



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
VANKOMİSİNE DİREÇLİ ENTEROKOK SUŞLARININ
FENOTİPİK VE GENOTİPİK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Biolog Semra BİLEN
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TIP PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet PARLAK

VAN-2019

TC
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
VANKOMİSİN DİREÇLİ ENTEROKOK SUŞLARININ FENOTİPİK
VE GENOTİPİK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Biolog Semra BİLEN
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TIP PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Mehmet PARLAK


VAN - 2019

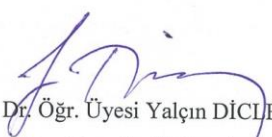
Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Başkanlığı (BAPB) Araştırma Fonu tarafından 2015-SBE-YL292 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

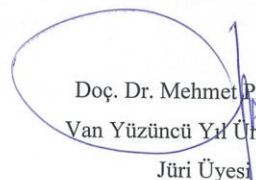
KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Biolog Semra BİLEN tarafından hazırlanan “*Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Vankomisin Direçli Enterokok Suşlarının Fenotipik ve Genotipik Değerlendirilmesi*” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08.07.2019


Prof. Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Başkanı


Dr. Öğr. Üyesi Yalçın DİCLE
Muş Alparslan Üniversitesi
Jüri Üyesi


Doç. Dr. Mehmet PARLAK
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.


Prof. Dr. Semiha DEDE
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Müdür Yardımcısı

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum "*Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Vankomisin Direçli Enterokok Suşlarının Fenotipik ve Genotipik Değerlendirilmesi*" başlıklı tezimin; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı : Semra BİLEN

Tarih : 14.06.2019

İmza :

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimin süresince özverisiyle önemli katkılar sunan, projenin hazırlanması ve yazılmasında, tez çalışmamın yapılmasının planlanmasında, tez yazım ve kontrol aşamasında hoşgörü ve itinaıyla yardım eden tez danışmanım Doç. Dr. Mehmet PARLAK'a, tezimin çalışılması sırasında uygun ortamı ve zemini hazırlayan Prof. Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU ve Prof. Dr. Yasemin BAYRAM'a tezimin gerçekleşmesi için tıbbi malzeme alımında katkı sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Başkanlığı'na, tezimin çalışılması aşamasında desteklerini esirgemeyen; Uz. Dr. Arzu UYANIK PARLAK, Uz. Cennet RAĞBETLİ ve Araşt. Gör. Şevin İRDEN'e, bugünlere gelişimde en büyük emeği sergiliyen sevgili babam ve anneme çok teşekkür ediyorum.

ÖZET

Bilen S, Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Vankomisine Direçli Enterokok Suşlarının Fenotipik ve Genotipik Değerlendirilmesi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıp Programı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2019. Çalışmada çeşitli klinik örneklerinden elde edilen Vankomisine dirençli Enterokok suşlarında (VRE) fenotipik olarak vankomisin ve teikoplanin direnci belirlenmiş ve genotipik yöntemlerle VanA, VanB ve VanC varlığı araştırılmıştır. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2015-2018 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen Vankomisine dirençli 30 Enterococ spp. (VRE) suşu çalışmaya dâhil edilmiştir. Suşların identifikasyonu ve antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi için otomatize sistem kullanılmıştır. Vankomisine ve teikoplanin direnci gradient test yöntemi ile belirlenmiştir. Direnç genleri, uygun primerler kullanılarak in-house PCR yöntemi ile araştırılmıştır. İdentifikasyon tesleri sonucunda suşların 29'u *E. faecium*, bir tanesi *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır. Otomatize identifikasyon sistemi ile suşların tümü vankomisin ve teikoplanine karşı dirençli bulunurken gradient test yöntemi izolatların üç tanesi duyarlı olarak bulunmuştur. Bu üç suшта moleküler yöntemle VanA, VanB ve VanC'nin hiçbirisine rastlanmamıştır. Moleküler yöntemle 27 suшта VanA, bir suшта VanB geni saptanırken hiçbir suшта VanC genine rastlanmamıştır. Enterokok izolatlarında vankomisin direncinin tespitinde Gradient test ve moleküler yöntemle direnç gen tespitinin %100 uyumlu olduğu görülmüştür. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında enterokok izolatlarının glikopeptit direncinin saptanmasında Gradient test yöntemi çok önemli bir tarama testi olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: Vankomisine dirençli Enterokok, Gradient test, VanA, VanB ve VanC.

ABSTRACT

Bilen S, Phenotypic and Genotypic Evaluation of Vancomycin-Resistant Enterococcal Strains Isolated from Various Clinical Specimens, Van Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences, Medical Department of Microbiology, Medical Program, M.Sc. Thesis, Van, 2019. In this study, vancomycin and teicoplanin resistance were determined phenotypically in Vancomycin resistant Enterococcus strains (VRE) obtained from various clinical samples and VanA, VanB and VanC were investigated by genotypic methods. 30 Vancomycin-resistant Enterococ spp. Strains isolated from various clinical specimens at Van Yuzuncu Yil University Faculty of Medicine Hospital Microbiology Laboratory between 2015 and 2018. (VRE) strain was included in the study. Automated system was used for identification of strains and determination of antibiotic resistance. Vancomycin and teicoplanin resistance were determined by gradient test method. Resistance genes were investigated by in-house PCR using appropriate primers. As a result of identification tests, 29 strains were identified as *E. faecium* and one as *E. faecalis*. While all strains were resistant to vancomycin and teicoplanin by the automated identification system, three of the isolates with gradient test method were found to be sensitive. Molecular method of these three strains VanA, VanB and VanC. It has not been demonstrated. While VanA gene was detected in 27 strains and VanB gene was detected in one strain, VanC gene was not detected in any strain. Resistance gene detection by Gradient test and molecular method was found to be 100% compatible with vancomycin resistance in enterococci isolates. Gradient test method can be used as an important screening test in the determination of glycopeptide resistance of enterococcal isolates in clinical microbiology laboratory.

Anahtar kelimeler: Vancomycin resistant Enterococci, Gradient test, VanA, VanB and VanC.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ETİK BEYAN.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
TABLolar LİSTESİ.....	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Enterokokların tarihçesi	3
2.2. Sınıflandırma.....	4
2.3. <i>Enterococcus</i> cinsi içerisinde yer alan türler ve özellikleri	5
2.4. Epidemiyoloji.....	8
2.5. Mikrobiyolojik ve kültür özellikleri:.....	9
2.6. Biyokimyasal özellikleri	11
2.7. Klinik bulgu ve belirtiler.....	12
2.8. Antimikrobiyal direnç	14
2.9. Tedavi.....	24
2.10. Koruma ve kontrol	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Kullanılan alet ve gereçler	29
3.2. Hasta örneklerinde VRE suşlarının izole edilmesi	30
3.3. Gradient testi ile vankomisin ve teikoplanin direnci saptanması.....	31
3.4. Moleküler yöntemle direnç genlerinin tespiti	31
3.5. İstatistik yöntem	34
3.6. Çalışma onayı.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Suşların Genel Özellikleri.....	35

4.2. Enterokok Suşlarının Otomatize Sistemle Antibiyotik Duyarlılıkları	35
4.3. Vankomisin ve Teikoplanin Gradient Testi Sonuçları.....	39
4.4. Direnç Genlerinin Dağılımı	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	56
EKLER.....	57
Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi.....	57
Ek 2. Tez Orjinallik Raporu	58



SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AİDS	: Sendromu Edinsel İmmün Yetmezlik
ARA	: Arabinoz
ARG	: Arjinin
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EUCAST	: Avrupa Antibiyotik Duyarlılık Test Komitesi
FDA	: Food and Drug Administration
HICPAC	: Hospital Infection Control Practices Advisory Committee
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
LAP	: Lösin- β -naftilamid
LAPase	: Lösin Ainopeptidaz
LTA	: Lipoteikoik Asitlerin
MAN	: Mannitol
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MGP	: Metil α d-glikopiranozid
MRSA	: Metisilin Rezistans <i>Staphylococcus aureus</i>
NaCl	: Sodyum Klorür
PBP	: Beta Laktam Direnci
PCR	: Polimerize Zincir Reaksiyonu
PYR	: L-prolidonil- β -naftilamid
PYU	: Pirüvat
RAF	: Rafinoz
RNA	: Ribo Nükleik Asit
SOR	: Sorboz
TEL	: Tellürit
TMP-SMZ	: Trimethoprim- Sulfometoksazol
USA	: United States of America
VRE	: Vankomisin Rezistans <i>Enterococci</i>
VREF	: Vankomisin Rezistans <i>E. faecium</i>

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Enterokok türleri identifikasyon Şeması.	7
Şekil 2. <i>E. faecalis</i> 'in hücre duvarındaki polimerlerinin şematik görüntüsü.....	10
Şekil 3. Kanlı agarda enterokok kolonilerinin görünümü	11
Şekil 4. VanRS 2-component regulatory system.....	20
Şekil 5. VanA-type glycopeptide resistance.....	21
Şekil 6. Enterokok izolatlarının elde edildiği klinik örneklerin dağılımı.....	35
Şekil 7. Otomatize sistemle tüm antibiyotiklere direnç oranları	38
Şekil 8. Gradient testi ile Vankomisin ve Teikoplanine duyarlı suşlar	39
Şekil 9. Gradient testi ile Vankomisin ve Teikoplanine dirençli suşlara örnekler	40
Şekil 10. PCR yöntemi ile direnç genlerinin jel görüntüsü	42
Şekil 11. PCR yöntemi ile direnç genlerinin jel görüntüsü	42

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Enterokokların Sınıflandırılması.....	4
Tablo 2. <i>Enterococcus</i> cinsi içerisinde yer alan türler	4
Tablo 3. Enterokok türlerinin biyokimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması	11
Tablo 4. VRE türlerindeki 6 farklı fenotipin tanımlanması	19
Tablo 5. Çalışmada kullanılan primerler.....	33
Tablo 6. Otomatize sistemle vankomisin ve teikoplanin duyarlılık test sonuçları	36
Tablo 7. Otomatize sistemle diğer antibiyotiklere direnç durumları	37
Tablo 8. Otomatize sistemle tüm antibiyotiklere direnç oranları.....	38
Tablo 9. Vankomisin ve teikoplanin için gradient testi sonuçları.....	39
Tablo 10. Direnç genlerinin dağılımı	41
Tablo 11. Yöntemlerin birbirleriyle karşılaştırılması.....	43
Tablo 12. Türkiye’de yapılan bazı çalışmalarda direnç genleri.....	47

1. GİRİŞ

Enterokoklar, insan ve hayvanların barsak yollarının, safra yollarının, ağız ve bazen de özellikle perinal derinin normal elemanı olarak bulunmakla beraber doğada (toprak, su, yiyecek gibi.) çok yaygın olarak bulunmaktadır. Bununla birlikte bakteriyemi, endokardit, yara ve doku enfeksiyonları, safra kesesi enfeksiyonları, menenjit, nozokomiyal pnömoni ve çoğunlukla üriner sistemi enfeksiyonları gibi çeşitli hastalıklara neden olabilirler. Enterokok türleri arasında enfeksiyon etkeni olarak %80-90 oranlarında *Enterococcus faecalis* sorumlu tutulurken, %5-10 oranlarında sorumlu tutulan ikincil etken ise *Enterococcus faecium*'dur. Enterokoklar, nadiren endokardite sebep olan mikroorganizma grubunda yer alır ayrıca nozokomiyal enfeksiyonların ise 2. ya da 3. sıklıkta neden olduğu mikroorganizmalardır. Günümüze kadar Enterokoklar düşük virulansı olan mikroorganizmalar olarak bilinmekteydi fakat yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda bu organizmaların hastane ortamında yayıldığını, multipli antibiyotik direnç mekanizmaları nedeni ile çok ciddi ve sorunlu Gram-pozitif bakteriler grubu arasında yer alması gerektiği belirlenmiştir. Vankomisin direnç geni taşıyan enterokokler (VRE) ve diğer enterokok türleri yaşadığımız doğal ortamlarda çok uzun süreli olarak bulunmakta bununla paralel olarak VRE enfekte bir hastanın yattığı odadan, hastanın temas ettiği materyallerden, malzemelerden, bir hastadan diğerine doğrudan bulaş, enfekte olmamış fakat kolonisasyonun sağlandığı sağlık personelinin elleriyle ya da kontamine tıbbi cihazlar ile dağılım gerçekleşmektedir. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, uzun süreli olarak hastane yatışı, cerrahi işlem, transplantasyon (organ nakli) ve altta yatan hastalığın önemi VRE enfeksiyonu için çok ciddi risk faktörleridir (Courvalin ve ark., 1995; Başustaoğlu ve Aydoğan, 2002; Afşar ve ark. 2012; Çelebi, 2015).

Enterokokların hastane enfeksiyonu olarak bilinmesinin ve hastane enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir sorun olmasının nedeni ve son zamanlarda birden fazla antibiyotiğe direnç gösteren enterokokal enfeksiyonların sayıca artışıdır. Enterokoklar sahip oldukları mobil genetik elemanlar(plazmid ve transpozonlar) ve mutasyonlarla nedeniyle çoklu antibiyotik direnç genlerini taşımakta ve aktarmaktadırlar. Enterokok türlerinin çoklu enfeksiyonlara sebep olması doğal olarak yıllar içerisinde klinik önem kazanmasına neden olmuştur. Enterokoklar birçok

antibiyotiğe (sefalosporinler, makrolidler gibi.) gösterdikleri doğal direnç, penisilinlere azalmış duyarlılıkları, zorlu ve kötü çevre koşullarına rağmen canlı kalabilme potansiyeli, özellikle glikopeptidlere (vankomisin, teikoplanin) karşı kazandıkları direnç mekanizmaları nedeniyle dünya genelinde önemi artan mikroorganizma grubu içerisinde yerini almıştır.(Arthur ve Courvalin, 1993; Facklam ve Teixeira, 1998; Berzeg, 2005)

Bugüne kadar bilinen glikopeptid direnç genleri altı fenotip olarak saptanmış, bu fenotipler sırası ile VanA-E ve VanG olarak isimlendirilmiştir. Bunlar arasında en fazla gözlenen fenotipler VanA, VanB ve VanC olarak saptanmıştır. Enterokokların glikopeptid grubu antibiyotik direnci nedeniyle, çeşitli risk faktörleri, direncin saptanması, test uygulamaları, tarama yöntemleri ve alınacak önlemler çok iyi bilinmelidir. Çalışmada, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında çeşitli klinik örneklerinden elde edilen Vankomisine dirençli olduğu belirlenen 30 adet Enterococ spp. suşunun fenotipik ve genotipik yöntemlerle VanA ve VanB varlığı araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enterokokların tarihçesi

1800'lü yılların sonuna doğru Thiercelin "insan gaitasında kısa zincirler veya çiftler halinde görülen bakterileri" Enterokok olarak tanımlamış ve ilk isimlendirmeyi yapmıştır. Thiercelin'in enterokok tanımından sonra Alexander Gordon ve S.houston, hayvan gaitasında, lağım suyunda çok miktarda fekal streptokok bulunduğunu bildirmişlerdir. 1900'lü yıllarda F.W.Andrews ve T.J.Horder hem gaita kökenli mikroorganizmaları tanımlamak hemde laktozu ve mannitolu fermente eden fakat rafinozu fermente etmeyen mikroorganizmaları tanımlamak için '*Streptococcus faecalis*' tür ismini kullanılmıştır.1900'lü yılların devamında Jensen, farklı fermantasyon özellikleri olan diğer bir fekal bakteri cinsi saptamış, bu bakteri *Streptococcus faecium* olarak adlandırılmıştır. 1930'larda Lancefieldin yaptığı isimlendirme çalışmalarında enterokok grubu bakteriler D grubu streptokoklar içerisinde tanımlanmış ve enterokok grubu bakterileri ilk defa isimlendiren kişi Sherman olmuştur. Sherman hemoliz, üreme derecesi ve özellikleri, biyokimyasal özellikleri ve antijen yapılarına göre, piyojen, laktik, viridansstreptokoklar ve enterokoklar olarak 4 gruba ayırmıştır. Lancefield tarafından hücre duvarı antijen yapısına göre D-grubu streptokoklar içinde gösterilen enterokokların, D-grubu streptokoklardan farklı olduğu kabul edilmiştir.(Facklam 2002)

1900'lü yılların sonuna doğru *S.faecalis* ve *S.faecium* türlerinin diğer streptokoklardan farklı olduklarını enterokok grubu içerisinde *enterococcus* cinsi olarak bulunması gerektiğini düşünerek bu cinsi *Streptococcus* cinsinden ayıran bilim insanları K.H. Schleifer ve R. Klipper-Baltz olmuştur. *Enterococcus* cinsinin yeni bir cins olduğunu belirleme sürecinde iki tür arasındaki genetik uzaklığın bulunması için hibridizasyon çalışmaları yapılmış, yavaş evrimleşme özelliğinden dolayı 16S rRNA filogenisine bakılmış ve total hücre protein analizleri yapılmıştır. Çeşitli metotlar kullanılarak yapılan çalışmalarda *Enterococcus* cinsinin yeni cins olduğu enterokok cinsi içerisinde en az 34 tür bulunduğu gösterilmiştir (Ural, 1998; Akan, 2004; Fisher ve Phillips, 2009).

2.2. Sınıflandırma

Schleifer ve Kilpper tarafından yapılan çalışmalar sonucu *Enterococcus* cinsinin tanımlanmasından sonra günümüze kadar 34 *enterococcus* türü saptanmıştır (Tablo 1 ve 2).

Tablo 1. Enterokokların Sınıflandırılması (Akçimen, 2010).

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

Tablo 2. *Enterococcus* cinsi içerisinde yer alan türler (Billström, 2008).

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

Enterokok türleri farklı özelliklerine göre beş grup altında toplanmıştır. Bu özellikler; sorbozun ve mannitolun bulunduğu sıvı besiyerinde asit üretebilmeleri aynı zamanda arjinini hidroliz edebilmeleridir.

Grup I: Bu grup içerisinde bulunan türler *E pallens*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. malodoratus* *E. Gilvus* *E. Avium*'dur. Bu grupta bulunan türler arginini hidroliz etmezler fakat mannitollü ve sorbozlu besiyerinde asit üretebilirler (Akçimen, 2010).

Grup II: Bu grup içerisinde bulunan türler *E. faecalis*, *E. faecium*, *E.mundtii* *E.casseliflavus*, *E. haemoperoxidus*, ve *E. Gallinorum*'dur. Bu grupta bulunan türler mannitolden asit üretebilir, arginini hidroliz edebilir ancak sorbozdan asit yapamazlar (Akçimen, 2010).

Grup III: *E. villorum*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. hiraе*, *E. ratti* ve *E.faecalis* ile *E. faecium*'un mannitol negatif varyantları bu grupta bulunur. Bu gruptaki türler D antijeni içermez, arginini hidrolize ederler, fakat mannitol, sorboz ve sorbitol içeren sıvı besiyerlerinin hiçbirisinde asit oluşturmazlar (Akçimen, 2010).

Grup IV: *E. sulfurens*, *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve *E. cecorum* bu grupta bulunmaktadır. Bu gruptaki türler mannitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arginini hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E. cecorum* asit oluştururken, *E.sulfureus* asit oluşturmaz (Akçimen, 2010).

Grup V: *E. columbae*, *E. canis*, *E. moraviensis*, *E. italicus* bu grupta bulunur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize etmezler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler (Akçimen, 2010).

2.3. Enterococcus cinsi içerisinde yer alan türler ve özellikleri

***E. faecium*:** Yiyecek, sebze ve yemlerden de izole edilmiştir. İnsan ve sığırların barsak florasında bulunmaktadır. *E. faecium*'un antibiyotiklere direnç potansiyeli diğer türlerden daha fazladır. %6,5'lük NaCl ve 9,6 gibi yüksek pH da üreme özelliğine sahiptir. Alfa hemolitiklidir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Saymer, 2008).

***E. faecalis*:** Ağız, hepatobiliyer (karaciğer, safra kesesi, dalak, pankreas) sistem ve vajinadan izole edilmiştir. Barsak florasında ve çeşitli hayvanlarda da bulunmaktadır. Yara, periton sıvısı, ayrıca endokarditli ve bakteriyemili hastaların kan kültürlerinden

izole edilebilmektedir. İnsan kaynaklı enfeksiyonların en sık sorumlu tutulan türüdür ve üriner sistem enfeksiyonu yapmaktadır. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6 da üreme özelliğine sahiptir. Beta hemolitikdir (Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E. durans: Süt ve kuru gıdalardan izole edilmektedir. İnsan ve hayvanların barsak ve üriner sistem floralarından nadir de olsa izole edilmektedir. %6,5 NaCl ve pH 9,6 da üremektedir fakat 50°C de üreyememektedir. Alfa hemolitikdir (Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E. avium: Kuş, tavuk, köpek gibi hayvanlardan izole edilmiştir. İnsan barsak florasının bir üyesidir. Apendisit, otit ve beyin apselerinden izole edilmiştir. %6,5'luk NaCl varlığında üreme özelliği göstermesi çok zordur. H₂S üretir ve pigment yapmaz. Alfa hemolitikdir (Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E. casseliflavus: Bitkilerde ve toprakta bulunur. Fırsatçı insan patojenidir. Vankomisine dirençlidir. Hareketlidir. *E.casseliflavus* % 6,5 NaCl ve pH 9,6 da üreme özelliğine sahiptir ayrıca besiyerinde sarı piment oluşturmaktadır (Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E. gallinorum: İnsanda Hemodiyalizli bir hastadan izole edilmiştir. Evcil kuşların doğal barsak florasında bulunur. Vankomisine dirençlidir. Hareketlidir pigment oluşumu gözlenmez. Koyun kanlı agarda nonhemolitikdir. At kanlı agarda beta hemoliz yapabilir *E.gallinorum*, % 6,5 NaCl ve pH 9,6 da üreme özelliğine sahiptir (Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E. hirae: Domuz ve tavuklarda bulunur. 10-45°C aralığında, % 6,5 NaCl ve pH 9,6 da üreme özelliğine sahiptir. Hemoliz yapmaz (Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

2.4. Epidemiyoloji

İnsan ve hayvanların gastrointestinal floarsının doğal üyesi olan Enterokoklar aynı zamanda uzun süre canlı kalabilme yeteğine sahiptir bu yüzden doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Çok az miktarda ağız, vajinal sekresyonlar, deride (özellikle perineal deride) bulunabilirler. Bu mikrroorganizmalar gastrointestinal sistemin doğal üyesi olduğu için toplumda veya hastanelerde etkenin kaynağının hastanın kendi florası olduğu yani endojen kökenli olduğuna dair görüşler öne sürülmüştür. Fakat birçok antibiyotiğe karşı direnç gösteren VRE'lerin sayıca artışı, bu artışın nedeni tanımlama, görülme sıklığını araştırma, VRE kontrol altında tutmak için epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bu epidemiyolojik çalışmalara göre bu mikroorganizmaların nozokomiyal olarak yayıldığı saptanmıştır. Kötü çevre koşullarında bile üreme ve canlı kalabilme yeteneğine sahip olan enterokoklar hastane de bulunan bütün cansız eşyalar (termometre, komidin, stetoskop, yatak, masa, kapı kolu, yatak, gibi) üzerinde çoğalmaya devam edebilir bununla birlikte bir hastadan diğerine bulaşarak, hastane personelinin teması veya kontamine tıbbi cihazlar ile hastadan hastaya taşınarak nozokomiyal salgınlarına neden olduğu gibi bunlar önemli VRE rezervuarlarıdır (Livornese ve ark., 1992; Wilke ve ark., 2002; Moellering, 2005).

Birleşik Devletlerde hastane bağlantılı enterokok infeksiyonları iki farklı dalga halinde ortaya çıkmıştır. İlk dalga 1970'lerin sonunda Üçüncü kuşak sefalosporinler ile bağlantılı olarak başlamıştır. Bu dönemde klinik enterokok izolatlarının% 90-95'ini Enterococcus faecalis oluşturmuştur. İkinci dalga ise Enterococcus faecium' un neden olduğu çok daha fazla sıklıkla vankomisin ve ampisiline dirençli *E. faecalis*' tir. Bu dalga Amerika Birleşik Devletleri'ndeki hastanelerde 1990'lı yılların başından bu yana istikrarlı bir biçimde ilerlemekle birlikte, vankomisin ve geniş spektrumlu antibiyotikler kullanımının artması sonucunda dünyanın diğer bölgelerinde de görülmektedir (Willems ve Van Schaik, 2009).

VRE'nin popülasyonu açısından ABD ile Avrupa kıtası arasında ciddi farklılıklar bulunmaktadır. ABD'de VRE kolonizasyonunun nozokomiyal bir problem olarak görülmemesinin sebebi hastane ortamı dışında sıklıkla görülmemesidir. Avrupa ülkelerinde ise hayvanlar ve kanalizasyon VRE rezervuarına sebep olmuştur. Avrupa

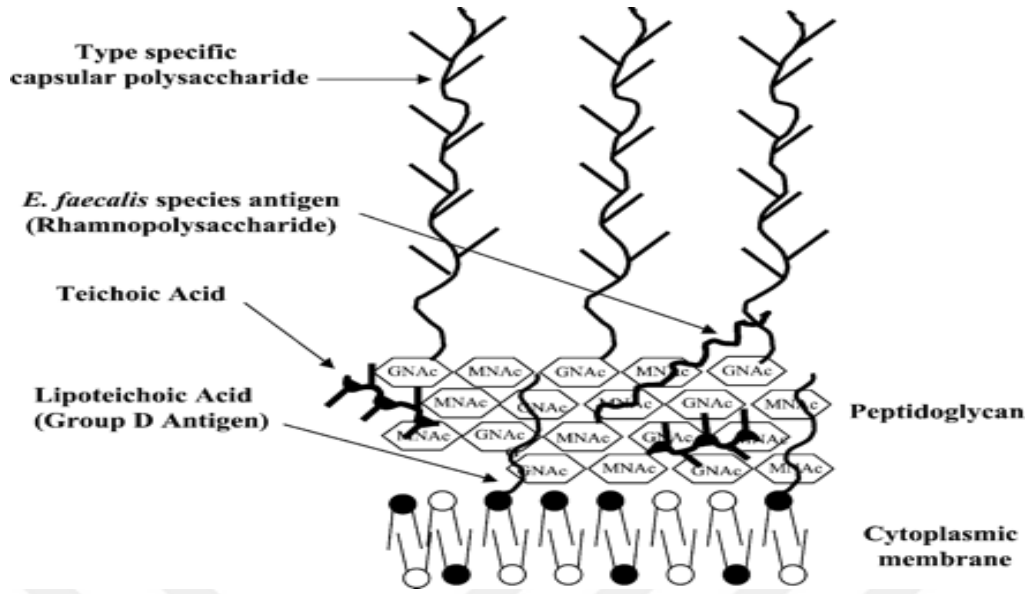
kıtası ve ABD arsındaki bu ciddi farklılığın nedeni hızla yayılımı itibarı ile büyüme gelişimi hızlandıran aynı zamanda glikopeptit antibiyotik olarak bilinen avoparsinin Avrupa’da hayvan yemlerinde kullanılması ile ilintili olduğu düşünülmektedir (Murray, 1995).

Avoparsin ABD’de hayvan yemi olarak tanımlanmadığı için kullanılmamıştır. Yürütülen epidemiyolojik çalışmalar sonucunda ABD’de avoparsin kullanılmadığından çiftlik hayvanlarında VRE bulunmamıştır. Dünya genelinde İngiltere ve Fransa’dan VRE izolatları bildirilmiştir (Uttley ve ark., 1988). Türkiye’deki ilk VRE vakası 1998 yılında Antalya’da Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi’nden bildirilmiştir. İlk vakanın Van A geni taşıyan *E. faecium* suşu olduğu tespit edilmiştir (Vural ve ark., 1988).

2.5. Mikrobiyolojik ve kültür özellikleri:

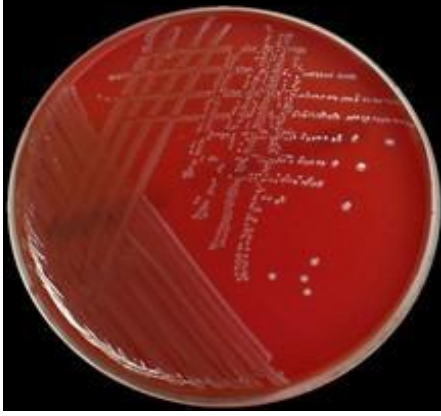
Enterokokların hücre duvar yapısı %40 oranında peptidoglikandan, teikoik (ribitol) asitten ve polisakkaritten (ramnoz) oluşmaktadır. Enterokoklar yaklaşık olarak %80 oranında D grubu antiserumlarla kümeleşme gösterir. Antiserumun kalitesi bu oranı değiştirebilir. Lancefield’in yapmış olduğu sınıflandırmada streptokoklar hücre duvarında oranca fazla bulunan karbonhidratlarına göre sınıflandırılırken, enterokokların içerisinde bulunduğu “D” grubunu lipoteikoik asitlerin antijenik yapılarına göre sınıflandırmıştır. Tüm enterokoklarda ve *Pediococcus*, *Vagococcus* *Leuconostoc*, *Streptococcus bovis* kompleks’te Streptokokal grup-D antijenleri saptanmıştır (Fisher ve Phillips, 2009).

Enterokoklar ve gram pozitif bakterilerin hücre duvar yapıları genel olarak benzerdir. Gram pozitif bakteri olan *E. faecalis*’in hücre duvar yapısı ve fonksiyonları Şekil 2.de Şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2. *E. faecalis*'in hücre duvarındaki polimerlerinin Şematik görüntüsü (Akçimen, 2010)

Enterokoklar fakültatif anaerob 0.5-1 mikrometre çapında, ikişerli diplokok ya da kısa zincirler şeklinde görülebilen pnömokok görüntüsüne sahip, eskülini hidroliz edebilen gram pozitif koklardır. Optimal üreme ısıları 10-45 C arasında değişkenlik gösterebilir. PH 9.6 bazik ortamında, en iyi üreme ısıları 35°C'dir. *Enterococcus gallinarum* ve *Enterococcus casseliflavus* dışındaki tüm enterokok türleri hareketsizdir. Katalaz testleri negatiftir. Bazen zayıf bir alfa hemoliz meydana getirebilirler. Enterokoklar dirençli bakterilerdir. 60 °C'ye 30 dakika dayanıklıdır. Genellikle nonhemolitiklerdir. *E. faecalis* ve *E. durans* türleri kan içeren besiyerinde beta hemoliz oluşturabilirler. *E. faecalis* insan ve at kanı bulunan agarda B-hemolitik fakat koyun kanlı agarda nonhemolitikdir. *E. faecium* ise alfa hemoliz yapar. PYR (L-pyronidonylbetanaphthylamide) pozitifdir. Tüm suşlarında lösin aminopeptidaz (LAPase) aktivitesi görülür. Enterokoklar kanlı agarda gri renkli, parlak ve buğulu koloniler oluşturular (Facklam ve Sahm, 1995; Bilgehan, 2002; Koneman ve ark., 2005 ; Teixeria ve ark., 2009).



Şekil 3. Kanlı agarda enterokok kolonilerinin görünümü

2.6. Biyokimyasal özellikleri

Enterokok türleri karbonhidrat içeren buyyonlarda asit üretmeler, bununla birlikte arjinini hidrolize etmeleri, % 0.04 tellüriti tolere edebilmeleri, pirüvatı metabolik yollarında kullanmaları, metil α dglukopiranozid (MPG)'den asit üretmeleri ve hareketlilik özellikleri ile farklılık gösterirler. Biyokimyasal özelliklerine göre Enterokok türlerinin sınıflandırılması tablo 3'de verilmiştir (Lehman ve ark., 2011).

Tablo 3. Enterokok türlerinin biyokimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması

Enterokok türü	MAN	SOR	ARA	RAF	TEL	ARG	PYU	MGP	Motilite
<i>E. faecalis</i>	+	-	-	-	*	+	+	-	-
<i>E. faecium</i>	+	-	+	V	-	+	-	-	-
<i>E. durans</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>E. avium</i>	+	+	+	-	-	-	+	+	-
<i>E.casseliflavus</i>	+	-	+	+	-	+	V	+	+**
<i>E. gallinarum</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	+**
<i>E. raffinosus</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	-

MAN: mannitol; SOR: sorboz; ARA: arabinoz; RAF: rafinoz; TEL: tellürit; ARG: arjinin; PYU: pirüvat; MGP: metil α -D-glukopiranozid; +: olumlu test sonucu; -: olumsuz test sonucu; V: değişken test sonucu

E. faecalis'in tellürit varlığında üreyebilmesiyle, *E.casseliflavus* ve *E. Gallinarum* ise hareketli olma özelliğine sahip oldukları için diğer enterokok türlerinden ayrılırlar.

2.7. Klinik bulgu ve belirtiler

Üriner Sistem Enfeksiyonları

Enterokok enfeksiyonunun en yaygın tipidir. Enterokoklar ile oluşan enfeksiyonların çoğu nozokomiyaldir ve üriner kateterizasyon gibi uygulamalar sonucu ortaya çıkar. Altta yatan üriner sistemle ilgili öyküsü olan hastalarda sıktır. Prostatit, sistit, epididimit gibi alt idrar yolu enfeksiyonları genellikle yaşlı erkeklerde görülür. Genç kadınlarda komplike olmayan sistit etkeni olarak enterokoklar son derece nadirdir. İdrar yolu enfeksiyonlarının hastanede veya uzun süreli yatış ile kazanılması daha olasıdır. Bu nedenle birçok antibiyotiğe dirençli olma olasılığı daha yüksektir. Beklenmedik bir şekilde, VRE yoğun bakım hastalarında önemli sağlık bakımıyla ilişkili idrar yolu patojenleri haline gelmiştir (Yıldırım, 2007; Saymer, 2008; Gilmore, 2014).

Bakteriyemi ve Endokardit

Endokardit, toplum kökenli bakteriyemisi olan kişilerde nozokomiyal bakteriyemisi olan kişilere oranla daha fazla görülmektedir. Enfekte olmuş endokarditli hastaların yaklaşık %5-15' inden enterokoklar sorumludur. En sık saptanan tür *E. faecalis*'tir. Enterokoklar, diğer organizmalara kıyasla polimikrobiyal bakteriyeminin bir bileşenidir. Son birkaç yılda bir bakteriyemi genellikle üriner sistemle beraber, intra-abdominal, safra kaynakları veya yumuşak doku enfeksiyonlarından kaynaklanmaktadır. Enterokok bakteriyemisi için giriş yolları; üriner sistem, yaralar, intraabdominal veya pelvik sepsis, intravenöz veya intraarteriyel kataterler oluşturmaktadır. Enterokokal bakteremi, *S. aureus* ile bakteremilerin tersine, uzak organları nadiren tohumlamakta veya metastatik abselere neden olmaktadır. Enterokokal bakteriyemi ile uğraşırken karşılaşılan en önemli konu endokardit varlığıdır. Enterokoklar anatomik olarak normal kalp kapağında da enfeksiyon yapabilme yeteneğine sahip olsalarda olguların çoğunda altta yatan kalp kapakçığı ile

ilgili hastalığı yada protez kapak öyküsüne rastlanmıştır. (Yıldırım, 2007; Sayiner, 2008; Gilmore, 2014).

İntraabdominal ve pelvik enfeksiyonlar

Enterokoklar genellikle karın içi ve pelvik bölgedeki enfeksiyonlarından oluşan kültürlerden toplanır. Aerop, anaerop floranın içerisinde bulunur. Karında ve pelvikte monomikrobiyal enfeksiyon etkenidirler. Karın astarının bir enfeksiyonu olan peritonit, intra-abdominal veya pelvik karışık aerobik-anaerobik enfeksiyonlardan ayrı olarak düşünülmelidir. Bu enfeksiyon sıklıkla karaciğer sirozu ile birlikte veya kronik peritoneal diyalizi alan hastalarda görülür. Enterokoklar bu durumlarda monomikrobiyal enfeksiyona neden olabilir; ancak spontan bakteriyel peritonit veya koagülaz negatif stafilokok için *Escherichia coli* ve diyaliz ile ilişkili peritonit için *Staphylococcus aureus*'tan çok daha az görülür (Yıldırım, 2007; Sayiner, 2008; Gilmore, 2014).

Yara ve doku enfeksiyonları

Enterokoklar cerrahi yara enfeksiyonları, dekübit ülserleri, diyabetik ayak enfeksiyonlarının etken üyesidirler. Gram negatif basillerle ve anaeroplara birlikte izole edilirler. Fakat bu olgularda yaralar ve apselerdeki enfeksiyonuna enterokokların katkısının ne olduğu tartışılmaktadır. Apselerin drenajı ve yaraların debridmanı, çoğu zaman bu enfeksiyonlar için antibiyotik tedavisine önemli yardımcı maddelerdir. Enterokoklar sıklıkla dekübit ve ayak ülserlerinden gelen kültürlerde ve ayrıca diyabetiklerde osteomyelit ile birlikte bulunmaktadır (Yıldırım, 2007; Sayiner, 2008; Gilmore, 2014).

Menenjit

Enterokoklara bağlı olarak daha seyrek görülen diğer bir enfeksiyon menenjittir. Olguların çoğunda altta yatan santral sinir sistemi anatomik defekti, ventriküloperitoneal şant operasyonu, kafa travması öykü bulunmaktadır. VRE ile enfektif olmuş menenjit bakteriyemi düzeyi yüksek hastalarla, akut lösemili ve Edinsel İmmün Yetmezlik Sendromlu (AIDS) hastalarda da görülebilir (Yıldırım, 2007; Sayiner, 2008; Gilmore, 2014).

Solunum yolu enfeksiyonları

Enterokoklara bağlı olarak ortaya çıkan solunum yolu enfeksiyonları çok nadirdir. Fakat immüsupresyona neden olan hastalığı olanlarda ya da geçmişte ciddi bir hastalık öyküsü olanlarda pnömoni ve akciğer absesi oluşturdıkları bilinmektedir. Geniş spektrumlu antibiotik tedavisinin ve enterik beslenmenin yürütüldüğü hastalarda enterokok pnömonisi az da olsa görölmektedir (Korten, 2002; Sayiner, 2008; Durmaz, 2008).

Yenidoğan sepsisi

Bakteriyemi ve menenjitte birlikte ateş, solunum güçlüğü ve laterjinin görölmesi yenidoğan sepsisini oluşturmaktadır. Düşükdoğum ağırlıklı nazogastrik tüp takılı ve İV (intravasküler) kateter uygulanan veya prematüre bebeklerde *E. faecalis* veya *E. faecium*' a bağlı nozokomiyal bakteriyemi ve menenjit salgınları oluşmuştur (Korten, 2002; Yıldırım, 2007; Durmaz, 2008).

2.8. Antimikrobiyal direnç

Tıp alanında antibiotiklerin uygulanması, daha önce tedavi edilmesini sağlamıştır. Fakat Günümüzde enfeksiyöz hastalıklar yılda 13 milyondan fazla kişinin ölümine neden olmuştur. Antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalara bağlı olarak gerçekteşen bu olgular tüm insanlığın ciddi bir tehdit altında olduğunu göstermektedir (Cohen, 2000).

Vankomisine dirençli enterokok (VRE), metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) geniş spektrumlu bete laktmazlar üreten gram negatif çubuklar, çoklu ilaç dirençli Mycobakterium Tuberküloz ve pnömokoklar günümüzde direnç gelişimi nedeniyle tedavi edilmesi gereken mikroorganizmalara örnektir. Antibiyotikler, hücre duvar sistemi inhibisyonu, DNA ve RNA inhibisyonu ve protein sistemi inhibisyonu gibi birçok farklı mekanizmaya sahiptir (Billström, 2008).

Antibiyotik bileşikleri doğal olarak farklı mikroorganizmalarla, sentetik olarak veya yarı sentetik olarak üretilir. Süllfanomitler ilkdefa 1930'da tanıtılmıştır. Bunlar daha sonra penisilinle yer değiştirmiştir ve bir çok antibiotik sınıfı ortaya çıkmıştır.

Antimikrobiyal bileşenler ya bakteriyostatik tada bakteriyosidal etki göstermektedir (Billström, 2008).

Belirli bir antibiyotik, bakterinin belirli bir izolatına karşı aktivite üretip üretmediğini araştırırken kullanılacak farklı yaklaşımlar vardır. Antibiyotik duyarlılığının yorumlanması için farklı yönergeler, Avrupa Antibiyotik Duyarlılık Test Komitesi (EUCAST) ve klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü (CLSI) Minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) bakteri üremesini engellemek için gereken antibiyotiğin en düşük konsantrasyonudur. MIC değerini belirlemek için 3 ana yöntem kullanılmaktadır. Disk difüzyonu, bakterilerin plakanın yüzeyine yerleştirilen belirli bir antibiyotik konsantrasyonu ile emdirilmiş küçük bir kâğıt diskle bir agar plakasında yetiştirildiği E testidir. Bu, antibiyotik duyarlılığının belirlenmesinde en büyük yöntemdir. Epsilon (Test) testi, bir şerit içeren ve antibiyotik gradyanın kullanıldığı daha sofistike bir yöntem sağlar. Agar ve suda seyreltme, artan konsantrasyonda antibiyotik içeren et suyu bulunan agar plakalarının veya tüplerin kullanıldığı en kesin tekniklerdir (Billström, 2008).

Enterokoklar, antimikrobiyal dirence ulaşmada son derece etkili olup, edinilmiş ve içsel direnç için çeşitli mekanizmalar sergilemektedir. Hareket direnç unsurlarını etkin bir şekilde elde etmek ve aktarmak için genom plastisitesi önemli derecede bulunur ve direnç genlerinin yaygınlaştırılmasını kolaylaştırmak için plasmidler, transpozonlar ve yerleştirme dizileri kullanırlar (Cattoir ve Leclercq, 2013).

2.8.1. İntrinsik direnç

İntrensek direnç tüm enterokok türlerinde bulunan kromozomal dirençtir. Enterokoklardaki intrinsik direnç şu şekildedir.

- Beta laktam antibiyotik direnci (yüksek MİK değerleri)
- Aminoglikozid direnci (düşük düzeyde direnç)
- Linkozamid direnci (düşük düzeyde direnç)
- Trimetoprim - sülfometoksazol direnci (sadece in vivo direnç)
- Kinupristin / dalfopristin direnci (*E. faecalis* suşları streptogramin A'ya intrensek olarak dirençli) (Başustaoğlu, 2004; Şardan, 2004; Wilke, 2008).

Beta laktam antibiyotik direnci

Beta laktamlar antibiyotik gruplarının en geniş grubudur. B-laktamlara tamamen ya da kısmi direnç enterococcus türünün bir özelliğidir. Enterokoklardaki intrinsek penisilin direnci beta laktam antibiyotiklere düşük bağlanma afinitesi gösteren PBP5 varlığına bağlıdır. Penisiline düşük düzeyde intrinsek direnç göstermesinin nedeni PBP 5'in afinitesindeki azalmadır. Özellikle *E. faecium* suşlarında dirençli suş oranı son yıllarda artış göstermektedir. *E. faecalis*'te nadir görülen ampisilin direnci, günümüzde hastane ilişkili *E. faecium* suşlarında %90'lara çıkmıştır. Penisilin için MİK değeri *E. faecalis* ile diğer streptokoklarla karşılaştırdığı zaman *E. faecalis* için bu değer 10-100 kat daha fazladır. *E. faecium* izolatlarının penisilin direnci *E. faecalis* izolatlarından daha fazladır. (Murray,1997; Çetinkaya ve ark., 2000; Wilke, 2008).

Fontana ve arkadaşları penisilin direncine sahip *E.faecalis* izolatında PBP-5 kabiliyetinin yok olması yani kaybedilmesinin, izolatu dirençli değil, penisiline aşırı duyarlı olduğunu saptamıştır. Diğer enterok izolatlarının genelinde ise glikopeptit ve beta laktam antibiyotikleri hücre duvarı inhibisyonuna direnç değil tolerans sağlamıştır. Glikopeptitler ve beta laktamlar enterokoklar üzerinde bakteriyostatiktir. Endokardit, menenjit gibi olgular da beta-laktamlar ve glikopeptitlerin kombinasyon tedavisinin uygulanması sinerjistik etki sağlamaktadır. Üriner sistem enfeksiyonlarında ise bu antibiyotik gruplarından yalnız biri kullanılarak bakterisidal etki sağlanmaktadır (Çetinkaya ve ark., 2000; Moellering, 2000; Wilke, 2008).

Aminoglikozid direnci

Aminoglikozid direnci Enterokoklar için düşük düzeydedir. İlacın hücre duvarından penetrasyonunun azalması sonucu düşük düzeyde direnç oluşmaktadır. Hücre duvarına etkili ajanlarla etkinlik sağlanabilmektedir. Aminoglikozid grubu antibakteriyel ilaçlar (genellikle gentamisin veya streptomisin), glikopeptitler (vankomisin,teikoplanin) veya beta-laktam (penisilin) gibi hücre duvarı sentezinin inhibisyonunu sağlayan ajanlarla birlikte verilirse, parçalanan hücre duvarından aminoglikozitin penetrasyonu daha çabuk sağlanacağından MİK değeri düşecektir. Böylelikle yapısal dirençin etkisi kırılarak enterokoklar üzerinde bakterisidal etki sağlanır (Çetinkaya ve ark.,2000; Moellering, 2000; Şardan,2004; Wilke,2008).

Linkozamid direnci

Enterokoklar linkozamid ve klindamisine karşı düşük düzeyde intrinsek dirence sahiptirler (Çetinkaya, 2000; Klare ve ark., 2003).

Trimetoprim - sülfometoksazol direnci

Çoğu enterokok suşu eksojen kaynaklı folinik asiti kullanabildikleri için in-vitro testlerde duyarlı görülseler de TMP-SMZ, invivo şartlarda etkisiz bir ajandır. Buna bağlı olarak antibiyotik duyarlılık testlerinde TMP-SMX kullanılmamalıdır (Deibel ve ark.,1963; Wilke, 2008).

Kinupristin / dalfopristin direnci

E. faecalis suşları üzerinde intrinsek direnç nedeniyle quinupristin/dalfopristin etkili değilken *E. faecium* izolatlarındaki direnç giderek arttığı bildirilmiştir (Arias ve ark., 2011; Tünger, 2012).

2.8.2. Kazanılmış direnç

Enterokoklardaki kazanılmış direnç mekanizmaları genellikle plazmitler, transpozonlar ve mutasyonlarla oluşmaktadır. Mutasyon veya dna segmentinin değişimi plazmidler ve transpozonlar tarafından kodlanan genler aracılığıyla meydana gelmektedir. Bakteri genomunda ki dirençli genler bir bakteriden diğerine aktarılabilir. Enterokoklarda sık görülen transfer mekanizması konjugasyondur (Murray,1998; Moellering, 2005; Gültekin,2012).

Beta-laktam Direnci

Enterokoklar beta laktam antibiyotiklere iki ayrı mekanizma ile direnç oluşturmaktadır. Beta laktam Direnc mekanizmalardan birincisi *E. faecium* suşlarında görülen ve kromozomal olarak kodlanan dirençtir. Penisilin direnci, enterokoklarda penisilinin afinitesinin azalması sonucu PBP5 miktarının artmasıdır ve buna bağlı olarak hücre içine antibiyotik girişinin azalmasına neden olmaktadır.

Beta laktam direncinin ikinci mekanizması ise beta laktamaz üretimidir. Enterokoklar da bulunan bazı plazmidler üzerinde hem Beta laktamazları hemde yüksek

düzyeyde gentamisin dirençini belirleyen genler konumlanmıştır. Enterokoklardaki beta laktamazlar penisilin, ampisilin, piperasilin ve diğey üreidopenisilinleri hidrolize eder. Penisilinaz dirençli penisilinleri, sefalosporinleri ve imipenemi etkilemez (Derbentli,1998; Çetinkaya ve ark., 2000).

Aminoglikozid direnci (yüksek düzeyde direnç)

Enterokokar Aminoglikozitlere orta ve yüksek olmak üzere iki şekilde direnç sergilemektedir. MIC değeyinin 62-500 µg/ml olduğu durum orta düzeyli dirençtir. Genellikle geçirgenliğin azalması ile oluşmaktadır. Aminoglikozidlerin beta laktam grubu antibiyotiklerle birlikte uygulanması sinerjistik sağlar. Böylelikle direnç yok edilebilmektedir.

MIK değeyinin 2000 µg/ml'den daha büyük olduğu durum ise yüksek düzeyli dirençtir. Bu direnç profilleri ribozomdaki bağlanma bölgelerinin değışimi, aminoglikozidleri inaktive eden enzimlerin sentezlenmesiyle gerçekleşmektedir. Aminoglikozit modifiye edici enzim üretimi, Enterokoklardaki yüksek düzey aminoglikozid direncinde en fazla görülen mekanizmadır. Modifiye eden enzim miktarı stoplazmaya ulaşan ilaçları inaktive edecek miktarda stoplazmada bulunmaktadır. Plazmid veya transpozon tarafından kodlanan genlerce üretilen enzimler, asetil transferaz, adeniltransferaz ve fosfotransferaz olmak üzere üç tiptir. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci varlığında, kombine tedavide sinerjistik etki görülmemektedir (Murray,1998; Çetinkaya ve ark., 2000).

Glikopeptid direnci

Enterokoklardaki glikopeptid direnci ilk olarak 1988 yılında İngiltere'de Uttley ve arkadaşları tarafından bildirilmiş, ardından dünyanın değışik yerlerinde görülmeye başlanmıştır. Türkiye' de ise ilk VRE bulgusu 1998 yılında Antalya 'da Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden bildirilmiştir (Vural ve arkadaşları).

Glikopeptit grubu antibiyotikler içerisinde yer alan vankomisin ve teikoplanin dirençli enterokokların tedavisinde en çok kullanılan, hücre duvarı inhibisyonunu sağlayan en etkili ajanlardır. Enterokoklarda normal koşullarda peptidoglikan sentezi ligaz enziminin iki D-Alanin molekülünü birbirine bağlamasıyla "D-Ala-D-Ala" ürünü

oluşturulur. Vankomisin ve teikoplanin sentezlenen bu molekülün ucuna bağlanarak hücre duvarı yapısını bloke eder. Ligaz enziminin ve D-ala-D-ala molekülünün uç yapısını değiştiren VRE'dir. Bu değişim sonucunda D-Ala-D-ala Laktat veya D-Ala-D-ala-Serin sentezlenir ve vankomisin buraya bağlanma afinitesi azalır böylelikle vankomisine karşı direnç gelişir.

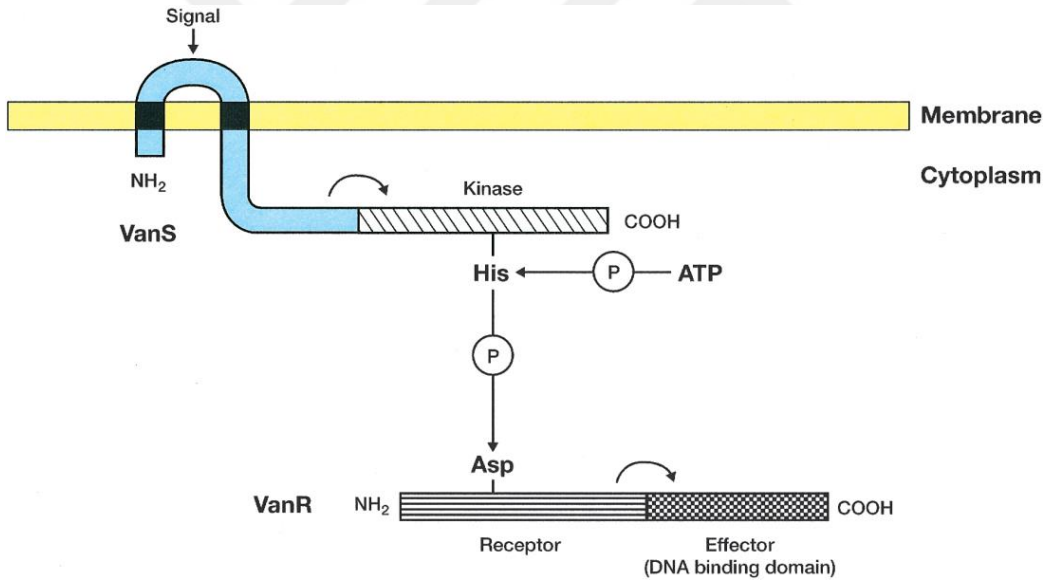
Enterokokların hem fenotipik hem de genotipik temelde karakterize edilmiş glikopeptid direncini kodlayan genlere göre VanA, VanB, VanC, VanD, VanE ve VanG olmak üzere altı tip vankomisin direnci bilinmektedir. Bu tiplerden beşi (VanA, B, D, E ve G) kazanılmış dirence karşılık gelirken diğer tür (VanC) *E. gallinarum* ve *E. Flavescens*, *E.casseliflavus*'un özünde bulunan doğal dirençtir (Çetinkaya ve ark., 2000; Courvalin, 2006).

Tablo 4. VRE türlerindeki 6 farklı fenotipin tanımlanması (Courvalin 2009 ve Gholizadeh 2000)

Genotype	VanA	VanB	Van C1/C2/C2	VanD	Van E	Van G
Origin	Acquired	Acquired	Intrinsic	Acquired	Acquired	Acquired
Vankomisin MİK (mg/L)	64-1000	4-1000	2-32	64-128	8-32	16
Teicoplanin MİK (mg/L)	16-512	0.5-1	0.5-1	4-64	0.5	0.5
Modifiye precursor	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Ser
Location	Plazmit Kromozom	Plazmit Kromozom	Kromozom	Kromozom	Kromozom	Kromozom
Mobile element	Tn1546	Tn1547 veya Tn1549	-	-	-	-
Expression	Inducible	Inducible	Constitutive Inducible	Constitutive	Inducible	Inducible
Conjugation	Positive	Positive	Negative	Negative	Negative	Positive

Van A tipi direnç: VanA tipi dirençte vankomisin ve teikoplanine (Vankomisin için MIC \geq 64 μ g/ml, teikoplanin için MIC \geq 16 μ g/ml) karşı yüksek seviyede direnç saptanmıştır. Vankomisin direncinin regülasyonu ya da oluşumunda yer alan VanA geni Tn1546 da diğerleri (VanZ, VanY, VanH, VanX, VanS, VanR) Tn5482 transpozonu üzerinde bulunmaktadır. VanR ve VanS proteinleri, VanX, VanA ve VanH'in

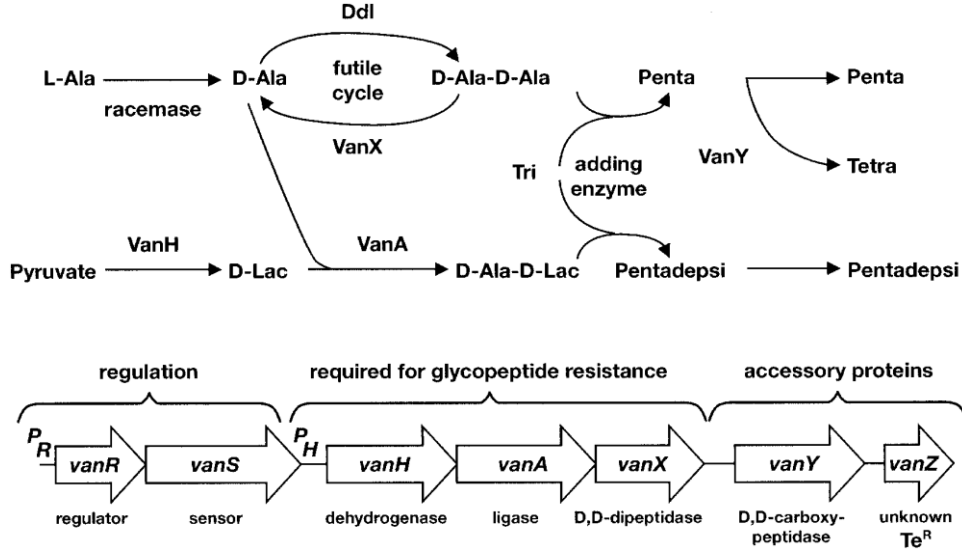
transkripsiyonunu düzenleyen iki bileşenli bir regülasyon sistemi oluşturur. Regülasyon gen VanR'dir aynı zamanda direnç genlerinin gen ifadelerinin tanımlanmasından sorumlu olan VanR proteini kodlamaktadır. Van S geni vankomisin varlığını algılamada görev yapan VanS proteinini kodlayan gendir. VanX, VanA ve VanH promotorlarını aktivasyonunu sağlayarak VanR'ye aktarır. VanR VanS'den sinyali alır, dirence sahip olan VanH, VanA ve VanX gibi diğer bazı proteinlerin sentezi ya da aktivasyonunu sağlanarak cevap oluşturulur. VanH bir dehidrogenazdır ve D-Laktat sentezini oluşturmaktadır. Bir Ligaz olan VanA, VanH'nin ürününü D-ala-D-lac yapmak için kendisine substrat seçer. VanY, VanY proteinini kodlar aynı zamanda karboksipeptidazdır peptidin son kısmındaki D-Ala molekülünü koparır ve orta düzeyde direnci oluşturur. Teikoplanin MİK değerini artışından sorumlu olan gen VanZ dir fakat VanZ vankomisin için MİK değerini arttırmamaktadır. Bu durum açıklaması günümüze kadar yapılmamıştır (Çetinkaya ve ark., 2000; Courvalin, 2006).



Şekil 4. VanRS 2-component regulatory system. Asp, aspartate; His, histidine; P, phosphate

Bu genlerin yardımıyla D-ala- D-ala olmayan D VanA ala-D-lac şeklinde biten ve anormal peptidoglikan öncülleri oluşturulurken Vankomisin D-ala-D-lac'a çok düşük düzeyde bağlanır. Hem PBP5'lerde hemde VanA tipi dirençte değişiklikler gerçekleşir. Bu değişiklikler sonunda beta laktamlara hipersensitive oluşturulur. *E. faecium*'da

saptanan ilk direç geni VanA gen kümesi olmuştur. Enterokokların diğer türleri arasında ilk sırada *E. faecalis*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. avium*, *E. mundtii*, *E. casseliflavus*, *E. raffinosus* 'ta VanA gen kümesi bulunduğu gibi enterokok olmayan bazı türlerde de VanA gen kümesi saptanmıştır (Çetinkaya ve ark., 2000; Courvalin, 2006).



Şekil 5. VanA-type glycopeptide resistance (Courvalin, 2006)

Van B tipi direnç: VanA tipi izolatlarda olduğu gibi, kazanılmış VanB türü d-Ala-d-Ala olmayan d-Ala-d-Lac şeklinde biten peptidoglikan öncüllerinin sentezine dayanmaktadır. VanB, kromozomaldır. Aynı zamanda transpozon veya plazmid üzerinde de taşınabilir ve aktarılabilir. VanA ve VanB gen kümesinde bulunan genlerden altı tanesi homoloji gösterirken VanA gen kümesinde bulunan VanZ, VanB gen kümesinde bulunmamaktadır. Bunlara ek olarak vanB gen kümesi işlevi tam olarak açıklanamayan VanW geni içermektedir. VanB kümelenmesinin organizasyonu ve işlevi, vanA'nın organizasyon ve işlevselliğine benzerdir, fakat düzenlemesi farklılık göstermektedir çünkü VanB operonunu düzenleyen iki bileşenli regülasyon sistemi VanR ve VanS vankomisin ile indüklenebilirken (MIC>32-64 µg/ml), teikoplaninden etkilenmez bu durumda teikoplanine duyarlılığı oluşturmaktadır. VanA direnç tipinin VanB tipi direnç tipine oranla daha yaygın olması önemli farklardan biridir. VanB çoğunlukla *E. faecium* ve *E. faecalis* 'te tespit edilmiş çok az da olsa *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* gibi bazı enterokoklarında VanB gen kümesi taşıdığı

bildirilmiştir. VanB Gen kümesi, vanB1, vanB2 ve vanB3 olmak üzere 3 alt gruba ayrılabilir: VanB alt tipi ile vankomisine direnç seviyesi arasında bir korelasyon bulunmamaktadır (Çetinkaya ve ark., 2000; Courvalin, 2006).

Van C tipi direnç: VanC direnç tipine sahip izolatların özelliği vankomisine düşük düzeyde intrensek direnç MİK(2-32 mg/L)göstermeleri ve teikoplanine karşı duyarlı olmalarıdır. VanC direnç fenotipi D-Ala-D-ala-Serin şeklinde biten peptidoglikan öncüllerinin üretiminin sonucu olarak yapısal ve indüklenebilir olduğu düşünülmektedir. D-Ala-D-ala-Serin ligazını kodlayan türe spesifik olduğu düşünülen VanC alt tipleri, VanC-1, VanC-2 ve VanC-3 olarak tanımlanmıştır. VanC-1 *E.gallinorum*'da, VanC-2 *E.casseliflavus*'ta ve VanC-3 *E.flavescens*'te tespit edilmiştir. VanC operonunun organizasyonu kromozomal lokalizasyonlu ve transfer edilemediğinden VanA, vanB ve vanD'den farklıdır. VanC tipi direnç için üç protein gereklidir: Bunlardan birincisi VanT dir, D-ser'i üreten bir membrana bağlı serin racemase proteindir. İkincisi VanC dir, D-ala-D-ser sentezini katalizleyen bir ligaz proteindir. Üçüncü VanXYC dir hem D,D-dipeptidaz hem de D,D-karboksiptidaz aktivitesine sahip olan ve D-ala ile sonlanan prekürsörlerin hidrolizini temin eden proteindir.

E. casseliflavus ile *E. flavescens* türlerinde bulunan VanC-2, VanC-3 karşılaştırıldığında % 97 -% 100 gibi çok yüksek bir oranda benzerlik bulunmaktadır. Bu nedenle, bu türleri birbirinden farklı iki tür olarak değerlendirmek çok zordur (Çetinkaya ve ark., 2000; Courvalin, 2006).

VanD tipi direnç: VanD genotipi saptanan suşlar vankomisine (MIC=64-256ug/ml), teikoplanine (MIC=4-32 ug/ml) dirençlidir. D-Ala-d-Lac şeklinde biten peptidoglikan öncüllerinin üretimine bağlı olarak kazanılmış VanD-tipi direnç ortaya çıkmıştır. Sadece Kromozom yerleşimli olan VanD operonunun organizasyonu, vanA ve vanB ligaz genlerine %67'lik uyum göstermektedir. VanD tipi direnç kromozomal lokasyonlu olduğu için enterokokların türleri arasında konjugasyonla aktarılamadığı saptanmıştır. D,D dipeptidaz aktivitesi VanD izolatlarında tespit edilmezken, karboksiptidaz varlığı düşük düzeydedir. Bu direnç tipine *E. faecium* suşlarında rastlanmaktadır (Çetinkaya ve ark., 2000; Courvalin,2006).

VanE tipi direnç: VanE fenotipi, dirençli Enterococcus türlerinde olduğu gibi D-Ala-D-Ser şeklinde biten peptidoglikan öncüllerinin sentezine bağlı olarak vankomisine (MIC=8-32 ug/ml) düşük seviyeli direnç ve teikoplanine (MIC=0.5 ug/ml) duyarlılığa karşılık gelir. VanE geni kromozomal lokasyonludur ve aktarılamaz. VanE kümesinin, vanC operonunla benzer organizasyona sahip olduğu bilinmektedir. Bu direnç ilk kez *E. faecalis* suşunda saptanmıştır (Çetinkaya ve ark., 2000; Courvalin, 2006).

VanG tipi direnç: Kazanılmış VanG tipi nde düşük vancomycin (MIC, 16 mg / mL) direnci, teikoplanin (MIC, 0.5 mg / mL) duyarlılığı ve d-Ala-d-Ser şeklinde son bulan peptidoglikan öncüllerinin indüklenebilir sentezi ile karakterizedir. VanG direnç transfer edilemez. Kromozomal vanG kümesi çeşitli van operonlarından toplanılan 7 genden oluşmaktadır. Diğer van operonların aksine, gen küme varsayılan düzenleyici sistemini kodlayan 3 geni içerir (Van UG, Van RG, Van SG). VanRG ve vanSG, vanRD ve vanSD'ye en yüksek benzerliğe sahiptir VanRG ve vanSG, vanRD ve vanSD'ye en yüksek benzerliğe sahiptir ve ilave vanUG geni, bir öngörülen transkripsiyonel aktivatörü kodlar. Bu tipteki bir protein, daha önce glikopeptid direnci ile ilişkili bulunmamıştır. *E. faecalis* suşunda tanımlanmıştır (Çetinkaya ve ark., 2000; Courvalin,2006).

Kloramfenikol direnci

Direnç oluşturan mekanizma“*cat*” geni ile kodlanan kloramfenikol asetil transferaz üretimine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Enterokokların %20-42’si kloramfenikole dirençlidir (Murray, 1990; Klare ve ark., 2003).

Tetrasiklin direnci

Tetrasiklin Dirençinden sorumlu tetM, tetQ ve tetN, tetL gibi çok sayıda gen tespit edilmiştir. Bu genler (tetM, tetQ ve tetN, tetL) aracılığı ile tetrasiklinlerin ribozomlar üzerindeki etkisinin yok edilmesine bağlı olarak ribozomal direnç oluşturduğu düşünülmektedir. TetL geni bir plazmid ile TetM geni ise Tn916 transpozonu ile taşınmaktadır. TetL geni mikroorganizma tetrasiklinle karşılaştığında amplifiye olurken aynı zamanda tetrasiklinlerin hücre dışına pompalanmasını sağlayan

aktif transport sistemini de kodlamaktadır. Tetrasiklin direnci enterokoklardaki konjugasyon yolu ile kazanılan direncin en tipik örneğidir (Murray, 1998; Akçimen,2010).

Kinolon direnci

Direnç *gyrA* (giraz) ve *parC* (topoizomeraz) genlerindeki mutasyonlar sonucunda olusturulmaktadır. Enterokokal suşların çoğunluğu kinolonlara orta dercede duyarlılık veya direnç göstermektedir (Klare ve ark., 2003; Akçimen, 2010).

MLSB (Makrolid, Linkozamid ve B tipi Streptogramin) direnci

Enterokoklarda çok sık görülen diger bir direnç türüdür. Genellikle 23S rRNA'nın metilasyonundan sorumlu olan *ermB* geni ile ilişkilidir ve Metilasyon nedeniyle eritromisin ribozomlara bağlanamaz *ermB* geni Tn917 transpozonu ile çeşitli plazmidler üzerinde taşınabilmektedir. Ayrıca asetil transferaz veya Antimikrobiyal ajanın hücre dışına atılmasını ve indüklenebilir ve tüm substratlara karşı direnç gelişimi oluşturma mekanizması sonucu da oluşabilir. (Klare ve ark., 2003; Akçimen, 2010)

Oksazolidinon direnci

Multipli ilaç direnci gösteren enterokoklar ile oluşan enfeksiyonlarda oksazolidinon grubu antibiyotik olan linezolid iyi bir seçenektir. Ancak 2002 yılında linezolide direnç rapor edilmiştir. Bu dirençin oluşumuna mutasyonlar (G-2576T) neden olmuştur (Klare ve ark., 2003; Wolter ve ark., 2005).

2.9. Tedavi

Enterokoklar penisilin ve diğer beta laktam grubu antibiyotiklerin etkilerine toleranslıdır. *E. faecalis* suşlarında beta laktam direnci az oranlarda görülürken *E. faecium* izolatlarının neredeyse tamamında beta laktam direnci mevcuttur bu yüzden enterokok enfeksiyonların tedavisinde, enterokokların antibiyotiklere karşı farklı oranlarda direnç geliştirmesi tedavi yöntemlerini karmaşık hale getirmektedir. Beta-laktam direnci nedeniyle enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde vankomisin, betalaktam + betalaktamaz inhibitörleri uygulanabilir. VRE'lerin bir kısmı (özellikle *E.*

faecalis) penisilin G veya ampisiline duyarlı olabilir. Bu nedenle, VRE enfeksiyonlarının tedavisinde penisilin G ya da ampisilin denenebilir. Penisilin G aynı zamanda vankomisine yüksek oranda direnç gösteren enterokokların (genellikle *E. faecium*) oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi ciddi bir durumdur. Vankomisin + penisilin G ya da vankomisin + ampisilin birlikteliği VRE'lerin üremesini durdurucudur, ampisilin + vankomisin + gentamisin birlikteliğinde etkili olduğu bilinmektedir. Üriner sistem enfeksiyonu, peritonit ve yara enfeksiyonları gibi hastalıkların etkeni enterokoklar ise ampisilin, penisilin veya vankomisin gibi ilaçların yalnız biri ile tedavi edilebilmektedir, eğer Enterokoklar bakteriyemi menenjit endokardit gibi ciddi enfeksiyonların etkeni ise bu durumda sadece beta-laktamlar tedaviyi başarısız kılmaktadır. Bu nedenle bakteriyel etkinliğin sağlanması için hücre duvarını yıkan bir antibiyotikle (penisilin G, ampisilin veya vankomisin) protein sentezini durduran antibiyotik (streptomisin veya gentamisin) birlikte uygulanması ile sinerjistik etki sağlanmaktadır (Çetinkaya ve ark., 2000; Moellering, 2005; Tünger, 2012).

Penisilin allerjisi olan kişilerde ya da penisilin direncinin maksimum olduğu olgularda penisilin G ile ampisilin yerine vankomisin uygulanabilir. Gentamisin direnci çok yüksek aynı zamanda enterokokların etkeni olduğu menenjitli ya da endokarditli hastalarda yüksek oranda streptomisin direnci tanımlanmalıdır. Kombinasyon tedavisi uygulandığında Streptomisine karşı yüksek düzey direncin olmadığı durumlarda gentamisinin yerine Streptomisin kullanılabilir. Endokarditli, menenjitli buna paralel olarak yüksek düzey Streptomisin direnç geni taşıyan hastalarda gentamisine direnç geni taşıyıcısı değil ise kombinasyon tedavisinde gentamisin uygulanabilir (Çetinkaya ve ark., 2000; Moellering, 2005; Tünger, 2012).

VRE yayılımını durduracak ajanların az oranda gelişmesi, hastalarda tedavinin başarısını etkileyecek diğer hastalıkların bulunması, yalnız antibiyotik tedavisinin etkisini göstermediği, cerrahi enfeksiyonların varlığı, VRE enfeksiyonlarının çoğunun polimikrobiyal olması gibi nedenlerle çoklu ilaç dirençli enterokok olgularında sayıca artış görülmektedir. Kloramfenikol, Fosfomisin Nitrofurantoin Tetrasiklin, Rifampin gibi bu eski ilaçlar VRE tedavisinde kombinasyonlar şeklinde kullanılabilir. Bu ilaçlardan kloramfenikol in vitro koşullarda enterokoklara ve VRE suşlarına

bakteriostatik etki gösterir. VRE infeksiyonlarında yeni kuşak sefalosporinler Tetrasiklin-doksisiklin, florokinolonlar, rifampisin, basitrasin ve novobiyosinin gibi antibiyotiklerin uygulanması ile ilgili in vitro ya da klinik çalışmalar çok nadirdir. Enterokoklarda Tetrasiklin ve doksisiklinin duyarlılığı çok fazla değişiklik göstermektedir (Çetinkaya ve ark., 2000; Moellering, 2005; Tünger, 2012).

Enterokoklardaki doğal ve kazanılmış antibiyotik direnç durumları tedavilerde yeni antibiyotiklerin kullanılmasını sonucunu doğurmuştur (Çetinkaya ve ark., 2000; Moellering, 2005; Tünger, 2012).

Kinupristin-dalfopristin karışımı 3/7 oranında birleşen yarısentetik bir streptogramin molekülüdür. 1980'li yıllarda Avrupa'da antistafilokokal antibiyotik olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ülkemizde ise günümüze kadar piyasaya girmemiş bir antimikrobiyaldir. Bu bileşende dalfopristin birincil olarak ribozomal 50S ünitesine tutunur, bağlandığı kısmı kalıcı fakat konformasyonel değişikliğe uğratarak kinupristinin ribosomal bağlanmasını kolaylaştırır. Dalfopristin peptidil transferazı bloke ederken Kinupristin ise peptid zincirinin uzamasını sonlandırır, bu iki mekanizmayı takiben bakterisidal etkinlik sağlanmaktadır. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, gibi gram pozitif mikroorganizmalara karşı bakterisidal etki gösterirken *E. faecium* suşlarına bakteriyostatiktir. 1999 yılında FDA onayı ile bu antibiyotik VRE infeksiyonlarında kullanımına izin verilmiştir (Çetinkaya ve ark., 2000; Moellering, 2005; Tünger, 2012).

Linezolid bir oksazolidinon bileşimidir. Oral ve intravenöz formları olmakla birlikte biyoyararlanımı oldukça yüksektir. 30S ribozomal ünitesinin 50S ribozomal ünitesine bağlanma noktasına yakın bir yerden tutunur. Böylece 70S başlangıç kompleksini oluşumunu bloke eder. Gram pozitif etkinliği çok yüksek olmasına rağmen dezavantajı enterokoklar üzerinde bakteriyostatik etki göstermesidir. 2000 yılında FDA, VRE üzerine çalışma onayını almıştır (Çetinkaya ve ark., 2000; Moellering, 2005; Vidya ve ark., 2009; Tünger, 2012).

Daptomisin *Streptomyces roseosporus*'dan soyutlanan siklik bir lipopeptittir. Kalsiyuma bağlanıp aktif hale geçmektedir böylelikle hücre zarıyla haberleşerek iyon kanalları meydana getirir. İyon kanallardan hücre dışına çıkan potasyum iyonları hücre

zarında depolarizasyon oluşturmaktadır. Hücre duvarını ve bakteri hücreini parçalamadan, bakterileri öldürebilmesi nedeniyle toksin salınımına bağlı komplikasyonu görülme olasılığı azdır. Antibiyotiğin kullanımından sonra bakteri hücre duvarı yıkımını aynı zamanda hücre zarında bulunan fosfolipit mekanizmasını kontrolünden sorumlu olan genlerde (LiaF, GdpD) mutasyonel değişiklik nedeniyle direnç olduğu daptomisin hücre zarına afinitesinin azaldığı gösterilmiştir. S.aureus bakteriyemisi ve endokarditi için 2006'da FDA(Food and Drug Administration) onayı almıştır. E.fecalis ve E. faecium olmak üzere gram pozitif mikroorganizmaların geneli üzerinde etkilidir (Çetinkaya ve ak., 2000; Vidya ve ark., 2009; Cesar ve ark., 2011; Tünger, 2012; Yıldız ve ark., 2014).

Tigesiklin, glisilsiklinlerin ilk üyesi olan minosiklinden türetilmiş bir antibiyotiktir. Tetrasiklinle benzer grupta ancak sentetik olarak N-alkil amido grubu eklenerek çoklu ilaca dirençli gram pozitif bakteriler (MRSA gibi) ve birçok gram negatif basillere karşı etkinliği artırılıp daha geniş spektrumlu hale getirilmiştir. 30S ribozomal alt üniteye bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Tetrasiklinlere göre ribozomlara beş kat daha güçlü bağlanırlar (Çetinkaya ve ark., 2000; Moellering,2005; Tünger, 2012).

2.10. Koruma ve kontrol

VRE kontrolü neden olduğu birçok ciddi enfeksiyondan dolayı son derece zorlayıcı olarak kabul edilmektedir. VRE kontrolü için ilkeler ilk defa 1995 'te "Centers for Disease Control and Prevention (CDC) aracılığıyla yayınlandı ve böylelikle başkaları tarafından çok yönlü bir yaklaşımın gerekliliğini vurgulayarak takip edildi (Ural, 1998; Alp ve Çetinkaya, 2008; Orsi ve Ciorba, 2013).

Bütün kılavuzlar, el yıkama da dâhil sağlık çalışanları eğitimini önermektedir. El yıkama ile tüm personelin hasta ile temastan öncesi ve sonrasında ellerini yıkaması önerilmelidir. Temas kontrolü, yalnızca hedeflenen patojenlerden kaynaklanan enfeksiyon sıklığını azaltmada etkili olmakla kalmaz, aynı zamanda, diğer çok ilaca dirençli organizmaların yayılmasını önleyen bir teminat sunar (Ural, 1998; Alp ve Çetinkaya, 2008; Orsi ve Ciorba, 2013).

VRE yayılımını önleyici metodlar eğitim programlarıyla hemşireler, temizlik işi personeli, hasta bakıcı, laboratuvar çalışanları, doktorlar, eczacılar ve öğrencilere eğitim verilmeli, metodların doğru şekilde uygulanmasına dikkat edilmelidir. Bu eğitim programında VRE epidemiyolojisi, bulaşma yolları, VRE ciddiyeti, korunma stratejileri, kontrol yöntemleri konusunda tüm hastane çalışanlarına bilgi verilmelidir.

Hastane İçinde VRE yayılımının önlenmesi ve kontrolünün sağlanması için infektif VRE'li ya da kolonize VRE'li hastalar tek kişilik odalarda yatırılmalı, odasına girerken eldiven takılması, hasta ve çevresel yüzeyle teması olan personelin önlük kullanması kritik olmayan cihazların (stetoskop gibi), bir hastaya tahsis edilmesi CDC önerileri arasındadır (Ural,1998; Alp ve Çetinkaya, 2008; Orsi ve Ciorba, 2013).

Uygun vankomisin kullanımıyla hedeflenen amaç kullanılan antibiyotik parametresinin daraltılması ve mikroorganizmaların hastalar arasındaki yayılımın önlenmesidir. Vankomisin kullanımı, VRE edinimi için en önemli risk faktörlerinden biri olarak tanımlanmıştır. Vaka kontrol çalışmalarında kolonizasyon ve VRE enfeksiyonu vankomisine, üçüncü kuşak sefalosporinlere, siprofloksasin ve aminoglikozidlere maruz kalma ile ilişkilendirilmiştir. CDCye bağlı Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) önerileri günümüzde çok fazla kabul görmektedir. Önerilerinde, uygun ve uygun olmayan vankomisin kullanımına ilişkin ilkeler tanımlanmıştır (Ural,1998; Alp ve Çetinkaya, 2008; Orsi ve Ciorba, 2013).

VRE salgınlarının kontrol altında tutulması için İnfektif VRE ların ya da VRE kolonizasyonuna sahip kişilerin en kısa süre içinde tespit edilmesi klinik Mikrobiyoloji laboratuvarının en etkili şekilde kullanılmasıyla bağlantılıdır. VRE salgınlarına verilen mücadelede Mikrobiyoloji laboratuvarı önemli bir basamaktır. Çünkü tüm kontrol yöntemleri laboratuvardan gelen kültür ve duyarlılık cevaplarına göre değerlendirilir. Hastalık yapan etkenin tespit edilmesi identifikasyonu, duyarlılığı, direnç durumu doğru ve hızlı raporlandırılmalı böylelikle en erken zamanda kontrol önlemleri alınır ve yayılım engellenir. Klinik bir örnekten VRE izole edildiğinde duyarlılık testininin sonuçları klavuzdan tekrarlanmalı ve değerlendirildikten sonra enfeksiyon kontrol komitesine ve hastanın izlenmekte olduğu servise bildirilmelidir (Ural,1998; Alp ve Çetinkaya, 2008; Orsi ve Ciorba, 2013).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Alet ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan aletler

Biyogüvenlik düzey II çalışma kabini

Hassas terazi

pH metre

Isı banyosu

Isı döngü cihazı (termal cycler)

Otomatik pipetler

-80°C dondurucu

Elektroforez cihazı

Güç kaynağı

Manyetik karıştırıcı

Mikrodalga Fırın

Isı bloğu

Spin vortex

Soğutmalı mikrosantrifüj

Gel görüntüleme sistemi

Etüv

3.1.2. Kullanılan gereçler

Tüp sporu

Eldiven

Mezür

Balon joje

Eküvyon

Öze

Otomatik pipet

Petri (9 cm)

Mueller-Hinton agar (toz) 500 gr

Sheep blood agar besiyeri
Vankomisin E-test sribi
Teikoplanin E-test sribi
Filtreli Pipet ucu RNase-Dnase Free
PCR tüpü 0,2 mL
Eppendorf tüp 1,5 ml
16 baz'lık Primer
Taq DNA Polimeraz
100 bp DNA ladder
10X TBE Buffer
25 Mm MgCl₂
10 Mm Dntp Miks
PCR WATER
Agarose (routine)
Ethidium bromide solution
LYSOZYME, Ultra Pure (Egg White)

3.2. Hasta Örneklerinde VRE Suşlarının İzole Edilmesi

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda 2015-2018 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen standart mikrobiyolojik yöntemler ve MicroScan WalkAway 96 Plus (Beckman Coulter, ABD) kullanılarak Vankomisine dirençli olduğu belirlenen 30 Enterococ spp. (VRE) suşu çalışmaya dâhil edilmiştir. Çalışmada kullanılan izolatlar gradient testleri ve genotipik testler çalışılincaya kadar %20 gliserollü buyyonda -80°C'de saklanmıştır.

Laboratuvara gönderilen örneklerin koyun kanlı besiyerine ekimi yapıldıktan sonra 37°C'de 24-48 saat enkübe edilmiştir. Bu süre sonunda üreme saptanan ve uygun koloni morfolojisine sahip, Gram pozitif, pyrolidonyl arylamidaz (PYR) testi pozitif, katalaz testi negatif koklar enterokok olarak tanımlandı. Suşların tür düzeyinde identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testlerinin belirlenmesinde üretici firmanın önerileri doğrultusunda MicroScan WalkAway 96 Plus (Beckman Coulter, ABD)

kullanılarak EUCAST kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Ayrıca izolatlar İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Matriks Aracılı Lazer Desorbsiyon İyonizasyon - Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) temelli bir sistem olan VITEK MS (BioMerieux, Fransa) (database v2.0) ile tanımlanmıştır.

3.3. Gradient testi ile Vankomisin ve Teikoplanin direnci saptanması

Çalışma zamanına kadar %20 gliserollü buyyonda -80°C'de saklanan VRE izolatları iki kez pasajlandıktan sonra gradient test yöntemi ile fenotipik olarak Vankomisin ve Teikoplanin direnci saptanmıştır. Bu amaçla bakteriden 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanan süspansiyonlar Müeller-Hinton agar besiyeri yüzeyine steril eküvyon çubuğu yardımıyla sürüntü ekimi yapılmıştır. Daha sonra Vankomisin ve Teikoplanin gradient test stripleri yerleştirilerek plaklar 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda üremenin görülmediği hattın gradient testi üzerindeki MİK değeri ile kesiştiği nokta kaydedilmiştir.

3.4. Moleküler Yöntemle Direnç Genlerinin Tespiti

Kaynatma yöntemiyle DNA ekstraksiyonu: Çalışma öncesi izolatlar koyun kanlı agara tek koloni ekimi yapılarak 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Plaklarda üreyen bakterilerden eküvyon çubuğu yardımı ile toplanarak 1 ml steril serum fizyolojik içerisinde 1-2 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Mikrosantrifüj tüplerine alınan bu süspansiyon 15000 rpm'de 15 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant aspire edilerek pellet 100 µl TE tamponu ile resüspanse edilmiştir. Isı bloğunda 100°C'de 5 dk kaynatılarak -20°C derin dondurucuda saklanmıştır.

Çözeltilerin Hazırlanması:

TE tamponu (10 mM Tris HCL, 1 mM EDTA pH 8.0)

315,12 mg Tris-HCl 200 ml distile su

58,4 mg EDTA, Tris-HCl içine eklendi (pH:8)

10X TBE Tamponu (pH:8)

121,1 g	Tris-base
61,83 g	Borik asit
5,84 g	EDTA (son hacim 1000 ml ayarlandı. pH:8)

Nusieve agaroz jel (%3'lük)

1,5 g	Nusieve agaroz
50 ml	%0,5'lik TBE

Primerler ile 2X Master Mix karışımı hazırlanması:

1 örnek için (μ l) aşağıda hacimleri verilen karışım 6 örnek için hazırlandı.

13	2X Master Mix
0,2 / 0,2	<i>E. faecium</i> F/R
0,3 / 0,3	<i>E. faecalis</i> F/R
1 / 1	VanA F/R
0,3 / 0,3	VanB F/R
0,6 / 0,6	VanC-1 F/R
2,2	H ₂ O

Amplifikasyon reaksiyonu

0,2 ml PCR tüpünde hazırlanarak PCR cihazına yerleştirildi. Her amplifikasyon örneği için;

20 μ l	2X Master Mix ve primer karışımı
5 μ l	kalıp DNA

Amplifikasyon koşulları

95°C'de 5 dakika	
95°C'de 45 saniye	} 30 siklus
56°C'de 30 saniye	
65°C'de 2 dakika	
65°C'de 10 dk	

Jel Elektroforez işlemi

PCR işleminden sonra örneklerden 10 µl alınarak agoroz jele yüklendi. Jel 150 voltta 3 saat elektroforez işlemine tabi tutuldu. Daha sonra görüntüleme sistemine aktarılmıştır. Kullanılan primerler tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Çalışmada kullanılan primerler

Amplified gene	Sequence (5' - 3')
<i>E. faecalis</i>	F: ATCAAGTACAGTTAGTCT R: ACGATTCAAAGCTAACTG
<i>E. faecium</i>	F: TAGAGACATTGAATATGCC R: TCGAATGTGCTACAATC
<i>vanA</i>	F: GGGAAAACGACAATTGC R: GTACAATGCGGCCGTTA
<i>vanB</i>	F: ACGGAATGGGAAGCCGA R: TGCACCCGATTTTCGTTT
<i>VanC</i>	F: ATGGATTGGTAYTKGTAT* R: TAGCGGGAGTGMCYMGTA* [*]

* K = G veya T; M = A veya C; Y = C veya T

3.5. İstatistik Yöntem

Oranlar arası fark için Z testi ile oran karşılaştırması yapılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.

3.6. Çalışma Onayı

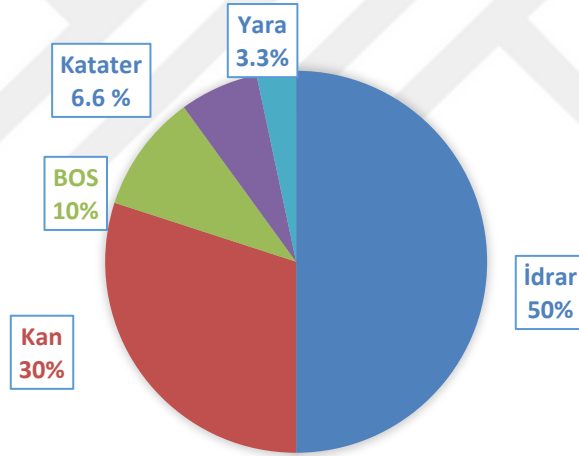
Çalışma için Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 31.03.2015/13 no'lu karar ile izin alınmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Suşların Genel Özellikleri

Çalışmaya çeşitli kliniklerden gönderilen materyallerden izole edilen 30 enterokok suşu dâhil edilmiştir. Gönderilen materyallerin dağılımı ise 15'i idrar, 9'u kan, 3'ü beyin omurilik sıvısı (BOS), 2'si kateter ve 1'i yara örneklerinden oluşmaktadır. Enterokok izolatlarının elde edildiği klinik örneklerin dağılımı şekil 6'da verilmiştir. Enterokok izolatlarının MicroScan WalkAway 96 Plus (Beckman Coulter, ABD) kullanılarak yapılan identifikasyon işlemi sonucu 29'u *E. faecium* ve bir adedi *E. faecalis* olarak belirlenmiştir. VITEK MS sistemi ile de (BioMerieux, Fransa) suşlar aynı şekilde tanımlanmıştır.



Şekil 6. Enterokok izolatlarının elde edildiği klinik örneklerin dağılımı (%)

4.2. Enterokok Suşlarının otomatize sistemle antibiyotik duyarlılıkları

Çalışılan enterokok suşlarının MicroScan WalkAway 96 Plus (Beckman Coulter, ABD) kullanılarak yapılan vankomisin ve teikoplanine karşı duyarlılık test sonuçları tablo 6'da; diğer antibiyotiklere direnç durumları ise tablo 7'de ve tüm antibiyotiklere direnç oranları ise tablo 8 ve şekil 7'de verilmiştir. Buna göre tüm izolatlarda vankomisin ve teikoplaninin her ikisi için MİK değerleri >16 mg/L bulunmuştur.

Tablo 6. Otomatize sistemle vankomisin ve teikoplanin duyarlılık test sonuçları

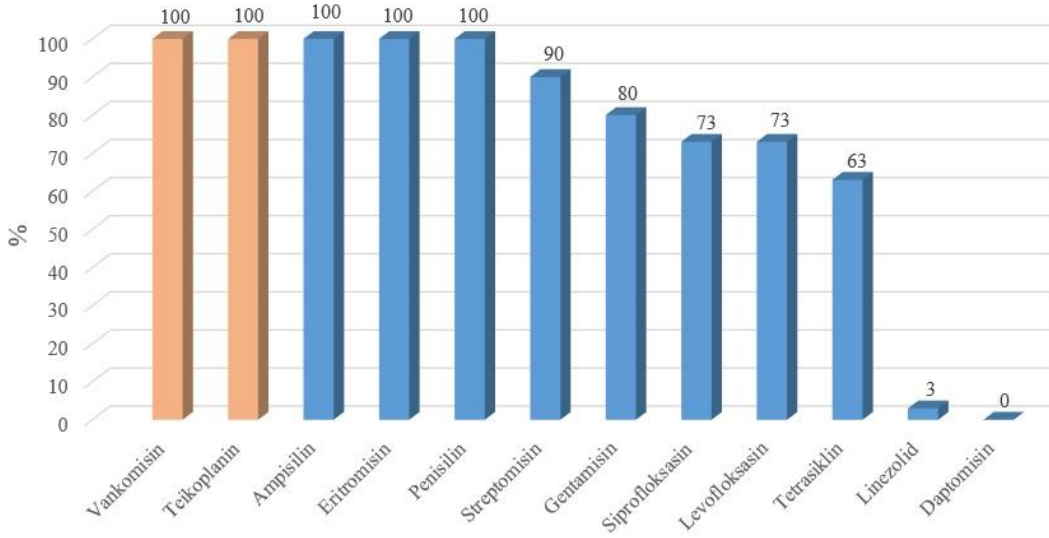
Suş No	Örnek Türü	Suş Adı	Vankomisin	Teikoplanin
1	Kan	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
2	Kan	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
3	Kateter	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
4	Yara	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
5	Kan	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
6	Kateter	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
7	Kan	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
8	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
9	BOS	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
10	Kan	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
11	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
12	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
13	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
14	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
15	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
16	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
17	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
18	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
19	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
20	İdrar	<i>E. faecalis</i>	>16 (R)	>16 (R)
21	BOS	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
22	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
23	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
24	Kan	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
25	BOS	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
26	Kan	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
27	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
28	Kan	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
29	Kan	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)
30	İdrar	<i>E. faecium</i>	>16 (R)	>16 (R)

Tablo 7. Otomatize sistemle diğer antibiyotiklere direnç durumları

Suş No	Örnek Türü	Suş Adı	Ampisilin	Eritromisin	Penisilin	Streptomisin	Gentamisin	Ciprofloksasi	Levofloksasin	Tetrasiklin	Linezolid	Daptomisin
1	Kan	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S
2	Kan	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
3	Kateter	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
4	Yara	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
5	Kan	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S
6	Kateter	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	-
7	Kan	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	I	S	R	S	S
8	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
9	BOS	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
10	Kan	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	-
11	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
12	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	S	S	S	S	-
13	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	-
14	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	-
15	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	-
16	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
17	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	-
18	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
19	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
20	İdrar	<i>E. faecalis</i>	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S
21	BOS	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	S	S	S	S	-
22	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	S	-
23	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	R	-
24	Kan	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	S	-
25	BOS	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S
26	Kan	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	-
27	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	-
28	Kan	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S
29	Kan	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
30	İdrar	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S

Tablo 8. Otomatize sistemle tüm antibiyotiklere direnç oranları

Antibiyotik Adı	Test edilen Suş sayısı	R	%
<i>Vankomisin</i>	30	30	100
<i>Teikoplanin</i>	30	30	100
Ampisilin	30	30	100
Eritromisin	30	30	100
Penisilin	30	30	100
Streptomisin (yüksek düzey)	30	27	90
Gentamisin (yüksek düzey)	30	24	80
Siprofloksasin	30	22	73
Levofloksasin	30	22	73
Tetrasiklin	30	19	63
Linezolid	30	1	3
Daptomisin	17	0	0



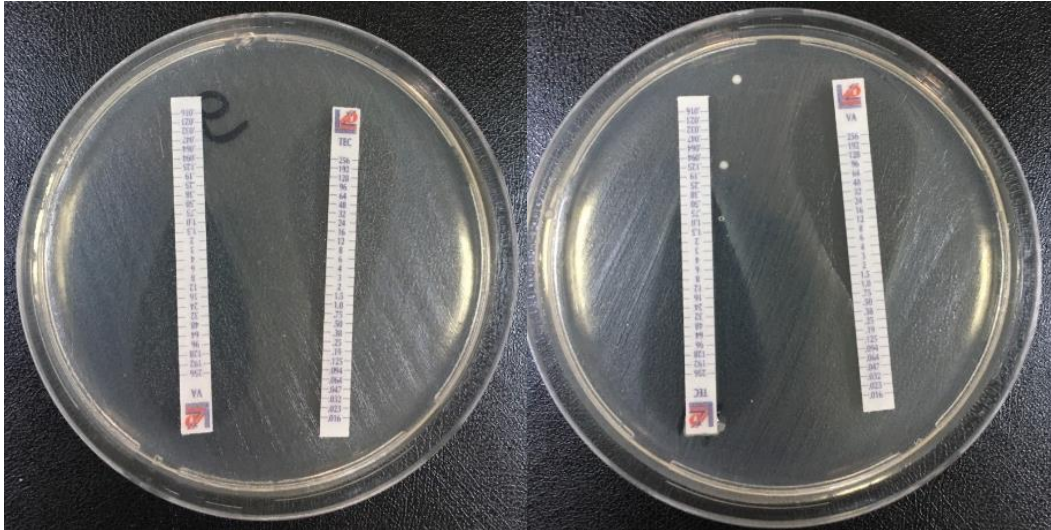
Şekil 7. Otomatize sistemle tüm antibiyotiklere direnç oranları

4.3. Vankomisin ve Teikoplanin Gradient testi sonuçları

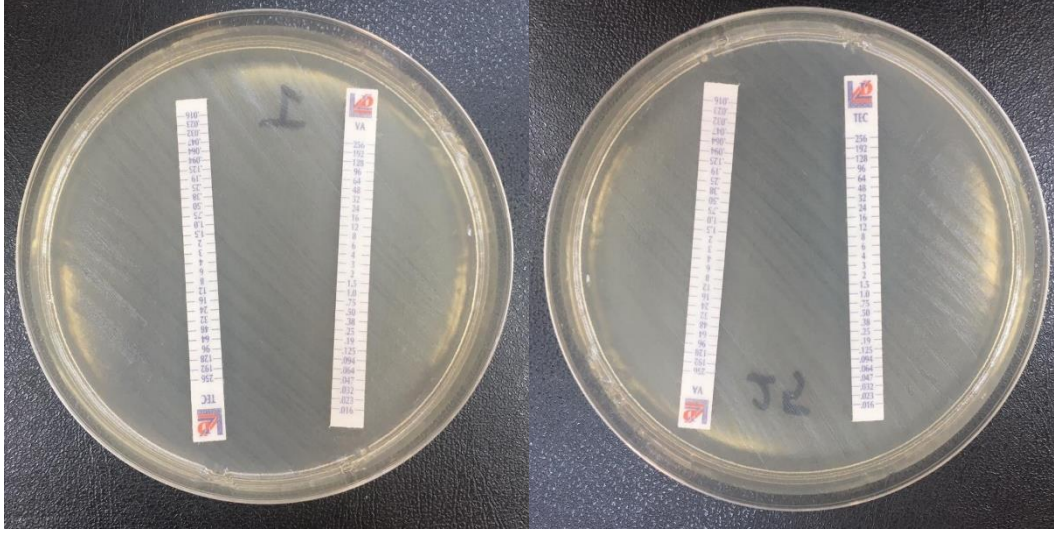
Vankomisin ve Teikoplanin için yapılan gradient testi sonuçlarına göre 9, 11 ve 20 numaralı suşlar için elde edilen MİK değerleri EUCAST kriterlerine göre kıyaslandığında vankomisin ve teikoplanine karşı üçü de duyarlı olarak tespit edilmiştir. Diğer suşların tamamı vankomisin ve teikoplanine dirençli tespit edilmiştir (MİK > 256). Vankomisin ve teikoplanin için elde edilen MİK değerleri tablo 9'de, gradient testi ile vankomisin ve teikoplanine duyarlı ve dirençli suşların görüntüleri şekil 8 ve 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Vankomisin ve teikoplanin için gradient testi sonuçları

Suş No	Suş Adı	Antibiyotikler	
		Vankomisin	Teikoplanin
9	<i>E. faecium</i>	0.5	0.25
11	<i>E. faecium</i>	0.5	0.25
20	<i>E. faecalis</i>	0.5	0.5
Diğer suşlar	<i>E. faecium</i>	>256	>256



Şekil 8. Gradient testi ile Vankomisin ve Teikoplanine duyarlı suşlar



Şekil 9. Gradient testi ile Vankomisin ve Teikoplanine dirençli suşlara örnekler

4.4. Direnç Genlerinin Dağılımı

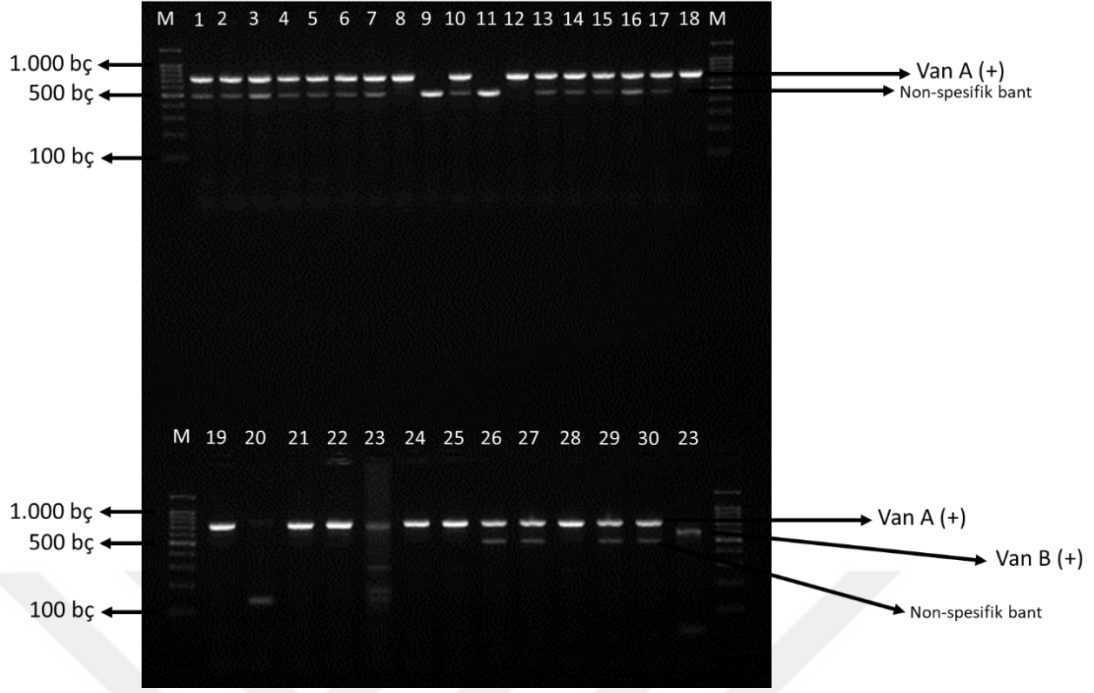
Moleküler yöntemlerle yapılan direnç genlerinin tespitinde 30 suşun 27'sinde Van A, 1'inde (23 no'lu suş) Van B geni tespit edilmiştir. Hiçbir suşta Van C genine rastlanmamıştır. Direnç genlerinin dağılımı tablo 10'da jel görüntüleri ise şekil 10 ve 11'de verilmiştir.

Otomatize sistem ve moleküler yöntemle suşların identifikasyonu uyumlu olarak tespit edilmiştir. Her iki yöntemle de toplam 30 suşun 29'u *E. faecium*; bir adedi *E. faecalis* olarak izole edilmiştir.

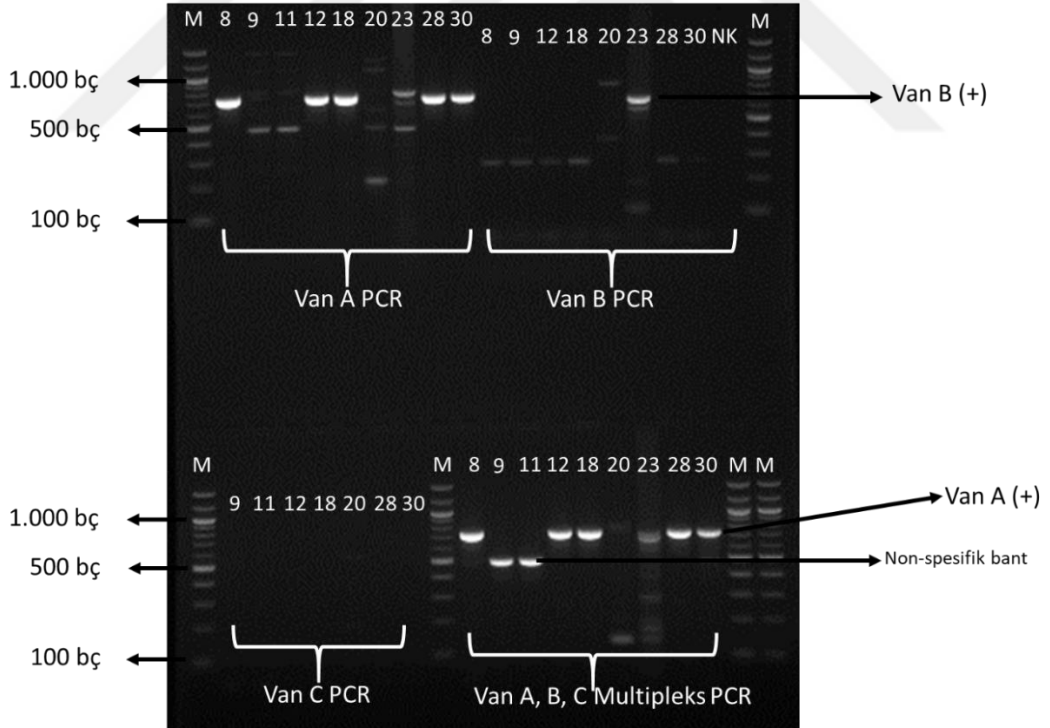
Otomatize sistemle tüm suşlar vankomisin ve teikoplanine karşı dirençli bulunmuştur. Gradient test yöntemi ile 9, 11 ve 20 no'lu suşlar vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunmuştur. Moleküler yöntemle de bu 9, 11 ve 20 no'lu suşlarda Van A, Van B ve Van C genlerinin hiçbirisine rastlanmamıştır.

Tablo 10. Direnç genlerinin dağılımı

Suş No	Suş Adı	Direnç Genleri		
		VanA	VanB	VanC
1	<i>E. faecium</i>	+	-	-
2	<i>E. faecium</i>	+	-	-
3	<i>E. faecium</i>	+	-	-
4	<i>E. faecium</i>	+	-	-
5	<i>E. faecium</i>	+	-	-
6	<i>E. faecium</i>	+	-	-
7	<i>E. faecium</i>	+	-	-
8	<i>E. faecium</i>	+	-	-
9	<i>E. faecium</i>	-	-	-
10	<i>E. faecium</i>	+	-	-
11	<i>E. faecium</i>	-	-	-
12	<i>E. faecium</i>	+	-	-
13	<i>E. faecium</i>	+	-	-
14	<i>E. faecium</i>	+	-	-
15	<i>E. faecium</i>	+	-	-
16	<i>E. faecium</i>	+	-	-
17	<i>E. faecium</i>	+	-	-
18	<i>E. faecium</i>	+	-	-
19	<i>E. faecium</i>	+	-	-
20	<i>E. faecalis</i>	-	-	-
21	<i>E. faecium</i>	+	-	-
22	<i>E. faecium</i>	+	-	-
23	<i>E. faecium</i>	+	+	-
24	<i>E. faecium</i>	+	-	-
25	<i>E. faecium</i>	+	-	-
26	<i>E. faecium</i>	+	-	-
27	<i>E. faecium</i>	+	-	-
28	<i>E. faecium</i>	+	-	-
29	<i>E. faecium</i>	+	-	-
30	<i>E. faecium</i>	+	-	-



Şekil 10. PCR yöntemi ile direnç genlerinin jel görüntüsü



Şekil 11. PCR yöntemi ile direnç genlerinin jel görüntüsü

Buna göre moleküler yöntem standart olarak kabul edildiğinde otomatize sistemin *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarını tanımlamada duyarlılık ve özgüllükleri %100 olarak bulunmuştur. Vankomisin ve teikoplanin direncini saptamada moleküler yöntem standart olarak kabul edildiğinde otomatize sistemin duyarlılığı %100 ve özgüllüğü %0 olarak bulunmuştur.

Vankomisin ve teikoplanin direncini saptamada moleküler yöntem standart olarak kabul edildiğinde gradient test yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak bulunmuştur (Tablo 11).

Tablo 11. Yöntemlerin birbirleriyle karşılaştırılması

Yöntem Adı		Dirençli (R)	Duyarlı (S)	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Otomatize sistem	Vankomisin	30	0	100	0
	Teikoplanin	30	0	100	0
Gradient Test	Vankomisin	27	3	100	100
	Teikoplanin	27	3	100	100
Moleküler Yöntem	Van A Van B Van C	27	3		

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tıp alanında yaşanan gelişmeler hızla ilerlerken hastane enfeksiyonlarında Enterokokların artan oranlarda gözlenmeleri spesifik olarak kendilerinde var olan klindamisin, florokinolon, trimetoprim-sulfometoksazol, düşük düzey penisilin ve düşük düzey aminoglikozit direnç özellikleri, aynı zamanda transpozon mutasyon ve plazmitlerle oluşan tetrasiklin, eritromisin, rifampin, kloramfenikol, yüksek düzeyde aminoglikozit, beta laktam, florokinolon ve glikopeptit dirençleri nedeniyle günümüzün sorunlu gram pozitif bakteriler grubu içerisinde yerini almasına neden olmuştur (Scott, 2000; Courvalin, 2006; Wilke, 2008).

Enterokok enfeksiyonları arasında birincil olarak üriner enfeksiyonlar, ikincil olarak intraabdominal ve pelvik enfeksiyonlar, üçüncül olarak ise bakteriyemiler yer almaktadır. Enfeksiyonların çoğu nozokomiyaldir ve üriner kataterizasyon ya da üriner alet uygulanması gibi işlemler sonrası ortaya çıkar. İntraabdominal ve pelvik enfeksiyonlarında karın içi ve pelvik bölgedeki enfeksiyonlar genellikle karaciğer sirozu ile birlikte veya kronik peritoneal diyalizi alan hastalarda görülür. Enterokoklara özgü bakteriyemiler ise daha çok ileri yaşlarda ve sağlık sorunu yaşayan veya immüsupresyon durumu olan uzun zaman hastanede yatan ve antibiyotik öyküsü olan kişilerde görülür. Bu tip enfeksiyonların mortalitesi %30' lara ulaşmaktadır (Yıldırım, 2007; Durmaz,2008; Sayiner, 2008; Gilmore, 2014).

Enterokokların çoğu gastrointestinal sistem ve kadın genital sisteminin doğal elemanıdır. Bu mikroorganizmalar gastrointestinal sistemin doğal üyesi olduğu için toplumda veya hastanelerde etkenin kaynağının çoğu zaman hastanın kendi florasıdır. Çoklu antibiyotik direnci gösteren enterokların sayıca artışı sonucu yapılan epidemiyolojik çalışmalar bu mikroorganizmaların nozokomiyal olarak yayıldığını göstermektedir. VRE'ler dahil çoğu enterokok türleri, hastanede bulunan stetoskop, kapı kolu, yatak, masa, komidin, termometre gibi ekipmanlarla cansız eşyalar üzerinde uzun süre yaşayabilmektedir. Sağlık personelinin el teması veya kontamine tıbbi cihazlarla hastadan hastaya taşınarak nozokomiyal salgınlarına neden olabilmektedir (Berzeg, 2005; Livornese ve ark., 1992; Wilke ve ark., 2002; Sayiner, 2008).

Enterokokların birçoğu beta laktam (penisilin, sefalosporin gibi) ve glikopeptid (vankomisin ve teikoplanin) antibiyotiklerin bakterisid etki gücüne karşı direnç gösterirler. Bu sebeple Enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde bakterisid sinerji sağlamak için bu antibiyotiklerin aminoglikozitlerle (gentamisin, streptomisin gibi) kombinasyonu gereklidir. Bu kombinasyondaki herhangi bir antibiyotiğe direnç olması halinde bakterisid etki gücü ortadan kalkar. Bu durum ise enterokokal enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotik seçeneklerini kısıtlar. Antibiyotik duyarlılığı farklılıklar gösteren enterokokların tür düzeyinde isimlendirilmesi ve antibiyotik profillerinin belirlenmesi doğru tedavinin uygulanması adına önem taşımaktadır. (Çetinkaya ve ark., 2000; Moellering, 2005; Tünger, 2012; Unal ve Vahaboğlu 2000). Enterokokal enfeksiyonların tedavisinde son alternatif olarak kullanılan glikopeptidlere dirençli bakteri oluşumları çok daha ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Enterokokların direnç oranlarının diğer ülkelerle birlikte ülkemizde de artıyor olması bizi hastanemizdeki enterokok suşlarının glikopeptid duyarlılıklarını araştırmaya yöneltmiştir.

Hastane enfeksiyonları olarak saptanan enterokokların %80-90'ından *E. faecium*, %5-10' *E. faecalis* sorumludur. Aynı zamanda antimikrobiyal ajanlara karşı yüksek oranda dirence sahiptirler. İçinde bulunduğumuz dönemde yürütülen çalışmalarda bakteriyemi etkeni olan *E. faecium* izolatları arasında VRE oranının (%19), *E. faecalis* izolatları arasındaki VRE oranına (%4) göre daha fazla olduğu saptanmıştır. ABD'de 1995-2002 yılları arasında yapılan bir çalışmada *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatları kıyaslandığında bütün glikopeptid türevlerine karşı *E. faecium* izolatlarında ciddi bir direnç artışı saptanmıştır (Rudy ve ark., 2005). Brezilya'da Pedro Alves Dazevedo ve arkadaşlarının yürüttüğü çalışmada 81 hastanın fekal sürveyans örneklerinin bütünü vankomisin ve teikoplanine dirençli saptanmış, izole edilen 37 VRE suşunun 20'si (%54,05) *E. faecium* ve 17'si (%45,94) *E. faecalis* olarak saptanmıştır (Dazevedo ve Furtado,2008). Kanada'da üriner sistem enfeksiyonları ve bakteriyemilerden izole edilen VRE lerin %98,3'ünün *E. faecium*, %1,7'sinin de *E. faecalis* olduğu saptanmıştır (Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program, 2006). Türkiye' de Ankara ve İstanbul'da yürütülen çalışmalarda 467 hastanın %1,9'unda VRE kolonizasyonu belirlenmiş ve bunların tamamının vankomisin ve teikoplanine dirençli *E. faecium* olduğu saptanmıştır (Aygün ve ark., 2008).

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz 30 Enterococ spp. (VRE) suşunun 29 (%96,6)'u *E.faecium*, 1 tanesi (% 3,3) de *E.faecalis*'tir.

Enterokoklarda bulunan glikopeptit grubu antibiyotiklere direnç ilk vaka 1988 yılında Uttley ve arkadaşları tarafından tanımlandıktan sonra dünyada sıklıkla gözlenmiştir. Avrupa ülkelerinde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde VRE izolatları arasında en çok rastlanan patern vanA genotip'dir. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de en sık gözlenen tip vanA olup mutasyon, transpozon, plazmit aracılığı ile bu direnç genleri aktarılmakta VRE infeksiyonlarının önemini artırmaktadır (Uttley ve ark.,1998; Descheemaeker ve ark., 2000; Moellering, 2000).

Bourdon ve arkadaşlarının Fransa'da yaptığı bir çalışmada Ocak 2006-Aralık 2008 arasında 112 farklı merkezden 902 VRE suşu incelenmiş, bu suşların 855 (%94.8)'i *E. faecium*, 41 (%4.5)' i *E. faecalis*, diğer suşlarında *E. avium* (2), *E. durans* (1) ve *E. hirae* (3) olduğu bildirilmiştir. *E. faecium* suşlarının 563'ünde (%65.8) VanA ve 290'ında (%33.9) VanB geni saptanmıştır. *E. faecalis* suşlarında ise 34 (%82.9) VanA ve 7 (%17.1) VanB geni saptanmıştır (Bourdon ve ark., 2011). İran'ın kuzeybatısında Jahansepas ve arkadaşlarının 2018 yılında yapmış oldukları bir çalışmada 160 çeşitli klinik örnekten 30 (%18.75)'unda VRE tespit edilmiştir. Bu örneklerden 11 (%36.7)'i *E. faecalis*, 19 (%63.3) 'u *E. faecium* olarak tanımlanmıştır. 30 VRE suşunun 27(%90)'si Van A geni taşıırken izolatların hiçbirinde Van B geni saptanmamıştır (Jahansepas v ark., 2018). İtalya'da Stampone ve ark., 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada 2001-2003 yılları kan kültürlerinden izole ettikleri 19 farklı merkezden gelen 39 VRE suşunun 31'i *E. faecium*, 8'i *E. faecalis* olarak bulunmuştur. 38 suşta VanA geni ve sadece 1 suşta VanB geni pozitif bulunmuştur (Stampone ve ark., 2005). Çin'de Xu ve çalışma arkadaşlarının Mart 2008-Mart 2009 tarihlerinde yaptıkları çalışmada 32 VRE suşu izole ettikten sonra izolatların tamamını VanA genotipinde *E. faecium* olarak tanımlanmışlardır (Xu ve ark., 2011). Almanya'da M. Abelehorn ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 24 VRE suşunun tamamı VanA genotipinde *E. faecium* olarak tanımlanmıştır (M.Abelehorn ve ark., 2006). Hindistan'da Shete ve çalışma arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 100 izolattan 52'si (% 52) *E. faecalis*, 48'i (% 48) *E. faecium* olarak bulunmuştur. 12 VRE suşunun tamamının

vanA genini taşıdığı saptanmıştır. Hiçbir suşta VanB, vanC, vanD, vanE ve vanG genleri tespit edilememiştir (Shete ve ark., 2019).

Türkiye’de yürütülen çalışmalarda da VanA fenotip ve/veya genotipinde *E. faecium* hâkimiyeti dikkat çekicidir (Tablo 12). Çalışmamızda tanımlanan 29 *E. faecium* suşunun 27’sin de VanA geni saptanırken sadece bir *E. faecium* suşunda VanA ve VanB geni birlikte saptanmıştır. Hiç bir suşta VanC geni tespit edilmemiştir.

Tablo 12. Türkiyede yapılan bazı çalışmalarda direnç genleri

Araştırmacılar (Tarih)	Tür (n)	Fenotip	Genotip	Özellikler
Kılıç ve ark. (2004)	<i>E. faecium</i> (n=25)		VanA	2 kan, 23 rektal sürüntü
Mete ve ark. (2005)	<i>E. faecium</i> (n=38), <i>E. faecalis</i> (n=3)	VanA		7 klinik, 23 rektal sürüntü
Kantar ve ark. (2006)	<i>E. faecium</i> (n=58)		VanA	Rektal sürüntü
Çelebi ve ark. (2008)	<i>E. faecium</i> (n=41)	VanA		Rektal sürüntü
Güdücüoğlu ve ark. (2009)	<i>E. faecium</i> (n=14)		VanA	3 çevresel, 11 rektalSürüntü
Erçal ve ark. (2010)	<i>E. faecium</i> (n=12)		VanA	12 rektal sürüntü
Feride ve ark. (2012)	<i>E. faecium</i> (n=38)	n=30 Van A n =5 Van B	Van A Van B	33 rektal, 4 kan,1 idrar

Yamane ve ark., Vitek yönteminin *Van A* ve *Van B* direnci tespitinde hata verdiğini, E-Test ve agar tarama yönteminin en güvenilir yöntemler olduğu dirençli veya orta duyarlı bir suş bulunduğunda PCR analizleri ile Van A, Van B direnci bakılması gerektiği belirtmişlerdir (Yamane ve ark., 1997). Hubertz ve ark.

çalışmalarında VRE (VanA/VanB/VanC) saptanmasında 8 yöntem kullanılmış otomatize sistemin de içerisinde bulunduğu 6 yöntemin hata verdiği en güvenilir yöntemlerden birinin E test yöntemi olduğu saptanmıştır (Hubertz ve ark., 1998). Dombrádi ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 17 VRE izolatı Vitek otomatize sistem ve E test ile çalışılmıştır. Otomatize sistemle çalışılan örneklerin 10'u hata vermiş ve yanlış fenotiple sonuçlanmıştır. Bu yüzden en güvenli testin E-test olduğu saptanmıştır (Dombrádi ve ark., 2010). Altun ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma da Enterokoklarda vankomisin direnci Vitek 2, ve E-test yöntemleriyle araştırılmış, iki yönteminde %100 uyumlu olduğu bulunmuştur. Çalışılan 199 enterokok suşunun 25'i her iki yöntemle de vankomisine dirençli olarak saptanmıştır (Altun ve ark., 2013).

Etiz ve ark.'nın (2014) yapmış olduğu çalışmada Enterokoklarda vankomisin direnci çeşitli yöntemlerle araştırılmıştır. Vitek 2 ve E-test yönteminin de kullanıldığı bu çalışmada her iki yönteminde %100 uyumlu olduğu saptanmıştır. Çalışılan 536 enterokok suşunun 79'u (%14.7) her iki yöntemle de vankomisine dirençli olarak saptanmıştır (Etiz ve ark., 2014). Li ve ark. (2007) Çin'deki bir hastanede VRE'lerin sıklığının araştırılmasında multipleks polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak 338 enterokok tespit etmiştir. Bir VanA *E. faecalis*, bir VanB *E. faecium*, üç VanB *E. faecalis*, beş VanC1 *E. gallinarum* ve bir VanC2 *E. flavescens* olmak üzere 11 VRE bulunmuştur. VRE'lerin belirli antimikrobiyal maddelere karşı duyarlılıklarını belirlemek için Vitek 2, mikrobrot h dilüsyon ve E-testi yapılmıştır (Li ve ark., 2007). Shalaby ve ark. (2016) tarafından hastane infeksiyonu olan 112 hastadan alınan örnekler Vitek 2 sistem ile Enterokok türleri tanımlanmıştır. Vankomisinin MİK'değeri E testi ile belirlenmiş ve moleküler yöntemle (PCR) vanA geninin varlığı saptanmıştır. PCR referans olarak alınmış ve hem E-test hem de Vitek için duyarlılık ve özgüllük %100 olarak saptanmıştır. (Shalaby ve ark., 2016).

Altun ve ark. (2014) 210 perirektal sürüntü örneği eşzamanlı olarak PCR ve kültür yöntemiyle değerlendirmişlerdir. Kültürde üreyen koloniler konvansiyonel yöntemler ve otomatize Vitek 2.0 sistemi kullanılarak tanımlanmıştır. İzolatların direnç durumu E-test ile doğrulanmıştır. PCR yöntemi ile örneklerin 76 (%36.1)'sında VRE saptanmış; 70'i *vanA*, ikisi *vanB* ve dördü *vanA+vanB* geni pozitif tespit edilmiştir. PCR sisteminin duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla %97.4, %98.4, olarak belirlenmiştir

(Altun ve ark., 2014). Eisner ve ark.'nın (2005) yapmış olduğu çalışmada farklı glikopeptit direnci fenotiplerine sahip 80 enterokok izolatu üzerinde çalışılmıştır. Vitek 2 sistemi ile suşların %39'u tür düzeyinde doğru bir şekilde tanımlanmış ve tüm izolatlarda vankomisine direnç saptanmıştır. Fakat teikoplanin direncinin doğru tespitinde tutarsızlıklar ortaya çıkmıştır. PCR yöntemi klinik olarak ilgili glikopeptit direncini doğru tespit ettiği kanıtlanmıştır. İncelenen izolatların% 90'ı, PCR ile doğru bir şekilde tanımlanmış ve PCR yöntemi ile % 100 vanA ve vanB izolatları tanımlanmıştır (Eisner ve ark., 2005). Çalışmamızda Vankomisin ve teikoplanin direncini saptamada moleküler yöntem standart olarak kabul edildiğinde gradient testin hem duyarlılığı hem özgüllüğü %100 dür. Otomatize sistemin ise duyarlılığı %100 iken özgüllüğü %0 olarak bulunmuştur çalışmamızda otomatize sistem duyarlı olması gereken 3 suşun tamamını dirençli olarak saptamıştır.

Sonuç olarak;

Toplam 27 sušta VanA ve 1 sušta Van B geni tespit edilmiştir. VanC genine rastlanmamıştır.

İdentifikasyon açısından otomatize sistem, kütle spektrofotometrisi ve PCR tamamen uyumlu olarak bulunmuştur (29 *E. faecium*, 1. *E. faecalis*).

Enterokok izolatlarında, gradient test (E-test) ile MIC tayininin ve multipleks PCR ile vankomisin direnç gen tespitinin sonuçlarının %100 uyumlu olduğu görülmüştür.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında enterokok izolatlarının glikopeptit direncinin saptanmasında basit olan E-test yöntemi glikopeptit direncinin saptanması için çok önemli bir tarama testi olarak kullanılabilir.

KAYNAKLAR

- Abele HM, Vogel U, Klare I, Konstabel C, Trabold R, Kurihara R et al. Molecular epidemiology of hospital acquired vancomycin-resistant enterococci. J Clin Microbiol. 2006;44 (11):4009-13.
- Afşar İ, Barış İ, Şener AG, Köksal V, Demirci M. Linezolid dirençli *Enterococcus faecium*: Türkiye'deki ilk G2576T mutasyonu, Mikrobiyol Bul. 2012;46(3):516-8.
- Akan ÖA. Enterokok türlerinin mikrobiyolojisi. Ünal S, Vahapoğlu H, editörler .Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004.
- Akçimen B. Hastane enfeksiyonlarından izole edilen vankomisin dirençli enterokokların pulsed field jel elektroforez yöntemiyle genotip tayini. Adana; Çukurova üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı; 2010.
- Alp Ş, Şardan YÇ. Vankomisine dirençli enterokokların epidemiyolojisi ve kontrolü. Hacettepe Tıp Derg. 2008;39:89-95.
- Aygün H, Memikoğlu OK, Tekeli A, Azap A, Yörük F. Hastanede Yatan Riskli Gruplarında Vankomisine Dirençli Enterokok Kolonizasyonunun Sürveyansı. Türk Anest Rean Der. 2008;36:168-73.
- Altun HU, Hatipoğlu ÇA, Bulut C, Eser ÖK, Demiröz AP. Vankomisine Dirençli Enterokokların Sürveyansında GeneXpert® vanA/vanB PCR Sistemi ile Kültür Yönteminin Karşılaştırılması. Mikrobiyol Bul. 2014;48(4):538-44.
- Altun D, Erdem G, Çöplü N, Çağatay M. Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Tür Düzeyinde Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Çeşitli Yöntemlerle Araştırılması. Ankem Derg. 2013;27(3):130-4.
- Andrews F, Horder T. A study of Streptococci pathogenic for man. Lancet. 1906;2:708-13.
- Arias CA, Murray BE. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. Nat Rev Microbiol. 2013;10(4):266-278.
- Arthur M, Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in Enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 1993;37:1571-93.
- Başustaoğlu A. Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve çözüm Önerileri, Glikopeptidlere direnç. Hastane enfeksiyonları Serisi. 2001;5:202-9.
- Başustaoğlu A, Aydoğan H. Enterokoklar. Uzun Ö, editör. İnfeksiyon Hastalıkları Serisi. 5. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2001.
- Başustaoğlu A. Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S, editörler. Gram Pozitif Bakteri enfeksiyonları. 5. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi ;2002.

Berzeg D. Çeşitli klinik materyallerden izole edilen enterokokuşlarında antibiyotik direnci, yüksek düzey aminoglikozid direnci ve e test ile vankomisin mik değerlerinin değerlendirilmesi. İstanbul;Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği; 2005.

Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 3.Baskı. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi; 2002.

Billström H. Molecular epidemiology of clinical *Enterococcus faecium*. Stockholm; Stockholm Karolinska Institutet; 2008.

Bourdon N, Fines GM, Thiolet JM, Maugat S, Coignard B, Leclercq R et al. Changing trends in vancomycin resistant enterococci in French hospitals. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66 (4):713-21.

Boyce JM, Opal SM, Chow JW, Zervos MJ, Potter B G, Sherman CB et al. Outbreak of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with transferable vanB class vancomycin resistance. *J Clin Microbiol.* 1994;1148-53.

Çelebi S, Hacımustafaoğlu M, Demiral M, Sınırtaş M, Beyazıt A, Gedikoğlu S. Çocukluk çağında vankomisin dirençli enterokok kolonizasyonu: sekiz yıllık çalışma sonuçları. *Ankem Derg.* 2008;22 (1):1.

Coşkun FA, Mumcuoğlu İ, Neriman A, Karahan ZC, Us E, Tekeli FA ve ark. Bir Devlet Hastanesinde vankomisin dirençli enterokok suşlarının fenotipik ve genotipik olarak değerlendirilmesi: ilk vanB-pozitif *Enterococcus faecium* izolatları. *Mikrobiyol Bul.* 2012;46(2):276-82.

Courvalin P. Vancomycin resistance in gram positive cocci. *Clin Infect Dis.* 2006; 42:25-34.

Çetinkaya Y. Vankomisine Dirençli Enterokoklar: Epidemiyoloji ve Kontrol. 2000;5(1):24-33.

Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:686-707.

D'azevedo PA, Furtado GHC. Molecular characterization of Vancomycin Resistant Enterococci strains eight years apart from its first isolation in Sao Paulo, Brazil. *Med Trop S Paulo.* 2008;50:195-8.

Descheemaeker P, Ieven 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;181(1):235-41.

Deibel RH, Lake ED, Niven CF. Physiology of the enterococci as related to their taxonomy. *J Bacteriol.* 1963;1275-82.

Derbentli Ş. Nozokomiyal enterokok infeksiyonları. *Galenos.* 1998;23:14-7.

Dilek AR, Yıldız F, Dilek N, Bulut Y, Aşçı TZ. Linezolidin MRSA ve Enterococcus spp. suşlarına in-vitro etkinliği. *Ankem Derg.* 2007;21(4):211-3.

Dombrádi Z, Bihari Z, Horváth KI, Szabó J. Comparison of the VITEK 2 system with the E-test for the determination of glycopeptide susceptibility of vanA and vanC positive enterococci. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2010.57(3):157-63

Dutka MS, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant Enterococci by PCR. *J Clin Microbiol.* 1995:24–27.

Eisner A, Gorkiewicz G, Feier G, Leitner E, Köfer J, Kessler HH. Identification of Glycopeptide-resistant enterococci by VITEK 2 system and conventional and real-time polymerase chain reaction. *Diag Microbiol Infect Dis.* 2005;53(1):17-21.

English BK, Shenep JL. Enterococcal and Viridans Streptococcal infections. Feigin RD, Cherry JD. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases.* 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2004.

Endtz HP, Van Den Braak N, Belkum AV, Goessens WH, Kreft D, Stroebel AB et al. Comparison of Eight Methods To Detect Vancomycin Resistance in Enterococci. *J Clin Microbiol.* 1998;36(2):592–4.

Etiz P, Kibar F, Ekenoğlu Y, Yaman A. İdrar Kültüründen İzole Edilen Enterokok Türlerinin Antibiyotik Direnç Profillerinin Değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2014;44(3):107-13.

Facklam RR, Sahm DF. Enterococcus. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual Clinical Microbiology.* Sixth edition. Washington; ASM Press; 1995.

Facklam RR, Tenover FC. Enterococcus. Collier L, Tenover FC, editors. *Microbiology and Microbial infections.* 9th edition. London: Topley & Wilson; 1995.

Facklam RR. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev.* 1998;15:613-30.

Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. *Microbiology.* 2002;155:1749-57.

Güdücüoğlu H, Aktaş E, Cömert FB, Kumru A, Özlü N, Baykal S ve ark. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Pediatri Servisinde vankomisine dirençli enterokokların ilk izolasyonu ve çoğul klonların tespiti. *Mikrobiyol Bul.* 2009;43:535-43.

Gültekin, M. Enterokoklar: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S, editörler. *Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenez.* Ankara; Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004.

Gültekin M. Enterokoklar: Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji ve Patogenez. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S, editörler. *Önemli ve sorunlu gram-pozitif bakteri infeksiyonların'da.* Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi; 2012.

Jahansepas A, Rezaee MA, Hasani A, Sharifi Y, Farzami MP, Dolatyar A et al. Molecular Epidemiology of Vancomycin Resistant Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium Isolated from Clinical Specimens in the Northwest of Iran. *Microb Drug Resist.* 2018;24(8):1165-73.

Karagöz G. Yoğun bakım ünitesinde vankomisin dirençli enterokok taşıyıcılığının araştırılması. İstanbul; T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2005.

Kirschner C, Maquelin K, Pina P, Ngo Thi NA, Choo LP, Sockalingum GD et al. Classification and Identification of Enterococci: a Comparative Phenotypic, Genotypic, and Vibrational Spectroscopic Study. *J Clin Microbiol.* 2001;39(5):1763–70.

Kantar NÜ, Şardan YÇ, Zarakolu P, Yıldırım G, Zengin H, Nakas D ve ark. Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi'nde vankomisin dirençli enterokok sürveyansının ilk beş yıllık sonuçları. *Hastane İnf Derg.* 2016;1011.

Kilic A, Demiray T, Saracli M. Bacteriological characterization of vancomycin resistant enterococci in a pediatric hospital in Turkey. *Ann Microbiol.* 2004;54:543-51.

Klare I, Konstabel C, Badstubner D, Werner G, Witte W. Occurrence and spread of antibiotic resistances in Enterococcus faecium. *Inter J Food Microbiol.* 2003; 88: 269–90.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Procop G, Woods G. *Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology.* Sixth edition. Philadelphia: Lippincott Co:1997.

Korten V. Enterokokal Enfeksiyonlar. İlicin G, Biberoglu K, Unal S, Suleymanlar G, editörler. *Temel İç Hastalıkları. 2. Baskı.* Ankara; Melisa Matbaacılık; 2009.

Leclercq R. Enterococci Acquire New Kinds of Resistance. *Clin Infect Dis.* 1997;288-9.

Leclercq R. In vitro activity of new oxazolidinones, eperozolid and linezolid against enterococci. *Clin Microbiol Infect.* 1997;288-9.

Lehman DC, Mahon CR, Suvarna K. Streptococcus, Enterococcus, and other catalase negative gram positive cocci. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G, editors. *Textbook of Diagnostic Microbiology.* Fourth Edition. Missouri: W.B Saunders; 2011.

Li S, Zhang Z, Mi ZH (2007). Vancomycin-Resistant Enterococci in a Chinese Hospital. *Current Microbiology.* 2007;55:125–7.

Mave V, Garcia DJ, Islam T, Hasbun R. Vancomycin-resistant enterococcal bacteraemia: is daptomycin as effective as linezolid. *J Antimicrobial Chemother.* 2009;63:1191-99.

Mete B, Saraçlı MA, Aygün G. Vankomisine dirençli enterokok salgının epidemiyolojik, klinik ve mikrobiyolojik olarak irdelenmesi. *Ankem Derg.* 2005;19 (1):29.

Murray BE. The life and times of the Enterococcus. *Clin Microbiol Rev.* 1990;46–65.

Murray BE. Vancomycin resistant enterococci. *Am J Med.* 1997;284-93.

Murray BE. “Diversity Among Multidrug Resistant Enterococcus”. *Emerging Infectious Diseases.* nosocomial, community, and animal sources in the United States. 1998;37-47.

Murray BE. Vancomycine-resistant Enterococcal infections. *New England J Medical.* 2000;342:710-21.

Moellering J.C. “Enterococcus Species”. Mandell G. L editor. *Principles and Practise of Infectious Diseases.* 5th ed. New York: 2000.

Orsi GB, Ciorba. Vancomycin resistant enterococci healthcare associated infections. *Ann Ig.* 2013;485-92.

Robert C, Moellering R. Enterococcus species, Streptococcus bovis and Leuconostoc spesies. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R ed. *Principles and Practice of Infectious Disease.* Sixth edition. New York: 2005.

Rudy M, Zientara M, Bek T. Occurrence of antibiotic resistant enterococci in clinical specimens from a pediatric hospital. *Pol J Microbiol.* 2005;54:77-80.

Ruoff KL, Maza L, Murtagh MJ, Sporgo JD, Ferraro MJ. Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 1990;28:435-37.

Sayiner HS. Sürveyansla saptanan VRE’ lerin dağılımı, antibiyotik duyarlılıkları ve kolonize hastalarda risk faktörlerinin değerlendirilmesi. İstanbul; Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2008.

Sevgi DY, Gündüz A, Konuklar AS, Müslüman M, Tuncer F, Derin O. Daptomycin for the treatment of daptomycin nonsusceptible Enterococcus faecium bacteremia. *J Microbiol Infect Dis.* 2014;4 (1)36-8.

Shalaby MM, Eshra KA, and El-Naghy WS, El-Sharaby RM. Comparative study between molecular and non-molecular methods used for detection of Vancomycin Resistant Enterococci in Tanta University Hospitals, Egypt. *Life Scien J.* 2016;13:1.

Stampone L, Del Grosso M, Boccia D, Pantosti A. Clonal spread of a vancomycin-resistant Enterococcus faecium strain among bloodstream-infecting isolates in Italy. *J Clin Microbiol.* 2005;43(4):1575-80.

Şardan YÇ. Vankomisine dirençli enterokoklara bağlı hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S Editörler. Önemli ve sorunlu gram-pozitif bakteri enfeksiyonları’nda. 2. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi ; 2012.

Shete VC, Grover N, Kumar M, Bhatt P. Phenotypic detection and molecular characterization of vancomycin-resistant enterococci. *J Nat Sc Biol Med.* 2019;10:34-7

Teixera LM, Carvalho MGS, Facklam RR. Enterococcus. Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım GT, Tanyüksel M, editörler. *Klinik Mikrobiyoloji.* 3 . Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2009.

Tünger Ö. Vankomisine dirençli enterokok infeksiyonlarının tedavisinde eski ve yeni tedavi seçenekleri. *Ankem Derg.* 2012;26(4):215-27.

Ulusoy S, Hosgor M, Ozkan F, Ozinel MA, Tokbas A. Enterococcus faecalis Ve Enterococcus faecium'un Antibiyotik Direncinin Arastırılması. *Ankem Derg.* 1995;9(1):12-6.

Ural O. Nozokomiyal Enterokok Bakteriyelemi. *Hastane İnfek Derg.* 1998;2:217-23.

Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet.* 1988;1:57-8.

Vural T, Şekerciöğlu AS, Öğünç D. Vankomisine dirençli Enterococcus faecium suşu, *Ankem Derg.* 1999;13:1-4.

Willke A. Enterokoklar. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul; Nobel Kitabevi; 2008.

Willems RJ, Van Schaik W. Transition of Enterococcus faecium from commensal organism to nosocomial pathogen. *Future Microbiol.* 2009;4(9):1125-35.

Wolter N, Smith AM, Farrell DJ, Schaffner W, Moore M, Whitney CG et al. Novel Mechanism of Resistance to Oxazolidinones, Macrolides, and Chloramphenicol in Ribosomal Protein L4 of the Pneumococcus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2005;4:3554-57.

Xu HT, Tian R, Chen DK, Xiao F, Nie ZY, Hu YJ et al. Nosocomial spread of hospital-adapted CC17 vancomycin-resistant Enterococcus faecium in a tertiary-care hospital of Beijing, China. *Chin Med J (Engl).* 2011; 124(4) :498-503.

Yamane N, Miyagama S, Nokasone I, Sakamoto F, Tosaho M. Laboratory evaluation of antimicrobial susceptibility testings to detect VRE. *Rinsho Byori.* 1997;45(4):381-90.

Yıldırım M. Enterokoklar ve Enterokoklarla Gelişen infeksiyonlar. *Düzce Üni Tıp Fak Derg.* 2007;2:46-52.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Erzurum ilinde doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Erzurum'da tamamladı. 2009 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı ve 2013 yılında mezun oldu. Şubat 2014 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji bölümünde Yüksek Lisans eğitimine başladı. Halen bu bölümde eğitimine devam etmektedir.



EKLER

Ek.1 Etik Kurul Onay Belgesi

BAŞVURU BİLGİLERİ			
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen Vankomisine dirençli enterococcus suşlarının fenotipik ve genotipik olarak değerlendirilmesi		
ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	Yok		
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç.Dr. Mehmet PARLAK		
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji		
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı		
DESTEKLEYİCİ	Yok		
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	Yok		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Tüm gözlemsel çalışmalar	<input type="checkbox"/>	
	Anket çalışmaları	<input type="checkbox"/>	
	Dosya ve görüntü kayıtları kullanılarak yapılan retrospektif arşiv taramaları ve benzeri gözlemsel çalışmalar	<input type="checkbox"/>	
	Kan, idrar, doku, görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene, tetkik, tahlil ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak çalışmalar	<input type="checkbox"/>	
	Rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak çalışma	<input checked="" type="checkbox"/>	
	Hücre veya doku kültürü çalışmaları	<input type="checkbox"/>	
	Gen tedavi klinik araştırmaları dışında kalan ve tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalle yapılacak araştırmalar	<input type="checkbox"/>	
	Hemsirelik faaliyetlerinin sınıri içerisinde yapılacak araştırmalar	<input type="checkbox"/>	
	Gıda katkı maddeleriyle yapılacak diyet çalışmaları	<input type="checkbox"/>	
	Egzersiz gibi vücut fizyolojisi ile ilgili araştırmalar	<input type="checkbox"/>	
	Antropometrik ölçümlere dayalı yapılan çalışmalar	<input type="checkbox"/>	
	Yaşam alışkanlıklarının değerlendirilmesi araştırmaları gibi insana bir hekimin doğrudan müdahalesini gerektirmeden yapılacak olan tüm araştırmalar	<input type="checkbox"/>	
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/> ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/> ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/> ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>		
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
DİĞER:	<input checked="" type="checkbox"/>	İyi Klinik Uygulamaları Taahhütnamesi, Tüm Araştırmacılara Ait Özgeçmiş, Anabilim Dalı Yazısı, Literatür ve CD.	

Sayfa 1

Adres : Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Merkez Kampüsü Van
Tel : 432-2150470
Faks : 432-2168352
e-posta: etikkurull@gmail.com

Ek.2 Tez Orjinallik Raporu

	<p style="text-align: center;">T.C. VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ Sağlık Bilimleri Enstitüsü</p>	
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU		

Tez Başlığı / Konusu: Tarih: 19/06/2019

.....Gestaltli.....Klinik.....Bireklerden.....İzole.....Edilen.....Van komisiye.....Diyadin.....
.....Enterokok.....Şiştarının.....Fenotipik ve.....Genotipik.....Değerlendirilmesi.....

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam ...72... sayfalık kısmına ilişkin, 19.06.2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından ..Tuzim...intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orjinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % ...18.....(Orjinal) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimededen daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Semra BİLEN
Öğrencinin Adı Soyadı
İmza

Öğrencinin Adı Soyadı	: SEMRA BİLEN
Anabilim Dalı	: Tıbbi Mikrobiyoloji
Öğrenci No	: 139 302 009
Programı	: <input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)

Doc Dr. Mehmet PARLAK