



**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK
TÜRLERİNDE VANKOMİSİN VE YÜKSEK DÜZEY
AMİNOGLİKOZİD DİRENCİNİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Şeyda ÖZARSLAN KURTGÖZ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Burçin ÖZER**

HATAY-2013

**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK
TÜRLERİNDE VANKOMİSİN VE YÜKSEK DÜZEY
AMİNOGLİKOZİD DİRENCİNİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Şeyda ÖZARSLAN KURTGÖZ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Burçin ÖZER**

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 1204 U 0107 proje numarası ile desteklenmiştir.

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK TÜRLERİNDE VANKOMİSİN VE YÜKSEK DÜZEY AMİNOGLİKOZİD DİRENCİNİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Dr. Şeyda ÖZARSLAN KURTGÖZ

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

.....
Prof. Dr. Ali ÖZCAN
Tıp Fakültesi Dekan V.

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

.....
Doç. Dr. Nizami DURAN
AnaBilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

.....
Doç. Dr. Burçin ÖZER
Tez Danışmanı
.....

TEZ JÜRİSİ

1. Doç. Dr. Nizami DURAN
2. Doç. Dr. Burçin ÖZER
3. Yrd. Doç. Dr. Melek İNCİ

İÇİNDEKİLER

I-İÇİNDEKİLER	iii
II-TABLO LİSTESİ	vi
III- ŞEKİL LİSTESİ	viii
IV-RESİM LİSTESİ	ix
V-KISALTMALAR VE SİMGELER	x
VI-İTHAF	xi
VII-TEŞEKKÜR	xii
VIII-ÖZET	xiii
IX-ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. SINIFLANDIRMA	4
2.2. MORFOLOJİ VE KİMYASAL ÖZELLİKLER	6
2.3.EPIDEMİYOLOJİ VE BULAŞ	8
2.4.VİRULANS VE PATOJENİTELERİ	9
2.5. KLİNİK İNFEKSİYONLAR	11
2.5.1. Enterokoklarla gelişen infeksiyon hastalıkları	12
2.6. TEDAVİ	15
2.7.ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ MEKANİZMALARI	20
2.7.1. İntrensek direnç	21
2.7.2. Kazanılmış direnç	23

2.8.ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ	33
2.9. ENTEROKOK İNFEKSİYONLARINDA KORUNMA VE KONTROL ÖNLEMLERİ	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. BAKTERİ KÖKENLERİ	38
3.2. BAKTERİLERİN KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLASYONU, TANIMLANMASI VE ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ	38
3.3. ÇALIŞMADA KULLANILAN GEREÇLER	39
3.3.1. Kanlı Agar	39
3.3.2. Mueller Hinton Broth Besiyeri	39
3.3.3. Mueller Hinton Agar Besiyeri	39
3.3.4. Triptik Soy Buyyon	40
3.3.5. Fosfat Tamponlu Su	40
3.3.6. Agaroz Jel	40
3.4. YÖNTEM	41
3.4.1. Beta laktamaz enziminin varlığının araştırılması	41
3.4.2. Vankomisin direncinin fenotipik olarak saptanması	41
3.4.3. Yüksek düzey aminoglikozid direncinin belirlenmesi	42
3.4.4. PZR ile vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid genlerinin varlığının incelenmesi	43
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	49
4. BULGULAR	50
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	76
7. KAYNAKLAR	79

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Bazı Gram pozitif, katalaz negatif kokları enterokoklardan ayırmaya yarayan testler	7
Tablo 2: Enterokoklarda antimikrobiyal direnç mekanizmaları.....	20
Tablo 3: Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnç fenotipi gösteren <i>E. faecalis</i> 'te aminoglikozid modifiye edici enzimlerin aktivitesi.....	24
Tablo 4: Glikopeptid dirençli enterokokların fenotipik özellikleri	26
Tablo 5: Enterokoklarda glikopeptid direnç tipleri	31
Tablo 6: <i>Van A</i> , <i>Van B</i> ve <i>Van C</i> genleri için Multipleks PZR Yönteminde Kullanılan Primer Dizileri ve Büyüklükleri.....	44
Tablo 7: <i>Aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i> , <i>aph(2'')-Ib</i> , <i>aph(2'')-Ic</i> , <i>aph(2'')-Id</i> genleri için PZR Yönteminde Kullanılan Primer Dizileri ve Büyüklükleri.....	45
Tablo 8: Kökenlerin antibiyotiklere duyarlılık durumları.....	50
Tablo 9: Otomatize sistem ile <i>Enterococcus</i> spp. kökenlerine karşı bazı antibiyotiklerin MİK değerleri	51
Tablo 10: <i>E. faecium</i> kökenleri ile diğer enterokok türlerinin antimikrobiyal duyarlılıkları.....	52
Tablo 11: <i>E. faecalis</i> kökenleri ile diğer enterokok türlerinin antimikrobiyal duyarlılıkları.....	54
Tablo 12: Enterokok türlerinin otomatize sistem ile belirlenen vankomisin duyarlılık durumu	55
Tablo 13: Enterokok türlerinin E-test yöntemi ile belirlenen vankomisin duyarlılık durumu	56
Tablo 14: Enterokok kökenlerinde <i>Van A</i> , <i>Van B</i> , <i>Van C</i> direnç geni sıklığı	56
Tablo 15: <i>Van A</i> geni içeren kökenler.....	57
Tablo 16: <i>Van A</i> geni içeren ve içermeyen kökenlerin bazı antibiyotiklere duyarlılık ve dirençleri.....	58
Tablo 17: <i>Van A</i> geni içeren suşların otomatize sistem ve E-test ile ölçülen MİK değerlerinin ortanca değerleri	59

Tablo 18: <i>Van A</i> geni içeren suşların otomatize sistem ile ölçülen teikoplanin MİK ölçümlerinin ortanca değerleri	60
Tablo 19: Gentamisin direnç genleri	61
Tablo 20: <i>Aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i> ve <i>Van A</i> geni içeren kökenler	62
Tablo 21: <i>Aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i> geni içeren kökenlerin YDSD ve YDGD oranları	62
Tablo 22: <i>E. faecium</i> kökenleri ile diğer enterokok türlerindeki <i>Van A</i> ve <i>Aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i> genlerinin bulunma durumları	63

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1:** *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Lactococcus* türleri arasındaki ilişkiyi gösteren bir dendogram..... 4
- Şekil 2:** Kökenlerin izole edildiği örneklerin gönderildiği klinikler..... 48
- Şekil 3:** Enterokok türlerinin izole edildiği örnekler 49
- Şekil 4:** Entereokok kökenlerinin tür dağılımı..... 49
- Şekil 5:** Van A geni varlığına göre kökenlerin otomatize sistem ile belirlenen vankomisin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$)..... 59
- Şekil 6:** Van A geni varlığına göre kökenlerin E-test ile belirlenen vankomisin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$) 60
- Şekil 7:** Van A geni varlığına göre kökenlerin otomatize sistem ile belirlenen teikoplanin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$) 61

RESİM LİSTESİ

- Resim 1:** Vankomisin duyarlılığının E-test ile değerlendirilmesi 41
- Resim 2:** Yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direncinin disk difüzyon yöntemiyle belirlenmesi 42
- Resim 3:** *Van A* direnç geninin agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü 46
- Resim 4:** *Aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* geninin agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü.. 47

KISALTMALAR

DNA	: Deoksiribonükleik asit
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik asit
NaCl	: Sodyum klorür
BHI	: Beyin kalp infuzyon
LAP	: Lösin-p-naftilamid
PYR	: L-pirolidonil-P-naftilamid
SE	: Safra eskülin
AF	: Agregasyon faktörü
PFGE	: Pulsed-field jel elektroforezi
Ace	: Adhesion of collagen from <i>E.faecalis</i>
Esp	: Ekstraselüler yüzey proteini
bç	: Baz çifti
ebp	: endokardit ve biyofilm ile ilgili pili
AIDS	: Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu
IV	: İntravenöz
VRE	: Vankomisin Dirençli Enterokok
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
PBP	: Penisilin bağlayan protein
TMP-SXT	: Trimetoprim-sulfametaksazol
YDAD	: Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci
YDD	: Yüksek Düzey Direnç
HICPAC	: Hastane İnfeksiyon Kontrol Uygulamaları Danışmanlık Komitesi
FTS	: Fosfat Tamponlu Su
TBE	: Tris/Borat/EDTA
MHB	: Mueller Hinton Broth
MHA	: Mueller Hinton Agar
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
YDGD	: Yüksek düzey gentamisin direnci
YDSD	: Yüksek düzey streptomisin direnci
EARSS	: Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı
MRSA	: Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>

Sevgili Eşime

TEŞEKKÜR

Gerek eğitimim sırasında gerekse de tez konumun belirlenmesi, tezimle ilgili laboratuvarında çalışmaların yapılması ve tezimin yazılması aşamalarında bana yol gösterici olan, yardım ve desteğini esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. Burçin ÖZER hocama, ihtiyaç duyduğum her zaman yanımda olan Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Nizami DURAN'a, Anabilim Dalımız öğretim üyeleri Doç. Dr. Meryem ÇETİN, Yrd. Doç. Dr. Melek İNCİ ve Yrd. Doç. Dr. Erkan YULA hocalarıma çok teşekkür ederim.

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Cahit ÖZER hocama teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmam sırasında yardımlarından dolayı Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşım Dr. Gülcan ERKASLAN ALAGÖZ'e, Uzman Veteriner Hekim Suphi BAYRAKTAR'a, Arş. Gör. Dr. Ahmet Burak GÜRPINAR'a teknisyen arkadaşlarıma ve benden maddi manevi desteklerini eksik etmeyen canım annem, babam, kardeşlerim ve sevgili eşime çok teşekkür ederim.

ÖZET

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK TÜRLERİNDE VANKOMİSİN VE YÜKSEK DÜZEY AMİNOGLİKOZİD DİRENCİNİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Giriş ve Amaç: Enterokokların birçok antibiyotiğe direnç geliştirebilmeleri infeksiyonlarının tedavisinde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen enterokok türlerinde vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin (YDAD) fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışmaya 100 *Enterococcus* spp. kökeni dahil edildi. Kökenlerin antimikrobiyal duyarlılıkları otomatize sistemle, beta laktamaz üretimi nitrosefin diskleriyle, vankomisin direnci E-test, YDAD disk difüzyon yöntemiyle araştırıldı. Vankomisin ve yüksek düzey gentamisin direnç (YDGD) genlerinin saptanması için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi kullanıldı.

Bulgular: Çalışmamızdaki kökenlerin %58'inin *E. faecalis*, %38'inin *E. faecium*, %3'ünün *E. avium*, %1'inin *E. gallinarum* olduğu saptandı. Kökenlerin en duyarlı olduğu antibiyotiklerin sırasıyla teikoplanin(%94), linezolid(%91), vankomisin(%90), ampisilin(%70), penisilin(%70) olduğu ve kökenlerin beta laktamaz üretmediği tespit edildi. Otomatize sistem ile kökenlerin on tanesinde, E-test yöntemi ile sadece beş kökende vankomisin direnci tespit edildi. PZR yöntemiyle *Van A* geni içeren 5 (%5) köken tespit edilmiş olup bunların hepsinin *E. faecium* olduğu belirlendi. Çalışmamızda YDGD oranı %40, yüksek düzey streptomisin direnç oranı %63 olarak tespit edilmiş olup araştırılan YDGD genlerinden *aac(6')-1e-aph(2'')-1a* geni kökenlerin %58'inde saptandı.

Sonuç: Çoğunluğunu *E. faecalis* ve *E. faecium* kökenlerinin oluşturduğu bu çalışmada *E. faecium* kökenleri antibiyotiklere diğer türlere göre daha dirençli bulunmuştur. Kökenlerin hiçbirisinde beta laktamaz saptanmamıştır. Vankomisin direnci otomatize sistem ile E-test yöntemine göre daha fazla kökende bulunmuştur. Bu nedenle vankomisin direnci saptanan kökenlerin E-test yöntemiyle doğrulanması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Kökenlerdeki *VanA* gen oranı diğer çalışmalarla uyumludur. YDAD oranı yaklaşık olarak kökenlerin yarısında bulunmuştur. Araştırılan YDGD genlerinden ülkemizde ve diğer ülkelerde de en fazla saptanan gen olan *aac(6')-1e-aph(2'')-1a* geni %58 oranında tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Enterococcus* spp, beta laktamaz, vankomisin, yüksek düzey aminoglikozid direnci

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF VANCOMYCIN AND HIGH-LEVEL AMINOGLYCOSIDE RESISTANCE (HLAR) USING PHENOTYPIC AND GENOTYPIC METHODS IN ENTEROCOCCUS SPECIES ISOLATED FROM CLINICAL SAMPLES

Background and Aim: The ability of developing resistance to many antibiotics in *Enterococci* constitutes a major problem in the treatment of infections. In this study, it was aimed to investigate the vancomycin and high-level aminoglycoside resistance (HLAR) in *Enterococcus* species which were isolated from clinical samples using phenotypic and genotypic methods.

Methods: A hundred *Enterococcus* spp. strains were included in the study. Antimicrobial susceptibilities of strains were investigated by automated system, beta-lactamase production was investigated by nitrocefin disk, vancomycin resistance was investigated by E-test, HLAR was investigated by disk diffusion method. Polymerase Chain Reaction (PCR) method was used for detection of vancomycin and high-level gentamicin resistance (HLGR) genes.

Results: In our study, 58% of strains were *E.faecalis*, 38% of strains were *E.faecium*, 3% of strains were *E.avium*, 1% of strains were *E.gallinarum*. It was detected that teicoplanin (%94), linezolid (%91), vancomycin (%90), ampicillin (%70), penicilin (%70) are the most susceptible antibiotics respectively and strains were detected not to produce beta lactamase. Vancomycin resistance was detected in ten isolates by automated system and in only five isolates by E-test. Five isolates carrying *Van A* gene were determined using PCR and all of these strains were *E.faecium*. In our study, the ratio of HLGR and high-level streptomycin resistance was found 40% and 63% respectively. *Aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia* gene was detected in %58 of strains.

Conclusion: The majority of the isolates were *E.faecalis* and *E.faecium* in this study. *E.faecium* strains were found more resistant to the antibiotics than the other species. Beta lactamase was detected in none of strains. The automated system detected vancomycin resistance in more strains than E-test method. Therefore it's concluded that strains which was detected to be resistant to vancomycin should be confirmed by E-test method. The ratio of *VanA* gene in strains is consistent with other studies. The HLAR ratio was found in about half of strains. The ratio of *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* gene which is the most reported gene in our country and other contries and one of the HLGR genes investigated in our study was detected 58%.

Keywords: *Enterococcus* spp, beta lactamase, vancomycin, high-level aminoglycoside resistance

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Enterokoklar, çevre şartlarına dayanıklı olmaları, çeşitli antibiyotiklere intrensek dirençli olmaları ve yeni direnç geliştirme yeteneklerinden dolayı, son on yılda hastane infeksiyonlarının önemli nedenleri arasında yer almaktadır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde hastane infeksiyonu olan bakteriyemi etkenleri arasında üçüncü, cerrahi yara ve üriner sistem infeksiyonlarında ikinci sırada yer almaktadır. Enterokoklarda vankomisin direnci ilk kez 1988' de tanımlanmış ve daha sonra dirençli suşlar tüm dünyada yaygın hale gelmiştir (1).

Enterokok türleri nozokomiyal infeksiyonların etiyolojisinde giderek artan sıklıkta saptanmaktadır. Yirmiye yakın enterokok türü olmasına rağmen, *E. faecalis* ve *E. faecium* insanlarda en fazla infeksiyon etkeni olan türlerdir. Bu bakteriler, nozokomiyal üriner sistem infeksiyonu, cerrahi alan infeksiyonu ve bakteriyemilerin en sık nedenleri arasında yer almakta, endokardit gibi ciddi infeksiyonlara yol açmaktadırlar (2).

Enterokokların birçok antimikrobiyal ajana karşı intrensek dirençli olmaları ve bazı türlerinin bu bakterilere etkili az sayıdaki antibiyotiğe çoklu direnç göstermeleri tedavide güçlüğü neden olmaktadır. Enterokoklarda intrensek penisilin direnci, beta laktam antibiyotiklere düşük bağlanma afinitesi gösteren penisilin bağlayan protein 5 (PBP-5) enziminin varlığına bağlıdır. Bu nedenle enterokoklar birçok beta laktam antibiyotiğe dirençlidir. Beta laktam grubu antibiyotiklere karşı direncin diğer mekanizması ise beta laktamaz üretimidir. Beta laktamaz üreten enterokoklar nadiren izole edilirler (3). Beta laktamaz oluşturan *E. faecium* suşu ilk olarak 1981 yılında ABD'de tanımlanmıştır (4).

Enterokoklar iki farklı mekanizma ile aminoglikozidlere karşı direnç geliştirir. İlımlı düzeyde direnç (Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK): 62-500 µg/ml), genellikle düşük permeabileden dolayı gelişir. Aminoglikozidlerin hücre duvarı sentezini inhibe eden beta laktam grubu antibiyotiklerle birlikte kullanılması ile bu tip direnç ortadan kaldırılabilir. Yüksek düzey direnç (YDD) (MİK>2000 µg/ml),

aminoglikozidlerin ribozomdaki bağlanma bölgelerindeki değişiklik sonucu veya aminoglikozidleri inaktive eden enzimlerin sentezi sonucu oluşur. YDD genellikle aktarılabılır plazmid aracılı aminoglikozid inaktive edici enzimlerin üretimine bağlıdır.

Enterokoklarda en yaygın aminoglikozidleri modifiye eden enzim, *aac(6')-aph(2'')* geni tarafından kodlanan, birbirine kaynaşmış iki enzimden oluşan *APH(2'')*-*AAC(6')* enzimidir ve streptomisin dışındaki tüm aminoglikozidlere dirençten sorumludur. Yüksek düzey streptomisin direnci (YDSD)'nden de esas olarak aminoglikozid modifiye edici enzimler sorumlu tutulmaktadır (5-7). Enterokoklarda bugüne kadar bulunan aminoglikozid modifiye edici enzimleri kodlayan aminoglikozid direnç genleri *aac(6')-Ie-aph(2'')*-*Ia*, *aph(2'')*-*Ib*, *aph(2'')*-*Ic*, *aph(2'')*-*Id*, *aph(3')*-*IIIa*, *aac(6')*-*Ii*, *ant(3'')*-*Ia*, *ant(4')*-*Ia*, *ant(6')*-*Ia'*dır. Enterokoklarda aminoglikozidlere karşı görülen direnç, beta laktamlar ile arasındaki sinerjistik etkinin ortadan kalkmasına yol açması nedeniyle tedavide olumsuzluklara sebep olmaktadır.

Bunun yanında son zamanlarda ortaya çıkan vankomisine dirençli enterokokların (VRE) tedavisinde büyük sorunlar yaşanmaktadır (8). Vankomisine dirençli yeni patojenler çoğunlukla diğer antibiyotiklere de dirençli olduklarından tedavide sorunlar yaşanmaktadır. Glikopeptid grubu antibiyotiklere direnç ilk olarak 1988'de bildirilmiş, daha sonra vankomisine ve teikoplanine yüksek düzeyde dirençli suşlar tüm dünyada yayılmıştır (9).

Yapılan çalışmalarda glikopeptid dirençli enterokokların oldukça geniş coğrafik yayılım gösterdikleri ve hem fenotipik hem de genotipik olarak heterojen oldukları belirlenmiştir. Bugüne kadar tanımlanmış yedi vankomisin direnç fenotipi vardır. Bunlar *Van A*, *Van B*, *Van C*, *Van D*, *Van E*, *Van G*, *Van L'*dir (10). *Van A* ve *Van B* direnç fenotipleri *E. faecalis* ve *E. faecium*'da tarif edilmiştir. *Van A* dirençli suşlar indüklenebilirler, yüksek düzey vankomisin ve teikoplanin direnci gösterirler.

Bu çalışmada Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2008-Ağustos 2011 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerden (idrara, yara, abse, kan) izole edilen 100 *Enterococcus* spp. kökeninde vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid direnci (YDAD)'nin fenotipik ve genotipik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sınıflandırma

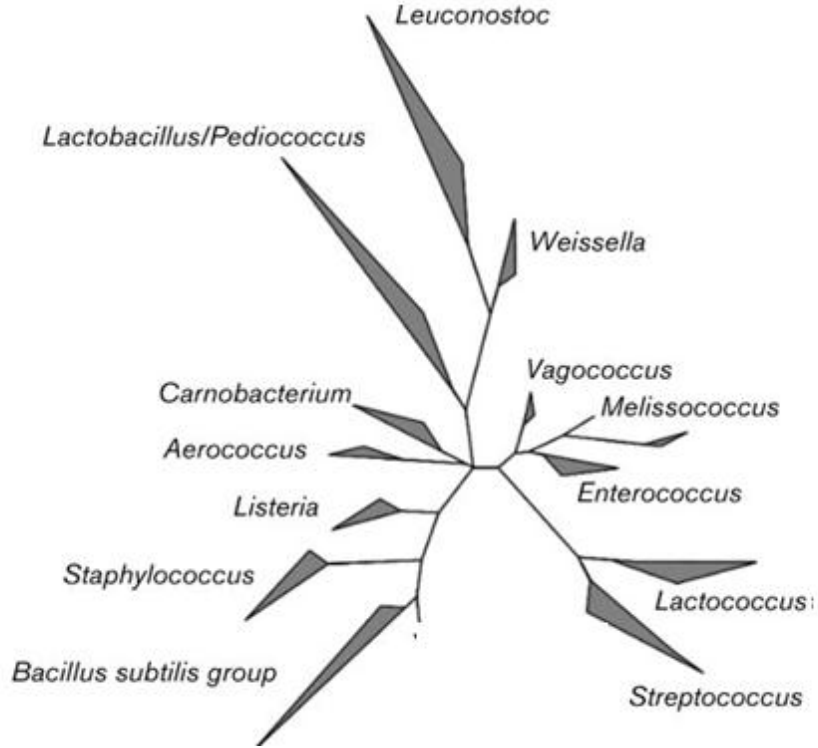
Enterococcus cinsi, Gram pozitif, katalaz negatif, sporsuz, fakültatif anaerob bakterilerden oluşur. Tekli veya zincirler halinde görülebilirler. Enterokoklar bakteriyosin üreten ve laktik asit bakterileri olarak bilinen gruba dahildir (11).

İlk kez 1899 da tanınmaya başlayan enterokoklar, Thiercelin tarafından barsak bakterisi olarak tanımlanmıştır (12). 1937 yılında Sherman *Streptococcus* türlerini fekal streptokoklar (enterokoklar), gıda kaynaklı enterokoklar, viridans grup ve pyogenous streptokoklar olarak 4 alt grupta sınıflandırmıştır. Sherman enterokok alt gruplarının, Lancefield grup D streptokoklarını içerdiklerini ve bunların hemolitik, proteolitik reaksiyonlarla ayırt edilebileceğini tanımlamıştır. 2003 yılında Klein (13) tarafından taksonomi ve ekolojisi tekrar gözden geçirilmiştir. Faj tipleme, biyotipleme, serotipleme gibi klasik metodlar, hangi streptokok türünün enterokok cinsine ait olduğunu tam olarak belirleyemez (11).

Enterokoklar uzun süre *Streptococcus* cinsinin ana gruplarından biri olarak sayılmış, fakat kimyasal ve fiziksel ajanlara daha dirençli olmaları ve çoğu grup D streptokokları içerisinde barındırması ile streptokoklardan farklılık göstermişlerdir. Son yıllarda enterokokların taksonomisinde önemli değişiklikler olmuştur. *Enterococcus* cinsi *Streptococcus* cinsinden ayrılıp farklı bir cins olarak tanınmaya başlanmıştır. *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium*'un yeni bir cins içerisinde değerlendirilmesi gerektiği görüşü moleküler çalışmalar ile desteklenmiştir (14).

1984'te Deoksiribonükleik asit (DNA) Hibridizasyon ve 16S ribozomal Ribonükleik asit (rRNA) sekanslama yöntemi kullanılarak *Streptococcus faecium* ve *Streptococcus faecalis* türlerinin *Enterococcus* cinsine dahil olduğu saptanmıştır. Bu durum grup D antijeninin hem streptokoklarda hem de enterokoklarda bulunduğunu göstermiştir. Streptokok türlerinden 9 tanesi enterokoklara dahil edilmiştir. Günümüzde Enterokok cinsi 28 tür içermektedir. Streptokokların 16S rRNA

sekanslama yöntemi kullanılarak elde edilen moleküler veriler sayesinde *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Lactococcus* türleri arasındaki ilişkiyi gösteren bir dendogram elde edilmiştir (Şekil 1) (13).



Şekil 1: *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Lactococcus* türleri arasındaki ilişkiyi gösteren bir dendogram

Bu metod ile enterokoklar *E. faecalis* ve *E. faecium* olarak 2 gruba ayrılmıştır. *E. faecalis* grubu; *E. faecalis*, *E. haemoperoxidus* ve *E. moraviensis*'i; *E. faecium* grubu; *E. faecium*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. porcinus* ve *E. villorum*'u içermektedir (13). Enterokoklar, 16S rRNA gen sekansları karşılaştırmasına dayalı filogenetik analizler ile fenotipik olarak benzediği streptokoklara kıyasla vagokok, tetragenokok ve karnobakteriler ile daha yakın ilişkilendirilmiştir. Günümüzde yeni *Enterococcus* türlerini tanımlama kriterleri, moleküler teknikler ve fenotipik testlerin sonuçları kullanılarak belirlenir. 16S rRNA gen sekanslaması *Enterococcus* türlerinin tanımlanmasında kullanılan en pratik ve güçlü yöntemdir. Son dönemde *Enterococcus* türleri arasındaki akrabalığı ortaya çıkarmak ve yeni türleri belirlemek amacıyla nükleik asit tabanlı bazı yöntemler de kullanılmaktadır (14). Aynı zamanda

enterokok hücrelerindeki uzun zincirli yağ asidi yapısının gaz-likid kromatografisi ile incelenmesi de tür ayırımında kullanılabilir (15, 16).

2.2. Morfoloji Ve Kimyasal Özellikler

Enterokoklar tek tek, ikili veya zincirler halinde bulunan Gram pozitif koklardır. Katı besiyerinden yapılan Gram boyamada kokobasil şeklinde görülebilirler. 24 saatlik inkübasyon sonrasında kanlı agarda üreyen koloniler 1-2 mm büyüklüğünde görülür. Bazı varyantlar daha küçük olabilirler. Tavşan, at veya insan kanlı besiyerlerinde *E. faecalis* türlerinin bir kısmı beta hemolitik koloniler oluştururken, koyun kanlı agarda hemoliz oluşturmazlar. Diğer türler genellikle alfa ya da gama hemoliz yaparlar.

Fakültatif anaerobdurlar. Glikoz fermentasyonu sonucu laktik asit oluştururlar. Karbonhidratları laktik asite indirgemeleri sebebiyle laktik asit bakterileri olarak değerlendirilirler. Gaz oluşturmazlar (14). %6,5 NaCl ve %40 safra tuzu varlığında bile üreyebilirler (17). PH, tuz, metaller ve kurumaya karşı direnci sağlayan bir katyon homeostazına sahip oldukları düşünülmektedir (11). *Enterococcus* türlerinin 5 °C ile 50 °C arasında değişen ısılarda üreme özellikleri vardır. Aerob ortamda beyin kalp infüzyon (BHI) agarda en düşük 6,5 °C, en yüksek 47,8 °C'de üreyebilirler. Optimum üreme ısıları ise 42,7 °C'dir. Anaerob ortamda da üreyebilirler (18, 19). *E. faecalis* ve *E. faecium* 30 dakikada 60 °C'ye kadar dayanıklıdır (20).

Safra varlığında eskülin hidrolizi yapabilirler. *E. faecalis* ve *E. faecium* pH 4,6- 9,9 arasında ürerler ama optimal pH 7,5 olarak saptanmıştır (18). Enterokok türlerinin üremesini etkileyen en önemli değişken pH olmakla birlikte sıcaklık ve tuz konsantrasyonu daha az etkiye sahiptir. *E. faecalis*'in geniş bir pH aralığına dirençli olmasının sebebi hücre zarının dayanıklı olması, asit ve alkalilere geçirgen olmamasıdır. Bununla beraber bazı çalışmalar bu direncin hücre zarına bağlı H⁺- ATPaz aktivitesine bağlı olduğunu ileri sürmektedir (21).

Enterokokların büyük bir kısmı grup D antiserum ile reaksiyon verirler. Grup D antijen tespiti sadece enterokoklara özgü değildir ayrıca *S. bovis*, *S. equinus*, *S. suis*, *Pediococcus* spp. ve *Leuconostoc* spp. gibi diğer Gram pozitif bakterilerde de bulunabilir (17). Lösin aminopeptidaz oluşturarak, lösin-p-naftilamid (LAP) hidrolizi yaparlar. Bunun sonucu *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. pallens*, *E. saccharolyticus* ve yeni tanımlanan türlerden *E. canintestini*, *E. devriesei* ve *E. moraviensis* haricindeki enterokokların çoğu pirolidonil arilamidaz üretimi ile L-pirolidonil-P-naftilamid (PYR)'i hidrolize eder. Bu reaksiyon onları grup A dışındaki streptokoklar, *Leuconostoc* ve *Pediococcus*'dan ayırmada çok yardımcıdır.

Bazı türleri hareketlidir (*E. casseliflavus* ve *E. gallinarum*). Bazıları pigmentlidir (*E. casseliflavus*, *E. gilvus*, *E. mundtii*, *E. pallens* ve *E. sulfureus*) (14). Enterokoklar sitokrom enzimleri içermedikleri için katalaz negatiftirler, fakat *E. faecalis* kan içeren besiyerinde üretildiğinde bazen zayıf bir psödokatalaz reaksiyonu görülebilir (17). Kanlı besiyerinde üreyen *E. haemoperoxidus* suşlarında pozitif katalaz testi gösterilmiştir. Çoğu enterokok kökeni hücre duvarına bağlı gliserol teikoik asit içerdiği için Lancefield sınıflandırmasında grup D antijeni olarak tanımlanır.

Enterokokların kesin olarak ayrımını sağlayan fenotipik kriterler yoktur. Buna karşılık bazı özellikler çoğu enterokok türünde mevcuttur (14). Katalaz negatif Gram pozitif bir kokun enterokok olarak tanımlanabilmesi için kökenin safra eskülin (SE), PYR ve LAP testlerinin pozitif olması, %6,5 Sodyum Klorür (NaCl) varlığında 45 °C'de üremesinin tespit edilmesi gereklidir. Sadece SE testi ve %6,5 NaCl buyyonda üreme özelliğine bakılarak yanlış sonuçlar verilebilir çünkü insan infeksiyonlarından izole edilen *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Vagococcus* cinslerinin de benzer fenotipik özelliklere sahip olduğu bulunmuştur (11).

Tablo 1: Bazı Gram pozitif, katalaz negatif kokları enterokoklardan ayırmaya yarayan testler

Test	<i>Enterococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Pediococcus</i>
Vankomisin duyarlılığı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Dirençli	Dirençli
PYR*	+	-	+	-	-
SE**	+	-	+	D‡	+
NaCl†	+	-	D‡	D‡	D‡
10 °C'de üreme	+	-	+	+	-
45 °C'de üreme	+	D‡	-	D‡	+
Hareket	-	-	-	-	D‡
Hemoliz	α, γ	α, γ	α, γ	α	α, β, γ

*PYR: L- pirolidonil- β -naftilamid hidrolizi, **SE: Safra eskülin hidrolizi, †NaCl: %6,5'lük NaCl içeren besiyerinde üreme ‡D: Değişken

2.3. Epidemiyoloji ve Bulaş

Enterokoklar zor çevre koşullarında üreyebilir, yaşayabilir ve hemen her yerde yaşamlarını devam ettirebilirler. Doğada yaygındır; toprak, bitkiler, su, besinler ve birçok hayvanda bulunabilirler. İnsanlarda gastrointestinal sistem flora üyesidirler. Genitoüriner sistem ve oral kavitede daha az oranda bulunurlar (14). İnsan gastrointestinal kanalında en çok *E. faecium* ve *E. faecalis*, hayvanlarda *E. faecium*, bitkilerde *E. mundtii* ve *E. casseliflavus* bulunur (13).

Enterococcus türlerinde prevalans konağa göre farklılık göstermektedir. Ayrıca yaş, diyet, altta yatan hastalıklar ve antibiyotik kullanımı gibi diğer faktörler de önemlidir. Enterokoklar barsakta kolonize olan Gram pozitif koklar arasında en yoğun olanıdır. Bu bölgede enterokoklar arasında en sık *E. faecalis* izole edilir (14). *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. durans* ve *E. gallinarum* gibi diğer türler insan

gastrointestinal kanalında farklı oranlarda bulunabilirler. İnsan dışkısının gramında 10^5 ile 10^7 arasında *E. faecalis*, 10^4 ile 10^5 arasında *E. faecium* bulunur (22).

Enterokoklar fırsatçı patojen mikroorganizmalardır. Gastrointestinal kanal, hastalıklara neden olan kökenlerin önemli bir kaynağı olarak kabul edilir. Danimarka'da yapılan bir çalışmada *E. faecalis*'in izolasyon oranının yatan hastalarda %57, sağlıklı bireylerde ise bu oranın %39-40 olduğu gösterilmiştir (23). Bakteriler infeksiyon yapmak üzere buldukları yerden başka bir bölgeye, başka konaklara veya çevreye yayılabilirler. Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar ile enterokokların hastalar ve hatta hastaneler arası yayılabilmesinde, bu bakterilerin barsak florasında bulunmasının çok önemli risk faktörü olduğu saptanmıştır.

Hastane kaynaklı infeksiyonlara yol açan enterokok türleri sağlık personelinin ellerinden ve hastane ile bakım evlerindeki çevresel kaynaklardan izole edilmiştir. Enterokokal infeksiyonların insidansındaki artış sadece erişkin hastalarda görülmemektedir; yenidoğan, çocuk yoğun bakım ve hematoloji, onkoloji ünitelerinde de önemli problemlere yol açar. *E. faecalis* tüm klinik enterokokal infeksiyonların en sık nedenidir (24).

2.4. Virulans ve Patojeniteleri

Staphylococcus aureus veya *Streptococcus pyogenes* kadar olmasa da birçok epidemiyolojik çalışmada %30'un üzerinde enterokok bakteriyemisine bağlı mortalite tespit edilmiştir. Enterokokal bakteriyemide yüksek mortalite gözlenmektedir. Bu hastaların çoğu ileri derecede düşkün, ağır hastalardır. Birçok hastada enterokoklar polimikrobiyal infeksiyonun bir parçasıdır ve tek başlarına morbidite ve mortaliteye etkilerini kestirmek oldukça zordur (25).

Enterokoklar klasik virulans faktörlerine sahip olmasa da çoklu antibiyotik dirençleri onlara antibiyotik tedavisi altında yaşama ve çoğalma olanağı sağlamaktadır. Enterokok türlerinin virulansını, gastrointestinal kanalı kolonize etme, trombospondin, laktoferrin ve vibronektin gibi ekstraselüler matriks proteinine

yapışma yeteneği, üriner sistem, ağız boşluğu epiteli ve insan embriyon böbrek hücrelerine yapışma yeteneği gibi faktörler belirler (17).

Barsak epitel hücrelerine bakterinin translokasyonu sonucu, yaptığı infeksiyonların çoğunun endojen olduğu, lenf nodları aracılığıyla infeksiyona yol açıp, diğer hücrelere yayıldığı düşünülmektedir. *E. faecalis* yüzeyindeki agregasyon faktörünün (AF), *invivo* olarak büyük agregatlar oluşturduğu ve böylece patogeneze katkıda bulunduğu gösterilmiştir. AF, enterokok hücre yüzeyinin hidrofobitesini artırır. Bu durum kolesterolün fagozoma yer değiştirmesini indükler. Lizozomal vezikül ile füzyonu geciktirdiği veya önlediği düşünülür. AF, konjugasyon sırasında agregat oluşumunu sağlayan indüklenebilir yüzey glikoproteini olan bir kemoatraktan maddedir. Böylece plazmid transferine yardımcı olur. Klinik *E. faecalis* izolatlarının Pulsed-field jel elektroforezi (PFGE) analizi, AF'yi kodlayan genin *E. faecium* 'da bulunmadığını göstermiştir (26).

E. faecalis 'te bulunan diğer bir hücre yüzey proteini Ace (adhesion of collagen from *E. faecalis*)'dir. Ace, mikrobiyal yüzey komponentlerini tanıyan adeziv matriks molekülleri ailesine ait kollajen bağlayan proteindir. Ace endokardit patogenezinde rol oynayabilir.

Ekstraselüler yüzey proteini (Esp) 1999'da *Enterococcus* türlerinde ilk tariflenen hücre duvarı ile ilişkili proteindir (27). Esp geni 5622 bp içerir ve infeksiyonlardan izole edilen kökenlerde yüksek sıklıkta bulunur. Adezyon, kolonizasyon, immün sistemden korunma ve antibiyotik direnci ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Esp, çevresel strese direnci ve üriner sistemdeki gibi ökaryotik hücrelere adezyonu sağlayan enterokokal biyofilm tabakasının oluşumuna katkıda bulunur. Çalışmalar esp genindeki bozulmanın, *E. faecalis*'in biyofilm oluşturma yeteneğini de bozduğunu göstermiştir. Esp-negatif *E. faecalis* suşlarının esp geninin plazmid transferini aldıktan sonra biyofilm oluşturabildikleri gösterilmiştir (28).

Enterokoklar biyofilm oluşturma özellikleri sayesinde endokarditlerde olduğu gibi endodontik ve üriner sistemde de infeksiyona yol açabilirler. Enterokokların pili oluşturma, biyofilm oluşumu için gereklidir ve bununla ilişkili gen kümesi endokardit ve biyofilm ile ilgili pili (ebp)'dir. Ebp operonu, ebp A, ebp B, ebp C ve

srt C genlerini içerir. *E. faecalis*'in pili içermeyen mutant suşu, biyofilm tabaka oluşturamaz (28).

Enterokoklardan salgılanan virulans faktörlerinin de patogeneze rolleri vardır. Sitolizin (hemolizin) bakteriyel toksindir. Sitolizin insanlarda beta hemolitik özelliğe sahiptir ve diğer Gram pozitif bakterilere bakterisidal etkilidir (28). Hyaluronidaz, jelatinaz ve serum proteazı içeren hidrolitik enzimler, enterokok türlerinin virulansında rol alır. Hyaluronidaz, hyaluronik asite etki eden ve doku hasarı ile ilgili olan lizozomal enzimdir. Hyaluronidaz bağ dokusunun mukopolisakkarit tabakasını depolimerize eder ve böylece enterokokların yayılımını sağlar (11).

Hem serin proteaz hem de jelatinazın enterokok patogenezinde asıl rollerinin konak dokuyu parçalayıp bakterilere besin sağlamak olduğu düşünülmektedir. Jelatinaz *E. faecalis* tarafından salgılanan ekstraselüler çinko metallopeptidazdır. Jelatinaz, kazein, hemoglobin ve diğer biyoaktif aminleri hidrolize eder (11).

2.5. Klinik İnfeksiyonlar

Enterokoklar kommensal mikroorganizmalar olup daha çok altta yatan önemli bir hastalığı olan yaşlılarda, uzun süreli hastanede yatan ya da invaziv gereçlerin kullanıldığı ve/veya geniş spektrumlu antibiyotiklerin verildiği bağışıklık yetmezliği bulunan hastalarda infeksiyonlara yol açarlar. Hastalık oluşturabilmek için mikroorganizma önce kolonizasyon bölgesinden yer değiştirmeli ve vücudun savunma mekanizmalarından kaçarak konakta patolojik değişikliklere sebep olmalıdır. Enterokoklarda çeşitli virulans faktörleri tanımlanmıştır. Fakat bunlardan hiçbiri insanlardaki virulansı tam olarak açıklayamamaktadır. Diğer yandan enterokokların direnç özellikleri, bu cinsin üyelerinin konak ya da çevrede uzun süreli yaşamasının nedeni olarak görülmektedir (14). Bu da bakterinin persistansını ve hastane kökenli infeksiyonların etkeni olmasını açıklar. Enterokoklar 1970'li yılların sonundan itibaren hastane infeksiyonlarının sık rastlanan etkenlerinden biri haline gelmiştir. Bu durum sık kullanılan antibiyotiklere karşı artan dirençle paralel olarak seyretmiş ve sonuçta enterokokal infeksiyonların tedavisinde zorluklar ortaya

çıkmiştir. Sonuç olarak enterokokların birçok yaş grubuna yayılmasına ve daha fazla insanın bu infeksiyonlara duyarlı hale gelmesine yol açmıştır (29).

2.5.1. Enterokoklarla gelişen infeksiyon hastalıkları:

- **Üriner sistem infeksiyonları:** Enterokokların yol açtığı klinik hastalıkların en sık görülen şeklidir ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarında enterokoklar en sık idrar kültürlerinden izole edilmektedir. Enterokokların etken olduğu üriner sistem infeksiyonlarının çoğu nozokomiyaldir ve çoğunlukla üriner kateterizasyon ile birlikte bulunur. Özellikle yapısal bozukluğu veya tekrarlayan üriner sistem infeksiyonu olan hastalarda daha fazla görülür (30).

Enterokoklar hastanede yatmayan genç, sağlıklı kadınlarda komplike olmamış sistit gibi üriner infeksiyonların %5'inden azını oluşturur. Enterokoklar prostatit ve perinefrik absese de yol açabilir (17).

- **Endokardit:** Enterokoklar viridans streptokoklar ve *S. aureus*'dan sonra üçüncü en sık rastlanan infektif endokardit etkenidir. Enterokoklar bakteriyel endokarditlerin %5-15'ini oluştururlar. Enterokok endokarditi süt çocuklarında nadirdir fakat çocuklarda görülebilir. Erkeklerde ve 50 yaş üzerinde daha sıktır. Tüm enterokokal endokarditlerde en sık izole edilen suş *E. faecalis* olup, bunu *E. faecium* izlemektedir (24). Vakaların çoğunda altta yatan bir kalp kapak hastalığı veya prostetik kapak mevcuttur fakat enterokoklar normal kapaklarda da infeksiyona sebep olabilirler. Doğal kapak bakteriyel endokarditlerinin %20'sini, prostetik kapak endokarditlerinin ise %6-7'sini oluştururlar (30). Enterokok endokarditleri ciddi seyirli infeksiyonlar olmakla birlikte bakteriyemilerden daha seyrek görülürler.

İntravenöz (IV) ilaç bağımlılarında %5-53 oranında etken olabildikleri gösterilmiştir (30). Hastalık cerrahi yolla ya da manüplasyonlarla gastrointestinal sistemden veya çoğunlukla da genitoüriner infeksiyon ve genitoüriner bölgeye invaziv girişim uygulanmasından kaynaklanır. En sık aort ve mitral kapak tutulur. Aortik kapak tutulumunun daha çok cerrahi gerektirdiği ve 3 aydan daha fazla

semptomları olan hastalarda relapsın daha sık görüldüğü belirtilmektedir (17). Enterokoklar genellikle subakut bakteriyel endokardite neden olurlar (30).

-Bakteriyemi: Enterokok endokarditinden daha sık görülen ve giderek sıklığı artan bir enfeksiyondur. Endokardit hastane dışı kaynaklı enterokok bakteriyemilerinin 1/3'ünde görülürken nozokomiyal bakteriyemilerde endokardit oranı %1'in altındadır (30). Enterokokal bakteriyemi özellikle polimikrobiyal ve Gram negatiflerle birlikte ise %34-68 arasında değişen bir mortalite görülebilmektedir (24).

Nozokomiyal enterokok bakteriyemileri sıklıkla üriner sistem enfeksiyonlarından ve karın içi enfeksiyonlardan kaynaklanır. Pelvik sepsis, yaralar (özellikle termal yanıklar, dekübit ülserleri veya diyabetik ayak enfeksiyonları), kolanjit, IV veya intraarteriyel kateterizasyon sonrası bakteriyemi gelişebilir (30). Solunum yolları enterokokal bakteriyemi için nadir bir giriş yoludur. İmmün süpresif hastalarda sıklıkla gözlenen primer enterokokal bakteriyemi muhtemelen gastrointestinal sistemden kaynaklanmaktadır (24).

-Kan Akımı İnfeksiyonları: Nozokomiyal enfeksiyonlarda sık görülen bir etkidir. Hematoloji, onkoloji ve yoğun bakım ünitelerinde de gittikçe oranı artmaktadır. Nozokomiyal kaynaklı enterokokal bakteriyemilerin çoğunda infektif endokardit birlikteliği yoktur fakat hastane dışı bakteriyemilerin 1/3'ünde endokardit olaya eşlik etmektedir. Enterokoklar, pozitif kan kültürlerinin yaklaşık %5'inden izole edilmektedirler. Enterokokların neden olduğu bakteriyemide en sık odak (%19-24) üriner sistemdir. Enterokokal bakteriyemiler, genellikle polimikrobiyaldir ve mortaliteleri yüksektir. Tek başına enterokokların etken olduğu bakteriyemilerde ise mortalite %28 civarındadır. Primer enterokokal bakteriyemiler daha çok immün sistem yetmezliği olan hastalarda ve monomikrobiyal olarak görülmekte olup odak çoğunlukla gastrointestinal sistemdir (24).

- Karın içi ve pelvik enfeksiyonlar: Enterokoklar gastrointestinal kanalda sıklıkla mikst aerob ve anaerobik floranın bir parçası olarak bulunurlar. İkinci sıklıkta izole edildikleri enfeksiyonlar intraabdominal enfeksiyonlardır. Yapılan birçok hayvan deneyinde enterokokların ancak diğer mikroorganizmaların sinerjik etkisi ile abses oluşturabildikleri görülmüştür (17). Bu enfeksiyonlarda, *E. coli* veya *Bacteroides*

spp'e oranla daha az bakteriyemiye yol açarlar ve çoğu zaman enterokoklar üzerine etkili olmayan antimikrobiyal ilaçlarla yapılan tedavi ile iyi sonuçlar alınabilir.

Enterokoklar siroz veya nefrotik sendromlu hastalardaki spontan peritonit ve peritoneal diyalizli hastalardaki peritonitin etkenidirler (24). Ayrıca enterokoklar, akut salpenjit, endometrit gibi peripartum maternal infeksiyonlar ile sezeryan sonrası abseye yol açabilirler. Saf enterokokal peritonit abdominal cerrahi veya travma komplikasyonu olarak görülür (30).

- **Yara ve yumuşak doku infeksiyonları:** Enterokoklar selülit veya diğer derin doku infeksiyonlarında çok nadir izole edilirler. Sıklıkla cerrahi yara infeksiyonları, dekübit ülserleri ve diyabetik ayak infeksiyonlarında Gram negatif basil ve anaerob bakteriler ile birlikte izole edilebilirler. Ancak bu olgularda enterokokların klinik önemini değerlendirmek karın içi abselerinde olduğu gibi zordur (30). Yanıklı hastalarda yara kolonizasyonu ve sepsise yol açabilirler. Diyabetik ve nondiyabetik hastalarda nadiren kronik osteomyelit etkeni olarak saptanabilirler (17).

- **Menenjit:** Enterokokal menenjit, santral sinir sisteminde anatomik bir defekt, geçirilmiş beyin ameliyatı ya da kafa travması gibi predispozan faktörlerin varlığında veya spontan olarak her yaşta gözlenebilmektedir (30). Yapılan çalışmalarda enterokoklara bağlı menenjit oranının %0-3 olduğu görülmüştür (24, 31-33). Vakaların büyük bir kısmı, bir yaşın altındaki çocuklardır. Çocukların çoğunda altta yatan predispoze faktör geçirilmiş nörocerrahidir. Erişkinlerde bildirilen olguların çoğu enterokokal endokardit veya üriner sistem infeksiyonu olan, beyin cerrahisi ile ilgili girişim uygulanan ya da immün sistemi baskılanmış hastalardır. Ayrıca bakteriyemi düzeyi yüksek olan endokardit ve neonatal sepsisli hastalarla, Kazanılmış İmmün Yetmezlik Sendromu (AIDS) ve akut lösemi gibi immünsüprese hastalarda bazen enterokoklara bağlı menenjitler görülebilmektedir (30). Enterokoklara bağlı menenjitte mortalite oranı, toplumsal kökenli menenjitten daha yüksektir (24, 34).

- **Neonatal infeksiyonlar:** Neonatal sepsiste enterokoklar nadiren etken olarak izole edilirler, ancak salgın dönemlerinde görülme sıklıkları artar. Neonatal bakteriyemi ve septisemili olguların yaklaşık %10'unda enterokoklar etkindir ve bu oran giderek

artmaktadır. Bu durum, nozokomiyal yayılım ve prematürlerin yaşam sürelerindeki artışa bağlıdır. Enterokok infeksiyonlarında etkilenen infantlar genellikle prematüreler, düşük doğum ağırlıklı bebeklerdir ve daha çok nozokomiyal salgınlar şeklinde ortaya çıkarlar (24, 30, 35). Bu yaş grubunda enterokokal bakteriyemi için, uzamış hastane yatışı, uzun süre antibiyotik kullanımı, santral venöz kateter kullanımı ve nekrotizan enterokolit en önemli risk faktörleri olarak tespit edilmiştir (24).

- **Nozokomiyal infeksiyonlar:** Son zamanlarda enterokoklara bağlı hastane infeksiyonlarında ciddi bir artış vardır. Enterokoklar ABD’de hastane kökenli infeksiyonlarda en sık izole edilen etkenlerden biridir. Uygun antibiyotik kullanılmaması, invaziv cihaz uygulamasının artması ve hastalarda immün sistem yetmezliği olması bu duruma yol açan en önemli faktörlerdir. Yapılan bir çalışmada değişik direnç paternlerine sahip enterokokların hastane personelinin elleri ile taşındığı gösterilmiş ve hastane ortamındaki cansız objelerin sebep olduğu salgınlar tespit edilmiştir (3, 17).

2.6. Tedavi

Enterokokların neden olduğu üriner sistem, peritonit ve yumuşak doku infeksiyonlarının çoğu ampisilin, penisilin veya vankomisin gibi enterokoklara bakteriyostatik olan bir ajan ile tedavi edilebilir. Endokardit ve menenjit gibi diğer ciddi sistemik infeksiyonların tedavisi ise klinikte sorun yaratmaktadır (17). Bunlar, enterokok izolatlarının duyarlı olduğu penisilin (ampisilin veya penisilin G) ve enterokok izolatının yüksek düzeyde direnç göstermediği bir aminoglikozid (gentamisin veya streptomisin) ile kombinasyon tedavisini gerektirir (36). Tek başına yüksek doz penisilin ile enterokokal endokardit tedavisi başarılı değildir. Bakterisidal bir kombinasyon tedavisi gereklidir. Genel olarak enterokokal endokarditin tedavisinde penisilin veya ampisilin (beta laktam intoleransı olanlarda vankomisin) ile kombine gentamisin veya streptomisin 4-6 hafta boyunca kullanılmaktadır. Düşük doz gentamisin (3 mg/kg/gün) ve yüksek doz penisilin (20 milyon ünite/gün) veya ampisilin (12 g/gün) ile 6 hafta tedavi önerilmektedir. Yapılan çalışmalar

enterokoklarla gelişen prostetik kapak endokarditinin sadece antibiyotiklerle de tedavi edilebileceğini göstermektedir (17).

Aminoglikozid ve vankomisin kombinasyonunun, hem *invivo* hem *invitro* olarak enterokoklara karşı sinerjik etki gösterdikleri kanıtlanmıştır. Ayrıca bu kombinasyon, ampisilin ve penisilin dirençli suşların veya ciddi penisilin alerjisi olan hastaların tedavisinde kullanılan diğer bir seçenektir (37, 38). Ancak enterokoklar klasik tedavilere giderek dirençli hale gelmektedir. Ampisilin ve YDAD'ye ek olarak vankomisin direncinin hızla yayılması tedavi seçeneklerini kısıtlamaktadır (39, 40).

Enterokok türlerinde vankomisin direnci, tedavide bir sorun olarak ilk kez Batı Avrupa ve ABD'de ortaya çıkmış ve bildirilmiştir (9, 41, 42). Özellikle *E. faecium*'a bağlı VRE infeksiyonlarının tedavisi, bu mikroorganizmaların çoklu antibiyotik direnci göstermesi nedeniyle oldukça sorunludur. Penisilin veya ampisilinle kombine olan veya olmayan aminoglikozid tedavisi, vankomisin dirençli *E. faecalis* ile enfekte hastalarda uygun bir seçenektir. Neredeyse tüm *E. faecalis* suşları ampisiline duyarlıdır. Bu nedenle bu izolatlarda vankomisin direnci olsa dahi, tedavileri nispeten kolaydır. Ancak penisilin ve ampisiline doğal olarak daha dirençli olan *E. faecium*'larda tedavi daha zordur (36). Eğer VRE ampisiline oldukça dirençli ise, diğer antibiyotiklere (tetrasiklin, eritromisin, kloramfenikol, yüksek düzey aminoglikozid, rifampin, florokinolon, novobiosin ve üriner sistem infeksiyonu için nitrofurantoin) olan direnci incelenmelidir (36, 43). Streptomisine veya gentamisine yüksek düzeyde direnç bakterisidal sinerjizmi bozmaktadır (17). Eğer enterokok gentamisin ve streptomisine karşı yüksek düzeyde dirence sahipse, güvenilir bir bakterisidal etki elde etmek için mevcut bir tedavi şekli yoktur (36). Gentamisine yüksek düzeyde direnç bulunan suşların çok az bir kısmında streptomisine direnç olmayabilir. *E. faecium*'un bir tür özelliği olarak içerdiği kromozomal aminoglikozid modifiye edici enzim, tobramisin kullanımını engellemektedir. Yüksek düzeyde aminoglikozid direnci içeren suşlarla gelişen enterokokal endokarditin optimal tedavisi bilinmemektedir (17). Normalden daha uzun bir süre yüksek doz ampisilin infüzyonu uygun bir yaklaşımdır (14).

Kloramfenikol, çoklu ilaç dirençli *E. faecium* suşlarının çoğuna karşı in vitro aktivitesini koruyan birkaç ajandan biridir ama kullanımını sınırlıdır ve VRE infeksiyonlarının tedavisinde orta düzeyde etkilidir (36).

Teikoplanin, *Van B* tip enterokokların çoğuna karşı in vitro olarak etkili olan diğer bir glikopeptiddir. Teikoplanin bir aminoglikozidle kombine edildiğinde, hayvanlardaki endokarditlerde bazı etkinlikler göstermiştir. Bununla birlikte Hayden ve ark. (44) *Van B* tip *E. faecium* kökeninde in vivo teikoplanin direnç gelişimini bildirmiştir. Bu bulgu tedavi seçeneği hakkında kaygılara yol açmış ve teikoplaninin terapötik etkinliğini sınırlamıştır.

Seftriakson, normalde enterokoklara karşı etkisizdir ancak seftriakson, vankomisin, gentamisin kombinasyonunun, penisilin ve glikopeptid dirençli *E. faecium*'a bağlı endokarditlerin tedavisinde penisilin, vankomisin, gentamisin veya penisilin, teikoplanin, gentamisin kombinasyonundan daha etkili olduğu bildirilmiştir (45).

Kinolonlar, siprofloksasin, ofloksasin, norfloksasin ve enoksasin dahil enterokoklara karşı orta düzeyde etkinliğe sahiptir. Bakterisidal etki inokulum bağımlıdır. Etkili bir şekilde, üriner sistem infeksiyonlarının tedavisinde kullanımları sınırlıdır. Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili olan yeni florokinolon grubu antibiyotikler üretilmiştir. Bu yeni florokinolonlar arasında enterokoklara karşı en etkili olan ajan klinafloksasindir (36). 20 µg/ml ampisilin ve 1 µg/ml klinafloksasin kombinasyonun bakterisidal etkili olduğu gösterilmiştir (46).

Novobiosin, Gram pozitif etkinliğe sahip daha eski bir DNA giraz inhibitörüdür. İn vitro veriler novobiosinin *Van A* veya *Van B* tip vankomisin dirençli *E. faecium* suşlarına (ampisilin ve penisiline dirençli olsalar dahi) karşı çok etkili olduğunu düşündürmektedir (47). Novobiosin tek başına bakterisidal değildir fakat bir florokinolon ilavesiyle kombinasyon bakterisidal etkili olur. Siprofloksasin ile novobiosinin kombine kullanımı bildirilmiştir ama tedavi sonrası yüksek relaps oranları görülmüştür.

Dalfopristin-kinupristin (RP 59500) bir protein sentezini inhibe eden, in vitro *E. faecium*'a güçlü bir şekilde etkili, *E. faecalis*'e zayıf etkili bir antibiyotiktir (48).

Daptomisin, VRE dahil birçok Gram pozitif mikroorganizmaya in vitro bakterisidal etkilidir. Daptomisin *E. faecium* infeksiyonları için onay almamasına

rağmen, az sayıda klinik çalışma ve verilere dayanılarak tedavide önerilmektedir (49-51). Daptomisin için *E. faecium* için MİK değeri *E. faecalis*'ten daha yüksektir. *E. faecium*'un Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı daptomisin MİK sınır değeri yoktur fakat Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) daptomisin MİK değeri 4 µg/mL'den büyükse duyarlı olmadığını göstermektedir (52). Komplike santral sinir sistemi infeksiyonları için günlük IV onaylanmış doz 4 mg/kg'dır. *S. aureus*'a bağlı kan akımı infeksiyonları için onaylanmış günlük IV doz 6 mg/kg'dır. Bazı uzmanlar günde bir kez 8 mg/kg'lık yüksek dozu uygun görmektedir (53). Daptomisin tedavisi alan hastalar miyopati gelişimi açısından düzenli olarak izlenmelidir. Serum kreatin kinaz değerleri en az haftada bir kez ölçülmeli ve kas ağrısı veya güçsüzlüğü gelişimi için dikkatle izlenmelidir.

Ramoplanin, bir lipoglikodepsipeptiddir ve hatta daha aktiftir. Ramoplanin enterokoklar için bakterisidal etkilidir. İlk çalışmalarda ramoplanin IV veya intramusküler enjeksiyonu takiben iyi tolere edilememiştir ve sistemik toksisitesinden dolayı sistemik kullanım için uygun görülmemektedir ancak topikal kullanım için geliştirilmektedir. Ramoplaninin glikopeptid dirençli enterokokların gastrointestinal sistemden temizlenmesi için kullanılabileceği ve glikopeptid dirençli enterokoklar ile kolonizasyon riski olmadan *C. difficile* eradikasyonunda kullanılabileceği ileri sürülmüştür (54, 55).

LY333328 (oritavansin), semisentetik glikopeptiddir, VRE'ye karşı en etkili ajanlardan biridir. Bu ajan enterokoklara karşı bakteriyostatik etkinin yanısıra bakterisidal etki de göstermektedir. Etki mekanizması hala bilinmemektedir ama vankomisin ile benzer olduğu düşünülmektedir. LY333328'in VRE'ye karşı bakterisidal etki gösterdiğini belirten çalışmalar vardır (56). İlk in vivo çalışmalarda sıçanlarda görülen uzun yarılanma ömrü ile LY333328'in farmakokinetiği açısından vankomisin üzerinde önemli bir avantaja sahip olduğu bildirilmiştir (57). İki yeni çalışmada, LY333328'in postantibiyotik etkisinin uzun süreli olduğu bulunmuştur (58).

VRE'ye karşı in vitro aktivite gösteren diğer çalışılmakta olan ajanlar glisilsiklinler, oksazolidinonlar ve ketolidlerdir.

Tetrasiklinler, bazı VRE izolatları tetrasiklinlere duyarlıdır. Doksisisiklin ve minosiklin genellikle diğer ajanlarla birlikte VRE infeksiyonlarının tedavisinde

kullanılmıştır. Gram pozitif koklar arasındaki tetrasiklin direnci, etkinliğini sınırlandırmaktadır. Glisilsiklin olarak bilinen tetrasiklin türevlerinin çoklu ilaç direnci gösteren enterokoklara karşı etkinliği vardır. Etkileri bakteriyostatiktir. Eğer klinik olarak etkili olursa, glisilsiklinler Gram pozitif koklar ile oluşan infeksiyonların tedavisi için önemli ilaçlar haline gelebilirler (36).

Ketolidler, Gram pozitif koklara etkinliği olan makrolid türevlerinin yeni sınıfıdır. Etki mekanizmaları 50S ribozomal alt birime bağlanma ve bakteri protein sentezi inhibisyonunu içeren makrolid veya makrolid-linkozamid-streptogramin bileşiğine benzerdir (59). Ketolidler çoklu ilaç direnci gösteren stafilokoklar, enterokoklar ve pnömokoklar gibi Gram pozitif organizmalara karşı in vitro aktivite gösterirler (60). RU-64004 yeni bir ketoliddir. Vankomisin dirençli *E. faecium* suşları için, RP-59500'ün etki spektrumunun RU-64004'e eşit veya daha üstün olduğu bulunmuştur (61).

Oksazolidinonlar, Gram pozitiflere karşı etkinliği olan sentetik antibiyotikler grubunun yeni bir üyesidir. Birçok türe karşı bakteriyostatik etkiye yol açan protein sentez inhibisyonu yaparak etki eder. Mevcut klinik kullanımdaki antibiyotikleri etkileyen direnç mekanizmaları oksazolidinonun aktivitesini etkilemez. Oksazolidinon oral yolla verildiğinde aktiftir. Linezolid vankomisine dirençli *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarına karşı in vivo ve in vitro olarak güçlü etkiye sahiptir. İlacın onaylanmadan önce kullanılmasıyla elde edilen ilk veriler, 2000 yılında linezolidin FDA onayı almasını sağlamıştır (62). Linezolid özellikle enterokokal endokardit tedavisi için onay almamış olmasına rağmen bu durumlarda kullanılmıştır.

Tigesiklin, vankomisine duyarlı *E. faecalis* tarafından oluşturulanlar dahil komplike santral sinir sistemi infeksiyonları ve intraabdominal infeksiyonların tedavisi için onaylanmıştır. In vitro ve hayvan deneylerinin verilerine göre, VRE'ler tigesikline duyarlı görünmektedir. VRE infeksiyonların tedavisinde tigesiklinin rolünü tanımlamak için daha ileri çalışmalar gereklidir (63-65).

Rifampin, zayıf bakterisidal aktivitesi ve dirençli bakterilerin alt türlerinin ortaya çıkması nedeniyle, tek başına enterokok infeksiyonların tedavisinde çok sınırlı etkiye sahiptir (66).

Fosfomisin, ilk olarak 1969 yılında *Streptomyces* kültürlerinden izole edilmiş bir fosforik asit türevidir (67). ABD'de *E. coli* ve *E. faecalis* tarafından oluşturulan komplike idrar yolu infeksiyonu tedavisi için onaylanmıştır ancak özellikle de Avrupa'da yaygın olarak kullanılmaktadır. Fosfomisin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı aktiviteye sahiptir. Fosfomisin *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae* ve *E. faecalis*'e ve bazı Gram negatif mikroorganizmalara in vitro olarak aktiftir (68, 69). Enterokoklara karşı etkinliği vardır fakat hızlı direnç gelişimi tek ajan olarak kullanımını kısıtlamıştır.

2.7. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Enterokokal infeksiyonların tedavisinde başarılı olabilmek için bu organizmanın sahip olduğu direnç özelliklerini kavramak gerekmektedir. Enterokoklar sıklıkla kullanılan antibiyotiklere direnç göstermektedirler. Bu durum özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium* üzerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (14). Hiçbir antibiyotik tek başına enterokoklara karşı bakterisidal etki gösterememektedir. Enterokoklardaki antibiyotik direnci intrinsek (türe özgü) ve kazanılmış olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Enterokoklardaki antimikrobiyal direnç mekanizmaları ve etkilediği antibiyotikler Tablo 2'de gösterilmiştir (17).

Tablo 2: Enterokoklarda antimikrobiyal direnç mekanizmaları

Direnç	Etkilediği antimikrobiyaller
İntrensek direnç	Aminoglikozid direnci (düşük düzeyde direnç) Beta laktamlar (yüksek MİK değerleri) Linkozamidler (düşük düzeyde direnç) Trimetoprim-sulfametaksazol (TMP-SXT) (sadece in vivo direnç) Dalfopristin/Kinupristin (<i>E. faecalis</i> suşları streptogramin A'ya intrensek olarak dirençli)
Kazanılmış direnç	Aminoglikozid direnci (yüksek düzeyde direnç) Beta laktamlar (PBP'lerde değişiklik) Hücre duvarına etkili ajanlar (tolerans) Florokinolonlar Linkozamidler (yüksek düzeyde direnç) Makrolidler Penisilin ve ampisilin (Beta laktamaz) Rifampisin Tetrasiklin Vankomisin Dalfopristin/Kinupristin Linezolid

2.7.1. İntrensek direnç

Enterokok türlerinin çoğunda doğal olarak kromozomlarda kodlanmıştır. Bazı antibiyotikler için gözlenen yapısal direnç mekanizmaları bazı *Enterococcus* türlerine veya cinslerine özeldir. Buna karşın kazanılmış direnç daha değişkendir, mevcut DNA'daki mutasyonlarla veya plazmid ya da transpozon üzerindeki bir genetik elemanın kazanımıyla ortaya çıkar (14).

Enterokoklar penisiline, sefalosporinlere, nalidiksik aside, linkozamidlere, TMP-SXT'ye, aminoglikozidlere (düşük düzeyde), polimiksinlere, monobaktamlara ve dalfopristin/kinupristin'e karşı intrensek dirençlidirler (36).

- Beta Laktam direnci

Enterokoklarda intrensek penisilin direnci, beta laktam antibiyotiklere düşük bağlanma afinitesi gösteren PBP-5 enziminin varlığına bağlıdır. Bu nedenle enterokoklar birçok beta laktam antibiyotiğe dirençlidir (70). Özellikle *E. faecium* suşlarında dirençli suş oranı artış göstermektedir. *E. faecium*'un, *E. faecalis*'e göre bu grup antibiyotiklere karşı duyarlılığı daha azdır (4). *E. faecium*'un PBP'lerinin penisiline karşı afinitesi giderek azalmaktadır. *E. faecium* suşlarının yaklaşık %85–90'ı ampisiline dirençlidir. *E. faecalis* suşlarında ise ampisilin direnci yaklaşık %2–3 oranındadır. *E. faecalis* çoğu streptokoka kıyasla penisilinlere 10 - 100 kat az duyarlı iken *E. faecium* ise *E. faecalis*'ten en az 4 - 16 kat daha az duyarlıdır. Çoğu *E. faecalis* kökeni penisilin ya da ampisilinin 1 – 8 µg/ml konsantrasyonları ile inhibe olur (71). *E. faecium*'da ise ortalama 16 - 64 µg/ml büyümenin engellenmesi için gereklidir (3). Yapısal direnç yüzünden antibiyotiklerin enterokoklar üzerinde zayıf etki etmesi nedeniyle endokarditte, menenjitte veya özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ortaya çıkan diğer sistemik infeksiyonlarda tedavide beta laktam gibi hücre duvarına etkili bir ajan (tercihen penisilin) veya vankomisin ile birlikte bir aminoglikozid (genellikle gentamisin ya da streptomisin) verilir. Böylece sinerjistik etki ile hücre duvarına etki eden antibiyotik sayesinde aminoglikozid antibiyotiğin hücre içine girmesi kolaylaşır ve yapısal direncin üstesinden gelinerek enterokoklara karşı bakterisidal etki sağlanmış olur (14).

- Aminoglikozid direnci

Enterokoklar düşük düzeyde aminoglikozid direnci gösterirler. Bu tip dirençte iki mekanizma söz konusudur. Birinci mekanizma, bu ilaçların bakteri içerisine girişinin az olmasıdır. Aminoglikozidler enerji bağımlı mekanizmalar aracılığıyla bakteri hücre duvarından geçmektedirler ve enterokokların sitokrom enzimleri olmadığı için geçirgenlik azalmaktadır. Ancak aminoglikozid grubu ilaçlar, hücre duvarı sentezini inhibe eden beta laktam antibiyotikler ile kombine edilirse zedelenen hücre duvarından daha kolay geçeceklerinden sinerjistik etki oluşur ve MİK değerleri

önemli düzeyde düşer (47, 72, 73). İkinci mekanizma sadece *E. faecium*'da bulunur. *E. faecium aac(6')-li* geni tarafından kodlanan 6'asetiltransferaz (AAC-6') enzimine sahiptir. Bu enzim aminoglikozid yapısındaki bir amino grubunun asetil CoA'ya bağımlı olarak asetilasyonuna yol açar. Böylece sitoplazmaya geçen ilaç inaktive edilir. Enzim kanamisin, netilmisin, sisomisin, isepamisin ve tobramisinini modifiye eder. Ancak gentamisine etkisi yoktur (4).

- Diğer antibiyotikler

Enterokoklar linkozamid grubu antibiyotiklere karşı da düşük düzeyde direnç gösterirler. Ayrıca enterokokların ekzojen folatı kullanma yetenekleri olduğundan TMP-SXT'ye de intrensek olarak dirençlidirler. TMP-SXT'ye karşı in vitro şartlarda duyarlı görülebilirler ancak, in vivo şartlarda etkisizdirler. Bu nedenle antibiyotik duyarlılık testlerinde TMP-SXT kullanılmamalıdır. *E. faecalis* intrensek olarak dalfopristin/kinupristin'e de dirençlidir. *E. gallinorum*, *E. casseliflavus* ve *E. flavescens*'te intrensek olarak vankomisine düşük düzeyde direnç gösterirler (36, 72).

2.7.2. Kazanılmış direnç

Kazanılmış direnç genellikle DNA mutasyonları veya transpozon, plazmid veya patojenite adaları gibi yeni bir DNA segmentinin genoma transferi sonucu gelişir. En sık görülen mekanizma konjugasyondur. Başka mikroorganizmalar için tanımlanmış olan transduksiyon ve transformasyon gibi mekanizmalar enterokoklarda doğal koşullarda DNA transferine neden olmaz.

- Beta laktam direnci

Beta laktam direnci enterokok cinsi bakterilerin tipik özelliğidir. Enterokoklar iki ayrı direnç mekanizması ile beta laktam antibiyotiklere direnç kazanır. Direncin ana mekanizması, kromozomal olarak düşük afiniteli PBP5 miktarının artması sonucu penisilinin hücre içine girişinin azalmasıdır. Penisilin direnci, enterokoklarda bulunan PBP5 miktarı ile doğru orantılıdır ve sıklıkla *E. faecium* suşlarında görülür. PBP5 sentez yeteneğinin kaybının, penisiline oldukça dirençli suşların çok duyarlı olmasına neden olduğu gösterilmiştir.

Beta laktam grubu antibiyotiklere karşı direncin diğer mekanizması ise beta laktamaz üretimidir. Beta laktamaz üreten enterokoklar nadiren izole edilirler (3). Beta laktamaz oluşturan *E. faecium* suşu ilk olarak 1981 yılında ABD’de tanımlanmıştır (4). Bunu 1983 yılında Murray ve ark. (74) bir makalede yayımlamıştır. Beta laktamaz üretimi bazen YDGD’yi taşıyan ve transfer edilebilen plazmid üzerinde kodlanır. Bu enzim penisilin, ampisilin, piperasilin ve diğer üreidopenisilinleri hidrolize eder (3). Penisilinaza dirençli penisilinleri, sefalosporinleri ve imipenemi etkilemez. Nitrosefin (kromojenik sefalosporin), *E. faecalis*’de beta laktamaz üretiminin tespiti için tek güvenilir yöntemdir. Bu yöntem kolaydır ve çoğu bilinen beta laktamazları tespit eder (75).

- Aminoglikozid direnci

Enterokoklar iki farklı mekanizma ile aminoglikozidlere karşı direnç geliştirir.

- a) İlımlı düzeyde direnç (MIK=62-500 µg/ml): Genellikle düşük permeabiliteden dolayı gelişir. Aminoglikozidlerin hücre duvarı sentezini inhibe eden beta laktam grubu antibiyotiklerle birlikte kullanılması ile bu tip direnç ortadan kaldırılabılır.
- b) Yüksek düzey direnç (MIK>2000 µg/ml): Aminoglikozidlerin ribozomdaki bağlanma bölgelerindeki değişiklik sonucu veya aminoglikozidleri inaktive eden enzimlerin sentezi sonucu oluşur. YDD genellikle aktarılabılır plazmid aracılı aminoglikozid inaktive edici enzimlerin üretimine bağlıdır.

Streptomisin ve gentamisin direnci farklı mekanizmalarla oluşur. Bu durum her iki ajanın duyarlılıklarının test edilmesi açısından önemlidir. YDGD, streptomisin hariç tüm aminoglikozidlere direnci sağlayan, asetilaz ve fosfotransferaz aktivitesine sahip bir bifonksiyonel enzime bağlıdır (3). Gentamisin direnci ile birlikte tobramisin, kanamisin, netilmisin ve amikasine de direnç görülmektedir. Dolayısıyla gentamisin direnci, streptomisin dışındaki diğer aminoglikozidler için de iyi bir yol göstericidir (76). YDSD ribozom aracılı olabilir ve ya streptomisin adeniltransferaz enziminin üretimine bağlıdır. Bu suşların gentamisine duyarlılığı devam eder (77) (Tablo 3).

Tablo 3: Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnç fenotipi gösteren *E. faecalis*'te aminoglikozid modifiye edici enzimlerin aktivitesi

Enzim	Aminoglikozidler üzerindeki aktivite			
	Gentamisin	Streptomisin	Tobramisin Netilmisin	Amikasin Kanamisin
Streptomisin adeniltransferaz	Yok	Var	Yok	Yok
3'Fosfotransferaz	Yok	Yok	Yok	Var
2'Fosfotransferaz ve 6'asetiltransferaz (asetilaz)	Var	Yok	Var	Var

Penisilin-aminoglikozid sinerjisi, yüksek düzey aminoglikozid (streptomisin MİK>2000 µg/ml, gentamisin MİK>500 µg/ml) dirençli enterokoklarda oluşmaz (78). Test için kullanılacak en uygun gentamisin konsantrasyonu tam olarak kararlaştırılamamıştır. Mililitre başına 500, 1000 veya 2000 mikrogram gentamisin kullanılabilir. Bu konsantrasyonlardan herhangi birinin kullanımı, yüksek düzey aminoglikozid direncini muhtemelen doğru olarak tespit eder.

Ciddi enterokok infeksiyonlarının tedavisinde, hücre duvarına etkili ajanlarla en sık kombine edilen aminoglikozid gentamisindir. Bu nedenle gentamisin için YDAD taraması genellikle yeterlidir. Bununla birlikte, bir köken gentamisine YDAD gösterirse, YDSD için de tarama gerekir. Böylece streptomisin tedavide kullanılabilir. Nadir de olsa gentamisin ve streptomisine YDD göstermeyip, kanamisin ve amikasine YDD gösteren kökenler vardır. Bunlar yukarıdaki metodlarla tespit edilemez. Amikasin, sorumlu olan enzim için zayıf bir gösterge olduğundan kanamisin (120 µg disk veya 2000 µg/ml) kullanılır.

E. faecium izolatlarının çoğu onları tobramisin, netilmisin, kanamisin ve amikasine doğal olarak dirençli yapan bir enzim üretirler (6'asetiltransferaz-asetilaz). Bu direnç YDAD olarak eksprese edilmeyebilir fakat sinerji bu ajanlarla meydana gelmez. Bu nedenle *E. faecium*'da gentamisin sadece gentamisin direncini, streptomisin sadece streptomisin direncini gösterir (3).

- Kloramfenikol direnci

Enterokoklarda, plazmid üzerinde “*cat*” geni ile kodlanan kloramfenikol asetil transferaz üretimi ile kloramfenikole direnç gelişir. Enterokokların %20-42’si kloramfenikole dirençlidir. Dirençten sorumlu diğer bir mekanizma dışa atım mekanizmasıdır (72).

- Tetrasiklin direnci

Dirençten sorumlu olan genler, *tetM*, *tetQ*, *tetN* ve *tetL* gibi çok sayıda genlerdir. *tetL* geni bir plazmidde taşınır. Bu genler dışa atım sistemini kodlayabildiği gibi ribozomal kaynaklı dirence de yol açabilirler. Tetrasiklinlerin hücre dışına pompalanmasını sağlayan gen, tetrasiklin ile temas sonucu indüklenir. Tetrasiklin direnci enterokoklarda konjugasyon yolu ile kazanılan direncin en tipik örneğidir (72).

- Kinolon direnci

Direnç *gyrA* (giraz) ve *parC* (topoizomeras) genlerindeki mutasyonlara bağlı gelişir. Enterokokal suşların çoğunluğu kinolonlara orta derecede duyarlılık veya direnç gösterir (72).

- Makrolid, Linkozamid ve B tipi Streptogramin direnci

Bu dirençten genellikle *ermB* geni sorumludur. Bu gen 23S rRNA’nın metilasyonu ile ilişkilidir ve metilasyon sonucu eritromisinin ribozomlara bağlanması engellenir. Tn917 transpozonu ile çeşitli plazmidler üzerinde *ermB* geni taşınabilmektedir. Ayrıca bu direnç, asetil transferaz veya efluks mekanizması sonucu da oluşabilir (72).

- Oksazolidinon direnci

Oksazolidinon grubu antibiyotik olan linezolid çoklu ilaç direnci gösteren enterokoklar ile oluşan infeksiyonların tedavisinde iyi bir seçenektir. Ancak 2002 yılında linezolide karşı direnç bildirilmiştir (79, 80).

- Glikopeptid direnci

Enterokoklarda vankomisin ve teikoplanin en çok kullanılan glikopeptitlerdir. Glikopeptid grubu antibiyotiklere direnç ilk olarak 1988’de bildirilmiş, daha sonra vankomisine ve teikoplanine yüksek düzeyde dirençli suşlar tüm dünyada yayılmıştır (9). Yapılan çalışmalarda glikopeptid dirençli enterokokların oldukça geniş coğrafik yayılım gösterdikleri ve hem fenotipik hem de genotipik olarak heterojen oldukları

belirlenmiştir (81). Ülkemizde ise ilk VRE olgusu 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi'nden bildirilmiştir (82, 83).

Fenotipik sınıflama: Bugüne kadar tanımlanmış 7 vankomisin direnç fenotipi vardır. Bunlar *Van A*, *Van B*, *Van C*, *Van D*, *Van E*, *Van G*, *Van L*'dir (10, 36). *Van A* ve *Van B* direnç fenotipleri *E. faecalis* ve *E. faecium*'da tarif edilmiştir. *Van A* dirençli kökenler indüklenebilirler ve yüksek düzey vankomisin (MİK>64 µg/ml) ile teikoplanin (MİK>16 µg/ml) direnci gösterirler (Tablo 4).

Tablo 4: Glikopeptid dirençli enterokokların fenotipik özellikleri

Fenotip	Karakteristik özellikler		
	Vankomisin MİK (µg/ml)	Teikoplanin MİK (µg/ml)	Direnç kazanma şekli
<i>Van A</i>	64->1000	16-512	Kazanılmış
<i>Van B</i>	4-1024	≤ 0,5	Kazanılmış
<i>Van C</i>	2-32	0,5	İntrensek
<i>Van D</i>	128	4	Kazanılmış
<i>Van E</i>	16	0,5	Kazanılmış

Van A direncinin detayı en iyi transpozon veya sıçrayıcı genetik element *Tn1546* üzerinde bulunan *Van A* gen kümeleri ile gösterilmiştir (3).

Van B izolatlarının vankomisinine daha ılımlı düzeylerine (MİK>32-64 µg/ml) indüklenebilir dirence sahip fakat teikoplanine duyarlı olduklarına inanılırdı. Günümüzde *Van B* izolatları arasındaki vankomisin direnç düzeyinin 4 ile 1000 µg/ml'ye kadar değişebildiği oysa teikoplanine olan duyarlılığın korunduğu bilinmektedir. *Van B* direnç determinantları, bir enterokok suşundan diğerine transfer olabilen büyük hareketli elemanlar üzerinde de bulunur (3, 84, 85).

Van C direnç fenotipi, intrinsek düşük düzey vankomisin (MİK> 2-32 µg/ml) direnci gösteren ve teikoplanine duyarlı olan, *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum*'da tanımlanmıştır.

Bu sınıflamanın kısıtlılığı, *E. gallinorum* ve diğer enterokok türlerinde, *Van A* direnç fenotipinin genetik determinantları ortaya çıktığında zamanla netleşmiştir (3, 86). Ayrıca *Van B* suşlarından elde edilen mutantlar teikoplanine direnç gösterirler ve böylece fenotipik olarak *Van A* suşlarından ayırt edilemezler (3). Bununla beraber bu fenotipik sınıflandırma şeması hala yararlıdır çünkü genotipik sınıflandırma ile genellikle uyumludur, laboratuvarında kolay ve masrafsız elde edilen bilgileri kullanmaktadır.

Genotipik sınıflama: Normal şartlar altında enterokoklarda peptidoglikan sentezinde D- alaninin 2 molekülü D-ala-D-ala oluşturmak için bir ligaz ile birleşirler daha sonra UDP-N-asetilmuramil-tripeptit ile birleşerek UDP-N-asetilmuramil-pentapeptit oluştururlar. Bu pentapeptit, çapraz bağların oluşumunu (transpeptidasyon) ve peptidoglikan tabakanın sağlamlaşmasını sağlar (3, 86). Vankomisin pentapeptid prekürsör ünitelerinin D-ala-D-ala terminal uçlarını yüksek afinite ile bağlar böylece büyüyen pentapeptid zincirlerine eklenmelerini ve sonraki çapraz bağlanmayı engeller (73). Ancak peptidoglikan yan zincirine D-ala-D-ala yerine ligaz enzimi ile D-ala-D-lak veya D-ala-D-ser'in sentezlenerek bağlanması sonucunda, vankomisinin 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. *Van A*, *Van B*, *Van D* ve *Van G* tipi dirençte D-ala-D-laktat, *Van C* ve *Van E* tipi dirençte ise D-ala-D-ser sentezlenmektedir.

***Van A* tipi direnç**

Van A sitoplazmik proteinleri sorumludur. Modifiye edilmiş hedef D-ala-D-lak'tır (81). Vankomisin ve teikoplanine karşı oluşan indüklenebilir yüksek düzey dirence aracılık eder (87). *Van A* geni ve vankomisin direncinin (*van R*, *van S*, *van H*, *van Z*) düzenlenmesi ve ekspresyonunda görev alan diğer genler, sıklıkla *E. faecium*'un Tn1564'ü üzerinde bulunmaktadır. Bu genlerin ekspresyonu, D-ala-D-ala yerine D-ala-D-lak ile sonlanan anormal peptidoglikan öncüllerinin senteziyle sonuçlanır. Vankomisin, D-ala-D-lak'a normal dipeptid ürününe göre belirgin bir şekilde daha düşük afinite ile bağlanır (3). D-ala-D-lak sentezinde rol oynayan proteinler *Van A* proteini, *Van H* proteini, *Van X* proteindir. *Van A* proteini;

D-ala-D-ala yerine D-ala-D-lak üreten, değişmiş substratın ligazıdır. *Van H* proteini yukarıdaki reaksiyonda kullanılmak için D-lak havuzu oluşturan bir dehidroksi asit dehidrogenazdır. *Van X* proteini D-ala-D-lak'a karşı düşük aktivite gösteren bir D, D-peptidazdır. Bu enzim, doğal enterokokal ligaz ile üretilen D-ala-D-ala havuzunu azaltır böylece normal pentapeptit sentezini azaltır (88). *Van R* ve *Van S* proteinleri, *VanHAX* gen kümesinin transkripsiyonunu düzenleyen iki bileşenli bir düzenleyici sistemi oluşturur. *Van S*, hücre duvarı sentezinde vankomisin bazı erken etkilerini tespit etmek için bir sensör gibi işlev görür ve bazı diğer proteinlerin (*VanH*, *VanA* ve *VanX*) sentezi veya aktivasyonu ile sonuçlanan cevap regülatörü olan *Van R*'yi uyarır.

Kazanılmış direnç genleri çoğunlukla geniş konakçı profili gösteren plazmidler ve konjugatif transpozonlar aracılığı ile diğer türlere kolaylıkla aktarılabilir. *Van A* tip vankomisin direnç genlerinin enterokoklardan diğer Gram pozitif bakterilere konjugal transferi in vitro olarak sağlanmıştır. Bu Gram pozitif bakteriler grup A ve viridans grup streptokoklar, *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus*'tur (89).

***Van B* tipi direnç**

Van B kümesi teikoplanine değil vankomisine karşı indüklenebilir direnci kodlar ve Tn1547 ve Tn5382 gibi büyük transpozonlar tarafından yayılır (90). Vankomisin direnci orta düzeydedir. Dirençli bakteriler vankomisine dirençli (MİK:4-1000 µg/ml) ancak teikoplanine duyarlıdır (MİK:0,5-1 µg/ml). İndüklenebilir ve kazanılmış bir dirençtir. Modifiye edilmiş hedefi D-ala-D-lak'tır. *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerinde görülür. Sadece *Van B* direncine özgü bir gen dışında diğer altı genin, *Van A* kümesindeki genlerle %77 homoloji gösterdiği saptanmıştır. *Van B* direnç tipi *Van V* tipi dirençte olduğu gibi *Van R_B*, *Van S_B*, *Van H_B*, *Van A_B*, *Van V_B*, *Van Y_B*, *Van Z_B* adlı yedi farklı gen kümesine sahiptir (81).

Sınıf B suşlarındaki düzenleyici sistem, teikoplaninle indüksiyona karşı duyarsız görünmektedir (3, 91). Teikoplanin *Van A* ile ilişkili proteinlerin sentezini aktive eder fakat *Van B* ile ilgili protein üretimini artırmaz. Diğer taraftan vankomisin her iki sistemin direnç proteinlerinin sentezini uyarır ve aslında eğer *Van B* gen kümesi içeren teikoplanine duyarlı enterokoklar önceden vankomisine maruz kalırsa, teikoplanine dirençli hale gelebilirler (3, 92).

Van B kümesi genellikle konak kromozomunda bulunur, aynı zamanda plazmidler üzerinde oluşabilir. Başlangıçta diğer bakterilere aktarılamayacağı düşünülmüş ancak daha sonra büyük konjugativ transpozonlarla transfer edilebilir olduğu gösterilmiştir (93).

***Van C* tipi direnç**

Van C fenotipi, hareketli enterokoklarda kromozomal olarak kodlanır, yapısal olarak eksprese edilir ve D-ala-D-ser ile sonlanan modifiye pentapeptidler ile sonuçlanır (94, 95). *E. gallinarum* (*Van C-1*), *E. casseliflavus* (*Van C-2*) ve *E. flavescens* (*Van C-3*) kökenlerinde tespit edilmiştir. Vankomisine karşı düşük düzeyde direnç bulunur. A, B, D ve E tipi direnç genlerinden farklı olarak *Van C* tipi vankomisin direncini kodlayan genler endojeniktir ve bu üç türe spesifik ligazlara sahiptir. İndüklenemez bir dirençtir ve modifiye edilmiş hedef D-ala-D-ser'dir. *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* suşlarındaki vankomisin duyarlılığı diğer enterokoklardan daha azdır. *E. gallinarum* suşları vankomisine düşük düzeyde (MİK: 2-32 g/ml) dirençli ve teikoplanine (MİK: 0,5-1 g/ml) duyarlıdır. *Van C* tipi intrensek bir dirençtir ve aktarılamaz (81).

***Van D* tipi direnç**

Yeni bir vankomisin direnç geni olan *Van D*, ilk kez 1991'de New York'da tanımlanmıştır (3, 96). *Van D* tipi direnç ise *E. faecium* izolatlarında tespit edilmiştir. Orta düzeyde vankomisin direnci (MİK=16-64 µg/ml) ve düşük düzeyde teikoplanin direnci (MİK=2-4 µg/ml) görülür. İndüklenebilir bu dirençten *Van D* membran proteini sorumludur. Modifiye edilmiş hedef D-ala-D-lak'tır (81, 97). Kromozom üzerinde lokalize olup, diğer enterokoklara aktarılamaz görünmektedir. *Van D*'nin aminoasit sekansı *Van A* ve *Van B* ile %67 oranında uyum göstermektedir (36).

***Van E* tipi direnç**

Van E vankomisin direnç geni, teikoplanine duyarlı (MİK=0,5 µg/ml) ve vankomisine düşük düzeyde dirençli (MİK=16 µg/ml) *E. faecalis* kökenlerinde tanımlanmıştır. Bu fenotipin intrensek *Van C* direncine benzerliği vardır. Ancak *Van E* tipi direncin genetik belirleyicisi farklıdır ve interensek bir direnç tipi değildir. *Van E* geni kromozomda yerleşmiştir ve transfer edilemez (36).

***Van G* tipi direnç**

Bu direnç tipi vankomisine düşük düzeyde (MİK=16µg/ml) dirençli, teikoplanine duyarlı (MİK=0,5 µg/ml) *E. faecalis* WCH9 kökeninde tanımlanmıştır. Transfer edilemeyen bir dirençtir. *Van G* gen kümesinin ürünü diğer van genlerinin ürünlerine %50'den daha az amino asit dizilim benzerliği göstermektedir (36, 72, 86). Enterokoklarda glikopeptid direnç tipleri Tablo 5'de gösterilmiştir (88, 98).

Tablo 5: Enterokoklarda glikopeptid direnç tipleri

Özellik	<i>Van A</i>	<i>Van B</i>	<i>Van C</i>	<i>Van D</i>	<i>Van E</i>
Direnç genlerinin lokasyonu	Plazmidler	Kromozom (plazmidler)	Kromozom	Kromozom	Kromozom
Hareketli element	Tn1546	Tn1547	-	?	?
Ligaz geni	<i>Van A</i>	<i>Van B</i>	<i>Van C-1</i> ve <i>Van C-2</i> / <i>Van C-3</i>	<i>Van D</i>	<i>Van E</i>
Transfer edilebilme	+	+	-	-	?
Modifiye edilmiş hedef	D-ala-D-lak	D-ala-D-lak	D-ala-D-ser	D-ala-D-lak	D-ala-D-ser
Türler	<i>E. faecalis</i> <i>E. mundtii</i> <i>E. faecium</i> <i>E. raffinosus</i> <i>E. avium</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. durans</i> <i>E. casseliflavus</i>	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. flavescens</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>
İndüklenme ile ekspresyon Vankomisin Teikoplanin	+	+	-	+	+
	+	-	-	-	-

Vankomisin bağımlı enterokoklar

Vankomisin bağımlı enterokoklar ilk kez 1993'te, VRE ile kolonize olan, vankomisin ile tedavi edilen bir hastanın idrar örneğinden izole edilmiştir (99). *Van A* ve *Van B* içeren VRE suşlarının bazılarının geliştirdiği ilginç bir fenomen

vankomisin bağımlılığıdır (100, 101). Bu enterokoklar üremek için vankomisine ihtiyaç duyarlar. Bu enterokoklar D-ala-D-ala üretmezler ve sonra sadece yer değiştiren dipeptid benzeri yapı varsa üreyebilirler. *Van A* ve *Van B* içeren enterokoklarda bu sadece D-ala-D-lak yapan ilgili dehidrogenaz (*Van H*) ve ligaz (*Van A* veya *Van B*)'nin sentezini indükleyen vankomisin varlığında görülür. Hücrenin D-ala-D-ala sentezini durdurmasının sebebi vankomisin varlığıdır. D-ala-D-ala hücre duvar sentezi için VRE'lerde gerekli değildir. Gerçekten de *Van X* etkisi ile yok edilmektedir. Vankomisin kaldırıldığı zaman D-ala-D-lak sentez edilemez ve D-ala-D-ala veya D-ala-D-lak olmadan hücre büyüme ve çoğalmaya devam edemez. Vankomisin bağımlı enterokoklar vankomisinden bağımsız hale dönebilirler (3).

2.8. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Enterokokların antimikrobiyal duyarlılık testlerinde kullanılacak antibiyotikler, infeksiyon bölgesi veya test edilecek izolatın önemine göre seçilmektedir. Enterokokların intrinsek olarak dirençli olduğu sefalosporinler, oksasilin, TMP- SXT, klindamisin ve standart konsantrasyonlarda aminoglikozidler test edilmemelidir. Penisilin veya ampisilin ve vankomisin rutin olarak test edilmelidir. İdrar örneklerinden elde edilen kökenler için florokinolonlar, eritromisin, nitrofurantoin ve tetrasiklin ek olarak kullanılabilir (17, 98). Vankomisine orta duyarlı izolatların tedavisinde vankomisin kullanabilmek için MİK değerleri test edilmelidir. Ampisilin ve penisilin için MİK değeri $>16 \mu\text{g/ml}$ dirençli kabul edilmektedir. Buna rağmen yapılan çalışmalar çok yüksek ampisilin dozları ile MİK değeri $<64 \mu\text{g/ml}$ olan izolatların tedavi edilebileceğini göstermiştir (17, 102). Vankomisin MİK değeri $>32 \mu\text{g/ml}$ olan enterokoklar dirençli kabul edilmektedir. Endokardit, menenjit gibi ciddi infeksiyonlarda YDAD test edilmelidir. Ayrıca bunlarda beta laktamaz testi çalışılmalıdır. YDGD, streptomisin dışındaki tüm aminoglikozidlerle sinerjizme engel olacak direnci gösterir. Yüksek düzeyde direnç $500 \mu\text{g/ml}$ gentamisin ve $2000 \mu\text{g/ml}$ streptomisin kullanılarak saptanabilir. Bunun için E-test kullanılabilir. Ayrıca yüksek düzeyde gentamisin $120 \mu\text{g}$ ve streptomisin

300 µg içeren diskler de kullanılabilir (17, 98). Otomatize sistemler ile saptanan YDAD'nin güvenilirliği henüz tartışmalıdır.

2.9. Enterokok İnfeksiyonlarında Korunma ve Kontrol Önlemleri

Enterokoklar gastrointestinal sistem ve kadın genital sistem florasının elemanı oldukları için bu mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonların çoğu endojen kaynaklıdır (103). Bununla birlikte yakın zamandaki veriler vankomisine dirençli olanlar dahil enterokokların, hastadan hastaya direk temasla, personellerin elleri ile dolaylı olarak, kontamine çevresel yüzeyler veya hastaların tedavisinde kullanılan ekipmanlar ile yayılabileceğini göstermiştir (103, 104). VRE'nin nozokomiyal yayılımını en aza indirmek için hastaneler çeşitli bölümlerin ve personellerin katılımını gerektiren multidisipliner bir yaklaşım kullanmalıdır. Enterokoklarda vankomisin direncindeki artışa yanıt olarak VRE'nin nozokomiyal yayılımını kontrol etmek için, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nin Hastane İnfeksiyon Kontrol Uygulamaları Danışmanlık Komitesi (HICPAC) tarafından Şubat 1955'te öneriler yayınlanmıştır. Bu öneriler:

Akılcı vankomisin kullanımı: Antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaları kontrol etmek için kullanılan yöntemler, antibiyotik kullanımının azalması ve bireyler arasında mikroorganizmaların yayılmasını sağlayan faktörlerin azaltılması üzerine odaklanmıştır. Vankomisin kullanımı, VRE ile infeksiyon ve kolonizasyon için sürekli bir risk faktörü olarak bildirilmektedir (105). Uygun olmayan vankomisin kullanımı, vankomisine dirençli *S. aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'in ortaya çıkma ihtimalini artırabilir. Ayrıca üçüncü kuşak sefalosporinler ve antianaerobik etkinliği olan antibiyotiklerin kullanımı da VRE ile infeksiyon ve kolonizasyon riskini artırmaktadır. Akılcı antibiyotik kullanımını arttırmak için, HICPAC vankomisin kullanımının uygun olduğu durumlar hakkında tıbbi personelin ve öğrencilerin eğitiminin önemini vurgulamaktadır.

Eğitim programları: Hekimler, öğrenciler, hemşireler, laboratuvar personeli, eczane personeli ve hasta bakıcılarını içeren hastane personeli için devam eden eğitim programları, hasta bakımı maliyeti ve sonuçları üzerinde bu patojenin etkileri

ve VRE epidemiyolojisi hakkında bilgileri içermelidir (103, 106). VRE'nin tespiti ve kontrol altına alınması, hastane personeli için çok agresif yaklaşımlar ve yüksek performans standartları gerektirdiğinden özel bilinçlendirme ve eğitim seansları gerekli olabilir.

VRE'nin tespiti, raporlanması ve kontrolünde mikrobiyoloji laboratuvarının rolü: VRE ile infekte veya kolonize hastaların erken tespiti, VRE'nin nozokomiyal yayılımını engellemek için planlanan hastane programlarının önemli bir komponentidir (107). Laboratuvarın enterokokları tanımlama, vankomisin direncini zamanında ve doğru şekilde tespit etme yetenekleri, VRE kolonizasyon ve infeksiyonunu tanımada önemlidir. Buna ek olarak laboratuvar ile infeksiyon kontrol programı arasındaki işbirliği ve iletişim, kontrol çabalarını büyük ölçüde kolaylaştıracaktır. Klinik örnekten VRE izole edildiğinde, özellikle o hastane için sıra dışı bir durumsa vankomisin direnci yineleyen antimikrobiyal duyarlılık testleri ile doğrulanmalıdır. Doğrulama amaçlı duyarlılık testleri yapılırken, hastaya temel bakım veren, hastanın tedavi gördüğü servisteki hasta bakıcı ve infeksiyon kontrol komitesi personeli, VRE olasılığı hakkında hemen bilgilendirilmelidir. Böylece derhal gerekli izolasyon önlemleri alınabilir (103, 108).

İnfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması: VRE'nin hastadan hastaya yayılımını önlemek için HICPAC tarafından önerilen mevcut izolasyon önlemleri aşağıda belirtilmiştir.

(i) VRE ile infekte veya kolonize hastaları, tekli odalara veya VRE'li diğer hastalarla aynı odaya yerleştirilmeli (109).

(ii) Bir VRE ile infekte veya kolonize hastanın odasına girerken temiz steril olmayan eldiven giyilmeli. Hasta bakımı sırasında, yüksek konsantrasyonda VRE içeren materyalle (örneğin dışkı) temas sonrası eldiven değiştirilmeli (109).

(iii) Eğer hastayla veya hasta odasındaki çevresel yüzeyle önemli ölçüde temas olabileceği tahmin ediliyorsa veya hastada ishal, ileostomi, kolostomi, pansumanla kapatılmamış yara drenajı varsa, VRE ile infekte veya kolonize hastaların odasına girerken temiz önlük giyilmeli (109).

(iv) Hasta odasından ayrılmadan önce eldiven ve önlüğü çıkarılıp, eller antiseptik ajanlarla veya antiseptik sabunla yıkanmalı. Eller, eldivenden sızıntıyla

veya eldivenlerin çıkarılması sırasında kontamine olabilir. Sabunlar ellerden VRE'nin temizlenmesinde etkisizdir (36).

(v) Eldiven ve önlüğü çıkarıp el yıkadıktan sonra kıyafetlerin ve ellerin hasta odasında VRE ile kontaminasyon olasılığı fazla çevresel yüzeylerle (örneğin kapı kolu veya perde) temas etmemesine özen gösterilmelidir (36).

HICPAC tarafından önerilmemesine rağmen, bazı hastanelerde VRE'li hastanın odasına girerken tüm personelin rutin olarak eldiven ve önlük giymesi talep edilir. Handwerker ve ark. (110) aynı zamanda diğer infeksiyon kontrol önlemlerine ek olarak önlük giymenin salgını sınırladığını bildirmiştir. Bu izolasyon önlemlerine ilave olarak rektal termometre, steteskop gibi kritik olmayan aletlerin kullanımı, tek bir hastaya veya VRE ile kolonize veya infekte hasta gruplarına özel olmalıdır. Bu tür cihazlar diğer hastalar üzerinde kullanılacak ise önce yeterince temizlenmeli ve dezenfekte edilmelidir (109).

Sürveyans kültürleri: Gastrointestinal kolonizasyonu saptamak için özellikle hastalardan alınan sürveyans kültürlerinin salgınlar sırasında yararlı olduğu kanıtlanmıştır ve başarılı VRE kontrol programlarının temel bileşenidir. Kolonize hastaları tanımlamada kullanılan diğer stratejiler, VRE için *C. difficile* toksin tayini için gönderilen dışkı örneklerinin taranmasını ve yüksek riskli kurumlardan (hastaneler ve VRE'nin endemik olduğu uzun süreli bakım merkezleri) kabul edilen hastalardan elde edilen rektal veya perirektal sürüntü örneklerinin taranmasını içerir. Perirektal kültürler kolonize kişilerin tespitinde, rektal kültürlerle benzer duyarlılığa sahip gibi görünmektedir (103).

Gastrointestinal kolonizasyonu ortadan kaldırmak için girişimler: Vankomisin dirençli enterokok eradikasyonunda amaç, kolonizasyonu olanlarda infeksiyon gelişme riskini azaltmak, hastanedeki VRE rezervuarını sınırlamak ve infeksiyon kontrolüne yönelik harcamaları azaltmaktır. Ancak kalıcı eradikasyon sağlayacak antimikrobiyal tedavi henüz bilinmemektedir. Novobiosinin tetrasiklin veya doksisisiklin ile kombinasyonu, VRE'nin eradikasyonunda başarısız olmuştur. Oral basitrasin, ramoplanin ve novobiosin gibi antimikrobisellerin kullanımı VRE eradikasyonunda kısıtlı başarı göstermiştir. Bazı hastalar dekolonizasyonda, bu

girişimlere yanıt vermiş gibi görünse de, hiçbir rejim gastrointestinal sistemden VRE eradikasyonunda eşit düzeyde etkili olmamıştır (36).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bakteri Kökenleri

Ocak 2008-Ağustos 2011 tarihleri arasında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji bölümüne gönderilen klinik örneklerden (idrara, yara, apse, kan) izole edilen 100 *Enterococcus* spp. kökeni çalışmaya dahil edildi.

Kontrol suşu olarak *E. faecalis* ATCC 29212 kullanıldı.

Antibiyotik duyarlılıkları Vitek 2 otomatize sistem (BioMerieux, Fransa) ile saptanmış olan bu *Enterococcus* kökenleri saf koloniler şeklinde izole edildikten sonra %20 gliserin içeren Triptik Soy Buyyon (Merck, Almanya) besiyerine ekilerek -70 °C'de saklandı. Çalışılacağı zaman kökenlerin Kanlı Agar (BioMerieux, Fransa) besiyerine pasajları yapıldı.

3.2. Bakterilerin Klinik Örneklerden İzolasyonu, Tanımlanması ve Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Enterococcus spp. kökenlerinin tanımlanmasında kanlı besiyerinde hemoliz özellikleri, katalaz enzimlerinin olmaması, PYR testinin pozitifliği gibi özellikleri araştırıldı. Kökenlerin tür düzeyinde tanımlanması Vitek 2 otomatize sistem (BioMerieux, Fransa) ile yapıldı. Tüm kökenlerin klindamisin, eritromisin, nitrofurantoin, levofloksasin, linezolid, moksifloksasin, TMP-SXT, tetrasiklin, teikoplanin, tigesiklin, vankomisine karşı duyarlılıkları da Vitek 2 otomatize sistem (BioMerieux, Fransa) ile belirlendi.

YDAD için 120 µg gentamisin ve 300 µg streptomisin disklerinin inhibisyon zonu ölçüldü ve bu ölçümler CLSI kriterlerine göre değerlendirilerek YDAD tespit edildi. Vankomisin MİK değerleri E-test yöntemi kullanılarak saptandı.

3.3. Çalışmada Kullanılan Gereçler

3.3.1. Kanlı Agar (BioMerieux, Fransa)

Ticari olarak temin edilen toz halindeki besiyerinden 40 g tartılıp 1000 ml distile suda çözüldükten sonra, 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 50 ml koyun kanı eklenerek besiyeri 9 cm çapındaki steril petrilere her petride 20 ml besiyeri olacak şekilde dağıtıldı.

3.3.2. Mueller Hinton Broth (MHB) Besiyeri (Merck, Almanya)

Ticari olarak temin edilen toz halindeki besiyerinden 21 g tartılıp 1000 ml distile suda çözüldükten sonra, 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra steril cam tüplere dağıtıldı.

3.3.3. Mueller-Hinton Agar (MHA) Besiyeri (BioMerieux, Fransa)

Ticari olarak temin edilen toz halindeki besiyerinden 38 g tartılıp, 1000 ml distile suda çözüldükten sonra, 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra besiyeri 9 cm çapındaki steril petrilere her petride 20 ml besiyeri olacak şekilde dağıtıldı.

3.3.4. Triptik Soy Buyyon (Merck, Almanya)

Ticari olarak temin edilen toz halindeki besiyerinden 30 g tartılıp 1000 ml distile suda çözüldükten sonra, 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 200 ml gliserin eklendi. Steril endorf tüplere her tüpte 1 ml olacak şekilde dağıtıldı.

3.3.5. Fosfat Tamponlu Su (FTS)

8 g NaCl (Merck, Almanya), 0,2 g KCl (Merck, Almanya), 0,24 g KH₂PO₄ (Merck, Almanya) ve 1,44 g Na₂HP0₄ (Merck, Almanya) tartılıp bir balon jeye konuldu ve solüsyon 1000 ml'ye tamamlanacak şekilde üzerine distile su eklendi. Kimyasal maddeler distile su içinde çözüldükten sonra pH 7,4'e ayarlandı. Solüsyon 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi ve kullanılmaya kadar +4 °C'de saklandı.

3.3.6. Agaroz Jel

Agaroz jelin hazırlanmasında Tris/Borate/EDTA (TBE) tamponu kullanıldı. TBE (10X) (Fermentas, ABD) solüsyonundan 0.5X TBE olacak şekilde distile su ile dilüe edildi. Tartılan 2 g agaroz (Sigma, ABD) 100 ml'lik bir erlenmayere konuldu. 100 ml 0.5X TBE tamponu eklendi (%2'lik agaroz). Mikrodalga fırında 3-5 dakika kaynatıldı. 10 mg/ml'ik etüdyum bromid (Merck, Almanya)'den 10 µl ilave edildi. Elektroforez tarakları jel dökme kabına, tabanda 1 mm boşluk kalacak şekilde ayarlanarak yerleştirildi. Yaklaşık 60 °C'ye kadar soğutulan agaroz jeli, jel kabına dökülüp donması için oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Taraklar dikkatlice çıkartılarak jel kullanıma hazır hale getirildi.

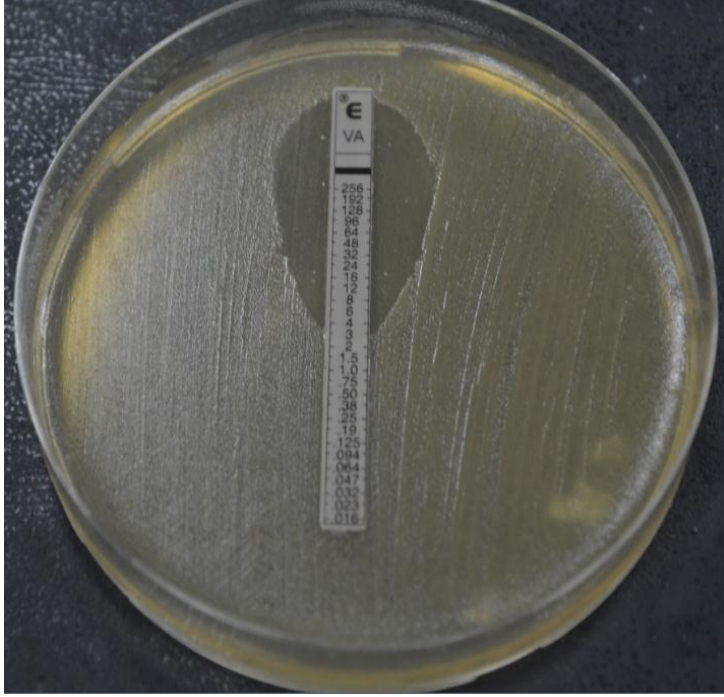
3.4 Yöntem

3.4.1. Beta laktamaz enziminin varlığının araştırılması

Enterococcus spp. kökenlerinde beta laktamaz varlığının araştırılması için nitrosefin yöntemi kullanıldı. Enterokokların beta laktamaz üretilip üretilmediği nitrosefin içeren beta laktamaz diskleri (Becton Dickinson, ABD) kullanılarak araştırıldı. Boş bir petri kabına nitrosefin diskleri yerleştirildi. Her bir diske birer damla distile su damlatıldı. Saf koloniler diskin yüzeyine sürüldü ve pembe renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.

3.4.2. Vankomisin direncinin fenotipik olarak saptanması

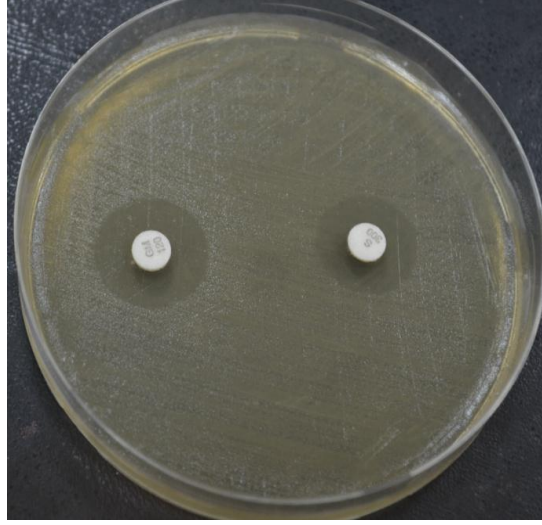
Kökenlerin vankomisin direnci ve MİK değerleri E-test yöntemiyle araştırıldı. *Enterococcus* spp. kökenlerinin kanlı agar besiyerindeki 24 saatlik kolonilerinden 1-2 koloni alınıp MHB besiyerine ekilerek 37 °C'de 2-3 saat bekletildi. Bakteri süspansiyonlarının bulanıklığı MHB eklenerek 0,5 Mc Farland bulanıklığına ayarlanarak eküvyon yardımı ile MHA plaklarına yayıldı. On beş dakika kurumaya bırakıldıktan sonra üzerlerine vankomisin E-test şeritleri yerleştirildi. 35 °C'de 16-20 saat inkübe edildikten sonra MİK değerleri belirlendi (Resim 1). Sonuçlar CLSI kriterlerine göre değerlendirildi (52).



Resim 1: Vankomisin duyarlılığının E-test ile değerlendirilmesi

3.4.3. Yüksek Düzey Aminoglikozid Direncinin belirlenmesi

Yüksek düzey antibiyotik içeren gentamisin (120 µg) ve streptomisin (300 µg) (Becton Dickinson, ABD) diskleri kullanılarak araştırıldı. *Enterococcus* spp. kökenlerinin kanlı agar besiyerindeki 24 saatlik kolonilerinden 1-2 koloni alınıp MHB besiyerine ekilerek 37 °C’de 2-3 saat bekletildi. Bakteri süspansiyonlarının bulanıklığı MHB eklenerek 0,5 McFarland bulanıklığına ayarlanarak eküvyon yardımı ile MHA plaklarına yayıldı. On beş dakika kurumaya bırakıldıktan sonra üzerlerine gentamisin (120 µg) ve streptomisin (300 µg) diskleri konuldu. 35 °C’de 16-20 saat inkübe edildikten sonra oluşan inhibisyon zon çapları ölçüldü (Resim 2). Sonuçlar CLSI kriterlerine göre değerlendirildi (52).



Resim 2: Yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direncinin disk difüzyon yöntemiyle belirlenmesi

3.4.4. PZR ile vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid genlerinin varlığının incelenmesi

3.4.4.1 DNA izolasyonu

Bakterilerin DNA izolasyonu ticari DNA ekstraksiyon kiti (High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, Almanya) ile üreticisinin tarifine uygun olarak yapıldı.

High Pure PCR Template Preparation Kit İçeriği:

1. Doku Lizis Tamponu, 20 ml
2. Bağlama Tamponu, 20 ml
3. Proteinaz K
4. İnhibitör Uzaklaştırıcı Tampon, 33 ml
5. Yıkama Tamponu, 20 ml
6. Elüsyon Tamponu, 40 ml
7. Filtreli Tüpler (100 adet)
8. Toplama Tüpleri (2 ml'lik 400 adet)

Proteinaz K: distile flakon su ile 4,5 ml ekleme yapılarak çözüldü.

İnhibitör Uzaklaştırıcı Tampon: 20 ml %95'lik etanol ile çözüldü.

Yıkama Tamponu: 80 ml %95'lik etanol ile çözüldü.

Elüsyon Tamponu: 70 °C' ye ısıtıldı.

Isı bloğu 37 °C' ye ısıtıldı. Kanlı agar besiyerinde üreyen saf kültürden alınan bakteri kolonileri 200 µl FTS içerisinde çözdürüldü. 3000 devirde 5 dakika santrifüj edildi sonra üst kısım atıldı. Pellet yeniden 200 µl FTS ile süspanse edildi. Bakteriler için 5µl lizozim tüplere eklendi. 37 °C'de 15 dakika inkübe edildi. Isı bloğu 70 °C' ye ayarlandı. Süre sonunda 200 µl bağlama tamponu ve 40 µl proteinaz K eklendi. 70 °C'de 10 dakika inkübe edildi. Süre sonunda 100 µl isopropranol eklendi ve süspanse edildi. Her birinde 1300 µl olmak üzere 2 adet ependorfa elüsyon tamponu konuldu ve sonra 70 °C'de bekletildi. 200 µl FTS, bakteriler, 5 µl lizozim, 200 µl bağlama tamponu, 40 µl proteinaz K, 100 µl isopropranol içeren karışım filtreli tüpe alındı. 8000 devirde 1 dakika santrifüj edilip toplama tüpü atıldı. 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklendi ve 8000 devirde 1 dakika santrifüj edilip toplama tüpü atıldı. 500 µl yıkama tamponu eklendi. 8000 devirde 1 dakika santrifüj edilip toplama tüpü atıldı. 500 µl yıkama tamponu eklendi. 8000 devirde 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpü atılmadan içi boşaltıldı. 13000 devirde 10 saniye santrifüj edildi. Filtreler ependorf tüp içerisine konulup üzerine önceden ısıtılmış 200 µl elüsyon tampon eklendi. 8000 devirde 1 dakika santrifüj edildi. Elde edilen DNA'lar -20 °C' de saklandı.

3.4.4.2. Van A, Van B ve Van C Genlerinin Amplifiye Edilmesi

Van A, Van B ve Van C genlerinin amplifikasyonu Aktaş ve ark. (111) çalışmalarında tarif ettiği yöntemeye uygun olarak yapıldı (Tablo 6).

Tablo 6: *Van A*, *Van B* ve *Van C* genleri için Multipleks PZR Yönteminde Kullanılan Primer Dizileri ve Büyüklükleri

Gen	Primerler (5'→3')	Ürün (baz çifti) (bç)
<i>Van A</i>	F-CAT GAA TAG AAT AAA AGT TGC AAT A R-CCC CTT TAA CGC TAA TAC GAT CAA	1030
<i>Van B</i>	F-GTG ACA AAC CGG AGG CGA GGA R-CCG CCA TCC TCC TGC AAA AAA	433
<i>Van C</i>	F-GAA AGA CAA CAG GAA GAC CGC R-ATC GCA TCA CAA GCA CCA ATC	796

Toplam 25 µl olan amplifikasyon tüpünün içeriği; 16,425 µl distile su, 2,5 µl 10X PZR tamponu, 1,5 µl 25 mM MgCl₂, 0,5 µl 10 mM dNTP karışımı, 0,25 µl 50 pmol–her bir primer, 0,075 µl Taq DNA polimeraz ve ekstrakte DNA'dan 2,5 µl olacak şekilde hazırlandı. Amplifikasyon programı 94 °C'de 5 dakika, toplam 30 siklus olacak şekilde 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, 58 °C'de 30 saniye bağlanma, 72 °C'de 30 saniye uzama, son siklusu takiben 72 °C'de 10 dakika son uzama işlemi yapıldı.

3.4.4.3. Gentamisin direnç genlerinin Amplifiye Edilmesi

Aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia, *Aph(2'')-Ib*, *Aph(2'')-Ic*, *Aph(2'')-Id* genlerinin amplifikasyonu Ting-Ting Qu ve ark. (112) çalışmalarında tarif ettiği yöntemle uygun olarak yapıldı (Tablo 7).

Tablo 7: *Aac(6')-Ie-aph(2'')-1a*, *aph(2'')-1b*, *aph(2'')-1c*, *aph(2'')-1d* genleri için PZR Yönteminde Kullanılan Primer Dizileri ve Büyüklükleri

Gen	Primerler (5'→3')	Ürün (bç)
<i>Aac(6')-Ie-aph(2'')-1a</i>	F-GAGCAATAAGGGCATAACCAAAAATC R-CCGTGCATTTGTCTTAAAAAACTGG	505
<i>Aph(2'')-1b</i>	F-TATGGATTCATGGTAACTTGGACGCTGAG R-ATTAAGCTTCCTGCTAAAATATAAACATCTCTGCT	906
<i>Aph(2'')-1c</i>	F-GAAGTGATGGAAATCCCTTCGTG R-GCTCTAACCTTCAGAAATCCAGTC	627
<i>Aph(2'')-1d</i>	F-GGTGGTTTTTACAGGAATGCCATC R-CCCTCTTCATACCAATCCATATAACC	642

Aac(6')-Ie-aph(2'')-1a geninin amplifikasyonu için, 16,6 µl distile su, 2,5 µl 10 X PZR tamponu, 1,5 µl 25 mM Mg₂Cl, 0,5 µl 10 mM dNTP karışımı, 0,3 µl 50 pmol her bir primerden, 0,3 µl Taq DNA polimeraz, 3 µl ekstrakte DNA'dan olacak şekilde 25 µl amplifikasyon tüp içeriği hazırlandı. Amplifikasyon programı 94 °C'de 10 dakika, toplam 30 siklus olacak şekilde 94 °C'de 1 dakika denatürasyon, 61 °C'de 1 dakika bağlanma, 72 °C'de 1 dakika uzama, son siklusu takiben 72 °C'de 10 dakika son uzama işlemi yapıldı.

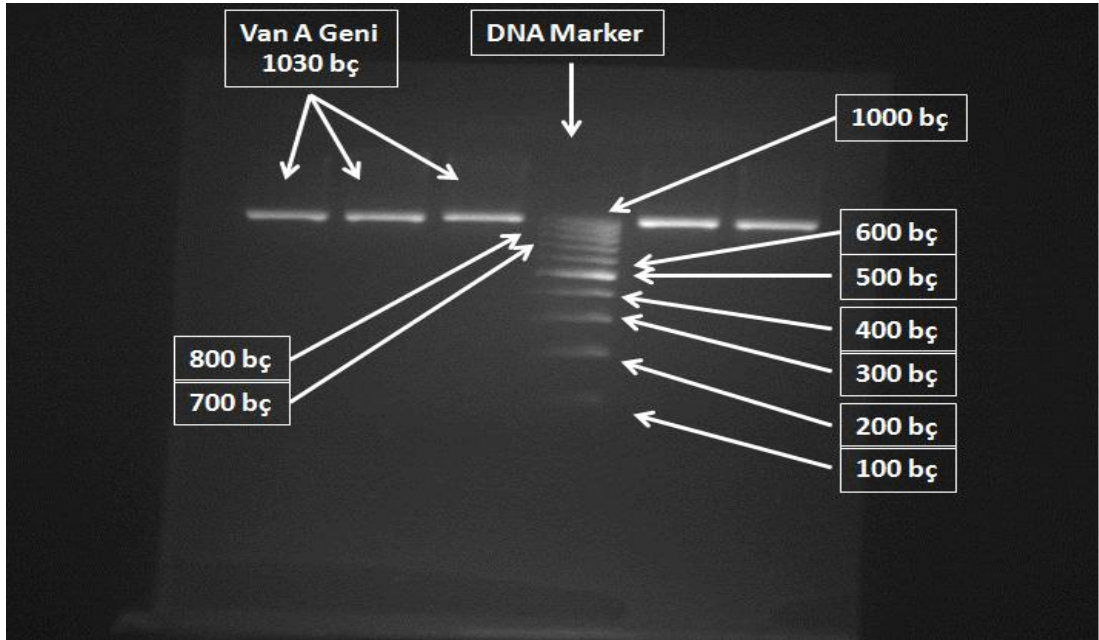
Aph(2'')-1b ve *Aph(2'')-1c* geninin amplifikasyonu için, 16 µl distile su, 2,5 µl 10 X PZR tamponu, 1,5 µl 25 mM Mg₂Cl, 0,5 µl mM dNTP karışımı, 0,3 µl 50 pmol her bir primerden, 0,3 U Taq DNA polimeraz, 3 µl ekstrakte DNA'dan olacak şekilde 25 µl amplifikasyon tüp içeriği hazırlandı. Amplifikasyon programı 94 °C'de 10 dakika, toplam 30 siklus olacak şekilde 94 °C'de 1 dakika denatürasyon, 55 °C'de 1 dakika bağlanma, 72 °C'de 1 dakika uzama, son siklusu takiben 72 °C'de 10 dakika son uzama işlemi yapıldı.

Aph(2'')-1d geninin amplifikasyonu için, 16,6 µl distile su, 2,5 µl 10 X PZR tamponu, 1,5 µl 25 mM Mg₂Cl, 0,5 µl mM dNTP karışımı, 0,3 µl 50 pmol her bir

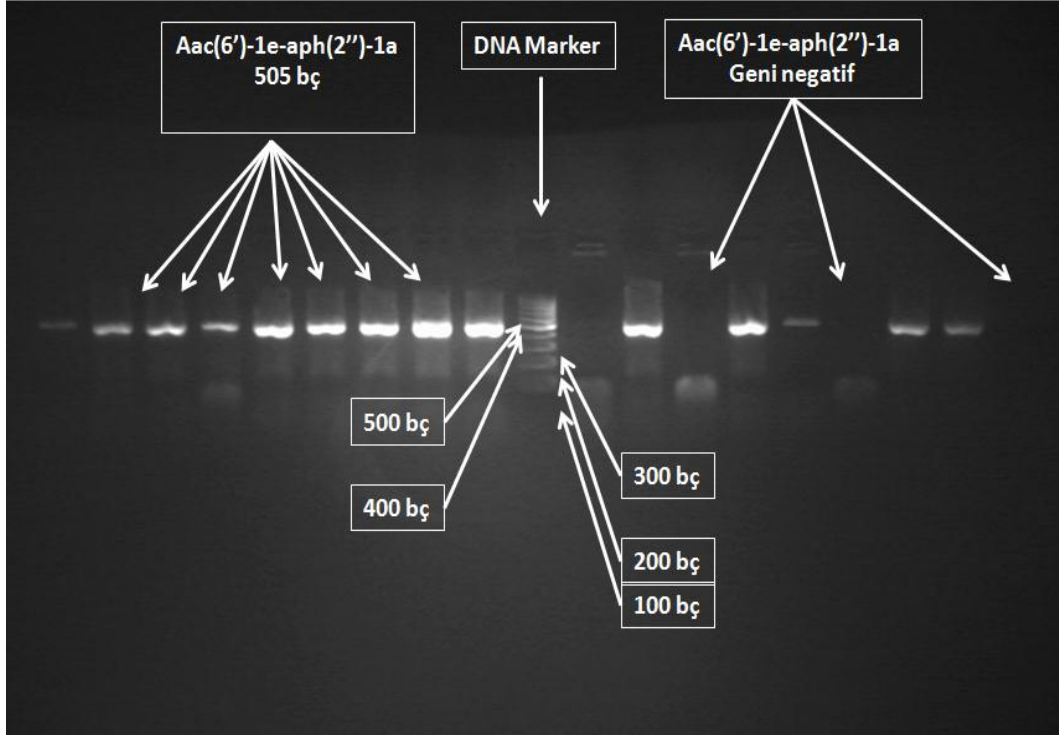
primerden, 0,3 U Taq DNA polimeraz, 3 µl ekstrakte DNA'dan olacak şekilde 25 µl amplifikasyon tüp içeriği hazırlandı. Amplifikasyon programı 94 °C'de 10 dakika, toplam 30 siklus olacak şekilde 94 °C'de 1 dakika denatürasyon, 53,4 °C'de 1 dakika bağlanma, 72 °C'de 1 dakika uzama, son siklusu takiben 72 °C'de 10 dakika son uzama işlemi yapıldı.

3.4.4.4. Amplifiye Edilen Gen Ürünlerinin Gösterilmesi

Amplifiye edilen PZR ürünleri DNA marker (100-3000 bç) (Fermentas, ABD) ile birlikte, elektroforez tankında (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD) bulunan 0.5X TBE (Fermentas, ABD) tamponu içindeki %2'lik agaroz jeli 10 µl PZR ürünü, 3 µl yükleme boyası (6X) (Fermentas, ABD) ile karıştırılarak yüklendi. 150 Volt'da 20 dakikalık elektroforez işleminden sonra görüntüleme cihazında (Wealtec Dolphin-View, ABD) incelendi. *Van A*, *Van B*, *Van C* genleri için sırasıyla 1030, 433, 796 bç'lik; *Aac(6')-1e-aph(2'')*-1a, *aph(2'')*-1b, *aph(2'')*-1c, *aph(2'')*-1d genleri için sırasıyla 505, 906, 627, 642 bç'lik gen ürünlerinin varlığı yönünden değerlendirildi (Resim 3, 4).



Resim 3: *Van A* direnç geninin agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü



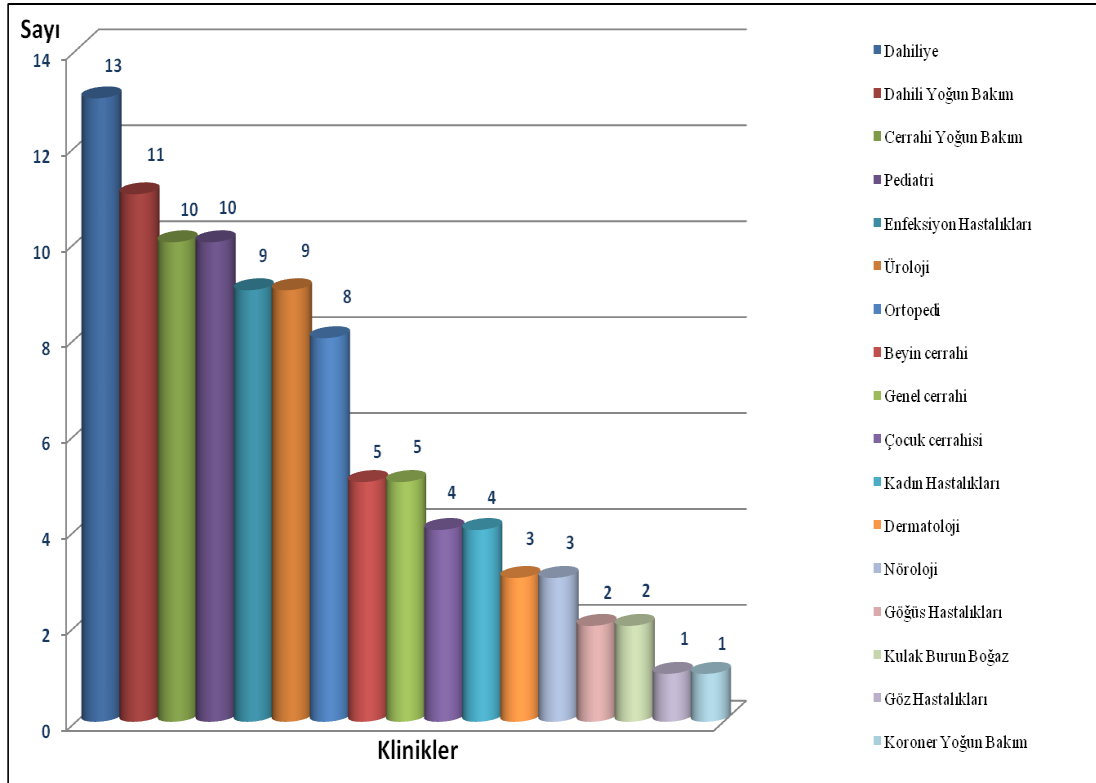
Resim 4: *Aac(6')-1e-aph(2'')-1a* geninin agaroz jel elektroforezindeki görüntüsü

3.5. İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 13 paket programında analiz edildi. Sürekli değişkenler normal dağılım ve varyansların eşitliği yönünden incelendi. Gruplar arası karşılaştırmalarda sürekli değişkenler için Mann-Whitney U testi, isimsel değişkenler için ki-kare testi kullanıldı. Anlamlılık sınırı olarak 0,05 kabul edildi.

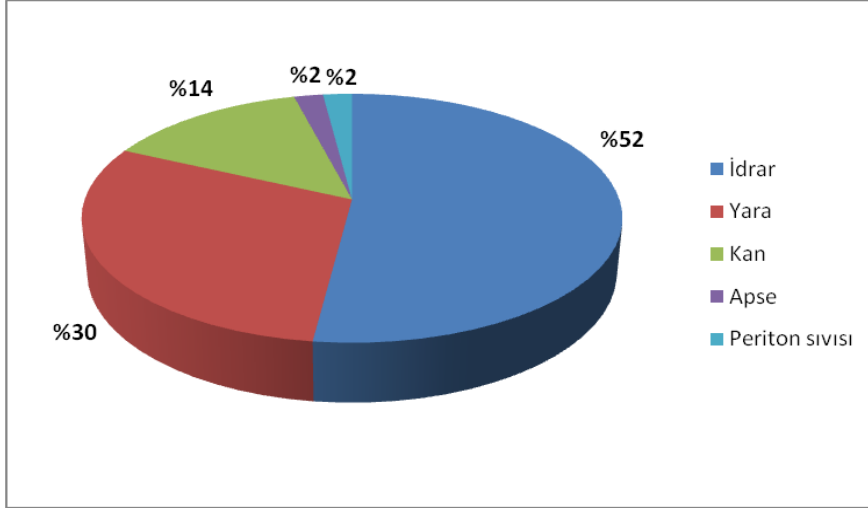
4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen *Enterococcus* spp. kökenlerinin izole edildiği örneklerin en sık olarak Dahiliye (%13), Dahili Yoğun Bakım (%11), Cerrahi Yoğun Bakım (%10), Pediatri (%10), Enfeksiyon (%9), Üroloji (%9) kliniklerinden gönderildiği tespit edildi (Şekil 2).



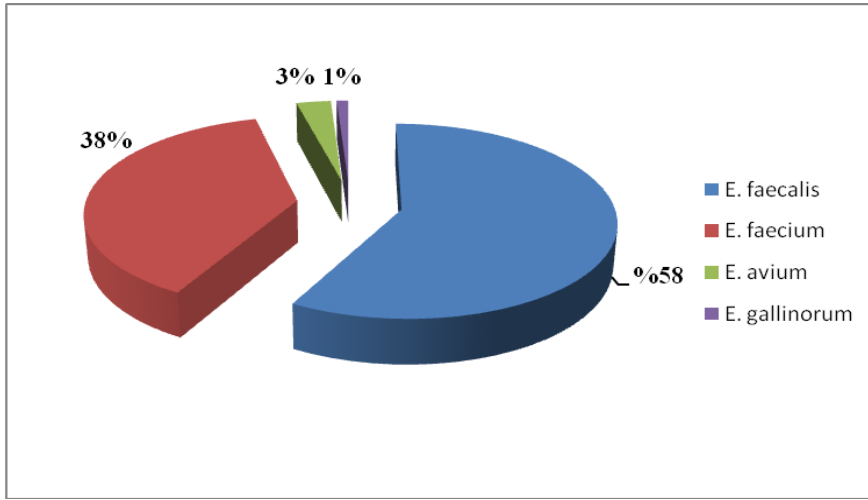
Şekil 2: Kökenlerin izole edildiği örneklerin gönderildiği klinikler

Kökenlerin %52'sinin idrar, %30'unun yara, %14'ünün kan, %2'sinin apse, %2'sinin periton sıvısı örneklerinden izole edildiği tespit edildi (Şekil 3).



Şekil 3: Enterokok türlerinin izole edildiği örnekler

Çalışmaya dahil edilen *Enterococcus* spp. kökenlerinin %58'inin *E. faecalis*, %38'inin *E. faecium*, %3'ünün *E. avium*, %1'inin *E. gallinorum* olduğu tespit edildi (Şekil 4).



Şekil 4: Entereokok kökenlerinin tür dağılımı

Çalışmaya dahil edilen *Enterococcus* spp. kökenlerinin hiçbirinde beta laktamaz üretimi olmadığı tespit edildi. Değerlendirilen *Enterococcus* spp. kökenlerinin en duyarlı oldukları antibiyotikler teikoplanin (%94), linezolid (%91), vankomisin (%90), ampisilin (%70), penisilin (%70), nitrofurantoin (%65), levofloksasin (%41), tetrasiklin (%36), eritromisin (%17) olarak belirlendi. YDGD

kökenlerin %40'ında, YDSD ise kökenlerin %63'ünde saptandı. Kökenlerin antibiyotiklere direnç ve duyarlılık oranları Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8: Kökenlerin antibiyotiklere duyarlılık durumları

Antibiyotik	Dirençli N (%)	Orta duyarlı N (%)	Duyarlı N (%)	Toplam N
Vankomisin	10 (10)	0 (0)	90 (90)	100
Eritromisin	69 (69)	14 (14)	17 (17)	100
Nitrofurantoin	16 (16)	19 (19)	65 (65)	100
Levofloksasin	57 (57)	2 (2)	41 (41)	100
Linezolid	7 (7)	2 (2)	91 (91)	100
Tetrasiklin	64 (64)	0 (0)	36 (36)	100
Teikoplanin	6 (6)	0 (0)	94 (94)	100
Ampisilin	30 (30)	0 (0)	70 (70)	100
Penisilin	30 (30)	0 (0)	70 (70)	100
YD* Streptomisin	63 (63)	0 (0)	37 (37)	100
YD* Gentamisin	40 (40)	0 (0)	60 (60)	100

*YD; yüksek düzey

Enterococcus spp. kökenlerine karşı bazı antibiyotiklerin otomatize sistem ile belirlenen MİK değerleri Tablo 9'da gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre MİK₅₀ değerleri (bakterilerin en az %50'sine etkili olabilmek için gereken MİK değerleri) duyarlılık sınırı içinde kalan antibiyotikler vankomisin, nitrofurantoin, linezolid ve teikoplanin olarak belirlendi. MİK₉₀ değerleri (bakterilerin en az %90'ına etkili solabilmek için gereken MİK değerleri) duyarlılık sınırı içinde kalan antibiyotikler vankomisin, linezolid ve teikoplanin olarak saptandı (Tablo 9).

Tablo 9: Otomatize sistem ile *Enterococcus* spp. kökenlerine karşı bazı antibiyotiklerin MİK değerleri

	MİK ₅₀ µg/ml	MİK ₉₀ µg/ml	*MİK Aralığı µg/ml	CLSI MİK Aralığı µg/ml
Vankomisin	1	4	≤ 0,5- ≥ 32	≤ 4- ≥ 32
Eritromisin	≥ 8	≥ 8	≤ 0,25- ≥ 8	≤ 0,5- ≥ 8
Nitrofurantoin	≤ 16	128	≤ 16- 256	≤ 32- ≥ 128
Levofloksasin	≥ 8	≥ 8	≤ 0,12- ≥ 8	≤ 2- ≥ 8
Linezolid	2	2	1- ≥ 8	≤ 2- ≥ 8
Tetrasiklin	≥ 16	≥ 16	≤ 1- ≥ 16	≤ 4- ≥ 16
Teikoplanin	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,5- ≥ 32	≤ 8- ≥ 32

* Çalışmadaki kökenlerin MİK aralığı

Çalışmaya dahil edilen *E. faecium* kökenleri diğer enterokok türleri ile karşılaştırıldığında; *E. faecium* kökenleri nitrofurantoin, ampisilin ve penisiline diğer kökenlerden daha dirençli ($p < 0,001$), tetrasikline ise diğer kökenlerden daha duyarlı ($p < 0,001$) bulundu. YDS ve YDG direnci bakımından türler arasında farklılık bulunmadı ($p > 0,05$) (Tablo 10).

Tablo 10: *E. faecium* kökenleri ile diğer enterokok türlerinin antimikrobiyal duyarlılıkları

Antibiyotik	Duyarlılık durumu*	Diğerleri N (%)	<i>E. faecium</i> N (%)	Toplam N (%)	p
Eritromisin	R	36 (52,1)	33 (47,9)	69 (100)	> 0,05
	S	15 (88,2)	2 (11,8)	17 (100)	
	I	11 (78,5)	3 (21,5)	14 (100)	
Nitrofurantoin	R	0 (0)	16 (100)	16 (100)	< 0,001
	S	60 (92,3)	5 (7,7)	65 (100)	
	I	2 (10,5)	17 (89,5)	19 (100)	
Levofloksasin	R	29 (50,8)	28 (49,2)	57 (100)	< 0,05
	S	33 (80,4)	8 (19,6)	41 (100)	
	I	0 (0)	2 (100)	2 (100)	
Linezolid	R	2 (28,5)	5 (71,5)	7 (100)	> 0,05
	S	58 (63,7)	33 (36,3)	91 (100)	
	I	2 (100)	0 (0)	2 (100)	
Tetrasiklin	R	51 (79,6)	13 (20,4)	64 (100)	< 0,001
	S	11 (30,5)	25 (69,5)	36 (100)	
Teikoplanin	R	1 (16,6)	5 (83,4)	6 (100)	< 0,05
	S	61 (64,8)	33 (35,2)	94 (100)	
Ampisilin	R	1 (3,3)	29 (96,7)	30 (100)	< 0,001
	S	61 (87,1)	9 (12,9)	70 (100)	
Penisilin	R	1 (3,3)	29 (96,7)	30 (100)	< 0,001
	S	61 (87,1)	9 (12,9)	70 (100)	
YDSD**	R	35 (55,5)	28 (44,5)	63 (100)	> 0,05
	S	27 (72,9)	10 (27,1)	37 (100)	
YDGD***	R	23 (57,5)	17 (42,5)	40 (100)	> 0,05
	S	39 (65)	21 (35)	60 (100)	

*R: Dirençli, S: Duyarlı, I: Orta duyarlı

YDSD: Yüksek düzey streptomisin dienci, *YDGD: Yüksek düzey gentamisin direnci

Çalışmaya dahil edilen *E. faecalis* kökenleri diğer Enterokok türleri ile karşılaştırıldığında; *E. faecalis* kökenleri tetrasikline ($p<0,001$) daha dirençli, eritromisin (0,031), nitrofurantoin ($p<0,001$), levofloksasin ($p=0,035$), linezolid ($p=0,028$), teikoplanin ($p=0,003$), ampisilin ($p<0,01$), penisilin ($p<0,01$), YDS'ye ($p=0,02$) daha duyarlı bulundu (Tablo 11).

Tablo 11: *E. faecalis* kökenleri ile diğer enterokok türlerinin antimikrobiyal duyarlılıkları

Antibiyotik	Duyarlılık durumu*	Diğerleri N (%)	<i>E. faecalis</i> N (%)	Toplam N (%)	p
Eritromisin	R	35 (50,7)	34 (49,3)	69 (100)	0,031
	S	4 (23,5)	13 (76,5)	17 (100)	
	I	3 (21,4)	11 (79,6)	14 (100)	
Nitrofurantoin	R	16 (100)	0 (0)	16 (100)	< 0,001
	S	7 (10,7)	58 (89,3)	65 (100)	
	I	19 (100)	0 (0)	19 (100)	
Levofloksasin	R	28 (49,1)	29 (50,9)	57 (100)	0,035
	S	12 (29,2)	29 (70,8)	41 (100)	
	I	2 (100)	0 (0)	2 (100)	
Linezolid	R	6 (85,7)	1 (14,3)	7 (100)	0,028
	S	36 (39,5)	55 (60,5)	91 (100)	
	I	0 (0)	2 (100)	2 (100)	
Tetrasiklin	R	16 (25)	48 (75)	64 (100)	< 0,001
	S	26 (72,2)	10 (27,8)	36 (100)	
Teikoplanin	R	6 (100)	0 (0)	6 (100)	0,003
	S	36 (38,2)	58 (61,8)	94 (100)	
Ampisilin	R	30 (100)	0 (0)	30 (100)	< 0,01
	S	12 (17,1)	58 (82,9)	70 (100)	
Penisilin	R	30 (100)	0 (0)	30 (100)	< 0,01
	S	12 (17,1)	58 (82,9)	70 (100)	
YDSD**	R	32 (50,7)	31 (49,3)	63 (100)	0,02
	S	10 (27)	27 (73)	37 (100)	
YDGD***	R	18 (45)	22 (55)	40 (100)	> 0,05
	S	24 (40)	36 (60)	60 (100)	

*R: Dirençli, S: Duyarlı, I: Orta duyarlı

YDSD: Yüksek düzey streptomisin dienci, *YDGD: Yüksek düzey gentamisin direnci

E-test yöntemi ile vankomisine karşı MİK aralığı 0,5-256 µg/ml idi. Bu yöntemde vankomisine karşı elde edilen MİK₅₀ değeri 1,5, MİK₉₀ değeri ise 3 olarak bulundu. MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri duyarlılık sınırları içinde kalmaktaydı.

Otomatize sistem ile belirlenen vankomisin MİK değerleri incelendiğinde on köken vankomisine dirençli bulundu. Bu kökenlerin sekiz tanesi *E. faecium*, iki tanesi *E. faecalis* idi. Çalışmadaki enterokok türlerinin otomatize sistem ile belirlenen vankomisine duyarlılık durumu tablo 12’de gösterilmiştir.

Tablo 12: Enterokok türlerinin otomatize sistem ile belirlenen vankomisin duyarlılık durumu

Enterokok Türleri	Otomatize sistem ile Vankomisin Duyarlılığı		Toplam N (%)	P
	Duyarlı N (%)	Dirençli N (%)		
<i>E. faecalis</i>	56 (96,5)	2 (3,5)	58 (100)	>0,05
<i>E. faecium</i>	30 (78,9)	8 (21,1)	38 (100)	0,006
Diğer	4 (100)	0 (0)	4 (100)	>0,05
Toplam	90 (90)	10 (10)	100 (100)	

E-test ile belirlenen vankomisin MİK değerleri incelendiğinde beş köken vankomisine dirençli bulundu. Bu kökenlerin hepsi *E. faecium* idi. Çalışmadaki enterokok türlerinin E-test yöntemi ile belirlenen vankomisine duyarlılık durumu tablo 13’te gösterilmiştir.

Tablo 13: Enterokok türlerinin E-test yöntemi ile belirlenen vankomisin duyarlılık durumu

Enterokok Türleri	E-test ile Vankomisin Duyarlılığı		Toplam N (%)	P
	Duyarlı N (%)	Dirençli N (%)		
<i>E. faecalis</i>	58 (100)	0 (0)	58 (100)	>0,05
<i>E. faecium</i>	33 (86,4)	5 (13,6)	38 (100)	0,007
Diğer	4 (100)	0 (0)	4 (100)	>0,05
Toplam	95 (95)	5 (5)	100 (100)	

PZR yöntemiyle kökenler *Van A*, *Van B*, *Van C* geni açısından değerlendirildi. *Van A* geni içeren beş köken tespit edildi. *Van A* geni içeren beş kökenin jel görüntüsü Resim 3'te gösterilmiştir. *Van B* ve *Van C* geni içeren köken tespit edilmedi (Tablo 14).

Tablo 14: Enterokok kökenlerinde *Van A*, *Van B*, *Van C* direnç geni sıklığı

Genler	Pozitif N (%)	Negatif N (%)	Toplam N (%)
<i>Van A</i>	5 (5)	95 (95)	100
<i>Van B</i>	0 (0)	100 (100)	100
<i>Van C</i>	0	100 (100)	100

Van A geni içeren suşların hepsi *E. faecium* idi. PZR ile *Van A* geni tespit edilen kökenler Tablo 15'te gösterilmiştir.

Tablo 15: *Van A* geni içeren kökenler

Enterokok türleri	<i>Van A</i> geni		Toplam N (%)
	Negatif N (%)	Pozitif N (%)	
<i>E. faecalis</i>	58 (100)	0 (0)	58 (100)
<i>E. faecium</i>	33 (86,8)	5 (13,2)	38 (100)
<i>E. avium</i>	3 (100)	0 (0)	3 (100)
<i>E. gallinorum</i>	1 (100)	0 (0)	1 (100)
Toplam	95 (95)	5 (5)	100 (100)

Van A geni içeren kökenlerin hepsinin vankomisin, nitrofurantoin, teikoplanin, ampisilin ve penisiline dirençli olduğu saptandı ($p < 0,001$) (Tablo 16).

Tablo 16: *Van A* geni içeren ve içermeyen kökenlerin bazı antibiyotiklere duyarlılık ve dirençleri

Antibiyotik	Duyarlılık durumu*	<i>Van A</i> gen varlığı		Toplam N (%)	p
		Pozitif N (%)	Negatif N (%)		
Vankomisin	R	5 (50)	5 (50)	10 (100)	< 0,001
	S	0 (0)	90 (100)	90 (100)	
Eritromisin	R	5 (7,2)	64 (92,8)	69 (100)	> 0,05
	S	0 (0)	17 (100)	17 (100)	
	I	0 (0)	14 (100)	14 (100)	
Nitrofurantoin	R	5 (31,2)	11 (68,8)	16 (100)	< 0,001
	S	0 (0)	65 (100)	65 (100)	
	I	0 (0)	19 (100)	19 (100)	
Levofloksasin	R	5 (9,6)	52 (90,4)	57 (100)	>0,05
	S	0 (0)	41 (100)	41 (100)	
	I	0 (0)	2 (100)	2 (100)	
Linezolid	R	0 (0)	7 (100)	7 (100)	> 0,05
	S	5 (5,4)	86 (94,6)	91 (100)	
	I	0 (0)	2 (100)	2 (100)	
Tetrasiklin	R	5 (7,8)	59 (92,2)	64 (100)	> 0,05
	S	0 (0)	36 (100)	36 (100)	
Teikoplanin	R	5 (83,3)	1 (16,7)	6 (100)	< 0,001
	S	0 (0)	94 (100)	94 (100)	
Ampisilin	R	5 (16,6)	25 (83,4)	30 (100)	< 0,001
	S	0 (0)	70 (100)	70 (100)	
Penisilin	R	5 (16,6)	25 (83,4)	30 (100)	< 0,001
	S	0 (0)	70 (100)	70 (100)	

*R: Dirençli, S: Duyarlı, I: Orta duyarlı

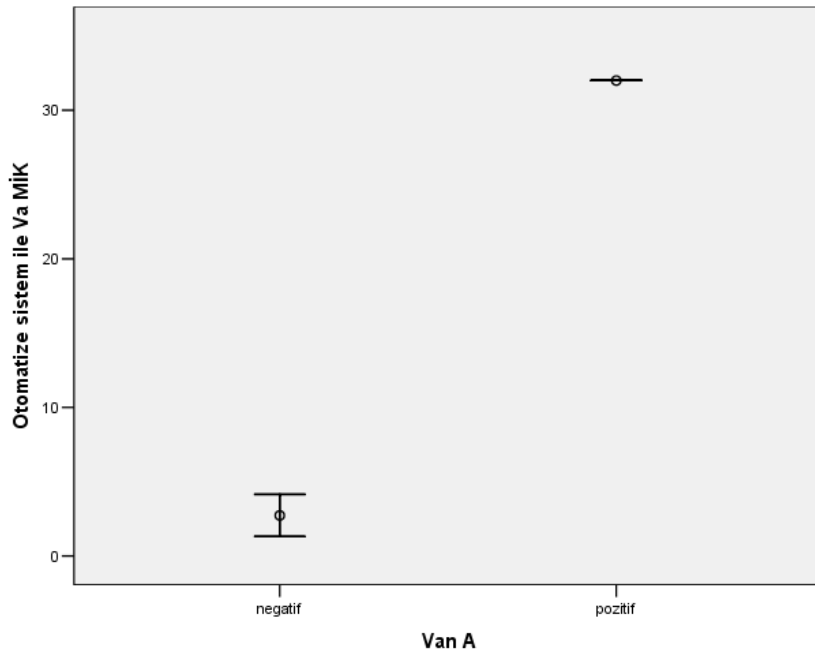
Van A geni içeren 5 kökenin otomatize sistem ve E-test yöntemi ile ölçülen MİK değerlerinin ortanca değerleri, *Van A* geni içermeyen 95 kökenin MİK değerlerinin ortanca değerlerinden daha yüksek bulundu ($p < 0,001$) (Tablo 17).

Tablo 17: *Van A* geni içeren suşların otomatize sistem ve E-test ile ölçülen MİK değerlerinin ortanca değerleri

Vankomisin MİK	<i>Van A</i> geni		P
	Pozitif	Negatif	
Otomatize sistem* ile ortanca (min-maks)	32 (32-32)	1 (0,5-32)	$p < 0,001$
E-test ile ortanca (min-maks)	256 (256-256)	1,5 (0,5-256)	$p < 0,001$

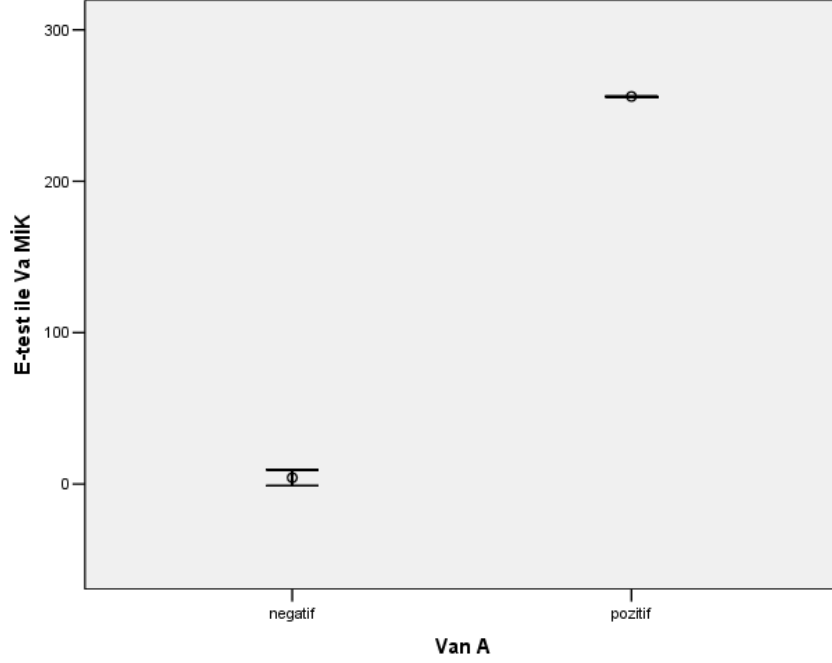
*Vitek 2 (BioMerieux, Fransa)

Van A içeren kökenlerin vankomisin MİK değerleri daha yüksek bulundu ($p < 0,001$). *Van A* geni varlığına göre kökenlerin otomatize sistem ile belirlenen vankomisin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$) Şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 5: *Van A* geni varlığına göre kökenlerin otomatize sistem ile belirlenen vankomisin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$)

Van A geni varlığına göre kökenlerin E-test yöntemiyle belirlenen vankomisin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$) Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6: *Van A* geni varlığına göre kökenlerin E-test ile belirlenen vankomisin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$)

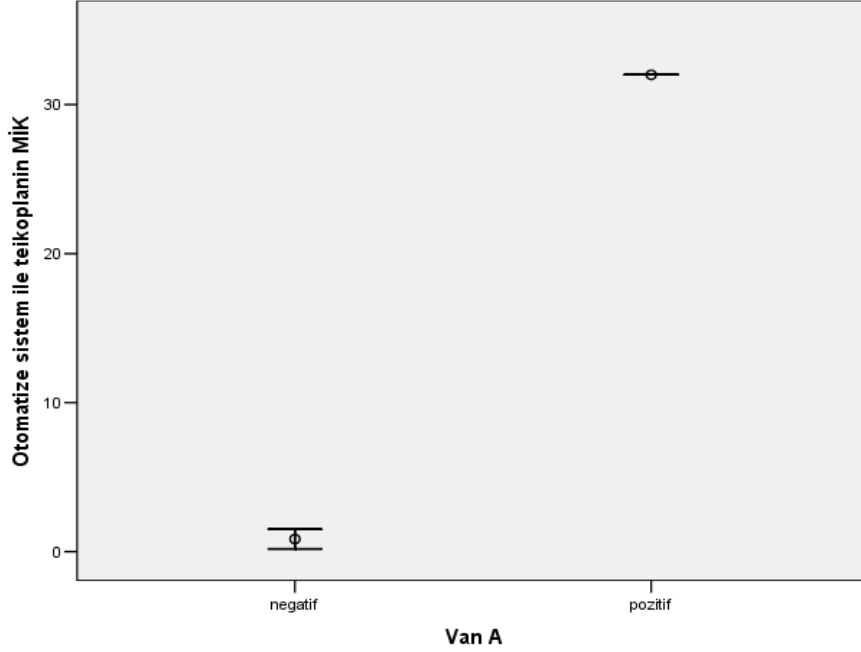
Van A geni içeren 5 kökenin otomatize sistem ile ölçülen teikoplanin MİK ölçümlerinin ortanca değerleri, *Van A* geni içermeyen 95 kökenin teikoplanin MİK ölçümlerinin ortanca değerlerinden daha yüksek bulundu ($p < 0,001$) (Tablo 18).

Tablo 18: *Van A* geni içeren suşların otomatize sistem ile ölçülen teikoplanin MİK ölçümlerinin ortanca değerleri

Teikoplanin MİK	<i>Van A</i> geni		P
	Pozitif	Negatif	
Otomatize sistem* ile ortanca değeri (min-maks)	16 (16-16)	16 (1-16)	$P < 0,001$

*Vitek 2 (BioMerieux, Fransa)

Van A içeren kökenlerin otomatize sistem ile ölçülen teikoplanin MİK değerleri daha yüksek bulundu ($p < 0,001$). *Van A* geni varlığına göre kökenlerin otomatize sistem ile belirlenen teikoplanin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$) Şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 7: Van A geni varlığına göre kökenlerin otomatize sistem ile belirlenen teikoplanin MİK değerleri ($\mu\text{g/ml}$)

Kökenerin 58 tanesinde *aac(6')-1e-aph(2'')-1a* geni saptandı. Hiçbir kökende *aph(2'')-1b*, *aph(2'')-1c* ve *aph(2'')-1d* genleri saptanmadı (Tablo 19).

Tablo 19: Gentamisin direnç genleri

Genler	Pozitif N (%)	Negatif N (%)	Toplam N (%)
<i>Aac(6')-1e-aph(2'')-1a</i>	58 (58)	42 (42)	100 (100)
<i>Aph(2'')-1b</i>	0 (0)	100 (100)	100 (100)
<i>Aph(2'')-1c</i>	0 (0)	100 (100)	100 (100)
<i>Aph(2'')-1d</i>	0 (0)	100 (100)	100 (100)

Aac(6')-1e-aph(2'')-1a geni taşıyan 4 kökenin aynı zamanda *Van A* geni de içerdiği tespit edildi (Tablo 20).

Tablo 20: *Aac(6')-1e-aph(2'')-1a* ve *Van A* geni içeren kökenler

Genler		<i>Van A</i> geni		Toplam N (%)
		Negatif N (%)	Pozitif N (%)	
<i>Aac(6')-1e-aph(2'')-1a</i> geni	Negatif (N)	41 (97,6)	1 (2,4)	42 (100)
	Pozitif (N)	54 (93,1)	4 (6,9)	58 (100)
Toplam		95 (95)	5 (5)	100 (100)

Aac(6')-1e-aph(2'')-1a geni içeren kökenlerde YDSD ve YDGD daha fazla oranda bulundu ($p < 0,001$) (Tablo 21).

Tablo 21: *Aac(6')-1e-aph(2'')-1a* geni içeren kökenlerin YDSD ve YDGD oranları

Antibiyotik	Duyarlılık durumu*	<i>Aac(6')-1e-aph(2'')-1a</i> geni		Toplam N (%)	p
		Pozitif N (%)	Negatif N (%)		
YDS	R	47 (74,6)	16 (25,4)	63 (100)	< 0,001
	S	11 (29,7)	26 (70,3)	37 (100)	
YDG	R	40 (100)	0 (0)	40 (100)	< 0,001
	S	18 (30)	42 (70)	60 (100)	

*R: Dirençli, S: Duyarlı

Van A direnç geni beş (%5) *E. faecium* kökeninde bulundu. Böylece *E. faecium* kökenlerinde *Van A* direnç geni diğer kökenlere oranla daha fazla bulundu ($p=0,007$). *Aac(6')-1e-aph(2'')-1a* geni *E. faecium* kökenlerinin 22 (%38)'inde tespit edildi (Tablo 22).

Tablo 22: *E. faecium* kökenleri ile diğer enterokok türlerindeki *Van A* ve *Aac(6')-1e-aph(2'')-1a* genlerinin bulunma durumları

Genler		Diğerleri	<i>E.faecium</i>	Toplam	p
		N (%)	N (%)	N (%)	
<i>Van A</i> geni	Negatif	62 (65,2)	33 (34,8)	95 (100)	0,007
	Pozitif	0 (0)	5 (100)	5 (100)	
<i>Aac(6')-1e-aph(2'')-1a</i> geni	Negatif	26 (61,9)	16 (38,1)	42 (100)	> 0,05
	Pozitif	36 (62)	22 (38)	58 (100)	

5. TARTIŞMA

Enterokoklar son yıllarda önemli nozokomiyal patojenlerden biri haline gelmiştir. Antimikrobiyallerin çoğuna karşı intrensek veya kazanılmış dirence sahiptirler. Nozokomiyal infeksiyonlarda artan oranlarda görülmelerinin yanısıra gerek doğal olarak taşıdıkları klindamisin, florokinolon, trimetoprim-sülfametoksazol, düşük düzey penisilin ve düşük düzey aminoglikozid direnç özellikleri gerekse de genetik madde aktarımı veya mutasyonla kazandıkları tetrasiklin, eritromisin, rifampin, kloramfenikol, nitrofurantoin, fusidik asit, YDAD ve beta laktam, florokinolon ve vankomisin dirençleri nedeniyle günümüzün problemlili bakterileri arasında yer almaktadır (113-115).

Enterokok infeksiyonlarındaki artış enterokok kolonizasyonuna yol açabilen sefalosporinler, kinolonlar, beta laktam gibi antimikrobiklerin profilaksi veya tedavi amacıyla sıkça kullanılmaları ile ilişkili olabilir. Enterokok türlerinde virulans açısından vankomisine duyarlı ve dirençli suşlar arasında çok büyük farklılık yoktur. Ancak vankomisine duyarlı suşlarla gelişen bakteriyemilerde mortalite oranı %13,6- 27 arasında iken, VRE bakteriyemisinde bu oranın %36,6-52 arasında olduğu saptanmıştır (114).

Enterokok türlerinden *E. faecalis* ve *E. faecium* infeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen türlerdir. *E. casseliflavus* ve *E. avium* gibi diğer enterokok türleri giderek artan oranlarda saptanmaktadır. Çalışmamızda da kökenlerin %58'inin *E. faecalis*, %38'inin *E. faecium*, %3'ünün *E. avium*, % 1'inin *E. gallinorum* olduğu bulunmuştur. Torun ve ark. (116)'nın 111 enterokok kökeni ile yaptıkları çalışmada *E. faecalis* oranı %77, *E. faecium* oranı %23 bulunmuştur. Protonotariou ve ark. (117)'nin yaptıkları çalışmada *E. faecalis* oranı %70,6 ve *E. faecium* oranı %29,4 olarak bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. (118)'nin yaptıkları çalışmada ise *E. faecium*

oranı (%60,5) *E. faecalis* oranından (%13,6) daha fazla bulunmuş olup *E. avium* oranı %1,2 olarak tespit edilmiştir.

Başlangıçta beta laktamaz üreten enterokoklar ABD’de nadir kökenler olarak bildirilirken günümüzde tüm dünyada izole edilmektedir (119). Çalışmamızda araştırılan 100 enterokok kökeninin hiçbirinde nitrosefin disk yöntemiyle beta laktamaz üretimi olmadığı tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada bizim çalışmamıza benzer olarak beta laktamaz üreten köken saptanmamıştır (120, 121). Ancak Ak ve ark. (122)’nin yaptıkları çalışmada *E. faecalis* kökenlerinin %54,5’inde beta-laktamaz üretimi saptanmıştır. Yurt dışında da yapılan birçok çalışmada ülkemizdeki çalışmalarla benzer olarak enterokoklarda beta laktamaz üretimi bildirilmemiştir (123, 124).

Kısmi veya tam beta laktam antibiyotik direnci enterokok türlerinin karakteristik özelliğidir. *E. faecalis* diğer streptokok türlerine oranla 10-100 kat daha az penisiline duyarlıdır. *E. faecium* ise *E. faecalis*’e göre penisiline 4-16 kat oranla daha az duyarlıdır. Bununla birlikte enterokok türleri çok çabuk beta laktam antibiyotiklere karşı tolerans geliştirebilir. Bu tolerans gelişimi düşük eşikli PBP üretimi sayesinde olmaktadır (54).

Çalışmamızda incelenen kökenlerin 30 (%30)’unda ampisilin ve penisilin direnci saptanmıştır. *E. faecalis* kökenleri ampisiline ve penisiline daha duyarlı bulunmuştur. Ülkemizde Kaçmaz ve ark. (125) yaptıkları çalışmada tüm kökenlerin, penisilin ve ampisiline direnç oranlarını sırasıyla %27 ve %26 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada da bizim çalışmamıza benzer olarak *E. faecalis*’in diğer kökenlere göre penisilin ve ampisiline karşı daha duyarlı olduğu bulunmuştur. Cömert ve ark. (126)’nın yaptıkları çalışmada ise incelenen kökenlerin tümünde ampisilin ve penisilin direnci tespit edilmiştir. Diğer ülkelerde ise Zouain ve ark.(127)’nin yaptıkları çalışmada ülkemizde yapılan Kaçmaz ve ark. (125)’nin çalışmasında ve bizim çalışmamızda olduğu gibi ampisiline karşı *E. faecalis* kökenlerinde direnç oranını (% 0,9), *E. faecium* kökenlerindeki direnç oranından (%14) daha az bulmuşlardır. D’azevedo ve ark. (128)’nin 455 enterokok kökeni ile yaptıkları çalışmada ise sadece 14’ünde yüksek düzey ampisilin direnci tespit edilmiştir. Bunların yedi tanesi *E. faecalis*, altı tanesi *E. faecium* ve biri *E. raffinosus* olarak

tespit edilmiştir. Özellikle ampisilin dirençli *E. faecium* kökenlerinin sayısı giderek artmıştır. 2001 yılı Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Ağı (EARSS) verilerine göre kandan izole edilen 841 kökenin %71'inde aminopenisilinlere direnç gözlenmiştir (24).

Çalışmamızda incelenen enterokok türlerinin %35'i nitrofurantoin dirençli olarak tespit edilmiştir. Şirin ve ark. (129)'nın yaptıkları çalışmada kökenlerin %1'inde nitrofurantoin direnci saptanmıştır. Yıldırım ve ark. (118)'nin yaptıkları çalışmada ise bu oran biraz daha yüksek (%34,6) olarak bulunmuş olup bizim çalışmamızdaki oranla aynıdır. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda Moaddab ve ark. (123) nitrofurantoin direncini %1,5, Akhter ve ark. ise %5 olarak bulmuştur (130).

Çalışmamızda tetrasiklin direnci kökenlerin %64'ünde tespit edilmiştir. Ülkemizde Kılıç ve ark. (131)'nin yapmış olduğu çalışmada tüm kökenlerin tetrasikline duyarlı olduğu bildirilmiştir. Buna karşılık tetrasiklin direnç oranını %8,3, %51 ve %70,4 olarak bildiren çalışmalar da mevcuttur (118, 129, 132). Diğer ülkelerde yapılan çalışmalar arasında tüm kökenlerin tetrasikline dirençli olduğu çalışmalar bulunmaktadır (133). Protonotariou ve ark. (117) 1498 *E. faecalis* ve 625 *E. faecium* kökeninin antimikrobiyal direnç eğilimlerini inceledikleri çalışmada, Miranda ve ark. (133) tüm kökenlerin tetrasikline dirençli olduğunu buldukları çalışmadan farklı olarak *E. faecalis* için %0,1, *E. faecium* için %8,2 oranında tetrasiklin direnci tespit etmiştir. Zouain ve ark. (127) 153 enterokok kökeni ile yaptıkları çalışmada *E. faecalis* ve *E. faecium* için sırasıyla %72 ve %34 oranında tetrasiklin direnci tespit etmiştir.

Çalışmamızda eritromisin direnci %69 olarak bulunmuştur. Ülkemizde Şirin ve ark. (129) yaptıkları çalışmada %38 oranında eritromisin direnci saptamıştır. Cömert ve ark. (126) altı VRE kökeni ile yaptıkları çalışmada, Kırdar ve ark. (132) ise 12 VRE kökeni ile yaptıkları çalışmada hepsinin eritromisine dirençli olduğunu bulmuşlardır. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda ise Moaddab ve ark. (123) yaptıkları çalışmada 198 kökenin 53 tanesinde (%26,8) eritromisin direnci saptarken Protonotariou ve ark. (117) çalışmalarında *E. faecalis* için %67,6, *E. faecium* için %85,4 oranında eritromisin direnci tespit etmiştir.

Oxazolidinonlar, Gram pozitiflere karşı etkinliği olan sentetik antibiyotikler grubunun yeni bir üyesidir. Birçok türe karşı bakteriyostatik etkiye yol açan protein sentez inhibisyonu yaparak etki eder. Dirençli infeksiyonların tedavisinde kurtarıcı gibi görünse de 2001'de Gonzales ve ark. (134) beş hastada linezolid dirençli *E. faecium* bildirmiştir. Ardından da sporadik vakalar bildirilmiştir. ABD'de 2004 yılında *E. faecalis* ve *E. faecium* için linezolid duyarlılığı sırasıyla %99,5 ve %96,4 olarak bildirilmiştir (135). Çalışmamızda linezolid direnç oranı %7 olarak bulunmuştur. Ülkemizde Ak ve ark. (122)'nin yaptıkları çalışmada *E. faecalis* için %10,2 ve *E. faecium* için %9,1 oranında direnç olduğu saptanmıştır. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda bu oranlar daha düşük bulunmuş olup Akhter ve ark. (130)'nin çalışmasında linezolid direnç oranı %4, Protonotariou ve ark. (117)'nin çalışmasında *E. faecalis* için linezolid direnç oranı %0,3, *E. faecium* için %1,6 olarak tespit edilmiştir. Endokardit nedeniyle tedavi edilen 796 hastayı içeren büyük bir çalışmada linezolid, vankomisin ve dalfopristin-kinupristin tedavisine intolerans gelişen veya vankomisine cevap vermeyen hastalarda kullanılmıştır. Babcock ve ark. (136)'nin bu çalışmasında %59,9'unun VRE ve %19,4'ünün Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) infeksiyonuna sahip olduğu bildirilmiştir. Genel olarak vankomisine dirençli *E. faecium* infeksiyonu olan hastalarda %81,4'lük, MRSA infeksiyonu olanlarda ise %66,1'lik bir kür oranı olduğu ve %12,8'inde tedavinin başarısız olduğu saptanmıştır.

Enterokoklardaki glikopeptid direncinin son zamanlarda giderek artış göstermesi ve özellikle *E. faecium*'un birçok antibiyotiğe dirençli olması enterokokal infeksiyonların tedavisini zorlaştırmaktadır. Son zamanlarda çoklu ilaç direncine sahip enterokok kökenlerinin ortaya çıkışı infeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotikleri önemli ölçüde kısıtlamıştır. Glikopeptid, penisilin ve aminoglikozid grubu antibiyotiklere direnç geni taşıyan enterokok infeksiyonları ciddi problemlere yol açmaktadır. Vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptid antibiyotiklere karşı dirençli enterokok kökenlerinin sayısı giderek artmaktadır (81).

Enterokoklarda glikopeptid grubu antibiyotiklere direnç ilk olarak 1988'de bildirilmiş, daha sonra vankomisine ve teikoplanine yüksek düzeyde dirençli suşlar tüm dünyada yayılmıştır (9). Türkiye'de 1998'de Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi

Hastanesi'nde ilk VRE suşu *E. faecium* olarak bildirilmiştir (82). Bunu 1999'da İstanbul Tıp Fakültesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi ve Ankara Gülhane Tıp Akademisi'nden bildirilen suşlar izlemiştir. 2001 yılı sonrasında ülkemizdeki VRE olgularında artış görülmüştür (137-140).

Vankomisin için MİK değerleri agar dilüsyon, agar gradient dilüsyon, broth makrodilüsyon veya broth mikrodilüsyon yöntemlerinden biriyle saptanmalı ve inkübasyon süresi 24 saat olmalıdır. Klinik bir örnekten VRE izole edilmesi durumunda duyarlılık testlerinin bu yöntemlerden herhangi biriyle tekrarı, ikinci test sonucu beklenmeden infeksiyon kontrol komitesine ve ilgili servise haber verilmelidir. Böylece kesin sonuç alana dek izolasyon sağlanabilir.

Vankomisin direncinin saptanmasında tam otomatize yöntemlerin hepsi aynı ölçüde güvenilir değildir (7). Çalışmamızda otomatize sistem ile kökenlerin on tanesinde vankomisin direnci saptanırken, E-test yöntemi ile sadece beş kökende vankomisin direnci tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda Gökahmetoğlu ve ark. (141), Karaca ve ark. (142) izole ettikleri enterokoklarda vankomisin direncini E-test yöntemiyle araştırmış ve direnç bulamamışlardır. Efe ve ark. (143) 112 hastanın 21 (%18,8) tanesinde VRE izole etmişlerdir. Şirin ve ark. (129) yaptıkları çalışmada 100 enterokok kökeninde vankomisine orta duyarlı bir köken dışında tüm suşların vankomisin ve teikoplanine duyarlı olduğunu tespit etmiştir. Yıldırım ve ark. (118)'nin API 20 Strep testi (Biomeriux, Fransa) ile yaptıkları çalışmada 81 enterokok kökeninin hiçbirinde VRE saptanmamıştır. Ak ve ark.(122) 118 enterokok kökeni içeren otomatize sistem ile yaptıkları çalışmada beş vankomisine dirençli, bir vankomisine orta düzeyde dirençli köken tespit etmiştir. Kaçmaz ve ark. (125) vankomisin ve teikoplanin için her bir kökenin MİK değerlerini sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlemiştir. Test edilen kökenlerin hiçbirinin vankomisin ve teikoplanine dirençli olmadığı, teikoplanin ve vankomisin için MİK değerlerinin < 2 µg/ml olduğu tespit edilmiştir.

Moaddab ve ark. (123)'nin yaptıkları çalışmada, 198 kökenin 11 tanesinin agar dilüsyonla vankomisine orta düzeyde duyarlı iken kalanının vankomisine duyarlı olduğu bulunmuştur. Protonotariou ve ark.(117) 1498 *E. faecalis* ve 625 *E. faecium* kökeni içeren çalışmalarında otomatize sistem ile *E. faecalis* için %0,5,

E. faecium için %9,6 oranında vankomisin direnci tespit etmişlerdir. Zouain ve ark. (127)'nin disk difüzyon ile E-test yöntemlerini kullanarak 153 enterokok kökeninin vankomisin ve teikoplanin duyarlılıklarını inceledikleri çalışmalarında vankomisine karşı orta düzeyde direnç gösteren bir *E. gallinarum* kökeni dışında hiçbir kökende vankomisin veya teikoplanine direnç saptanmamıştır. Höllgren ve ark. (144) İsveç'te E-test ile %3,9, Poberzo ve ark. (145) Litvanya'da yine E-test ile %20, Udo ve ark. (146) Kuveyt'te E-test ile %3 oranında vankomisin direnci tespit etmişlerdir.

Enterokoklarda yedi farklı glikopeptid direnç genotipi tanımlanmış olmasına rağmen, *Van A* ve *Van B* en sık görülen direnç genotipleridir. *Van A* genotip enterokoklar hem teikoplanin hem de vankomisine YDD gösterirlerken, *Van B* tip genotip enterokoklar sadece vankomisine dirençlidirler (147). ABD ve Avrupa ülkelerinde *Van A* fenotip direnç, diğerlerine oranla daha yaygın bulunmaktadır (148, 149). Diğer enterokok türleri ile kıyaslandığında ise *E. faecium*'da *Van A* fenotip direncin daha sık ortaya çıktığı görülmektedir. Avrupa'da özellikle hayvancılıkta bir glikopeptid analogu olan avoparsin kullanımı, *Van A* fenotip VRE'nin artışına neden olmaktadır. Çalışmamızda PZR ile kökenlerin beş tanesinde *Van A* tipi direnç tespit edilmiştir. Bu beş kökenin hepsi de *E. faecium*'dur. Schouten ve ark. (29) 2000 yılında ülkemizde yaptıkları çalışmada *Van A* ve *Van B* fenotip enterokok kökeni saptamamışlardır. Miroviç ve ark. (124)'nin 111 *E. faecalis* ve 48 *E. faecium* kökeni ile yaptıkları çalışmada sadece bir *E. faecium* kökeninde *Van A* geni tespit edilmiştir. Türkiye'de ilk kez *Van A* fenotip *E. faecium* 2001 yılında izole edilmiştir (137). Daha sonra 2002 yılında *Van A* fenotip *E. faecium* salgını bildirilmiştir (138). Coşkun ve ark. (150) 38 VRE kökeni ile yaptıkları çalışmada PZR yöntemi kullanılarak 30 kökende *Van A* geni, beş kökende *Van B* geni tespit etmişlerdir. Bunlar ülkemizdeki ilk *Van B* pozitif *E. faecium* kökenleridir Altun ve ark. (151) 'nin yaptıkları çalışmada izole edilen 12 VRE kökeninin hepsinde PZR ile *Van A* geni tespit edilmiştir. 2008 yılında Gülhane Askeri Tıp Akademisi pediatri servisinde gelişen salgında dört vankomisin dirençli *E. faecium* izole edilmiştir. PZR ile *Van A*, *Van B* ve *Van C-2* direnç genlerini araştırdıkları çalışmalarında dört kökende de *Van A* geni tespit etmişlerdir (131). Kırdar ve ark. (132) hematolojik maligniteli hastalardan izole edilen 12 vankomisine dirençli *E. faecium* kökenini PZR ile incelemişler ve hepsinde *Van A* geni saptamışlardır.

Dünya çapında yaygın olan *Van A* tipinin aksine, *Van B* tipine çok daha az sıklıkla karşılaşılır ancak *Van B* tipi Güney Amerika (López ve ark. 2009) dahil olmak üzere farklı ülkelerden (McGregor ve Young 2000, Werner ve ark. 2008, Fang ve ark. 2010, Johnson ve ark. 2010) bildirilmiştir (152-156). Yunanistan'daki 3. basamak bir hastanede 2002-2007 yılları arasında klinik infeksiyonlardan elde edilen 1498 *E. faecalis* ve 625 *E. faecium*'un dahil edildiği bir çalışmada *E. faecalis* için %0,5, *E. faecium* için %9,6 oranında vankomisin direnci saptanmıştır. Vankomisin dirençli kökenlerin %79,1'inde *Van A* geni, kalan %20,9'unda *Van B* geni saptanmıştır (117). Nelson ve ark. (157)'nin hepsi vankomisine dirençli olan 144 (%93,5) *E. faecium*, yedi (%4,5) *E. faecalis* ve üç (%2) *E. gallinarum* kökeni ile yaptıkları çalışmada, yedi *E. faecalis* kökeninin *Van A* fenotipine sahip olduğu bulunmuştur. Kalan altı köken *Van A* fenotipi gösterirken, 144 *E. faecium* kökeninin 138'nin *Van B* fenotipi gösterdiği tespit edilmiştir. Üç *E. gallinarum* kökeninden birinde *Van C-1* geni amplifiye edilmiştir. Descheemaeker ve ark. (149)'nin 601 VRE kökeni ile yaptıkları çalışmada 277' si (%46,1) *Van A* geni içerdiği; bunların 223'ünün (%80,5) *E. faecium*, 41'inin (%14,8) *E. faecalis* ve sınırlı sayıda *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. gallinarum* olduğu tanımlanmıştır. İki *Van A* geni içeren köken ise tür düzeyinde tanımlanamamıştır. Bununla birlikte *Van B* geni içeren enterokok tespit edilmemiştir.

Enterokoklar, bazı antimikrobilyallere karşı intrensek veya kazanılmış dirence sahiptir. Düşük düzeydeki aminoglikozid direnci, hücre duvarının geçirgenliğinin azalmasına bağlıdır; yüksek düzeyli direnç ise, ribozomal veya inaktive edici enzimler aracılığı ile olmaktadır. YDAD varlığında beta laktam-aminoglikozid kombinasyonunun sinerjistik bakterisidal etkisi ortadan kalkmaktadır. YDAD'li enterokoklar diğer antibiyotiklere de dirençli olabileceği için önemlidir. Çalışmamızda YDGD oranı %40, YDSD oranı %63 olarak tespit edilmiş olup YDSD ve YDGD bakımından türler arasında farklılık bulunmamıştır. Ülkemizden yapılan bildirimlerde ise YDSD'nin %18-54, YDGD'nin %9-65 arasında değiştiği gözlenmektedir (125, 158-160). Şirin ve ark. (129)'nin 100 *Enterococcus* kökeninde yaptıkları çalışmada yüksek düzey gentamisinine %23, yüksek düzey streptomisine %16 oranında direnç olduğu tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. (118) yaptıkları çalışmada yüksek düzey streptomisin ve gentamisin direnç oranlarını sırasıyla %19,8

ve %9,9 olarak saptamıştır. Ak ve ark. (122)'nin yaptıkları çalışmada YDAD, *E. faecalis* kökenlerinin %54,5'inde ve *E. faecium* kökenlerinin %36,3'ünde bulunmuştur. Bu YDAD'ye sahip kökenlerin de sıklıkla (*E. faecalis*'te %39,7 ve *E. faecium*'da %9,1) kanamisin direnci gösterdiği bildirilmiştir. Kaçmaz ve ark. (125) 264 klinik enterokok kökeni arasında YDAD'yi hem standart agar tarama hem de disk difüzyon yöntemleri ile belirlemişler ve YDAD direncini gentamisin için *E. faecalis*'in %16'sında ve *E. faecium*'un %88'inde, streptomisin için *E. faecalis*'in %35'inde ve *E. faecium*'un %44'ünde bulmuşlardır. Enterokok kökenlerinde aminoglikozid direnç oranlarını belirlemek için kullanılan iki yöntem arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

“Avrupa Vankomisine Dirençli Enterokok Çalışma” grubunun yaptığı çalışmada Türkiye'de YDAD'nin %48,1 oranında görüldüğü bildirilmiştir (29). Yurtdışında ise Moaddab ve ark. (123) 198 enterokok kökeni ile yaptıkları çalışmada 28 (%14) kökende YDSD, 26 (%13) kökende YDGD tespit etmişlerdir. Bunların 12 (%6) tanesinde her iki aminoglikozide karşı YDD bulunmuştur. Kozusko ve ark. (161) yaptıkları çalışmada 6137 *Enterococcus* spp. kökeni arasında 1124 (%18,3) kökende YDAD fenotipi tespit etmiştir. Bunların %53,1'i *E. faecalis* ve %46,9'u *E. faecium* olarak tanımlanmıştır. *E. faecalis*'te YDAD ve YDSD fenotipi sırasıyla %45,7 ve %27,5, *E. faecium*'da bu oran %29,8 ve %9,5 olarak saptanmıştır. YDGD fenotipi *E. faecium*'da *E. faecalis*'e göre 2 kat daha fazla görülmüştür. Akhter ve ark. (130) yaptıkları çalışmada kökenlerin %30'unda YDAD olduğunu bulmuştur. Shaked ve ark. (162) 117 enterokok kökeni ile yaptıkları çalışmada %43 oranında, Feizabadi ve ark. (163) 59 köken ile yaptıkları çalışmada %52 oranında YDGD tespit etmişlerdir. Miroviç ve ark. (124) yaptıkları çalışmada 109 *E. faecalis* kökeni arasında YDGD, YDSD ve her iki ajana karşı direnci sırasıyla %52,3, %50,4 ve %43,7, 48 *E. faecium* kökeni arasında sırasıyla %68,7, %75 ve %62,5 olarak saptamışlardır. Protonotariou ve ark. (117) *E. faecalis* için yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direncini sırasıyla %45,6, %48,9, *E. faecium* için sırasıyla %51,2, %69,1 olarak bulmuştur. Diğer çalışmalardan daha düşük olarak Miranda ve ark. (133) yaptıkları çalışmada 289 enterokok kökeninin %5'inde YDGD saptamıştır. Campo ve ark. (164) farklı klinik örneklerden izole edilen 690 enterokok kökeninde aminoglikozid direncini değerlendirmiş ve klinik örneklerden (kan, idrar veya

eksuda) elde edilen enterokoklar, fekal örneklerden (sırasıyla %49 ve %23) izole edilenlere göre daha fazla yüksek düzey gentamisin ve streptomisin (sırasıyla %65 ve %42) direnci göstermiştir. Barisic ve ark. (165) Hırvatistan'da 235 enterokok kökeninde YDGD oranını *E. faecalis*'te %37 ve *E. faecium*'da %75 olarak bildirmiştir. D'azevedo ve ark. (128) yaptıkları çalışmada %37,8 YDAD, %24,8 YDGD bulmuştur.

Hücre duvarı sentezini inhibe eden bir antibiyotiğe aminoglikozid grubu antibiyotik ilave edilmesi, her iki ilacın da etkisini artırıcı rol oynamaktadır. Ancak plazmid ve transpozonlar aracılığı ile kazanılmış genler sonucu, aminoglikozidleri modifiye edici enzimlerin salınması YDAD'ye yol açmakta ve bu durumda kombinasyon tedavisi sinerjistik etkisini kaybetmektedir (5, 6). Enterokoklarda en yaygın aminoglikozidleri modifiye eden enzim, *aac(6')-aph(2'')* geni tarafından kodlanan, birbirine kaynaşmış iki enzimden oluşan APH(2'')-AAC(6') enzimidir ve streptomisin dışındaki tüm aminoglikozidlere dirençten sorumludur. YDSD'den de esas olarak aminoglikozid modifiye edici enzimler sorumlu tutulmaktadır (5-7). Enterokoklarda bugüne kadar bulunan aminoglikozid modifiye edici enzimleri kodlayan aminoglikozid direnç genleri *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *aph(2'')-Ib*, *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*, *aph(3')-IIIa*, *aac(6')-Ii*, *ant(3'')-Ia*, *ant(4')-Ia*, *ant(6')-Ia*'dır. Bunlardan klinik olarak en sık görülen bifonksiyonel *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* enzimini kodlayan *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* genidir.

Çalışmamızda 58 (%58) kökende *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* geni saptanmıştır. Hiçbir kökende *aph(2'')-Ib*, *aph(2'')-Ic* ve *aph(2'')-Id* genleri saptanmamıştır. Feizabadi ve ark. (163)'nin yaptıkları çalışmada 114 enterokok kökeninin 59 tanesinde PZR ile *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* geni, 2 *E. faecium* kökeninde *aph(2'')-Ic* geni olduğu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamıza benzer olarak hiçbirinde *aph(2'')-Ib* ve *aph(2'')-Id* geni saptanmamıştır. 2008 yılında Danimarka'da Aalborg, Odense ve Hillerød bölgelerindeki 15 Klinik Mikrobiyoloji bölümündeki bakteriyemili hastalardan izole edilen 101 *E. faecium* ve 164 *E. faecalis* kökeni ile yapılan çalışmada *E. faecalis* kökenlerinin %32'sinde, *E. faecium* kökenlerinin %59,4'ünde YDGD tespit edilmiştir. PZR ile *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* geni açısından tüm 52 YDGD'ye sahip *E. faecalis* kökeni ve 60 YDGD *E. faecium* kökeninin 48

tanesi pozitif olarak bulunmuştur. YDGD'ye sahip *E. faecium* kökenlerinin 12 tanesi ise *aph(2'')-Ib* geni açısından pozitif olarak tespit edilmiştir (166). Japonya'da bir üniversite hastanesinde elde edilen 279 enterokok kökeni ile yapılan çalışmada *aac(6')-1e-aph(2'')-Ib* geni *E. faecium*'lara (% 4,3) göre *E. faecalis* (% 42,5) suşlarında daha fazla olduğu bulunmuştur. *Aph (2'')-Ic* geni ise hiçbir enterokok kökeninde tespit edilmemiştir (167). Tsai ve ark. (168) 118 enterokok kökeni ile yaptıkları çalışmada 108 yüksek düzey gentamisin dirençli kökenin 17 tanesini *aph(2'')-Id* geni açısından PZR ile pozitif olarak bulmuşlardır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus* spp. türlerinde vankomisin ve YDAD'nin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır.

MKÜ Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2008-Ağustos 2011 tarihleri arasında izole edilen 100 *Enterococcus* spp. kökeni çalışmaya dahil edilmiş olup kökenlerin %52'sinin idrar, %30'unun yara, %14'ünün kan, %2'sinin abse, %2'sinin periton sıvısı örneklerinden izole edildiği tespit edilmiştir. İzole edilen *Enterococcus* kökenlerinin %58'inin *E. faecalis*, %38'inin *E. faecium*, %3'ünün *E. avium*, %1'inin *E. gallinorum* olduğu saptanmıştır.

Beta laktamaz üretimi nitrosetin diskleri (Becton Dickinson, ABD) ile araştırılmıştır. Çalışmamızda kökenlerin beta laktamaz üretmediği saptanmıştır. Ülkemizde ve diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda da beta laktamaz üretimi enterokoklarda %0-60 arasındadır.

Klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus* spp. kökenlerinin antibiyotik duyarlılıkları Vitek 2 otomatize sistemi (BioMerieux, Fransa) ile belirlenmiştir. Çalışmamızdaki kökenlerin en duyarlı olduğu antibiyotiklerin sırasıyla teikoplanin (%94), linezolid (%91), vankomisin (%90), ampisilin (%70), penisilin (%70) ve nitrofurantoin (%65) olduğu tespit edilmiş olup bu oran ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla benzer düzeydedir. *E. faecium* kökenleri nitrofurantoin, ampisilin ve penisiline diğer kökenlerden daha dirençli ($p<0,001$), tetrasikline ise diğer kökenlerden daha duyarlı ($p<0,001$) bulunmuştur. Otomatize sistem ile sekiz tane *E. faecium*, iki tane *E. faecalis* olmak üzere on köken vankomisine dirençli bulunmuştur. Otomatize sistem ile vankomisine karşı kökenlerdeki MİK aralığı $\leq 0,5-$

≥ 32 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur. Bu yöntemde vankomisine karşı elde edilen MİK_{50} değeri 1, MİK_{90} değeri ise 4 olarak bulunmuş olup bu değerlerin duyarlılık sınırları içinde kaldığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda kökenlerin vankomisin duyarlılıkları ayrıca E-test yöntemiyle araştırılmıştır. E-test yöntemi ile vankomisine karşı kökenlerdeki MİK aralığı 0,5- 256 $\mu\text{g/ml}$ bulunmuştur. Bu yöntemde vankomisine karşı elde edilen MİK_{50} değeri 1,5, MİK_{90} değeri ise 3 olarak bulunmuş olup bu değerlerin duyarlılık sınırları içinde kaldığı tespit edilmiştir. E-test yöntemiyle beş *E. faecium* kökeninde vankomisin direnci saptanmıştır. Otomatize sistem ile on kökende vankomisin direnci tespit edilirken E-test yöntemiyle bunların beşinde direnç saptanması, vankomisin direnci bulunan kökenlerin E-test yöntemiyle doğrulanması gerektiğini ortaya koymuştur.

PZR yöntemiyle kökenler *Van A*, *Van B*, *Van C* geni açısından değerlendirilmiştir. *Van A* geni içeren 5 (%5) köken tespit edilmiş olup *Van B* ve *Van C* geni içeren köken tespit edilmemiştir. *Van A* geni içeren kökenlerin hepsinin *E. faecium* olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda kökenlerin yüksek düzey aminoglikozid dirençleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak 120 μg gentamisin ve 300 μg streptomisin diskleriyle incelenmiştir. YDGD kökenlerin %40'ında, YDSD ise kökenlerin %63'ünde saptanmıştır. YDS ve YDG direnci bakımından türler arasında farklılık bulunmamıştır. YDGD genleri PZR yöntemiyle incelenmiştir. Kökenlerin 58 (%58)'inde diğer çalışmalarda en fazla saptanan *aac(6')-1e-aph(2'')-1a* geni tespit edilirken hiçbir kökenin *aph(2'')-1b*, *aph(2'')-1c* ve *aph(2'')-1d* genlerini taşımadığı bulunmuştur. *Aac(6')-1e-aph(2'')-1a* geni içeren kökenlerde YDSD ve YDGD daha fazla oranda bulunmuştur ($p < 0,001$).

Son yıllarda artan sıklıkta infeksiyonlara neden olan enterokok kökenlerinin ortaya çıkışı infeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotikleri önemli ölçüde kısıtlamıştır. Enterokok türleri glikopeptidlere de direnç geliştirmeleri nedeniyle önemli nozokomiyal patojenler arasına girmiştir. Yine de glikopeptidler, enterokoklara karşı en etkili ajanlardır. Ancak gereksiz kullanılmaları glikopeptid

dirençli enterokok sıklığının artmasına ve tedavide çıkmaza yol açacaktır. Enterokok infeksiyonlarının tedavisinde karşılaşılan diğer problem YDAD'dir. YDAD'li enterokoklarda beta laktam-aminoglikozid kombinasyonunun sinerjistik bakterisidal etkisi ortadan kalktığı için tedavi seçenekleri kısıtlanmaktadır. Bu kökenlerde diğer antibiyotiklere de direnç daha fazla görülür.

Bu sebeplerle enterokokların doğru tanımlanması, antimikrobiyallere direnç durumlarının zamanında belirlenmesi, her zamankinden farklı bir direnç durumunun ve direnç mekanizmalarının ortaya konulması önemlidir.

7. KAYNAKLAR

1. DeLisle S, Perl T. Vancomycin-resistant enterococci: a road map on how to prevent the emergence and transmission of antimicrobial resistance. *Chest*. 2003 May;123(5 Suppl):504-18.
2. Mundy L, Sahm D, Gilmore M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2000 Oct;13(4):513-22.
3. Sood S, Malhotra M, Das B, Kapil A. Enterococcal infections & antimicrobial resistance. *Indian J Med Res*. 2008 Aug;128(2):111-21.
4. Lefort A, Mainardi J, Tod M, Lortholary O. Antienterococcal antibiotics. *Med Clin North Am*. 2000 Nov;84(6):1471-95.
5. Shepard B, Gilmore M. Antibiotic resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. *Microbes Infect*. 2002 Feb;4(2):215-24.
6. Patterson J. New Gram-positive agents in nosocomial infection. *Curr Opin Infect Dis*. 2000 Dec;13(6):593-8.
7. Çetinkaya Y. Vankomisin dirençli enterokoklar: Epidemiyoloji ve Kontrol. *Flora*. 2000;5:24-33.
8. Meriç M, Rüzgar M, Gündeş S, Willke A. Hastanede yatan hastalardan izole edilen enterokok türleri ve antibiyotiklere direnç durumu. *ANKEM Derg* 2004;18(3):141-4.
9. Uttley A, Collins C, Naidoo J, George R. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet*. 1988 Jan;1(8575-6):57-8.

10. Boyd D, Willey B, Fawcett D, Gillani N, Mulvey M. Molecular characterization of *Enterococcus faecalis* N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, vanL. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Jul;52(7):2667-72.
11. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology.* 2009 Jun;155(Pt 6):1749-57.
12. Akan Ö. Enterokok türlerinin mikrobiyolojisi. In: Ünal S, Vahapoğlu H, editors. *Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004. p. 5-9.
13. Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int J Food Microbiol.* 2003 Dec;88(2-3):123-31.
14. Akan O. "Klinik Mikrobiyoloji" kitabında *Enterococcus*, 9. Baskı. In: Murray P, Baron E, Jorgensen J, Landry M, Pfaller M, editors. *Manual of Clinical Microbiology Çeviri Editörü: Başustaoğlu A*. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2009. p. 430-42.
15. Hsueh P, Teng L, Chen Y, Yang P, Ho S, Luh K. Recurrent bacteremic peritonitis caused by *Enterococcus cecorum* in a patient with liver cirrhosis. *J Clin Microbiol.* 2000 Jun;38(6):2450-2.
16. Tyrrell G, Turnbull L, Teixeira L, Lefebvre J, Carvalho MG, Facklam R, et al. *Enterococcus gilvus* sp. nov. and *Enterococcus pallens* sp. nov. isolated from human clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 2002 Apr;40(4):1140-5.
17. Söyletir G, Çerikçioğlu N. Streptokok İnfeksiyonları. In: Willke T, Doganay M, editors. *İnfeksiyon Hastalıkları*. 2nd ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Sti; 2002. p. 1497-508.
18. Van den Berghe E, De Winter T, De Vuyst L. Enterocin A production by *Enterococcus faecium* FAIR-E 406 is characterised by a temperature- and pH-dependent switch-off mechanism when growth is limited due to nutrient depletion. *Int J Food Microbiol.* 2006 Mar;107(2):159-70.

19. Domig K, Mayer H, Kneifel W. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 2. Pheno- and genotypic criteria. *Int J Food Microbiol.* 2003 Dec;88(2-3):165-88.
20. Foulquié Moreno M, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol.* 2006 Jan;106(1):1-24.
21. Nakajo K, Komori R, Ishikawa S, Ueno T, Suzuki Y, Iwami Y, et al. Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. *Oral Microbiol Immunol.* 2006 Oct;21(5):283-8.
22. Hijazi N, Elmanama A, Al-Hindi A. Vancomycin resistant enterococci in fecal samples from hospitalized patients and non hospitalized individuals in Gaza City. *J Public Health* 2009;17:243-9.
23. Mutnick A, Biedenbach D, Jones R. Geographic variations and trends in antimicrobial resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2000). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003 May;46(1):63-8.
24. Çelik Ü, Alhan E. Pediatrik Enfeksiyonlarda Zorlu Patojen: Enterokoklar. *J Pediatr Inf* 2008 Jun;2:58-66.
25. Çelebi S, Hacımustafaoğlu M, Demiral M, Sınırtaş M, Demirtaş F, İpek K, et al. Çocuklarda Enterokokkal Enfeksiyonlar: Sekiz Yıllık Çalışma Sonuçları. *J Pediatr Inf* 2010 Jul;4:148-51.
26. Hällgren A, Claesson C, Saeedi B, Monstein H, Hanberger H, Nilsson L. Molecular detection of aggregation substance, enterococcal surface protein, and cytolysin genes and in vitro adhesion to urinary catheters of *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* of clinical origin. *Int J Med Microbiol.* 2009 Jun;299(5):323-32.
27. Shankar V, Baghdayan A, Huycke M, Lindahl G, Gilmore M. Infection-derived *Enterococcus faecalis* strains are enriched in *esp*, a gene encoding a novel surface protein. *Infect Immun.* 1999 Jan;67(1):193-200.
28. Latasa C, Solano C, Penadés J, Lasa I. Biofilm-associated proteins. *C R Biol.* 2006 Nov;329(11):849-57.

29. Schouten M, Hoogkamp-Korstanje J, Meis J, Voss A, Group. EVS. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000 Nov;19(11):816-22.
30. Yıldırım M. Enterokoklar ve Enterokoklarla Gelisen İnfeksiyonlar. *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2007;2:46-52.
31. Bacterial meningitis in Canada: hospitalizations (1994-2001). *Can Commun Dis Rep*. 2005 Dec;31(23):241-7.
32. Duygu F, Balcı P, Solmaz M, Uçar N. Meningitis associated with Vancomycin resistant *Enterococcus casseliflavus*: First report. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*. 2011;1(3):138-40.
33. Van de Beek D, De Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma J, Vermeulen M. Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med*. 2004 Oct;351(18):1849-59.
34. Pintado V, Cabellos C, Moreno S, Meseguer M, Ayats J, Viladrich P. Enterococcal meningitis: a clinical study of 39 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2003 Sep;82(5):346-64.
35. Butler K. Enterococcal infection in children. *Semin Pediatr Infect Dis*. 2006 Jul;17(3):128-39.
36. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall C. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13(4):686-707.
37. Zirakzadeh A, Patel R. Vancomycin-resistant enterococci: colonization, infection, detection, and treatment. *Mayo Clin Proc*. 2006 Apr;81(4):529-36.
38. Chow J. Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clin Infect Dis*. 2000 Aug;31(2):586-9.
39. Çelebi S. Vankomisin Dirençli Enterokoklar (VRE) ve Tedavisi. *Güncel Pediatri Dergisi*. 2008;6(1):182-6.

40. Arias C, Murray B. Emergence and management of drug-resistant enterococcal infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2008 Oct;6(5):637-55.
41. Kaplan A, Gilligan P, Facklam R. Recovery of resistant enterococci during vancomycin prophylaxis. *J Clin Microbiol*. 1988 Jun;26(6):1216-8.
42. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med*. 1988 Jul;319(3):157-61.
43. Murray B. Vancomycin-resistant enterococci. *Am J Med*. 1997 Mar;102(3):284-93.
44. Hayden M, Trenholme G, Schultz J, Sahm D. In vivo development of teicoplanin resistance in a VanB *Enterococcus faecium* isolate. *J Infect Dis*. 1993 May;167(5):1224-7.
45. Gavaldá J, Onrubia P, Gómez M, Gomis X, Ramírez J, Len O, et al. Efficacy of ampicillin combined with ceftriaxone and gentamicin in the treatment of experimental endocarditis due to *Enterococcus faecalis* with no high-level resistance to aminoglycosides. *J Antimicrob Chemother*. 2003 Sep;52(3):514-7.
46. Levine D, Holley H, Eiseman I, Willcox P, Tack K. Clinafloxacin for the treatment of bacterial endocarditis. *Clin Infect Dis*. 2004 Mar;38(5):620-31.
47. Hollenbeck B, Rice L. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence*. 2012 Aug;3(5):421-33.
48. Arias C, Contreras G, Murray B. Management of multidrug-resistant enterococcal infections. *Clin Microbiol Infect* 2010 Mar.
49. Rybak M, Hershberger E, Moldovan T, Grucz R. In vitro activities of daptomycin, vancomycin, linezolid, and quinupristin-dalfopristin against *Staphylococci* and *Enterococci*, including vancomycin- intermediate and -resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 Apr;44(4):1062-6.

50. Pankey G, Ashcraft D, Patel N. In vitro synergy of daptomycin plus rifampin against *Enterococcus faecium* resistant to both linezolid and vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Dec;49(12):5166-8.
51. Poutsiaika D, Skiffington S, Miller K, Hadley S, Snyderman D. Daptomycin in the treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in neutropenic patients. *J Infect* 2007 Jun;54(6):567-71.
52. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. Wayne, PA: CLSI Document M100-S23; 2013.
53. Figueroa D, Mangini E, Amodio-Groton M, Vardianos B, Melchert A, Fana C, et al. Safety of high-dose intravenous daptomycin treatment: three-year cumulative experience in a clinical program. *Clin Infect Dis*. 2009 Jul;49(2):177-80.
54. Soysal A. Enterokoklar. *J Pediatr Inf*. 2007;1(1):39-42.
55. Mascini E, Bonten M. Vancomycin-resistant enterococci: consequences for therapy and infection control. *Clin Microbiol Infect*. 2005 Jul;4:43-56.
56. Patti G, Kim S, Yu T, Dietrich E, Tanaka K, Parr TR J, et al. Vancomycin and oritavancin have different modes of action in *Enterococcus faecium*. *J Mol Biol*. 2009 Oct;392(5):1178-91.
57. Cooper R, Snyder N, Zweifel M, Staszak M, Wilkie S, Nicas T, et al. Reductive alkylation of glycopeptide antibiotics: synthesis and antibacterial activity. *J Antibiot (Tokyo)*. 1996 Jun;49(6):575-81.
58. Lefort A, Saleh-Mghir A, Garry L, Carbon C, Fantin B. Activity of LY333328 combined with gentamicin in vitro and in rabbit experimental endocarditis due to vancomycin-susceptible or -resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 Nov;44(11):3017-21.
59. Shortridge V, Zhong P, Cao Z, Beyer J, Almer L, Ramer N, et al. Comparison of in vitro activities of ABT-773 and telithromycin against macrolide-susceptible and -resistant streptococci and staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002 Mar;46(3):783-6.

60. Reinert R. Clinical efficacy of ketolides in the treatment of respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother.* 2004 Jun;53(6):918-27.
61. Lonks J, Goldmann D. Telithromycin: a ketolide antibiotic for treatment of respiratory tract infections. *Clin Infect Dis.* 2005 Jun;40(11):1657-64.
62. Birmingham M, Rayner C, Meagher A, Flavin S, Batts D, Schentag J. Linezolid for the treatment of multidrug-resistant, gram-positive infections: experience from a compassionate-use program. *Clin Infect Dis.* 2003 Jan;36(2):159-68.
63. Curcio D. Tigecycline for severe infections: the gap between the warning and the necessity. *J Antimicrob Chemother.* 2011 Feb;66(2):454-6.
64. Florescu I, Beuran M, Dimov R, al. e. Efficacy and safety of tigecycline compared with vancomycin or linezolid for treatment of serious infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* or vancomycin-resistant enterococci: a phase 3, multicentre, double-blind, randomized study. *J Antimicrob Chemother.* 2008 62(suppl 1):17-28.
65. Gardiner D, Dukart G, Cooper A, Babinchak T. Safety and efficacy of intravenous tigecycline in subjects with secondary bacteremia: pooled results from 8 phase III clinical trials. *Clin Infect Dis.* 2010 Jan;50(2):229-38.
66. Chawla P, Kochar M. What's new in clinical pharmacology and therapeutics. *WMJ.* 2006 May;105(3):24-9.
67. Falagas M, Giannopoulou K, Kokolakis G, Rafailidis P. Fosfomycin: use beyond urinary tract and gastrointestinal infections. *Clin Infect Dis.* 2008 Apr;46(7):1069-77.
68. Falagas M, Michalopoulos A. Polymyxins: old antibiotics are back. *Lancet.* 2006 Feb;367(9511):633-4.

69. Okazaki M, Suzuki K, Asano N. Effectiveness of fosfomycin combined with other antimicrobial agents against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates using the efficacy time index assay. *J Infect Chemother.* 2002;8(1):37-42.
70. Kohanski M, Dwyer D, Hayete B, Lawrence C, Collins J. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell.* 2007 Sep;130(5):797-810.
71. Sifaoui F, Arthur M, Rice L, Gutmann L. Role of penicillin-binding protein 5 in expression of ampicillin resistance and peptidoglycan structure in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 Sep;45(9):2594-7.
72. Klare I, Konstabel C, Badstübner D, Werner G, Witte W. Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. *Int J Food Microbiol.* 2003 Dec;88(2-3):269-90.
73. Marothi Y, Agnihotri H, Dubey D. Enterococcal resistance--an overview. *Indian J Med Microbiol.* 2005 Oct;23(4):214-9.
74. Murray B, Mederski-Samaroj B. Transferable beta-lactamase. A new mechanism for in vitro penicillin resistance in *Streptococcus faecalis*. *J Clin Invest.* 1983 Sep;72(3):1168-71.
75. Zapun A, Contreras-Martel C, Vernet T. Penicillin-binding proteins and beta-lactam resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 2008 Mar;32(2):361-85.
76. Erbek S, Özakın C, Gedikoğlu S. Enterokok Suşlarında Saptanan Yüksek Düzeyli Aminoglikozid ve Glikopeptid Direnci. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi.* 2002;6:142-9.
77. Mahbub A, Kobayashi N, Ishino M, Sumi A, Kobayashi K, Uehara N, et al. Detection of a novel aph(2") allele (aph[2"]-Ie) conferring high-level gentamicin resistance and a spectinomycin resistance gene ant(9)-Ia (aad 9) in clinical isolates of enterococci. *Microb Drug Resist.* 2005 11(3):239-47.
78. Suppola J, Kolho E, Salmenlinna S, Tarkka E, Vuopio-Varkila J, Vaara M. vanA and vanB incorporate into an endemic ampicillin-resistant vancomycin-sensitive *Enterococcus faecium* strain: effect on interpretation of clonality. *J Clin Microbiol.* 1999;37:3934-9.

79. Wolter N, Smith A, Farrell D, Schaffner W, Moore M, Whitney C, et al. Novel Mechanism of Resistance to Oxazolidinones, Macrolides, and Chloramphenicol in Ribosomal Protein L4 of the Pneumococcus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2005;4:3554-7.
80. Meka V, Gold H. Antimicrobial resistance to linezolid. *Clin Infect Dis*. 2004 Oct;39(7):1010-5.
81. Çöleri A, Çökmüş C. Enterokok türlerinde glikopeptid grubu antibiyotiklere direncin moleküler mekanizmaları ve gen aktarım yolları. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 2008;65(2):87-96.
82. Vural T, Şekercioğlu A, Ögünç D. Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *ANKEM Derg*. 1999;13(1):1-4.
83. Taşbakan M. Vankomisine Dirençli Enterokok Olguları. *ANKEM Derg*. 2010;24(Ek 2):82-4.
84. Hanrahan J, Høyen C, Rice L. Geographic distribution of a large mobile element that transfers ampicillin and vancomycin resistance between *Enterococcus faecium* strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 May;44(5):1349-51.
85. Garnier F, Taourit S, Glaser P, Courvalin P, Galimand M. Characterization of transposon Tn1549, conferring VanB-type resistance in *Enterococcus* spp. *Microbiology*. 2000 Jun;146(Pt 6):1481-9.
86. Reynolds P, Courvalin P. Vancomycin resistance in enterococci due to synthesis of precursors terminating in D-alanyl-D-serine. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Jan;49(1):21-5.
87. Son R, Nimita F, Rusul G, Nasreldin E, Samuel L, Nishibuchi M. Isolation and molecular characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Malaysia. *Lett Appl Microbiol*. 1999 Aug;29(2):118-22.
88. Guardabassi L, Dalsgaard A. Occurrence, structure, and mobility of Tn1546-like elements in environmental isolates of vancomycin-resistant enterococci. *Appl Environ Microbiol*. 2004 Feb;70(2):984-90.

89. Guardabassi L, Christensen H, Hasman H, Dalsgaard A. Members of the genera *Paenibacillus* and *Rhodococcus* harbor genes homologous to enterococcal glycopeptide resistance genes *vanA* and *vanB*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:4915-8.
90. Palmer K, Kos V, Gilmore M. Horizontal gene transfer and the genomics of enterococcal antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol.* 2010 Oct;13(5):632-9.
91. Hegstad K, Mikalsen T, Coque T, Werner G, Sundsfjord A. Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Clin microbiol infect.* 2010;16:541-54.
92. Lebreton F, Depardieu F, Bourdon N, Fines-Guyon M, Berger P, Camiade S, et al. D-Ala-d-Ser VanN-type transferable vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Oct;55(10):4606-12.
93. Xu X, Lin D, Yan G, Ye X, Wu S, Guo Y, et al. *vanM*, a new glycopeptide resistance gene cluster found in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Nov;54(11):4643-7.
94. Tsvetkova K, Marvaud J, Lambert T. Analysis of the mobilization functions of the vancomycin resistance transposon Tn1549, a member of a new family of conjugative elements. *J Bacteriol.* 2010 Feb;192(3):702-13.
95. Clark N, Teixeira L, Facklam R, Tenover F. Detection and differentiation of *vanC-1*, *vanC-2*, and *vanC-3* glycopeptide resistance genes in enterococci. *J Clin Microbiol.* 1998 Aug;36(8):2294-7.
96. Perichon B, Reynolds P, Courvalin P. VanD-type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997 Sep;41(9):2016-8.
97. Perichon B, Casadewall B, Reynolds P, Courvalin P. Glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4416 is a VanD-type strain with an impaired D-Alanine:D-Alanine ligase. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 May;44(5):1346-8.

98. Murray B. Vancomycin-resistant enterococcal infections. *N Engl J Med*. 2000 Mar;342(10):710-21.
99. Kirkpatrick B, Harrington S, Smith D, Marcellus D, Miller C, Dick J, et al. An outbreak of vancomycin-dependent *Enterococcus faecium* in a bone marrow transplant unit. *Clin Infect Dis*. 1999 Nov;29(5):1268-73.
100. Van Bambeke F, Chauvel M, Reynolds P, Fraimow H, Courvalin P. Vancomycin-dependent *Enterococcus faecalis* clinical isolates and revertant mutants. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999 Jan;43(1):41-7.
101. Sung J, Lindsay J. *Staphylococcus aureus* strains that are hypersusceptible to resistance gene transfer from enterococci. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Jun;51(6):2189-91.
102. Kohanski M, Dwyer D, Collins J. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol*. 2010 Jun;8(6):423-35.
103. Alp Ş, Çetinkaya Şardan Y. Vankomisine dirençli enterokokların epidemiyolojisi ve kontrolü. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2008;39:89-95.
104. Slaughter S, Hayden M, Nathan C, Hu T, Rice T, Van Voorhis J, et al. A comparison of the effect of universal use of gloves and gowns with that of glove use alone on acquisition of vancomycin-resistant enterococci in a medical intensive care unit. *Ann Intern Med*. 1996 Sep;125(6):448-56.
105. Rice L, Hutton-Thomas R, Lakticova V, Helfand M, Donskey C. Beta-lactam antibiotics and gastrointestinal colonization with vancomycin-resistant enterococci. *J Infect Dis*. 2004 Mar;189(6):1113-8.
106. HICPAC. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1995 Feb;16(2):105-13.
107. Fines M, Perichon B, Reynolds P, Sahm D, Courvalin P. VanE, a new type of acquired glycopeptide resistance in *Enterococcus faecalis* BM4405. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999 Sep;43(9):2161-4.

108. Turabelidze D, Kotetishvili M, Kreger A, Morris JG J, Sulakvelidze A. Improved pulsed-field gel electrophoresis for typing vancomycin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol.* 2000 Nov;38(11):4242-5.
109. Boyce J, Opal S, Chow J, Zervos M, Potter-Bynoe G, Sherman C, et al. Outbreak of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with transferable vanB class vancomycin resistance. *J Clin Microbiol.* 1994 May;32(5):1148-53.
110. Handwerger S, Raucher B, Altarac D, Monka J, Marchione S, Singh K, et al. Nosocomial outbreak due to *Enterococcus faecium* highly resistant to vancomycin, penicillin, and gentamicin. *Clin Infect Dis.* 1993 Jun;16(6):750-5.
111. Aktaş Z, Diyarbakirli P, Bal C, Gürler N, Keser M, Somer A, et al. Investigation of phenotypic and genotypic characteristics of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates. *Mikrobiyol Bul.* 2007 Jul;41(3):347-56.
112. Qu T, Chen Y, Yu Y, Wei Z, Zhou Z, Li L. Genotypic diversity and epidemiology of high-level gentamicin resistant *Enterococcus* in a Chinese hospital. *J Infect.* 2006 Feb;52(2):124-30.
113. Ertek M, Yazgı H, Aktaş A, Erol S, Taşyaran M. Vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonu araştırılması ve diğer antimikrobiyallere duyarlılıkları. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection).* 2003;17(4):447-51.
114. Gültekin M, Günseren F. Gültekin M, Günseren F. Vankomisin dirençli enterokoklar. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi.* 2000;4:195-204.
115. Scagnelli M, Pellizer G, De Lalla F, D'Emilio A, Rassu M, Bragagnolo L, et al. Epidemiological analysis of vancomycin-resistant enterococci in a large tertiary-care hospital in Northern Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2001 Sep;20(9):609-16.
116. Torun M, Bahar H, Altinkum S, Yüksel P. Enterokoklarda Yüksek Düzey Aminoglikozid ve Vankomisin Direnci Araştırılması. *Ankem Derg.* 1999;13(2):105.
117. Protonotariou E, Dimitroulia E, Pournaras S, Pitiriga V, Sofianou D, Tsakris A. Trends in antimicrobial resistance of clinical isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in Greece between 2002 and 2007. *J Hosp Infect.* 2010 Jul;75(3):225-7.

118. Yildirim M, Sencan I, Ozdemir D, Oksüz S, Yilmaz Z, Sahin I. Vancomycin and high-level aminoglycoside resistant *Enterococcus* carriage and the risk factors related to resistance in hospitalized patients. *Mikrobiyol Bul.* 2007 Apr;41(2):271-7.
119. Yavuz M, Şahin İ, Öztürk E, Behçet M, Kaya D. Hastane kökenli üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *Enterococcus* türlerinin insidansı ve antibiyotik direnç profilleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2006;36(4):195-9.
120. Kaçmaz B, Aksoy A, Sirin M, Adiloğlu A. Antimicrobial resistance of enterococci in Turkey, *International Journal of Antimicrobial Agents*, Comparison of five antimicrobial susceptibility tests in detecting high level aminoglycoside and vancomycin resistances in hospital acquired *Enterococcus* isolates. *Clin Lab.* 2011;57(3-4):157-62.
121. Tatman-Otkun M, Gürçan S, Ozer B, Karagöl C, Turan P, Otkun M. Antibiotic resistance among enterococci isolated from clinical samples at Trakya University Hospital in the last two years. *Mikrobiyol Bul.* 2005 Jan;39(1):133-5.
122. Ak S, Köroğlu M, Ak M. The evaluation of antimicrobial susceptibility of urine enterococci with the Vitek 2 automated system in eastern Turkey. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2012 Jul;43(4):986-91.
123. Moaddab S, Rafi A. Prevalence of vancomycin and high level aminoglycoside resistant enterococci among high-risk patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2003 Dec;34(4):849-54.
124. Mirović V. Antibiotic resistance in hospital strains of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Vojnosanit Pregl.* 2002 Sep-Oct;59(5):499-506.
125. Kaçmaz B, Aksoy A. Antimicrobial resistance of enterococci in Turkey. *Int J Antimicrob Agents.* 2005 Jun;25(6):535-8.
126. Comert F, Kulah C, Aktas E, Ozlu N, Celebi G. First isolation of vancomycin-resistant enterococci and spread of a single clone in a university hospital in northwestern Turkey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007 Jan;26(1):57-61.

127. Zouain M, Araj G. Antimicrobial resistance of Enterococci in Lebanon. *Int J Antimicrob Agents*. 2001 Mar;17(3):209-13.
128. d'Azevedo P, Dias C, Teixeira L. Genetic diversity and antimicrobial resistance of enterococcal isolates from Southern region of Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2006 Jan-Feb;48(1):11-6.
129. Sirin M, Adiloğlu A. Comparison of five antimicrobial susceptibility tests in detecting high level aminoglycoside and vancomycin resistances in hospital acquired Enterococcus isolates. *Clin Lab*. 2011;57(3-4):157-62.
130. Akhter S, Asna Z, Rahman M. Prevalence and antimicrobial susceptibility of enterococcus species isolated from clinical specimens. *Mymensingh Med J*. 2011 Oct;20(4):694-9.
131. Kiliç A, Bedir O, Tunç T, Beşirbellioğlu B, Eyigün C, Başustaoğlu A. An outbreak of vanA genotype Enterococcus faecium in pediatric clinic of a training hospital. *Mikrobiyol Bul*. 2009 Jul;43(3):365-72.
132. Kirdar S, Sener A, Arslan U, Yurtsever S. Molecular epidemiology of vancomycin-resistant Enterococcus faecium strains isolated from haematological malignancy patients in a research hospital in Turkey. *Journal of Medical Microbiology*. 2010;59:660-4.
133. Miranda G, Lee L, Kelly C, Solórzano F, Leños B, Muñoz O, et al. Antimicrobial Resistance from Enterococci in a Pediatric Hospital. Plasmids in Enterococcus faecalis Isolates with High-Level Gentamicin and Streptomycin Resistance. *Archives of Medical Research*. 2001;32:159–63.
134. Gonzales R, Schreckenberger P, Graham M, Kelkar S, DenBesten K, Quinn J. Infections due to vancomycin-resistant Enterococcus faecium resistant to linezolid. *Lancet*. 2001 Apr;357(9263):1179.
135. Jones R, Ross J, Fritsche T, Sader H. Oxazolidinone susceptibility patterns in 2004: report from the Zyvox Annual Appraisal of Potency and Spectrum (ZAAPS) Program assessing isolates from 16 nations. *J Antimicrob Chemother*. 2006 Feb;57(2):279-87.

136. Babcock H, Ritchie D, Christiansen E, Starlin R, Little R, Stanley S. Successful treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus* endocarditis with oral linezolid. *Clin Infect Dis*. 2001 May;32(9):1373-5.
137. Basustaoglu A, Aydogan H, Beyan C, Yalcin A, Unal S. First glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* isolate from blood culture in Ankara, Turkey. *Emerg Infect Dis*. 2001 Jan;7(1):160-1.
138. Colak D, Naas T, Gunseren F, Fortineau N, Ogunc D, Gultekin M, et al. First outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a tertiary hospital in Turkey. *J Antimicrob Chemother*. 2002 Sep;50(3):397-401.
139. Coleri A, Cokmus C, Ozcan B, Akcelik M, Tukul C. Determination of antibiotic resistance and resistance plasmids of clinical *Enterococcus* species. *J Gen Appl Microbiol*. 2004 Aug;50(4):213-9.
140. Yenişehirli G, Bulut Y. Antibiotic resistance of *Enterococci* isolated from an intensive care unit. *Türkiye Klinikleri, J Med Sci*. 2006;26:477-82.
141. Gökahmetoğlu S, Sümerkan B, Eşel D, Karagöz S. Kan Kültürlerinden İzole edilen *Enterokok* Suşlarının Vankomisin ve Yüksek Düzey Aminoglikozid Dirençlerinin Araştırılması 1999. *Ankem Derg*. 1999;13(1):57-62.
142. Karaca Y, Pullukçu H, Aydemir S, Tünger A, Özkan F, Özinel M. Antibiotic Susceptibility and Beta Lactamase Activity of *Enterococci* Isolates. *Clin Microbiol And Infect*. 2001;7(1):1-394.
143. Efe Iris N, Sayiner H, Yildirmak T, Simsek F, Arat M. Vancomycin-resistant *Enterococcus* carrier status in the reanimation units and related risk factors. *Am J Infect Control*. 2013 Mar;41(3):261-2.
144. Hallgren D, Hanberger H, Hossain A, Nilsson M, Svenson E, Nilsson L. Activity of Common and New Antimicrobial Agents Against *Enterococci* at Intensive Care Units in Sweden. *Clin Microbiol And Infect*. 2000;6(1):127.
145. Paberza R, Majore A, Luzbinska L, Hromova S. Invitro Resistance of Antibiotic Against Gram Positive Cocci in Latvia. *Clin Microbiol And Infect*. 2000;6(1):104.

146. Udo E, Al-Sweish N, John P, Jacob L, Chugh T. Antibiotic Resistance Patterns of Enterococci Isolated in Kuwait Hospitals. *Clin Microbiol And Infect.* 2001;7(1):1-394.
147. Pérez-Hernández X, Méndez-Alvarez S, Claverie-Martín F. A PCR assay for rapid detection of vancomycin-resistant enterococci. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002 Apr;42(4):273-7.
148. Moellering RJ. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis.* 1998 May;26(5):1196-9.
149. Descheemaeker P, Leven M, Chapelle S, Lammens C, Hauchecorne M, Wijdooghe M, et al. Prevalence and molecular epidemiology of glycopeptide-resistant enterococci in Belgian renal dialysis units. *J Infect Dis.* 2000 Jan;181(1):235-41.
150. Coşkun F, Mumcuoğlu I, Aksu N, Karahan Z, Us E, Tekeli F, et al. Phenotypic and genotypic traits of vancomycin-resistant enterococci in a public hospital: the first vanB-positive *Enterococcus faecium* isolates. *Mikrobiyol Bul.* 2012 Apr;46(2):276-82.
151. Altun B, Cengiz A, Kara A, Ceyhan M, Unal S, Seçmeer G, et al. First vancomycin-resistant blood isolate of *Enterococcus faecium* in a children's hospital and molecular analysis of the mechanism of resistance. *Turk J Pediatr.* 2008 Nov;50(6):554-8.
152. López M, Hormazábal J, Maldonado A, Saavedra G, Baquero F, Silva J, et al. Clonal dissemination of *Enterococcus faecalis* ST201 and *Enterococcus faecium* CC17-ST64 containing Tn5382-vanB2 among 16 hospitals in Chile. *Clin Microbiol Infect.* 2009 Jun;15(6):586-8.
153. McGregor K, Young H. Identification and characterization of vanB2 glycopeptide resistance elements in enterococci isolated in Scotland. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 Sep;44(9):2341-8.
154. Werner G, Coque T, Hammerum A, Hope R, Hryniewicz W, Johnson A, et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill.* 2008 Nov;13(47):19046.

155. Fang H, Nord C, Ullberg M. Screening for vancomycin-resistant enterococci: results of a survey in Stockholm. *APMIS*. 2010 May;118(5):413-7.
156. Johnson P, Ballard S, Grabsch E, Stinear T, Seemann T, Young H, et al. A sustained hospital outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia due to emergence of vanB *E. faecium* sequence type 203. *J Infect Dis*. 2010 Oct;202(8):1278-86.
157. Nelson R, McGregor K, Brown A, Amyes S, Young H. Isolation and characterization of glycopeptide-resistant enterococci from hospitalized patients over a 30-month period. *J Clin Microbiol*. 2000 Jun;38(6):2112-6.
158. Çınar T, Leblebicioğlu H, Sümbül M, Eroğlu C, Esen Ş, Günaydın M. Enterokoklarda yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direncinin araştırılması. *Flora Dergisi*. 1999;4:114-9.
159. Akgül S, Sümerkan B. Enterokok türlerinde vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılması *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*. 1999;13:67-70.
160. Ünlü M, Ünlü G, Bakıcı M, Şahin A. Klinik örneklerden soyutlanan *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere direnci. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*. 2002;16:471-5.
161. Kozuszko S, Białucha A, Bogiel T, Gospodarek E. High level of aminoglycoside resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains. *Med Dosw Mikrobiol*. 2011;63(2):105-13.
162. Shaked H, Carmeli Y, Schwartz D, Siegman-Igra Y. Enterococcal bacteraemia: epidemiological, microbiological, clinical and prognostic characteristics, and the impact of high level gentamicin resistance. *Scand J Infect Dis*. 2006;38(11-12):995-1000.
163. Feizabadi M, Maleknejad P, Asgharzadeh A, Asadi S, Shokrzadeh L, Sayadi S. Prevalence of aminoglycoside-modifying enzymes genes among isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in Iran. *Microb Drug Resist*. 2006;12(4):265-8.

164. Del Campo R, Tenorio C, Rubio C, Castillo J, Torres C, Gómez-Lus R. Aminoglycoside-modifying enzymes in high-level streptomycin and gentamicin resistant *Enterococcus* spp. in Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2000 Aug.;15(3):221-6.
165. Barisić Z, Punda-Polić V. Antibiotic resistance among enterococcal strains isolated from clinical specimens. *Int J Antimicrob Agents*. 2000 Sep;16(1):65-8.
166. Anette M, Camilla H, Stefan S, Anette H, Dennis S. Molecular characterisation of high-level gentamicin-resistant enterococci from bloodstream infections in Denmark: first description of clonal spread of *aph(2)*-Ib. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2012;39:263-72.
167. Kobayashi N, Alam M, Nishimoto Y, Urasawa S, Uehara N, Watanabe N. Distribution of aminoglycoside resistance genes in recent clinical isolates of *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* and *Enterococcus avium*. *Epidemiol Infect*. 2001 Apr;126(2):197-204.
168. Tsai S, Zervos M, Clewell D, Donabedian S, Sahm D, Chow J. A new high-level gentamicin resistance gene, *aph(2'')*-Id, in *Enterococcus* spp. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998 May;42(5):1229-32.

8. ÖZGEÇMİŞ

Şeyda ÖZARSLAN KURTGÖZ, 1982 yılında Hatay'ın İskenderun ilçesinde doğdu. 2000 yılında İskenderun Demirçelik Anadolu Lisesi'ni, 2006 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni bitirdi. 2006-2008 yılları arasında Kahramanmaraş Göksun Ericek Sağlık Ocağı'nda görev yaptı. 2009 yılında araştırma görevlisi olarak Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda çalışmaya başladı ve 2013 yılında uzmanlık eğitimini tamamladı.