Bir hematoloji servisinde vankomisine dirençli enterokok sepsisi ve kolonizasyonu. Ankem Derg 2004;18(3): 176-179
17. Gordts B, Landuyt Van H, Leven M, Vandamme P, Goossens H. Vankomycin-resistant enterococci colonizing the intestinal tracts of hospitalized patients. Journal of Clinical Microbiology 1995, p. 2842-2846.
18. McDonald LC, Kuehnert MJ, Tenover FC, Jarvist WR. Vankomycin-resistant enterococci outside the healthcare setting: Prevalance, sources, and public health implications. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia.
19. Taşdelen N, Darka Ö, Fışkın T ve arkadaşları. Kısa bildiri: Çocuk hematoloji ve onkoloji hastalarında vankomisine dirençli enterokok sürveyansı. Mikrobiyol Bült 2006; 40: 245-250
20. Ulusoy S. Yoğun Bakım ünitesinde gram-pozitif mikroorganizmalar ve direnç sorunu. Yoğun Bakım Derg 2003; 2: 118-123
21. Bilgehan H. Enterococcus ve D grubu streptokoklar. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları. İzmir, Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi (10.baskı) 2000; 296-297
22. Schleifer KH, Kilpper-Balz R. Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the genus Enterococcus nom. rev. as Enterococcus faecalis as com. nov. and Enterococcus faecium com. nov. Int J Syst Bacteriol 1984; 34:31-34
23. Collins MD, Farrow JAE and Jones D. Enterococcus mundtii sp. Nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 1986; 36: 8-12
24. Collins MD, Jones D, Farrow JAE, Kilpper-Balz R and Schleifer KH. Enterococcus avium nom. rev. comb. nov. E. casseliflavus nom. rev; E. durans nom. rev. comb. nov; E.gallinarum comb. nov; and E.malodoratus sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1989; 34: 220-223

25. Farrow JAE, and Collins MD. *Enterococcus hirae*, a new species that includes amino acid assay strain NCDO 1258 and strains causing growth depression in young chickens. *Int J Syst Bacteriol* 1985; 35: 73-75
26. Knight RG, and Shlaes MD. Deoxyribonucleic acid relatedness of *Enterococcus hirae* and 'Streptococcus durans' homology group II. *Int J Syst Bacteriol* 1986. 36:111-113
27. Collins MD, Facklam RR, Farrow JAE and Williamson R. *Enterococcus raffinosus* sp. Nov; *Enterococcus solitarius* sp. nov. and *Enterococcus pseudoavium* sp. nov. *FEMS Microbiol Lett* 1989b. vol.57, pp.283-288
28. Sommers M.H, Dowell VR. The gram positive cocci. In: Winn W, Allen S, Janda W, Konemann E, Procop P(eds). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. (Sixth Ed.). Philadelphia, W&W Lippincott company 2006; 700-704
29. Sümerkan B. Vankomisine dirençli enterokoklar. *Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane İnfeksiyonları Samsun: Samsun İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Araştırmaları Derneği* 2002: 329-334
30. Moellering RC Jr. *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis*, and *Leuconostoc* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds) *Mandell, Douglas, and Bennet's Principles and Practise of Infectious Diseases* (fifth Ed.) Churchill Livingstone company. Philadelphia 2000; 2147-2152
31. Korten V. Enterokoklar. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. In: WillkeA, Söyletir G, Doğanay M (eds) *Nobel Tıp Kitapevleri*. Ankara 2002;4:1497-1506
32. *Streptococcus*, *enterococcus*, and similar organisms. In: Forbes B, Sahm FD, Weissfeld AS (eds). *Bailey&Scott's Diagnostic Microbiology* (eleventh Ed). Mosby, Inc. Missouri 2002; 298-315
33. Facklam R R, Collins MD. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *Journal of Clin Microbiol* 1989; p. 731-734
34. Kühnen E, Richter F, Richter K and Andries L. Establishment of a typing system for group D streptococci. *Zentralbl Bacteriol Microbiol* 1988; 267(3): 322-3
35. Gültekin M. Enterokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi. *Önemli ve Sorunlu Bakteri İnfeksiyonları*. Ankara , Bilimsel tıp yayınevi 2004; 121-140
36. Ulusoy S, Arda B. Dirençli Pnömonokok ve Enterokok İnfeksiyonları ve Sağaltımı. *Hastane İnfeksiyonları*. İzmir, Güven Kitapevi 2003: 58-65

37. Çetinkaya Y. Enterokolarda direnç sorunu. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar. Ankara , Bilimsel Tıp Yayınevi 2004; 10-16
38. Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vankomycin –resistant enterococci. *Clin Microbiol Reviews* 2000; p. 686-707
39. Sümerkan B. Türkiye’de gram pozitif ve gram negatif bakterilerde direnç durumu, Enterokoklar. 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı 2006; 154-157
40. Mallon David JP, Corkhill JE, Hazel SM, Wilson JS Et all. Excretion of Vankomycin-Resistant Enterococci by Wild Mammals. *Emerging Infectious Diseases* 2002; 8:6
41. Low DE, Keller N, Barth A, Jones RN. Clinical Prevalance, Antimicrobial Susceptibility, and Geographic Resistance Patterns of Enterococci: Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999
42. Recommendations for the control of vankomycin–resistant enterococcus (VRE) In Healthcare Facilities In Georgia, With a Focus On Long-Term Care. The Georgia VRE Task Force in conjunction with The Division of Public Health Georgia Department of Human Resources. February 1998
43. Livornese LL JR, Dias S, Romanowski B, Taylor S et al. Hospital-acquired infection with vankomycin-resistant *Enterococcus faecium* transmitted by electronic thermometers. *Ann Intern. Med.* 1993;118(2): 156-157
44. Harbarth S, Cosgrove S, and Carmeli Y. Effects of Antibioticks on Nosocomial Epidemiology of Vancomycin-Resistant Enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002;46:1619-1628
45. Rice LB. Emergence of vankomycin-resistant enterococci. *Emerging Infectious Diseases* 2001; 7:.2
46. Kutlu SS, Dokuzoğuz B. Enterokokal infeksiyonlarda tedavi seçenekleri. Yeni Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar. Ankara, Bilimsel tıp Yayınevi 2004:23-29
47. Recommendations for preventing the spread of vankomycin resistance. Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) *MMWR Recomm. Rep.* 1995; 44 (RR-12): 1-13
48. Dan M, Poch F, Leibson L et al. Rectal colonization with vankomycin-resistant enterococci among high risk patients in Israeli hospital. *J Hosp Infect.* 1999; 43(3): 231-38

49. Ostrowsky BE, Venkataraman L, D'Agata EMC et al. Vankomycin-resistant enterococci in intensive care units. *Arch Intern Med.* 1999; 159: 1467-72
50. Grayson LM, Grasch AE, Johnson PDR, Olden D et al. Outcome of a screening program for vankomycin-resistant enterococci in a hospital in Victoria. *The Medical Journal of Australia* 1999; 171: 133-136
51. Kolar M, Vagnerova I, Pantucek R, Cermak P. Impact of rational antibiotic usage on occurrence of vankomycin-resistant enterococci in hematological patient. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 91
52. Erasmus University Medical Center. Fecal carriage of vankomycin-resistant enterococci in hospitalized patients and those living in the community in the Netherlands. *J Clinical Microbiol* 1997; 35(12): 3026-3031
53. Kolar M, Pantucek R, Vagnerova I, Saver P, Cekonawa L, Koukalova D et al. Prevalance of vankomycin-resistant enterococci in hospitalized patients and those living in the community in the Czech Republic. *New Microbiol* 2006; 29(2):121-5
54. Baysallar M, İzci Y, Kiliç A, Avcı İY, Senses Z, Doğançlı L. A case of ventriküler drainage infection with a rare pathogen in cerebrospinal fluid: vankomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Microb. Drug Resist.* 2006; 12 (1) : 59-62
55. Zaas AK, Song X, Tucker P, Perl TM. Risk Factors for Development of Vankomycin-Resistant Enterococcal Bloodstream Infection in Patients with Cancer Who Are Colonized with Vankomycin-Resistant Enterococci. *Clinical Infectious Diseases* 2002; 35: 1139-1146

