

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

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOKLARIN
ANTİBİYOTİK DİRENÇ ÖZELLİKLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Katren ALBAKKOUR

Tez danışmanı
Pro. Dr. Nedim SULTAN

ANKARA
TEMMUZ, 2013

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

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOKLARIN
ANTİBİYOTİK DİRENÇ ÖZELLİKLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Katren ALBAKKOUR

Tez danışmanı
Pro. Dr. Nedim SULTAN

ANKARA
TEMMUZ, 2013

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : 08/07/2013

**İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı**

**İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Soyadı
Gazi Üniversitesi**

**İmza
Ünvanı Adı ve
Gazi Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

Kabul ve onay	ii
İçindekiler	ii
Şekiller	v
Tablolar	vi
1. GİRİŞ	1
2. Genel Bilgiler	2
2.1. Enterokoklar	2
2.2. Morfoloji ve biyokimyasal özellikleri:	2
2.3. Hücre duvarı yapısı ve antijenik özellikleri	4
2.4. Enterokok türlerinin özellikleri	5
2.5. Genom özellikleri	9
2.6. Genetik bilgi transferi.....	9
2.7. Sınıflandırma	10
2.8. Enterokokların patojenite özellikleri	14
2.9. Enterokokların virülans faktörleri	14
2.10. Epidemiyoloji	15
2.11. Enterokok enfeksiyonları	16
2.11.1. Üriner sistem enfeksiyonları:	16
2.11.2. Endokardit:	16
2.11.3. Bakteriyemi:	17

2.11.4. Karın içi ve pelvik enfeksiyonlar:	17
2.11.5. Yara ve yumuşak doku enfeksiyonları:	17
2.11.6. Menenjit:	18
2.11.7. Yeni doğan ve pediatrik enfeksiyonlar:.....	18
2.12. Enterokokların antibiyotik duyarlılıkları ve direnç mekanizmaları	18
2.12.1. Beta-laktam direnci:	19
2.12.2. Aminoglikozid direnci:.....	19
2.12.3. Vankomisin direnci:	20
2.13.Tedavi	21
2.14. Tanı.....	23
2.15. Enterokoklar için antibiyotik duyarlılık testleri:	24
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1. Laboratuvarda klinik örneklerle yapılan işlemler.....	26
3.2. Değerlendirme	27
3.3. Enterokokların tanımlanmasında uygulanan biyokimyasal testler.....	29
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	40
6.SONUÇ	49
7. ÖZET	50
8. SUMMARY	52
9. KAYNAKLAR.....	54
10. ÖZGEÇMİŞ	72

ŞEKİLLER

Şekil 1: Klinik örnekten hazırlanan gram boyalı preperatta enterokokların görünümü.....	3
Şekil 2: Enterokok kolonilerinin kanlı agardaki görünümü.....	3
Şekil 3: Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının yapısı.....	5
Şekil 4: Enterokok türlerinin biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanma şeması.....	8
Şekil 5: Enterokok cinsinin 16S rRNA dizi özelliklerine göre filogenetik dendrogramı.....	11
Şekil 6: Enterokok türlerinin birbiri ile ilişkisi.....	13
Şekil 7: Enterokokların mikrobiyolojik yönden tanımlanma aşamaları.....	28
Şekil 8: Bakteri tanımlanmasında kullanılan Vitek-2 GP Sistemi.....	31
Şekil 9: Nitrosefin testi ile beta laktamaz yapımının incelenmesi.....	36
Şekil 10: İncelenen enterokoklarda streptomisin ve gentamisin için yüksek düzeyli aminoglikozit direnci.....	37

TABLolar

Tablo1: Enterokoklarda yüksek düzeyli aminoglikozit direncinin değerlendirilmesi.....	32
Tablo2: İncelenen enterokok suşların izole edildikleri klinik örnekler göre dağılımı.....	34
Tablo3: İncelenen enterokoklara ait örneklerin gönderilme yerine göre dağılımı.....	35
Tablo4: İncelenen enterokokların türlere göre dağılımı.....	35
Tablo5: İncelenen enterokoklarda nitrosefin testi ile belirlenen beta laktamaz yapımı sıklığı.....	35
Tablo6: İncelenen 72 enterokok suşunun streptomisin ve gentamisine karşı yüksek düzeyli aminoglikozit dirençlilik oranları.....	36
Tablo7: İncelenen enterokokların disk difüzyon tekniği ile çeşitli antibiyotiklere duyarlılık durumları.....	37
Tablo8: Enterkok suşlarının 9 farklı antibiyotiğe duyarlılık durumları.....	39

1. GİRİŞ

Normal floranın fırsatçı patojenleri olarak tanınan enterokoklar, bugün nozokomiyal enfeksiyon etkenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Özellikle nozokomiyal enfeksiyon etkenleri arasındaki yeri ve önemi 1970'li yılların ortalarından itibaren giderek artmaktadır. Bu artışın enterokokların intrensek olarak dirençli olduğu üçüncü kuşak sefalosporinlerin aynı dönemde yaygın olarak kullanıma başlanmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Enterokok cinsi bakteriler, hava, su, toprak, bitki ve kanalizasyon gibi ortamlarda bulunmaktadır. Bu bakteriler en çok insan ve sıcak kanlı hayvanların bağırsaklarında bulunmaktadır. Olumsuz koşulların bulunduğu ortamlarda enterokoklar diğer mikroorganizmalara göre daha dayanıklıdır. Düşük virulansa sahip bakteriler olmalarına rağmen son yıllarda gittikçe artan düzeyde hastane ve toplum kaynaklı ciddi enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Bu bakteriler endokardit, idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi ve hastane enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Enfeksiyonlardan izole edilen enterokokların çoğu *E.faecalis* ve *E.faecium* türlerine ait bulunmaktadır. Enterokok suşları ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde yaklaşım genellikle, beta-laktam ve aminoglikozid grubu bir antibiyotiğin kombinasyonu, eğer bunlara direnç var ise glikopeptid antibiyotiğin seçilmesi şeklinde olmaktadır. Ancak, sahip oldukları mobil genetik elementler nedeniyle belirgin bir şekilde kazanılmış direnç geliştiren enterokok türlerinde, son yıllarda özellikle ampisilin ve aminoglikozidlere karşı artan direnç ampirik tedavide bu antibiyotiklerin kullanımını sınırlamıştır.

Bu çalışmada 2012 yılında Gazi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında izole edilen enterokokların tanımlanması ve klinikte kullanılmakta olan bazı antibiyotiklere direnç durumunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. Genel Bilgiler

2.1. Enterokoklar

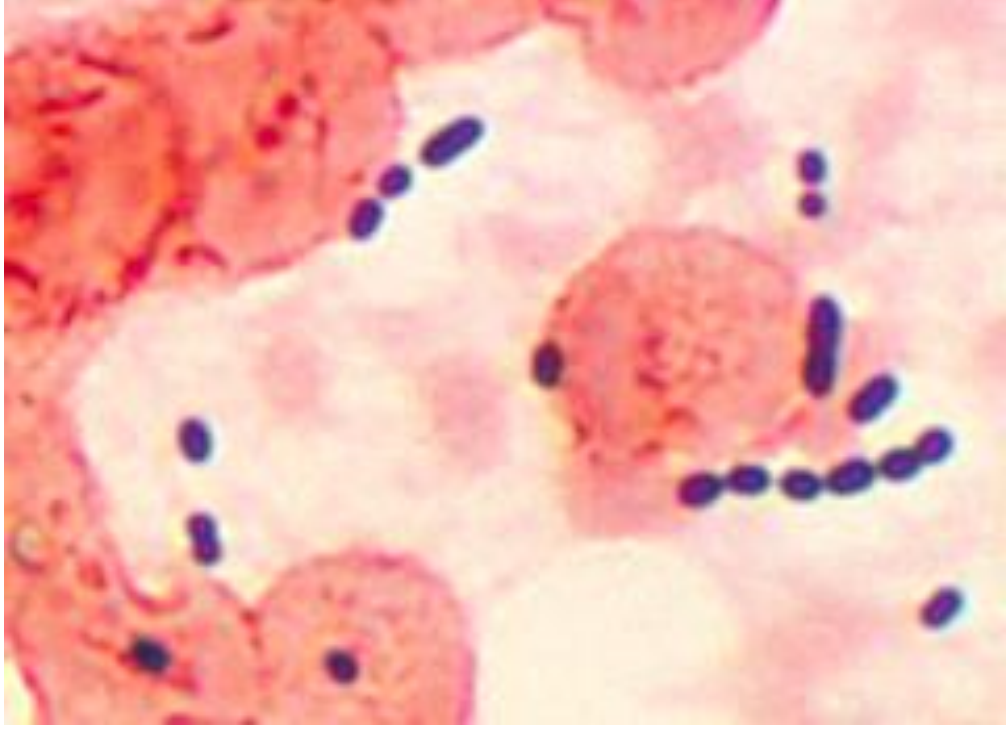
Enterokoklar, 1930'larda streptokokların D grubu içinde sınıflandırılmıştır. Daha sonra enterokokların D grubu streptokoklarda yer alan non-enterokoklardan farklı biyokimyasal özellikleri olduğu anlaşıldığından, enterokokların bu gruptan ayrılarak ayrı bir cinsten toplanmalarına karar verilmiştir¹.

Enterokoklar 1984 yılına kadar Lancefield sınıflamasında D grubu streptokoklara dahil edilmiş, bu yıldan sonra yapılan genetik çalışmalar sonucunda *Streptococcus faecalis* ve *S. faecium* türlerinin bu streptokok cinsinden ayrı bir cins olarak ele alınması gerektiğine karar verilmiştir^{2,3}.

Enterokoklar 1990'a kadar neredeyse bir yüzyıl boyunca bakteriyel endokarditin önemli bir nedeni olarak kabul edilmiştir⁴.

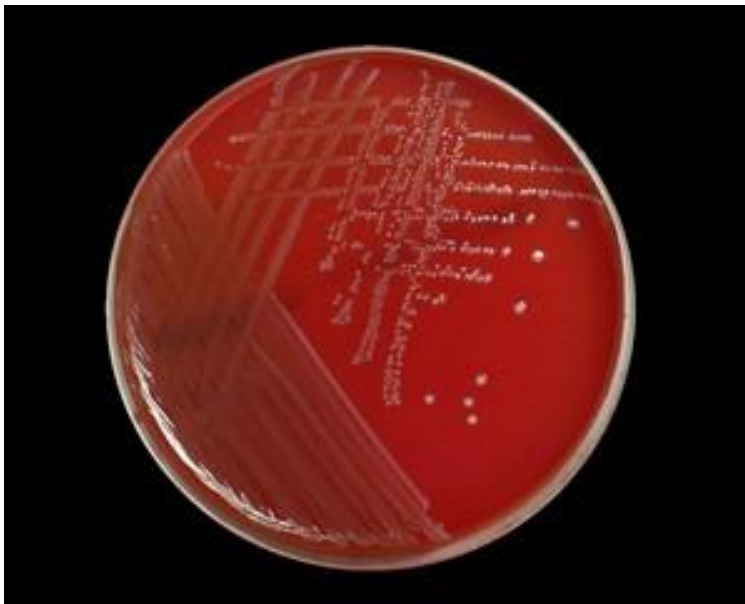
2.2. Morfoloji ve biyokimyasal özellikleri:

Enterokoklar tek tek veya çift olarak kısa zincirler halinde bulunan gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerob ve spor oluşturmeyen bakterilerdir. Enterokoklar laktik asit salgılayan bakteriler içinde yer alan önemli bir cinstir^{5,6}. Şekil 1. de klinik örnekten hazırlanmış gram boyalı preparatta enterokokların görünüşü görülmektedir.



Şekil 1: Klinik örnekten hazırlanan gram boyalı preperatta enterokokların görünümü ⁷.

Kanlı agarda enterokokların kolonileri gri renkli, parlak ve buğulu bir görünüm sergiler ^{8,9}. Şekil 2.de kanlı agarda enterokok kolonilerinin görünümü görülmektedir.



Şekil 2: Enterokok kolonilerinin kanlı agardaki görünümü ¹⁰.

Enterokokların hücre duvar yapısı diğer gram pozitif koklara benzemektedir. Bu yapı peptidoglikan, teikoik asit, lipoproteinler ve yüzey protein antijenlerinden oluşur^{11,12}.

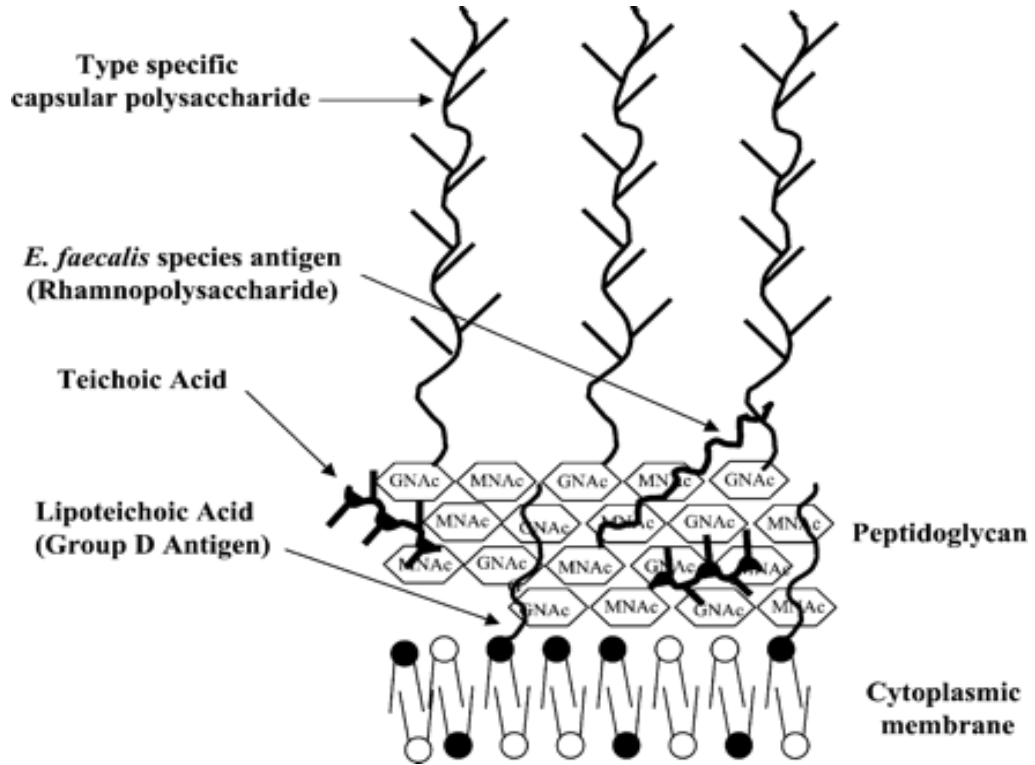
Enterokoklar 10-45 C° arasında, %6,5 NaCl konsantrasyonunda ve pH 9,6 gibi yüksek bazik derecelerde üreyebilirler. Ayrıca % 40 safra varlığında eskülünü hidrolize ederler. Kanlı agarda alfa, beta veya gama hemoliz yapabilirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 35 C° olan enterokoklar, 60 C° de 30 dakika uygulanan ısı işlemde canlılıklarını sürdürebilmektedirler. Ancak son zamanlarda tanımlanan enterokok türlerinin çoğu fizyolojik özellikleri bakımından tipik enterokoklardan farklılık gösterirler. Yüzde 5 defibrine koyun kanı ile hazırlanan triptikaz soy veya Columbia agar enterokoklar tarafından üretilen hemolizi değerlendirmek için kullanılabilir. E.faecalis insan ve at kanı içeren agarda B-hemoliz oluşturabilir ancak koyun kanlı agarda hemoliz yapmamaktadır. E.faecium ise alfa hemoliz yapar^{13,14,15,16,17,18}.

2.3. Hücre duvarı yapısı ve antijenik özellikleri

Enterokokların hücre duvarının üç bileşeni peptidoglikan, teikoik asit ve polisakkaritlerdir. Hücre duvarının %40'ı peptidoglikandan oluşurken, geri kalan kısmı ise ramnoz içeren polisakkarit ve ribitol içeren teikoik asitten oluşmaktadır. Peptidoglikan polimerleri glikan zincirlerinden ve bunlara bağlanmış L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala-D-Ala aminoasitlerini içeren kısa peptitlerden oluşmaktadır. Komşu zincirlerdeki pentapeptidler yan zincirlerdeki pentapeptidler ile çapraz bağlar oluştururlar. Peptidoglikan dışındaki yardımcı polimerlerin yapısal bileşimi kesin olarak bilinmemektedir. Lancefield'in streptokoklar için yaptığı serolojik tiplendirmede, streptokokların çoğunda, baskın olan hücre duvarı karbonhidratları esas alınmıştır. Enterokokların yer aldığı "D" grubunda ise serolojik tiplendirme lipoteikoik asitlerin (LTA)

antijenik özelliklerine göre yapılır. Gruba özelliğini veren “D” antijeni, gliserol ünitelerine bağlanmış yüksek oranda glukoz içeren poligliserolfosfatın teikoik asit polimeridir. LTA’ in lipit kısmı 1-kojibiosyl digliseriddir. Bu yapı glikolipit membranın bir parçası olarak bulunur. Streptokokların grup-D antijenleri enterokok türleri ile Streptococcus bovis kompleks, Leuconostoc, Pediococcus ve Vagococcus’larda da bulunmaktadır^{19,20,21,22,23,24,25}.

Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı yapısı ve fonksiyonları Şekil 3.te şematik olarak gösterilmiştir. Enterokokların hücre duvarı yapısı genel olarak bu yapı ile benzerdir.



Şekil 3. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının yapısı²⁶.

2.4. Enterokok türlerinin özellikleri

E. faecalis: Gastrointestinal sistem florasında bulunmaktadır. Ağız, hepatobiliyer sistem ve vajinadan da izole edilmektedir. İnsan kaynaklı enfeksiyonlardan en sık izole edilen türdür. Ayrıca çeşitli hayvanlarda da bulunur. Üriner enfeksiyon yapar. Ayrıca yara, periton sıvısı, derin pelvik apse

kültürlerinden, ayrıca endokarditli ve bakteriyemili hastaların kan kültürlerinden izole edilebilmektedir. Beta hemoliz yapmaktadır. E.faecalis % 6,5 NaCl varlığında ve pH 9,6 da üreyebilmektedir.

E.faecium: İnsan ve sığırların gastrointestinal sistemlerinde bulunur. Yiyecek, sebze ve yemlerden de izole edilmiştir. İki biyotipi vardır. E.faecalis'e göre antibiyotiklere daha dirençlidir. Kanlı agarda alfa hemoliz yapar, %6,5'luk NaCl konsantrasyonunda ve pH 9,6 da üreyebilmektedir.

E.durans: Süt ve kuru gıdalardan izole edilmektedir. Seyrek olarak insan ve hayvanların barsak ve üriner sistem floralarından izole edilmektedir. Alfa hemolitik olup %6,5 NaCl konsantrasyonu ve pH 9,6 da üremektedir. Buna karşılık 50°C de üreyememektedir.

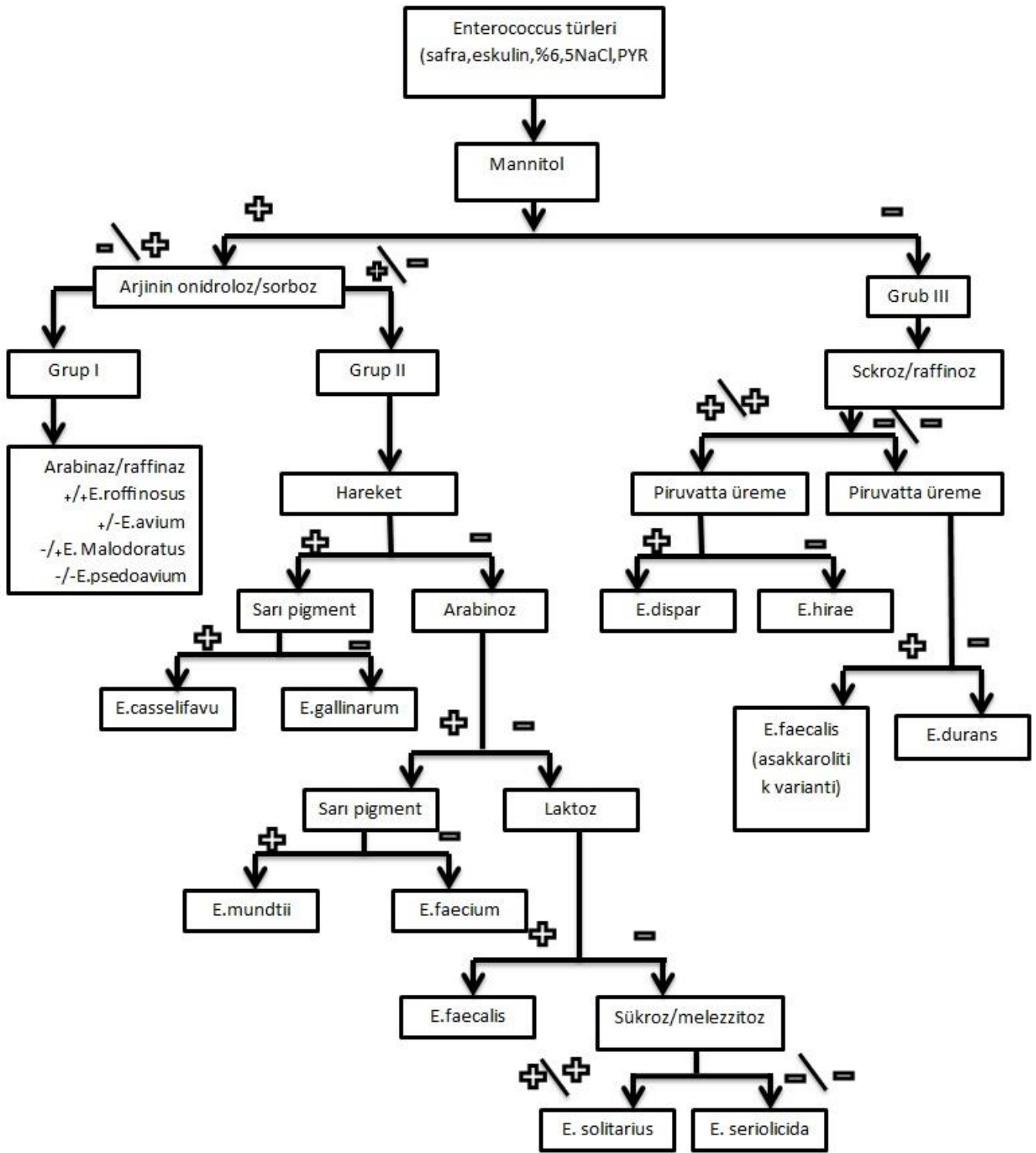
E.avium: Kuşlar, tavuk, köpek gibi hayvanlardan izole edilmiştir. İnsan gastrointestinal sistem florasında bir parçasıdır. Apendisit, otit ve beyin apselerinden izole edilmiştir. Alfa hemolitikdir. Yüzde 6,5'luk NaCl varlığında zor üremektedir. H₂S üretir ve pigment yapmaz.

E.casseliflavus: Bitkilerde ve toprakta bulunur. Vankomisine dirençlidir. Fırsatçı insan enfeksiyonları yapar. E.casseliflavus % 6,5'luk NaCl varlığında ve pH 9,6'da üreyebilmektedir. Hareketli olup besiyerinde sarı pigment yapmaktadır.

E.gallinorum: Evcil kuşların gastrointestinal sisteminde bulunur. Hemodiyalizli bir hastadan izole edilmiştir. Vankomisine dirençlidir. Koyun kanlı agarda hemoliz yapmaz. At kanlı agarda beta hemoliz yapabilir. E.gallinorum, % 6,5 NaCl varlığında ve pH 9,6 da ürer. Hareketli olup pigment yapmamaktadır.

E.hirae: Domuz ve tavuklarda bulunur. Önceden atipik E.faecium olduğu sanılırdı. Hemoliz yapmaz. 10-45°C aralığında, % 6,5'luk NaCl varlığında ve pH 9,6'da üreyebilmektedir^{27,28,29,30,31,32,33}.

Enterokokların biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanması Şekil 4.teki şemada özetlenmiştir.



Şekil 4:Enterokok türlerinin biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanma şeması ³⁴.

2.5. Genom özellikleri

ABD'de The Institute for Genomic Research (TIGR) ve Joint Genomic Institute of the Department of Energy laboratuvarlarında hastane enfeksiyonlarından en sık izole edilen *E.faecalis*, *E.faecalis* V583, *E.faecium* ve *E.faecium* ATCC BAA-472 suşlarının tam genom dizi analizi yapılmıştır. Enterokokların G+C içeriği %37-45 arasındadır. *E.faecalis* V583 genomu, 3.218.031 baz çifti uzunluğunda olup 3182 'open reading frame' (ORF)'e sahiptir. Genlerin çoğu, türler veya özellikle streptokok ve stafilokok cinsleri arasında lateral gen transferi ile kazanılmıştır. VanB genotipi gösteren ilk VRE suşu olan *E.faecalis* V583 suşunun, genomunun yaklaşık olarak %25'i mobil veya ekzojen gen olarak kazanılmış DNA dizilerinden oluşur. Bu mobil elementler konjugatif ve kompozit transpozonlar, patojenite adaları, integre plazmid genleri, faj bölgeleri ve çok sayıda insersiyon dizilerinden oluşur. Mobil gen elementlerinin kazanımı ilaç direncinin kazanımı ve yayılımına katkıda bulunmaktadır. Bu da enterokokların ilaç direncinde bir rezervuar olduğunun kanıtıdır. *E.faecalis* V583 suşunda kromozomal DNA dışında büyüklükleri 66320 baz çifti, 57660 baz çifti ve 17963 baz çifti olan 3 plazmid bulunur. Plazmidlerin G+C oranı % 34 civarındadır. *E.faecium* genomu 2.928.706 baz çifti büyüklüğünde olup, 3309 ORF içerir. Genomda toplam G+C oranı %37,8'dir^{35,36}.

2.6. Genetik bilgi transferi

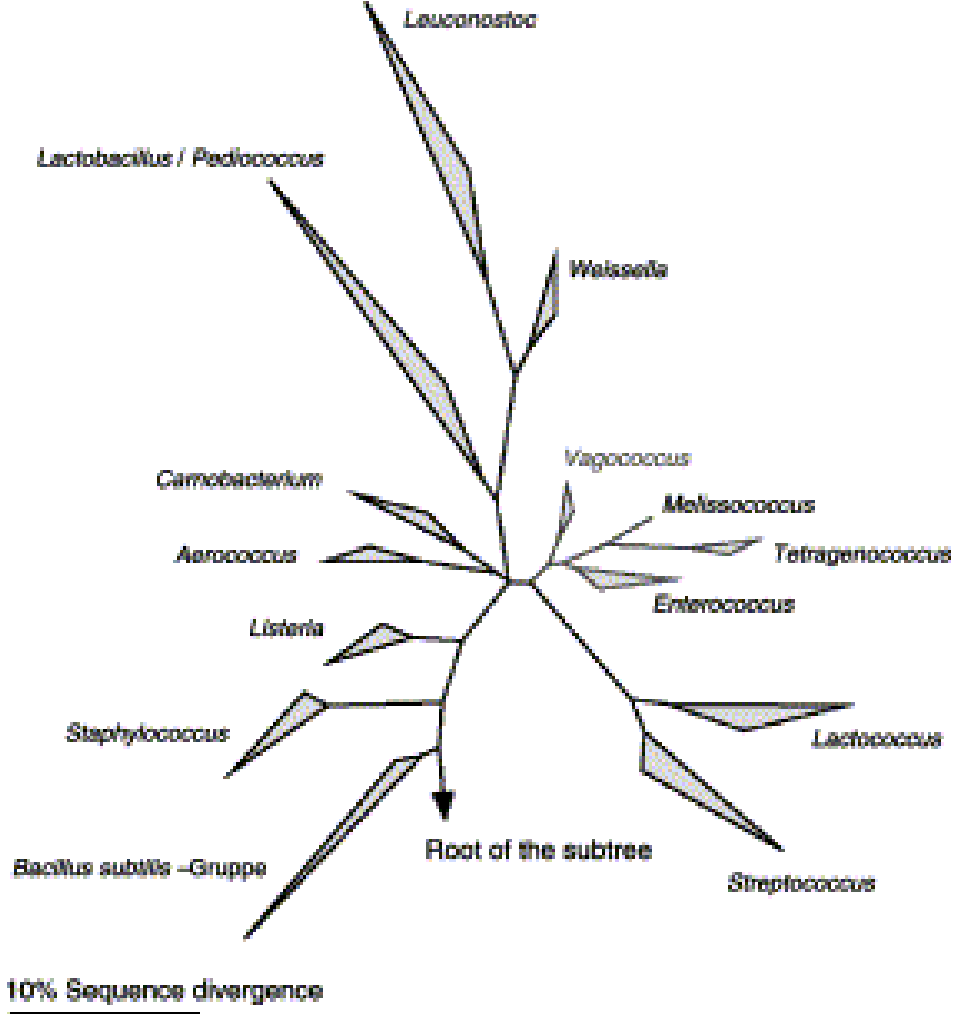
E.faecalis ve *E.faecium* suşlarında, virulans genleri veya ilaç direnci ile ilgili genetik bilgi transferinde rol oynayan, çok sayıda plazmid, transpozon, patojenite adası, integre plazmid geni ve faj bölgesi ile oldukça fazla sayıda insersiyon dizileri, plazmid ve transpozon bulunmuştur. Enterokoklarda Rolling circle replicating plazmid (RCR), Inc18 plazmid ve feromon-responsive plazmid olmak üzere üç sınıf plazmid tanımlanmıştır. RCR ve Inc18 plazmidleri pek çok cinste replike olabilirken, feromon-responsive plazmid replikasyonu sadece enterokoklarla özellikle de *E.faecalis* ile

sınırlıdır. Plazmidi bulunmayan alıcı suşlar ekstraselüler feromon sentezleyerek, verici hücre dış yüzeyinde agregasyon faktör (AF) denilen proteinimsi maddenin oluşumunu sağlar. AF alıcı hücrenin yüzeyine bağlanır ve alıcı ile verici hücrenin yakınlaşması sonucu plazmid değişimi oluşur. Feromon ile indüklenmiş transfer, plazmid geçişini $10^5 - 10^6$ kat artırır. Enterokoklar ayrıca konjugatif transpozonlar ile de genetik bilgi değişimi yapabilir. Bunun için hücre-hücre teması gereklidir. Transpozonlar sıklıkla tetrasiklin, eritromisin, gentamisin, kanamisin ve diğer aminoglikozidler gibi antimikrobiyal ilaçlara direnç genleri taşırlar. Konjugatif transpozon Tn916, *E.faecalis*'lerde tetrasiklin direncini kodlarken Tn1546 vankomisin direncini kodlayan Van A gen kümesini, Tn1547, Tn1549 ve Tn 5382 VanB operonunu, Tn5281 yüksek düzey gentamisin direncinden sorumlu aac(6') Ie-aph(2'') Ia genini taşır. Transpozonlar çok geniş bir konak spektrumuna sahip olup enterokokların yanı sıra streptokoklar, laktokoklar ve diğer Gram pozitif bakterilerde de bulunurlar. Konjugasyon ile ilişkili belirli moleküller, enfeksiyon sırasında immun modülatör rol oynayabildiğinden patojeniteye katkıda bulunurlar^{37,38,39}.

2.7. Sınıflandırma

1937 yılında Sherman, yaptığı sınıflandırmada streptokokları, fekal streptokoklar, süt streptokokları, viridans streptokoklar ve piyojen streptokoklar diye dört gruba ayırmıştır. Lancefield sınıflandırmasında enterokokları, D grubu streptokoklarının içinde değerlendirmiştir. Daha sonra Sherman hemolitik ve proteolitik reaksiyonlarındaki farklılıklar nedeniyle enterokokların D grubu streptokoklardan farklı özellikleri olduğunu göstermiştir. 1984 yılında, DNA hibridizasyonu özellikleri ve 16SrRNA dizisindeki farklılıklardan dolayı, *Streptococcus faecalis* ve *S.faecium* türlerinin streptokoklardan ayrılarak *Enterococcus* adı altında ayrı bir cins içinde incelenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Fenotipik farklılıklarının yanı sıra 16SrRNA gen dizi analizi yöntemi sonuçlarına göre enterokokların streptokoklar ve laktokoklardan çok Vagococcus,

Tetragenococcus ve Carnobacterium cinslerine daha yakın oldukları anlaşılmıştır. Enterokokların diğer yakın cinslerle ilişkisini gösteren filogenetik dendrogram Şekil 5. te gösterilmiştir^{40,41}.



Şekil(5). Enterokok cinsinin 16SrRNA dizi özelliklerine göre hazırlanan filogenetik dendrogram⁴².

16SrRNA dizilenme özelliklerinin incelenmesi sonucu birbirine benzer enterokok türlerinin aynı grublarda toplanabilmesine olanak vermiştir. Enterococcus faecalis grubu, E.faecalis, E.haemoperoxidus ve E.moraviensis türlerini içermektedir. E.faecium grubu ise E.faecium, E.durans, E.hirae, E.mundtii, E.porcinus ve E.villorum türlerini içermektedir. Lancefield'in grub D antijeni, hücre duvarı ile bağlantılı bir gliserol olan teikoik asitten oluşur.

Enterokoklar % 80 oranında D grubu antiserumlarıyla aglütinasyon verirler. Grup D antijeni, enterokoklar dışında, *S.bovis*, *S.equinus*, *S.suis*, *Pediococcus* türleri ve *Leuconostoc* türleri gibi diğer gram pozitif bakterilerde de bulunabildiğinden, enterokokların özellikle doğal olarak glikopeptid direnci bulunan *Leuconostoc* türleri ve *Pediococcus* türlerinden ayırımı için PYR hidrolizinden yararlanılır^{42,43,44}.

Enterokoklar mannitol, sorbitol, sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arginini hidrolize etme özelliklerine göre beş gruba ayrılırlar.

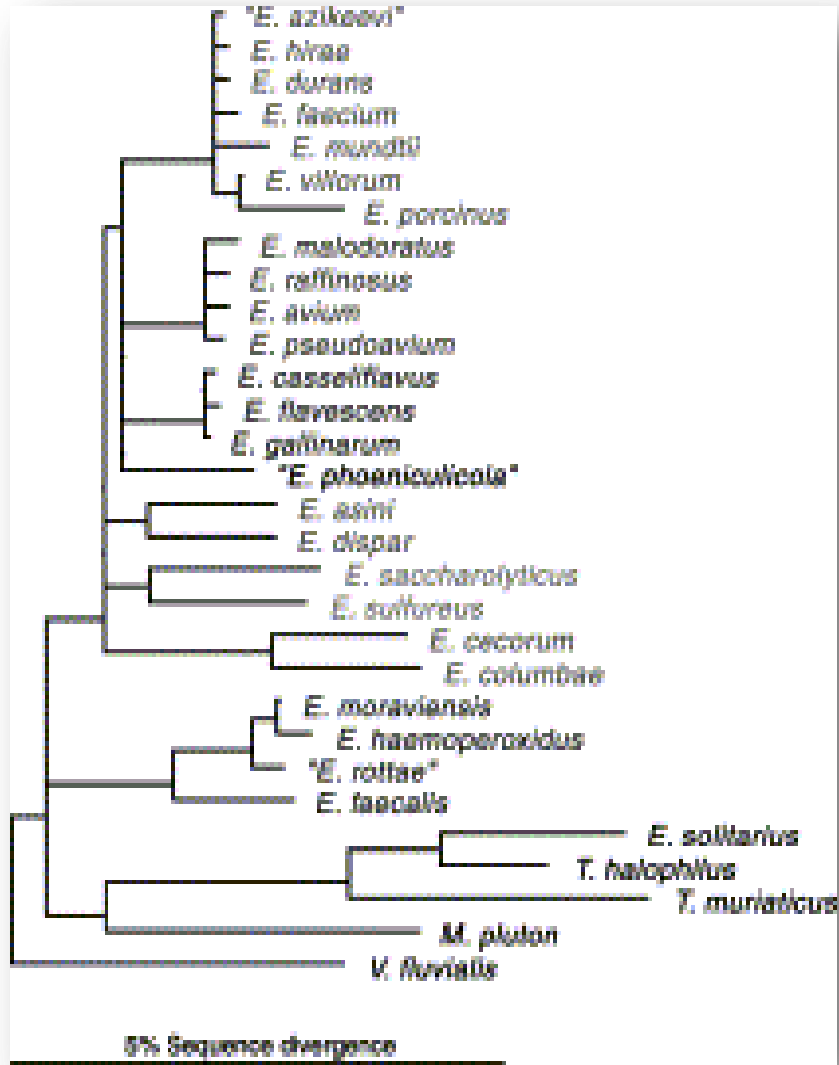
Grup 1; *E. avium*, *E. malodoratus*, *E.raffinosis*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E.pallens*, ve *E. Gilvus* türlerinden oluşur. Bu türler mannitol, sorbitol ve sorboz sıvı besiyerinde asit oluşturur, ancak arginini hidrolize etmezler.

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

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

Grup 4; *E. sulfurens*, *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve *E. cecorum* türlerini kapsamaktadır. Bu gruptaki türler mannitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arginini hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E. cecorum* asit oluştururken, *E. sulfureus* asit oluşturmaz.

Grup 5’te *E. columbae*, *E. canis*, *E. moraviensis* türleri bulunur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize etmezler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler. Enterokok türlerinin birbiriyle ilişkisi Şekil 6.da gösterilmiştir⁴⁵.



Şekil(6): Enterokoklar türlerinin birbiri ile ilişkisi²⁹.

2.8. Enterokokların patojenite özellikleri

Enterokoklar önemli nozokomiyal patojenler olarak kabul edilmektedir. Üriner sistem başta olmak üzere yara ve yumuşak doku enfeksiyonları, endokardit ve bakteriyemilerden sıklıkla etken olarak izole edilmektedirler⁴⁶.

Enterokoklar fırsatçı patojenler olup hastaneye yatırılan yaşlı, immünsuprese ve ciddi hastalığı bulunanlarda enfeksiyon oluşturmaktadır. Tüm Enterokok enfeksiyonlarının % 80'ininden E.faecalis sorumlu iken E.faecium kalan enfeksiyonların büyük çoğunluğu ile ilişkilidir. Pek çok antibiyotiğe karşı intrensek olarak dirençli olmaları, diğer antibiyotiklere de kolaylıkla direnç geliştirebilmeleri ve çevreye adaptasyonlarının iyi olması nedeni ile diğer patojenlerden daha avantajlı hale gelmektedirler^{47,48}.

2.9. Enterokokların virülans faktörleri

Enterokokların enfeksiyon oluşturmaları ve konağa karşı koymalarını sağlayan çeşitli virülans faktörleri bulunmaktadır. Bu virülans faktörleri şunlardır.

Sitolizin: Enterokokların bazı suşları tarafından üretilir. Hemolitik özellik taşımaktadır. İnsan, at ve tavşan eritrositlerine karşı litik aktivite gösteren sitotoksik bir proteindir^{49,50}.

Lipotekoik asit: Enterokokların D grubu antijenini oluşturur. Tümör nekroz faktör ve interferon salınmasına neden olarak, immun cevabın düzenlenmesini sağlar^{51,52}.

Feromonlar: *E.faecalis*'te bulunur. Nötrofiller için kimyasal olarak çekici olduklarından enfeksiyonlarda inflamatuvar cevabı artırır^{53,54}.

Agregasyon faktörü: *E.faecalis* ve *E.faecium*'da bulunur. Bakteri yüzeyinde yer alan saça benzeyen, protein yapıda bir adezindir. Alıcı ve verici hücrelerin birleşmesini sağlayarak plazmid transferini kolaylaştırır^{55,56}.

Jelatinaz: Enterokoklar tarafından üretilen jelatinaz, jelatin, kollajen, fibrinojen, kasein, hemoglobin, insülin ve bazı bioaktif peptitleri hidrolize edebilmektedir^{57,58}.

E.faecalis suşlarının akut toksik etkilerinin daha fazla olduğu ve hayvan modellerinde endokardit oluşumuna neden olabildikleri gösterilmiştir.

Ayrıca enterokoklarda ekstraselüler süperoksit, ekstraselüler yüzey proteini gibi virulans faktörleri de saptanmıştır.

2.10. Epidemiyoloji

Enterokoklar insan ve hayvan bağırsak florasının önemli bir üyesidir. Enterokoklar bağırsakta kolonize olan gram pozitif bakteriler arasında en yoğun saptanan bakterilerdir. Bu bölgede en sık *E.faecalis* izole edilir. *E.faecium* diğer enterokok türlerine göre hayvanlarda daha fazla bulunurken *E.mundtii* ve *E.casseliflavus* bitkilerde bulunur. Ayrıca yapılan birçok araştırmada enterokoklar içinde en fazla izole edilen türler *E.faecalis* ve *E.faecium*'dur^{59,60}.

Yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre, enterokokların hastadan hastaya ve hatta hastaneler arası yayılabilmesinde bu bakterilerin normal bağırsak florasında bulunmasının temel rolü oynadığı bilinmektedir. Nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan enterokok türleri sağlık personelinin ellerinde ve hastane ile bakım evlerindeki çevresel kaynaklardan izole edilmektedir⁶¹.

Ayrıca enterokoklar endodontik tedavi başarısızlıklarında rol oynar ve genellikle kök kanal sisteminden izole edilmektedir. E.faecalis insanların endodontik enfeksiyonlarından %80-90 oranlarında sorumlu bulunmaktadır. Genellikle kök kanallarından tek bir enterokok türü izole edilmektedir^{62,63}.

2.11. Enterokok enfeksiyonları

İnsan enterokok enfeksiyonlarından en az 12 enterokok türü izole edilmiştir. Ancak, enfeksiyonların çoğundan E.faecalis ve E.faecium sorumlu bulunmaktadır.

Enterokoklar üriner sistem ve yara enfeksiyonlarının yanı sıra endokardit, salpenjit, endometrit, peritonit, safra yolu enfeksiyonları, karın içi abseleri, bakteremi bazen menenjit gibi enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Enterokokların en sık neden olduğu enfeksiyonlar arasında üriner sistem enfeksiyonları birinci sırada yer almaktadır^{64,65}.

2.11.1. Üriner sistem enfeksiyonları:

Üriner sistem enfeksiyonları enterokokların yol açtığı klinik hastalıkların en sık görülen tipidir ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen enterokokların en sık kaynağı idrar kültürleridir. Enterokokların etken olduğu üriner sistem enfeksiyonlarının çoğu nozokomiyaldır ve çoğunlukla üriner kateterizasyon ile birlikte bulunur^{66,67}.

2.11.2. Endokardit:

Enterokoklar bakteriyel endokarditlerin % 5-15' ini oluştururlar.

Çocuklarda da endokardite neden olabilirler. Enterokok endokarditi erkeklerde ve 50 yaş üzerindeki bireylerde daha sık görülmektedir. Vakaların çoğunda altta yatan bir kalp kapak hastalığı veya prostetik kapak bulunmakla beraber, enterokoklar normal kapaklarda da enfeksiyona yol açabilmektedirler. Enfeksiyonlarda en sık aort ve mitral kapak tutulumu görülmektedir. Enterokoklar genellikle subakut bakteriyel endokardite neden olurlar^{68,69}.

2.11.3. Bakteriyemi:

Enterokok bakteriyemisi enterokok endokarditinden daha sık görülen bir enfeksiyon olup giderek daha sık karşılaşılan bir durumdur. Hastane dışında gelişen bakteremilerin üçte birinde endokardit saptanabilmektedir. Nozokomiyal enterokok bakteriyemilerinden genellikle birden fazla bakteri izole edilmektedir ve sıklıkla üriner sistem ve karın içi enfeksiyonlarından kaynaklanmaktadır^{70,71}.

2.11.4. Karın içi ve pelvik enfeksiyonlar:

Enterokoklar sıklıkla intraabdominal ve pelvik enfeksiyonlarda mikst aerop ve anaerop enfeksiyon etkenleri arasında yer almaktadır. Siroz veya nefrotik sendromlu hastalarda spontan bakteriyel peritonit ve periton diyalizi yapılanlarda da peritonite neden olurlar. Enterokoklar, endometrit veya akut salpenjit komplikasyonu olarak bakteriyemi ve abselere neden olabilmektedirler^{72,73}.

2.11.5. Yara ve yumuşak doku enfeksiyonları:

Enterokoklar nadiren selülit veya diğer derin doku enfeksiyonlarına yol açarlar. Sıklıkla cerrahi yara enfeksiyonları, dekübitus ülserleri ve diyabetik

ayak enfeksiyonlarından alınan klinik örneklerden gram negatif basil ve anaerob bakteriler ile birlikte izole edilebilirler^{74,75}.

2.11.6. Menenjit:

Enterokoklar nadiren menenjit yapar. Daha çok kafa travması, nöroşirürjik girişim sonrası veya santral sinir sisteminde anatomik defekti olan hastalarda menenjit yapabilirler. AIDS, akut lösemi gibi immünsüpresyonu olanlarda bakteriyemi komplikasyonu olarak menenjit gelişebilir. Enterokok menenjiti olan çoğu hastada BOS lökosit sayısı milimetreküpte iki yüzün altında bulunmaktadır^{76,77}.

2.11.7. Yeni doğan ve pediatrik enfeksiyonlar:

Yeni doğan bebekler enterokok enfeksiyonları için risk grubunda bulunmaktadır. Bu grupta en sık sepsis ve menenjite neden olurlar. Yenidoğan sepsis ve menenjitlerinin % 13 ünde enterokoklar etken olarak gösterilmiştir⁷⁸.

2.12. Enterokokların antibiyotik duyarlılıkları ve direnç mekanizmaları

Enterokoklardaki antibiyotik direnci intrinsek (türe özgü) ve kazanılmış olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Intrinsek dirence örnek olarak sefalosporinlere, antistafilokokal penisilinlere (metisilin, nafsilin gibi), aminoglikozidlere (düşük düzeyde) ve klindamisine (düşük düzeyde) olan direnç gösterilebilir. Enterokoklar plazmid ve transpozonlar yoluyla son yıllarda belirgin bir şekilde kazanılmış direnç geliştirmiştir. Bunlar arasında en önemli olanları yüksek düzey aminoglikozid direnci, beta laktamaz yapımı veya diğer mekanizmalarla gelişen yüksek düzey penisilin direncidir. Şu anda enterokokların

çok önemli bir kısmı bu yol ile eritromisin, klindamisin ve tetrasiklinlere direnç kazanmış durumdadır⁷⁹.

2.12.1. Beta-laktam direnci:

Bu dirençte rol oynayan asıl mekanizma, düşük afiniteli penisilin bağlayan proteinlerin (PBP) üretilmesi ile ilişkilidir. Düşük afiniteli PBP'lerin (özellikle PBP 5) aşırı üretiminin penisilin direncine neden olduğu gösterilmiştir. Betalaktamaz üretimine bağlı direnç ise oldukça nadir görülen, edinsel ve inokulumu bağımlı bir dirençtir. Genellikle sefalosporinler enterokoklara karşı penisilinden daha az etkilidir ve sefalosporinlerin hiçbirisinin klinikte enterokoklara karşı kullanılması uygun değildir^{80,81}.

2.12.2. Aminoglikozid direnci:

Enterokoklarda aminoglikozid direnci üç farklı mekanizma ile meydana gelir.

A:Permeabiliteye bağlı direnç:

Aminoglikozidlere karşı kromozomal mutasyon sonucunda membrandaki permeabilitenin azalması ile oluşan direnç yüksek düzeyde olmamakla birlikte tüm aminoglikozidlere karşı çapraz direnç şeklindedir. Bu tip direnç aminoglikozitlerin beta-laktam antibiyotikler ile birlikte kullanılmasıyla bertaraf edilebilir⁸².

B: Aminoglikozid modifiye edici enzimlere bağlı direnç:

Enterokoklarda aminoglikozidlere karşı en sık gözlenen yüksek düzeydeki (2000 mg/mL) edinsel direnç, plazmid veya transpozonlar tarafından kodlanan asetiltransferaz (AAC), adeniltransferaz (ANT), fosfotransferaz (APH) gibi modifiye edici enzimlerin neden olduğu dirençtir. Bu enzimlerin etkisiyle

aminoglikozitler inaktive olmaktadır. Yüksek düzey gentamisin direncine neden olan enzim 6' asetiltransferaz- 2 fosfo-transferaz enzim kompleksi olup streptomisin hariç klinik kullanımda olan tüm aminoglikozidlere (gentamisin, tobramisin, amikasin ve netilmisin) karşı yüksek düzeyli direncin ortaya çıkmasında etkilidir. Streptomisine enzimatik yoldan kazanılan yüksek düzey direnç ise 6 adeniltransferaz (AAD 6) enzimi ile olmaktadır. Bu enzim varlığında sadece streptomisine karşı yüksek düzeyde direnç gelişmektedir. *E. faecalis* kökenlerinde yüksek düzeyde aminoglikozid direnci yoksa penisilin ile aminoglikozid antibiyotikleri arasında sinerjizm görülür. *E. faecium* kökenlerinde ise yüksek düzey aminoglikozid direnci bulunmasa da penisilin ile sadece gentamisin ve streptomisin sinerjistik etkili olabilir. Çünkü *E. faecium* kökenleri intrinsik olarak tobramisin, netilmisin, kanamisin ve sisomisini modifiye eden 6' asetiltransferaz (AAC-6') enzimini oluştururlar. AAC 6' enzimi aac(6') geni tarafından kodlanır. Bu durumda yüksek düzey aminoglikozid direnci olmamakla beraber (MIK<2000 mg/L) hücre duvarına etkili antibiyotikler ile sayılan bu 4 aminoglikozid arasındaki sinerji bozulmaktadır^{82,83,84}.

C: Ribozomal direnç:

Bir ribozomal proteinde oluşan tek bir aminoasit değişikliği, o ribozomun antibiyotiğe karşı düşük afinite göstermesine neden olur. Bu direnç tipi klinik olarak oldukça nadir görülmekte ve diğer aminoglikozidlere karşı çapraz direnç sağlamamaktadır⁸⁵.

2.12.3. Vankomisin direnci:

Enterokoklarda glikopeptid antibiyotiklere direnç ilk kez 1988 yılında Uttley ve arkadaşları tarafından bildirilmiş ve daha sonra tüm dünyada hızla yayılmıştır. Türkiye'de ise ilk VRE suşu Antalya'da saptanmış olup 1998 yılında Vural ve arkadaşları tarafından ANKEM kongresinde sunulmuştur. Vankomisin direncinde farklı genler rol oynamaktadır. VanA tipi, vankomisine ve teikoplanine yüksek düzeyde direnç gösteren (vankomisin için \geq

64 mg/mL, teikoplanin için ≥ 16 mg/mL) ve enterokoklarda en sık görülen direnç tipidir. Dirence neden olan membran proteini ancak vankomisin varlığında bakteri üretilirse sentezlenir. VanB tipi direnç ise vankomisin ile indüklenirken, teikoplaninden etkilenmez. Ancak vankomisin ile indüklenme teikoplanin direncine de neden olabilmektedir. VanC tipi direnç özelliğine sahip suşlar sadece vankomisine düşük düzeyde konstitütif direnç gösterir, teikoplanine ise duyarlıdırlar. VanD tipi izolatlar ise konstitütif olarak vankomisin (64-256 mg/mL) ve teikoplanine (4-32 mg/mL) dirençlidirler. Yeni ortaya çıkarılan VanE ve VanG tipi dirençte düşük düzeyde vankomisine direnç (16 mg/mL) mevcut olup bu suşlar teikoplanine duyarlıdır (0.5 mg/mL)^{86,87,89}.

2.13.Tedavi

Sefalosporinler, aminoglikozidler (yüksek düzey dışında), klindamisin ve kotrimoksazol invitro olarak etkin gözükebilir, ancak klinik olarak etkisizdirler ve enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmamalıdır. Florokinolonlar, eritromisin, tetrasiklin ve kloramfenikol için de klinik başarısızlıklar bildirilmiştir. Günümüzde enterokokların neden olduğu üriner sistem enfeksiyonları, peritonit ve yara enfeksiyonlarının çoğu ampisilin, penisilin G ya da vankomisin gibi tek ilaçla tedavi edilebilir. Enterokok endokarditi ve menenjit için kombinasyon tedavisi gereklidir. Bu enfeksiyonlarda standart tedavi bakterisidal etkili olmalıdır. Kombinasyon tedavisi hücre duvarına etkili ajanla (penisilin G, ampisilin veya vankomisin) protein sentezini etkileyen aminoglikozid (streptomisin veya gentamisin) antibiyotiğin beraber verilmesi ile uygulanır. Penisilin allerjisi olan hastalarda veya yüksek düzey penisilin direnci olduğu zaman penisilin G veya ampisilinin yerine vankomisin kullanılabilir. Yüksek düzey gentamisin dirençli enterokoklarla oluşan menenjit veya endokarditli hastalarda yüksek düzey streptomisin direnci aranmalıdır. Streptomisine karşı yüksek düzey direnç yoksa kombinasyon tedavisinde gentamisinin yerine kullanılır. Streptomisine yüksek düzey dirençli endokardit veya menenjit durumunda gentamisine direnç saptanmadıysa kombinasyon

tedavisinde streptomisin yerine gentamisin kullanılır. Gentamisin ve streptomisin her ikisine karşı da yüksek düzeyde direnç içeren suşların oluşturduğu endokardit gibi bakterisidal tedavi amaçlanan durumlarda IV ampisilin ile uzun süre (8-12 hafta) devamlı infüzyon tedavileri önerilmektedir. Ancak sadece intravenöz ampisilin tedavisinin yeterli olduğu olguların yanısıra kapak replasmanı gerektiren olgular ve relapslar da bildirilmiştir.

Beta-laktamaz üreten enterokok enfeksiyonlarında vankomisin, ampisilin-sulbaktam ve amoksisilin-klavulanat gibi betalaktam+betalaktamaz inhibitörleri kullanılabilir. VRE'lerin bir kısmı (özellikle *E. faecalis*) penisilin G veya ampisiline duyarlı olabilir. Bu nedenle, VRE enfeksiyonlarının tedavisinde penisilin G ya da ampisilin denenebilir. Hem penisilin G'ye hem de vankomisine yüksek düzeyde dirençli enterokokların (genellikle *E. faecium*) neden olduğu enfeksiyonların tedavisi büyük bir sorundur. Vankomisin ve penisilin G veya ampisilin kombinasyonunun bu mikroorganizmaların bazıları üzerinde in vitro koşullarda bakteriyostatik etki gösterdiği, ampisilin + vankomisin + gentamisin kombinasyonunun ise hayvan modellerinde bakterisidal etki gösterdiği bilinmektedir. Van B genotipindeki VRE'ler in vitro olarak teikoplanine duyarlı olsalar da, bu tür mikroorganizma enfeksiyonlarının tek başına bu antibiyotikle tedavisi sırasında genellikle direnç gelişir. Teikoplanin + aminoglikozid kombinasyonu bu tür olgularda daha başarılı bulunmuştur. Günümüzde VRE'lerin neden olduğu enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde quinupristin-dalfopristin ve linezolid yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Quinupristin-dalfopristin kombinasyonuna karşı *E. faecalis* intrinsek olarak dirençli olduğu için yalnızca *E. faecium* enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Linezolid hem *E. faecium* hem de *E. faecalis*'e karşı in vitro aktivite göstermektedir. Her iki antibiyotikte enterokoklara karşı bakteriyostatik etkili oldukları için endokardit gibi ciddi enfeksiyonların tedavisinde dikkatli kullanılmalıdır. Son zamanlarda daptomycin ve oritavancin (LY333328) gibi enterokoklara karşı bakterisidal etkili ajanlar geliştirilmiş olup bu ilaçlarla ilgili deneysel çalışmalar devam etmektedir

89,90,91,92,93,94,95

2.14. Tanı

Aseptik koşullarda alınan çeşit örnekler %5 koyun kanlı agara ekilip 37°C'de 24 saat inkübe edilerek değerlendirilir. Kanlı agarda uygun koloni morfolojisine sahip, katalaz testi negatif bulunan, safralı eskülin besiyerinde siyahlık oluşturan, % 6.5 NaCl içeren besiyerinde üreyen ve pirolidonil arilamidaz (PYR) testi pozitif olan gram pozitif koklar enterokok türleri olarak tanımlanır.

Katalaz testi: Enterokok olduğu düşünölen kolonilerden bir kaçı lam üzerinde ezilerek üzerine %3 lük H₂O₂ (hidrojen peroksit) damlatılır. Hava kabarcığı oluşumu izlenir. Enterkoklar katalaz testi açısından negatif sonuç verirler. Bu test streptokok ve enterokokları stafilokoklardan ayırt etmek için kullanılır.

Safra eskulin testi: Bu test için Bile-Esculin-Agar kullanılır. Bu besiyerine şüpheli koloniden ekim yapılır. Bir gece 35°C deki inkübasyon sonunda besiyerinde üreyen ve eskulini hidrolize ederek siyah renk oluşturan suşlar pozitif kabul edilir.

Yüzde 6,5 luk NaCl de üreme testi: şüpheli koloniden öze ile içinde % 6.5 tuz içeren besiyerine ekim yapılarak 35°C de 24-72 saat inkübe edilir. Besiyeri içerisinde bulanıklık oluşturan suşlar pozitif kabul edilir.

Katalaz negatif olan, safra eskulinli ve tuzlu su besiyerlerinde üreyen suşların enterokok olma olasılıkları büyüktür.

API sistemi ile tanımlama yöntemi: Bir çok biyokimyasal reaksiyon sonucunun gözlenebildiği bu tanımlama sisteminde ticari olarak temin edilen test striplerine bakteri süspansiyonundan ekim yapılır. Test stribinde

enkübasyon sonunda oluşan renklere göre skorlama yapılır ve bilgisayar programından yararlanılarak bakteri tanımlaması yapılır.

Antimikrobiyal duyarlılık testi: Saf kolonilerden hazırlanan 0,5 McFarland bulanıklılığındaki bakteri süspansiyonu % 5 kan eklenmiş Mueller Hinton agar (MHA) besiyerlerine yayılarak ekilir. Onbeş dakika kuruması için bekletildikten sonra besiyerlerine etkisi incelenecek antibiyotik diskleri yerleştirilir. Otuz beş °C de 18-20 saatlik inkübasyon sonunda sonuçlar değerlendirilir.

E-test yöntemi: Üzerine çeşitli oranlarda antibiyotik emdirilmiş antibiyotik stripleri, bakteri süspansiyonu yayılmış besiyeri üzerine yerleştirip 24-48 saat sonra oluşan inhibisyon zonunun en alt birleşim yerinden okunması esasına dayanır².

2.15. Enterokoklar için antibiyotik duyarlılık testleri:

Enterokokların intrinsik olarak dirençli olduğu antibiyotikler, örneğin sefalosporinler, oksasilin, TMP-SMX, klindamisin ve standard konsantrasyonlarda aminoglikozidler test edilmemelidir. Penisilin veya ampisilin ve vankomisin rutin olarak kullanılmalıdır. İdrar izolatları için florokinolonlar, eritromisin, nitrofurantoin ve tetrasiklin ilave edilebilir. Disk kullanıldığında 10 µg'lık ampisilin diski etrafında ≤16 mm, 10 ünitelik penisilin diski etrafında ≤14 mm zon oluşması durumunda bakteri dirençli kabul edilmektedir. Vankomisin için düşük düzeyde direnci ortaya koyabilmek amacı ile ≤14 mm altındaki zon dirençli, 15-16 orta duyarlı, ≥17 mm ise duyarlı kabul edilmektedir. Teikoplanin için bu değerler ≤10, 11-13 ve ≥17 mm olarak belirlenmiştir. Vankomisine orta duyarlı suşların tedavisinde vankomisin kullanılması düşünülüyorsa MİK değerleri çalışılmalıdır. Ampisilin ve penisilin için MİK değeri ≥16 µg/ml dirençli kabul edilmesine rağmen, çok yüksek ampisilin dozları ile MİK değeri ≤64 µg/ml olan izolatları tedavi edebilmek mümkün olabilmektedir.

Vankomisin MİK değeri ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$ olan enterokoklar dirençli kabul edilmektedir. Endokardit, menenjit ve immun kompromize hastalardaki derin infeksiyonlarda yüksek düzeyde aminoglikozid direnci bakılmalı ve beta laktamaz testi uygulanmalıdır. Gentamisine yüksek direnç, streptomisin dışındaki tüm aminoglikozidlerle sinerjizme engel olacak direnci gösterir. Yüksek düzeyde aminoglikozit direncini belirlemek için bakterinin yayıldığı besiyerine yüksek konsantrasyonda gentamisin ve streptomisin emdirilmiş diskler konularak test yapılmalıdır⁹⁶.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada 2012 yılında Ocak ve Ekim ayları arasında çeşitli poliklinik ve kliniklerden Gazi Üniversitesi Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarına kültür için gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok olarak tanımlanan 72 adet bakteri suşu incelenmiştir. Enterokokların tür düzeyinde tanımlanmaları konvansiyonel yöntemlerle yapılmıştır. Aynı zamanda bu bakterilerin tanımlanmaları API Strep ID 32 kiti kullanılarak teyid edilmiştir. Tanımlanan enterkokların antibiyotik duyarlılıkları incelenmiştir. Antibiyotik duyarlılıkları penisilin, ampisilin, siprofloksasin, fosfomisin, linezolid, levofloksasin, tetrassiklin, teikoplanin ve vankomisin antibiyotik diskleri kullanılarak test edilmiştir. Beta laktamaz yapıp yapmadıkları incelenmiştir. Ayrıca bu bakterilerin yüksek düzeyli aminoglikozit direnci olup olmadığı test edilmiştir. Yüksek düzeyli aminoglikozit direnci 120 μg 'lık gentamisin ve 300 μg 'lık streptomisin diskleri kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.1. Laboratuvar da klinik 6rnek lere yapılan işlemler

Laboratuvara gelen 6rnekler 7eşitlerine g6re farklı besiyerlerine ekildi. Cerrahi yara-abse s6r6nt6 6rnekleri; Koyun kanlı agar (G6l BBL Biyoloji Laboratuvarı) ve EMB Agara (Oxoid) tek koloni ekim tekniğiyle ekilmişlerdir. Ekim yapılan besiyerleri 24-48 saat s6re ile 35-37 6C'lik et6ve konuldu. Değerlendirme aşamasında enterokok kolonisi g6r6n6m6 veren bakterilere katalaz testi yapıldı ve gram boyaması yapılarak incelendiler.

Subklavian katater, multil6men ucu gibi 6rneklerde aynı şekilde kanlı agar ve EMB agara tek koloni ekim tekniği ile ekilerek değerlendirilmiştir. Ek6vyonla gelen cerrahi yara, akıntısı ve s6r6nt6leride aynı şekilde incelenmişlerdir. Steril enjekt6r, t6p i7inde g6nderilen apse, drenaj mayii, koleksiyon mayii gibi 6rneklerde kanlı agar ve EMB agara ekilmişlerdir.

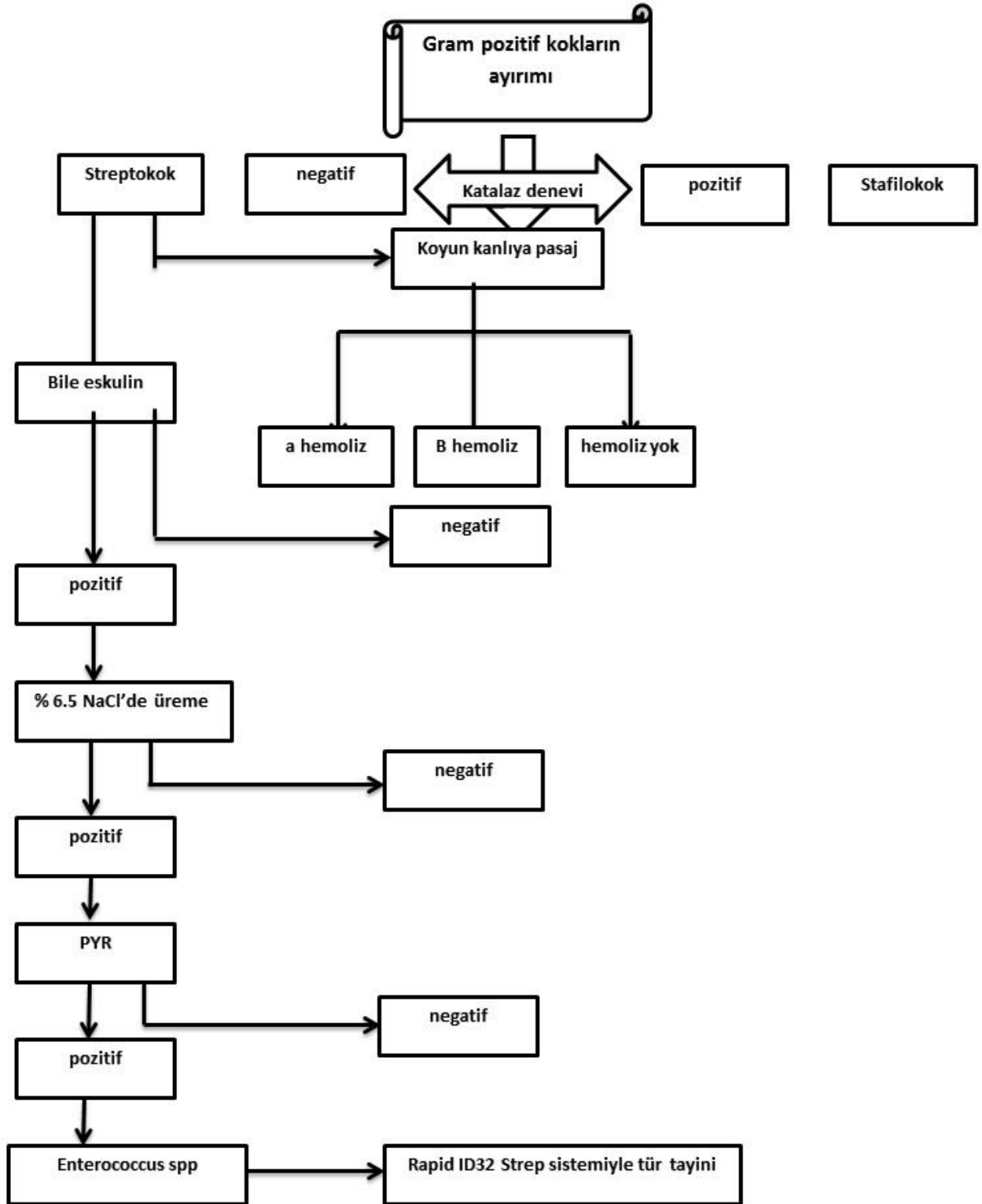
Usul6ne g6re alınmış idrar 6rneklerinden 10 6l'lik kalibreli 6ze ile alınan idrar kanlı ve EMB agara ekilmiş ve 6reme sonunda 6reyen enterokokların koloni sayıları belirlenmiştir. Mililitresinde 100 000 koloni 6reyen 6rnekler 7alışmaya dahil edilmiştir.

Kan 6rnekleri ilgili doktor tarafından alınmış ve kliniğe g6nderilen kan k6lt6r6 şişesine kan 1/10 hacimde enjekt6rle aseptik koşullarda eklenmiş ve laboratuvara ulaştırılmıştır. şişeler kodlanarak otomatik 6reme kontroll6 kan k6lt6r6 sistemine (Bactec 9050, Becton Dickinson) yerleştirilmiştir. 6reme sinyali alınan şişelerden gram boyaması yapılmış ve bakteri g6r6lenler kanlı ve EMB agar besiyerlerine ekilmişlerdir. Enterokok ř6phesi olan 6reme olması durumunda 6reyen bakteriler aynı şekilde incelenmişlerdir.

3.2. Değerlendirme

Ekilen kültürler 18-24 saat sonra kanlı agar besiyerinde üreme olup olmaması yönünden değerlendirildi. Kanlı agar besiyerinde üreyen 0,5-1 mm çapındaki gri veya beyazımsı, kenarları düz, belirgin, kolonilerden gram boyaması yapıldı. Gram boyalı preperatlarda gram pozitif kokların görülmesi halinde enterokok olabilecekleri düşünülerek ileri incelemelere geçildi. Öncelikle kolonilere katalaz testi yapıldı. Koyun kanlı agarda hemoliz yapıp yapmadıkları incelendi. Alfa hemolitik olanlar ve hemoliz yapmayanlar şüpheli olarak değerlendirildi. Katalaz negatif olan bakteriler, bile-eskulin agara (Oxoid) ekilip 35-37 °C’de inkübe edildi. %40 safralı ortamda üreyerek eskulini hidrolize eden ve besiyerinde siyah pigment oluşturan bakteriler bile eskulin pozitif kabul edilip % 6,5’luk NaCl’de üreyip remedikleri kontrol edildi. Ardından PYR testi yapıldı. PYR pozitif bakterilerin enterokok oldukları kabul edildi ve tür ayırımı için Vitek-2 otomatik tanımlama sistemi (BioMerieux, Durham, NorthCarolina,USA) kullanılarak kesin identifikasyonları yapıldı.

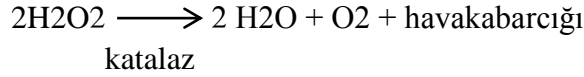
Enterokokların mikrobiyolojik yönden tanımlanması aşamaları Şekil 7’te gösterilmiştir.



şekil 7: Enterokokların mikrobiyolojik yönden tanımlanma aşamaları

3.3. Enterokokların tanımlanmasında uygulanan biyokimyasal testler

1- Katalaz testi: Bakteri katalaz enzimi yapıyorsa aşağıdaki biyokimyasal reaksiyon gerçekleşir.



Kanlı agar besiyerinden agara dokunmadan alınan birkaç koloni lamda öze ile ezildikten sonra üzerine %3'lük Hidrojen peroksitten (H_2O_2) bir damla damlatıldı. Moleküler O_2 üretimi sonucu hava kabarcıklarının oluşması pozitif sonuç olarak kabul edildi.

2-Bile eskulin testi :

Bu test belirli bazı bakterilerin (enterokoklar ve D grubu streptokoklar) eskulini %4 safra tuzlu veya %40 safralı ortamda hidrolize etmesi temeline dayanır. Eskulinin safralı ortamda hidrolizi glikoz ve eskuletinin açığa çıkmasına yol açar. Eskuletin zamanla besiyerindeki ferrik iyonlarla reaksiyona girerek siyah diffüz bir kompleks oluşturur. Bu test için kullanılan Bile eskulin agar (Difco) firma önerileri doğrultusunda hazırlanarak tüplere dağıtılmış ve eğik şekilde dondurularak hazırlanmıştır. Bu testi yapmak için koloniden iğne özeyle inokulum alınıp tüpteki eğik besiyerine ekildi. Otuz beş °C'de 18-24 saat inkübe edildi. Besiyerinde oluşan siyahlık testin pozitif olduğunu gösterir. Enterokoklar ve az sayıdaki bazı viridans streptokoklar pozitif iken diğer streptokoklar negatiftir. Besiyerinde siyahlık oluşması durumunda test sonucu pozitif kabul edildi.

3- Tuz Tolerans Testi (%6,5'lük NaCl testi):

Özellikle enterokokların identifikasyonunda kullanılan bir testtir. Bu amaçla hazırlanan %6,5 NaCl içeren triptikaz soy sıvı besiyeri besiyeri

kullanılmıştır. Besiyerine 2-3 koloni ekilerek 3 saat 35 °C’de inkübe edilmiştir. Ardından üreme kontrolü için koyun kanlı agara pasaj yapıldı. Üreme görülen suşlar test açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir.

4-Nitrocefın testi:

Nitrocefın kromojenik substrat yöntemiyle enterokoklarda beta laktamaz yapımı nitrocefın emdirilmiş disk (Oxoid) kullanılarak test edilmiştir. Bu amaçla steril bir petri içine konan nitrocefın diski üzerine küçük bir damla steril su damlatıldıktan sonra öze ile alınan birkaç enterokok kolonisi diske sürülmüştür. En geç 1 saat içinde disk üzerinde pembe kırmızı renk oluşması halinde test pozitif olarak değerlendirilmiştir.

5- PYR Testi :

Enterokoklar ve A grubu beta hemolitik streptokokların identifikasyonunda kullanılan önemli bir tanı testidir. Bu testte kullanılan PYR substratı ‘L-pyrrolidonyl-beta-naftilamid’dir. Bu substrat spesifik bakteriyel aminopeptidaz enzimiyle hidrolize edilir. Sonuçta serbest beta naftilamid açığa çıkar ve bu son ürün N,N dimetil aminocinamaldehit eklenmesiyle tesbit edilir. Oluşan kırmızı renk pozitif reaksiyonu gösterir. Hızlı testte PYR emdirilmiş filtre kağıdı üzerine şüpheli koloniden 2-3 adet konularak önce PYR broth damlatıldı. 5 dakika beklendi. Ardından PYR reageni bulunan diğer ayıraç damlatılıp 30-60 saniye içerisinde pozitif reaksiyon için kırmızı renk oluşması beklendi. Sarı veya portakal renkler negatif olarak değerlendirildi.

6-İzole Edilen Enterokokların Tür Tayini:

Hasta örneklerinden izole edilerek konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle eneterokok olduğu belirlenen bakterilerin tanılarının kesinleştirilmesi ve tür ayrımları Vitek-2 otomatik tanımlama sistemi (BioMerieux-SA-France) ile

yapılmıştır. Entereokok olduğuna karar verilmiş bakterilerden pasajlar yapılarak saf kültürleri elde edilmiştir. Sistem için özel kullanılan şeffaf plastik deney tüpüne (12x75 mm) 3 ml steril tamponlanmış tuzlu su (%0,45-0,50 NaCl, pH 4.5-7.0) konulmuş, saf koloniler öze ile tüpe aktarılmış ve McFarland 0.5 bulanıklığına eşdeğer homojen bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. İncelenen her suş için iki tüp kullanılmıştır. Birinci tüpe kolonilerden hazırlanan bakteri süspansiyonu konulmuş ve ikinci tüp ise boş olarak kasete yerleştirilmiştir. Kasetin içerisinde bulunan, tüplerin arka kısmındaki bölüme, birinci tüpün arkasına Gram pozitif identifikasyon kartı (Vitek-2 GP, BioMerieux-SA-France) takılmış ve kullanım talimatına uygun olarak kaset Vitek-2 sisteminin içine yerleştirilmiş ve veri girişi yapılmıştır. 18-24 saat, 37 °Cde inkübasyon sonrası, hem cins düzeyinde, hem tür düzeyinde tanımlanmaları gerçekleştirilmiştir. Vitek-2 GP bakteri tanımlama sistemi Şekil 8.de görülmektedir.



Şekil 8: Bakteri tanımlanmasında kullanılan Vitek-2 GP Sistemi

7- Antibiyotik Duyarlılık Testleri :

Bakterilerin antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile CLSI önerileri dikkate alınarak Mueller Hinton agarda (Difco) incelendi Antibiyotik duyarlılık testleri penisilin, ampisilin, tetrasiklin, fosfomisin, siprofloksasin, linezolid, levofloksasin, vankomisin ve teikoplanin diskleri kullanılarak yapıldı.

Yüksek düzeyli aminoglikozit direncinin belirlenmesi için 120 µg gentamisin ve 300 µg streptomisin içeren antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Yüksek düzeyli antibiyotik direnci için kullanılan antibiyotik diskleri ve değerlendirilme kriterleri Tablo 1.de gösterilmiştir. Yüksek düzeyli aminoglikozit direnç özelliği incelenen enterokok suşlarının gentamisin 120 µg ve streptomisin 300 µg'lık diskler çevresinde belirlenen zon çapları (mm) Tablo-6 'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Enterokoklarda yüksek düzeyli aminoglikozit direncinin değerlendirilmesi ⁹⁷

Antibiyotik	Antibiyotik potensi	Dirençli	Duyarlı
Gentamicin	120 µg	<6	>10
Streptomycin	300 µg	<6	>10

Mueller Hinton agar (MHA) hazır besiyerinden 40 gr alınıp 1000 ml distile suyla çözüldükten sonra benmaride eritilip 121 °C'de 15 dakika otoklavlandı. Hazırlanan besiyeri 12 cm çapındaki petri kutularına 4 mm kalınlıkta olacak şekilde döküldü. Bakterilerin taze katı besiyeri kültürlerinden

birkaç koloni alınarak triptik soy broth'a inoküle edildi ve 0,5 Mc Farland bulanıklılığına erişinceye kadar inkübe edildiler. Eküvyonla bu besiyerinden alınan bakteriler MHA besiyerinin yüzeyine yeyıldı. Ticari olarak elde edilen antibiyotik diskleri (Oxoid, Bioanalyse) uygulamadan 1 saat önce buz dolabından çıkarıldı.

Bir petri kutusuna en fazla 8 disk konuldu. Diskler petrinin kenarından 15 mm, birbirinden 20-30 mm uzaklıkta olacak şekilde test plağı yüzeyine yerleştirildiler. Yaklaşık 16-18 saatlik 37 °C'de inkübasyonu takiben oluşan zon çapları milimetrik olarak ölçüldü. Ölçülen zonlar CLSI dökümanındaki zon çapları değerleri ile karşılaştırıldı. Buna göre bakteri deneneni antibiyotiklere karşı dirençli veya duyarlı olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Klinik örneklerden Mikrobiyoloji Laboratuvarında 72 adet enterokok suşu izole edilmiş ve bu suşların disk difüzyon yöntemi ile duyarlılıkları incelenmiştir. Enterokokların yüksek aminoglikozit dirençlilikleri ve nitrosefin testi ile beta laktamaz enzimi üretme özellikleri incelenmiştir.

İncelenen enterokok suşlarının izole edildikleri klinik örnekler göre dağılımı Tablo 2’da gösterilmiştir.

TABLO-2: İncelenen enterokok suşların izole edildikleri klinik örnekler göre dağılımı

Klinik Örnek	Sayı	% oranı
İdrar	63	87.5
Cerrahi alan enfeksiyonu (Yara,abse)	8	11.1
Kan	1	1.3

İncelenen enterokokların 63’ü (% 87.5) idrar örneklerinden, 8’i (%11) yara, abse gibi cerrahi alan enfeksiyonlarından ve bir tanesi kan kültüründen soyutlanmıştır.

Enterokok suşlarının çoğu çocuk, dahiliye ve yoğun bakım ünitelerinden gönderilen örneklerden izole edilmiştir. Çalışma grubuna aldığımız 72 enterokok suşunun 37 tanesi erkek 35 tanesi ise kadın hastadan elde edilmiştir.

Enterokokların izole edildiği hastaların klinik veya poliklinik hastası olma özellikleri Tablo-3 de gösterilmiştir.

Tablo-3: İncelenen enterokoklara ait örneklerin gönderilme yerine göre dağılımı

Örneğin gönderilme yeri	Sayı	% Oranı
Klinik	11	15.3
Poliklinik	61	84.7

İncelenen enterokoklar, konvansiyonel yöntemlerle ve Vitek 2 sistemi yardımıyla cins ve tür seviyesinde tanımlanmışlardır. İncelenen enterokokların türlere göre dağılımı Tablo 4’de gösterilmiştir.

TABLO-4: İncelenen enterokokların Türlerine göre Dağılımı

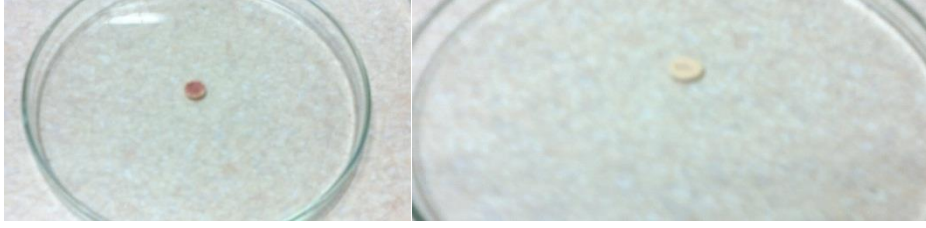
TÜRLER	SAYI	% oranı
E.faecalis	58	80.5
E.faecium	14	19.5

Nitrocefın testi ile incelenen enterokokların 2 tanesinin (% 2.8) beta laktamaz enzimi yaptıkları belirlenmiştir. Laktamaz aktivitesi belirlenen iki suşta E.faecalis türüne ait bulunmuştur. İncelenen enterokokların beta laktamaz yapım sıklığı Tablo 5. da gösterilmiştir. Nitrocefın testi ile pozitif ve negative reaksiyon örnekleri Şekil 9.da gösterilmiştir.

TABLO-5. İncelenen enterokoklarda nitrocefın testi ile belirlenen beta laktamaz yapımı sıklığı.

Nitrocefın testi sonuçları	Sayı	% oranı
Negatif	70	97.2
Pozitif	2*	2.8

•: Beta laktamaz pozitif bulunan iki suş E.faecalis türüne aittir.



Şekil 9: Nitrosefin testi ile beta laktamaz yapımının incelenmesi

Enterokokların yüksek aminoglikozit direnç (YDAD) özelliği yüksek konsantrasyonda streptomisin ve gentamisin içeren diskler kullanılarak disk diffüzyon tekniğiyle incelenmiştir. Testin uygulandığı bir kanlı agar plağı Şekil 10.de gösterilmiştir. Bu resimde aynı plakta yüksek aminoglikozit direnci gösteren ve göstermeyen iki farklı suşa ait test sonucu görülmektedir.

Suşların 34 tanesi (% 47) streptomisine, 31 tanesi (% 43) gentamisine yüksek düzeyli dirençli saptanmıştır. İncelenen 72 enterokok suşunda gentamisin ve streptomisin için YDAD belirlenen ve belirlenmeyen suşlar Tablo 6.da gösterilmiştir.

Tablo 6: İncelenen 72 enterokok suşunun streptomisin ve gentamisine karşı yüksek düzeyli aminoglikozit dirençlilik oranları

Aminoglikozit	Duyarlı	%	Dirençli	%
Streptomisin (n:72)	38	52	34	47
Gentamisin (n:72)	41	57	31	43



Şekil 10 : İncelenen enterokoklarda streptomisin ve gentamisin için yüksek düzeyli aminoglikozit direnci .

İncelenen 72 enterokok suşunun 9 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılık durumları Kırby-Bauer Disk Diffüzyon Tekniği ile incelenmiştir. Bakterilerin antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Tablo 7.de görülmektedir.

TABLO-7: İncelenen enterokokların disk difüzyon tekniği ile çeşitli antibiyotiklere duyarlılık durumları.

	AM*	P	FOS	LZD	LEV	CİP	TE	TEC	VA
1	R	R	S	S	R	R	S	S	S
2	S	I	S	S	S	S	S	S	S
3	S	S	S	S	S	S	R	S	S
4	S	S	S	S	R	R	R	S	S
5	S	S	S	S	S	I	R	S	S
6	S	S	S	S	S	S	R	S	S
7	R	R	S	S	R	R	R	S	S
8	S	S	S	S	R	R	R	S	S
9	S	S	S	S	S	I	S	S	S
10	S	S	S	S	R	R	R	S	S
11	S	S	S	S	R	R	R	S	S
12	S	S	S	S	R	R	R	S	S
13	R	R	S	S	R	R	S	S	S
14	R	R	S	S	R	R	S	S	S

15	R	R	S	S	R	R	R	S	S
16	S	S	S	I	R	R	R	S	S
17	R	S	S	S	R	R	S	S	S
18	R	S	S	S	R	R	S	S	S
19	S	S	S	S	S	R	R	S	S
20	R	R	S	S	R	R	R	S	S
21	S	S	S	S	R	R	R	S	S
22	S	S	S	S	S	R	S	S	S
23	S	S	S	S	S	S	S	S	S
24	S	S	S	S	R	R	R	S	S
25	S	S	S	S	S	S	S	S	S
26	R	R	S	S	S	S	S	S	S
27	S	S	S	S	S	S	R	S	S
28	S	S	S	S	S	I	R	S	S
29	S	S	S	S	R	R	R	S	S
30	S	S	S	S	S	S	S	S	S
31	S	R	S	S	R	S	S	S	S
32	S	S	S	S	S	S	S	S	S
33	S	S	S	S	R	R	R	S	S
34	S	S	S	S	S	S	S	S	S
35	R	R	S	S	R	R	S	S	S
36	S	S	S	S	S	S	S	S	S
37	S	S	S	S	S	S	S	S	S
38	S	R	S	S	R	S	S	S	S
39	S	S	S	S	S	S	S	S	S
40	I	S	S	R	S	R	R	S	S
41	S	S	S	S	S	S	R	S	S
42	S	S	S	S	S	S	S	S	S
43	R	R	S	S	R	R	R	S	S
44	S	S	S	S	S	S	S	S	S
45	R	S	S	S	R	R	I	S	S
46	R	S	S	S	R	R	S	S	S
47	S	S	S	S	S	S	R	S	S
48	S	S	R	S	R	R	R	S	S
49	S	S	S	S	R	R	R	S	S
50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
51	S	S	R	S	S	R	S	S	S
52	S	S	S	S	S	S	R	S	S
53	R	R	S	S	R	R	R	S	S
54	S	S	R	S	S	S	R	S	S
55	S	S	S	S	R	R	R	S	S
56	S	S	S	S	S	S	R	S	S
57	S	S	S	S	S	S	S	S	S
58	R	R	S	S	R	R	S	S	S
59	S	S	S	S	R	R	R	S	S
60	S	S	S	S	S	S	S	S	S
61	R	R	S	S	S	S	S	S	S
62	S	S	S	S	S	S	S	S	S
63	S	S	S	S	S	S	S	S	S
64	S	S	S	S	S	S	S	S	S
65	S	S	S	S	S	S	R	S	S
66	S	S	S	S	S	S	S	S	S
67	S	S	S	S	S	R	R	S	S
68	S	S	S	S	R	R	R	S	S
69	S	S	S	S	S	S	R	S	S
70	S	S	S	S	S	S	S	S	S
71	R	R	S	S	S	S	S	S	S
72	S	S	S	S	S	S	R	S	S

● Amp: ampicilin, FOS: fosfomisin, LZD:linezolid, LEV:levofloksasin., P: penisilin , CİP: siprofloksasin , TE: tetrasiklin ,
TEC: tekoplanin , VA: vankomisin

Tablo 8. Enterkok suşlarının 9 farklı antibiyotiğe duyarlılık durumları.

Antibiyotik	AMP %	FOS %	LZD %	LEV %	P %	CİP %	TE %	TEC %	VA %
Dirençli	16 22	3 4	1 1	31 43	15 20	34 47	36 50	-	-
Duyarlı	56 77	69 95	71 99	40 55	57 79	38 52	36 50	72 100	72 100

5. TARTIŞMA

Günümüzde tüm dünyada çoklu antibiyotik direncine sahip enterokokların etken olduğu enfeksiyonların oranı giderek artmaktadır. Enterokok suşları arasında glikopeptid antibiyotiklere direncin ortaya çıkması ve giderek yayılması enterokokların önemini daha da arttırmıştır. Enterokoklar diğer gram pozitif bakterilere göre genel olarak antibiyotiklere daha dirençlidirler. Ayrıca doğal olarak hiç karşılaşmadıkları antibiyotiklere karşı da intrensek dirençliliklerinin olması bu bakteri enfeksiyonlarının tedavisini güçleştirmektedir. Özellikle vankomisine dirençli enterokok (VRE) enfeksiyonlarının kontrol altına alınması ve VRE'lerin yayılmasının önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Enterokoklar son on yılda nozokomiyal bakteriyemi, cerrahi alan enfeksiyonları ve idrar yolu enfeksiyonlarından daha sık izole edilmektedir. İnsanlarda genellikle E.facalis ve E.faecium enfeksiyonlarına rastlanmaktadır. Enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde trimethoprim-sulfametaksazol, kloramfenikol ve rifampisin gibi antibiyotiklerin kullanımı önerilmemektedir⁹⁸. Kinolanlar tedavide tek başlarına kullanıldığında bu antibiyotiklere karşı hızla direnç gelişmektedir. Enterokokların son yıllarda ampicilin, aminoglikozit ve glikopeptidlere karşı dirençlilik oranlarının arttığı gözlenmektedir. Vankomisine dirençli olduğu belirlenen enterokokların aynı zamanda penisilin ve aminoglikozitlere dirençli saptanması bu tip bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde ciddi problemlere yol açmaktadır⁹⁹. Sefalosporinler, kinolonlar ve düşük düzeyde aminoglikozidler gibi çok sayıda antibiyotiğe intrensek direnç göstermelerinin yanı sıra enterokokların dikkat çekici bir şekilde yeni mekanizmalarla antibiyotik direnci oluşturduğu ve bu direnci aktarabildiği bilinmektedir¹⁰⁰. İntrensek olarak var olan beta laktam direnci, sinerjistik kombinasyon tedavisini gerekli kılmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de enterokoklardaki çoklu antibiyotik direnci önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Enterokok enfeksiyonlarında ilk sırayı üriner enfeksiyonlar almaktadır. Bu enfeksiyonları sıklık sırasına göre intraabdominal, pelvik enfeksiyonlar ve bakteriyemiler izlemektedir. Enterokoklara bağlı

bakteriyemiler daha çok yaşlı ve tıbbi problemi olan veya immun yetmezliği olup uzun süredir hastanede yatan ve antibiyotik tedavisi alan kişilerde görülür. Bu tip enfeksiyonların mortalitesi %30'a kadar çıkmaktadır. Enterokoklar sindirim sistemi ve kadın genital sisteminin normal florasında bulunur ve enterokok enfeksiyonlarının çoğu endojen kaynaklıdır. Ancak son yıllarda, VRE'ler dahil çoğu enterokok enfeksiyonunun hastadan hastaya yada personelin elleri aracılığıyla geliştiği, kontamine hasta bakım ekipmanları ve çevre ile de indirekt olarak enfeksiyon geçişinin mümkün olduğu görülmektedir. Enterokoklar, hastane enfeksiyonlarından artan oranlarda izole edilmektedir. Bu bakteriler, doğal olarak taşıdıkları klindamisin, florokinolon, trimetoprim-sülfometoksazol, düşük düzey penisilin ve düşük düzey aminoglikozit direnç özelliklerinin yanısıra genetik madde aktarımı veya mutasyonla kazandıkları tetrasiklin, eritromisin, rifampin, kloramfenikol, nitrofurantoin, fusidik asit, yüksek düzeyde aminoglikozit direnci ve ayrıca beta laktam, florokinolon ve vankomisin dirençleri nedeniyle günümüzün problem yaratan bakterileri arasında yer almaktadır ¹⁰¹. Hemen tüm enterokoklar beta laktam ve glikopeptid antibiyotiklerin bakterisidal etkilerine karşı tolerans gösterirler. Bu nedenle endokardit ve menenjit gibi ağır enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde bakterisidal sinerji sağlamak için bu antibiyotiklerin aminoglikozitlerle kombinasyonu gereklidir. Bu kombinasyondaki herhangi bir antibiyotiğe direnç olması halinde sinerjistik bakterisidal etki ortadan kalkar. Bazı merkezlerde enterokok suşlarının % 50'sinden fazlasında yüksek düzeyde aminoglikozit direnci olduğu bilinmektedir. Ayrıca E.faecium izolatlarının çoğu penisilin bağlayıcı proteinlerin afinitesinin düşük olması nedeniyle penisilinlere yüksek düzeyde dirençlidir ¹⁰². Diğer bir deyişle enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak antibiyotik seçenekleri oldukça kısıtlıdır. Enterokok türleri arasında da antibiyotik duyarlılığı farklılıklar gösterdiğinden, klinik örneklerden izole edilecek enterokokların hem tür düzeyinde isimlendirilmesi hem de antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi, uygun tedavinin seçilebilmesi için önem taşımaktadır. Enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde son seçenek olarak görülen glikopeptidlere dirençli kökenlerin ortaya

çıkması sorunu daha da önemli hale getirmektedir. Glikopeptid dirençli enterokoklarda sıklıkla çoğul ilaç direnci görüldüğü de bildirilmiştir ¹⁰³.

Bu çalışmada klinik örneklerden izole edilen enterokokların 61 tanesi (%85) poliklinik örneklerinden, 11 tanesinde (%15) klinikte yatan hasta örneklerinden soyutlanmıştır.

Çalışma süresi içinde izole edilen enterokokların çoğu idrar örneklerinden soyutlanmıştır. Çalışmamızda izole edilen 72 enterokok suşunun 63 tanesi (%87.5) idrar kültürlerinden, 8 tanesi (%11) cerrahi alan enfeksiyonlarından ve 1 tanesinde kan kültürlerinden soyutlanmıştır. Özseven ve arkadaşları da idrar örneklerinden % 68 oranında, cerrahi alan enfeksiyonlarından % 9 oranında ve kan kültürlerinden % 13 oranında enterokok izole etmişlerdir ¹⁰⁴. Kan örneklerinden izole edilen enterokok sayısındaki düşük değer, çalışmamızda poliklinik hastalarının oranının daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada incelenen enterokok izolatlarının % 15'i yatan hastalardan soyutlanmışken, % 85'i poliklinik hasta örneklerinden elde edilmiştir. Bu nedenle izolatların büyük çoğunluğu idrar kültürlerinden izole edilmiştir.

Bu çalışmada incelenen 72 enterokok suşunun 58 tanesi (%80.5) *E.faecalis*, 14 tanesinde (%19.5) *E.faecium* olarak tanımlanmıştır. Başka türe rastlanmamıştır. Özseven ve arkadaşları çalışmalarında inceledikleri 170 enterokok suşunun % 52'sini *E.faecalis* ve % 45'ini ise *E.faecium* olarak tanımlamışlardır ¹⁰⁴. Sreeja ve arkadaşları ise çalışmalarında klinik örneklerden soyutladıkları enterokokların % 76'sını *E.faecalis*, % 24'ünü ise *E.faecium* olarak tanımlamışlardır ¹⁰⁵. Bu iki türün insan enfeksiyonlarının çoğundan sorumlu olduğu ve *E.faecalis*'in en sık rastlanan enterokok türü olduğu bilinmektedir. Bu anlamda bulgularımız mevcut bilgi birikimi ile örtüşmektedir.

Bu çalışmada incelenen 72 enterokok suşunun 2 tanesinde (% 2.8) nitrosefin testi ile beta laktamaz yapımı belirlenmiştir. Literatür incelemelerinde,

incelenen enterokok suşlarında genellikle beta laktamaz yapımı belirlenemediği görülmektedir ^{106,107,108,109,110}. Buna karşılık 2000 yılında Avustralya’da beta laktamaz yapan E.faecalis suşlarına rastlandığı belirtilmektedir. ¹¹¹Yirmi yıl önce yazılan bir makalede enterokoklarda beta laktamaz enzim yapımının belirlendiği, ancak bu bakteriler arasında stafiloklarda olduğu kadar hızlı yayılamadığı belirtilmiştir ¹¹² Ülkemizde 2003 yılında bir kongrede 37 enterokok suşundan 5’inde nitrosefin testi ile beta laktamaz enzim yapımı belirlendiği bildirilmiştir. ¹¹³ Bu çalışmada 2 adet E.Faecalis suşunun nitrosefin kromojenik substrat testi ile beta laktamaz yaptığı saptanmıştır. Bu iki suşun aynı zamanda ampisiline dirençli oldukları da belirlenmiştir. Ancak bu çalışmalarda moleküler tekniklerle enzim gen varlığının gösterilmesi ile fenotipik testlerin doğrulanması gerektiğini düşünüyoruz. Enterokoklarda beta-laktam antibiyotiklere direncin temel mekanizması beta-laktam antibiyotiklere düşük affiniteli PBP’ler geliştirilmesidir. Beta laktamaz enzimlerinin enterokoklarda sık saptanmadığı ve dirençte önemli bir yer almadıkları bilinmektedir.

İncelenen enterokok suşlarının gentamisin ve streptomisin kullanılarak yüksek düzeyli aminoglikozit direncide incelenmiştir. Bu direncin belirlenmesi durumunda beta laktam antibiyotiklerin aminoglikozitlerle kombine kullanılması ile elde edilen sinerjik etki sağlanamamaktadır. Gentamisin kullanılarak ölçülen yüksek düzey aminoglikozit direnci % 43, streptomisin kullanılarak ölçülen direnç ise % 47 olarak bulunmuştur. Enterokoklarda bir veya daha fazla aminoglikozide, yüksek düzeyli direnç, artan sıklıkta bildirilmektedir ^{114,115}.Enterokoklardaki gentamisin yüksek düzey direncinin sıklıkla fluorokinolon direnci ile kombine olduğu bildirilmektedir ¹¹⁶. Aktepe ve ark.ları YDAD inceledikleri 137 enterokok suşunda gentamisin için % 46, streptomisin için ise % 44.5 oranında direnç bulmuşlardır ¹¹⁷. Mirovic, bu direnci gentamisin için % 52, streptomisin için % 68.7 olarak belirlemiştir ¹⁰⁷. Sreeja ve ark.ları ise gentamisin için % 47 oranında yüksek düzeyli aminoglikozit direnci belirlemişlerdir ¹⁰⁵. Esen ve ark.ları inceledikleri eneterokoklarda % 43 oranında YDAD belirlemişlerdir. ¹¹⁸. Yazgı ve ark.ları enterokokların % 34.5’inde streptomisin için ve % 26’sında

gentamisin için YDAD bulmuşlardır¹¹⁰ Avustralya’da yayınlanan 2010 tarihli surveyans raporunda ise E.faecalis için % 34.1 E.faecium için ise %66 oranında gentamisin YDAD, yine E.faecalis için 8.2, E.faecium için ise % 43.8 streptomisin YDAD belirlendiği belirtilmiştir¹¹⁹.

Çalışmamızda elde edilen YDAD oranları, diğer araştırmacılar tarafından bazılarının sonuçları ile örtüşürken, bazı araştırmacı sonuçlarına göre daha düşük yada daha yüksektir. Farklı araştırmalarda farklı oranlarda YDAD oranları belirlenmesi incelenen suşların elde edildiği klinik örnek farklılıklarına bağlı olabilir. Ayrıca değişik bölgelerde incelenen suşların özelliklerinin farklı olması farklı sonuçlar alınmasında etkili olabilmektedir. Hastalardan izole edilen her enterokok suşunda antibiyotik duyarlılıkları belirlenirken YDAD’inde belirlenmesi etkili tedaviyi belirlemek açısından büyük önem taşımaktadır.

İncelenen enterokok suşlarının en duyarlı oldukları antibiyotikler sırasıyla vankomisin, teikoplanin ve linezolid olarak belirlenmiştir. Vankomisin ve teikoplanine dirençli suş belirlenmemişken linezolide karşı bir enterokok suşunun dirençli olduğu anlaşılmıştır. Son yıllarda klinik örneklerden soyutlanan enterokok suşlarında vankomisin direnci giderek artan oranlarda belirlenmektedir. Ülkemizde ilk defa glikopeptid grubu antibiyotiklere dirençli enterokok 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Vural ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir¹²⁰. Ülkemizde çeşitli klinik örneklerden yapılan ve vankomisine dirençli enterokokların saptanmadığı diğer çalışmalar mevcuttur^{121,122}. Yakın bir zamana kadar çoğul dirençli enterokok infeksiyonlarında, vankomisin güvenle kullanılabilenken, uygunsuz antibiyotik kullanımı sonucunda, direnç gelişmeyecek sanılan bu antibiyotiğe karşı da direnç gelişmiş ve enterokoklar vankomisin dirençleri nedeni ile günümüzün sorunlu bakterileri haline gelmişlerdir^{123,124}. Avrupa’da 5 farklı ülkeden toplanan 2068 enterokok suşunda E.faecalis suşlarında % 1.1, E.faecium suşlarında ise % 11.5 oranlarında vankomisin direnci yani VRE belirlenmiştir.¹²⁵ Özellikle yoğun bakım ünitelerinden bu tip dirençli enterokokların izole edilmesi

olasılığı daha fazladır. Aktarılabilen bir direnç olması nedeniyle bu tip direncin yayılmaması için önlemler alınmalı ve hastalar izole edilmelidir. Çeşitli çalışmalarda incelenen enterokok suşlarının hiçbirinde vankomisin ve teikoplanin direnci belirlememişken, Özseven ve ark.ları 380 enterokok suşundan sadece birisinde vankomisin direnci belirlemişlerdir ^{104,109,117,118}. Buna karşılık Avusturalya 2010 Eneterokok Surveyans Raporunda E.faecium suşları için % 36.5, E.faecalis için %0.5 oranlarında VRE saptandığı belirtilmektedir ¹¹⁹. Bu çalışmada VRE belirlenmemiş olması örneklerin çoğunun poliklinik hastası olması ve inceleme döneminde hastanede VRE enfeksiyonu olmaması ile açıklanabilir.

VRE suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde linezolid kullanılabilir. Linezolid, vankomisin direncinden bağımsız olarak bütün enterokok türlerine karşı etkilidir. Linezolide karşı etki mekanizmasındaki farklılıktan dolayı, benzer etkiye sahip diğer antimikrobiyotiklerle çapraz direnç gelişmediği bildirilmektedir¹²⁶. Linezolid, diğer protein sentez inhibitörlerinin çoğu gibi bakteriyostatik bir antibiyotiktir. Çok az toksik veya yan etkisi olduğu görülmekle birlikte, direnç nadiren bildirilmektedir ¹²⁷. Çeşitli çalışmalarda linezolide hiç direnç saptanmadığı belirtilmektedir ^{128,129}. Ballow ve arkadaşları ¹³⁰ yaptıkları çalışmada, vankomisine duyarlı ve dirençli suşlarda, linezolide direnç saptamadıklarını bildirmiş ve linezolidin çoğul dirençli Gram-pozitif kok enfeksiyonlarında geniş spektrumlu ampirik tedavi için uygun bir seçenek olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada 72 enterokok suşundan 1 tanesinin (%1.4) linezolid'e dirençli olduğu belirlenmiştir. Özseven ve ark.ları inceledikleri enterokokların % 4'ünde linezolid direnci belirlemiştir ¹⁰⁴. Bu oran beklentilerin üzerindedir. Aznar ve ark.ları 2068 enterokok suşundan E.faecium suşlarında %0.3 oranında, Yoshida ve ark.larında yine E.faecium suşlarında % 1 oranında linezolid direnci belirlemişlerdir ^{125,131}.Avusturalya 2010 yılı eneterokok surveyans raporunda E.faecalis suşları için % 5.8, E.faecium için ise %0.9 oranlarında linezolid direnci belirlendiği belirtilmektedir ¹¹⁹. Buna karşılık Sreeja ve ark.ları ile Aktepe ve ark.ları inceledikleri çok sayıdaki entereokok suşunda

linezolid direnci belirlememişlerdir^{105,117}. Bu çalışmada incelenen enterokok suşlarından sadece bir tanesinde linezolid direnci belirlenmiş olması beklentilerle uyumlu bir sonuçtur.

Bu çalışmada ampisiline %22, penisiline %21 oranında dirençli suş belirlenmiştir. Siprofloksasin ve tetrasikline % 56 oranında dirençli suş belirlenmiştir. Levofloksasine % 47, fosfomisine ise % 19 oranlarında dirençli suş belirlenmiştir. Esen ve ark.ları çalışmalarında ampisiline %33, penisiline ise % 52 oranında dirençli enterokok saptamışlardır¹¹⁸. Huang ve ark.ları E.faecium suşlarında bu iki antibiyotiğe % 80'leri aşan direnç belirlemiştirlerdir.¹⁰⁹ Avustralya'da enterokokların antibiyotik direnç özelliklerini kapsamlı bir çalışmada inceleyen çalışma grubu klinik örneklerden soyutladıkları enterokok suşlarında %85.3 oranında ampisilin direnci belirlenmiştir¹¹⁹. Ersoy ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ampisilin ve penisilin direncini sırasıyla %40.9 ve %40.0 olarak tespit etmişlerdir⁵. Ruhi ve arkadaşları ise bu direnci sırasıyla %60.8 ve %31.8 oranında saptamışlardır¹⁰⁵. Ülkemizde yapılan çalışmalarda enterokokların β-laktam antibiyotiklere direncinin giderek arttığı tespit edilmiştir¹²⁷.

Pinheiro ve ark.ları siprofloksasine karşı % 19, tetrasikline karşı ise % 14.3 oranlarında direnç belirlemiştirlerdir. Araştırmacılar penisilin, ampisilin ve glikopeptidlere hiç dirençli suş bulmamışlardır. Eritromisine ise inceledikleri suşların % 71.5'ini dirençli bulmuşlardır. Ancak incelenen enterokoklar dış kanal kökü lezyonlarından soyutlandığından genel olarak antibiyotiklere daha duyarlı bulunmuştur¹³².

Aznar ve ark.ları E.faecalis için minosikline % 44, levofloksasine için % 41, E.faecium için levofloksasine % 95' e kadar çıkan direnç oranları bulmuşlardır¹²⁵. Aktepe ve ark.ları inceledikleri enterokoklarda siprofloksasine % 61, moksifloksasine ise % 39 oranında direnç bulmuşlardır¹¹⁷. Yıldırım ve ark.ları ise siprofloksasine ve tetrasikline % 70 oranında direnç belirlemiştirlerdir¹⁰⁶. Sreeja ve ark.ları siprofloksasine E.faecalis için % 48, E.faecium için % 54, Özseven ve

ark.ları ise aynı antibiyotiğe karşı E.faecalis için % 72, E.faecium için % 92 oranında direnç bulmuşlardır^{104,105}.

Fosfomisin komplike olmayan sistitlerin tedavisinde önerilen bir antibiyotiktir. Baylan ve rak.ları inceledikleri enterokoklarda E.faecalis suşları için % 22, E.faecium suşları için % 16 oranlarında fosfomisin direnci belirlemiştir^{133,134}.

Bazı araştırmacılar, enterokokların antibiyotik duyarlılıkları konusunda yaptıkları çalışmalarda bulgularımıza yakın sonuçlar aldığı gözlenirken, çoğu araştırmacıların değişik antibiyotikler için daha yüksek direnç oranları belirledikleri anlaşılmaktadır. Çalışmamızda poliklinik hastalarından izole edilen enterokokların yatan hasta izolatlarından çok olması bu farklılığın en önemli nedeni olarak değerlendirilmiştir.

Genel olarak enterokoklardaki antibiyotik direnci değerlendirildiğinde insan enfeksiyonlarında daha az etken olan E.faecium suşlarının antibiyotiklere daha dirençli olduğu görülmektedir. Bu türe ait suşlarda ciddi bir direnç artışı olduğu literatür değerlendirmelerinden anlaşılmaktadır. Çalışmamızda iki türün direnç özellikleri ayrı ayrı incelenmediğinden direnç oranlarımız iki türe ait karma değerleri ifade etmektedir. Enterokoklarda değişik antibiyotiklere belirlediğimiz direnç oranları diğer araştırmacıların bulduğu oranlara göre genellikle düşük bulunmuştur. Bunun nedeni, çalışma döneminde izole ettiğimiz eneterokok suşlarının çoğunlukla poliklinik hastalarından elde edilmiş olmasından kaynaklanmaktadır. Hastanede yatan hastalardan izole edilen eneterokok suşları antibiyotiklere daha dirençlidirler. Çok sayıda literatür verileri incelenmiş ve enterokoklar için her antibiyotiğe farklı oranlarda direnç belirlendiği görülmüştür.

Bu veriler ışığında enterokoklarda giderek artan bir antibiyotik direnci olduğu, E.faecium suşlarının, E.faecalis suşlarına göre daha ciddi bir

antibiyotik direnç sorunu sergilediği anlaşılmaktadır. Enterokok enfeksiyonlarında kurtarıcı olarak kullanılan glikopeptidler, linezolid, quinupristin-dalfopristin kombinasyonu ve tigesiklin gibi antibiyotiklere de yavaş yavaş antibiyotik direnci geliştiği ve yavaşta olsa yayıldığı gözlenmektedir¹²⁵. Bu nedenle klinik örneklerden soyutlanan enterokoklara CLSI önerileri doğrultusunda antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması ve enterokok enfeksiyonlarında uygun antibiyotiklerin kullanılması önem taşımaktadır. Tedavinin başarısı için YDAD'nin belirlenmesi ve sonuca göre tedaviye karar verilmesi gerekmektedir. Enterokoklarda beta laktamaz yapımı ya saptanmamakta ya da çok az görülmektedir. Ancak ampisilin ve penisiline % 90-100 lere varan direnç oranları görülmektedir. Bu nedenle beta laktamaz yapımı belirlenmemiş olsa da antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre tedavinin düzenlenmesi gerekmektedir.

6.SONUÇ

Son yıllarda enterokoklarda değişik antibiyotiklere direnç probleminin giderek büyüdüğü bilinmektedir. Enterokoklar enfeksiyonlarında, doğal olarak sahip oldukları intrinsek direnç nedeniyle bir çok antibiyotik kullanılamamaktadır. Enterokoklarda son yıllarda son çare olduğu düşünülen glikopeptidlere karşı direnç gelişebildiği ve yayılma özelliği gösterdiği görülmektedir. VRE enfeksiyonlarında kullanılacak linezolid, tigesiklin, dalfopristin-kuinopristin gibi antibiyotiklere de dirençli enterokoklar saptanmaktadır. Özellikle hastanede yatan hastalarda yüksek düzeyli aminoglikozit direnci ayrıca siprofloksasin direnci yüksek oranlarda bulunmaktadır. Uygun olmayan antibiyotik kullanımı, vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonunu artırarak hastane enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Bu nedenle antibiyotik kullanımında antibiyotik duyarlılık test sonuçları göz önünde bulundurulmalıdır. Enterokok enfeksiyonlarının yayılmasının önlenmesi ve antibiyotik direncinin enterokoklarda yayılmasının önüne geçilebilmesi için hastane enfeksiyon komitelerinin laboratuvar ile işbirliği yaparak gerekli önlemleri alması, gerektiğinde hasta izolasyon tedbirleri alınması ve uygun antibiyotik tedavisi verilmesinin sağlanması gerekmektedir.

7. ÖZET

Klinik örneklerden izole edilen enterokokların antibiyotik direnç özellikleri:

Enterokoklar insan ve hayvanların normal barsak florasında yaygın olarak bulunan gram pozitif bakterilerdir. İnsanlarda en sık idrar yolları enfeksiyonlarına neden olurlar. Son yıllarda giderek artan sıklıkta hastane enfeksiyonlarına da neden oldukları gözlenmektedir. Enterokoklar antibiyotiklere direnç özellikleri bakımından en çok sorun yaratan bakterilerdendir. Enterokoklar doğal olarak sahip oldukları intrinsek direnç nedeniyle birçok antibiyotiğe dirençli olmalarının yanı sıra, enfeksiyonlarında kullanılacak antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştirebilmeleri ve bu direnci yayabilmeleri açısından da büyük bir problem haline gelmişlerdir.

Bu çalışmada çeşitli örneklerden izole edilen 72 enterokok suşunun tür düzeyinde tanımlanması, beta laktamaz yapımları, yüksek düzeyli aminoglikozit dirençlilikleri ve değişik antibiyotiklere karşı duyarlılık durumları incelenmiştir.

Konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemlerle klinik örneklerden izole edilen enterokok suşları biyokimyasal özelliklerine göre tanımlanmıştır. Daha sonra tür düzeyindeki tanımlanmaları Vitek-2 GP Sistemi yöntemiyle tür düzeyinde tanımlanmıştır. Beta-laktamaz yapımları nitrosefin kromojenik substrat yöntemi ile araştırılmıştır. Yüksek düzeyli aminoglikozit dirençlilikleri 120 µg'lık gentamisin ve 300 µg'lık streptomisin diskleri kullanılarak disk diffüzyon tekniği ile incelenmiştir. Değişik antibiyotiklere karşı duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda Kirby Bauer Disk Diffüzyon Tekniği kullanılarak araştırılmıştır.

İncelenen enterokok suşlarının % 15.3'ü yatan hasta örneklerinden, % 84.7'si ise poliklinik hasta örneklerinden izole edilmiştir. İncelenen 72 enterokok suşundan 58 tanesi (%80.5) E.faecalis, 14 tanesi (%19.5) ise E.faecium

olarak tanımlanmıştır. Bu bakterilerden sadece ikisinde (%2.8) nitrosefin yöntemiyle beta-laktamaz yapımı belirlenmiştir. İncelenen enterokokların % 47'sinde streptomisin için, % 43'ünde ise gentamisin için yüksek düzeyli aminoglikozit direnci belirlenmiştir. İncelenen enterokok suşlarının tamamı vankomisin ve teikoplanine duyarlı bulunmuştur. Sadece bir suşta linezolide karşı direnç belirlenmiştir. Fosfomisine karşı % 4 oranında dirençli suş bulunmuştur. Ampisiline karşı % 22, penisiline karşı ise % 20 oranında dirençli enterokok belirlenmiştir. Levofloksasine karşı % 43, siprofloksasine karşı % 47 ve tetrasikline karşı % 50 oranında dirençli enterokok belirlenmiştir.

İncelenen enterokok suşlarında VRE belirlenmemiştir. Genel olarak incelenen antibiyotiklere karşı belirlenen antibiyotik direnç oranlarının diğer araştırmacıların bulduğu direnç oranlarından düşük kaldığı görülmüştür. İncelenen enterokok suşlarının büyük oranda poliklinik hastalarından soyutlanmış olmaları nedeniyle beklentilerin altında antibiyotik direnç oranlarının elde edilmesinin en büyük nedenidir.

Bu çalışmada incelenen enterokok suşları içinde VRE saptanmamıştır. İncelenen enterokoklar büyük ölçüde idrar örneklerinden ve poliklinik hastalarından izole edilmişlerdir. Bu nedenle bu çalışmada enterokok antibiyotik direnç problemi beklenen büyüklükte saptanmamıştır. Buna karşılık, enterokoklarda antibiyotik direncinin gelişip yayılmasının önüne geçilebilmesi için, hastane enfeksiyon komiteleri ve mikrobiyoloji laboratuvarlarının işbirliği içinde olması, enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde yüksek düzeyli aminoglikozit direnç özelliği ve antibiyotiklere duyarlılık test sonuçları göz önüne alınarak tedavinin planlanması gerekmektedir. VRE olduğu belirlenen ciddi antibiyotik direnç profiline sahip enterokoklarla enfeksiyon geçiren hastaların izole edilmesi ve bu hastalardan diğer hastalara bakterilerin yayılmasının önlenmesi büyük önem taşımaktadır.

Anahtar Sözcükler: Enterokok, antibiyotik duyarlılık testi, kültür , aminoglikozid direnci .

8. SUMMARY

Antibiotic resistance rates in *Enterococcus* strains isolated from clinical specimens:

Enterococci are gram-positive bacteria commonly found in normal intestinal flora of humans and animals. They frequently cause urinary tract infections in humans. In recent years, it is observed that they also cause hospital infections increasingly. Enterococci are the most problematic bacteria due to their resistance to antibiotics. Enterococci have become a major problem for they are resistant to many antibiotics due to their natural intrinsic resistance, they develop resistance to antibiotics quickly and they spread this resistance.

In this study following are examined: specie-level identification of 72 *Enterococcus* strains isolated from various specimens, beta lactamase productions, high-level aminoglycoside resistance and susceptibility to various antibiotics.

The strains of enterococci isolated from clinical specimens by conventional microbiological methods are identified according to their biochemical characteristics. Then their species-level identifications are identified at specie-level by Vitek-2 GP system method. Beta-lactamase-productions are examined by means of nitrocefin chromogenic substrate method. Their high level aminoglycoside-resistance is examined by disc diffusion technique using 120 µg gentamicin and 300 µg streptomycin discs. Their susceptibilities to various antibiotics are studied by using Kirby-Bauer disk diffusion technique in line with CLSI recommendations.

15.3% of enterococcal strains examined are isolated from in-patient samples and 84.7% of enterococcal strains examined are isolated from outpatient samples. 58 (80.5%) of 72 enterococcal strains examined is defined as *E.faecalis* and 14 (19.5%) of 72 enterococcal strains examined is defined as *E.faecium*. Construction of beta-lactamase is determined through nitrocefin method in only two of these bacteria (2.8%). High level amino glycoside resistance to

streptomycin is determined in 47% of enterococci examined and to gentamicin in 43% of enterococci examined. All strains of enterococci examined are found to be susceptible to vancomycin and teicoplanin. Resistance to linezolid is determined in only one strain. Strain resistant to phosphomycine by 4% is found. Enterococci resistant to ampicilline by 22% and to penicillin by 20% are determined. Enterococci resistant to levofloxacin by 43%, to ciprofloxacin by 47% and to tetracycline by 50% are determined.

No VRE is determined in enterococcal strains examined. It is found that the rates of antibiotic resistance determined against antibiotics examined in general are lower than the rates of resistance determined by other researchers. The most important reason to obtain the rates of antibiotic resistance lower than expected is based on the fact that enterococcal strains examined are largely isolated from outpatients.

No VRE is determined in enterococcal strains examined in this study. Enterococci examined are largely isolated from urine samples and outpatients. Thus, the problem of enterococcal antibiotic resistance is not determined in an anticipated extent in this study. On the other hand, in order to prevent the spread and development of the antibiotic resistance in enterococci, it is required that hospital infection committees and microbiology laboratories are in cooperation with each other; treatment is planned by taking into consideration the high-level resistance to aminoglycoside and the antibiotic susceptibility test results in the treatment of enterococcal infections. It is of paramount importance to isolate the patients undergoing infections by enterococci identified as VRE and with serious antibiotic resistance profile and to prevent the spread of bacteria from such patients to other patients.

Key words: Enterococcus, antibiotic susceptibility test, culture, aminoglycoside resistance.

9. KAYNAKLAR

1-Lancefield RC. A serological differentiation of human and other groups of haemolytic streptococci. *J Exp Med* 1933;57 : 571-95.

2-Facklam RR, Teixeria LM. Enterococcus. In: Collier L, Bolows A, Sussman (eds). *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial infections*. Vol 2 (Systematic Bacteriology). Ed: Edward Arnold, 9th edition. London 1998; 669-682.

3-Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. *Microbiology*. 2009;155:1749-1757.

4-Low DE, Keller N, Barth A, Jones RN. Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of enterococci: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 2001; 32 (Supply 2) : S133-45.

5- Ruoff K. L. Maza L., Murtagh M. S., et al. Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 1990;28:435-7.

6-Koneman E. W., Allen S. D., Janda W. M. Sreockenberger P. C., Winn W. C. *The gram positive cocci part 2: Streptococci and streptococcus-like bacteria*. *Diag. Microbiol.* 4th edition. Philadelphia: J. B. Lippincott Company; 1992:431-66.

7-Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology". 9th Ed. Baltimore: Williams&Willkins; 1994.

8-Barbosa, J., Ferreira, V., Teixeira, P., “Antibiotic susceptibility of enterococci isolated from traditional fermented meat products”, *Food Microbiology*, 26:527-532 (2009).

9-Ortigosa, M, Irigoyen, A, Urdin, A., Garcia, S., Ibanez, F.C., Torre, P., “Sources of enterococci in Idiazábal-type cheese”, *International Journal of Food Microbiology*, 125:146-152 (2008).

10-Performance Standarts for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standart M2-A6 Vol: 18 No:1, 1998.

11-Facklam RR, Sahn DF. Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). *Manuel of Clinical Microbiology*. Sixth edition. ASM Press. Washington 1995: 308-315.

12-Hoffman S. A., Moellering R. C. Jr. The enterococcus: “Putting the bug in our ears” *Ann. Intern. Med.* 1987;106:757-61.

13-Akan ÖA. Enterokok türlerinin mikrobiyolojisi. Ed: Ünal S, Vahapoğlu H. *Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar*. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2004;5-9.

14-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 2005:700-711.

15-Başustaoğlu A, Aydoğan H. Enterokoklar. Ed: Uzun Ö. *İnfeksiyon Hastalıkları Serisi*. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2002;5(2):45-60.

16-Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. Onuncu baskı. İzmir 2000: 271-279.

17-Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi Üçüncü baskı. İzmir 2002:495-523.

18-Korten V. Enterokoklar. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti . 2.baskı. İstanbul 2002:1497-1506.

19-Klaenhammer, T.R. 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev.12:39-8.

20- McAuliffe, O., Ross, R. P., Hill, C. 2001. Lantibiotics:structure, biosynthesis and of action. FEMS Microbiol.Rev.,25:285-30.

21- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., Chikindans,M.L. 2001 . Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. Inf. J. Food Microbiol.71,1-20.

22-Ennahar, S., Sashihara, T., Sonomoto, K., Ishizaki, A.2000. Class Ila Bacteriocins: biosynthesis, structure and activity. FEMS Microbiol. Rev.,24, 85106.

23-Riley, M.A., Wertz, J.E.,2002. Bacteriocin diversity:ecological and evolutionary perspectives. Biochimie 84,35736.

24-Cotter, P. D., C. Hill, and R. P. Ross.2005. Bacteriocins: developing innate immunity for food. Nat. Rev.Microbiol. 3:777788.

25-Foulquie Moreno, M.R., Callewaert, R., Devreese, B., Beeumen, J. V De Vuyst, L. 2003. Isolation and biochemical characterisation of enterocins produced by enterococci from different sources. *J. Appl. Microbiol.*, 94: 214-229.

26-Huebner, J., Wang, Y., Krueger, W. A., Madoff, L. C., Martirosian, G., Boisot, S., Goldmann, D. A., Kasper, D. L., Tzianabos, A. O. & Pier, G. B. (1999) *Infect. Immun.* 67, 1213–1219.

27-Franz, C.M.A.P., Muscholl-Silberhorn, A.B., Yousif, N.M.K., Vancanneyt, M., Swings, J., Holzapfel, W.H., 2001. Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 4385 – 4389.

28-Foulquié Moreno, M.R. et al. The role and application of enterococci in food and health. *Int. J. Food Microbiol.*, 106, 1, 2006.

29-Franz, C.M. et al. Enterococci in foods—a conundrum for food safety. *Int. J. Food Microbiol.*, 88, 105, 2003.

30-Stompfová, V., Lauková, A. and Ouwehand, A.C. Selection of enterococci for potential canine probiotic additives. *Vet. Microbiol.*, 100, 107, 2004.

31-Barrie PS, Christou NV, Patchen Dellinger E, et al. “Pathogenicity of The Enterococcus in Surgical Infections” *Annals of Surgery*, 1990: 212, 155-159.

32-Chenoweth C, Schaberg D. “The Epidemiology of Enterococcus” . *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1990, 9: 80-89.

33-Eliopoulos GM, Eliopoulos CT. Therapy of Enterococcal Infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1990; 9: 118-126.

34- Winn W, Stephan A, Janda W, Koneman EW, Procop G. Koneman's Color Atlas and Textbook of diagnostic Microbiology. Baltimore Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. 6th ed. 2006; 40- 643.

35-Upadhyaya PMG, Ravikumar KL, Umapathy BL. Review of virulence factors of enterococcus: An emerging nosocomial pathogen. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 2009; 27:301-305.

36-Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 2003; 60:2622–2636.

37-Klare, I., Konstabel, C., Badstubner, D., Werner, G. & Witte, W. (2003). Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. *Int J Food Microbiol* 88 , 269–290.

38-Gilmore, M. (2002). *The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology and Antibiotic Resistance*. Washington, DC: American Society for Microbiology.

39-Giraffa, G. (2002). Enterococci from foods. *FEMS Microbiol Rev* 26 ,163–171.

40-Saeedi, B., Hallgren, A., Jonasson, J., Nilsson, L., Hanberger, H. & Isaksson, B. (2002). Modified pulsed-field gel electrophoresis protocol for typing of enterococci . *APMIS* 110, 869–874.

41-Stiles, M. E. & Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int J Food Microbiol* 36 , 1–29.

42-Klein, G. (2003). Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int J Food Microbiol* 88 , 123–131.

43-Domig, K. J., Mayer, H. K. & Kneifel, W. (2003). Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 2. Phenotypic and genotypic criteria. *Int J Food Microbiol* 88 , 165–188.

44-Shanks, O. C., Santo Domingo, J. W. & Graham, J. E. (2006). Use of competitive DNA hybridization to identify differences in the genomes of bacteria. *J Microbiol Methods* 66 , 321–330.

45-Tekin, G.M., “Enterokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi. Önemli ve Sorunlu Bakteri Enfeksiyonları”, Bilimsel tıp yayınevi, Ankara, 121-140 (2004).

46-Edwards DD. Enterococci attract attention of concerned microbiologists. *ASM News* 2000; 66 : 540-5.

47-Bhat KG, Paul C, Ananthkrishna NC. Drug resistant enterococci in a south Indian hospital. *Trop Doct* 1998; 28 :106-7.

48-Facklam RR, Teixeira LM. *Enterococcus*. In: Lollier L, Balows A, Sussman M, editors. *Topley & Wilson's microbiology and microbial infections*. 9 th ed. New York: Oxford University Press; 1998. p. 669-82.

49-Gültekin M. Enterokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi. Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları, Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004: 121 – 40.

50-Taylor A.N.S., Bailey E., Rybak M.J. Enterococcus, an emerging pathogen. Ann. Pharmacother. 1993; 27: 1231 – 41.

51-Huycke MM, Sahm DF, Glimore MS. Multiple Drug Resistant Enterococcus; The Nature of the Problem and Agenda for the Future. Emerging Infectious Diseases. 1998; 4(2): 239-249.

52-Murray BE, “Diversity Among Multidrug Resistant Enterococcus”. Emerging Infectious Diseases. 1998; (1): 37-47.

53-Rakita, R.M., Vanek, N.N., Jaquez-Palas, K., Mee, M., Mariscalco, M.M., Dunny, G.M., Snuggs, M., van Winkle, W.B., Simon, S.I., 1999. Enterococcus faecalis bearing aggregation substance is resistant to killing by human neutrophils despite phagocytosis and neutrophil activation. Infect. Immun. 67, 6067 – 6075.

54-Sumathi, S.D., Muscholl-Silberhorn, A., Wirth, R., Susa, M., Marre, R., Rozdzinski, E., 2002. Aggregation substance promotes adherence, phagocytosis, and intracellular survival of Enterococcus faecalis within human macrophages and suppresses respiratory burst. Infect. Immun. 68, 4900 – 4906.

55-Lucas, R., Grande, M. J., Abriouel, H., Maqueda, M., Ben Omar, N., Valdivia, E., Martinez-Canamero, M. & Galvez, A. (2006). Application of the broad-spectrum bacteriocin enterocin AS-48 to inhibit Bacillus coagulans in canned fruit and vegetable foods. Food Chem Toxicol 44, 1774–1781.

56-De Kwaadsteniet, M., Todorov, S. D., Knoetze, H. & Dicks, L. M. T.(2005). Characterization of a 3944 Da bacteriocin, produced by *Enterococcus mundtii* ST15, with activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Int J Food Microbiol* 105, 433–444.

57- Gilmore, M.S., Segarra, R.A., Booth, M.C., Bogie, C.P., Hall, L.R.,Clewell, D.B., 1994. Genetic structure of the *Enterococcus faecalis* plasmid pAD1- encoded cytolytic toxin system and its relationship to antibiotic determinants. *J. Bacteriol.* 176,7335 – 7344.

58-Jett, B.D., Huycke, M.M., Gilmore, M.S., 1994. Virulence of enterococci. *Clin. Microbiol. Rev.* 7, 462 – 478.

59-Peters, J., Mac, K., Wichmann-Schauer, H., Klein, G. & Ellerbroek, L.(2003). Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany. *Int J Food Microbiol* 88 , 311–314.

60-Kuhn, I., Iversen, A., Burman, L. G., Olsson-Liljequist, B., Franklin, A.,Finn, M., Aarestrup, F., Seyfarth, A. M., Blanch, A R. & other authors(2003). Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment – a European study. *Int J Food Microbiol* 88 , 133–145.

61-Mutnick, A. H., Biedenbach, D. J. & Jones, R. N. (2003). Geographic variations and trends in antimicrobial resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2000). *Diagn Microbiol Infect Dis* 46 , 63–68.

62-Brown, D. F. J., Brown, N. M., Cookson, B. D., Duckworth, G.,Farrington, M., French, G. L., King, L., Lewis, D., Livermore, D. M. & other authors (2006). National glycopeptide-resistant enterococcal bacteraemia

surveillance Working Group report to the Department of Health – August 2004. *J Hosp Infect* 62 (Suppl. 1), 1–27.

63-Dahlen, G., Samuelsson, W. & Molander, A. (2000). Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from root canal. *Oral Microbiol Immunol* 15, 309–312.

64-Poh, C. H., Oh, H. M. L. & Tan, A. L. (2006). Epidemiology and clinical outcome of enterococcal bacteraemia in an acute care hospital. *J Infect* 52, 383–386.

65-De Fa' tima Silva Lopes, M., Ribeiro, T., Abrantes, M., Figueiredo Marques, J. J., Tenreiro, R. & Crespo, M. T. B. (2005). Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of enterococci. *Int J Food Microbiol* 103, 191–198.

66-Kaye D. Enterococci. Biologic and epidemiologic characteristics and in vitro susceptibility. *Arch. Intern. Med.* 1982; 142: 2006 – 9.

67-Linden P.K., Pasculle A.W., Manez R., et al. Differences in outcomes for patients with bacteremia due to vancomycin-resistant *E. faecium* or vancomycin susceptible *E. faecium*. *Clin. Infect. Dis.* 1996; 22: 663 -70.

68-Livornese L. L. Jr., Drus S., Jamel C., et al. Hospital-acquired infection with vancomycin-resistant *E. faecium* transmitted by electronics thermometers. *Ann. Intern. Med.* 1992; 117: 112 – 6.

69-Coudron P.E., Myhall C. G., Facklam R. R., et al. *Streptococcus faecium* outbreak in a neonatal intensive care unit. *J. Clin. Microbiol.* 1984; 20: 1044 – 8.

70-Megron D. W. Enterococcal endocarditis. Clin. Infect. Dis. 1992; 15: 63 – 72.

71-Kreft B., Marre R., Schramm U., Wirth R. Aggregation substance of *Enterococcus faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubuler cells. Infect. Immun. 1992; 60 (1): 25 – 30.

72-Murray B. E. The life and times enterococcus. Clin. Microbiol. Rev. 1990; 3: 45 – 65.

73-Taşova Y., İnal S. Enterokok infeksiyonlarında klinik. Yeni ve Teniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar 2004; 17 – 22.

74-Esen Ş. Enterokokların neden olduğu infeksiyonlar ve tedavi seçenekleri. Ed: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara 2004:159-170.

75-Şardan Y.Ç. Enterokoklarla gelişen infeksiyonlar. Ed:Uzun Ö. İnfeksiyon Hastalıkları Serisi 2002 . Ankara .2002;5(2): 61-67.

76- Eroglu C, Aydogan S, Pekbay A: Nozokomiyal *Enterococcus faecium* menenjitisi: Olgu sunumu. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection). 17:205-207, 2003.

77-Moellering RC, JR: *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* and *Leuconostoc* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. Fifth edition. New York. Churchill Livingstone,pp: 2411-2421, 2005.

78-Herman D. J., Gerding D. N. Antimicrobial resistance among enterococci. Antimicrob. Agents Chemother. 1991; 35 (1): 1 – 4.

79-Hunt CP. The emergence of enterococci as a cause of nosocomial infection. *Br J Biomed Sci* 1998; 55 : 149-56.

80-Isenberg HD, editor. *Clinical microbiology procedure handbook*, vol.1. Tests to detect high-level aminoglycoside resistance in enterococci. Washington DC: American Society of Microbiology; 1992. p. 5.4.1-5.4.8.

81- Suppola JP, Kolho E, Salmenlinna S, Tarkka E, Vuopio-Varkila J, Vaara M. *vanA* and *vanB* incorporate into an endemic ampicillin-resistant vancomycin-sensitive *Enterococcus faecium* strain: effect on interpretation of clonality. *J Clin Microbiol* 1999; 37 : 3934-9.

82-Mohanty S, Jose S, Singhal R, Sood S, Dhawan B, Das BK, et al. Species prevalence and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated in a tertiary care hospital of north India. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; 36 : 962-5.

83-Kapoor L, Randhawa VS, Deb M. Antimicrobial resistance of enterococcal blood isolates at a pediatric care hospital in India. *Jpn J Infect Dis* 2005; 58 : 101-3.

84-Loeb M, Salama S, Armstrong-Evans M, Capretta G, Olde J. A case-control study to detect modifiable risk factors for colonization with vancomycin-resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20 : 760-3.

85-Eliopoulos G. M. Increasing problems in the therapy of enterococcal infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1993; 12: 409 – 12.

86-Arthur M, Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37 : 1563-71.

87-Perichon B, Reynolds P, Courvalin P. VanD-type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41 : 2016-8.

88-Dutka-Malen S, Blaimont B, Wauters G, Courvalin P. Emergence of high-level resistance to glycopeptides in *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38 : 1675-7.

89-Wong AH, Wenzel RP, Edmond MB. Epidemiology of bacteriuria caused by vancomycin-resistant enterococci – a retrospective study. *Am J Infect Control* 2000;28:277-81.

90-Quale J, Landman D, Atwood E, Kreiswirth B, Willey BM, Ditore V, et al. Experience with a hospital-wide outbreak of vancomycin-resistant enterococci. *Am J Infect Control* 1996;24:372-9.

91-Zirakzadeh A, Patel R. Vancomycin-resistant enterococci: colonization, infection, detection, and treatment. *Mayo Clin Proc* 2006;81:529-36.

92-Huang V, Gortney JS. Risk of serotonin syndrome with concomitant administration of linezolid and serotonin agonists. *Pharmacotherapy* 2006;26:1784-93.

93-Ziglam H. Daptomycin and tigecycline: a review of clinical efficacy in the antimicrobial era. *Expert Opin Pharmacother* 2007;8:2279-92.

94-Caron F, Pestel M, Kitzis MD, Lemeland JF, Humbert G, Gutmann L. Comparison of different beta-lactam-glycopeptide-gentamicin combinations for an experimental endocarditis caused by a highly beta-lactam-resistant and highly glycopeptide-resistant isolate of *Enterococcus faecium* .J Infect Dis 1995; 171 : 106-12.

95-Bartoloni A, Colao MG, Orsi A, Dei R, Giganti E, Parenti F. In-vitro activity of vancomycin, teicoplanin, daptomycin, ramoplanin, MDL 62873 and other agents against staphylococci, enterococci and *Clostridium difficile*.J Antimicrob Chemother 1990; 26 : 627-33.

96-Murray BE, Vancomycine Resistant Enterococcal Infections. N. Eng. J. Med. 2000; 342: 710-721.

97-Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.20th informational supplement, M100-S20. Wayne PA: CLSI, 2010.

98-Clinical and Laboratory Standart Institute. Performance Standarts for Antimicrobial Suscepitibility testing; 21th International Supplement, CLSI Document M100-S21, CLSI, Wayne (2011).

99-Hızel K. Dirençli gram pozitif kok enfeksiyonlarının tedavi ve yönetimi, Ankem Derg, 2011, 25(2): 50-3).

100-Scott G. M. S, “Enterokoklarda Vankomisin Direnci ile Mücadele”, 2000.

101-Ünal S, Vahaboğlu H. Bakteriyel Direnç Sorunu, 2000.

102-MMWR, Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Morb. Mort. Wkly. Rep* 1995; 44:1-13.

103- Ağuş N, Sarıca A, Özkalay N, Cengiz A. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik direnci. *Ankem Derg.* 2006; 20(3): 145-7.

104-Özseven AG, Sesli Çetin E, Cicoğlu Arıdoğan B, Çiftçi E, Özseven L. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, *Ankem Derg.* 2011, 25(4): 256-262).

105-Sreeja S, Babu PRS, Prathab AG. The prevalence and the characterization of the enterococcus species from various clinical samples in tertiary care hospital, *J Clin Diagn Res* 2012 6(9): 1486-1488).

106- Yıldırım M, Şencan İ, Özdemir D ve ark. Vancomycin and high-level aminoglycoside resistant Enterococcus carriage and the risk factors related to resistant in hospitalized patient. *Mikrobiyol Bul* 41(2):271-7, 2007,

107-Mirovic V, Antibiotic resistance in hospital strains E.faecalis and E.faecium. *Vojnosanit Pregl.* 59(5): 499-506, 2002.

108-Sawicka Grzelak A, Rokosz A, Luczak M. Drug resistance of 100 clinical strains of Enterococcus spp. *Med Dosw Mikrobiol.* 51(4):237-47, 1999,

109-Huang Y, Peng Q, Yao F. et al. Resistant phenotypes and genotypes of clinical isolates of multidrug-resistant Enterococcus faecium in a teaching hospital in Shantou, China. *Afr J Microbiol Res*, 2010, 4(23):2508-12)

110-Yazgı H, Ertek M, Uslu H, Kadanalı A. Enterokoklarda Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci ile Beta Laktamaz Üretimi ilişkisi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* (2003) 33:333-336.

111-Tunidge J, Bell J. Susceptibility testing art or science? *Microbiology Australia*, 21(1): 32-35, 2000).

112-Murray BE. Beta-Lactamase-Producing Enterococci. *Antimicrob Agent Chemother*, 36(11): 2355-2359, 1992).

113-Aktepe OC, Altındış M, Çetinkaya Z, Kıyıldı N, Yumlu N. Enterokoklarda antibiyotik direncinin araştırılması. XI Turk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, *Klinik Dergisi Özet Kitabı*, PB/22, p:348, 2003).

114-Strausbaugh, LJ, Gilmore MS. Enterococcal infections. In: Stevens DL, Kaplan EL, eds. *Streptococcal Infections: Clinical Aspects, Microbiology, and Molecular Pathogenesis*. New York, NY: Oxford University Press, 2000: 280-301.

115-Gordon S, Swenson JM, Hill BC, et al. Antimicrobial susceptibility patterns of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States. Enterococcal Study Group. *J Clin Microbiol*. 1992; 30(9): 2373-8.

116-Leclercq R. Enterococci acquire new kinds of resistance. *Clin Infect Dis*. 1997; 24(Suppl. 1): S80-4.

117- Aktepe OC, Aşık G, Çiftçi İH, Çetinkaya Z. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik direnç oranları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 41(2): 86-90, 2011).

118-Esen Ş, Sünbül M, Barut Ş, Eroğlu C, Saniç A, Leblebicioğlu H. Glikopeptid, beta-laktam ve aminoglikozit grubu antibiyotiklerin enterokoklara in-vitro etkinliği. *Ankem Derg.* 15(1): 59-63, 2001).

119-Christiansen K, Turnidge J, Gottlieb T, et all. Antimicrobial susceptibility and VRE characterization report of Enterococcus isolates from Australia group on antimicrobial resistance (AGAR), 2010 Surveillance Report. <http://antimicrobial-resistance.com>.

120-Vural T, Şekercioğlu AO, Öğünç D, et al. Vankomisine dirençli Enterococcus faecium suşu. *Ankem Derg.* 1999; 13(1): 1-4.

121-Gökahmetoğlu S, Sümerkan B, Eşel D, Karagöz S. Kan kültürlerinden izole edilen enterokok suşlarının vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozit dirençlerinin araştırılması. *Ankem Derg.* 1999; 13(1): 57-62.

122-Şekercioğlu AO, Vural T, Çolak D, Öğünç D, Öngüt G. İdrar kültürlerinden izole edilen Enterococcus faecalis suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve yüksek düzey gentamisin dirençliliklerinin saptanması [Özet]. *Ankem Derg.* 1998; 12: 115.

123-Gültekin M, Günseren F. Vankomisin dirençli enterokoklar. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi.* 2000; 4(4): 195-204.

124-Fatholahzadeh B, Hashemi FB, Emaneini M, Aligholi M, Nakhjavani FA, Kazemi B. Detection of vancomycin resistant enterococci (VRE) isolated from urinary tract infections (UTI) in Tehran, Iran. *DARU.* 14(3): 141-6.

125-Aznar J, Lepe JA, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among *E. faecalis* and *E. faecium* from France, Germany, Italy, Spain and the UK. *J Chemother* 2012, 24(2): 74-80).

126-Yazgı H, Ertek M, Ayyıldız A, Özkurt Z, Taşyaran MA. Vankomisine dirençli enterokoklara in-vitro linezolid etkinliği. *Ankem Derg.* 2004; 18(2): 113-6.

127-Marra AR, Major Y, Edmond MB. Central venous catheter colonization by linezolid-resistant, vancomycin-susceptible *Enterococcus faecalis*. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(5): 1915-6.

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

129-Hällgren A, Abednazari H, Ekdahl C, et al. Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci in intensive care units in Sweden evaluated by different MIC breakpoint systems. *J Antimicrob Chemother.* 2001; 48(1): 53-62.

130- Ballou CH, Biedenbach DJ, Rossi F, Jones RN; LA-ZAPS Study Group. Multicenter assessment of the linezolid spectrum and activity using the disk diffusion and Etest methods: report of the Zyvox(R) antimicrobial potency study in Latin America (LAZAPS). *Braz J Infect Dis.* 2002; 6(3): 100-9.

131-Yoshida I, Yamaguchi T, Kudo R et al. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of aerobic gram-positive cocci and anaerobic bacteria in 2008, *Jpn J Antibiot,* 2012, 65(1); 49-72).

132- Pinheiro ET, Gomes BPFA, Drucker DB, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus faecalis* isolated from canals of root filled teeth with periapical lesions. *International Endodontic Journal*, 37, 756–763, 2004)

133-Baylan O. Fosfomisin: Dünü, Bugünü ve Geleceği. *Mikrobiyol Bul.* 2010, 44:311-321 .

134-Baylan O, Nazik H, Bektöre B ve ark. Üriner Enterokok İzolatlarının Antibiyotik Direnci ile Virülans Faktörleri Arasındaki İlişki *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(3): 430-445.

10. ÖZGEÇMİŞ

Doğum Tarihi : 30.01.1987
Doğum Yeri : Suriye, Hama
Adress : Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
GSM : 05545937821
E-Posta :katren-1987@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Kariyer:

Lisans :

2005 - 2009 Halep Üniversitesi Fen Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümü

Yüksek Lisans :

2011 - Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi mikrobiyoloji Bölümü

Diller

Arapça, İngilizce ve Türkçe

Medeni Durumu

Bekar