

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
ENTEROKOKLARIN TIPLENDİRİLMESİ VANKOMİSİN
VE YÜKSEK DÜZEY AMİNOGLİKOZİD DİRENCİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Sebahat ASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK

MERSİN – 2011

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM
DALI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
ENTEROKOKLARIN TIPLENDİRİLMESİ VANKOMİSİN
VE YÜKSEK DÜZEY AMİNOGLİKOZİD DİRENCİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Sebahat ASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBE TM (SA) 2010-4 YL nolu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: 197

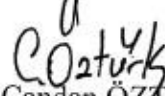
MERSİN – 2011

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan **“Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokokların Tiplendirilmesi Vankomisin ve Yüksek Düzey Aminoglikozid Direncinin Araştırılması”** başlıklı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

05.12.2012



Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Başkanı / Danışman

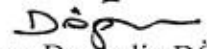


Prof. Dr. Gönül ASLAN

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi



Yrd. Doç. Dr. Aylin DÖĞEN

Mersin Üniversitesi Eczacılık

Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji

Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 07.12.2011 tarih ve 2011/415 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başladığım andan itibaren her konuda yardımlarını ve desteğini gördüğüm, anlayışlı tavrı ile bilimsel çalışma disiplini ve tecrübelerini örnek aldığım Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ'a, tez çalışmam süresince ilgili ve hoşgörülü yaklaşımları ile klinik tecrübelerini esirgemeyen, bilgileri ışığında beni yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Candan ÖZTÜRK'e, değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Gönül ASLAN, Sayın Doç. Dr. Nuran DELİALIOĞLU, Sayın Doç. Dr. Feza OTAĞ, Sayın Yrd. Doç. Dr. Seda TEZCAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince bana her konuda yardımcı olan Öğretim Görevlisi Mahmut ÜLGER'e ve çalışma arkadaşlarıma, her konudaki destek ve katkılarından dolayı tüm anabilim dalı çalışanlarına teşekkür ederim. İstatistik analizlerimde yardımcı olan Biyoistatistik anabilim çalışanlarına katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Başından sonuna kadar beni sabırla destekleyen, yetişmem için büyük emek sarfeden ve başardığım her işte payları olan, maddi ve manevi açıdan sürekli beni destekleyen sevgili anneme ve babama diğer aile bireylerine sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Mikrobiyolojik Özellikler	4
2.2.1. Görünüm ve Boyanma Özellikleri.....	4
2.2.2. Üreme Özellikleri ve Fizyolojik Karakterleri.....	5
2.2.3. Sınıflandırma ve İdentifikasyon	6
2.2.4. Genom Özellikleri	10
2.3. Virulans Faktörleri	10
2.3.1. Hemolizin ve Sitolizin.....	10
2.3.2. Jelatinaz	11
2.3.3. Enterokokal Surface Protein ESP	11
2.3.4. Agregasyon Faktörü	11
2.3.5. MSRCRAMM ace	12
2.3.6. Lipoteikoik Asit.....	12
2.3.7. Süperoksit.....	12
2.3.8. Seks Feromonları.....	12
2.3.9. Hyaluronidaz	13
2.3.10. Kapsül Hücre Duvarı Polisakkaritleri	13
2.3.11. AS-48.....	13
2.3.12. Antibiyotik Direnci.....	13

2.4. Enterokokların Neden Olduğu Enfeksiyonlar	14
2.4.1. Bakteriemi	14
2.4.2. Üriner Sistem Enfeksiyonları	15
2.4.3. Endokardit	15
2.4.4. İntraabdominal ve Pelvik Enfeksiyonları	15
2.4.5. Kemik ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları.....	16
2.4.6. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları	16
2.4.7. Solunum Sistemi Enfeksiyonları	16
2.4.8. Neonatal Enfeksiyonlar	16
2.4.9. Diğer Enfeksiyonlar	17
2.5. Enterokok Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi	17
2.6. Enterokoklarda Antimikrobiyal Direnç	19
2.6.1 İntrensek Direnç	20
2.6.1.1. Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç	20
2.6.1.2. Aminoglikozid Direnci	21
2.6.1.3. Trimetoprim- Sülfometoksazol Direnci	21
2.6.1.4. Diğer Antibiyotikler	21
2.6.2. Kazanılmış Direnç	21
2.6.2.1. Beta-Laktam Direnci	22
2.6.2.2. Aminoglikozid Direnci	22
2.6.2.3. Kloramfenikol Direnci	23
2.6.2.4. Tetrasiklin Direnci	23
2.6.2.5. Kinolon Direnci.....	23
2.6.2.6. MLSB Direnci.....	23
2.6.2.7. Oksozolidinon Direnci	24
2.7. Glikopeptid Direnci	24
2.7.1. <i>VanA</i> Glikopeptit Direnci.....	24
2.7.2. <i>VanB</i> Glikopeptit Direnci	25
2.7.3. <i>VanC</i> Glikopeptit Direnci.....	26
2.7.4. <i>VanD</i> Glikopeptit Direnci	26
2.7.5. <i>VanE</i> Glikopeptit Direnci	27
2.7.6. <i>VanG</i> Glikopeptit Direnci	27

2.8. Enterokok Enfeksiyonlarında Tedavi	28
2.9. VRE'den Korunma ve Kontrol Yöntemleri.....	29
2.10. VRE Risk Faktörleri	33
3. GEREÇ ve YÖNTEM	36
3.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler	36
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	37
3.2.1. Kullanılan Cihazlar.....	37
3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	37
3.3. Örneklerin Alınması ve Ekimi.....	38
3.3.1. İdentifikasyonda Kullanılan Testler	39
3.3.1.1. Katalaz Testi	39
3.3.1.2. Safra Eskülin Testi.....	39
3.3.1.3. %6,5'luk NaCl'de Üreme Testi	39
3.3.2. İzole Edilen Enterokokların Tür Tayini	40
3.3.3. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi ve Disk Difüzyon Yöntemi	40
3.3.4. E Test Yöntemi.....	40
3.3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	41
3.3.5.1. Agaroz Jel Elektroforez İşlemi	42
3.3.5.2. <i>VanA</i> , <i>VanB</i> , <i>VanC</i> Gen Bölgelerinin Tespiti.....	44
4. BULGULAR.....	45
4.1. Enterokokların Tür Tayini ve Vankomisin Duyarlılıklarının Tespiti.....	45
4.1.1. Enterokok İzolatlarının Klinikler ve Materyallere Göre Dağılımı	45
4.1.2. Enterokokların Tür Tayini Sonuçları	47
4.1.3. Enterokokların Vankomisin Direnç Tespiti	47
4.2. VRE İzolatlarının Değerlendirilmesi	48
4.2.1. VRE İzolatlarının Kliniklere ve Materyallere Göre Dağılımı.....	49
4.2.2. VRE İzolatlarının Tür Tayini	50
4.2.3. VRE izolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları	51
4.2.4. E Test Sonuçları	51
4.2.5. PZR Sonuçları	52

4.2.6. VRE İzolatlarının Vitek-2 Otomatize Sistem, E Test, PZR	
Sonuçlarının Karşılaştırılması	53
4.2.7. Vitek-2 Otomatize Sistemi ve PZR İle <i>VanA</i> Glikopeptit	
Direncinin Saptanması.....	54
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	60
7. KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.: Enterokokların Gram boyanma görüntüleri	4
Şekil 2.2.: <i>E.faecalis</i> hücre duvarındaki polimerlerin şematik görünümü	6
Şekil 4.1.: Grup 1' de değerlendirilen enterokokların kliniklere göre dağılımı.....	46
Şekil 4.2.: Grup1'de değerlendirilen enterokokların izole edildikleri klinik materyalle göre dağılımları	46
Şekil 4.3.: Grup 1' değerlendirilen enterokokların türlere göre dağılımı	47
Şekil 4.4.: Grup 1' değerlendirilen enterokokların vankomisine duyarlılıkları	48
Şekil 4.5.: Grup II' de üretilen enterokokların Kanlı Agar besiyerindeki görüntüsü	48
Şekil 4.6.: Grup II' de üretilen enterokokların Bile Eskülin Agar besiyerindeki görüntüsü.....	49
Şekil 4.7.: Grup II' de değerlendirilen VRE izolatlarının kliniklere göre dağılımı	49
Şekil 4.8.: Grup II' de değerlendirilen VRE izolatlarının klinik materyallere göre dağılımı.....	50
Şekil 4.9.: Grup II' de değerlendirilen VRE izolatlarının türlere göre dağılımı	50
Şekil 4.10.: E test yöntemi ile vankomisin Mik değerinin saptanması	52
Şekil 4.11.: <i>VanA</i> gen bölgelerinin PZR ürünlerinin %1,5' luk agaroz jel elektroforez görüntüsü	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.: Enterokokların sınıflandırılması	6
Çizelge 2.2.: Enterococcus cinsi içerisinde yer alan türler	7
Çizelge 2.3.: Enterokok türlerinin fenotipik özellikleri	8
Çizelge 2.4.: Enterokok türleri idenitifikasyon şeması	9
Çizelge 2.5.: Enterokoklarda glikopeptit direnci	27
Çizelge 3.1.: Vankomisin direncinden sorumlu <i>VanA</i> , <i>VanB</i> , <i>VanC</i> gen bölgelerine spesifik primer dizileri.....	41
Çizelge 3.2.: <i>VanA</i> , <i>VanB</i> , <i>VanC</i> gen bölgelerinin PZR reaksiyon karışımı	42
Çizelge 3.3.: <i>VanA</i> , <i>VanB</i> , <i>VanC</i> gen bölgelerinin amplifikasyonda kullanılan PZR koşulları.....	43
Çizelge 4.1.: Grup II' de ki izolatların Vitek2 (Vitek2 Compact, Biomerieux Fransa) sistemi ile değerlendirilen antibiyotik duyarlılıklarının dağılımı	51
Çizelge 4.2.: VRE izolatlarının Vitek-2, E Test ve PZR sonuçları.....	53
Çizelge 4.3.: E test yöntemi ile PZR yönteminin VRE sonuçlarının karşılaştırması.....	54
Çizelge 4.4.: PZR ile E test yönteminin karşılaştırılması	54
Çizelge 4.5.: Vitek-2 otomatize sistemi ve PZR ile <i>VanA</i> glikopeptit direnci saptanması	55
Çizelge 4.6.: Vitek-2 otomatize sistemi ve PZR ile <i>VanB</i> glikopeptit direnci saptanması	55

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ADT	Antibiyotik Duyarlılık Testleri
AIDS	Acquired Immuno Deficiency Syndrome
AF	Agregasyon Faktör
BE	Bile Eskülin
CDC	Centers for Disease Control
ÇİD	Çok İlaça Direnç
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EARSS	European Antimicrobial Surveillance System
ESP	Enterokokal Surface Protein
GİS	Gastro İntestinal Sistem
HIV	Human Immunodeficiency Virus
Hyl	Hyaluronidaz
LTA	Lipoteikoik asit
MİK	Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
NAA	Nükleik Asit Amplifikasyonu
NNIS	The National Nosocomial İnfektion Surveillance System
PBP5	Penisilin Bağlayan Protein
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
VRE	Vankomisin Rezistant Enterekok
VSE	Vankomisin Sensitif Enterekok
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi

ÖZET

Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokokların Tiplendirilmesi Vankomisin ve Yüksek Düzey Aminoglikozid Direncinin Araştırılması

Enterokoklar tekli, ikili veya kısa zincirler oluşturan Gram pozitif koklardır. Bu mikroorganizmalar insan ve hayvanların normal bağırsak florasının önemli bir kısmını oluştururlar. Enterokoklar nozokomiyal enfeksiyonların önde gelen etkenleridir. Enterokokların üriner sistem enfeksiyonlarına, bakteriyemiye, endokardite, intraabdominal enfeksiyonlara, yumuşak doku enfeksiyonlarına ve neonatal sepsise neden oldukları gösterilmiştir. Son yıllarda enterokok türlerinde ampisilin ve penisiline direnç artışı gözlenmekte, ayrıca vankomisine dirençli suşlara rastlanmaktadır. Özellikle vankomisine dirençli suşların diğer birçok antibiyotiğe de dirençli olması tedavide güçlükler neden olmaktadır. Bu çalışmada amaç hastanemize başvuran hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokokların tiplendirilmesi ve vankomisin ile yüksek düzey aminoglikozid direncinin belirlenmesidir. Bu amaçla Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli servislerden gönderilen hastalara ait klinik materyallerden izole edilen 470 enterokok izolatu değerlendirilerek, Vitek-2 otomatize sistemi yardımı ile 50 vankomisin rezistan enterokok (VRE) saptanmıştır. Saptanan suşların Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıkları incelenmiştir. Yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılması için 120 µg'lik gentamisin ve 300 µg'lik streptomisin diskleri kullanılmıştır. Çalışılan VRE izolatlarının E-test yöntemi ile vankomisin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri belirlenmiş ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile moleküler düzeyde araştırılmıştır.

Sonuç olarak; değerlendirilen hastane enfeksiyonu ve kolonizasyonla ilişkili izolatlarda vankomisin rezistan *Enterococcus faecium*'un hakim olduğu görülmüştür. VRE suşlarının %94'ün de yüksek düzey gentamisin direnci ve %96'sın da yüksek düzey streptomisin direnci görülmüştür. E test yöntemi ile 45 VRE'nin MİK değerleri ≥ 128 µg/ml olarak bulunmuştur. PZR yöntemi ile 36 izolatta *VanA* direnci saptanmıştır. İzole edilen enterokokların antibiyotik duyarlılığı, tür tayini, vankomisin duyarlılığı araştırılarak dirençli suşların MİK değerleri saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Enterokok, vankomisin direnci, aminoglikozid direnci, VRE epidemiyoloji, kolonizasyon.

ABSTRACT

Typing of Clinical Isolates of Enterococci, Investigation of Vancomycin and High Level Aminoglycoside Resistance

Enterococci are Gram-positive bacteria belonging to the genus *Enterococcus*. These organisms are found in the normal bowel microbiota of humans and many animals. Enterococci have traditionally regarded as low grade pathogens, have emerged as an increasingly important cause of nosocomial infections in the last decade. Important clinical infections caused by enterococci include urinary tract infections, bacteremia, intraabdominal and intrapelvik abscesses, post-surgery wound infections, bacterial endocarditis, diverticulitis and rarely central nervous system infections. An important feature in the emergence of the enterococci as a cause of nosocomial infection is their increasing to a wide range of antibiotics. Acquired resistance, most prominently to penicilin/ampicilin, aminoglycosides and glycopeptides are reported in an increasing number of isolates an the therapeutic spectrum in these cases is limited. Enterococci colonization and demonstration of their relationship with our hospital infection outbreaks are important in controlling and preventing the spread of these infection. For this purpose, a total of 470 enterococci isolates were evaluated which were obtained from various clinical specimens sent to the Microbiology Laboratory, The Faculty of Medicine, Mersin University. Of these isolates 50 vancomycine resistant Enterococci were isolated from clinical specimens in patients with nosocomial infections. High level aminoglycoside resistance was screened disk diffusion method. Disk were loaded with 120 µg gentamicin and 300 µg streptomycin for investigation of high level aminoglycoside resistance with disk diffusion method. Minimum inhibitory concertrations were determined by E-test for all isolates showing decresased susceptibilitiy to vancomisin.

As a result, Vancomycine Resistant *E. faecium* was found to be the important isolate among the nosocomial infections and isolates related to intestinal colonization that were evaluated. It was also found that these isolates developed a high glycopeptides. Of the VRE, the rate of high level resistance to gentamisin was found %94 and to streptomycin %96. All thirty six strains defined as VRE had Van A gene which was detected by polymerase chain reaction (PCR) analysis. The antibiotic susceptibility of enterococci, isolated species determination, vancomycin susceptibility should be investigated. When intermediate and resistant enterococci strains are detected, MIC values of this entrococci must be certainly investigated.

Keywords: VRE, enterococci, vancomycin-resistance, aminoglycoside-resistance, colonization epidemiology and virulence of enterococcus

1. GİRİŞ

Enfeksiyon hastalıkları, insanlığın varolduğu günden bu yana insan hayatını etkileyen en önemli faktörlerden biri olmuştur ve hiçbir dönem güncelliğini kaybetmemiştir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) her yıl dünyada 109 milyondan fazla insanın çeşitli nedenlerle hastaneye yatırıldığını ve 10 milyondan fazla insanın hastane enfeksiyonuna yakalandığını bildirmektedir. Hastanelerdeki bakım kalitesinin en önemli göstergesi olarak kabul edilen nozokomiyal enfeksiyonlar, hastanın yatış süresini uzatmanın yanı sıra morbidite ve mortaliteye, ayrıca tedavi maliyetinin artmasına neden olmaktadır. Bu enfeksiyonların kontrolü için, her hastanede sürveyans sonuçlarının takip edilmesi, bu sonuçların diğer hastane enfeksiyon oranları ile karşılaştırılması ve etkin enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması gerekmektedir. Bu tedbirler hem mortalite morbidite oranını azaltacak ayrıca hem ekonomik hem de daha hızlı tedavi seçenekleri sağlayacaktır (1 - 3).

İntestinal ve vajinal floranın üyesi olan enterokoklar uzun zaman düşük virulanslı patojenler olarak değerlendirilmişlerdir. Normal floranın fırsatçı patojenleri olarak tanınan enterokoklar bugün nazokomiyal enfeksiyon etkenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Ancak son yıllarda enterokoklara gösterilen ilginin başlıca sebebi bu bakterilerin antibiyotiklere gittikçe artan direncidir (4). Hastanelerde yoğun ve hatalı antibiyotik kullanımı sonucu beta-laktam ve aminoglikozid grubu olmak üzere glikopeptit türevi antibiyotiklere karşı direnç geliştiren enterokoklar, endojen kökenli bakteriyemi ve endokardite ve temas sonucu diğer hastalarda ekzojen kökenli hastane enfeksiyonlarına yol açmaya başlamışlardır. Bu artışın enterokokların intrensek olarak dirençli olduğu üçüncü kuşak sefalosporinlerin ve kinolon kullanımının bir dönem yaygın olarak artması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Enterokoklar, bazı antimikrobik maddelere intrensek olarak dirençli, bazı antimikrobiklere karşı ise kazanılmış dirence sahiplerdir. İntrensek direnç yanında, kazanılmış direnç genlerinin de aynı bakteride bulunabilmesi nedeni ile ciddi enfeksiyonlar ve tedavide zorluklar ile karşılaşmaktadır. Özellikle glikopeptit direnci tedavide büyük güçlükler yarattığı ve fatal seyreden enfeksiyonlara neden olduğu için oldukça kaygı vericidir (4, 5).

Enterokokların ciddi bir patojen haline gelmeleri birçok nedenden kaynaklanmaktadır; duyarlı populasyonun hızındaki artış (immün yetersizliği ve kritik hastalar), intravasküler

kateter kullanımındaki artış, hastanede yatış süresinin uzaması ve antibiyotiklerin kullanılması, intrensik olarak dirençli hale gelmelerine neden olmuştur (6, 7).

Vankomisin, enterokok suşlarının neden olduğu enfeksiyonlarda önemli bir seçenek iken 1986 Kasım ayında ve hemen ardından 1988 Ocak ayında İngiltere ve Fransa'da vankomisine dirençli suşlar raporlanmıştır. Paris hematoloji kliniğinde VRE kolonizasyonu bildirilmiştir. Bu ilk bildirimlerden sonra diğer ülkelerde de vankomisine dirençli enterokoklar ile karşılaşmış ve hastane epidemilerine neden olduğu görülmüştür (6 - 9).

Nozokomiyal Enfeksiyon Sürveyans Sistemi (*National Nosocomial Infections Surveillance System* (NNIS)) verilerine göre vankomisine dirençli enterokokların oranı 1989'da %0.3 iken 1993'te %7.9'a yükselmiştir. Sonraki yıllar içinde çalışmaların ortalaması alınarak verilerle karşılaştırıldığında her geçen yıl bu oranın arttığı görülmüştür. VRE enfeksiyonları mortalite, morbidite, hastanede kalış süresi ve artan maliyete neden olmaya devam ederken, gelişme ve artma tehdidi ile karşılaşılmaktadır (8 - 10). Türkiye'de ilk VRE suşu *E. faecium*, Vural ve arkadaşları tarafından 1988 yılında ANKEM kongresinde sunulmuştur. 2000 yılında ise vankomisine dirençli *E. faecalis* suşu izole edilmiştir. 2003 yılı itibarıyla VRE ile karşılaşılacak merkez sayısı 10'u aşmıştır (10 - 12).

Dirençli enterokok türleri, hastadan hastaya veya hastane personeli tarafından hastalara bulaştırılabilmekte ve hastane içinde ve hastaneler arasında yayılabilmektedir. Hastanede yatan hastalarda dirençli enterokok kolonizasyonunun erken tespiti, tedavi ve enfeksiyonların kontrolünde oldukça önemli görülmektedir (7, 13).

Bu çalışmada amaç hastanemize başvuran hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokokların tiplendirilmesi ve vankomisin ile yüksek düzey aminoglikozid direncinin belirlenmesidir. Bu çalışma ile enterokokların yayılım ve direnç oranları tespit edilerek, hastanemizdeki durumun ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Ayrıca yapılacak tez çalışmasının VRE epidemiyolojisine katkı sağlayacağını düşünüyoruz. Enterokokların farklı antibiyotiklere karşı direnç durumları gözlenerek moleküler yöntemler ile bu çalışma desteklenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Enterokok cinsine ait mikroorganizmalar ilk olarak streptokoklar içerisinde “fokal orijinli streptokoklar” olarak gruplandırılmıştır. Enterokok terimi, ilk kez Thiercelin (1899) tarafından Fransa’da yayımlanan bir makalede “insan gaitasında kısa zincirler veya çiftler halinde görülen bakterileri” tanımlamak için kullanılmıştır (6, 14, 15). Birkaç yıl sonra Alexander Gordon, hayvan gaitası ile havadan kontamine olmuş sıvı besiyerinde fokal streptokok izole ettiğini bildirmiş ve S.Houston lağım suyunda bol miktarda streptokok bulunduğunu bildirmiş ve suların insan gaitası ile kontaminasyonunu göstermede yararlı olabileceğini ileri sürmüştür. *Streptococcus faecalis* tür ismidde ilk olarak F.W.Andrews ve T.J.Horder (1906) tarafından, mannitolü ve laktozu fermente eden ancak raffinozu fermente etmeyen ve sütün kesilmesine yol açan gaita kökenli organizmaları tanımlamak için kullanılmıştır (16, 17).

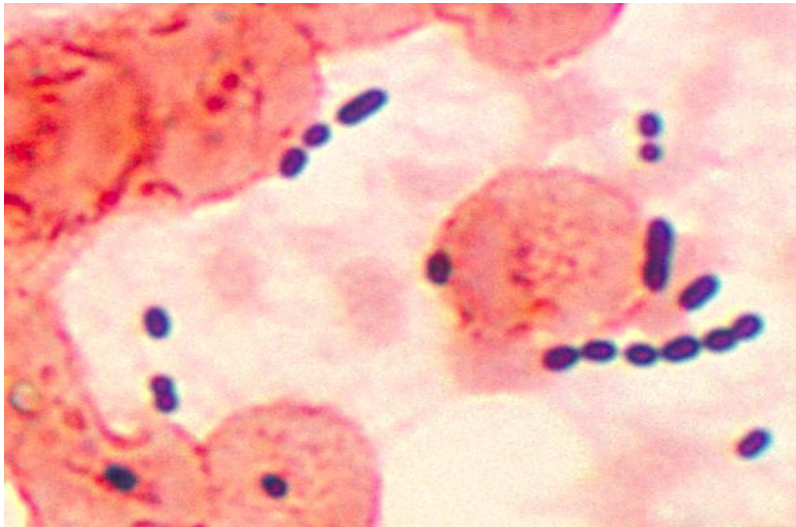
Orla-Jensen (1919) bu grupta fermentasyon özellikleri *S. faecalis*’ten farklılık gösteren *Streptococcus faecium* denilen ikinci bir organizma tanımlamıştır. M. Sherman ve Helen U. Wing tarafından (1935 ve 1937) *S. faecium*’a benzeyen ancak daha az fermentasyon özelliği gösteren üçüncü bir tür olan *Streptococcus durans* tanımlanmıştır (18). J. M. Sherman, 1937 ve 1938 yıllarında streptokoklar için “Enterococcal grup” terimini kullanmıştır. Uzun bir süre enterokoklar, Lancefield sınıflamasına göre serolojik olarak Grup D Streptokoklar olarak *Streptococcus* cinsi içerisinde kalmıştır. Daha sonra, K. H. Schleifer ve R. Klipper-Baltz (1984) *S. faecalis* ve *S. faecium* türlerinin diğer streptokoklardan farklı olduklarını ileri sürerek bunların *Streptococcus* cinsinden ayrılıp *Enterococcus* adı altında bir cins olarak tanımlanması gerektiğini söylemişlerdir. Daha sonra DNA-DNA reasosiyasyon çalışmaları, 16S rRNA dizi analizi ve total hücre protein profil analizi ile enterokokların yeni bir cins oldukları gösterilmiştir. Bu yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda enterokok cinsi içerisinde en az 34 tür bulunduğu gösterilmiştir (4, 18).

2.2. Mikrobiyolojik Özellikler

Enterokoklar sıcakkanlı hayvanların ve insanların GİS'inde, ayrıca böceklerde, bitkilerde, dışkı ile kirlenmiş toprak, su ve yiyeceklerde de bulunabilirler. Gastrointestinal sistemin flora üyesidirler. Bu sebeple içme ve kullanma sularındaki fekal kontaminasyonun gösterilmesi için indikatör mikroorganizma olarak kullanılırlar. Zor çevresel koşullarda yaşamlarını sürdürebilirler ve çoğalabilirler. Çok sık olmamakla birlikte enterokoklar orofaringeal salgılarda, vajinal salgılarda ve deride de kolonize olabilirler (19, 20).

2.2.1. Görünüm ve Boyanma Özellikleri

Enterokoklar *Streptococcaceae* familyası içinde yer alan, tekli, ikili ya da kısa zincirler halinde görülebilen, fakültatif anaerop, Gram pozitif koklardır (20, 21). 0.5-1 mikrometre çapında, tek tek, diplokoklar veya kısa zincirler şeklinde görülebilen, yuvarlak, oval veya kokobasil şeklindeki bu bakteriler katı besiyerlerinde üretildiklerinde genellikle kok veya kokobasil şeklinde görülürler. Sıvı besiyerinde üretildiklerinde daha uzun zincirler oluşturdukları görülmektedir (20). *E. flavescens* ve *E. gallinorum* ve *E. casseliflavus* gibi bazı kökenler hareketli iken çoğu hareketsizdir. Katalaz negatif olmalarına karşın bazı suşlar ilk izolasyon sırasında görülüp seri pasajlarda kaybolan psödokatalaz üretir ve katalaz testinde zayıf bir pozitiflik görülebilir. Özellikle *E. faecalis* görülebilmektedir (21, 22).



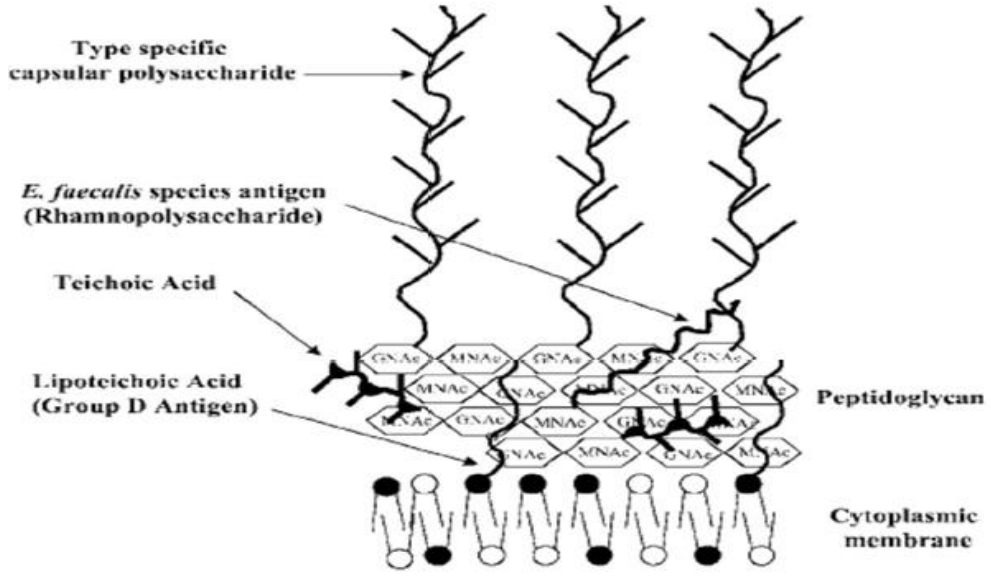
Şekil 2.1. Enterokokların Gram boyanma görüntüleri (21).

2.2.2. Üreme Özellikleri ve Fizyolojik Karakterleri

Enterokoklar fakültatif anaerop mikroorganizmalardır. İdeal üreme ısıları 35°C olmakla birlikte 10-45°C değişen bir üreme aralığına sahiptirler, 60°C'ye 30 dk. kadar dayanıklıdırlar. Bu bakteriler soğuk ve nemli toprakta 12 hafta kadar canlı kalırlar, fakat donma ve sonra yeniden eritme durumları ömürlerini azaltır. Koyun kanlı besiyerinde 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda, 1-2 mm çapında, streptokoklardan daha büyük, kabarık, gri ya da beyaz renkli S tipi koloniler oluştururlar. Bazen zayıf bir alfa hemoliz meydana getirebilirlerse de genellikle nonhemolitiklerdir. *E. faecalis* ve *E. durans* suşları kanlı agarda beta hemoliz yapabilirler. *E. faecalis*'lerin 1/3 tavşan, insan ve at kanı içeren agarda beta hemoliz oluşturabilir iken koyun kanlı agarda hemoliz yapmazlar. Alfa hemolitik görünen suşlar peroksit üreten nonhemolitik suşlardır. Besiyerine yeşil rengi veren alfa toksin üretimi ile değil eritrositlerde peroksitin etkisi ile oluşmaktadır (20, 23, 24). %6.5 NaCl'de ürerler, %40 safra varlığında eskülini hidrolize ederler (Safra-eskülinli besiyeri ile bu özellik besiyerindeki renk değişikliği ile gözlenebilir). Tüm *Streptococcus bovis* türlerinin ve viridans streptokokların %10'unun safra-eskülin hidrolizi pozitifdir. *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* dışında tüm enterokoklar, PYR (L-pyronidonyl-betanaphthylamide) (+) dir. (20, 25, 26).

Tüm suşlarda lösin aminopeptidaz (LAPase) aktivitesi görülür. Selektif besiyerlerinin içerisinde bulunan kimyasal maddelerden kaynaklı olarak koloni rengi değişebilir ve bu da Gram negatif bakterileride içeren karışık örneklerden enterokokları ayırt etmede kolaylık sağlar. Örneğin tetrazolium içeren agarda kolonilerin ortasında tuğla kırmızısı renk oluşur (4, 27). Glikozdan gaz oluşturmazlar ve glikoz fermentasyonun son ürünü laktik asittir. Karbon metabolizması, solunum, iyon transportu, stres cevapları, reaktif oksijen türleri metabolizmaları ve metabolik ihtiyaçları suştan suşa bile farklılık gösterebilir. Örneğin *E. faecalis*'in çoğalması için histidin, izölösün, metionin ve triptofan gerekli iken bazı türler ise arginin, glutamat ve valin'e ihtiyaç duyarlar (28, 29).

Enterokokların hücre duvarının üç bileşeni peptidoglikan, teikoik asit ve polisakkaritlerdir. Hücre duvarının %40'ı peptidoglikandan oluşur. Lancefield' in grup D antijeni, hücre duvarı ile bağlantılı bir gliserol olan teikoik asitten oluşur. Enterokoklar %80 oranında D grubu antiserumlarla aglütinasyon verirler. Bu sonucu, ekstraksiyon işlemi ve antiserum kalitesi etkileyebilir (28). Lancefield'in serolojik tiplendirilmesinde; streptokoklar hücre duvar karbonhidratlarına göre sınıflandırılmış iken enterokokların yer aldığı D grubunda serolojik tiplendirme lipoteikoik asitlerin antijenik özelliklerine göre yapılır (29).



Şekil 2.2. *E. faecalis*'in hücre duvarındaki polimerlerinin şematik görüntüsü

2.2.3. Sınıflandırma ve İdentifikasyon

Schleifer ve Kilppper (1984) *Enterococcus* cinsinin tanımından sonra günümüzde *enterococcus* cinsinde en az 34 farklı tür tanımlanmıştır (31, 32).

Çizelge 2.1. Enterokokların Sınıflandırılması (32).

Kingdom	Bacteria
Division	Firmicutes
Class	Bacilli
Order	Lactobacillales
Family	Enterococcaceae
Genus	<i>Enterococcus</i>

Çizelge 2.2. *Enterococcus* cinsi içerisinde yer alan türler (32,33).

<i>Enterococcus aquimarinus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus pallens</i>
<i>Enterococcus asini</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus phoeniculicola</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Enterococcus gallinorum</i>	<i>Enterococcus pseudoavium</i>
<i>Enterococcus caccae</i>	<i>Enterococcus gilvus</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>
<i>Enterococcus canintestini</i>	<i>Enterococcus haemoperoxidus</i>	<i>Enterococcus ratti</i>
<i>Enterococcus canis</i>	<i>Enterococcus hermanniensis</i>	<i>Enterococcus saccharolyticus</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus hiraе</i>	<i>Enterococcus silesiacus</i>
<i>Enterococcus cecorum</i>	<i>Enterococcus italicus</i>	<i>Enterococcus sulfureus</i>
<i>Enterococcus columbae</i>	<i>Enterococcus malodoratus</i>	<i>Enterococcus termitis</i>
<i>Enterococcus devriesei</i>	<i>Enterococcus moraviensis</i>	<i>Enterococcus thailandicus</i>
<i>Enterococcus dispar</i>	<i>Enterococcus mundtii</i>	<i>Enterococcus villorum</i>
<i>Enterococcus durans</i>		

Enterokoklar mannitol, sorbitol, sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arginini hidrolize etmelerine göre beş gruba ayrılırlar:

Grup 1: *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. pallens*, *E. gilvus*'dan oluşur. Bu türler mannitol, sorbitol ve sorboz sıvı besiyerinde asit oluşturur, ancak arginini hidrolize etmezler.

Grup 2: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. haemoperoxidus*, *E. mundtii* ve *E. gallinorum*'dan oluşur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize ederler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler.

Grup 3: *E. villorum*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. hiraе*, *E. ratti* ve *E. faecalis* ile *E. faecium*'un mannitol negatif varyantları bu grubu oluşturur. Bu gruptaki türler D antijeni içermez, arginini hidrolize ederler fakat mannitol, sorboz ve sorbitol içeren sıvı besiyerlerinin hiçbirisinde asit oluşturmazlar.

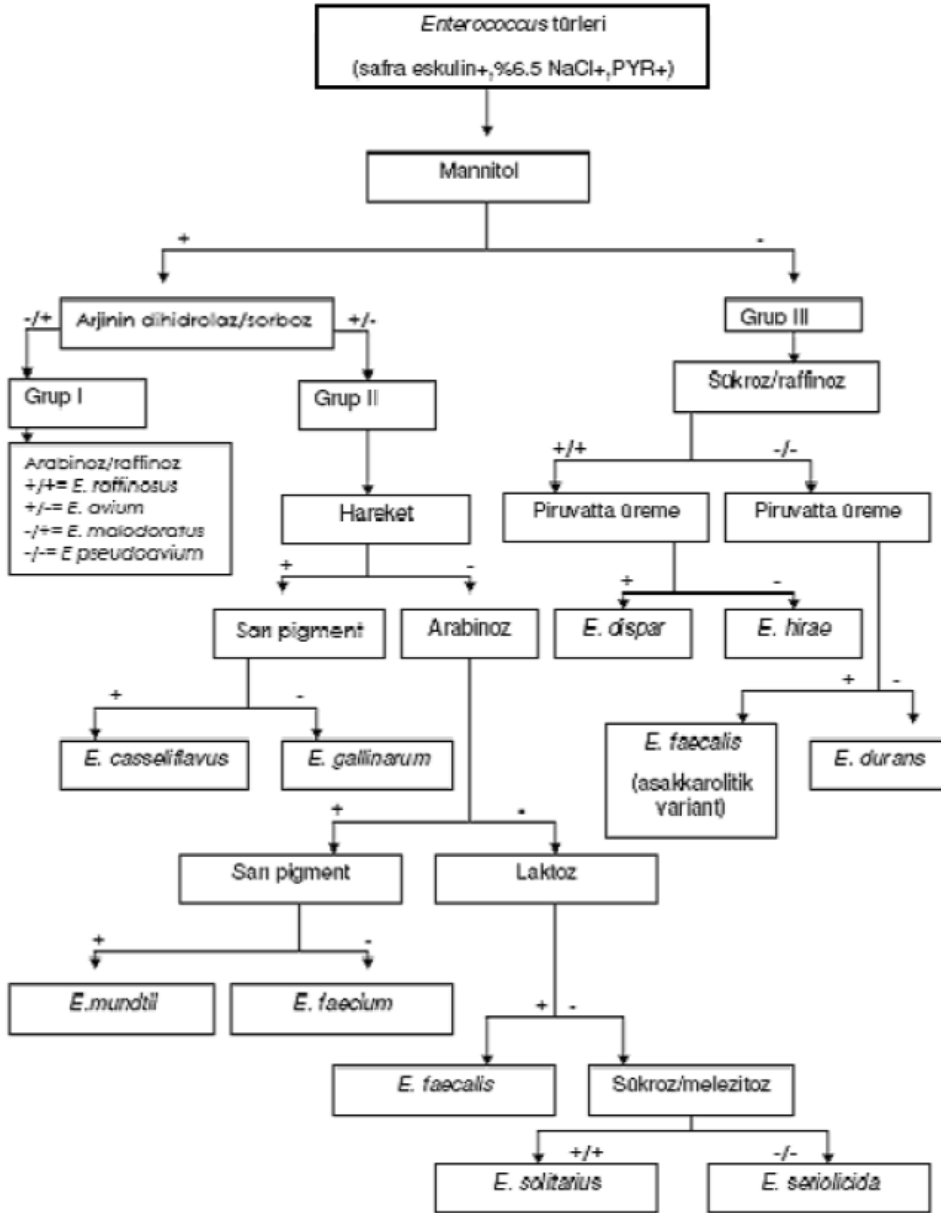
Grup 4: *E. sulfureus*, *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve *E. cecorum* bu grupta bulunmaktadır. Bu gruptaki türler mannitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arginini hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E. cecorum* asit oluştururken, *E. sulfureus* asit oluşturmaz.

Grup 5: *E. columbae*, *E. canis*, *E. moraviensis* bu grupta bulunur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize etmezler, monnitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler (32, 34) .

Çizelge 2.3. Enterokok türlerinin fenotipik özellikleri (31, 33).

Grup, Tür	Grup D Antijen	Şafra eskulin %6,5				Asit Üretimi														
		agarda üreme	NaCl'de üreme	10°C'de üreme	45°C'de üreme	Sarı pigment	LAP	PYR	Hareket	ADH	HIP	GLU	MNLT	SORB	ARB	SBTL	RAF	SUK	PRV	MPC
Grup I																				
<i>E. avium</i>	+	+	+		+	+	+	-	-	-	D	+	+	+	+	+	-	+	+	D
<i>E. gilvus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-
<i>E. malodoratus</i>	+	+	+		-	+	+	-	-	-	D	+	+	+	-	+	+	+	+	D
<i>E. pallens</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E. pseudoavium</i>	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
<i>E. raffinosus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	D
<i>E. saccharolyticus</i>	-		+			+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+
<i>Enterococcus sp</i>	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-
Grup II																				
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-
<i>E. faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	D	D	+	-	-
<i>E. casseliflavus</i>	+	+	+		+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	D	+	+	D	+
<i>E. gallinarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+
<i>E. mundtii</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	D	+	+	-	-
<i>E. haemolyticus</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+
<i>Enterococcus sp</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
Grup III																				
<i>E. dispar</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	D	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. durans</i>	+	+	+		+	+	+	-	-	+	D	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. hirae</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-
<i>E. ratti</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	D	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. villorum</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Grup IV																				
<i>E. asini</i>	+	+	-	D	D	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	D
<i>E. cecorum</i>	-		-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-
<i>E. sulfuricus</i>	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+
<i>E. phoeniculiicola</i>	-	-	-	-						-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Enterococcus sp</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Grup V																				
<i>E. columbae</i>	-	+	+		+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>E. canis</i>		+	+		+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	D	+	+
<i>E. moraviensis</i>	+	+	+	+	-	+	D	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+

LAP: lösin aminopeptidaz; PYR: pirohidroksil arilamidaz; ADH: arginin dihidrolaz; HIP: hipurat hidrolizi; GLU: glukoz; MNLT: mannitol; SORB:sorboz; ARB: arabinoz; SBTL:sorbitol; RAF: raffinoz; SUK: sukroz; PRV: piruvat; MPC: metil-alfa-D-glukopirazonit; D: değişken



2.2.4. Genom Özellikleri ve Genetik Bilgi Transferi

Hastane enfeksiyonlarından en sık izole edilen *E. faecalis*, *E. faecalis* V583, ve *E. faecium*, *E. faecium* ATCC BAA-427, suşlarının tam genom analizi yapılmıştır. Enterokokların G+C içeriği %37-45 arasındadır (35).

E. faecalis ve *E. faecium* suşlarında, virulans genleri ve ilaç direnci ile ilgili bilgi transeferinde yol oynayan, çok sayıda plazmid, transpozon, integre plazmid geni ve faj bölgesi bulunmuştur.

Enterokoklar ayrıca konjugatif transpozonlar aracılığı ile de genetik bilgi değişimi yapabilirler. Transpozonlar genellikle eritromisin, tetrasiklin, gentamisin ve diğer aminoglikozidler gibi ilaçlara direnç genleri taşırlar (35).

2.3. Virulans Faktörleri

Enterokoklar, düşük virulanslı bakterilerdir. Klasik bir virulans faktörü olmamasına rağmen enterokokların çok sayıda antimikrobiyal ajana dirençli olması, geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi alan hastalarda yaşamalarına ve çoğalmalarına imkan tanıyarak süperenfeksiyonlara yol açması ve özellikle glikopeptide dirençli suşların hastanede yayılması nedeniyle enterokoklar üzerinde yapılan çalışmalara önem verilmiştir (31, 36). Enterokokların en önemli virulans faktörleri şunlardır:

2.3.1. Hemolizin ve Sitolizin

Önceleri hemolizin olarak tanımlanan sitolizin eritrositlere karşı litik aktivite gösteren bir sitotoksik proteindir, hemolitik özellik taşımaktadır. Sitolizin kodlayan gen bölgesi plazmid üzerinde ya da bakteriyel kromozoma entegre olarak bulunabilmektedir (31). İmmün sistem üzerinde makrofaj ve polimorfonükleer lökositlere zarar verici etkisi olduğu ve direkt doku harabiyeti yapabildiği gösterilmiştir. Ayrıca çok sayıda Gram pozitif bakteriyi etkileyebilen bakteriyosin olarak da işlev gördüğü gösterilmiştir. Toksinin insan ile at kanlı agarlarda hemolitik aktiviteye sahipken, koyun eritrositlerinde ve Gram negatif bakterilere karşı etkili olmayışı klinik laboratuvarlarda tanısal açıdan önemli bir özelliktir. Bazı ökaryotik hücreler için toksiktir (31, 36, 37).

2.3.2.Jelatinaz

Enterokoklar jelatinaz enzimin varlığı ilk kez 1964'te *E. faecalis* suşlarında gösterilmiştir. Genel olarak tüm izolatların yaklaşık olarak %45-68'inde jelatinaz üretiminden sorumlu olan "fsr" gösterilmiştir. Jelatinaz üreten suşların akut toksik etkilerinin üretmeyen suşlara kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir (37, 38).

2.3.3.Enterokokal Surface Protein (ESP)

Esp, bakteriyemi ve endokardit ile ilişkili yüksek moleküler ağırlığa sahip, konjugasyonla enterokok izolatları arasında aktarılabilir özelliğe sahiptir. *E. faecalis*'in mesane epiteline yapışmasını sağladığı gibi biyofilm oluşumuna da sebep olduğu gösterilmiştir. Karboksil ucu hücre duvarına tutunmayı sağlarken, proteinin iç kısmında tekrarlayan ünitelerden oluşan ve moleküle uzayıp kısalabilme özelliği kazandıran bölge bulunmaktadır. Bu proteinin bakterinin immün yanıtı kaçırmayı kolaylaştırdığı düşünülmektedir (36, 38).

2.3.4. Agregasyon Faktörü (Af)

Agregasyon faktörü bir yüzey proteindir. Hücre-hücre temasını düzenleme, hücre dışı matriks proteinlerine adezyonla konak hücreye yapışma ve hücre yüzey hidrofobitesini arttırma gibi özellikleri ile virulansa katkıda bulunur. Agregasyon faktörü, enterokoklara kalp kapakları ve böbrek epitel hücrelerine bağlanma ve bu sayede endokardit ve üriner sistem enfeksiyonu oluşturma yeteneğini sağlamaktadır. Af'ye sahip enterokoklar, kompleman reseptörleri aracılığı ile nötrofillere opsonizasyondan bağımsız olarak bağlanırlar. Bu bağlanma bakterinin nötrofiller tarafından öldürülmesini engeller. Af plazmid transferini kolaylaştırır. Ayrıca kateter enfeksiyonlarında katetere tutunma yeteneği sağlamaktadır (4, 7, 36).

2.3.5. MSRCRAMM Ace (Microbial surface component recognizing adhesive matrix molecule adhesin of kollagen from Enterococci)

MSRCRAMM Ace, hücre dışı matriks proteinlerine bağlanmayı sağlayan protein yapıda bir adhezindir. Enterokoksik enfeksiyonlarda, özellikle *E. faecalis* endokarditlerinde yaygın olarak görülmektedir (38).

2.3.6. Lipoteikoik Asit (LTA)

LTA, Lipoteikoik asit, grup D ve enterokokların yapısal antijeni olup immün cevabın düzenlenmesine yol açan TNF ve IFN yapımını uyararak virulansta rol oynar. AS-48 plazmidle kodlanır, bazı *E. faecalis* suşları tarafından salınan bir bakteriyosindir. Litik aktiveteye sahiptir. Tümör nekroz faktör ve interferon salınması neden olarak, immün cevabın düzenlenmesini sağlar. *E. faecalis* suşlarında adhezif özelliği gösterilen LTA'nın donör hücre tarafından üretilen agregasyon faktörü için alıcı hücrede reseptör olarak fonksiyon gördüğü ve bu yüzden plazmid transferi ve agregat oluşumunu kolaylaştırarak *E. faecalis*'in virulansına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (8, 36, 37).

2.3.7. Süperoksit

E. faecalis suşlarının büyük çoğunluğu ve bazı *E. faecium* türleri tarafından sentezlenmektedir. Süperoksit üretiminin bakterinin yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir. Enterokoksik bakteriyemi ve endokarditli hastalardan izole edilen klinik suşların daha fazla süperoksit radikali ürettiği gösterilmiştir (7, 36, 37).

2.3.8. Seks Feromonları

Seks feromonları kromozomda kodlanan, 7-8 amino asit uzunluğunda küçük, hidrofobik peptitlerdir. *E. faecalis*'te sinyal peptitleri olarak işlev görürler. Antibiyotik direnci ve sitolizin gibi virulans faktörleride seks feromon sistemi ile *E. faecalis* suşları arasında yayılabilir (38, 39).

2.3.9. Hyaluronidaz

Hyaluronidaz, bağ dokusunun önemli yapıtaşı olan hyaluronik asiti tahrip ederek doku hasarına yol açan bir enzimdir. Baę dokuda bakterinin yayılmasını sağlar. Ayrıca hyaluronik asidin degradasyon ürünü olan disakkaritler de bakteriler için besin kaynağı olabilir (18, 22).

2.3.10. Kapsül, Hücre Duvarı Polisakkaritleri

E. faecalis izolatlarında yaygın olarak üretilen kapsül polisakkaritlerini kodlayan gen bölgeleri bulunmaktadır. Kapsülün, *epa* ve *cps* operonlarında üretilen polisakkarit olduğu düşünülmektedir. Bakterinin immün yanıtı kaçmasını kolaylaştırarak virulansa katkıda bulunur (37, 38).

Enterokoklarda hücre duvarı, beta-D glikoz-1-fosfat, teikoik asit ve tetraheteroglikan komponentlerinden oluşur. İmmünte için hedef rolü oynarlar. Bu sebeple aşı oluşturmadaki önemleri araştırılmaktadır (36, 37).

2.3.11. AS-48

E. faecalis S-48 suşundan izole edilmiştir. Peptit yapılı bir bakteriyosin olup birçok bakteriye karşı sitolitik aktivite gösterir. Hedef hücrede sitoplazmik membran potansiyelinin bozulmasına neden olabildiği düşünülmektedir (38, 39).

2.3.12. Antibiyotik Direnci

Nozokomiyal enterokokal enfeksiyonlar, öncelikle hastanın hastaneye yatışından kısa bir süre sonra, antibiyotik dirençli, sitolitik toksin oluşturma gibi virulans özelliklerine sahip suşlar, antibiyotik kullanımı sonucu duyarlı suşların ortadan kalkmaları ile birlikte sayıca artmakta ve sonraki aşamada intestinal floraya hakim olması ile başlamaktadır. Bu suşlar ekzojen kökenli enfeksiyonlara yol açarlar. Sitolitik toksin ve jelatinaz gibi diğer faktörlerin etkisi ile doku invazyonu gerçekleşir (5, 7).

2.4. Enterokokların Neden Olduğu Enfeksiyonlar

Son yıllarda enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar belirgin şekilde artmış olup, özellikle hastane enfeksiyonlarına neden olan etkenler arasında ilk sıralarda yer almaya başlamıştır. Enterokoklar aslında çok virulan değildir. Özellikle hastaneye yatırılan yaşlı, immün yetmezliği ve ciddi hastalığı olanlarda hastalık oluşturmaktadır. Üriner sistem enfeksiyonları en sık rapor edilen enfeksiyonlardır. Tüm enterokok enfeksiyonlarının %80-90'ından *E. faecalis*, %5-15'inden ise *E. faecium* sorumludur. *E. gallinorum*, *E. casseliflavus*, *E. avium* ve *E. raffinosus* gibi diğer enterokok türleri klinik örneklerin %5'inden izole edilmiştir (6 - 8).

Enterokokların neden olduğu başlıca enfeksiyonlar;

1. Bakteriyemi
2. Üriner sistem enfeksiyonları
3. Endokardit
4. İntraabdominal ve pelvik enfeksiyonlar
5. Kemik ve yumuşak doku enfeksiyonları
6. Santral sinir sistemi enfeksiyonları
7. Solunum sistemi enfeksiyonları
8. Neonatal enfeksiyonlar

Bu enfeksiyonlar içinde en çok problem yaratan enterokok bakteriyemidir (18).

2.4.1. Bakteriyemi

Enterokokların doku faktörünü uyararak fibrin üretimi ve trombosit agregasyonunu arttırması, agregasyon maddesi salgılayarak endotel başta olmak üzere hücrelere bağlanması, zedelenmiş kalp kapakçıklarındaki fibrinonektine direkt adhere olabilmesi ve serotonin salınımını etkileyerek trombosit agregasyonunu arttırması, bakteriyemi gelişimine zemin hazırlayan faktörlerdir. Enterokokal bakteriyemide genellikle mortalite yüksektir. Oranın yüksek olmasının nedeni çoğunlukla altta yatan faktörlere bağlıdır. Enterokokal bakteriyeminin en sık nedeni üriner sistem enfeksiyonlarıdır (%19-24). Diğer önemli kaynakları ise intraabdominal enfeksiyonlar, hepatobiliyer sistem, özellikle diyabetik ayak ve dekübit ülserleri olmak üzere deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarıdır (40, 41). Ayrıca

intravasküler kateter ve yanık yaraları da önemli kaynaklar arasındadır. Solunum sistemi nadiren enterokokal bakteriyemi için bir kaynaktır. Enterokokal bakteriyemiler %40'a varan oranlarda polimikrobiyaldir ve mortaliteleri yüksektir (41, 42).

2.4.2. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Enterokokların en sık neden olduğu enfeksiyonlardır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında enterokoklar en sık idrar kültürlerinden izole edilirler. Genellikle nozokomiyal enfeksiyonlara yol açarlar. ABD'de nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonları arasında enterokoklar ikinci sırada yer almaktadır. Üriner sistem girişimleri, kateterizasyon, özellikle sefalosporinler olmak üzere daha önceden antibiyotik kullanımı ve diğer genitoüriner patolojiler en önemli risk faktörleridir. Erkek olmak da, enterokok ve diğer Gram pozitif etkenler ile üriner enfeksiyon için bir risk oluşturmaktadır. Piyelonefrit, komplike olmayan sistit, perinefritik apse veya prostatit etkeni olabilirler (43, 44).

2.4.3. Endokardit

Enterokoklar, bakteriyel endokarditlerin %5-15'ini oluşturur. Tüm endokarditlerin üçüncü en sık nedenidir. Endokardit, altta yatan bir kapak hasarı, prostetik kapak, damar içi ilaç kullanma alışkanlığı gibi predispozisyon varlığında gelişebileceği gibi, hazırlayıcı bir faktör olmadan da gelişebilir. Toplumdan kazanılmış bakteriyemilerde 1/3 oranında iken, nozokomiyal bakteriyemilerde %1 oranındadır. Kapak hastalığı ve intravenöz ilaç bağımlılığı risk faktörleridir. Çoğunlukla sol taraf endokarditine neden olur ve mitral kapak, aort kapağına göre daha sık tutulur. Buna ilaç bağımlılarında görülen endokarditler de dahildir. Normal kapak endokarditine de neden olabilir (45 - 47).

2.4.4. İntraabdominal ve Pelvik Enfeksiyonlar

Enterokoklar bağırsakta bulunan diğer aerob ve anaerob bakterilerle birlikte polimikrobiyal floranın bir parçası olduğu için ikinci sıklıkta izole edildikleri enfeksiyonlar intraabdominal enfeksiyonlardır. Bu enfeksiyonlarda, *E. coli* veya *Bacteroides spp.*'e göre

daha az oranda bakteriyemi yaparlar. Enterokokların mikst intraabdominal ve pelvik enfeksiyonlardaki rolü tam olarak aydınlatılmamış olsa da açıkça bilinen, bu mikroorganizmaların siroz veya nefrotik sendromlu hastalardaki spontan peritonit ve peritoneal diyalizli hastalardaki peritonitin etkeni olduğudur (47).

2.4.5. Kemik ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Enterokoklar sellülit veya diğer derin doku enfeksiyonlarına nadiren neden olabilirler. Bu mikroorganizmalar daha çok cerrahi yara enfeksiyonu, dekübit ülseri, diyabetik ayak enfeksiyonu gibi mikst enfeksiyonlardan birine neden olabilir. Kronik osteomyelitlerde süperenfeksiyonlara neden olabilmektedir (31, 47).

2.4.6. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları

Sağlıklı erişkinlerde enterokoklar nadiren menenjit etkenidir. Enterokokkal menenjit daha çok kafa travması, nörosirürjikal girişim sonrası veya santral sinir sisteminde anatomik defekti olan hastalarda görülür. Ayrıca bakteriyemiler, AIDS ve akut lösemi gibi immünsüprese hastalarda da VRE menenjiti görülebilir (47, 48).

2.4.7. Solunum Sistemi Enfeksiyonları

Enterokoklara bağlı solunum yolu enfeksiyonları oldukça nadirdir. Enterokokların neden olduğu pnömoni ve akciğer apsesi olguları genellikle şiddetli hastalığı olan ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan olgulardır (47).

2.4.8. Neonatal Enfeksiyonlar

Enterokoklar, menenjit veya baktereminin eşlik ettiği ateş, letarji ve solunum güçlüğü ile karakterize yenidoğan sepsisine neden olabilir. Prematürite düşük doğum ağırlığı, enteral beslenme ve intravasküler kateterizasyon enfeksiyon riskini artırmaktadır. *E. faecalis* veya *E.*

faecium'un etken olduğu sepsis daha sık prematür veya düşük doğum ağırlıklı bebeklerde özellikle nazogastrik tüple beslenme, intravasküler kateter bulunması gibi durumlarda görülür (43, 47).

2.4.9. Diğer Enfeksiyonlar

Enterokoklar diyabetik hastalarda endoftalmite neden olabilirler. İleri yaş ve kronik hastalığı olanlarda solunum sistemi enfeksiyonlarına ve periodontitis gibi oral kavite enfeksiyonlarına da nadiren yol açabilir (47).

2.5. Enterokok Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

Enterokoklar son yıllarda tüm dünyada giderek artan sıklıkta hastane enfeksiyonu salgınlarına yol açmışlardır. Epidemiyolojik çalışmalar, enterokokların hastadan hastaya ve hatta hastaneler arası yayılabilmesinde, bu bakterilerin normal bağırsak florasında bulunmasının temel risk faktörü olduğu bu sebeple de endojen ve ekzojen kaynaklı enfeksiyonlara kolaylıkla yol açabildiği düşünülmüştür. Enterokoklar arasında en çok izole edilen tip olan *E. faecalis*'in hastane enfeksiyonlarında %85-95'lik oran ile en yüksek insidansa sahip olan tür olduğunu, bunu bağırsak florasında ikinci sıklıkta görülen *E. faecium*'un %5-10 oranı ile izlediğini göstermiştir. Ancak VRE olgularında *E. faecium* ilk sıraları almaktadır (49, 50).

Enterokoklarda beta-laktam antibiyotiklere ve aminoglikozidlere 1980'li yıllarda direncin ortaya çıkması üzerine vankomisin uzun yıllar tek uygun antibiyotik olarak kullanılmıştır. 1986 yıllarında İngiltere ve Fransa'dan vankomisin dirençli enterokokların sebep oldukları enfeksiyon kliniğine ait bilgiler elde edilmeye başlansada VRE'ler ilk kez 1988 yılında Uttley ve arkadaşları tarafından İngiltere'den bildirilmiştir. Bunu diğer Avrupa ülkeleri ve ABD'den bildirilen olgular ve VRE epidemileri izlemiştir. Ülkemizde ilk olarak 1998'de Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Pediatrik Hematoloji servisinde yatan malign histiositoz olgusundan VRE izole edilmiştir (18, 19). NNIS tarafından yayınlanan rapora göre 1989-1993 yılları arasında nozokomiyal VRE enfeksiyonları %0.3'ten %7.9'a yükselmiştir. Yoğun bakım ünitelerinde ise bu oran %0.4'ten 34 kat artarak %13.6'ya ulaşmıştır. 1990-1992 yılları arasında, hastane enfeksiyonları içerisinde enterokokların, *E.coli* ve

Stafilokoklardan sonra yaklaşık olarak %10'luk bir insidans ile üçüncü sıklık da yer aldığı bildirilmiştir. Farklı hastanelerde yapılan çalışmaların sonuçlarının açıklandığı bildiriye, enterokokların hastane kökenli bakteriyemilerin %9'u, cerrahi yara enfeksiyonlarının %13'ü, üriner sistem enfeksiyonlarının %12-16'sından sorumlu olduklarını, enfeksiyonların %60'dan fazlasının da ekzojen kaynaklı olduğunu ve yarısından fazlasının da yoğun bakım ünitelerinde görüldüğü belirtilmiştir (49, 50) .

Diğer taraftan ABD'den NNIS'nin verilerinde; hastanelerde 1989-1997 yılları arasındaki peryotta VRE izolasyon oranlarının; yoğun bakım ünitelerinde görülen hastane enfeksiyonlarında %0.4 ten %23.2'ye, diğer ünitelerde ise %0.3'ten %15.4'e yükseldiği bildirilmiştir (49, 50). Aynı birimin 1998 yılı raporunda ise, yoğun bakım servislerinde görülen hastane enfeksiyonlarında %22.6 olan VRE insidansının, 1999 yılında %25'e ve 2003 yılında da %28.5'e yükseldiği gösterilmiştir. Bu bildirimler dışında genel olarak ABD'de 2000'li yılların başlarında hastane enfeksiyonlarında VRE insidansının %25'in üzerine çıktığı, hastanede yatan hastalarda VRE kolonizasyon oranının da %5-18 arasında değiştiği, ancak hastane dışındaki popülasyonda intestinal kolonizasyon olmadığı bildirilmiştir. Benzer şekilde Kanada'dan bildirilen 7 yıllık VRE surveyans raporuna göre; 2001-2003 yıllarında %0.5 olan enterokok izolatları arasında VRE sıklığı, 2006 yılında %3.3'e çıkmıştır (50, 51).

Avrupa'da da hastane enfeksiyonlarında, VRE epidemiyolojisinde, ABD'den küçük farklar olmakla beraber benzer artışlar görülmüştür. European Antimicrobial Surveillance System (EARSS)'inin 1998 verilerine göre bakteriyemiye sebep olan *E. faecium* izolatları arasında en yüksek vankomisin direnç oranı İngiltere'de %24 ve İtalya'da ise %10 olarak belirlenmiştir. Ancak aynı sistemin 2007 verilerine göre en düşük VRE insidansı İskandinav ülkelerinde %1 olarak verilirken, Yunanistan ve Portekiz gibi Güney Avrupa ülkelerinde VRE oranının %45'in üzerine çıktığı belirtilmiştir (50). İtalya'da ise 1995 yılında VR *E. faecium* oranı %9 iken, 2001'de %15'e, 2003'de %24'e çıkmış, 2007 yılında ise %11 olarak bildirilmiştir. *E. faecalis* 'lerde ise oran %5'in altındadır (50, 51). Almanya'da EARSS verilerine göre 2001'de VR *E. faecium* oranı %1 iken, 2007 yılında bu oran %15'e çıkmış ancak VR *E. faecalis*'lerde bu oran %1'in altında kalmıştır. Fransa'da 2005 yılında *E. faecium* oranı %5 olarak bildirilmiştir. İngiltere'de ise 2007 yılında enterokokların sebep olduğu bakteriyemilerde VRE oranı %8.5-12.5 arasında bulunmuştur. Bu oran *E. faecium* için %20-25, *E. faecalis* için %1.6-2.5'tir. İrlanda'da VR *E. faecium* oranı 2005 yılında %30-35 olarak bildirilmekteyken, VR *E. faecalis*'lerde ise bu oran %5'in altında bulunmuştur (51, 52).

Enterokoklar çevre koşullarına dayanıklı olduklarından her çeşit ortamda canlılıklarını sürdürebilirler. Bu nedenle hastanelerde üretilen hizmetin kalitesi ve yatış endikasyonu alan

hastaların özellikleri enterokok enfeksiyonunun artışında önemli etkenlerdir. Özellikle altta yatan ciddi bir hastalığı olan veya immünsüprese hastalar, onkoloji hastaları, transplantasyon hastaları risk grubu içerisinde dirler. Örneğin transplantasyon bekleyen hastalarda endojen florada VRE taşıyıcılık oranı %3.4 iken; transplantasyon sonrası hastalardaki VRE oranının %44'e çıktığı bildirilmiştir. Hastane ortamında bulunan stetoskop, kapı tokmağı, yatak, komidin gibi cansız eşyalar üzerinde uzun süre yaşayabilmektedir. *E. faecium* ve *E. faecalis* kökenlerinin polivinil kloridde; hepsinin 1 hafta, iki kökenin 4 ay hayatta kaldıkları gözlemlenmiştir (52). Hastanelerde tıbbi alet ve malzemeler, hasta odasında bulunan eşyalar (yatak, masa, kapı kolları, elektrik düğmeleri vb.) ve yüzeyler de önemli VRE kaynaklarıdır. Elektrikli termometre ve EKG elektrodu gibi, hastalarda ortak kullanılan aletler VRE yayılımından sorumlu olabilmektedirler (52).

2.6. Enterokoklarda Antimikrobiyal Direnç

Enterokoklarda antimikrobiyal direnç iki ana başlık altında incelenebilir (47).

İntrinsik (Doğal Direnç)

Aminoglikozid direnci (düşük düzeyde direnç)

B- laktamlar (yüksek MİK değerleri)

Linkozamidler (düşük düzeyde direnç)

Trimetoprim - sülfometoksazol (sadece in vivo direnç)

Kinupristin / dalfopristin (*E. faecalis* suşları streptogramin A'ya intrinsik olarak dirençli)

Kazanılmış Direnç

Aminoglikozid direnci (yüksek düzeyde direnç)

B- laktamlar (PBP' lerde değişiklik)

Hücre duvarına etkili ajanlar (tolerans)

Florokinolonlar

Linkozamidler (yüksek düzeyde direnç)

Makrolidler

Penisilin ve ampisilin (B- laktamaz)

Rifampisin

Tetrasiklin
Vankomisin
Kinupristin / dalfopristin
Linezolid
(47, 53).

2.6.1. İntrensek Direnç

2.6.1.1. Beta-Laktam Antibiyotiklere İntrensek Direnç

Enterokoklardaki intrensek penisilin direnci beta-laktam antibiyotiklere düşük bağlanma afinitesi gösteren PBP 5 (penisilin bağlayan protein) enziminin varlığına bağlıdır. *E. faecalis* için penisilin MİK değeri diğer streptokoklardan 10-100 kat daha yüksektir.

E. faecium suşları, *E. faecalis* suşlarına oranla penisiline daha dirençlidir. Yarı sentetik ve penisilinaza dirençli beta-laktam grubu antibakteriyel ilaçlara da direnç, oldukça yüksek bulunmuştur (53, 54). Enterokoklar beta-laktam antibiyotiklere karşı karakteristik olarak tolerans gösterirler. Yani tedavi dozunda minimal bakterisid konsantrasyonunun minimal inhibitör konsantrasyonuna oranı (MBK/MİK) 32'nin üzerindedir. Ayrıca, hemen hemen izole edilen tüm enterokoklar, beta-laktamlara, vankomisin ve teikoplanin de dahil diğer hücre duvarına etkili ajanlara karşı tolerandır. Kısa süreli maruziyet hızla tolerans kazanılmasına neden olmaktadır. Bu nedenle bu ajanlar enterokoklara karşı bakteriyostatik etkilidir. Üriner sistem enfeksiyonları gibi bazı enfeksiyonlarda tek başına kullanılabilirler de, menenjit, endokardit gibi bakterisidal aktivite gerektiren enfeksiyonlarda standart kombinasyon tedavisi kullanmak gereklidir. Bu antibiyotiklerin aminoglikozidlerle kombinasyonu sinerjistik bakterisidal etki göstermektedir. Dolayısıyla beta-laktam antibiyotikler enterokoklara karşı bakterisidal değil, bakteriyostatik etkilidir (47, 54).

2.6.1.2. Aminoglikozid Direnci

Enterokoklar düşük düzeyde aminoglikozid direnci gösterirler. Bu intrinsek direnç hücre duvarına geçebilme yeteneğindeki azlıkla ilişkili olup hücre duvarına etkili ajanlarla verilerek yenilebilir (47, 55).

2.6.1.3. Trimetoprim - Sülfometoksazol Direnci

Çogu enterokok suşu in vitro şartlarda trimetoprim - sulfometoksazole duyarlı olduğu halde bu ajan in vivo şartlarda enterokoklara etkisizdir (47, 56).

2.6.1.4. Diğer Antibiyotikler

Enterokoklar linkozamid grubu antibiyotiklere karşı da düşük düzeyde direnç gösterirler. Ayrıca enterokokların ekzojen folatı kullanma yetenekleri olduğundan trimetoprim sülfametaksazol (TMP-SMX)' e de intrinsek olarak dirençlidirler. İn-vitro şartlar da duyarlı görülseler de, invivo şartlarda etkisiz olduklarından antibiyotik duyarlılık testlerinde TMP-SMX kullanılmamalıdır. *E.faecalis* intrinsek olarak quinupristin/dalfopristine'de dirençlidir. *E. gallinorum*, *E. casseliflavus* ve *E. flavescens*'te intrinsek olarak vankomisine düşük düzeyde direnç gösterirler (47, 55).

2.6.2. Kazanılmış Direnç

Enterokokların bir çok antibiyotiğe karşı kazanılmış direnç mekanizmaları da bulunmaktadır. Kazanılmış direnç genellikle bir DNA mutasyonu veya transpozon, plazmid veya yeni bir DNA segmentinin genoma transferi sonucu gelişir. Bu mutasyon sonucu oluşan dirençli genler enterokoklar arasında veya başka mikroorganizmalara transfer edilebilir. Bu da yeni direnç determinantlarının kazanılmasını kolaylaştırır. Tetrasiklin direnci enterokoklarda konjugasyon yoluyla kazanılan direncin en tipik örneklerindedir (47, 56).

2.6.2.1 β -laktam Direnci

İlk olarak 1983' te Texas' da β -laktamaz üreten *E. faecium* suşu tanımlanmıştır. Sonraları ABD' de diğer merkezlerden ve Buenos Aires' den başka suşlar bildirilmiştir. β - laktamaz üretimi, enterokoklarda sık görülmeyen bir özelliktir ve bu yüzden terapötik sorun yaratmaz. Enterokoklar iki ayrı direnç mekanizması ile β -laktam antibiyotiklere direnç kazanır. Direncin major mekanizması, kromozomal olarak düşük afiniteli PBP5 miktarının artması sonucu penisilinin hücre içine girişinin azalmasıdır (47, 56).

Penisilin direnci, enterokoklarda bulunan PBP5 miktarı ile doğru orantılıdır ve sıklıkla *E. faecium* suşlarında görülür. PBP5 sentez yeteneğinin kaybının, penisiline oldukça dirençli suşların hiper duyarlı olmasına neden olduğu gösterilmiştir. Enterokoklardaki β -laktamazlar penisilin, ampisilin, piperasilin ve diğer üreidopenisilinleri hidrolize eder; penisilinaza dirençli penisilinleri, sefalosporinleri ve imipenemi etkilemez. Stafilokoklardan farklı olarak, enterokoklarda β -laktamaz üretimi düşük seviyede ve inokülüm bağımlıdır (47, 53, 55).

2.6.2.2. Aminoglikozid Direnci

Enterokoklar aminoglikozidlere karşı yüksek düzeyde direnç kazanabilirler. Bu tür direnç gösteren bakterilerde duvar sentezini inhibe eden bir antibiyotik ile aminoglikozid kombinasyonundan elde edilen sinerjistik etki kaybolmuştur. Enterokoklarda aminoglikozidlere karşı direnç iki farklı mekanizma ile ortaya çıkar (28):

a-İlımlı Seviyede Direnç (MİK=62-500 $\mu\text{g/ml}$): Genellikle düşük permeabiliteden dolayı gelişir. Aminoglikozidlerin hücre duvarı sentezini inhibe eden β - laktam grubu antibiyotiklerle kombine edilerek kullanımı ile bu tip direnç problemi aşılabılır (31, 47).

b-Yüksek Seviyede Direnç (MİK>2000 $\mu\text{g/ml}$): Aminoglikozidlerin ribozomdaki bağlanma bölgelerindeki değişiklik sonucu veya aminoglikozidleri inaktive eden enzimlerin sentezi sonucu oluşur. Yüksek düzeyli dirence yol açan bu iki yoldan aminoglikozid modifiye eden enzim üretimi en sık görülen direnç mekanizmasıdır. Gentamisine yüksek düzeyde dirençten sorumlu olan enzim bir füzyon proteindir. İki aktif bölgesi olan bu protein hem 6'-asetiltransferaz hem de 2' - fosfotransferaz aktivitesine sahiptir (31, 47).

2.6.2.3. Kloramfenikol Direnci

Enterokokların %20-42'si kloramfenikole dirençlidir ve dirençten sorumlu esas mekanizma, plazmid üzerinde “*cat*” geni ile kodlanan kloramfenikol asetil transferaz üretimidir. Ayrıca eflüks mekanizması da dirençte rol alabilir (47, 56).

2.6.2.4. Tetrasiklin Direnci

Dirençten sorumlu *tetM*, *tetQ* ve *tetN*, *tetL* gibi çok sayıda gen tanımlanmıştır. *tetL* geni bir plazmid de taşınır. Bu genler eflüks sistemini kodlayabildiği gibi ribozomal kaynaklı dirence de sebep olabilir. Tetrasiklinlerin hücre dışına pompalanmasını sağlayan gen, tetrasiklin ile temas sonucu indüklenir. Tetrasiklin direnci enterokoklarda konjugasyon yolu ile kazanılan direncin en tipik örneğidir (38, 47, 56).

2.6.2.5. Kinolon Direnci

Direnç *gyrA* (giraz) ve *parC* (topoizomeraz) genlerindeki mutasyonlara bağlı gelişir. Enterokokal suşların çoğunluğu kinolonlara orta duyarlılık veya direnç gösterir (47, 56).

2.6.2.6. MLSB (Makrolid, Linkozamid ve B tipi StreptoGramin) Direnci

Genellikle 23S rRNA'nın metilasyonundan sorumlu *ermB* geni ile ilişkilidir ve metilasyon sonucu eritromisin ribozomlara bağlanamaz. *ermB* geni *Tn917* transpozonu ile çeşitli plazmidler üzerinde taşınabilmektedir. Ayrıca asetil transferaz veya eflüks mekanizması sonucu da oluşabilir (38).

2.6.2.7. Oksazolidinon Direnci

Çoklu ilaç direnci gösteren enterokoklar ile oluşan enfeksiyonlarda oksazolidinon grubu antibiyotik olan linezolid iyi bir seçenektir. Ancak 2002 yılında linezolid'e direnç bildirilmiştir ve bu dirençten 23S rRNA V domainindeki mutasyonlar (G-2576- T) sorumlu tutulmaktadır (55, 56).

2.7. Glikopeptid Direnci

Enterokoklarda peptidoglikan sentezi için 2D-alanin molekülünün bir ligaz enzimi tarafından birbirine bağlanması, oluşan D-ala-D-ala' nın UDP-N-asetil muramil-tripeptide eklenerek UDP N-Asetil muramil-pentapeptidin oluşması ve buna da transglikozilasyon yoluyla mevcut peptidoglikanın eklenmesi gerekmektedir. Enterokoklarda vankomisin ve teikoplanin en çok kullanılan glikopeptitlerdir. Enterokoklarda, normal şartlar altında, peptidoglikan sentezinde, iki molekül D-Alanin bir ligaz enzimi ile bağlanır ve "D-Ala-D-Ala" yı oluşturur. Daha sonra UDP-N-asetil muramil tripeptide eklenerek UDP-N-asetil muramil pentapeptit meydana getirir. Bu peptid oluşmaya başlayan peptidoglikana bağlanır, kros bağların oluşumunu sağlar ve peptidoglikan tabakanın gücüne katkıda bulunur. Vankomisin pentapeptit prekürsör ünitesinin D-Ala-D-Ala kısmına yüksek affinite ile bağlanır ve peptidoglikan zincire bağlanmasını bloke ederek kros bağların oluşumunu önler. Ancak peptidoglikan yan zincirine D-Ala-D-Ala yerine ligaz enzimi ile D-Ala-D-Laktat veya D-Ala-D-Serin sentezlenerek bağlanması sonucunda, vankomisin buraya bağlanma yeteneği azalır, hücre duvarı sentezi devam eder ve sonuç olarak vankomisine karşı direnç gelişir. Direncin sınıflandırılması önceleri, fenotipik olarak, MİK değerlerine göre yapılmıştır. Günümüzde ise sınıflandırma spesifik ligaz genlerinin varlığına göre yapılmaktadır. *VanA*, *VanB*, *VanD* ve *VanG* tipi dirençte D-Ala-D-Laktat, *VanC* ve *VanE* tipi dirençte ise, D-Ala-D-Serin sentezlenmektedir (28, 47, 56).

2.7.1. *VanA* Glikopeptid Direnci

Vankomisin tarafından yüksek, teikoplanin tarafından ise zayıf indüklenebilir özellikte hem vankomisine (MİK \geq 64 μ g/ml) hem de teikoplanine (MİK \geq 16 μ g/ml) yüksek düzeyde

direnç durumudur. Bu dirençten esas olarak Tn1546 transpozonu ve bu transpozonla ilişkili elemanlar üzerinde taşınan *VanA* gen kümesi sorumludur. *VanA* gen kümesinin hem transfer edilebilen hemde transfer edilemeyen plazmidler ve bakteriyel kromozomlar üzerinde bulunabildiği bildirilmiştir. *VanA* geni esas olarak *E. faecium*'da tanımlanmıştır. Ancak başta *E. faecalis* olmak üzere, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. avium*, *E. mundtii*, *E. casseliflavus*, *E. raffinosus* ve enterokok dışı bazı türlerde bulunduğu gösterilmiştir (28, 57). Klinik anlamı en önemli olan direnç fenotipidir. Bu genlerin ekspresyonu sonucu, peptidoglikan prekürsörlerin terminalinde D-Ala-D-Ala yerine D-Ala-D-Laktat sentezlenmekte ve vankomisin bu bileşiğe daha düşük affinite ile bağlanmaktadır (28, 57). İndüklenebilir *VanA* direncinde yalnızca vankomisin varlığında oluşan PBP lerin artışı sonucunda beta-laktam antibiyotiklere karşı hiperduyarlılık meydana gelir. Bu da vankomisin dirençli enterokokların tedavisinde vankomisin–beta-laktam kombinasyonunun başarısını açıklamaktadır (57). Direnç vankomisin, teikoplanin, avoparsin ve ristosetin gibi glikopeptitler ve basitrasin, polimiksin B ve robenidin gibi nonglikopeptitler ile indüklenebilir (28, 47).

2.7.2. *VanB* Glikopeptit Direnci

Enterokoklarda *VanB* tipi glikopeptid direnci *VanA* ligaza yapısal benzerlik gösteren *VanB* ligaz ile oluşur. *VanB* proteini yine D-ala-D-ala-lac pentapeptidinin oluşumuna neden olur. Kromozomal yerleşimlidir. Ancak Tn1547, Tn5382 transpozonu ve plazmidler üzerinde de taşınarak transfer edilebildiği de bildirilmiştir. *VanB* tipi direnç taşıyan enterokok izolatları vankomisine değişken düzeyde direnç gösterirken (MİK=4->1000 µg/ml) teikoplanine duyarlıdır. *VanB* tipi direnç esas olarak *E. faecalis* ve *E. faecium* da tanımlanmıştır. Buna ek olarak nadiren *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* ve enterokok dışı bazı türlerin de *VanB* gen kümesi taşıdığı bildirilmiştir. *VanB* gen kümesinde bulunan 6 gen *VanA* kümesindeki genlerle homoloji gösterir. *VanA* gen kümesinden farklı olarak *VanB* gen kümesinde *VanZ* nin karşılığı yoktur. *VanB* gen kümesinde görevi tam olarak anlaşılamayan *VanW* geni mevcuttur. *VanRB-VanSB* sistemi Vankomisin tarafından indüklenir ancak teikoplanin tarafından indüklenmez. Bu nedenle *VanB* tipi direnç taşıyan suşlar teikoplanine duyarlıdır. *VanB* izolatlarının vankomisin tarafından indüklenmesi sonucunda teikoplanine de direnç geliştiği bildirilmiştir. Ayrıca bu suşlarda glikopeptid tedavisi altında teikoplanin direnci geliştiği de gösterilmiştir (28, 47, 57).

2.7.3. *VanC* Glikopeptit Direnci

VanC direnç fenotipinin özelliği vankomisine düşük düzeyde dirençli teikoplanine ise duyarlı olmasıdır. *VanC* tipi direnç, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ve *E. flavescens* suşlarında görülen intrensek bir direnç türüdür. Bu suşlarda hemen her zaman *VanC* geni bulunmasına rağmen vankomisin için MİK değeri genellikle 8-16 µg/ml arasındadır (intermediate). Bu direnç fenotipinin *VanC-1*, *VanC-2* ve *VanC-3* olmak üzere üç alt tipi bulunmaktadır ve genlerin türe spesifik olduğu düşünülmektedir. *VanC-1* *E. gallinarum*'da, *VanC-2* *E. casseliflavus*'ta, *VanC-3* ise *E. flavescens*'te daha sıktır. *E. casseliflavus* ile *E. flavescens* in yüksek olasılıkla aynı türü temsil ettiği kabul edilmektedir ve *VanC-2* ile *VanC-3* ün %98 oranında benzer olduğu gösterilmiştir. *VanC-1*, *VanC-2* / *VanC-3* ile %73, *VanA* veya *VanB* ile %37-39 oranında benzerlik gösterir. Kromozom üzerinde lokalize olan *VanC* operonu beş genden oluşmaktadır. *VanH* ve *VanHB*'nin homoloğu olan *VanT* hücre zarına bağlı bir serin rasemaz enziminin kodlanmasından ve D-Ser sentezinden sorumludur. *VanC* gen kümesinde *VanXYC*, dipeptidaz ve karboksipeptidaz enzimlerini kodlar. *VanRC* ve *VanSC* nin aminoasit dizileri *VanR* ve *VanS* ye sırasıyla %50 ve %42 oranında benzerlik gösterir. Fonksiyonları ise aynıdır. *VanC* gen kümesi D-ala-D-ser ile sonlanan peptidoglikan prekürsörlerinin sentezinden sorumludur. Buna ek olarak *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* da D-ala-D-ala sentezleyen bir sistemde bulunmaktadır. *VanC* fenotipinde vankomisine düşük düzeyde ve değişken direnç görülmesinin nedeni her iki sistemin birlikte bulunmasıdır. Daha fazla miktarda D-ala-D-ala üreten suşlar vankomisine daha duyarlıdır (28, 47, 38, 57).

2.7.4 *VanD* Glikopeptit Direnci

İlk kez 1991 yılında New York hastanesinde bir *E. faecium* izolatında *VanD* olarak tanımlanan yeni bir vankomisin direnç geni tanımlanmıştır. Bu suşlar 64-256 µg/ml vankomisin ve 4-32 µg/ml teikoplanin ile inhibe edilmiştir. Bu genin; *VanA* ve *VanB* ligaz genlerine %67 oranında benzerlik gösterdiği, kromozomda yerleştiği ve konjugasyonla diğer enterokoklara transfer edilemediği anlaşılmıştır. Ancak *VanD* suşlarında D,D dipeptidaz aktivitesi belirlenmemiştir ve karboksipeptidaz aktivitesi ise düşük düzeydedir. D,D-dipeptidaz aktivitesi bulunmamasına rağmen *VanD* gen kümesi *VanXD*, *VanRD*, *VanSD*, *VanHD* genlerini içermektedir (28, 58).

2.7.5. VanE Glikopeptit Direnci

VanE vankomisin direnç geni, vankomisine düşük seviyede dirençli (MİK 16 µg/ ml) ve teikoplanine duyarlı (MİK 0.5mg/ml) *E. faecalis* BM4405 suşunda tanımlanmıştır. Bu yeni direnç fenotipi intrinsik *VanC* tipi dirence benzer. Aminoasit dizisi *VanC*'ye %55, *VanA*'ya %45, *VanB*'ye %43 ve *VanD*'ye %44 oranında benzemektedir. Ancak *VanE* tipi direncin genetik belirleyicisi farklıdır ve interensek bir direnç tipi değildir. *VanE* geni kromozomda yerleşmiştir ve transfer edilemez (28, 47, 57).

2.7.6. VanG Glikopeptit Direnci

Bu direnç tipi *E. faecalis* WCH9 susunda tanımlanmıştır. Bu suş vankomisine düşük düzeyde (MİK=16µg/ml) dirençli, teikoplanine duyarlıdır (MİK=0.5 µg/ml). Bu direnç tipi transfer edilemez. *VanG* gen kümesinin ürünü diğer *Van* genlerinin ürünlerine %50 den daha az aminoasit dizilim benzerliği göstermektedir (28, 47).

Çizelge 2.5. Enterokoklarda glikopeptit direnci (47).

Karakter	Tip				
	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE
Genetik karakterler	Akkiz (Tn 1546)	Akkiz (Tn 1547)	İntrensek	Akkiz	Akkiz
Peptidoglikan prekursörün sonlanması	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser
MİK değeri (µg/ml)	64 - >1000	4 - >1000	2 - 32	16 - 64	16
Vankomisin					
Teikoplanin	16 - 512	0.5 - >32 †	0.5 - 1	2 - 4	0.5
Ligaz geni	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	<i>vanC-1</i> ve <i>vanC-2/</i> <i>vanC-3</i> ‡	<i>vanD</i>	<i>vanE</i>
Direnç genlerinin doğada bulunduğu bakteriler	<i>E. faecium, E. faecalis, E. durans, E. mundtii, E. avium, E. gallinarum, E. casseliflavus, Bacillus circulans, Streptococcus gallolyticus, § corynebacteria, arcanobacteria, lactococcus, oerskovia</i>	<i>E. faecalis, E. faecium, Strep. bovis, Strep. gallolyticus §</i>	<i>E. gallinarum</i> ve <i>E. casseliflavus/ E. flaveszens</i> †	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>
Enterokoktan laboratuvarında glikopeptid direncinin transfer edildiği bakteriler	<i>Strep. sanguis, Strep. pyogenes listeria, S. aureus</i>	<i>E. faecalis, E. faecium, ampisilin direnci ile beraber</i>			

†: *vanB* içeren izolatların çoğu in-vitro test edildiğinde teikoplanine duyarlıdır, ancak in-vivo ve in-vitro direnç gelişimi gösterilmiştir.

‡: *vanC-3* geni % 98 *vanC-2* geni ile benzerdir, *E. flaveszens* muhtemelen *E. casseliflavus* ile aynı tür.

§: Bu organizma daha önce *S. bovis*'in bir parçası olarak kabul edilmekteydi.

2.8. Enterokok Enfeksiyonlarında Tedavi

Enterokok enfeksiyonlarının tedavisi, ilginç antibiyotik duyarlılık özellikler göstermeleri ve bu bakterilerin duyarlılıklarının mikrobiyoloji laboratuvarınca doğru tespit edilememesi nedeniyle, oldukça zor ve karmaşıktır. Enterokokların sebep oldukları üriner enfeksiyonlar, peritonit ve yara enfeksiyonlarının çoğu ampisilin, penisilin veya vankomisin ile tedavi edilebilir. Bununla birlikte Beta-laktamaz üretimi, yüksek düzeyli aminoglikozid ve penisilin direnci geliştirmeleri ve glikopeptidlere direnç görülmesi klinisyenin tedavi seçeneklerini giderek kısıtlamaktadır (59). Penisilin G, ampisilin, vankomisin ve teikoplanin gibi hücre duvarına etkili ilaçlar, klinik olarak erişilebilir konsantrasyonlarda enterokokların çoğuna bakteriyostatik etkilidir. Enterokok enfeksiyonlarında bakterisidal etki klasik olarak bu hücre duvarına etkili ajanlardan biri ile streptomisin veya gentamisin kombine kullanımı ile elde edilir (31, 59).

Bakteriyostatik etkili ilaçlar immün sistemi baskılanmamış konakta oluşan üriner sistem, peritonit, yumuşak doku enfeksiyonu gibi derin yerleşimli ve intravasküler olmayan enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde yeterlidir. Penisilin G veya ampisilin duyarlı enfeksiyonlarda tek başlarına yeterli tedavi sağlar. Önerilen tedavi süresi 7-14 gündür. Ancak penisilin allerjik hastalarda veya yüksek düzeyli penisilin direnci varsa (özellikle *E. faecium*'da) glikopeptid antibiyotikler kullanılabilir. Nitrofurantoin enterokok suşlarının çoğunda etkili olduğundan (%90- 96) üriner sistem enfeksiyonlarında kullanılabilir. Fosfomisin de in vitro enterokoklara oldukça etkili olduğundan üriner enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilir (59, 60). Kinolonlar da nitrofurantoin gibi üriner sistem enfeksiyonlarında tek başına kullanılabilir. Ancak üriner sistem enfeksiyonu dışında başka bir enfeksiyon varsa kullanılmamalıdır. Levofloksasin, moksifloksasin, siprofloksasin ve ofloksasine göre enterokoklara karşı in vitro daha etkilidir. Ancak siprofloksasin dirençli enterokok suşlarına karşı, bu ilaçların da etkinliği azalmaktadır (31, 60, 61). Dirençli suşların gelişimine neden olacağından tek başına rifampisin kullanımından kaçınılmalıdır. Enterokoklarla gelişen endokardit ve menenjit gibi ciddi sistemik enfeksiyonların tedavisi sorun yaratmaktadır. Enterokokal endokarditli hastaların çoğunda tek başına penisilin tedavisi başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Bu tür enfeksiyonların tedavisi, enterokokların hücre duvarına etkili bir antibiyotik ile yüksek düzeyde direnç göstermedikleri bir aminoglikozid antibiyotiği içeren bakterisidal bir kombinasyon ile sağlanır. Endokardit tedavisinde günlük gentamisin dozunun iki veya üçe ve streptomisin dozunun ikiye bölünerek verilmesi önerilmektedir. Enterokokların neden olduğu endokarditlerin tedavisinde dört haftalık süre genellikle

yeterlidir. Ancak semptom süresi üç aydan uzun hastalarda, relapslarda, mitral ve prostetik kapak tutulumunda altı hafta süreli tedavi önerilmektedir. Enterokok endokarditi nedeniyle dört hafta 3mg/kg/gün'den daha yüksek dozda gentamisin kullanılan hastaların tümünde geri dönüşümlü nefrotoksisite ve streptomisin kullanılan hastaların %19'unda geri dönüşümsüz vestibüler toksisite geliştiği gösterilmiştir. Menenjitlerde ise iki-üç hafta süren tedavilere yanıt alınmaktadır (59, 60). VRE'ye karşı afinitesi ve BOS içine penetrasyonu oldukça iyi olan linezolid enterokoklara karşı bakteriyostatik olmasına rağmen VRE menenjitinde kullanılabilir (60). Aminoglikozidlere yüksek düzeyli direnç sahip suşların neden olduğu bakterisidal tedavi gerektiren enfeksiyonlarda, en iyi tedavi seçeneğinin ne olduğu henüz bilinmemektedir (60, 61).

VRE izole edilen hastalarda tedaviye başlamadan önce, kolonizasyon-enfeksiyon ayrımı yapılmalıdır. Lokal veya sistemik enfeksiyon bulgusu olmayan hastada yüzeysel alanlarda, değiştirilen intravasküler kateterlerden, intraperitoneal ve safra drenajlarından ve piyüri olmadan idrardan VRE izole edildiğinde, kolonizasyon olarak değerlendirilmelidir ve antibakteriyel tedaviye gerek yoktur (59, 61).

Yeni geliştirilen antibiyotiklerden bazıları (kinopristin-dalfopristin, linezolid, everninomisin, LY3328 (yeni bir glikopeptid türevidir) çoğul dirençli enterokokların tedavisi için çok olmasa da umut vericidir. Yeni kinolonlar, özellikle klinafloksasin ve sitafloksasin VRE'lere karşı, eski kinolonlara göre daha etkilidir. VRE ile oluşturulan deneysel endokarditlerde klinafloksasin tek başına veya penisilinle birlikte etkili bulunmuştur (59). Tüm bu çalışmalara rağmen etkili ve güvenilir bir tedavi henüz bulunamamıştır (31).

2.9. VRE' dan Korunma ve Kontrol Önlemleri

Enterokoklar normal GİS ve kadın genital sistem florasının bir elemanı oldukları için enterokokal enfeksiyonların çoğunun hastanın endojen florasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Enterokoklardaki vankomisin direncinde gözlenen dramatik artış nedeniyle VRE yayılımının önlenmesi ve korunma amaçlı çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Özellikle yoğun bakım ünitesinde, onkoloji veya transplantasyon servislerinde yatmakta olan hastalarda, uzun süre hastanede yatan veya çok sayıda antibiyotik verilen hastalarda VRE kolonizasyonu daha çok görülür. Ancak VRE dahil tüm enterokokların hastadan hastaya direk transferinin veya indirek olarak kontamine eller, kontamine yüzeyler ya da tıbbi cihazlar

yoluyla transferinin mümkün olduğu da gösterilmiştir. VRE yayılımının önlenmesi ve korunma amaçlı değişik yıllarda değişik rehberler oluşturulmuştur. Bunlar;

1. 1995 “Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance recommendations of the hospital infection control practices advisory committee” (CDC / HICPAC)

2. 1997 (CDC)

3. 1997 (SHEA / IDSA)

4. 1999 (APIC / CHICA / ICNA)

olup, gününüzde en çok kabul gören HICPAC’ tır.

- **VRE yayılımını kontrol altına almak için yayınlanan bu rehberlerde önerilen tedbirler (62 - 64);**

1. Uygun ve kısıtlı vankomisin kullanımı
2. Hastane personelinin eğitimi
3. Mikrobiyoloji laboratuvarının etkin kullanımı
4. Sürveyans kültürleri
5. Gastrointestinal kolonizasyonun eradikasyonu
6. Korunma ve Kontrol

1. Uygun ve Kısıtlı Vankomisin Kullanımı

Antibiyotik kullanımının kısıtlanması ile VRE enfeksiyonu insidansında ancak küçük veya orta düzeyde azalma sağlanabilir. Bunun yanında diğer korunma yöntemleri ile desteklenebilmektedir. Vankomisin kullanımının VRE kolonizasyonu ve enfeksiyonu için bir risk faktörü olduğu bir çok çalışma ile kanıtlanmıştır. Ayrıca, uygunsuz vankomisin kullanımının *S. aureus* ve *S. epidermidis*’ te vankomisine direnç gelişimine (VRSA ve VRSE) neden olabildiği düşünülmektedir. Bu nedenle HICPAC önerilerinde uygunsuz vankomisin kullanımının önemi özellikle vurgulanmış, vankomisin kullanımının uygun olduğu ve olmadığı durumlar belirtilmiştir (62, 63).

2. Hastane Personelinin Eğitimi

Bütün hastane çalışanlarına VRE'nin önemi, epidemiyolojisi ve kontrolü hakkında eğitim verilmelidir. Bu eğitimler yılda enaz bir kez yapılmalı ve hastanede VRE artışı olduğunda yeniden tüm personel bilgilendirilmez. Ignaz Semmelweis'den beri yani yaklaşık 150 yıldır, kontamine ellerin mikroorganizmaların hastadan hastaya taşınmasında rol oynadığı bilinmektedir. VRE gibi çoklu dirençli bakteriler bunlarla kolonize veya infekte hastaların bakımı ile uğraşan sağlık personelinin elleri, eldivenleri veya her ikisinden birden izole edilmiştir. Bir çalışmada VRE kolonizasyonu açısından en önemli risk faktörünün serviste VRE ile kolonize veya infekte bir hastaya yakın olmak, bir diğer çalışmada ise VRE ile infekte hastalarla beraber aynı kişiden bakım almak olduğu gösterilmiştir. Hasta bakımı sırasında sadece eldiven kullanımı ile özel giysi ve eldiven kullanımını kıyaslayan beş çalışmanın dördünde, ikinci uygulamada VRE ile kolonizasyon oranlarının birinciye kıyasla önemli ölçüde düşük olduğu belirlenmiştir (62 - 64).

3. Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü ve Etkin Kullanımı

Mikrobiyoloji laboratuvarı VRE sürveyansında ve yayılımının önlenmesinde ilk basamak olarak kabul edilir. Çünkü tüm kontrol çalışmaları laboratuvardan gelen sonuçlara göre yönlendirilir. Hem mikroorganizma identifikasyon, hemde duyarlılık paterni sonuçlarının hızlı ve doğru bir şekilde verilmesi, kontrol önlemlerinin erken dönemde uygulanabilmesini ve yayılımın sınırlanmasını sağlar. Hızlı ve doğru sonuç vermenin yanı sıra laboratuvar ve enfeksiyon kontrol bölümü arasındaki iletişimin de iyi olması bu konuda önem taşır. Bir hastanede VRE tespit edildiğinde mutlaka vankomisin duyarlılığı yönünden tekrar test edilmelidir. İkinci testin sonucu beklenmeden hemen enfeksiyon kontrol ekibine ve hastanın yatmakta olduğu servise haber verilmesi gereklidir. Böylece kesin sonuç belli olana kadar hastanın izole edilmesi mümkün olur. İzolasyona devam edilip edilmeyeceğine kesin sonuca göre karar verilir. VRE suşları arasındaki klonal ilişkinin moleküler yöntemlerle ortaya konulması da enfeksiyonun kontrolü ve takibi açısından oldukça önem taşır. Enterokoklardaki vankomisin direnci polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kullanılarak saptanabilir. PZR özellikle düşük düzeyde vankomisin direnci taşıyan enterokok suşlarındaki (VanC veya VanB) direncin saptanması için yararlı bir yöntemdir. VRE için rutin tarama kültürlerinin yapılması hem çok fazla iş gücü ve zaman gerektirmekte hemde çok pahalıya

mal olmaktadır. Hastane içindeki VRE yayılımının tek bir klondan mı ya da birden fazla sayıda klondan mı kaynaklandığının saptanması, enfeksiyon kontrol önlemleri açısından önem taşır. VRE suşları arasındaki klonal ilişkinin saptanmasında moleküler tiplendirme yöntemlerinden yararlanılabilir. “Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)” ve plazmid analizi gibi iki genotipik yöntemi birlikte kullanarak bir hastanede mevcut VRE suşlarının sayısı ve yayılım paterni hakkında güvenilir bilgi sahibi olmak mümkündür (62 - 64).

4. Sürveyans Kültürleri

Sürveyans kültürlerinin alınması VRE kontrol programının önemli aşamalarından birisidir. Prevalans taramaları yeni bir VRE pozitif tespit edildiğinde sade aynı odada izlenen hastaların taranması ile sınırlı olabileceği gibi aynı servisteki hastaların taranması şeklinde daha geniş kapsamlı olabilir. Ayrıca VRE'nin yaygın olduğu hastanelerden gönderilen hastalardan perirektal kültür alınması da uygulanabilir bir yöntemdir (38, 62).

5. Gastrointestinal Kolonizasyonun Eradikasyonu

Vankomisine dirençli enterokok eradikasyonunda amaç, kolonizasyonu olanlarda enfeksiyon riskini azaltmak, hastanedeki VRE rezervuarını sınırlamak ve enfeksiyon kontrolüne yönelik harcamaları azaltmaktır (38, 63).

6. Kontrol ve Korunma Yöntemleri

Hastane içerisinde hastalar arasında enterokok yayılımında, temasın engellenmesi yani izolasyon en önemli korunma yöntemidir. HICPAC tarafından hastadan hastaya VRE geçişini önlemek için alınması gereken izolasyon önlemleri şunlardır:

- 1- VRE ile infekte veya kolonize (VRE pozitif) olan hastaların tek kişilik odalara ya da diğer VRE pozitif hastalarla birlikte aynı odaya yerleştirilmesi,
- 2- VRE pozitif hasta odasına girerken eldiven ve önlük giyilmeli; hasta odasından ayrılmadan önce eldiven ve önlük çıkarılmalı, hasta odasındaki yüzeylerle temas

etmeden eller antiseptik ajanlarla yıkanmalı. VRE salgınının tek bir klonun yayılımına bağlı olduğu merkezlerde genellikle rutin eldiven ve önlük uygulamasının diğer enfeksiyon kontrol önlemleri ile kombine edilmesi sonucunda salgının kontrol altına alınması sağlanabilmektedir.

- 3- VRE pozitif hastalar için kullanılan stetoskop, tansiyon aleti, rektal termometre gibi aletler diğer hastalar için kullanılmamalı, odalar arasında eşya transferi yapılmamalı, ortak kullanım ya da transfer gereken durumlarda alet ya da eşya temizlenmeli ve dezenfekte edilmelidir.
- 4- VRE sorunu olan hastanelerde VRE pozitif hastalardan ne sıklıkta kültür alınması gerektiği, izolasyona ne zaman son verileceği, yeni bir olgu saptandığında aynı serviste yatan tüm hastaların taramasına gerek olup olmadığı ve taramanın ne sıklıkta yapılacağı gibi konularda enfeksiyon kontrol ekibi tarafından belirlenmiş yazılı politikaların olması gereklidir.
- 5- VRE yayılım şekillerini ve rezervuarını belirlemek amacıyla uygun moleküler yöntemler kullanılarak klonal ilişki yönünden değerlendirilmelidir.
- 6- Taburcu olduklarında VRE pozitifliği devam eden hastaların hastane kayıtlarına bu yönde bir uyarı eklenmesi bu hastaların yeniden yatırılmaları durumunda hemen izole edilebilmeleri açısından önem taşır (62, 63).

2.9. VRE Risk Faktörleri

VRE kolonizasyonundaki risk faktörlerini araştırmak için birçok çalışma yapılmış ve en önemli risk faktörlerinden birinin bazı grup antibiyotiklerin kullanımı olduğu bulunmuştur. Robin Patel' in yaptığı bir çalışmada seftriakson ve tikarsilin klavulonik asit kullanımı VRE kolonizasyonu için risk faktörü olarak saptanmış iken piperasilin-tazobaktam kullanımı ile VRE bağlantısı kurulamamıştır (12, 31, 63). Yoğun bakım ünitesinde yapılan iki çalışmanın 1'inde 2. ve 3. kuşak sefalosporin kullanımı risk faktörü olarak tespit edilirken, vankomisin kullanımı ile bağlantı kurulamamıştır (11). Diğer bir çalışmada da immünsüpresyon, nütropeni ve vankomisin kullanımı, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, enteral beslenme, sukralfat kullanımı ile bağlantı kurulamamıştır (12). Bunun aksine diğer bir çalışmada vankomisinin kontrollü kullanılmasının VRE kolonizasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Carmeli'nin yaptığı bir çalışmada ise 3. kuşak sefalosporin ve metronidazol kullanımının en önemli risk faktörü olduğu, kinolonların ise kullanım süresi ile orantılı olarak

risk faktörü olduğu tespit edilmiştir (31). VRE enfeksiyonu ile ilişkili konak risk faktörleri ise; malignite, "Acute Physiology and Chronic Health Evaluation" (APACHE II) skorunun yüksekliği, nötropeni varlığı, böbrek yetmezliği ve hematolojik malignite varlığı, hastane ile ilgili olarak da uzun süre hastanede yatış, kemik iliği transplantasyon ünitesinde yatma, yoğun bakım ünitesinde yatış, antibiyotik kullanım süresinin uzun olması olarak bildirilmiştir (65, 66). Tornieport ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada akut renal yetmezlik ve hemodiyalizin VRE kolonizasyonu açısından risk faktörü olduğu tespit edilmiştir. Ancak son dönem böbrek yetmezliği ile kolonizasyon arasında bir ilişki kurulamamıştır Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre VRE risk faktörleri aşağıda özetlenmiştir (63, 67).

Hastaya ait faktörler:

1. Kronik böbrek yetmezliği,
2. Malignite,
3. Nötropeni,
4. Diabetes mellitus,
5. Geçirilmiş intraabdominal cerrahi,
6. Organ transplantasyonu.

Hastaneye ait faktörler:

1. Hastanede yatış süresinin uzun olması,
2. Yoğun bakım, diyaliz, transplantasyon, hematoloji - onkoloji ünitelerinde yatış,
3. VRE ile kontamine ekipmanlara maruziyet,
4. VRE'li hastalarla temas veya VRE ile kontamine olmuş tıbbi aletlere maruz kalmak,
5. Enteral beslenme,
6. Kortikosteroid kullanımı,
7. Antineoplastik tedavi uygulanması,
8. Sukralfat kullanımı

Antimikrobiklerle ilgili risk faktörleri:

1. Antibiyotik tedavisinin süresi ve miktarı,
2. Kullanılan antibiyotikler: Vankomisin, 2.-3. kuşak sefalosporin, anti-anaerob antibiyotik, kinolon, aztreonam
3. Operasyon öncesi barsak hazırlığı (11, 38, 61, 63).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma da Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na 01.07.2010 ile 01.05.2011 tarihleri arasında farklı kliniklerden gönderilen klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus spp.* üreyen izolatlar değerlendirmeye alınmıştır. Bu izolatlar direnç durumları, klonal ilişkilerinin tespiti ve hastane enfeksiyonu salgınına örnek teşkil etmek üzere, hızlı tanı ve tedavide yol gösterici olması amacı ile değerlendirilmiştir.

3.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda 2010-2011 tarihleri arasında VRE şüpheli hastalardan alınan klinik örneklerden *Enterococcus spp.* olarak tanımlanan 470 izolat değerlendirilmiştir ve vankomisine dirençli 50 izolat çalışmaya dahil edilmiştir. Klinik örnekler; steril (kan, periton sıvısı, plevra sıvısı, kateter idrarı) ve steril olmayan (balgam, idrar, apse, gaita, cilt ve yumuşak doku, vajinal akıntı, servikal sürüntü, diğer materyaller) örnekler olarak gruplandırılmış, üremesi görülen izolatlar Gram boyama yöntemi ile boyanarak Gram pozitif olan örneklere identifikasyon işlemleri uygulanarak tanıya gidilmiştir.

Çalışmada test edilen enterokoklar iki grup altında değerlendirilmiştir. İlk gruba dahil edilen tüm şüpheli VRE izolatlarının hem cins hem tür düzeyinde tanımlanmaları gerçekleştirilmiştir. Enterokok olarak tanımlanan izolatlar antibiyotik duyarlılıkları yönünden değerlendirilmiştir. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen 470 enterokok suşu Vitek-2 otomatize sistemi (BioMerieux, Durham, NorthCarolina, USA) ile antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir. Daha sonra saptanan 50 VRE izolatının yüksek düzey aminoglikozid direnci Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş, E-test ve PZR yöntemi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

- Vitek-2 otomatize sistemi (BioMerieux, Durham, NorthCarolina, USA)
- PZR cihazı (Thermal Cyclers, Eppendorf Mastercycler)
- Güvenlik Kabini (Heraeus-HERA safe)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Biometra P30)
- Elektroforez Tankı (Agagel Mini Biometra)
- Jel Görüntüleme Sistemi (Vilber Lourmat Marne La Vallée, France)
- Mikrodalga Fırın (Beko- MD 1500)
- Derin Dondurucu (Uğur)
- Etüv (Memmert)
- Otoklav (Nüve- OT 020)
- Hassas Terazî (Scaltec)
- Buzdolabı (Indesit)
- Vortex (NM- 110)
- Distile su cihazı (Nüve NS 108)
- Mikropipet Seti (Gilson- Pipetman- P 10-P100-F1000)

3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Kanlı agar besiyeri (Bio Merieux, 862864501,France)
- Müller Hinton besiyeri (Bio Merieux, 824574001, France)
- Safralı Eskülin besiyeri (Merck, VM997072828,Germany)
- H₂O₂ (Sigma H6520 USA)
- Agaroz (Sigma- A-9539 lot 013K0008)
- Taq DNA Polimeraz (Promega M1665)
- 10X PZR Buffer (Mg Free) (Promega M190G)
- 5 mM MgCl₂ (Promega A351H)
- 10 mM dNTP Mix (Sigma Deoxynucleotide set DNTP-100)
- Proteinaz K (Sigma P 2308)

- 100 baz çiftlik (bç) Marker (100 bp DNA Step Ladder) (Promega G6951)
- Primerler

Gen Pozisyon Primerler (5'→3') Ürün (bp)

- *VanA* 130 CAT GAA TAG AAT AAA AGT TGC AAT A 1030
1136 CCC CTT TAA CGC TAA TAC GAT CAA
- *VanB* 138 GTG ACA AAC CGG AGG CGA GGA 433
570 CCG CCA TCC TCC TGC AAA AAA
- *VanC* 126 GAA AGA CAA CAG GAA GAC CGC 796
921 ATC GCA TCA CAA GCA CCA ATC (31).

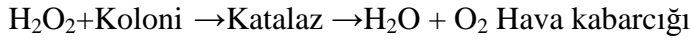
3.3. Örneklerin Alınması ve Ekimi

Hasta örneklerinden Kanlı agar besiyerine yapılan ekimler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve süre sonunda besiyerinde üreyen, küçük non hemolitik veya alfa hemolizli, katalaz negatif bakteri kolonilerinden, yayma preparatlar hazırlanmıştır. Bu yaymalarda Gram pozitif koklar şeklinde görülen bakteri kolonileri enterokok şüpheli olarak kabul edilmiş ve pasajlar yapılarak saf kültürleri elde edilmiştir. Elde edilen saf kültürler, katalaz testi, safra eskülin testi, %6.5'lük NaCl' de üreme testleri uygulanarak *Enterococcus spp.* tanısı konulmuştur. Vitek-2 otomatize sistemi (BioMerieux, Durham, NorthCarolina, USA) yardımı ile cins ve tür düzeyinde tanımlanarak antibiyotik duyarlılıkları tespit edilmiştir. Tüm suşlara vankomisin direnci belirlemek için E test yöntemi ile çalışılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin belirlenmesi ise Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Vankomisine dirençli bulunan suşların doğrulanması ise Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda E test ile MİK değerleri saptanarak ve PZR ile direnç genleri belirlenerek yapılmıştır.

3.3.1. İdentifikasyonda Kullanılan Testler ve Yöntemler

3.3.1.1. Katalaz Testi

Enterokok olduğu düşünölen koloniden lam üzerine alınarak üzerine %3'lük H₂O₂ (hidrojen peroksit) damlatılmıştır. Damlatır damlatmaz hava kabarcığının oluşması pozitif test olarak kabul edilmiştir. Katalaz testi negatif olan suşlar değerlendirmeye alınmıştır.



3.3.1.2. Safra Eskülin Testi

Bu test belirli bazı bakterilerinin (enterokoklar ve D grubu streptokoklar) eskülini %4 safra tuzlu veya %40 safralı ortamda hidrolize etmesi temeline dayanır. Eskülinin safralı ortamda hidrolizi, glikoz ve eskületin açığa çıkmasına yol açar. Eskületin zamanla besiyerindeki ferrik iyonlarla reaksiyona girerek siyah diffüz bir kompleks oluşturur. Bu test için hazır olarak temin edilen Bile Eskülin Agar (Difco) kullanılmıştır. Bu besiyerine şüpheli koloniden ekim yapılarak 35°C de 24-48 saatlik inkübasyon sonunda besiyerinde üreyen ve eskülini hidrolize ederek siyah renk oluşturan suşlar pozitif kabul edilmiştir.

3.3.1.3. %6,5' luk NaCl' de üreme testi

Şüpheli koloniden öze ile besiyeri içerisine ekim yapılarak 35°C de 24-72 saat inkübe edilmiştir. Besiyeri içerisinde bulanıklık oluşturan suşlar pozitif kabul edilmiştir.

3.3.2. İzole Edilen Enterokokların Tür Tayini

Elde edilen saf kültürler, Vitek-2 otomatize sistemi (BioMerieux, Durham, NorthCarolina, USA) yardımı ile cins ve tür düzeyinde tanımlanarak antibiyotik duyarlılıkları tespit edilmiştir. Sistem için kullanılan şeffaf plastik deney tüpüne (12x75 mm) 3ml steril tamponlanmış tuzlu su (% 0.45- 0.50 NaCl, pH 4.5-7.0) konulmuş, saf koloniler öze ile tüpe aktararak 0.5 MacFarland bulanıklığına eşdeğer homojen bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. İncelenen her suş için iki tüp hazırlanmıştır. Birinci tüpün arkasına Gram pozitif identifikasyon kartı (Vitek-2 GP, BioMerieux-SA France) ve diğer tüpün arkasına ise Gram pozitif antibiyotik duyarlılık kartı (Vitek-2 AST-P534, BioMerieux-SA France) takılarak ve kullanım talimatlarına göre kaset Vitek-2 sisteminin içine yerleştirilmiştir. 18-24 saat 37⁰C de inkübasyon sonrası hem cins düzeyinde, hem tür düzeyinde tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Enterokok olarak tanımlanan izolatlar antibiyotik duyarlılıkları yönünden de sistemde değerlendirilmiştir.

Saf kültürler halinde izole edilen vankomisine dirençli enterokoklar, E test ile MİK değerleri saptanarak ve PZR ile direnç genleri belirlenerek çalışılmıştır.

3.3.3. Disk Difüzyon Yöntemi

VRE'lerin antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Saf kolonilerden hazırlanan 0.5 MacFarland bulanıklığındaki bakteri süspansiyonu Mueller Hinton agar (MHA) besiyerlerine yayılarak ekim yapılmıştır. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direncini disk difüzyon yöntemi ile belirleyebilmek için 15 dakika kuruması için bekletildikten sonra besiyerlerine Oxoid firmasından temin edilen 120 µg gentamisin ve 300 µg streptomisin içeren diskler yerleştirilmiştir.

3.3.4. E Test Yöntemi

Vankomisin direncinin tespiti E test yöntemi ile doğrulanmıştır. Üzerine çeşitli oranlarda antibiyotik emdirilmiş stripleri, bakteri süspansiyonu yayılmış besiyeri üzerine yerleştirip, 24-48 saat sonra oluşan inhibisyon zonunun en alt birleşim yerinden okunması

esasına dayanır. İnkübasyon süresi sonunda inhibisyon zonunun en alt birleşim yeri okunarak vankomisin MİK değerleri saptanmıştır.

3.3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Enterokokların vankomisine direncinden sorumlu önemli gen bölgeleri primer spesifik PZR tekniği ile çoğaltılmıştır. Direncin araştırılacağı hedef bölgeler ve bu bölgeler ile ilgili primer dizileri Sayiner ve ark. çalışmalarından (31) seçilmiştir. PZR karışımı steril, temiz kabinlerde hazırlanmıştır. PZR reaksiyonu son hacmi 50 µl olacak şekilde steril distile su, 10X PZR tamponu [(NH₄)₂SO₄] (Promega), MgCl₂ (Promega), dNTP (Promega), primerler (*VanA* 130, *VanA* 1136, *VanB* 138, *VanB* 570, *VanC* 126, *VanC* 921), Taq DNA polimeraz (Promega) ve ekstrakte edilen *Enterococcus spp.* (*E. faecalis* ve *E. faecium*) DNA'sı konularak hazırlanmıştır. Her bir örnek için reaksiyon karışımı Çizelge 3.3.1.7'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Vankomisin direncinden sorumlu *VanA*, *VanB*, *VanC* gen bölgelerine spesifik primer dizileri (31).

Gen Bölgesi	Primer Adı	Nükleotid dizisi (5'-3')	Uzunluk (bp)
<i>VanA</i>	<i>VanA 130</i>	CAT GAA TAG AAT AAA AGT TGCAAT A	1030
	<i>VanA 1136</i>	CCC CTT TAA CGC TAA TAC GAT CAA	
<i>VanB</i>	<i>VanB 138</i>	GTG ACA AAC CGG AGG CGA GGA	433
	<i>VanB 570</i>	CCG CCA TCC TCC TGC AAA AAA	
<i>VanC</i>	<i>VanC 126</i>	GAA AGA CAA CAG GAA GAC CGC	796
	<i>VanC 921</i>	ATC GCA TCA CAA GCA CCA ATC	

Çizelge 3.2. *VanA*, *VanB*, *VanC* gen bölgelerinin PZR reaksiyon karışımı

PZR malzemeleri	<i>VanA</i> gen bölgesi (1030 bç)	<i>VanB</i> gen bölgesi (433 bç)	<i>VanC</i> gen bölgesi (796bç)
Distile su	32,75 µl	32,75 µl	32,75 µl
MgCl ₂ (25 mM)	5 µl	5 µl	5 µl
10X PZR tamponu	5 µl	5 µl	5 µl
dNTP mix (10 mM)	1 µl	1 µl	1 µl
Primer (100 pmol/µl)	0.5 µl (<i>VanA</i> 130)	0.5 µl (<i>VanB</i> 138)	0.5 µl (<i>VanC</i> 126)
Primer (100 pmol/µl)	0.5 µl (<i>VanA</i> 1136)	0.5 µl (<i>VanB</i> 570)	0.5 µl (<i>VanC</i> 921)
Taq DNA polimeraz (5 U/µl)	0.25 µl	0.25 µl	0.25 µl
Toplam PZR karışımı hacmi	45 µl	45 µl	45 µl
<i>Enterococcus spp</i> DNA'sı	5 µl	5 µl	5 µl
Toplam hacim	50 µl	50 µl	50 µl

Oluşturulan PZR karışımı vortekste karıştırıldıktan sonra, her bir örneğe ait ve üzerinde numaraları yazılı steril 0.2 µl'lik PZR tüplerine 45 µl olacak şekilde paylaştırıldı. Üzerlerine de 5'er µl DNA örneği konulup ısı döngü cihazına yerleştirildi. Termal döngü cihazında reaksiyon tamamlandıktan sonra, örnekler elektroforez uygulanmak üzere +4°C'ye kaldırılmıştır.

3.3.5.1. Agaroz Jel Elektroforez İşlemi

PZR ile vankomisin direncinden sorumlu gen bölgeleri amplifikasyonla çoğaltıldıktan sonra %1.5'lük agaroz jele yüklenerek ürünlerin elektroforezi yapılmıştır. Hazırlanan jelde yürütülen DNA'ların uzunlukları, büyüklükleri belli DNA fragmentlerini içeren moleküler ağırlık standardı ile kıyaslanarak saptanmıştır. Elektroforez tamponu olarak Tris-Borik Asit-Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) [TBE] kullanıldı. 10X konsantre stok olarak hazırlanan bu tampon kullanılmadan önce 1X olacak şekilde distile su ile sulandırıldı. Bu reaksiyonların her bir seti için pozitif ve negatif kontroller kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. Vankomisin direncinden sorumlu *VanA*, *VanB*, *VanC* gen bölgelerinin amplifikasyonunda kullanılan PZR koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95	5 dakika	1
Denatürasyon	94	30 saniye	
Primer Bağlanması (Annealing)	62	30 saniye	42
Zincir Uzaması (Extension)	72	45 saniye	
Bekleme	4	∞	∞

Termal döngü cihazında reaksiyon tamamlandıktan sonra, örneklere elektroforez uygulanmak üzere +4°C'ye kaldırılmıştır.

- **Agaroz Jelin Hazırlanması**

Bir balon jodede 0.45 gr agaroz 30 ml 1X TBE solüsyonu içerisinde mikrodalga fırında homojen şeffaf hale gelinceye kadar ısıtılmıştır. Biraz soğuduktan sonra Et-Br'den 3 µl eklenmiştir. Daha sonra jel, tarakların yerleştirildiği jel tepsisine yavaşça dökülerek, katılaşıncaya kadar (25-30 dakika) oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra elektroforez tankına yerleştirilerek PZR örneklerinin yüklenmesine hazır hale getirilmiştir.

Daha önceden PZR işlemi yapılmış olan buzdolabındaki örneklerden 5'er µl alınarak parafilm üzerinde 2 µl 1X TBE ile hazırlanmış yükleme tamponu (%20 sükröz veya gliserol, %0.25 brom fenol mavisi) ile iyice karıştırılmıştır. Elektroforez tankına yerleştirilen jelin kuyucuklarına sırasıyla yüklenmiştir. Kullanılan mini tank için 30 mA akım verilerek elektrik akımı geçmesi sağlanarak örnekler 30-40 dakika boyunca yürütülmüştür. Jel tanktan çıkarılarak 312 nm dalga boyunda ışık veren UV-translüminatöründe incelenerek ve jel görüntüleme sisteminde kayıtları yapılmıştır.

3.3.5.2. *VanA*, *VanB*, *VanC* Gen Bölgelerinin Tespiti

Agaroz jel elektroforez işleminden sonra vankomisine dirençli gen bölgelerine spesifik primerlerinin kullanıldığı reaksiyon tüplerinin elektroforezinde *VanA* gen bölgesi için 1030 bç hizasında gözlenen bantlar hedef gen bölgesi olarak değerlendirilmiştir. *VanB* gen bölgelerine spesifik primerlerin kullanıldığı reaksiyon tüplerinin elektroforezinde 433 bç hizasında, *VanC* için ise 796 bç hizasında gözlenen bantlar hedef gen bölgeleri olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışma ile Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarına 01.07.2010 ile 01.05.2011 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen 9836 hasta örneği kabul edilmiştir. Bu örneklerden 4032'sinde üreme görülmüş ve üreyen materyallerin 1708'sinde Gram pozitif üreme saptanmıştır (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*). Gram pozitif üreme saptanan materyallerin 516'sı *Enterococcus spp.* olarak tanımlanmıştır. Enterokokların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık tespitinde Vitek-2 otomatize sistemi (Bio Merieux, Durham, NorthCarolina, USA) kullanılmış ve cihaz ile 470 enterokok izolatu çalışılmış, 50 izolatta ise VRE saptanmıştır. Çalışmada test edilen enterokoklar iki grup altında değerlendirilmiştir.

4.1. Enterokokların Tür Tayini ve Vankomisin Duyarlılıklarının Tespiti

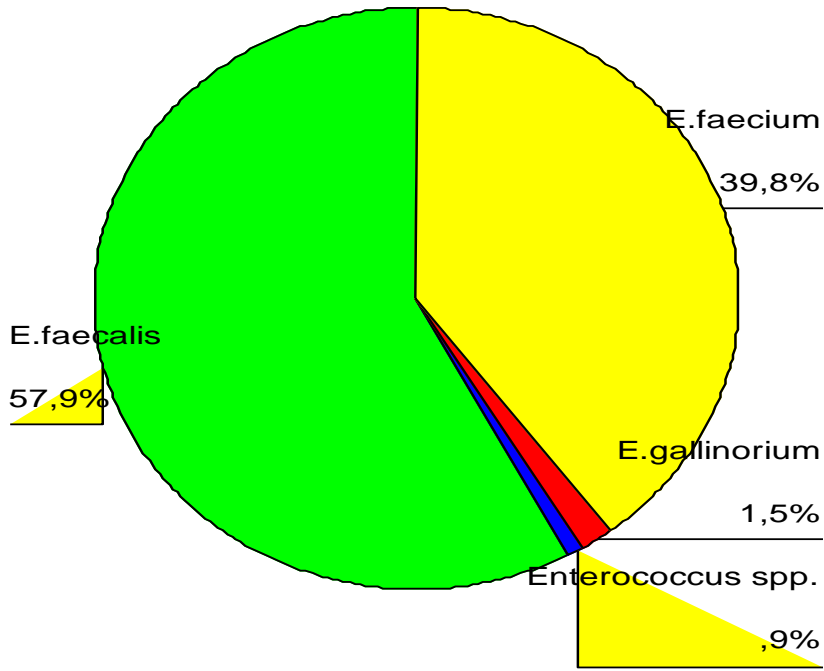
Bu grupta tespit edilen 470 enterokok çalışmaya dahil edilerek gönderildikleri klinikler, klinik materyallere göre dağılımları, hastaların cinsiyetleri değerlendirilerek, Vitek-2 otomatize sistemi (Bio Merieux, Durham, NorthCarolina, USA) ile enterokokların tür tayinleri ve vankomisin duyarlılıkları saptanmıştır.

4.1.1. Enterokok İzolatlarının Kliniklere ve Materyallere Göre Dağılımı

Bu grup 470 VRE şüpheli *Enterococcus spp.* izolatından oluşmuştur. Çalışılan 470 enterokok izolatlarının 232 (%49.4)'si erkek, 238 (%50.6)'sı kadın hastalardan izole edilmiştir. Suşların izole edildiği kliniklere göre dağılımında bir özellik tespit edilememiş, ancak en fazla izolatu idrar örneklerinden izole edildiği görülmüştür.

4.1.2. Enterokokların Tür Tayini Sonuçları

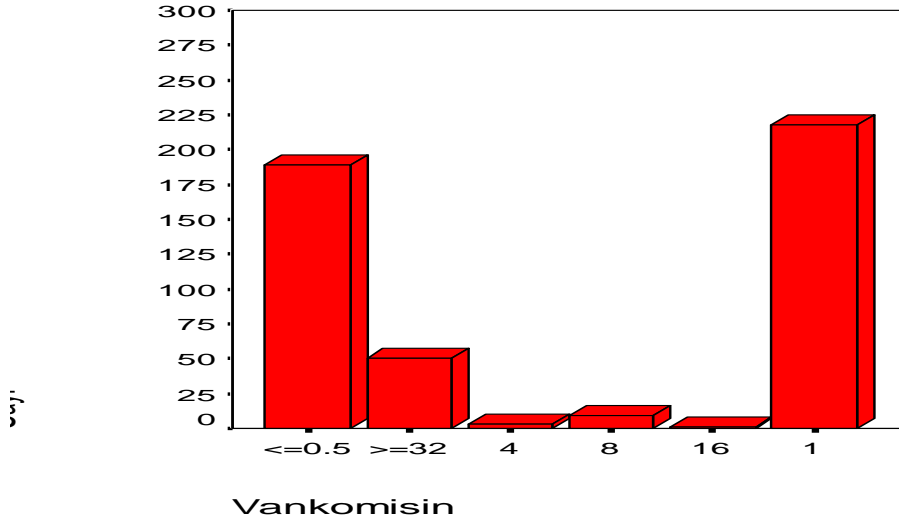
Çalışılan 470 hasta fenotipik kriterlerine göre yapılan tür tanımlamasında izolatların 272 (% 57.87)'sinin *E. faecalis*, 187 (%39.78)'sinin *E. faecium* geriye kalan 11 suşun 7 (%1.48)'sinin *E.gallinorium* diğer 4 (%0.87)'nün de *Enterococcus spp.* olduğu görülmüştür.



Şekil 4.3. Grup 1' de çalışmaya dahil edilen enterokok izolatlarının türlere göre dağılımı

4.1.3. Enterokokların Vankomisin Direnç Tespiti

470 izolatın 50 (%10.6)'sinin Vitek-2 (Vitek2 Compact, Biomerieux Fransa) sistemi ile vankomisin direnci ≥ 32 bulunur iken diğer izolatlar vankomisine duyarlı ya da orta duyarlı olarak saptanmıştır.



Şekil 4.4. Enterokok izolatlarının vankomisine duyarlılıkları

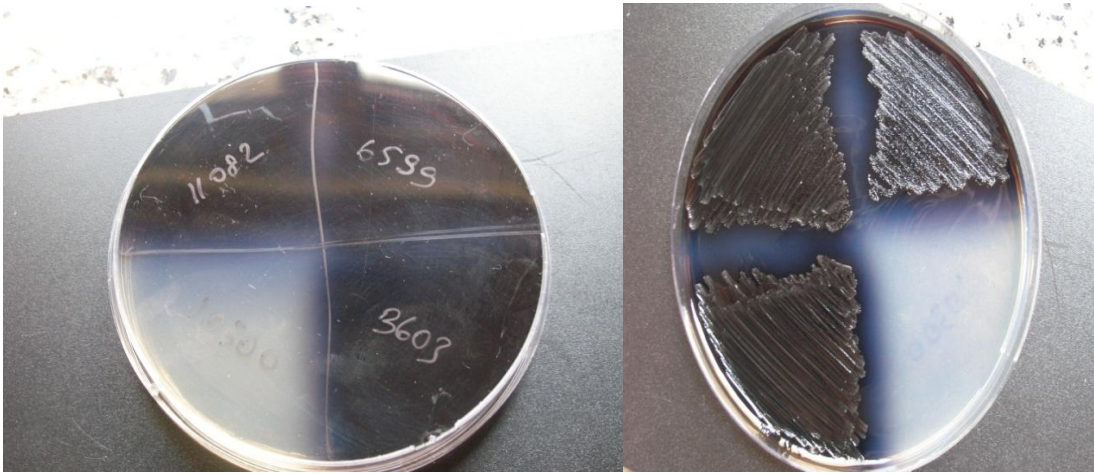
4.2. VRE İzolatlarının Değerlendirilmesi

Bu grupta izole edilen 470 enterokok arasından saptanan 50 VRE izolatı yer almıştır. İzole edilen 50 VRE suşunun katalaz testi sonucu negatif iken, %6.5'lük NaCl' de üreme testi pozitif bulunmuştur. Tespit edilen VRE izolatlarının kanlı besiyerine yapılan ekimleri 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakılmış, süre sonunda besiyerlerinde küçük non hemolitik veya alfa hemolizli koloniler üremiştir.



Şekil 4.5. Grup II' de ekimi yapılan enterokokların Kanlı agar besiyerinde üretilmesi

VRE izolatlarının Safralı eskülin besiyerine ekimleri yapılmış ve 35°C de 24-48 saatlik inkübasyon sonunda eskülini hidrolize ederek siyah renk oluşturan koloniler üremiştir.

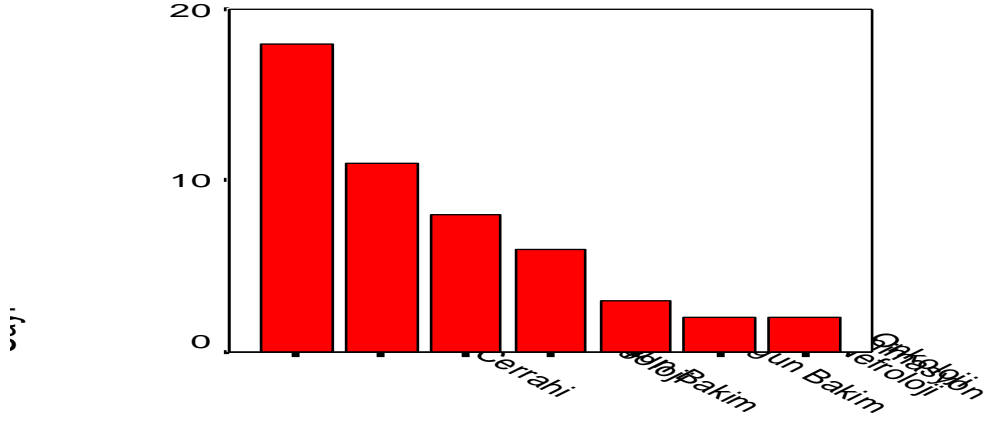


Şekil 4.6. Grup II'de değerlendirilen enterokokların Bile Eskülin Agar besiyerinde üretilmesi

4.2.1. VRE izolatlarının Kliniklere ve Materyallere Göre Dağılımı

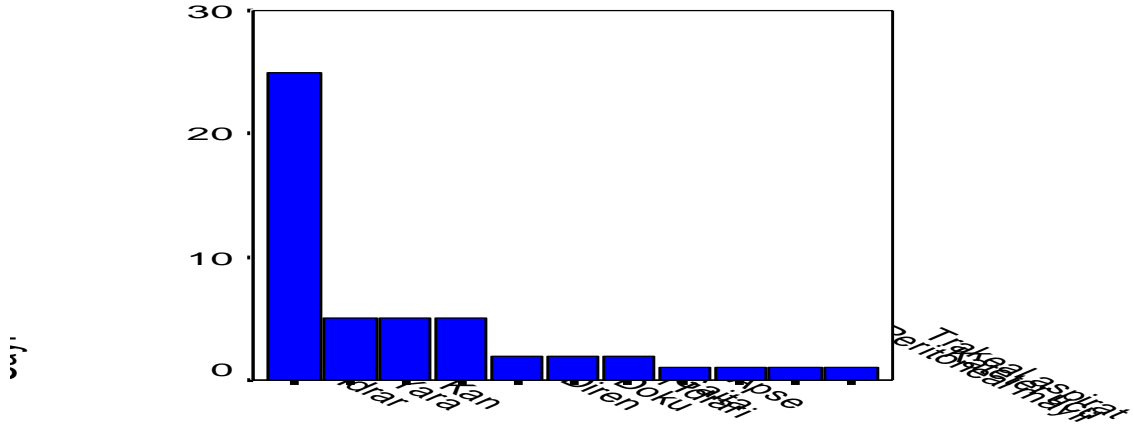
50 VRE izolatınının 26 (52.0)'sı kadın, 24 (48.0)'ü erkek hastalardan izole edilmiştir. Grup II'de değerlendirilen hastaların yaş ortalaması 46.56 olarak saptanmıştır. Suşların izole

edildiği kliniklere göre dağılımlarında bakıldığında Genel Cerrahi, Genel Yoğun Bakım, Dahili Yoğun Bakım, Üroloji ve Çocuk Nefroloji bölümlerinde yoğunluk olduğu görülmüştür.



Poliklinikler

Şekil 4.7. Grup II'de değerlendirilen VRE izolatlarının kliniklere göre dağılımı

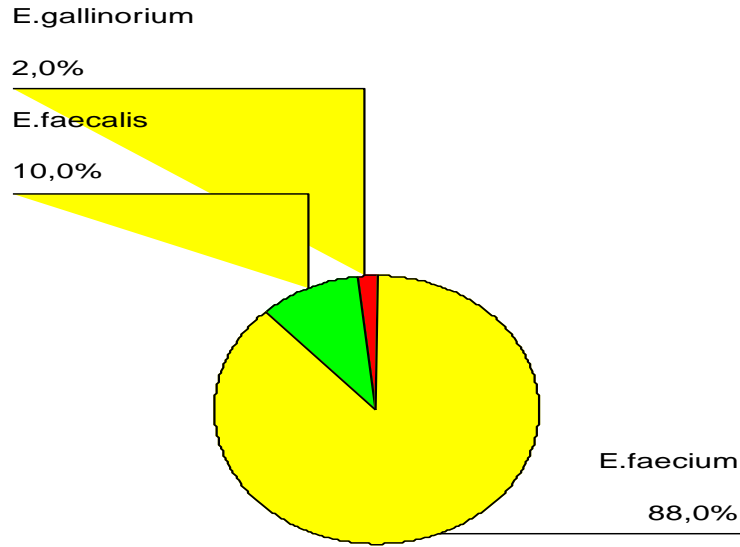


İzole Edilen Klinik Materyal

Şekil 4.8. Grup II'de değerlendirilen VRE izolatlarının klinik materyallere göre dağılımı

4.2.3. VRE İzolatlarının Tür Tayini

Tespit edilen VRE üremeleri Vitek2 (Vitek2 Compact, Biomerieux Fransa) sistemi ile değerlendirilerek tür düzeyinde tanımlamaları yapılmıştır. Elde edilen 50 suşun 44 (%88.0)'ü *E. faecium*, 5 (%10.0)'i *E. faecalis* ve 1 (%2.0)'i *E. gallinorium* olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.9. VRE izolatlarının tür dağılımı

4.2.4. VRE İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

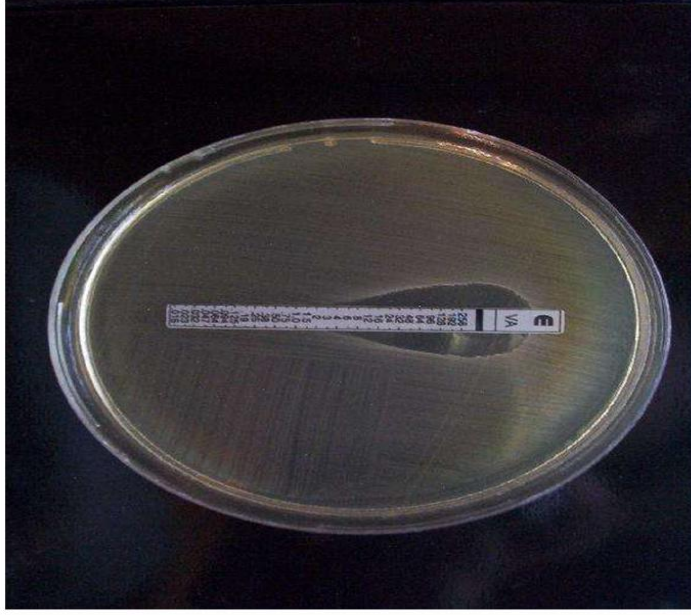
Tespit edilen VRE üremeleri Vitek2 (VİTEK2 Compact, Biomerieux Fransa) otomatize sistemi ile değerlendirilerek antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir. İzole edilen tüm VRE suşları ampisilin, penisilin, eritromisin ve rifampisine dirençli bulunmuştur. Teikoplanin direnci %75 olarak saptanmıştır. Suşlarda vankomisin direnci E test yöntemi ile doğrulanmıştır. E test ile vankomisin MİK'i 32 µg/ml ve daha büyük olan suşlar dirençli kabul edilmiştir. Yüksek düzey aminoglikozid direnci ise Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile saptanmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile gentamisin ve streptomisin zon çapı 6mm eşit olanlar dirençli olarak belirlenmiştir. Suşların %94'nün de yüksek düzey gentamisin direnci gösterdiği saptanmıştır. Suşların %96'sın da yüksek düzey streptomisin direnci saptanmıştır. Linezolide direnç saptanmamıştır. Hiçbir suşta beta-laktamaz varlığı saptanmamıştır.

Çizelge 4.1. Grup II'de ki izolatların Vitek2 (VİTEK2 Compact, Biomerieux Fransa) sistemi ile değerlendirilen antibiyotik duyarlılıklarının dağılımı

Antibiyotik	Dirençli Bakteri/ Toplam Bakteri Sayısı	Direnç Yüzdesi
Penisilin	50/50	%100
Ampisilin	50/50	%100
Eritromisin	50/50	%100
Rifampisin	50/50	%100
Vankomisin	50/50	%100
Teikoplanin	37/50	%75
YDSD	48/50	%96
YDGS	47/50	%94
Kloramfenikol	28/50	%56
Siprofloksasin	22/50	%44
Levofloksasin	14/50	%38
Dalfopristin-Kinupristin	1/50	%2
Linezolid	0/50	%0

4.2.5. E Test Sonuçları

50 VRE izolatının E test yöntemi ile vankomisin MİK değerleri belirlenmiştir. %90'nının vankomisin direnci ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$ veya ≥ 256 $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir. %10'un ise vankomisine orta duyarlı olarak saptanmıştır.



Şekil 4.10. E test yöntemi ile vankomisin MİK değerinin saptanması

4.2.6. PZR Sonuçları

50 VRE suşu moleküler analiz sonucunda %72 oranında VRE saptanmış ve bunların %100'ü *VanA* gen bölgesi olarak tespit edilmiştir. 14 izolatın gen bölgesi saptanamamıştır.



Şekil 4.1.1. Van A gen bölgelerinin PZR ürünlerinin %1.5'luk agaroz jel elektroforez görüntüsü

4.2.6. VRE İzolatlarının Vitek-2, E-test, PZR Sonuçlarının Karşılaştırılması

Vitek-2 otomatize sistemi yardımı ile belirlenen antibiyotik duyarlılıklarında vankomisin direnci ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$ olan izolatların E test ölçümlerinde suşların 45 (%90)'nin vankomisin MİK değerleri ≥ 128 $\mu\text{g/mL}$ veya ≥ 256 $\mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilir iken 5 (%10)'nin vankomisin MİK değerleri < 16 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur. Bu 5 izolatında orta duyarlı olduğu düşünülmüştür. Teikoplanin direnci göz önüne alındığında izole edilen VRE suşlarından %75'inin teikoplanin dirençli olduğu görülmüştür (MİK $>16\mu\text{g/mL}$). Çalışmaya alınan 50 suşun PZR ile direnç genleri araştırılmış ve 36 (%72)'sın da *VanA* tipi direnç paterni saptanmıştır. PZR ile 14 (%28) izolatın direnç paterni saptanamamıştır. Her üç yöntem kendi aralarında karşılaştırma yapılarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.2. 50 VRE izolatının Vitek-2, E Test ve PZR sonuçları.

Sonuç	Pozitif	Negatif
Vitek-2	50	0
E Test	45	5
PZR	36	14

E Test altın standart olarak alındığında;

Her üç metodun da hasta örneklerinde VRE tespitinde etkinlik araştırması sonucunda; E test altın standart olarak alınmıştır (duyarlılık %100, özgüllük %100, pozitif prediktif değeri (PPV) %100 ve negatif prediktif değeri (NPV) %100 olarak tespit edildi); Vitek-2 otomatize sisteminin duyarlılığı %80, özgüllüğü %77.7 olarak saptanır iken, PZR için duyarlılık %100 özgüllük ise %80 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. E test yöntemi ile Vitek 2 otomatize sisteminin VRE sonuçlarının karşılaştırması

Vitek-2	E TEST		
	NEGATİF	POZİTİF	
NEGATİF	0	0	0 (%0.0)
POZİTİF	5	45	50 (%100.0)
	5 (%10.0)	45 (%90.0)	50

PZR ve E testleri arasında ölçümleri bakımından orta dereceli bir uyum vardır.(K=0.444)

Çizelge 4.4. PZR ile E test yönteminin karşılaştırılması

PZR	E TEST		
	NEGATİF	POZİTİF	
NEGATİF	5	9	14 (%28,0)
POZİTİF	0	36	36 (%72,0)
	5 (%10.0)	45 (%90.0)	50

PZR ile diğer iki yöntem karşılaştırıldığında ise Vitek-2 otomatize sistemin duyarlılığı %79.0 özgüllüğü %91.7 pozitif prediktif değeri (PPV) %91.7 negatif prediktif değeri (NPV) %79.0 iken E test yönteminin ise duyarlılığı %35.7 özgüllüğü %100 pozitif prediktif değeri (PPV) %80 negatif prediktif değeri ise %100 (NPV) olarak bulunmuştur.

4.2.7. Vitek-2 Otomatize Sistemi ve PZR ile VanA Glikopeptit Direnci Saptanması

PZR yöntemi ile çalışılan 50 VRE izolatınının 36 (%72)'sın da VanA tipi direnç paterni bulunmuştur. İstatiksel analiz sonucu PZR ile Vitek-2 otomatize sistem arasında iyi derecede uyum saptanmıştır. (K=0,702) 33 VRE izolatında her iki yöntemle de VanA direnç geni görülmüştür. 3 VRE izolatında ise Vitek-2 otomatize sistemi ile VanB direnç geni olabileceği

düşünülür iken, PZR ile ise *VanA* direnç geni saptanmıştır. 14 VRE izolatının *VanA*, *VanB*, *VanC* gen bölgeleri PZR ile saptanamamıştır.

Çizelge 4.5. Vitek-2 otomatize sistemi ve PZR ile *VanA* glikopeptit direnci saptanması

Vitek-2	PZR		
	NEGATİF	POZİTİF	
NEGATİF	11	3	14 (%28.0)
POZİTİF	3	33	36 (%72.0)
	14 (%28.0)	36 (%72.0)	50

Çizelge 4.6. Vitek-2 otomatize sistemi ve PZR ile *VanB* Glikopeptit Direnci Saptanması

Vitek-2	PZR		
	NEGATİF	POZİTİF	
NEGATİF	36	0	36 (%72.0)
POZİTİF	14	0	14 (%28.0)
	50 (%10.0)	0 (%0.0)	50

5.TARTIŞMA

Hastane enfeksiyonları, hastalar ve hastaneler için önemli bir sağlık sorunudur. Erken tanı ve tedavinin yanı sıra nozokomiyal bakteriyel enfeksiyonunun tespiti, korunma yöntemleri oldukça önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü, her yıl dünyada 109 milyondan fazla insanın çeşitli nedenlerle hastaneye yatırıldığını ve 10 milyondan fazla insanın hastane enfeksiyonuna yakalandığını bildirmektedir (65, 66). Enterokoklar'ın nozokomiyal enfeksiyon etkenleri arasında ilk sıralara yerleşmesi, aynı zamanda birçok antibiyotiğe karşı belirgin ve artan derecede direnç kazanmaları enterokok enfeksiyonlarını daha önemli bir hale getirmiştir. Günümüzde enterokoklarda en kaygı verici durum, intrensek direnç ile kazanılmış direnç genlerinin aynı bakteride bulunabilmesidir. Bu nedenle ciddi enfeksiyonların tedavisinde zorluklara neden olmaktadır (5, 8, 65). Enterokok enfeksiyonlarının artışının nedeni; enterokok kolonizasyonuna yol açabilen antimikrobiyallerin profilaksi ve tedavi amaçlı sıklıkla kullanılmasıdır. Ayrıca hastane personelinin yeterince eğitilmiş olmamasıda, enterokok kolonizasyonunun oluşmasında etkilidir (65, 66).

İnsanda enfeksiyondan başlıca iki tür sorumludur. *E. faecalis* enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen türdür. Enfeksiyonların %80-90'ından *E. faecalis* %5-10'nundan *E. faecium* sorumludur. Diğer enterokok türleri ise enfeksiyonların %5'inden daha azında görülmektedir. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda, *E. faecium*'un daha sık izole edildiği, *E. faecalis*'in *E. faecium*'a oranının 3.7/1'den 1.9/1'e düştüğü belirtilmektedir (12). Ertek ve ark. (12) 2003 yılında yaptığı çalışmada 68 enterokok suşundan 37'si (%54.4) *E. faecium*, 29'u (%42.6) *E. faecalis* ve 2'si (%3.0) *E. avium* olarak saptanmıştır. Hörü ve ark. (5) 2004 yılında yaptığı çalışmada 123 klinik izolatin %54'ü *E. faecalis*, %46'sı *E. faecium* olarak belirtilmiştir. Seno ve ark. (69) 2005 yılında yaptığı çalışmada üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan 325 suşun tamamı *E. faecalis* olarak saptanmıştır. Kanada'da üriner sistem enfeksiyonları ve bakteriyemilerden izole edilen VRE lerin %98.3'ünün *E. faecium*, % 1.7 sininde *E. faecalis* olduğu bildirilmiştir (67). Brezilya'da Dazevedo ve ark. (68) tarafından yapılan bir çalışmada 81 hastanın fekal sürveyans kültürlerinde, tamamı vankomisin ve teikoplanine dirençli, 37 VRE suşu izole edilmiş ve bunların 20 (%54.05)'si *E. faecium* ve 17 (%45.94)'si *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda da, 470 hasta fenotipik kriterlerine göre yapılan tür tanımlamasında izolatların 272 (% 57.87)'sinin *E. faecalis*, 187 (% 39.78)'sinin *E. faecium* geriye kalan 11 suşun 7 (% 1.48)'sinin *E. gallinarum* diğer 4 (% 0.87)'nün de *Enterococcus spp.* olduğu görülmüştür. Vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonunda ise *E. faecium*'un *E. faecalis*'den daha fazla olduğunu yaptığımız çalışmada doğrular niteliktedir. 50 VRE suşundan 36'sı (%66) *E. faecium* 13'ü (% 26) *E. faecalis* ve 1'i (% 2) *E. gallinarum* olarak bulunmuştur. 1989'dan 1993'e NNIS'a bildirilen vankomisine dirençli enterokok (VRE) oranı % 0.3'den % 7.9'a çıkmıştır. Özellikle yoğun bakımlarda bu artış daha belirginleşerek, % 0.4'den %13.6'ya çıkarak 34 kat artış saptanmıştır (70). Ülkemizde ilk olarak 1998' de Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Pediatrik Hematoloji servisinde yatan malign histiositoz olgusundan VRE izole edilmiştir (70). Hastanemizde 2005 yılında VRE sürveyansını belirlemek için yapılan çalışma kapsamında hastanemiz yoğun bakımlarında takip edilen hastaların perianal sürüntü kültürlerinin incelenmesi ile 12 enterokok suşu izole edilmiş ve bu suşlardan sadece bir tanesi vankomisin dirençli olarak saptanmıştır. Bu suş *E. faecium* olarak adlandırılmıştır. Tespit edilen VRE suşu enfeksiyon etkeni olarak kabul edilmemiştir. Aradan geçen 5 yıllık süreçten sonra tekrarlanan bu çalışmada taranan 420 olgudan toplam 21 VRE izolasyonu yapılmıştır. İlk çalışmada VRE' ların hastane enfeksiyonlarında epidemiyolojik açıdan bir sorun olmadığı düşünülmüş olmasına karşın bu çalışma sonunda VRE'in artık hastanemiz için giderek artan bir sorun haline geldiği görülmüştür. Çalışmamızda 470 olgudan 50 VRE suşu izole edilmiştir. İzole edilen suşların %74'ü yoğun bakım ünitelerinde (Cerrahi Yoğun Bakım, Genel ve Dahili Yoğun Bakım) saptanmıştır. Ülkemizde ki veriler incelendiğinde de VRE'nin artan bir tehdit unsuru olduğu görülmektedir. 2003 ile 2004 yılları arasında; Ankara Üniversitesi hastanelerinde yatan riskli hasta gruplarının rektal sürüntü örneklerinde, vankomisine dirençli enterokok (VRE) kolonizasyonunu araştırmak amacıyla prospektif bir çalışma yapılmıştır. Taranan 467 hastanın 9 (% 1.9)'unda VRE kolonizasyonu tespit edilmiştir. Tüm suşlar vankomisin ve teikoplanine karşı yüksek dirençli *Enterococcus faecium* olarak belirlenmiştir (71, 72). Hörü ve ark. (5) 2004 yılında yaptığı çalışmada 123 suşun yalnızca 1'in de VRE saptanır iken yine aynı yıllarda Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'de Ağuş ve ark. (13) yaptığı çalışmada 160 suşun vankomisin ve teikoplanin direnci % 5 (n:3) olarak saptanmıştır. 2001 yılında Ertek ve ark. (12) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde VRE kolonizasyonunu araştırmak amacı ile toplam 100 hastadan perianal sürüntü örnekleri almışlar ve 68 hastada enterokok izole etmişlerdir. Elde edilen suşlardan 13 suş (%19.1) vankomisin dirençli bulunmuştur. Elde edilen vankomisin dirençli suşlardan 10'u *E. faecium* ve 3'ü *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır. 2004 yılında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,

Pediyatrik Hematoloji-Onkoloji servisine yatırılan her üç hastadan birinde enfeksiyon, ikisinde ise kolonizasyon saptanmıştır (70). Hacettepe Üniversitesinde 2000 yılında başlayan ve 9 yıl süren bir çalışmada yoğun bakım takibi gereken, nötropeni nedeni ile takip edilen hastalar ve hemodiyaliz hastaları gibi yüksek risk gruplarının takibinde 13832 perirektal kültür ile 20000 ortam kültürü alınmıştır. 2000 yılında vankomisin dirençli enterokok saptanmaz iken 2007 yılında 114 VRE tespit edilmiştir. Bu tarihte VRE yayılımının engellenmesi için kontrol önlemleri tekrar gözden geçirilmiş ve 2008 yılında 77, 2009 yılında ise 49 VRE saptanmıştır. Dokuz yıllık süreçte 307 VRE saptanmıştır ve VRE pozitiflik oranı %6 olarak tespit edilmiştir. 2008 yılında Sayiner'in Hacettepe Üniversitesinde 2004 Aralık ile 2005 Temmuz ayları arasında yaptığı çalışmada toplam 250 hastadan rektal sürüntü kültürleri alınmış ve 38 hastada (% 15) VRE saptanmıştır (72). Bizim çalışmamızda da izole edilen 50 VRE suşunun % 84'ünün yatan hasta olması ve % 6'sının poliklinik hastası olması, hastanemizde VRE'nin mevcudiyetini gösterirken, poliklinik takip edilen 3 hastaya ait klinik örneklerden izole edilen VRE'nin toplumda görülebildiği ancak çok düşük oranda bulunduğunu göstermektedir. VRE'lerin tür dağılımı da, enfeksiyonun lokalizasyonu, hastanın takip edildiği servis, hastane antibiyotik kullanım politikalarına bağlı olmak üzere hastaneler ve bölgeler arasında değişiklikler göstermektedir. Ancak halen ülkemizde bildirilen enfeksiyon etkenlerinin hastane kaynaklı olması toplumda VRE taşıyıcılık oranının halen düşük olduğunu düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda da tespit edilen VRE oranları literatür verileri ile örtüşür düzeydedir.

Enterokokların neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde bakterisidal etki elde etmek için, bir beta-laktam ya da glikopeptid gibi hücre duvarına etkili antibiyotikle birlikte aminoglikozid grubu bir antibiyotiğin kombinasyonu tercih edilir. Enterokoklarda oluşan sinerjik etkiye karşı da direnç gelişimi gösterilmiştir (12, 54). Esen ve ark. (26) 101 klinik izolatta yaptığı bir çalışmada yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) gösteren suşların %56'sının ampisiline de dirençli olduğunu saptanmıştır.

Ertek ve ark. (12) yaptığı çalışmada vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonu için risk grubunda olan 50 ve risk grubunda olmayan 50 olmak üzere toplam 100 hastanın perianal sürüntü örnekleri alınarak incelenmiştir, 13 (%19.1) suş vankomisine dirençli bulunmuş ve bunların 10'u (%27) *E. faecium* 3'ü (%10.3) *E. faecalis* olarak saptanmıştır. İzole edilen suşların teikoplanin, fusidik asit, eritromisin, tetrasiklin, rifampisin ve piperasilin/tazobaktam duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle araştırılmış ve duyarlılık testine alınan antibakteriyeller içinde fusidik asit VRE'lere karşı en etkili, rifampisin ise en az etkili ilaç olarak belirlenmiştir. Ağuş ve ark. (13) 2006 yılında 160 enterokok izolatının

antibiyotik dirençlerini araştırmıştır. Yapılan çalışmada polikliniklerden gönderilen örneklerde penisilin direnci % 48, ampisilin direnci % 43 iken, vankomisin ve teikoplanin direnci saptanmamıştır. Yataklı servislerden gönderilen örneklerde penisilin direnci % 84, ampisilin direnci % 70, vankomisin ve teikoplanin direnci % 5 olarak saptanmıştır. Glikopeptid direnci saptanan üç suşun MİK değerleri vankomisin ve teikoplanin için > 256 µg/ml olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak ciddi enterokok enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde olası penisilin, ampisilin, vankomisin ve teikoplanin direncinin dikkate alınması gerektiği belirtilmiştir. Hörü ve ark. (5) yaptığı çalışmada ise YDGD direnci saptanan suşların % 52'si ampisiline de dirençli bulunmuştur. Vankomisine dirençli enterokoklar genellikle diğer antibiyotiklerde dirençlidirler. Ayrıca yüksek düzey aminoglikozid direncinin (YDAGD) de artması tedavide zorluklara neden olmaktadır. Çalışmamızda VRE suşlarının hepsinde penisilin, rifampisin, ampisilin, gentamisin, eritromisine de direnç saptanmıştır (% 100). Teikoplanine ise % 75 direnç tespit edilmiştir. YDSD direnç oranı % 96 iken, YDGS direnç oranı % 94 olarak saptanmıştır. Linezolid'e direnç saptanmamıştır. Çetinkaya ve ark. (72) 49 suş ile yapılan çalışmasında Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde süveyans programı kapsamında izole edilen VRE suşlarının hepsinde teikoplanin, ampisilin, YDGD ve YDSD tespit edilmiş; nitrofurantoine % 95.7, rifampisine % 78.7, tetrasikline % 55.3, kloramfenikole % 17.7 oranında direnç saptanmıştır (73, 74). 2009 yılında Bhoj Raj Singh yaptığı çalışmada 267 enterokok izolatının %80.21'si vankomisine dirençli bulunur iken % 99.6'sında ise çoklu ilaç direnci saptanmıştır. İmipenem direnci %75.3, tetrasiklin direnci % 59.6 ve amoksisilin direnci % 53.9 bulunmuştur (75).

Çalışılan ve bildirilen VRE olgularında fenotip çalışması yapılan suşların çoğunun *VanA* direnç paternli *E. faecium* olduğu görülmektedir. Hastanemizde izole ettiğimiz 50 VRE suşunun PZR çalışmamız sonucu 36'sının diğer çalışmalardakine benzer şekilde *VanA* direnç paterni gösterdiği saptanmıştır. 2008 yılında Aygün ve ark. (71) tarafından yapılan çalışmada 467 hastanın 9 (% 1.9)'unda VRE kolonizasyonu tespit edilmiştir. Tüm suşlar vankomisin ve teikoplanine karşı yüksek dirençli *Enterococcus faecium* olarak belirlenmiş ve yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) analizi ile de tüm suşlarda *VanA* direnç geni saptanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, yaptığımız bu çalışma ile hastanemizde VRE prevalansı ve VRE pozitifliği klasik kültür yöntemleri ve moleküler yöntemlerle araştırılmış ve enterokokların giderek artan nozokomiyal enfeksiyonlara yol açtığı ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere yüksek düzey direnç gösterdiği görülmüştür. Ciddi enterokok enfeksiyonlarında antibiyotik tedavisinin başlaması, hücre duvarını etkileyen bir antibiyotik ile aminoglikozid kombinasyonunun sinerjistik bakterisid etkisine bağlıdır. Enterokok enfeksiyonlarının tedavisine başlanmadan önce YDAD'i dikkate alınarak incelenmesi gerekmektedir. Çalışmamız da taranan 470 olgudan 50'sinde VRE açısından pozitiflik tespit edilmiştir ve VRE suşlarında YDGS (%94) ve YDSD (%96) yüksek oranda direnç tespit edilmiştir. Yüksek düzey aminoglikozid direncinin yüksek oranda bulunması nedeni ile enterokok tedavisinde dikkatli olunması gerektiği düşünülmüştür. Özellikle glikopeptid grubu antibiyotikler başta olmak üzere aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı kolay direnç geliştiren *E.faecium* suşlarının hastane kökenli izolatlar ve hastane kolonizasyonu yaratan enterokoklar arasında baskın tür olduğuna ve yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile uyumlu olduğuna karar verilmiştir. Bulgularımız hastane prevalansı literatür verileri ile benzerlik göstermekte ve VRE'lerin hastane enfeksiyonları için epidemiyolojik olarak giderek artan bir sorun olduğu ve gerekli önlemler alınmaz ise problemin daha ciddi boyutlara ulaşacağı kanaatine varılmıştır. Çalışmamızda E test yöntemi ile PZR yöntemi güvenilir yöntemler olarak tespit edilmiş ve her iki yöntemde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Buda izole edilen enterokoklar arasındaki klonal ilişkinin tespitinde değerlendirmeyi kolaylaştırmıştır. Türler arasında direnç oranlarının farklılık göstermesi nedeniyle, izole edilen enterokok suşlarının tür ayrımı ve duyarlılık paternlerinin belirlenmesinin enterokok enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde yol gösterici olacağı görüşü desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. **Dossaji S, Çelik Ü, Alhan E, Yıldızdaş D, Ünal İ.** Nozokomiyal Enfeksiyonlar İçin Enfeksiyon Belirteçleri. *Çocuk Enfeksiyon Dergisi*, **2008**; 2: 12-18.
2. **Yüceer S, Demir S.** Yoğun Bakım Ünitesinde Nozokomiyal Enfeksiyonların Önlenmesi ve Hemşirelik Uygulamaları. *Dicle Tıp Derg*, **2009**; 36(3): 226-233.
3. **Özçetin M, Saz E, Karapınar P, Özen S, Aydemir Ş, Vardar F.** Hastane Enfeksiyonları; Sıklığı ve Risk Faktörleri. *Çocuk Enfeksiyon Dergisi*, **2009**; 3: 49-53.
4. **Yıldırım M.** Enterokoklar ve Enterokoklarla Gelişen İnfeksiyonlar. *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **2007**; 2: 46-52.
5. **Gazi H, Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Ecem T, Özbakkaloğlu B.** Hastane Kökenli *E.faecium* ve *E.faecalis* Suşlarında Antimikrobiyal Direnç. *Ankem Derg*, **2009**; 18 (1): 49-52.
6. **Alp Ş.** Vankomisine Dirençli Enterokokların Epidemiyolojisi ve Kontrolü. *Hacettepe Tıp Dergisi*, **2008**; 39: 89-95.
7. **Murray BE.** Diversity among Multidrug-Resistant Enterococci. *Emerging Infectious Diseases*, **1998**; 4: 37-47.
8. **French GL.** Enterococci and Vancomycin Resistance. *Clinical Infectious Diseases* **1998**; 27: 75–83.
9. **Tambyah PA, Marx JA, Maki DG.** Nosocomial Infection with Vancomycin- dependent Enterococci. *Emerging Infectious Diseases*, **2004**; 10: 1277-1281.
10. **Aktaş G, Derbentli Ş.** Vankomisine dirençli Enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri. *İnfeksiyon Dergisi*, **2009**; 23(4): 201-209.
11. **Karagöz G.** Yoğun Bakım Ünitesinde Vankomisin Dirençli Enterokok Taşıyıcılığının Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul **2005**.
12. **Erdek M, Yazgı H, Akta E, Erol S, Yaran M.** Vankomisine Dirençli Enterokok Araştırılması ve Diğer Antimikrobiyallere Duyarlılıkları. *İnfeksiyon Dergisi*, **2003**; 17(4): 447-451.
13. **Aguş N, Sarıca A, Özkalay N, Cengiz A.** Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotik Direnci. *Ankem Derg*, **2006**; 20(3): 145-147.
14. **Horiuchi K, Shota S, Kuroda T, Hatano T, Yoshida T, Tsuchiya T.** Potentiation of Antimicrobial Activity of Aminoglycosides by Carnosol from *Salvia officinalis*. *Biol. Pharm. Bull*, **2007**; 30(2): 287-290.

15. **Cuellar-Rodríguez J, Galindo-Fraga A, Guevara A, Pérez-Jiménez C et al.** Vancomycin resistant Enterococci. *Emerging Infectious Diseases*, **2007**; 13(5): 798-799
16. **Kaleli D, Özkaya F.** Enterokoklar. İn: Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını 2. Baskı, Ankara: Sim Matbaası, **2000**; 522-530.
17. **İşleroğlu H, Yıldırım Z, Demirpence Y, Yıldırım M.** Enterokoklar Biyokimyasal Fizyolojik ve Fonksiyonel Özellikleri ile Patogenitesi. *Akademik Gıda* **2008**; 6 (3): 6-26.
18. **Ural O.** Nozokomiyal Enterokok Bakteriyemisi. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, **1998**; 2: 217-223
19. **Yücesoy M, Yüce A, Yuluğ N.** Enterokok bakteriyemili dokuz olgunun sunumu. *İnfeksiyon Dergisi*, **1996**; 10: 339-342.
20. **Bilgehan H.** D Grubu Streptokoklar. İn: Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyoloji Tanı*. 4. Baskı, İzmir: Barış Yayınları, **2000**: 510.
21. **Cengiz T.** *Streptococcus*. İn: Ustaçelebi Ş. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, **1999**: 349-365.
22. **Sosyal A.** Enterokoklar. *Pediatric İnfeksiyon Dergisi*, **2007**; 1: 39-42.
23. **Berzeg D.** Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnci, Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci ve E test ile Vankomisin Mik Değerlerinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İstanbul **2005**.
24. **Kathryn L, Ruoff Lorena M, Margaret J, Murtagh, Jean Dmary Jane Ferraro.** Species Identities of Enterococci Isolated from Clinical Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, **Mar. 1990**; 28(3): 435-437.
25. **Tok N.** Enterokoklarda Vankomisin Direnci. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İstanbul **2006**.
26. **Esen Ş, Sümbül M, Barut Ş, Eroğlu C, Saniç A, Leblebicioğlu H.** Glikopeptit Beta-Laktam Grubu Antibiyotiklerin Enterokoklara İn-Vitro Etkinliği. *Ankem Derg*, **2001**; 15: 59-63.
27. **Öztürk R, Eroğlu C, Köksal F, Mert A, Aygün G.** Enterokoklarda Antibiyotiklere Direnç ve Yüksek Düzeyde Gentamisin Direnci. *Ankem Derg*, **1995**; 9: 351-354.
28. **Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG.** Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*. **2000**; 13: 686-707.
29. **Devriese L, Baele M, Butaye P.** The Genus Enterococcus: Taxonomy. *Prokaryotes*. **2006**; 4: 163-174.
30. **Köksal İ.** Yoğun Bakımda Gram Pozitif Bakteri Sorunu. *Ankem Derg*, **2009**; 23: 143-147.

31. **Sayiner S. H.** Hastanemizde Sürveyansla Saptanan VRE'lerin Dağılımı Antibiyotik Duyarlılıkları ve Kolonize Hastalarda Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi İstanbul **2008**.
32. **Kirschner C, Maquelin K, Pina P, Ngo Thi NA at al.** Classification and Identification of Enterococci: a Comparative Phenotypic, Genotypic, and Vibrational Spectroscopic Study. *Journal of Clinical Microbiology*, **2001**; 39 (5): 1763–1770.
33. **Carvalho MGS, Steigerwalt AG, Roger E at al.** Designation of the Provisional New *Enterococcus* Species CDC PNS-E2 as *Enterococcus sanguinicola* sp. nov., Isolated from Human Blood, and Identification of a Strain Previously Named *Enterococcus* CDC PNS-E1 as *Enterococcus italicus* Fortina, Ricci, Mora, and Manachini 2004. *Journal of Clinical Microbiology*, **2008**; 46(10): 3473–3476.
34. **Facklam RR, Teixeria LM. Enterococcus.** In: **Collier L, Bolows A, Sussman (eds).** *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial infections*. Vol 2 (Systematic Bacteriology). Ed: Edward Arnold, 9th edition. London **1998**; 669-682.
35. **Upadhyaya PMG, Ravikumar KL, Umopathy BL.** Review of virulence factors of enterococcus: An emerging nosocomial pathogen. *Indian Journal of Medical Microbiology*. **2009**; 27: 301-305.
36. **Vergis EN, Shankar N, Chow JW, Hayden MK, David R at al.** Association between the Presence of Enterococcal Virulence Factors Gelatinase, Hemolysin, and Enterococcal Surface Protein and Mortality among Patients with Bacteremia Due to *Enterococcus faecalis*. *Clinical Infectious Diseases* **2002**; 35: 570–575.
37. **Kayaoglu G, Orstavik D.** Virulence Factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship To Endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med*. **2004**; 15: 308-320.
38. **Akçimen B.** Hastane İnfeksiyonlarından İzole Edilen Vankomisin Dirençli Enterokokların Pulsed Field Gel Elektroferez Yöntemi İle Genotip Tayini. Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Adana **2010**.
39. **Shankar N, Coburn P, Pillar C, Haas W, Gilmore M.** Enterococcal cytolysin: activities and association with other virulence traits in a pathogenicity island. *International Journal of Medical Microbiology*., **2004**; 293: 609-618.
40. **Klare I, Konstabel C, Badstubner D, Werner G, Witte W.** Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. *International Journal of Food Microbiology* , **2003**; 88: 269–290.
41. **Cunha BA, Mickail N, Eisenstein L.** E. faecalis vancomycin-sensitive enterococcal bacteremia unresponsive to a vancomycin tolerant strain successfully treated with high-dose daptomycin. *Heart Lung* **2007 Nov-Dec**; 36(6): 456-461.
42. **Jang H, Lee S, Song K, Jeon J at al.** Clinical Features, Risk Factors and Outcomes of Bacteremia due to Enterococci with High-Level Gentamicin Resistance: Comparison with Bacteremia due to Enterococci without High-Level Gentamicin Resistance. *J Korean Med Sci*, **2010**; 25: 3-8.

43. **Maki DG and Tambyah PA.** Engineering Out the Risk of Infection with Urinary Catheters. *Emerging Infectious Diseases*, **2001**; 7(2): 42-347
44. **Zirakzadeh A, Patel R.** Vancomycin-Resistant Enterococci: Colonization, Infection, Detection, and Treatment. *Mayo Clin Proc*, **2006**; 81: 529-536.
45. **Thurlow L, Thomas V, Narayanan S, Olson S, et al.** Gelatinase Contributes to the Pathogenesis of Endocarditis Caused by *Enterococcus faecalis*. *Infection and Immunity*, **2010**; 78 (11): 4936-4943.
46. **Stevens MP, Edmond MB.** Endocarditis Due to Vancomycin-Resistant Enterococci: Case Report and Review of the Literature. *Clinical Infectious Diseases*, **2005**; 41: 1134-1142.
47. **Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A.** Enterococcal infections & antimicrobial resistance. *Indian J Med Res* **2008**; 111-121.
48. **Khanand FY, Elshafi S.** *Enterococcus gallinarum* meningitis: a case report and literature review. *J Infect Dev Ctries*, **2011**; 5(3): 231-234.
49. **Fisher K, Phillips C.** The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* **2009**; 155: 1749-1757.
50. **Werner G, Coque TM, Hammerum AM, Hope R, Hryniewicz W, Johnson A, Klare I et al.** Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill*, **2008**; 13: 4-20.
51. **Oliveira AC, Bettcher L.** Epidemiological aspects of the occurrence of Vancomycin-resistant *Enterococci*. *Rev Esc Enferm USP*, **2010**; 44(3): 716-721.
52. **Söderblom T, Aspevall O, Erntell M, Hedin G, Heimer D et al.** Alarming spread of vancomycin resistant enterococci in Sweden since 2007. *Euro Surveill*, **2010**; 15(29): 19620.
53. **Sapkota AR, Hulet RM, Zhang G et al.** Lower Prevalence of Antibiotic-resistant Enterococci On U.S. Conventional Poultry Farms That Transitioned to Organic Practices. *Environmental Health Perspectives*, **2011**; 1-35.
54. **Arias CA, Contreras GA and Murray BE.** Management of multidrug-resistant enterococcal infections. *Clinical Microbiology and Infection*, **2010**; 16(6): 555-562
55. **Klare I, Konstabel C, Badstubner D, Werner G, Witte W.** Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. *International Journal of Food Microbiology*, **2003**; 88: 269-290.
56. **Murray BE.** Diversity among Multidrug-Resistant Enterococci. *Emerging Infectious Diseases*, **1998**; 4: 37-47.
57. **Reynolds PE, Courvalin P.** Vancomycin Resistance in Enterococci Due to Synthesis of Precursors Terminating in D-Alanyl-D-Serine. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, **2005**; 49: 21-25.

58. **French GL.** Enterococci and Vancomycin Resistance. *Clinical Infectious Disease*; **1998**; 27: 75–83.
59. **Vidya MV, Diaz JG, Islam T, Hasbun R.** Vancomycin-resistant enterococcal bacteraemia: is daptomycin as effective as linezolid. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2009**; 64: 175–180.
60. **McKay GA, Beaulieu S, Francis F at al.** Time–kill kinetics of oritavancin and comparator agents against *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2009**; 63: 1191–1199.
61. **Lee DK, Kim Y, Park KS at al.** Antimicrobial Activity of Mupirocin, Daptomycin, Linezolid, Quinupristin/ Dalfopristin and Tigecycline against Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) from Clinical Isolates in Korea (1998 and 2005). *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, **2007**; 40(6): 881-887.
62. Guidelines For The Prevention And Control Of Vancomycin Resistant Enterococci (VRE) In Long Term Care Facilities; *Maryland Department of Health and Mental Hygiene Epidemiology and Disease Control Progra*, **1996**.
63. **Alp Ş, Şardan YÇ.** Vankomisine dirençli enterokokların epidemiyolojisi ve kontrolü. *Hacettepe Tıp Dergisi*, **2008**; 39: 89-95.
64. **Kim M, Lee S, Lim J, Seo KS, Kim Y, Han K, Choi JH, Yoo JH, Choi SM, Shin WS, Lee DG, Kim KM.** Rectal Surveillance Culture of Vancomycin-Resistant Enterococci in Hospitalized Patients at Hematology-Oncology Unit. *Infect Chemother*, **2003**; 35: 123-129.
65. **Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC.** Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet*; **1988**; 1: 57-58.
66. **Aktaş G, Derbentli Ş.** Vankomisine dirençli Enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri. *İnfeksiyon Dergisi*, **2009**; 23 (4): 201-209.
67. Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program (CNISP) Surveillance for Vancomycin Resistant Enterococci (VRE) in Patients Hospitalized in Canadian Acute-Care Hospitals Participating in CNISP **2006** Results.
68. **D’azevedo PA, Furtado GHC.** Molecular characterization of Vancomycin Resistant Enterococci strains eight years apart from its first isolation in Sao Paulo, Brazil. *Rev. Inst.Med.trop.S.Paulo*. **2008**; 50: 195-198.
69. **Seno Y, Kariyama R, Mitsuha R, Monden K, Kuman H.** Clinical İmplications of Biofilm Formation by *E.faecalis* in the Urinary Tract. *Acta Med. Okoyama* **2005**; 59(3): 79-87.
70. **Celkan T, Apak H, Özkan A, Özer Y, Diren Ş, Yıldız İ.** Bir Hematoloji Servisinde Vankomisine Dirençli Enterokok ve Sepsis Kolonizasyonu. *Ankem Derg* **2004**; 18(3): 176-179.
71. **Aygün H, Memikoğlu O, Tekeli A, Azap A, Yörük F.** Hastanede Yatan Riskli Hasta Gruplarında Vankomisine Dirençli Enterokok Kolonizasyonunun Sürveyansı. *Türk Anest Rean. Dergisi* **2008**; 36(3): 168-173.

72. **Çetinkaya Y, Zarakolu P, Altun B, Kaya G, Yıldırım A, Ünal S.** Hacettepe Üniversitesi Eriskin Hastanesi'nde sürveyans programı kapsamında izole edilen VRE'lerin epidemiyolojik özellikleri. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre kitabı **2004**; 263.
73. **Gündes S, Wilke A, Ates B.** Kocaeli Üniversitesi Hastanesi'nde ilk VRE izolasyonunu takiben yapılan nokta prevalans çalışmasının sonuçları. *Klinik Derg* **2002**; 5(3): 78-81.
74. **Suzanne M.P, Trick WE, Tenover FC.** Comparison of PCR Assay to Culture for Surveillance Detection of Vancomycin-Resistant Enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, **2003**; 41 (10): 4805–4807.
75. **Sachiko S, Nancye C, David R at al.** Detection of Vancomycin-Resistant Enterococci in Fecal Samples by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, **1997**; 35(9): 2325–2330.

ÖZGEÇMİŞ

Sebahat ASLAN, 01.01.1984 tarihinde Batman ilinde doğdu. İlkokul, ortaokul ve liseyi Mersin’de tamamladı. 2003 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimine başladı ve 2007 yılında mezun oldu. 2008 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrencisi olarak öğrenimine devam etmektedir.