

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI  
MİK-2016-004**

**KÖPEKLERİN ÜRİNER SİSTEMİNDEN İZOLE EDİLEN  
VANKOMİSİN DİRENÇLİ ENTEROKOK TÜRLERİNİN  
ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI**

**GAMZE BALAT  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Şükrü KIRKAN**

**AYDIN-2016**

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**KÖPEKLERİN ÜRİNER SİSTEMİNDEN İZOLE EDİLEN  
VANKOMİSİN DİRENÇLİ ENTEROKOK TÜRLERİNİN  
ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI**

**GAMZE BALAT  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**


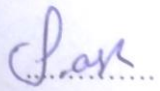
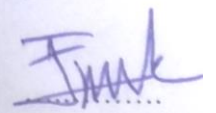
**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Şükrü KIRKAN**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-15067 proje numarası ile desteklenmiştir

**AYDIN-2016**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Gamze BALAT tarafından hazırlanan “Köpeklerin Üriner Sisteminden İzole Edilen Vankomisin Dirençli Enterokok Türlerinin Antimikrobiyal Duyarlılıkları” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

			Tez Savunma Tarihi: 11/08/2016
Üye(Tez Danışmanı): Prof. Dr. Şükrü KIRKAN	ADÜ		
Üye : Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ	ADÜ		
Üye : Doç. Dr. Ertan Emek ONUK	OMÜ		

### ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün .....tarih ve .....sayılı oturumunda alınan .....nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda; eğitimim süresince, bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, her konuda desteğini esirgemeyen, bilimsel çalışma disiplini ve azmini örnek aldığım danışman hocam Sayın Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. şükrü KIRKAN'a ve Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı değerli Öğretim Üyelerine; tez çalışmam süresince araştırma laboratuvarlarında, deney aşamalarının kurulumu ve uygulanmasında her zaman destek olan Yrd. Doç. Dr. Uđur PARIN ve Arř. Gör. H. Tuđba YÜKSEL'e, çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşım Sıla DEMİR'e, her konudaki katkılarını ve manevi desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Berna KORKMAZGİL ve Özay KORKMAZGİL'e, uzun uğraşlarda; her konuda destek olan ve büyük fedakârlıklarda bulunan Arř. Gör. Dr. Mehmet GÜLTEKİN'e ve aileme teőekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET .....	ix
ABSTRACT .....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Enterokoklar ve Genel Özellikleri.....	4
2.1.1. Morfolojisi, Kimyasal ve Antijenik Yapısı .....	5
2.1.2. Virulens ve Patojenite Faktörleri.....	8
2.1.2.1. Sitolizin.....	9
2.1.2.2. Agregasyon Faktörü (AF) .....	10
2.1.2.3. Ekstraselüler Süperoksit .....	10
2.1.2.4. Enterokokal Yüzey Proteini (ESP) .....	10
2.1.2.5. Jelatinaz .....	11
2.1.2.6. Lipoteikoik Asit (LTA) .....	11
2.1.2.7. Kollajen Bağlayıcı Adezin.....	11
2.1.2.8. Kapsül, Hücre Duvarı Polisakkaritleri .....	12
2.1.2.9. Seks Feromonları.....	12
2.1.2.10. Hyaluronidaz .....	13
2.1.2.11. AS-48.....	13
2.1.2.12. Antibiyotik direnci.....	13
2.2. Enterokok Enfeksiyonları .....	16

2.2.1. Epidemiyoloji .....	16
2.2.2. Klinik bulgular.....	16
2.2.3. Tanı.....	18
2.2.4. Tedavi ve Antimikrobiyal Direnç.....	19
2.3. Köpeklerde Üriner Sistem Enfeksiyonları.....	23
2.3.1. Üriner Sistemdeki Antimikrobiyal Savunma Mekanizmaları .....	24
2.3.2. Klinik Bulgular .....	25
2.3.3. Tanı.....	25
2.3.4. Tedavi .....	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Gereç.....	30
3.1.1 İdrar örnekleri .....	30
3.2. İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmaları .....	30
3.2.1. Besiyerleri.....	30
3.2.1.1. Brain Heart Infusion Agar .....	30
3.2.1.2. Brain Heart Infusion Broth .....	31
3.2.1.3. Enterocococel Agar.....	31
3.2.1.4. Müller Hinton Agar .....	32
3.3. PCR Gereçleri.....	32
3.3.1. Solusyonlar .....	32
3.3.1.1. TBE (Tris, Borik Asit, EDTA, pH:8.0) Buffer.....	32
3.3.1.2. Gel Loading Buffer (6X) .....	32
3.3.1.3. Tris (1M) .....	33
3.3.1.4. NaCl (1M) .....	33
3.3.1.5. TE Buffer (10mM tris+ 1mM EDTA) .....	33
3.3.1.6. MgCl <sub>2</sub> , Taq DNA Polymerase, 10X Taq Buffer, dNTP Set .....	33
3.3.2. Primerler .....	33

3.3.3. Bakteri İzolatları .....	34
3.3.4. Referans Suşlar .....	34
3.3.5. Termal Döngüleme Cihazı.....	34
3.3.6. Elektroforez Cihazı.....	34
3.3.7. Agaroz Jel.....	35
3.3.8. Etidium Bromür.....	35
3.3.9. Antibiyogram Test Kiti.....	35
3.4. Yöntem .....	35
3.4.1. Enterokokların İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	35
3.4.2. Katalaz Testi .....	36
3.4.3. Oksidaz Testi .....	36
3.4.4. Safra Eskülin Testi .....	36
3.4.5. Pyrolidonyl Arylamidase (PYR) Testi .....	37
3.4.6. % 6.5 NaCl'de Üreme Testi .....	37
3.4.7. DNA Ekstraksiyon Kiti .....	37
3.4.8. PCR Yöntemi.....	37
3.4.9. Antibiyogram.....	39
4. BULGULAR .....	41
4.1. İzolasyon Bulguları .....	41
4.2. PCR Bulguları .....	41
4.3. Antibiyogram Bulguları.....	43
5. TARTIŞMA.....	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	49
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	61

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ÜSE</b>	: Üriner sistem enfeksiyonları
<b>DNA</b>	: Deoksiribo Nükleik asit
<b>RNA</b>	: Ribo Nükleik asit
<b>VRE</b>	: Vankomisine dirençli enterokoklar





## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>E. faecalis</i> Gram boyama mikroskopik görünümü .....	5
Şekil 2. <i>E. faecalis</i> koloni görünümleri .....	6
Şekil 3. <i>E. faecalis</i> .....	6
Şekil 4. Enterokok hücre duvarı .....	7
Şekil 5. Patojenitede rol oynayan bazı farklı virulens faktörlerinin gösterimi.....	9
Şekil 6. Enterokoklarda antibiyotik ve hücre duvarı etkileşimleri .....	17
Şekil 7. Erkek ve dişi köpeklerde üriner sistem anatomisi.....	23
Şekil 8. Köpeklerde ÜSE’de izole edilen bakteriyel etkenler .....	24
Şekil 9. <i>Enterococcus</i> spp.’nin tanımlanması .....	36
Şekil 10. PYR hidroliz testi .....	37
Şekil 11. <i>Enterococcus</i> sp. için elektroforez görüntüsü .....	42
Şekil 12. <i>E. faecalis</i> için elektroforez görüntüsü .....	42
Şekil 13. <i>E. faecium</i> için elektroforez görüntüsü .....	42
Şekil 14. Vankomisin direnci için elektroforez görüntüsü .....	43
Şekil 15. E-test antibiyogram uygulanması .....	45

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Enterokoklarda glikopeptit direnç tipleri.....	15
<b>Tablo 2.</b> Enterokok enfeksiyonlarında kullanılan antimikrobikler .....	21
<b>Tablo 3.</b> Köpeklerde ÜSE’de sık karşılaşılan etkenler ve genel özellikleri .....	27
<b>Tablo 4.</b> Köpeklerde ÜSE’de kullanılan bazı antibiyotikler, dozları ve ulaştıkları idrar konsantrasyonları .....	28
<b>Tablo 5.</b> Kullanılan primerler dizileri, amplikon uzunlukları, hedef genleri.....	34
<b>Tablo 6.</b> <i>Enterococcus</i> sp. için hazırlanan mastermiks oranları .....	38
<b>Tablo 7.</b> <i>E. faecalis</i> ve <i>E. faecium</i> ayrımı için hazırlanan mastermiks oranları .....	38
<b>Tablo 8.</b> Vankomisin direnci için hazırlanan mastermiks oranları .....	38
<b>Tablo 9.</b> <i>Enterococcus</i> sp. PCR koşulları .....	39
<b>Tablo 10.</b> dd <i>E. faecalis</i> ve dd <i>E. faecium</i> primer çiftleri ile yapılan PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı.....	39
<b>Tablo 11.</b> Vankomisin direnci için yapılan PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı ...	39
<b>Tablo 12.</b> Enterokokların tür bazında identifikasyon oranları .....	41
<b>Tablo 13.</b> Antibiyotiklerin MİK aralıkları .....	44
<b>Tablo 14.</b> <i>E. faecium</i> suşlarının MİK sonuçlarına göre dirençlilik sonuçları .....	44

## ÖZET

### KÖPEKLERİN ÜRİNER SİSTEMİNDEN İZOLE EDİLEN VANKOMİSİN DİRENÇLİ ENTEROKOK TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI

**Balat G. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2016.**

Bu araştırmada köpeklerden alınan idrar örneklerinden izole edilen vankomisin dirençli *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının ortaya konulması amaçlandı. Bu kapsamda Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç Hastalıkları ve Cerrahi kliniklerine getirilen dişi ve erkek köpeklerden sistosentez yoluyla alınan 100 adet idrar örneğinden toplam 22 adet *Enterococcus* sp. izole ve tanımlendi. İzolatların multiplex PCR tekniği ile tür spesifik primerler kullanılarak yapılan tanımlamalarında idrar orijinli Enterokok suşlarının 22 (% 100) adedi *E. faecium* olarak tanımlendi; izolatlarda *E. faecalis*'e rastlanmadığı belirlendi. Araştırmada, *vanA* ve *vanB* primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışması sonucunda izole edilen 10 (% 45) adet *E. faecium* suşunda vankomisin direncine rastlandı. E-test antibiyogram çalışması sonucunda ise izolatlarının ampisilin ve tigesikline karşı % 100, tetrasikline %36, klindamisine % 18 oranında duyarlı, seftriaksona karşı ise % 100 oranında dirençli olarak saptandı.

**Anahtar Kelimeler:** Enterokok, *E. faecalis* ve *E. faecium*, vankomisin, *vanA*, *vanB*

## ABSTRACT

### ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF VANCOMYCIN RESISTANT ENTEROCOCCUS SPECIES ISOLATED FROM URINARY SYSTEM OF DOGS

**Balat G. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2016.**

The purpose of the present study was to determine the antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* strains isolated from urine samples of dogs. In this context, a total of 22 *Enterococcus* sp. samples were isolated and identified from 100 urine samples collected by cystocentesis from dogs of both sexes presented to Aydın Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine Research and Practice Hospital, Departments of Internal Medicine and Surgery. Identification of isolates with using species specific primers of multiplex PCR revealed that 22 (100%) of urine origin Enterococci strains as *E. faecium* whereas *E. faecalis* isolates were not observed. Vancomycin resistance were found in 10 (45%) samples of *E. faecium* strains with PCR study by *vanA* and *vanB* primers. Isolates were found susceptible 100 % to ampicillin and tigecycline, 36% to tetracycline, 18% to clindamycin and resistant 100% to ceftriaxone with antibiotic susceptibility testing by E-test.

**Keywords:** Enterococci, *E. faecalis* and *E. faecium*, vancomycin, *vanA*, *vanB*

# 1. GİRİŞ

İnsan ve hayvan sağlığında ciddi sağlık sorunları yaşatabilen Enterokoklar, fırsatçı patojen özelliğinde mikroorganizmalardan biridir. İdrar yolu enfeksiyonları, menenjit, endokardit gibi endojen ve ekzojen kaynaklı enfeksiyonlara neden olan etken, deri, alt solunum yolu, gastrointestinal ve ürogenital sistem florasında yaygın olarak bulunmaktadır (Schouten ve ark, 1999; Dargere ve ark, 2002; Devriese ve ark, 2006). Moleküler genetik teknolojide kaydedilen güncel gelişmeler ile daha önce Streptococcus olarak değerlendirilen Enterokoklar taksonomik analizlerle Streptococcus cinsinden farklı sınıflandırılmıştır. Enterokok türleri arasında *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ve *E. faecium*, hastalık olgularında en çok izole edilen, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. raffinosus*, *E. solitarius* ve *E. hirae* gibi türler daha az oranda olduğu bildirilmektedir (Schouten ve ark, 1999; Rodrigues ve ark, 2002).

Çevresel kaynaklardan kolaylıkla bulaşabileceği belirtilen Enterokoklar için antimikrobiyal duyarlılıkların belirlenmesi ve serolojik testler gibi klasik fenotiplendirme yöntemleri yetersiz kalmakta ve sınırlı yarar sağlamaktadır. Moleküler tiplendirmenin ise antimikrobiyal etken maddelere dirençli Enterokokların incelenmesi, önlenmesi ve yayılmalarının kontrol edilmesinde daha yardımcı bir yöntem olduğu ifade edilmektedir. Enterokoklar, 10-45°C arasında üreyebilen, 60°C'de 30 dk canlılığını sürdürebilen bakteriler olduğu bilinmektedir. *E. faecalis* beta hemolitik olup % 6.5'lik NaCl ve pH 9.6'da üremektedir ve insanda en fazla izole edilen etken olduğu bildirilmiştir. *E. faecium* da alfa hemolitik olup % 6.5'lik NaCl ve pH 9.6'da üremektedirler (Barrie ve ark, 1990; Chenoweth ve Schaberg, 1990; Eliopoulos ve Eliopoulos, 1990; Koneman ve ark,1997). Enterokok suşlarının izolasyon ve identifikasyonunda Gram boyama, katalaz testi ve eskülin hidrolizi yanında %40 safra içeren eskülinli agar ve % 6.5 NaCl'lü brain heart infüzyon broth (BHI) besiyerinde üreme özelliklerinden yararlanılmaktadır. Bu testlerde Gram pozitif, katalaz negatif, eskülin pozitif, % 6.5 NaCl'lü BHI broth ve % 40 safra içeren eskülinli agar besiyerinde üreyebilen suşlar enterokok olarak tanımlanmaktadır (Koneman ve ark., 1997). Genetik ve moleküler yöntemlerle identifikasyonunda ise DNA hibridizasyon, ribotipleme, pulsed field jel elektroforezi (PGFE), Multi-locus sequence typing (MLTS), amplifiye fragman length polimorfizm (AFLP) ve PCR gibi yöntemler kullanılmaktadır (Mascini ve ark, 2006; Teixeira, 2007).

Enterokokların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde genellikle beta-laktam, glikopeptid ve aminoglikozid grubu antibiyotikler kombine olarak kullanılmaktadır. Fakat etkenlerin zaman içerisinde özellikle aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı direnç kazandıkları, tedavide bu grup antibiyotiklerin başarısız olduğu belirlenmiştir. Ayrıca birçok antibiyotik türü yanında penisilin, sefalosporin ve beta-laktam grubu antibiyotiklere de doğal dirençli oldukları, florokinolon ve aminoglikozidlere karşı ise sonradan direnç kazandıkları bildirilmiştir (Gordon ve ark, 1992; Shepard ve Gilmore, 2002; Ünlü ve ark, 2002).

Antimikrobiyal direnci kodlayan genler açısından önemli bir rezervuar olan Enterokok türleri, kolaylıkla antibiyotik direnci kazandıkları ve bu dirençlilik genlerini *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Bacillus* spp. ve *Streptococcus* spp. gibi diğer türlere de konjugasyon yoluyla aktardıkları belirlenmiştir (Rodrigues ve ark, 2002; Shepard ve Gilmore, 2002). Farklı Enterokok türleri de antibiyotik duyarlılıkları bakımından farklılıklar gösterebilmektedir. Yapılan çalışmalarda en çok izole edilen türlerden biri olan *E. faecalis*'in genellikle antibiyotiklere duyarlı ve *E. faecium*'un ise dirençli olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle tür ayrımı da tedavinin planlanmasında önem taşımaktadır (Patterson ve ark., 1995; Hoşgör ve ark., 1997; Ünlü ve ark., 2002).

Üriner sistem enfeksiyonları, üriner sistemi oluşturan dokularda, başta bakteriler olmak üzere mantarlar, protozoonlar ve virüsler gibi mikroorganizmaların etken olduğu enfeksiyon hastalıklarıdır ve toplum kökenli ya da hastane enfeksiyonları içerisinde ilk sıralarda yer almaktadır. Üriner sistem enfeksiyonları köpeklerde oldukça yaygın olarak gözlenmektedir. Veteriner kliniklerine getirilen köpeklerin % 10'unda üriner sistem enfeksiyonları olabileceği ve köpeklerin % 14'ünün yaşam süresince en az bir kere oluşabileceği belirtilmektedir. Dişi köpeklerde erkeklere göre daha fazla gözlenmektedir (Chew ve ark, 2011). İnsanlarda olduğu gibi köpeklerde de pek çok üriner sistem enfeksiyonu tek etken tarafından oluşturulmaktadır. Genel olarak olguların % 75'inden fazlasında gram negatif bakterilerin ve en yaygın olarak da *E. coli*'nin izole edildiği belirtilmektedir (Chew ve ark, 2011). Bununla birlikte enterokoklar da köpeklerde üriner sistem enfeksiyonlarına neden olabilecek önemli patojenler arasında ikinci sırada gösterilmektedir (Chew ve ark, 2011).

Dünyada ve ülkemizde uygun olmayan antibiyotik kullanımı nedeni ile antibiyotiklere direnç gelişimi giderek önem kazanan bir sağlık sorunu olmuştur. Üriner sistem enfeksiyonlarında en sık olarak karşılaştığımız etkenlere karşı antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi özellikle poliklinik koşullarında tedavi edici hekimlik, komplikasyonların önlenmesi ve maliyetin azaltılması açısından önem teşkil etmektedir (Mamıkoğlu ve İnan, 2008). Enterokoklar bazı antibiyotiklere kendiliğinden dirençliyken, bazı antibiyotiklere karşı

kazanılmış dirençliliğe sahiptir. Bu iki özelliğin bir arada bulunması ve özellikle glikopeptid direnci ciddi enterokok enfeksiyonlarının tedavisini oldukça güçleştirmektedir. Enterokoklar içerisinde vankomisine dirençli suşların diğer antibiyotiklere de direnç geliştirmesi enfeksiyonlarda mortaliteyi artıran önemli bir neden olarak öne çıkmaktadır. Sıkça karşılaşılan antimikrobiyal dirençli enterokoklar, besi hayvanlarında ve hayvansal orijinli gıdalarda gözlenmiştir ve besi hayvanlarının dirençli enterokoklar için bir rezervuar olabileceği, direnç genlerini de gıda zinciri yoluyla insanlara aktarma yeteneğinde olduğu öne sürülmektedir (Aarestrup ve ark 2000). Enterokok türleri evcil hayvanlardan insanlara dokunarak, salya, idrar veya dışkı kontaminasyonu ile bulaşabilir. Bu durum dirençli genlerin gerek aynı türde gerekse türler arası dağılımında önemli rol oynamaktadır (Franz ve ark, 2001; Koch ve ark, 2004). Evcil hayvanlarda antibiyotiklerin yaygın kullanımının enterokok türlerinde direnç gelişmesine olanak sağlayan önemli bir neden olduğu bildirilmektedir (Jackson ve ark, 2009).

Sağlıklı köpeklerde çeşitli örneklerde (nazal, rektal, oral) enterokok türlerinin varlığı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırıldığı farklı çalışmalar bulunmaktadır (Jackson ve ark 2009, Türkyılmaz ve ark 2010, Kataoka ve ark 2014). İnsanlarda *E. faecalis* (Shankar ve ark, 2002) ve *E. faecium* (Baldassarri ve ark, 2001; Willems ve ark, 2001) türleri identifiye edilip izolatların antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle belirlenerek vankomisin direncinin ortaya konulduğu belirtilmektedir. Fakat köpeklerde idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan vankomisin dirençli enterokokların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesine yönelik bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada köpeklerden alınan idrar örneklerinden izole edilen vankomisin dirençli *E. faecalis* ve *E. faecalis* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının ortaya konulması amaçlandı. Elde edilen sonuçların, söz konusu etkenlerden ileri gelen hastalıklarda tedavi protokollerinde kullanılmak üzere kaynak oluşturabileceği ve direnç noktaları hakkında fikir verebileceği düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Enterokoklar ve Genel Özellikleri

Başlangıçta streptokoklar içerisinde değerlendirilen enterokoklar “dışkı kökenli streptokok” mikroorganizmalar olarak gruplandırılmıştır. Enterokok terimi, ilk kez Thiercelin (1899) tarafından Fransa’da yayımlanan bir makalede “insan dışkısında kısa zincirler veya çiftler halinde görülen bakteriler” olarak tanımlanmıştır (Facklam ve Teixeira, 1998). Birkaç yıl sonra Alexander Gordon, muhtemel hayvan dışkısı ile havadan kontamine olmuş sıvı besiyerinde dışkı kökenli streptokok izole ettiğini bildirmiş ve sonrasında kanalizasyon suyunda bol miktarda streptokok bulunduğunu bildirilerek ve suların insan dışkısı ile kontaminasyonunu göstermede yararlı olabileceğini ileri sürülmüştür. Mannitol ve laktozu fermente edebilen fakat rafinozu fermente edemeyen ve sütün pıhtılaşmasına yol açabilen dışkı kökenli organizmaları tanımlamak için Andrews ve Horder (1906) tarafından *Streptococcus faecalis* (*S. faecalis*) tür ismi kullanılmıştır (Andrews ve Horder, 1906; Facklam ve Teixeira, 1998). *S. faecalis*’in tanımlanmasını takiben 1919 yılında Orla-Jensen tarafından *S. faecium* tanımlanmıştır. Sherman, 1937 ve 1938’de, pH 9.6’da, 10-45°C arasındaki sıcaklıklarda ve % 6.5 NaCl içeren sıvı besiyerinde üreyebilen ve 60°C’de otuz dakika canlılığını sürdürebilen streptokoklar için “enterokokal grup” terimini kullanmıştır (Graham ve Bartley, 1939). 1970 yılında Kalina, hücresel dizilim ve fenotipik özelliklerine göre enterokokal streptokokların farklı bir cins oluşturabileceği ve *S. faecalis* ve *S. faecium*’un Enterococcus olarak isimlendirilmesi önerisinde bulunmuştur. Bentley ve ark. (1991), Gram pozitif kokların DNA-RNA hibridizasyonları, 16S-rRNA sıralarının analizi ve hücre duvarlarının incelenmesi ile Streptococcaceae familyasını Streptococcus, Enterococcus ve Lactococcus cinsi olarak ayrıca sınıflandırmıştır. Sonuç olarak, günümüzde Enterokoklar Streptococcaceae familyasında yer alan katalaz (-), Gram (+) yuvarlak şekilli bakteriler olarak tanımlanmakta ve 12 türün bulunduğu ayrı bir genus altında incelenmektedir (Moellering, 2000; Winn ve ark, 2006).

Moleküler genetik çalışmalar neticesinde, günümüzde taksonomik sınıflandırmaya göre insanlarda enfeksiyon oluşturan 26 farklı türün yanı sıra toplamda Enterococcus cinsinde en az 36 farklı tür tanımlanmıştır (Anonim 1). Enterococcus cinsi içinde 12’den fazla yer alan türler arasında; *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. malodoratus*, *E. gallinorum*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. solitarius*, *E. pseudoavium* ile birlikte,

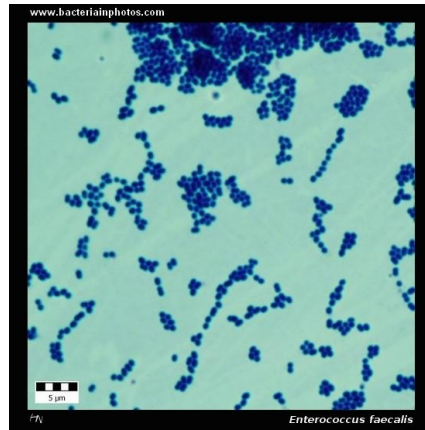


yenir türler olan *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. saccharolyticus*, *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E. seriolicida*, *E. flavescens* Enterococcus cinsi içerisine eklenmiştir (Moellering, 2000). Enterokokların identifikasyonu için çeşitli testler yapılmaktadır. Biyokimyasal testler, API sistemleri ve total plazmid içeriği Enterokokların tiplendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Murray, 1990; Facklam ve Washington, 1991).

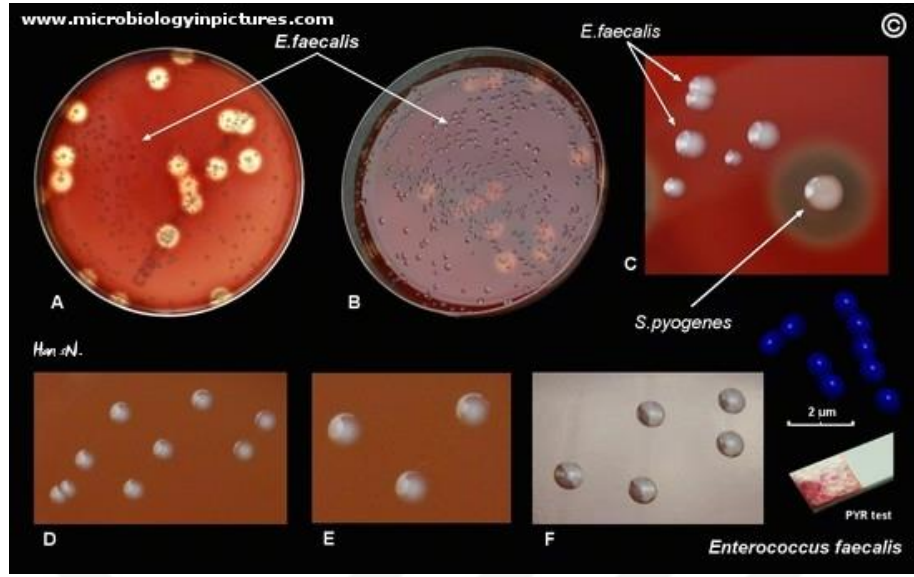
İnsan ve hayvanların sindirim sistemlerinde normal florada bulunan Enterokoklar, toprak, yüzey suları, bitkiler, sebzeler ve böceklerde de bulunmaktadır. *E. faecium*, *E. faecalis* ve *E. durans*'ın insan dışkısından sıklıkla izole edilen Enterokok türleri olduğu bilinmektedir (Tunail, 1999; Franz ve ark, 1999; Franz ve ark, 2003). Diğer taraftan kümes hayvanları, kanarya ve papağanların enfeksiyonlarına sebep olduğu bilinmekle beraber sekonder enfeksiyonlar olup viral ve ya bakteriyel enfeksiyonlar tarafından tetiklendiği düşünülmektedir (Devriese ve ark, 1994; Butaye ve ark, 2000).

### 2.1.1. Morfolojisi, Kimyasal ve Antijenik Yapısı

Karbohidratları laktik aside parçalayabilme özelliğinden dolayı fermentatif laktik asit bakterileri içinde bulunan Gram pozitif koklar olan Enterokoklar, sporsuz, fakültatif anaerob olup, tekli, ikili ve kısa zincirler halinde görülmektedirler. Bazen kokobasil şekilde de görülebilmektedirler. Bazı suşlarında "pseudo catalase" reaksiyonu göstermesine rağmen katalaz (-), oksidaz (-)'tir. *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* gibi türler dışında hareketsiz ve yuvarlak bakterilerdir (Franz ve ark, 1999; Fisher ve ark, 2009). Gram pozitif basil olarak görülebilmektedirler. Bulanıklık oluşturmadan sıvı besiyerinde dipte çöküntü oluşturarak üremektedirler. Mikroskopik olarak streptokoklardan ayırt edilememektedirler (Şekil 1.) (Ruoff ve ark, 1990).



Şekil 1. *E. faecalis* Gram boyama mikroskopik görünümü



Şekil 2. *E. faecalis* koloni görünüşleri



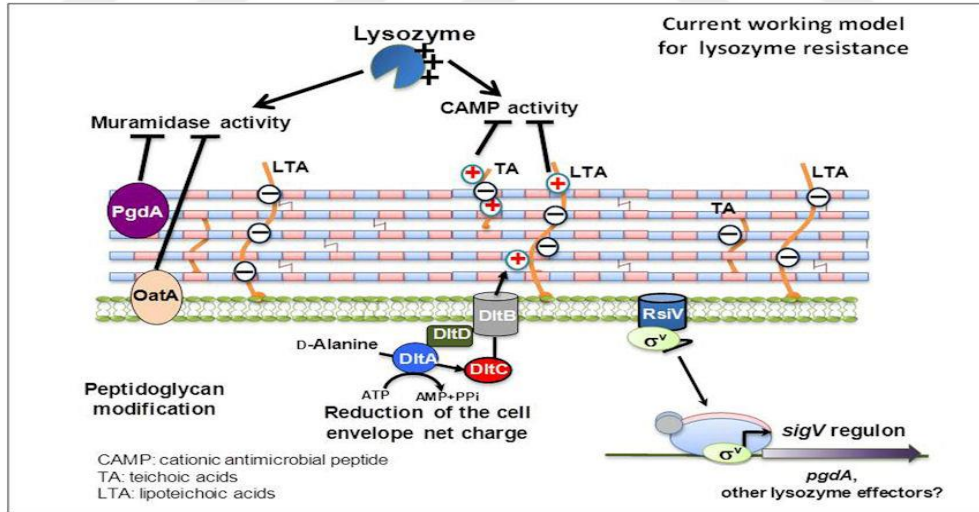
Şekil 3. *E. faecalis*

Sıvı besi yerinde dipte tortu oluşturup, turbiditeye neden olmadan üreyen Enterokoklar dirençli bakterilerdir ve 60 °C de 30 dk. Sıcaklığa dayanıklı olarak bilinmektedir (Unat, 1986). Optimal 35 °C'de ve en iyi 7.2 pH derecesinde üremektedirler. % 5 koyun kanlı agarda 24 saat inkübasyonda, 1 mm veya 2 mm çapında, streptokoklardan geniş, kabarık, mat S tipi koloniler oluşturmaktadırlar. *E. faecalis* suşları insan, tavşan ve at kanlı agarda  $\beta$ -hemoliz oluştururken koyun kanlı agarda hemoliz oluşturmamaktadır (Şekil 2., Şekil 3.) (Facklam ve Teixeira, 1998; Winn ve ark, 2006). *E. durans* suşları kanlı agarların tümünde  $\beta$ -hemoliz oluşturmaktadırlar. Çoğunlukla diğer türlerin hepsi  $\alpha$ -hemolitik veya hemolitik değildirler.

Streptokokların hücre duvarı Enterokoklarla çok benzer yapıda olup C-polisakkarit, teikoik asit, peptidoglikan ve lipoteikoik asitten oluşmaktadır. Hücre duvarının %40'ını peptidoglikan tabaka, geri kalanı ribitol, teikoik asit ve ramnozdan oluşmaktadır (Şekil 4.) (Facklam ve Teixeira, 1998).

Lancefield tarafından yapılan streptokok serotiplendirmede grup spesifik C-polisakkarit yapı ön plandayken, serogrup D ile reaksiyon veren enterokoklar ise yüksek oranda glukoz içeren poligliserolfosfatın bir teikoik asit polimeri olan lipoteikoik asit polimeri olan lipoteikoik asitler belirleyici olmaktadır. Diğer taraftan *Salmonella bovis*, *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp, ve *Vagococcus* spp'ler de serogrup D ile kros reaksiyon verebilmektedir (Fisher ve Phillips, 2009).

Lipoteikoik asit, grup D ve enterokokların yapısal antijeni olup immun yanıtın düzenlenmesinde aktif rol oynayan tümör nekrozis faktör (TNF) ve interferon (IFN) sentezini uyardığından bakterinin virulensinde önemli rol oynamaktadır. Bazı *E. faecalis* suşları tarafından salınan litik aktiviteye sahip bir bakteriyosin olup AS-48 plazmidle kodlanmaktadır. Ayrıca bazı *E. faecalis* suşları da jelatinaz ve hyaluronidaz gibi değişik ekstrasellüler enzimlere de sahiptir (Koneman, 1997).



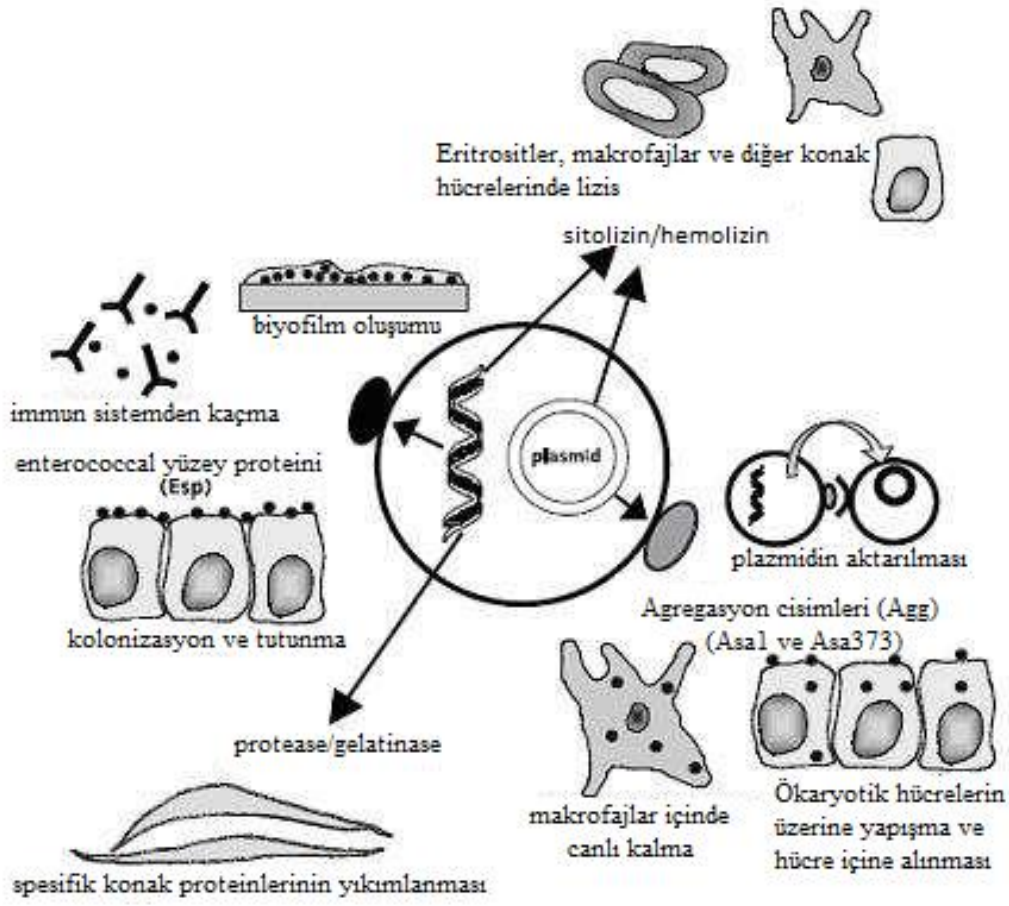
Şekil 4. Enterokok hücre duvarı

### 2.1.2. Virulens ve Patojenite Faktörleri

Düşük virulensli mikroorganizmalar olarak bilinmelerine karşın Enterokoklar toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli etkenler oldukları bilinmektedir. Klinik örneklerden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen enterokokların % 85-95'ini *E. faecalis*, % 5-10'unu ise *E. faecium* oluşturmaktadır (Zouain ve Araj, 2001). Bu türlerin sahip oldukları bazı virulens faktörleri oluşturdukları enfeksiyonların önemini artırmaktadır.

Özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium*'un bazı suşları tarafından üretilen sitolizin, insan ve hayvan eritrositlerinde hemoliz aktivitesini göstermektedir (Moellering, 2005; Yıldırım, 2007). *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin üriner sistem enfeksiyonlarına ve endokardite neden olmalarının başlıca sebebi, sentezledikleri agregasyon substansı aracılığıyla kalp kapakçıkları ve renal epitel hücrelerine yapışabilme özelliğinden olduğu bilinmektedir. Agregasyon substansı plazmidle kodlanan bir protein olup, mikroorganizmanın kümeleşmesine neden olmakla birlikte konjugatif plazmid aktarımının artmasını sağlamaktadır (Koneman ve ark, 1997). Bu etkenlerin üriner sisteme, vasküler kataterlere ve kalp kapakçıklarına kolonize olmasını kolaylaştıran bir diğer neden *E. faecalis*'teki biyofilm oluşumudur (Moellering, 2005). Enterokoklar tarafından sentezlenen küçük peptidler olan feromonlar, suşlar arası plazmid DNA'sının konjugasyonunu denetlemektedir (Moellering, 2000). *E. faecalis* ve bazı *E. faecium* suşları tarafından sentezlenen ve insan, tavşan, sığır ve at eritrositleri lize eden plazmid aracılı hemolizlerin virulensde önemli rolü bulunmaktadır. Bu hemolizlerin ayrıca deneysel enfeksiyonlarda letalite ve toksisiteyi artırdığı ve hastane kökenli bakteriyemi sonrası ani ölüm riskini 5 kat artırdığı gösterilmiştir (Moellering, 2000).

Enterokokların sitolizin, jelatinaz, yüzey proteinleri, adhezyon molekülleri, kapsül, süperoksitler, hyaluronidaz, antibiyotik direnci gibi bazı önemli virulens faktörleri Şekil 5'de özetlenmiş, devam eden bölümde ise kısaca bilgi verilmiştir (Kayaoğlu ve Orstavik, 2004; Devriese, 2006; Upadhyaya ve ark, 2009).



Şekil 5. Patojenitede rol oynayan bazı farklı virulens faktörlerinin gösterimi (Çetinel Aksoy 2008)

### 2.1.2.1. Sitolizin

Ökaryotik ve prokaryotik hücreleri lize edebilen *E. faecalis* sitolizini plazmid kodludur ve *E. faecalis*'in virulensini artırır (Upadhyaya ve ark 2009). Sitolizin operonunun *cylLS*, *cylB*, *cylR1*, *cylM*, *cylR2*, *cylLL*, *cylA*, ve *cylI* olarak belirtilen sekiz farklı gen içerdiği belirtilmektedir (Kayaoğlu ve Orstavik, 2004).

*E. faecalis* sitolizini A lantibiyotik tipinde sınıflandırılmaktadır. Lantibiyotikler ise; amino lantionine içeren ve normal olarak proteinlerde bulunmayan diğer aminoasitleri içeren ribozomal olarak sentezlenmiş peptid yapısındadırlar. Epidermin, nisin, subtilin ve streptocin diğer tip A lantibiyotik örnekleri olarak bilinmektedir (Portenier ve ark, 2003; Karagöz, 2005).

### 2.1.2.2. Agregasyon Faktörü (AF)

Agregasyon Faktörü (AF)'nün *E. faecalis*'in in vitro yapışmasına aracılık ettiği ve bağırsak epitelyum hücreleri tarafından *E. faecalis*'in alınmasını artırdığı gösterilmiştir (Wells ve ark, 2000). İn-vivo olarak ise bir dizi farklı mekanizma ile enterokokal enfeksiyonların patogenezine katkıda bulunabilmektedir (Gültekin, 2004; Kayaoglu ve ark, 2004; Devriese ve ark, 2006).

AF, plazmid tarafından kodlanan türler arasında enterokokkal sitozilin ve antibiyotik determinantları gibi virulens faktörlerinin dağılımını sağlamaktadır. Enterokokların böbrek ve bağırsak epitelyum hücrelerine bağlanmasını ve kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu sayede endokardit ve üriner sistem enfeksiyonlarını kolaylaştırmaktadır. Bakterinin polimorfonükleer lenfositlerin (PMN) fagositozuna karşı korunmasını sağlamaktadır. Ayrıca AF ve sitolizinin, sitolizin regülasyonunu düzenleyen quorum sensing mekanizmasını aktifleştirerek virulensi artıran sinerjistik bir özelliğe sahip oldukları gösterilmiştir. Bu sayede daha fazla doku zararı verebilmektedir (Portenier ve ark, 2003).

### 2.1.2.3. Ekstraselüler Süperoksit

Süperoksit anyonu oksidatif hasar ile yakın ilişkili bir serbest radikaldir. Enterokoklar önemli miktarda süperoksit üretebilmektedir. Özellikle kandan izole edilen *E. faecalis* izolatlarının daha fazla süperoksit üretebildiği belirtilmektedir (Tendolkar ve ark 2003, Upadhyaya ve ark 2009). Bu anlamda süperoksit üretiminin *E. faecalis*'in bağırsak epitelyumunda oksidatif stres için güçlü bir kaynak olduğu ve epitelyumdan bakteri translokasyonunda önemli bir rolü olabileceği belirtilmektedir (Tendolkar ve ark 2003).

### 2.1.2.4. Enterokokal Yüzey Proteini (ESP)

Enterokokal yüzey proteini (ESP) 1873 farklı aminoasitten oluşur. Çekirdek bölgesinin yaklaşık % 50'si proteinden ve etrafında tekrarlayan farklı birimlerden oluşmaktadır (Tendolkar ve ark, 2003). ESP'nin karboksi ucu hücre duvarına tutunmayı sağlarken, iç kısmı ise moleküle uzunluğunu değiştirebilme yeteneği kazandırır. Bu protein ile bakterinin immün sistemden kaçmasının kolaylaştığı sanılmaktadır (Gültekin, 2004). Esp,

*Streptococcus pyogenes* R28, *Streptococcus agalactiae* Rib, C  $\alpha$  protein ve *Staphylococcus aureus* biyofilm ilişkili protein (Bap) ile genel benzerlikler gösterebilmektedir (Tendolkar ve ark, 2003). *E. faecalis*'de enfeksiyona neden olan esp proteini esp geni tarafından kodlanmakta fakat daha az patojen olan suşlarda bulunmamaktadır. Bu nedenle *E. faecalis*'de bir virulens faktörü olarak işlev gördüğünü düşünülmektedir (Upadhyaya ve ark, 2009, Kayaoglu ve ark, 2004). Son yıllarda gerçekleştirilen araştırmalarda, yüzey proteini olan ESP'nin varlığı hidrofobik özelliğin, biofilm oluşumunun ve biyotik yüzeyde tutunmasının göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Portenier ve ark, 2003).

#### **2.1.2.5. Jelatinaz**

Bakteriyal proteazların temel fonksiyonu organizmaya peptid sağlamak olarak bilinmektedir. Fakat aynı zamanda proteazların konak dokularına dolaylı yoldan zarar verebilmesi nedeniyle virulens faktörü olarak da değerlendirilmektedir. *E. faecalis* için jelatinaz ve bir serin proteaz olmak üzere iki proteaz tanımlanmıştır (Portenier ve ark 2003). Jelatinaz, çinko içeren ekstraselüler bir metalloproteinazdır. *E. faecalis* metalloproteinazları insanlarda endotelyumu inaktive edebilmesi nedeniyle coccolysin olarak ayrıca isimlendirmiştir (Portenier ve ark 2003).

Gıdalarda belirlenen *E. faecalis* suşlarında da jelatinaz üretiminin yüksek olduğu belirtilmektedir. Ayrıca genotipte jelatinaz geninin bulunmasına rağmen fenotipte bu özelliği göstermeyen bazı suşların da olduğu belirtilmektedir (Özmen ve ark 2011). Gerçekleştirilen bir çalışmada *E. faecalis* olduğu belirlenen hastane izolatlarının %45'inin jelatinaz ürettiği belirlenirken *E. faecium* ve *E. avium* izolatlarının jelatinaz üretmediği gözlemlenmiştir (Portenier ve ark 2003). *E. faecalis*'in klinik izolatları ile yapılan epidemiyolojik çalışmalarında jelatinaz üretimi, izolatların yaklaşık % 45-68'inde belirlenmiştir, ayrıca jelatinaz aktivitesinin klinik izolatlarda, sağlıklı bireylerin fekal izolatlarından daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Kayaoglu ve ark, 2004).

#### **2.1.2.6. Lipoteikoik Asit (LTA)**

Enterokokal LTA konakçı hücre membranı tarafından komplementin aktivasyonu sonucu enfeksiyon bölgelerinde doku hasarı ortaya çıkarabildiği belirtilmektedir (Hummell ve

ark 1986). Enterokokal LTA tümör nekroz faktör ve interferonlara yönelik güçlü bir indükleyici olduğu ifade edilmektedir (Tsutsui ve ark. 1991). Ayrıca LTA, kümelenme formasyonunu ve plazmid transferini kolaylaştırmak yoluyla *E. faecalis*'in virulensine katkısı olan bir molekül olarak kabul edilebilir (Kayaoglu ve ark, 2004).

#### **2.1.2.7. Kollajen Bağlayıcı Adezin**

Kollajen bağlayıcı adezin yapısal ve fonksiyonel olarak *Staphylococcus aureus*'un kollajen bağlayan proteini Cna'ya benzer özellikler gösteren ve hücre dışı matriks proteinlerine bağlanmayı sağlayan bir adezindir. Enterokok enfeksiyonlarında, özellikle *E. faecalis* endokarditlerinde etki gösterir. Klinik izolatlarda fekal izolatlardan daha fazla rastlanılır. Ayrıca bakterinin dentine adhezyonunda etkisi olduğu belirtilmektedir (Kayaoglu ve Orstavik 2004).

#### **2.1.2.8. Kapsül, Hücre Duvarı Polisakkaritleri**

Kompleks yapısı ve direnç oluşturma yeteneği sayesinde konakçı immun sisteminden kurtulabilen bakteriyel kapsül bileşenleri, patogenez sürecinde oldukça önemlidir. *E. faecalis* izolatlarında üretilen kapsül polisakkaritini kodlayan bir operon bulunmaktadır. Bundan farklı olarak *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarında ayrı bir kapsül polisakkariti daha tanımlanmıştır. İki polisakkaride karşı oluşan antikorların da koruyucu olduğu ifade edilmektedir. Enterokoklarda hücre duvarı, teikoik asit, beta-D glikoz-1-fosfat ve tetra heteroglikan komponentlerinden oluşmaktadır. Antikorlar için hedef olan bu yapılar virulansın yanı sıra koruyucu immünite için hedef rolü oynadığı belirtilmektedir (Upadhyaya ve ark, 2009).

#### **2.1.2.9. Seks Feromonları**

Seks feromonları 7-8 amino asit uzunluğunda ve cpd, cob, ccf, cad genlerinde kodlanan, küçük, hidrofobik peptitler olarak tanımlanmaktadır. *E. faecalis*'te sinyal peptitleri fonksiyonu yapmaktadırlar ve suşlar arasında konjugatif plazmidlerin transferini



sağlamaktadırlar. Seks feromon sistemleri ile antibiyotik direnci ve sitolizin gibi virulens faktörlerinin *E. faecalis* suşları arasında yayılabileceği belirtilmektedir (Kayaoğlu ve ark 2004).

#### **2.1.2.10. Hyaluronidaz**

Hyaluronidaz, hyaluronik asit yapısını bozarak doku hasarına yol açabilen bir enzimdir. Buna ek olarak bakteriyel toksinlerin zararlı etkilerini güçlendirerek ve doku hasarının şiddetini artırır. Hyaluronidaz üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda dolaylı olarak enterokok virulensine katkı sağladığı gösterilmiştir. Hyaluronidaz üretiminin belirlenmesi, hyaluronik asit içeren yarı katı ortama inokülasyon ile gerçekleştirilmektedir (Kayaoglu ve ark 2004).

#### **2.1.2.11. AS-48**

Özellikle *E. faecalis* tarafından üretilen AS-48, enterokok sınıfını da içeren geniş spektrumda gram pozitif ve negatif bakterileri inhibe ve lize edebilmektedir. Basit peptit yapısındaki AS-48, hedef hücrelerin membranlarında gözenek oluşturarak litik aktivite gösterir. Ayrıca otolizin aktivitesi yoluyla seçilen bir enterokokun lizisini indükleyebildiği ifade edilmektedir (Jett ve ark 1994).

#### **2.1.2.12. Antibiyotik direnci**

Enterokokların virulans özelliklerini artıran en önemli faktörlerden biri ise antibiyotik direnci olarak ifade edilmektedir. Enterokoklarda antibiyotik direncinin gelişimi ve yayılımı ile ilgili birçok araştırma gerçekleştirilmiştir. Enterokoklarda antibiyotik direnci doğal ya da kazanılmış gerçekleşebilir. Enterokokların çoğu doğal olarak  $\beta$ -laktam, klindamisin, aminoglikozid ve florokinolon gibi antimikrobiallere direnç gösterebilmektedir. Bunun yanında ampisilin ve vankomisine doğal olarak duyarlıdırlar, fakat bu antibiyotiklere maruz kalmaları durumunda direnç geliştirebilirler. Benzer şekilde tetrasiklinlere, makrolidlere, glikopeptidlere (vankomisin, teikoplanin), kloramfenikol, aminoglikozidler ve  $\beta$ -laktamlara

da direnç geliştirebilirler. Direncin kazanılması plazmidlerde direnç genlerinin kazanılması ve diğer mikroorganizmalardan tropozonlar ile kazanılması sayesinde oluşmaktadır. Enterokoklar yüzey agregasyon maddesinin sentezini etkileyebilen seks feromonları salgılayabilir ve böylece plazmid tarafından taşınan direnç bilgisinin değişmesine yol açacak eşleşme agregasyonunun oluşumuna neden olabilmektedir. Enterokoklar antimikrobiyal ilaçlara karşı çoklu direnç geliştirebilmesi nedeniyle önemli görülmekte ve nozokomiyal enfeksiyonlar içerisinde dikkat çekmektedir (Çetinel 2008, Aktaş ve ark 2009).

Enterokokların beta-laktam antibiyotiklere karşı iki mekanizma ile direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Bunlardan biri *E. faecium* suşlarında görülen penisilin afinitesinin azalması sonucu PBP 5'in miktarının artması ile ortaya çıkan direnç tipidir. Bu mekanizma ile enterokoklar üremelerini inhibe edecek konsantrasyondaki  $\beta$ -laktam antibiyotiklerinin varlığında, onlara daha düşük bağlanma gösteren PBP sentezleyebilmeleridir. Bu sentez ilgili değişiklikleri kodlayan DNA bölgesinde meydana gelen mutasyon sonucu veya plazmid kazanımı ile gerçekleşmektedir. İkinci direnç mekanizması ise antimikrobiyel maddenin hedef bölgeye ulaşmadan modifiye edilmesi veya parçalanmasına yol açan beta-laktamaz üretimidir (Marothi ve ark 2005, Klare ve ark 2003).

Aminoglikozitlere karşı gelişmiş olan ve membrandaki permeabilitenin azalması ile oluşan direnç yüksek düzeyde değildir ve genellikle çapraz direnç şeklindedir. Bu direnç tipinin  $\beta$ -laktam antibiyotikler ile ortadan kaldırılabileceği ifade edilmektedir (Tok 2006).

Enterokoklar önemli virulens faktörleri olan plazmid ve transpozonlar yoluyla son yıllarda belirgin bir şekilde kazanılmış direnç geliştirmiştir. Bunlar arasında en önemlileri yüksek düzey aminoglikozit ve penisilin direncidir. Enterokokların çok büyük bir kısmının bu yol ile eritromisin, klindamisin ve tetrasiklinlere direnç kazanmış durumda olduğu belirtilmektedir (Marothi ve ark, 2005).

Enterokoklarda oldukça önemli olan bir diğer kazanılmış direnç tipi ise glikopeptit direncidir ve Van A'dan Van G'ye kadar çeşitlilik gösterebilen farklı fenotipler ile ifade edilmektedir. Fenotipik sınıflandırmada bakterinin sadece vankomisin ya da aynı anda hem vankomisin hem de teikoplanine dirençli olması, direncin indüklenebilir veya yapısal olması ya da diğer bakterilere iletilebilir olup olmasına göre yapılır (Klare ve ark, 2003). Belirtilen glikopeptit direnç tipleri içerisinde en iyi tanımlanmış olanları VanA, VanB, VanC ve VanD dirençleridir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Enterokoklarda glikopeptit direnç tipleri (Dutka-Malen ve ark 1994)

Ozellik	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE
MIK( µg/mL) Vankomisin Teikoplanin	64 ->1000 16 -> 512	4 ->1000 0.5 -> 32	2 - 32 0.5 - 1	16 - 64 2 - 4	16 0.5
Transfer edilebilme	+	+	-	-	?
Direnç genlerinin lokasyonu	Plazmidler	Kromozom (plazmidler)	Kromozom	Kromozom	Kromozom
İndüklenme ile ekspresyon					
Vankomisin Teikoplanin	+ +	+ -	- -	+ -	+ -
Hareketli element	Tn 1546	Tn 1547	-	?	?
Ligaz geni	<i>van A</i>	<i>van B</i>	<i>van C-1 ve van C-2/van C-3</i>	<i>van D</i>	<i>van E</i>
Direnç tipi	Kazanılmış Direnç	Kazanılmış Direnç	Doğal Direnç	Kazanılmış Direnç	Kazanılmış Direnç
Direnç proteinin M.A'lığı(kDa)	39-40	39.5	38	?	?
Modifiye edilmiş hedef	D-ala-D-lac	D-ala-D-lac	D-ala-D-ser	D-ala-D-lac	D-ala-D-ser
Türler	<i>E. faecalis</i> <i>E. mundtii</i> <i>E. faecium</i> <i>E. raffinosus</i> <i>E. avium</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. durans</i> <i>E. casseliflavus</i>	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. flavescens</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>

## 2.2. Enterokok Enfeksiyonları

### 2.2.1. Epidemiyoloji

Toprak, su, yiyeceklerde; insan ve hayvan barsak, safra yolları, ağız ve bazen derinin normal florasında bulunan enterokoklar, uygun koşullarda insanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedirler. Diğer streptokokların duyarlı oldukları antimikrobiyallere karşı dirençli olmaları nedeniyle, özellikle hastane kökenli patojen olarak klinik önemleri giderek artmaktadır (Unat, 1986, Koneman ve ark, 1997, Moellering, 2000).

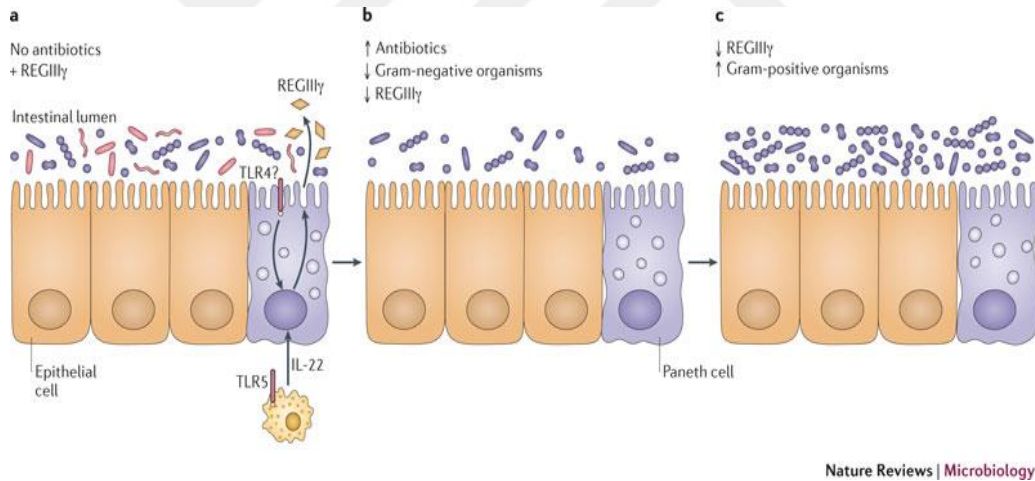
Enterokoklar sıcakkanlı hayvanların ve insanların gastrointestinal sisteminde normal florada bulunmaktadır. İnsan dışkısında *E. faecalis* ( $10^5$ - $10^7$  cfu/gr), *E. faecium*'dan ( $10^4$ - $10^5$  cfu/gr) daha yaygın bulunur ve *E. faecium* antibiyotiklere dirençliliğinden dolayı hastane ortamında daha baskın görülmektedir. Ayrıca böceklerde, bitkilerde dışkı ile kirlenmiş toprak, su ve yiyeceklerde de bulunmaktadır. Bu sebeple içme ve kullanma sularındaki fekal kontaminasyonlarda indikatör mikroorganizma olarak kullanılmaktadırlar (Fisher ve Phillips, 2009; Hijazi ve ark, 2009).

Enterokoklar vajina, deri, oral kavite ve dental plaklarda daha az sıklıkta bulunmaktadır. Ayrıca Enterokoklar laktik asit üretmelerinden dolayı peynir yapımında starter kültür olarak kullanılmasından dolayı, peynir, et ürünleri ve yiyeceklerden de izole edilebilmektedirler (Facklam ve Teixeira, 1998; Bilström, 2008; Hijazi ve ark, 2009).

Gastrointestinal kanalda insanda yüksek düzeyde bulunmasına rağmen enterokoklar, genitoüriner sistem ve oral kavitede daha az sayıda normal flora etkeni olarak bulunmaktadır (Huycke ve ark, 1998). Sıklıkla intraabdominal enfeksiyon, endokardit ve bakteriyemiye yol açarken, daha az olarak menenjit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Bakteri, değişen sıcaklık, pH ve bazı bakterisidal etkili deterjanların varlığında bile canlılığını koruma özelliğine sahip olduğu bilinmektedir. Enterokokların özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemi giderek artmakta ve bazı olgularda hastane kaynaklı bakteriyemilerden de sorumlu tutulmaktadır (Lautenbach ve ark, 1999; Patterson, 2000; Shepard ve Gilmore, 2002).

## 2.2.2. Klinik bulgular

*E. faecalis* ile oluşan enfeksiyonların oranı Enterokokal enfeksiyonlar içerisinde diğer türlere göre 10 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Fakat son yıllarda, vankomisine dirençli enterokok (VRE) 'ların ortaya çıkması nedeniyle bu oran gittikçe düşmüş ve *E. faecium* izolatları ön plana çıkmaya başlamıştır. Bugün Amerika'da ulusal hastane kökenli enfeksiyon çalışma sistemine bakıldığında, ABD'de enfeksiyon etkeni olarak izole edilen enterokoklar içerisinde VRE'lerin oranının % 20'leri bulunduğu belirtilmektedir. Avrupa'da ise VRE'lerin kaynağının kuvvetle muhtemel hayvan çiftlikleri olduğu düşünülmektedir. ABD'de ise kaynağın; hastane çalışanları ve hastaların elleri, termometreler, stetoskop ve bunun gibi çok hastada kullanılabilen cihazlar olduğu belirtilmektedir. ABD'de aşırı antibiyotik kullanımı Avrupa'da ise hayvanlarda gelişimi artırma olarak kullanılan ve glikopeptid türevi olan avoparsin kullanımının vankomisin direncinin artmasına neden olduğu kabul edilmektedir (Şekil 6.) (Başustaoğlu ve ark, 2002).



Nature Reviews | Microbiology

Şekil 6. Enterokoklarda antibiyotik ve hücre duvarı etkileşimleri

Enterokokların yol açtığı en sık görülen klinik hastalıkların başında üriner sistem enfeksiyonları gelmektedir ve mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen enterokokların kaynağı idrar kültürleri olarak bilinmektedir (Moellering, 2005). Enterokokların sebep olduğu üriner sistem enfeksiyonlarının çoğu hastane kökenli olup çoğunlukla üriner kateterizasyon ile birlikte bulunmaktadır. Özellikle yapısal bozukluğu veya tekrarlayan üriner sistem enfeksiyonu olan hastalarda sık görülmektedir (Murray, 1998). Enterokoklar genç ve sağlıklı bireylerde komplike olmamış sistit gibi üriner sistem enfeksiyonlarının % 5'inden azını oluşturmaktadır (Söyletir ve Çerikoğlu, 2002).

Enterokoklar bakteriyel endokarditlerin % 5-15 ini oluşturmaktadırlar (Moellering, 2005). Enterokok bakteriyemisi enterokok endokarditinden daha sık görülen bir enfeksiyondur ve sıklığı giderek artmaktadır. Endokardit hastane dışı enterokok bakteriyemilerinin 1/3'ünde görülürken hastane kökenli bakteriyemilerde endokardit oranı %1'in altındadır (Murray, 1998).

Enterokoklar tüm enfektif endokarditlerin % 5-15'inden sorumludur. Çoğunun etkeni *E. faecalis*'tir. Fakat *E. faecium*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. raffinosum* izole edilen olgularda rapor edilmiştir. Enterokoklar hasarlı kalp kapaklarına tutunabildiği gibi normal kapakçığa da tutunabilirler. Sıklıkla intra abdominal ve pelvik enfeksiyonların aerop ve anaerob florası içindedirler. *Escherichia coli* ve *Bacteroides fragilis*'ten daha az gastrointestinal kaynaklı bakteriyemi yaparlar. Siroz veya nefrotik sendromlu hastalarda, spontan bakteriyel peritonitli ve periton diyalizi yapılanlarda da peritonite neden olmaktadır. Saf enterokokal peritonit bazen abdominal cerrahi veya travma komplikasyonu olabilir. Enterokoklar ayrıca endometrit, sectio veya akut salpingitis komplikasyonu olarak bakteriyemi ve apse yapabilirler. Tek başına enterokokal yara ve yumuşak doku enfeksiyonu pek görülmez. Cerrahi yara, dekübit ülseri ve diyabetik ayak enfeksiyonlarının miks etken üyesidirler. Kronik osteomyelitlilerde de görülebilir ancak burada saptanması genellikle primer enfeksiyonu göstermez, superenfeksiyonu gösterir. Enterokoklar nadiren menenjit yapmaktadır. Solunum yolu enfeksiyonlarının sıklığı giderek artmaktadır. Önemli hastalığı, düşkünlüğü olan ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan, enterik beslenen hastalarda nadiren pneumoni yapmaktadır (Unat, 1986; Bilgehan, 1995; Koneman ve ark, 1997; Moellering, 2000).

### 2.2.3. Tanı

PCR teknikleri enterokokların tür ve genotip tayininde oldukça başarılı kullanım alanı bulmuştur. Yapılan çalışmalara göre enterokoklardaki elongasyon faktörü olarak adlandırılan tuf genini (EF-Tu) hedef alan primerler, bakteriyi cins düzeyinde tayin edebilmektedir (Ke ve ark, 1999). Bakterinin tür düzeyinde tanımlanmasında ise D-alanin/D-ligaz geni (ddl) (Dutka-Malen ve ark, 1995) ve groESL genini (Teng et al.) hedef alan primerler de bakterinin tür düzeyinde tanımlanmasında kullanılmaktadır (Doming ve ark, 2003).

Enterokoklardaki antibiyotik direnç tespiti için uygulanan duyarlılık testlerinin yanı sıra suşlar arasındaki genetik madde transferine bağlı olarak yayılan direnç genlerinin ve ya

gen mutasyonları nedeniyle gerçekleşen ilişkinin moleküler yöntemlerle ortaya konulabilmesi mümkün olabilmektedir. Dutka-Malen ve ark, (1995) ddl genini hedef alan primerler ile bakterilerin hem tür düzeyinde hem de glikoprotein direncinin saptanmasında; Miele ve ark,(1995) van genleri için primer setinin geliştirilmesinde, Klare ve ark, (1995) vanA ve vanB genlerini hedef alan yeni primerler geliştirilmesinde PCR tekniklerini kullanmışlardır (Doming ve ark, 2003).

#### **2.2.4. Tedavi ve Antimikrobiyal Direnç**

Enterokokların neden olduğu enfeksiyonların tedavisi ilk sırada kullanılan antibiyotiklere karşı değişen direnç ve duyarlılıklarının saptanması için güvenilir yöntemlere ihtiyaç duyulması nedeniyle zor olabilmektedir.

Enterokoklar antibiyotiklere doğal, kromozomal ya da kazanılmış direnç gösterebilmektedirler. Doğal direnç aminoglikozidlere (düşük düzeyde), özellikle beta laktam antibiyotiklere, kazanılmış direnç ise aminoglikozidlere (yüksek düzey) ve florokinolonlar gibi çeşitli antibiyotiklere karşı gelişebilmektedir. Aminoglikozidlere karşı doğal direnç düşük düzeyde görülmektedir. Bu dirence rağmen aminoglikozidler etkili bir ajanla beraber kullanıldıklarında, hücre duvarına sinerjik etkileşim sonucu bakterisit etki sağlayabilmektedir. Yüksek düzey aminoglikozid direnci varlığında beta-laktam antibiyotiklerle sinerjik etkileşim söz konusu değildir (Çetinkaya ve ark, 2000).

Enterokok suşları ile oluşan enfeksiyonların tedavisinde yaklaşım genellikle, beta-laktam ve aminoglikozid bir antibiyotik kombinasyonu, eğer bunlara direnç var ise glikopeptid antibiyotik seçilmesi gerekmektedir. Ancak suşların çoğu kez çoklu antibiyotik direncine sahip olması ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin varlığına ilaveten, giderek artan oranda bildirilen vankomisin direnci tedavide önemli bir sorun oluşturmaktadır (Çetinkaya, 2000; Shepard ve Gilmore, 2002).

Hastane kökenli enfeksiyonların etkeni olarak izolasyon sıklığı giderek artan enterokoklarda çoklu ilaç direnci büyük bir sorun oluşturmaktadır. Enterokok enfeksiyonlarında beta-laktam, aminoglikozid ve glikopeptid antibiyotikler en çok kullanılan antibakteriyel ajanlar olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda Ersoy ve ark, (2005) penisilin direncini % 25.9, Şirin ve Adloglu, (2011) ise % 28 bulmuşlardır. Bir başka çalışmada ise poliklinikten gönderilen örneklerde penisilin direnci %48, servisten gönderilen örneklerde ise %84 olarak saptanmıştır (Aguş ve ark, 2006). İdrar örneklerinden izole edilen

enterokok suşlarıyla yapılan bir çalışmada penisiline % 85 oranında direnç bildirilmiştir (Kalaycı ve ark, 2011). Hindistan'da pediatrik yoğun bakım hastalarına ait enterokok suşlarının penisilin direnci %100 olarak bulunmuştur (Kapoor ve ark, 2005).

Meriç ve ark, (2004) yaptıkları bir çalışmada *E. faecalis* suşlarında %21, *E. faecium* suşlarında ise % 78 oranında siprofloksasine direnç saptamışlardır. Yapılan diğer bir çalışmada ise *E. faecalis* suşlarında % 8, *E. faecium* suşlarında ise % 62.5 oranında siprofloksasine direnç saptanırken (Berzeg ve ark., 2005), bir başka çalışmada *E. faecium* suşlarında siprofloksasine % 85.2, *E. faecalis* suşlarında % 61 olmak üzere yüksek oranda direnç tespit edilmiştir (Türkdağı ve ark, 2011).

Yüksek düzey aminoglikozid direnci, penisilinler ya da glikopeptidler ile aminoglikozid kombinasyonunun sinerjik bakterisidal etkisinin ortadan kalkmasına yol açmaktadır. Bu nedenle enterokokların neden olduğu enfeksiyonlarda aminoglikozid direncinin saptanması gerekmektedir. Meriç ve ark, (2004) yaptıkları araştırmada gentamisin direncini % 20 olarak bildirirken, Gazi ve ark., (2004) bu direnci % 22, Yavuz ve ark., (2006) % 44.4 olarak bildirmişlerdir. Barisic ve Punda-Polic (2000), hastanede yatan hastalardan izole ettikleri *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinde, gentamisin direncini sırasıyla % 37 ve % 76 bulmuşlardır. Bir diğer çalışmada izole edilen tüm enterokok suşlarının gentamisin direnci *E. faecalis* ve *E. faecium* türleri için sırasıyla % 18.5 ve % 23.5 olarak bulunmuştur (Udo ve ark., 2003). Daha önce hastanede yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokoklarla yapılan bir çalışmada, *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinde gentamisin direnci ise sırasıyla % 26.4 ve % 48.9 olarak bulunmuştur (Karadenizli ve Kolaylı, 2002). Aral ve ark, (2011) aynı türlerde bu oranları sırasıyla % 16 ve % 60 olarak bildirirken, Meriç ve ark., (2004) % 13 ve % 41, Mert-Dinç ve ark., (2009) % 14 ve % 52, Kaçmaz ve ark., (2003) ise % 8 ve % 1 olarak saptamışlardır.

Enterokoklarda 1980'lerde beta-laktam antibiyotiklere ve aminoglikozidlere direncin ortaya çıkması üzerine vankomisin, uzun yıllar tek uygun antibiyotik olarak kullanılmıştır. 1987 yılında ilk kez Fransa ve İngiltere'de vankomisine dirençli *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatlarının varlığı belirtilmiştir. Ayrıca bir çalışmada kandan izole edilen *E. faecalis*'te bu oran % 1, *E. faecium*'da ise % 4 olarak bildirilmiş (Gülay, 2008), başka bir çalışmada da *E. faecium* suşlarında vankomisin direnç oranı % 16.1, *E. faecalis* suşlarında ise bu direnç % 3 olarak bulunmuştur. Vankomisine dirençli suşların MİK değerleri >256 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Türkdağı ve ark, 2011).

Tetrasiklin ve rifampisin, günümüze dek enterokok enfeksiyonlarının sağaltımında yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak, bu ilaçların terapötik etkinliklerini saptamak güçtür.



Çünkü bu iki ajan genellikle antibiyotiklerle birlikte kullanılırlar. Enterokoklarda rifampisin ve tetrasikline karşı yüksek oranlarda direnç saptandığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Loza ve ark, 1992; Pesce ve ark, 1992).

Enterokokların makrolid antibiyotiklere karşı direnç oranlarının oldukça yüksek düzeylerde olduğu (% 40-100) bilinmektedir (Ulusoy ve ark., 1995; Aral ve ark., 2011). Aral ve ark, (2011) 158 enterokok suşunun antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında eritromisin direncini *E. faecalis* ve *E. faecium* suşları için sırasıyla % 56 ve % 100 oranlarında bildirilmektedir. Yapılan başka bir çalışma da hem poliklinik hem de yatan hastalarda eritromisin direnci yüksek oranlarda (% 75-85) tespit edilmiş ve *E. faecalis* suşlarına göre (% 48) *E. faecium* suşlarında (% 95) anlamlı olarak daha yüksek düzeyde gözlenmiştir (Özseven ve ark, 2011). Enterokok enfeksiyonlarında kullanılan antimikrobiyaller özetlenmiştir (Tablo 2).

**Tablo 2.** Enterokok enfeksiyonlarında kullanılan antimikrobiyaller (Tünger, 2012)

Enterokok enfeksiyonlarında sıklıkla kullanılan antibiyotikler	Ampisilin-penisilin Aminoglikozidler Kloramfenikol Rifampisin Fosfomisin Nitrofurantoin Tetrasiklin-doksisiklin Florokinolonlar Novobiyosin Basitrasin
Enterokok enfeksiyonlarında kullanılan güncel antibiyotikler	Kinupristin-dalfopristin Linezolid Daptomisin Tigesiklin
Enterokok enfeksiyonlarında kullanılabilen yeni antibiyotikler	Oritavansin Dalbavansin Telavansin Seftobiprol, seftarolin

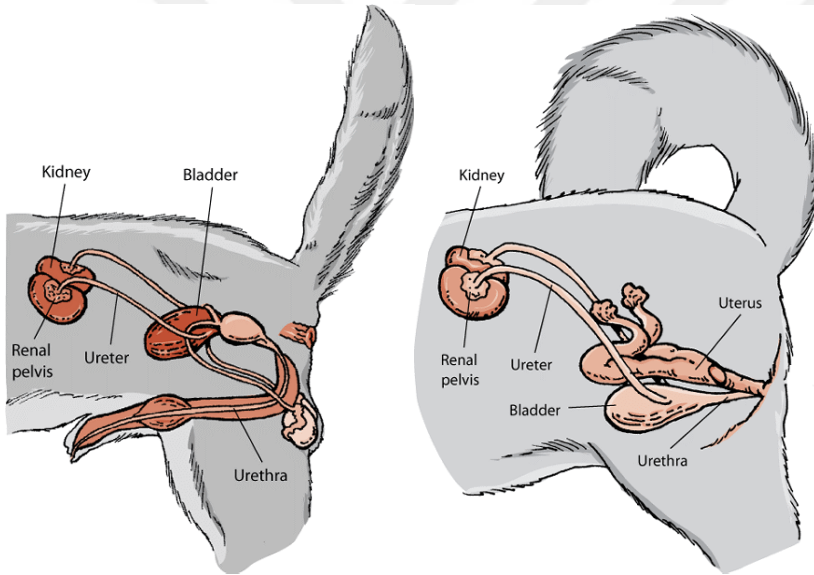
Enterokok enfeksiyonlarının tedavisi, hem bu mikroorganizmaların klasik antibiyotiklere dirençli olduklarından, hem de laboratuvarlarda gerçek ve doğru duyarlılıklarının saptanması için spesifik yöntemlere ihtiyaç duyulmasından dolayı çeşitli güçlükleri barındırmaktadır. Standart duyarlılık testleriyle penisilin-aminoglikozid sinerjisi, beta laktamaz üreten suşların penisilin ve ampisilin direnci tahmin edilememektedir. Bu nedenle laboratuvarların aminoglikozid ve beta laktamaz varlığı açısından etkeni test etmeleri önerilmektedir. Penisilin gibi enterokoklara bakteriyostatik etkili antibiyotikler, bakterisid tedavinin gerekmediği üriner enfeksiyon, peritonit ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçilecek ajanlar olmaya devam etmektedir. Glikopeptidler, penisilin alerjisi varlığında veya *E. faecium* gibi yüksek düzeyde penisilin alerjisi varlığında veya *E. faecium* gibi yüksek düzeyde penisilin direnci olan suşlarda tercih edilmektedir (Berzeg, 2005). Siprofloksasin ve ofloksasin gibi kinolonlar, enterokoklara in vitro etkili olup bazı üriner enfeksiyonlarda kullanılırsa da genelde etkilerine güvenilmez ve sistemik enfeksiyonlarda ilk tercih edilecek ajanlar değildirler. Siprofloksasin, direnci de giderek artmaktadır (Moellering, 2000; Murray, 2000). Siprofloksasin in vitro olarak enterokoklara karşı aktif bir ajan olmasına rağmen, bakterisidal etkisinin olmaması nedeniyle bu bakterinin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanımı sınırlıdır. Özseven ve ark, (2011) yaptıkları çalışmada klinik ve poliklinik hastalarında tespit ettiği siprofiloksasin direncini *E. faecalis*'te %72 ve *E. faecium*'da ise % 92 olarak bulmuştur. Bu direnç Türkiye'de bildirilen kinolon dirençlerinden (% 22-72) oldukça yüksektir (Gazi ve ark, 2004; Yavuz ve ark, 2006; Aral ve ark, 2011). Aral ve ark, (2011) siprofloksasin direncini *E. faecalis* için %27 ve *E. faecium* için ise % 69 olarak belirlemişlerdir. Gazi ve ark, (2004) ise bu dirençleri sırasıyla % 44 ve % 39 olarak daha düşük düzeylerde bulmuşlardır.

Enterokoklarda birçok antimikrobiyal ajana karşı doğal ve kazanılmış tipte direnç gözlenmesi bu bakterilerin yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde önemli sorunlara neden olmaktadır. Penisilinlere, sefalosporinlere, klindamisine ve düşük düzeyde aminoglikozidlere karşı gözlenen doğal direncin varlığı sinerjik kombine antibiyotik tedavisini zorunlu kılmaktadır. Aminoglikozidlerin hücre zarından geçişlerindeki zorluk, düşük düzeyde aminoglikozid direncine neden olmaktadır. Bu nedenle, sinerjik etki oluşturmak amacıyla hücre duvarı sentezini inhibe eden bir antibiyotikle aminoglikozid grubu antibiyotiğin kombine kullanımı, tedavide başarı oranını arttırmaktadır. Ancak plazmid ve transpozonlar aracılığı ile kazanılmış direnç gelişimi nedeniyle yüksek düzey aminoglikozid direncinin ortaya çıkışı tedavide aminoglikozidler ile kombine olarak hücre duvarı sentezini inhibe eden

ajanların kullanılması ile elde edilen sinerjik etkiyi de ortadan kaldırmaktadır (Shepard ve ark, 2002).

### 2.3. Köpeklerde Üriner Sistem Enfeksiyonları

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE) köpeklerde yaygın olarak gözlenmektedir. Veteriner kliniklerine getirilen köpeklerin % 10'unda üriner sistem enfeksiyonları olabileceği ve köpeklerin % 14'ünün yaşam süresince en az bir kere ÜSE yaşayabileceği belirtilmektedir. Enfeksiyonlar dişi köpeklerde erkeklere göre daha fazla gözlenmektedir. Daha çok yaşlılarda renal hastalıklara ve idrar katateri ile sondalanmaya bağlı olarak oluşabilmektedir (Chew ve ark, 2011). Köpek üriner sistemin anatomisi temsili olarak Şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 7. Erkek ve dişi köpeklerde üriner sistem anatomisi (Chew ve ark, 2011)

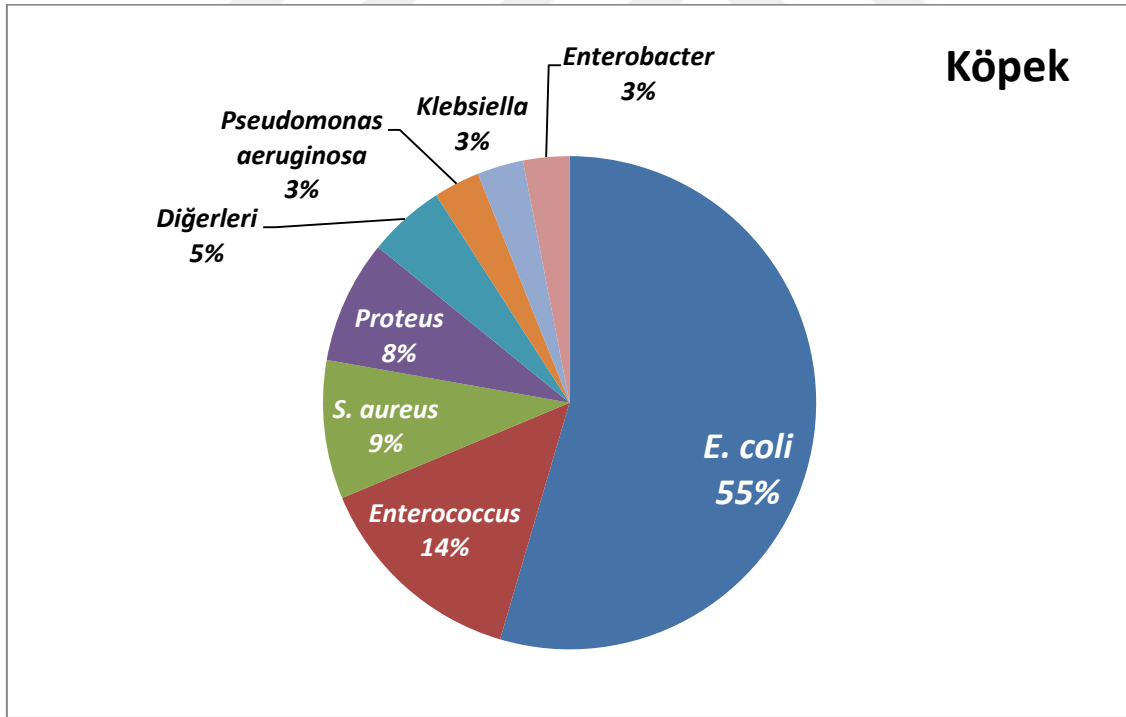
İnsanlarda olduğu gibi köpeklerde de pek çok ÜSE tek etken tarafından oluşturulmaktadır. Olguların % 75'inden tek etken, % 20'sinden iki etken, % 5'inden ise üç farklı etken izole edilmiştir. Genel olarak olguların % 75'inden gram negatif bakterilerin ve en yaygın olarak da E. coli'nin izole edildiği belirtilmektedir (Chew ve ark, 2011).

Erkeklerde Klebsiella enfeksiyonları, dişilerde ise Proteus ve Enterococcus enfeksiyonları daha yaygın olduğu bilinmektedir. Ek olarak dişi köpeklerde birden fazla etkenin bulunduğu polimikrobik enfeksiyonlar daha fazla gözlenmektedir (Chew ve ark, 2011).

Alman çoban köpekleri, minyatür Poodle, Labrador retriever, Daschhund, Doberman pincher ırkı köpekler ÜSE'ye daha duyarlı olduğu bilinmektedir. Labrador retriever ve Dalmaçya ırkı erkek köpeklerde dişilere göre ÜSE daha fazla gözlenmektedir. Dashund ve English Springer spaniel ırklarında ise dişilerde daha fazla gözlenmektedir. Köpeklerde ÜSE 0.3 -16 yaşları arasında ortalama 7 yaşında, erkek kedilerde ortalama 6 dişi kedilerde ise ortalama 10 yaşlarında görülmektedir (Chew ve ark, 2011).

ÜSE patogeneğinde dışkı florasıyla perineumun kontaminasyonu sonucu bakterilerin üretradan idrar kesesi ve böbreklere geçmesi oldukça sık görülmektedir. Özellikle septisemi durumlarında enfeksiyon hematojen veya lenfojen yolla böbreklere yerleşebilmekte ve alt üriner sisteme geçebilmektedir. İdrar yolu çevresindeki yara ve apselerde direkt olarak enfeksiyona neden olabilmektedir. Üriner kateterizasyon esnasında normal floranın dışkı ya da hastane florasıyla kontaminasyonu sonucu enfeksiyon şekillenebilmektedir (Chew ve ark, 2011).

Bir üniversite laboratuvarına getirilen idrar örneklerinden köpeklerde izole edilen bakteriyel etkenler sırasıyla Şekil 8'de gösterilmiştir.



**Şekil 8.** Köpeklerde ÜSE'de izole edilen bakteriyel etkenler. Ohio State Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında 2000-2007 yılları arasında değerlendirilen 5060 idrar örneğinden özetlenmektedir (Chew ve ark, 2011).

### 2.3.1. Üriner Sistemdeki Antimikrobiyal Savunma Mekanizmaları

Üriner kanal idrar çıkışı esnasında yoğun olarak patojenlere maruz kalmasa da potansiyel etkenlere karşı organizmanın geliştirdiği bir savunma sistemi bulunmaktadır. İdrarın akışı, yönü ve yapılma sıklığı mikroorganizmaların yerleşimini engelleyerek böbrekler, üreter, idrar kesesi ve üretrayı korumaktadır. İdrar retensiyonu ise ÜSE riskini oldukça arttırmaktadır (Chew ve ark, 2011).

Epitelyumu saran glikoprotein yapıdaki musin bakterilerin adhezyonunu engellemektedir. Epitel hücrelerinin dökülebilir olması patojenlerin uzaklaştırılmasına yardımcı olmaktadır. İdrarın yüksek ozmolaritesi ve pH'sı ile üre, methionin, askorbik asit ve amonyum nitrojen içeriği gibi yapısal özellikleri de bakteriyel üremeyi sınırlandırmaktadır (Chew ve ark, 2011).

Üriner kanalda normal olarak belirli bir flora bulunmamaktadır. Distal üretrada ise özellikle koagülaz negatif *Staphylococcus*, *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp. gibi ağırlıklı Gram pozitif bakteriler bulunsa da hayvana bakım koşullarına ve hijyene göre değişmektedir. Az sayıda bakteri özellikle dişilerde üretra yoluyla idrar kesesine girebilir fakat ürinasyon esnasında dışarı atılabilmektedir (Chew ve ark, 2011).

### 2.3.2. Klinik Bulgular

Pek çok hayvanda ÜSE sonucu alt üriner sistemdeki sorunlara bağlı hematüri, pollaküri, strangüri ya da disüri, uygun olmayan yerlere idrar bırakma, inkontinens, az az ve sık idrar yapma gibi klinik bulgular gözlemlenebilir. Bazı durumlarda ise herhangi bir klinik bulgu olmaksızın ÜSE oluşabilir. Örneğin köpeklerdeki ÜSE'nin % 80'inde belirgin klinik bulgu gözlenmeyebileceği belirtilmektedir (Weese ve ark, 2011).

### 2.3.3. Tanı

**Hematoloji ve serum biyokimyası:** Alt üriner sistemde sınırlı kalan enfeksiyonlar için tam kan sayımı ve rutin serum biyokimyası genellikle normaldir (Weese ve ark 2011).

**İdrar analizi:** İdrar dansitesi: Alt üriner sistemde sınırlı kalan enfeksiyonlarda idrar konsantrasyonu genellikle artmaktadır (Weese ve ark, 2011).

Piyelonefrit veya bakteriyel endotoksinlerin sistemik alınımı sonucu antidiüretik hormon yanıtının bozulması sonucu idrar dansitesi azalabilmektedir. *E.coli* nedeniyle oluşan ÜSE'lerde idrar dansitesi 1025'ten az Stafilokok ve Streptokoklarda ise dansite 1025'ten fazladır (Weese ve ark, 2011).

İdrar analizlerinde hematüri, piyuri, proteinüri ve bakteriüri sıklıkla belirlenebilmektedir. *E. coli* pyuriye neden olurken hematüri oluşturmamaktadır. Streptokoklar ise hematüri ile ilişkilendirilmektedir (Weese ve ark 2011).

**Pyuri:** Pyuri idrar örneği içerisinde lökosit kümeleri ve bakterilerin bulunması sonucu oluşmaktadır. İdrar analizi için geliştirilen dipstickler kedi ve köpek idrarlarındaki nötrofilleri tanımadığı için yanlış negatif ya da yanlış pozitif sonuçlar çıkabilmektedir. Bu anlamda pyurinin tanımlanabilmesi için idrar sedimentinin mikroskopik olarak incelenmesi gerekmektedir (Chew ve ark, 2011).

**İdrar pH'sı:** *S. aureus* ve *Proteus* spp. gibi üreaz üreten bakteriler idrar pH'sının alkali olmasına neden olabilmektedir. Fakat pek çok ÜSE 'de idrar asidiktir (Chew ve ark, 2011).

**İdrar sedimenti:** İdrar sedimentinde bakteri kümelerinin görülmemesi bakteriüri olmadığı anlamına gelmemektedir (Yanlış negatif). Benzer şekilde bazı artefaktlar nedeniyle bakteriye benzer yapılar yanlış yorumlanarak yanlış pozitif sonuçlar da elde edilebilir (Chew ve ark, 2011).

**İdrarın doğrudan muayenesi:** Lam üzerine bir damla idrar damlatılarak kuruduktan sonra gram boyama uygulanır ve 1000'lik büyütmede incelenir. İnceleme alanında 2 veya daha fazla bakterinin belirlenmesi bakteriüri olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntemin ÜSE tanısı için oldukça spesifik olduğu belirtilmektedir. İdrar sedimentinin Wright boyası ile boyanarak incelenmesinde ise 1000'lik büyütmede incelenen 20 saha sonucunda bakteri sayısına göre daha hassas sonuçlar elde edilebilmektedir (Chew ve ark, 2011).

**İdrar kültürü:** İdrar kültürü için örneğin tercihen sistosentez yoluyla ya da kataterizasyonla edinilmesi gerektiği normal akım idrar alınımının kültür için uygun olmadığı belirtilmektedir.

Elde edilen idrarın yaklaşık 15 dakika içerisinde kanlı agar ya da MacConkey Agara ekilebileceği ve pek çok bakterinin 37 °C'de 18-24 saat içinde üreyebileceği bildirilmektedir. Rutin kanlı agarda *Mycoplasma*'nın inokulasyon sonrası 3 gün, *Corynebacterium*'un ise 4 gün içinde üreyebileceği belirtilmektedir. Üremenin belirlendiği durumlarda ise izole edilen bakterilerin tanımlanması ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi gerekmektedir (Weese ve ark, 2011).

ÜSE'nin % 75'i tek bir bakteri tarafından oluşturulmakta ve büyük bakteriyel üremeler gözlenebilmektedir. Sistosentez ile alınan örneklerde  $\geq 10^3$  CFU/ml anlamlı kabul edilirken, katater uygulamasıyla alınan örneklerde erkekler için  $\geq 10^4$  CFU/ml dişilerde ise  $\geq 10^5$  CFU/ml önemli kabul edilmekte, serbest alım idrarda ise  $\geq 10^5$  CFU/ml anlamlı görülmektedir. Serbest alım idrarda kontaminasyon riski oldukça fazla olduğu için pozitif sonuçların mutlaka sistosentezle kontrol edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Weese ve ark, 2011). Köpeklerde ÜSE'de sık karşılaşılan etkenler ve genel özellikleri Tablo 3'de belirtilmiştir.

**Tablo 3.** Köpeklerde ÜSE'de sık karşılaşılan etkenler ve genel özellikleri (Chew ve ark 2011)

Tür	Koloni tipleri			Testler		
	Prevalans	Kanlı agar	MacConkey	Gram	Oksidaz	Katalaz
<i>E. coli</i>	42-46	Düz hemolitik gri;	Kırmızı ile çevrili, kırmızı diskrit	Negatif çomak	Negatif	NA
<i>Enterococcus</i>	11-14	Oldukça küçük (<1 mm)	Üreme yok	Pozitif kok	NA	Negatif
<i>Staphylococcus</i>	12	Beyaz; hemolitik	Üreme yok	Pozitif kok	NA	Pozitif
<i>Proteus</i>	6-12	Koloni	Renksiz	Negatif çomak	Negatif	NA
<i>Klebsiella</i>	8-12	Büyük, beyaz-gri mukoid	Pembe	Negatif çomak	Negatif	NA
<i>Pseudomonas</i>	<5	Gri ve yeşil-gri, amonyak kokulu	Renksiz, yeşil pigment ile çevrili	Negatif çomak	Pozitif	NA

### 2.3.4. Tedavi

Üriner sistem enfeksiyonlarının köpeklerde antibiyotiklerin en sık fazla ya da yanlış kullanım bulunduğu alanlardan olduğu belirtilmektedir. Antibiyotiklerin uygun olmayan kullanımı hasta sağlığını ya da toplum sağlığını olumsuz olarak etkileyebilmekte ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. İnsan hekimliğinde antibiyotik kullanımını sınırlayan Amerika Enfeksiyöz Hastalıklar Birliği tarafından oluşturulmuş kılavuzlar hekimlerin ÜSE dahil olmak üzere çeşitli enfeksiyöz hastalıklarda kullanabileceği antibiyotikleri belirlemektedir. Bu anlamda veteriner hekimlikte de çeşitli kılavuzlarla antibiyotik kullanımına yönelik öneriler bulunmaktadır. Uygun olmayan antibiyotiklerin yetersiz süre ile kullanılması sonucu

enfeksiyon etkenlerinde antibiyotiklere karşı direnç gelişebilmekte ve bu durum tedavi olanaklarını sınırlandırabilmektedir (Weese ve ark, 2011).

Antibiyotik kullanımına başlamadan önce idrar kültürü ve duyarlılık tespitinin yapılmasının uygun tedavi için mutlaka gerekli olduğu belirtilmektedir. Başlangıç tedavisine alınan klinik yanıt takip edilirken belirli dönemlerde idrar analizi ve idrar kültürünün yapılması ile tedavi sonrası enfeksiyonunun tekrarlama riski azaltılabilmektedir (Weese ve ark, 2011). Köpeklerde ÜSE’de kullanılan bazı antibiyotikler, dozları ve ulaştıkları idrar konsantrasyonları Tablo 4’de sunulmuştur.

**Tablo 4.** Köpeklerde ÜSE’de kullanılan bazı antibiyotikler, dozları ve ulaştıkları idrar konsantrasyonları (Weese ve ark, 2011).

İlaç	Doz	Ortalama İdrar Kons. (µg/mL)
Amikacin	5 mg/kg SQ TID (10 mg/kg SQ or IM BID) 15 mg/kg SID to reduce nephrotoxicity	342 ± 143
Amoxicillin	12 mg/kg PO TID	202 ± 93
Ampicillin	25 mg/kg PO TID	309 ± 55
Cephalexin	35 mg/kg PO TID	500
Chloramphenicol	35 mg/kg PO TID	124 ± 40
Doxycycline	5 mg/kg PO BID	53 ± 24
Enrofloxacin	2.5 mg/kg PO BID	≥40
Gentamicin	2.2 mg/kg SQ TID	107 ± 33
Hetacillin	25 mg/kg PO TID	300 ± 156
Kanamycin	5 mg/kg SQ TID	530 ± 151
Nitrofurantoin	4.4 mg/kg PO TID	100
Penicillin G	35,000 U/kg PO TID	295 ± 211 (U/mL)
Penicillin V	25 mg/kg PO TID	148 ± 99
Sulfisoxazole	22 mg/kg PO TID	1466 ± 832
Tetracycline	20 mg/kg PO TID	138 ± 65
Tobramycin	2.2 mg/kg SQ TID	145 ± 86
Trimethoprim-sulfonamide	12.5 mg/kg PO TID 2.5 mg/kg PO TID	246 ± 150 55 ± 19

Komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonlarında başlangıç tedavisine amoksisilin (11-15 mg/kg, PO, 8 saatte bir) veya trimethoprim-sülfonamid (15 mg/kg, PO, 8 saatte bir) ile başlanabileceği belirtilmektedir. Amoksisilin-klavulanik asit’in (12,5-25 mg/kg, PO, 8 saatte bir) ise başlangıç için kabul edilebilir bir seçenek olmasına rağmen ilk planda daha dar spektrumlu bir antibiyotik seçilmesinin uygun olacağı vurgulanmaktadır (Weese ve ark, 2011).

Kullanılacak antibiyotik türünün seçimi kadar antibiyotik kullanım süresi de etkin tedavinin sağlanabilmesi için önemlidir. Genel olarak komplike olmayan enfeksiyonlarda 7-14 gün süreli antibiyotik kullanımı gerektiği belirtilmektedir (Weese ve ark, 2011).



Anatomik veya fonksiyonel bozuklukların bulunduğu, prostatitis, üriner taş, gebelik, nörolojik bozukluklar, diabetes mellitus, immunsupresyon durumlarının eşlik ettiği ilk ya da tekrarlayan enfeksiyonlar komplike ÜSE olarak değerlendirilmektedir. Bu tip enfeksiyonlarda idrar kültürü ve duyarlılık testleri için örnekler alındıktan hemen sonra uygun bir başlangıç grubu antibiyotikle tedaviye başlanmalı test sonuçlarına göre gerekli olursa antibiyotik değiştirilmelidir. Birden fazla etkenin dahil olduğu enfeksiyonlarda her etken için duyarlılıkların belirlenmesinin oldukça önemli olduğu belirtilmektedir. Tedavi süresince 5-7 gün aralıklarla idrar kültürü ve duyarlılık testlerine devam edilmesi gerektiği enfeksiyon etkenleri ortadan kalkmadan tedavinin sonlandırılmaması önerilmektedir (Weese ve ark, 2011).

Komplike ÜSE’de uygun bir tedavinin yaklaşık 4 hafta boyunca sürdürülmesi önerilmektedir. Enfeksiyonun etkin tedavisi için altta yatan ve eşlik eden diğer problemler de ortadan kaldırılmalıdır (Weese ve ark, 2011).

## 3. GEREÇ ve YÖNTEM

### 3.1. Gereç

#### 3.1.1 İdrar Örnekleri

Araştırmamız için Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesine muayene için getirilmiş olan, muayene sonucu üriner sistem infeksiyonuna sahip olabileceği şüphesi taşıyan hasta ve sağlıklı köpeklerden sistosentez yolu ile 10 ml hacimde olmak üzere 100 adet idrar numunesi alınmıştır. Alınan numuneler, zaman kaybedilmeden Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına buz aküsü içeren izolasyonlu kutu içerisinde getirilmiştir. Araştırmanın yapılmasında Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (ADÜ-HADYEK)'nun 14.08.2015 tarih ve 64583101/2015/103 sayılı kararı ile herhangi bir sakınca görülmemiştir.

### 3.2. İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmaları

#### 3.2.1. Besiyerleri

Örneklerin izolasyon ve identifikasyon çalışmalarında, Brain Heart Infusion Agar (Oxoid®), Brain Heart Infusion Broth (Oxoid), Kanlı Agar, Müller Hinton Agar (Oxoid®) ve Enterocococel Agar (Difco®) besi yerleri kullanıldı. Üretici firmalarının önerileri doğrultusunda hazırlanan besi yerleri sterilite kontrolü yapılarak (bir gece 37 °C'de bekletildikten sonra) kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklandı.

##### 3.2.1.1. Brain Heart Infusion Agar

Brain Heart Infusion Agar (OXOID)

Beyin Ekstraktı 12.5 g

Kalp Ekstraktı 5.0 g

Pepton 10.0 g

D (+) glikoz 2.0 g

Sodyum Klorür 5.0 g

Di Sodyum Fosfat 2.5 g

Agar 10.0 g

Toplam: 37 g/L

Ticari besiyeri 1 L. distile suya ilave edilip eritildi. pH değeri  $7.4 \pm 0.2$  'ye ayarlandı.

121°C'de 15 dk. otoklavda sterilize edildi ve steril petri kutularına döküldü.

### **3.2.1.2. Brain Heart Infusion Broth**

Brain Heart Infusion Broth (OXOID)

Beyin Ekstraktı 12.5 g

Kalp Ekstraktı 5.0 g

Pepton 10.0 g

D (+) glikoz 2.0 g

Sodyum Klorür 5.0 g

Di Sodyum Fosfat 2.5 g

Toplam: 37 g/L.

Ticari besiyeri 1 L. distile suya ilave edilip eritildi. pH değeri  $7.4 \pm 0.2$  'ye ayarlandı.

121 °C'de 15 dk. otoklavda sterilize edildi ve steril petri kutularına döküldü.

### **3.2.1.3. Enterococcosel Agar**

Enterococcosel Agar ( Bile Esculin Azide Agar ) ( DİFCO )

Pankreatik Kazein 17.0 g

Hayvansal Pepton 3.0 g

Maya Ekstraktı 5.0 g

Oxgall 10.0 g

Sodyum Klorür 5.0 g

Sodyum Sitrat 1.0 g

Eskulin 1.0 g

Demir (III) Amonyum Sitrat 0.5 g

Sodyum Azid 0.25 g

Agar 13.5 g

Toplam : 56 g/L.

Ticari besiyerine 1 L. distile su ilave edilip eritildi. Ph değeri  $7.2 \pm 0.2$  ' ye ayarlandı.

Otoklavda 121 °C 'de 15 dk. sterilize edildi ve steril petri kutularına döküldü.

### 3.2.1.4. Müller Hinton Agar

Müller-Hinton Broth (Oxoid, UK)

Et ekstraktı 30 g

Kazein hidrolizat 17.5 g

Nişasta 1.5 g

pH  $7.3 \pm 0.1$  (sterilizasyondan önce) ayarlandı. 38 gram toz besiyeri 1 L. saf su ile karıştırıldı ve 121 °C otoklavda 15 dakika sterilize edildi.

### 3.3. PCR Gereçleri

#### 3.3.1. Solusyonlar

##### 3.3.1.1. TBE (Tris, Borik Asit, EDTA, pH:8.0) Buffer

###### *10X TBE Stok Solusyonu*

Tris Base	121,1 g
Borik Asit	61,83 g
EDTA	5,84 g

Distile su ile hacim 1000 ml'ye tamamlanarak 121 °C'de 15 dk otoklav edilip, pH 8.0 ayarlanarak buzdolabında saklanmıştır.

###### *0,5X TBE Kullanma Solusyonu*

10X TBE	50 ml
Distile su	950 ml

Karıştırılarak solusyon hazırlanmıştır.

##### 3.3.1.2. Gel Loading Buffer (6X)

Bromfenol Mavisi	25 mg
Sükroz	4 g
H <sub>2</sub> O	10 ml

Karıştırılarak solusyon hazırlanmıştır.

### 3.3.1.3. Tris (1M)

Tris Base	121 g
-----------	-------

Tris Base 800 ml distile suda eritilip, yaklaşık olarak 60 ml HCl asit ilave edilerek pH: 7.6'ya ayarlanarak karışım 1000 ml'ye tamamlanmıştır. 121 °C'de 15 dk otoklav edilmiştir.

### 3.3.1.4. NaCl (1M)

NaCl	58,44 g
Distile Su	800 ml

NaCl distile suda çözüldükten sonra son hacim 1000 ml' ye tamamlanmıştır.

### 3.3.1.5. TE Buffer (10mM tris+ 1mM EDTA)

Tris (1M)	10 ml
EDTA(0,5 M)	2 ml

Karıştırıldıktan sonra karışım 1000 ml distile su ile tamamlanmıştır.

### 3.3.1.6. MgCl<sub>2</sub>, Taq DNA Polymerase, 10X Taq Buffer, dNTP Set

25 mM MgCl<sub>2</sub>, Taq DNA polimeraz (5U), 10X Taq Buffer 1 (100 mM (Tris-HCl, pH 8,3, 500 mM KCl), 10X Taq Buffer 2 ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> -MgCl<sub>2</sub>) 100mM deoksinükleotid trifosfat (dNTP) set (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermentas) kullanılmıştır.

### 3.3.2. Primerler

Araştırılan genlerin belirlenmesinde kullanılan primerler Tablo 5'de gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Kullanılan primer dizileri, amplicon uzunlukları, hedef genleri

Primer	Hedef Gen	Primer Sekansları (5'-3')	Amplicon uzunluğu (bp)	Kaynak
<i>Enterococcus</i> sp.	<i>tuf</i>	TACTGACAAACCATTTCATGATG AACTTCGTCACCAACGCGAAC	112	Ke ve ark 1999
<i>E. faecium</i>	<i>ddl<sub>E.faecium</sub></i>	F: TAGAGACATTGAATATGCC R: TCGAATGTGCTACAATC	550	Dutka-Malen ve ark 1995
<i>E. faecalis</i>	<i>ddl<sub>E.faecalis</sub></i>	F: ATCAAGTACAGTTAGTCT R: ACGATTCAAAGCTAACTG	941	Dutka-Malen ve ark 1995
Vankomisin direnci	<i>vanA</i>	F: GGGAAAACGACAATTGC R: GTACAATGCGGCCGTTA	732	Dutka-Malen ve ark 1995
Vankomisin direnci	<i>vanB</i>	F: ACCTACCCTGTCTTTGTGAA R: AATGTCTGCTGGAACGATA	300	Dutka-Malen ve ark 1995

### 3.3.3. Bakteri izolatları

Çalışmada incelenen 100 idrar örneğinden izole edilen 22 adet *E. faecium* suşu test edilmiştir.

### 3.3.4. Referans suşlar

Moleküler teşhiste, biyokimyasal testlerde ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinde kalite kontrol amacıyla *E. faecalis* ATCC® 29212, *E. faecalis* ATCC® 51299 ve *E. faecium* ATCC® 19434 referans suşları kullanıldı.

### 3.3.5. Termal Döngüleme Cihazı

PCR amplifikasyonu 25 örnek kapasiteli Eppendorf® Master Cycler kademeli termal döngüleme cihazında gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.6. Elektroforez Cihazı

Elektroforez işlemi Biorad marka elektroforez tankında, görüntüleme işlemi VilberLourmat marka görüntüleme cihazında gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.7. Agaroz Jel

Agaroz (Sigma)	2 g
TBE (0,5X)	100 ml

Buffer, şişe içerisindeki agarozun üzerine ilave edilip, karıştırılmış ve mikrodalga fırında yaklaşık 3-5 dk kaynatılan karışım, 40-50 °C'ye kadar soğutulmuştur. Halen sıvı halde olan karışım, jel kalıbının içerisine yavaşça, kabarcık bırakmayacak şekilde dökülmüş ve içerisine yükleme kuyucuklarını oluşturacak olan taraklar yerleştirilerek, 15-20 dakika oda ısısında soğumaya bırakılmıştır. Soğutulan jel, kalıptan çıkarılarak, elektroforez tankına dikkatlice yerleştirilmiştir.

### 3.3.8. Etidium Bromür

Görüntüleme için elektroforez işleminden önce 5 µl etidium bromid %2'lik agaroz jel içerisine eklendi.

### 3.3.9. Antibiyogram Test Kiti

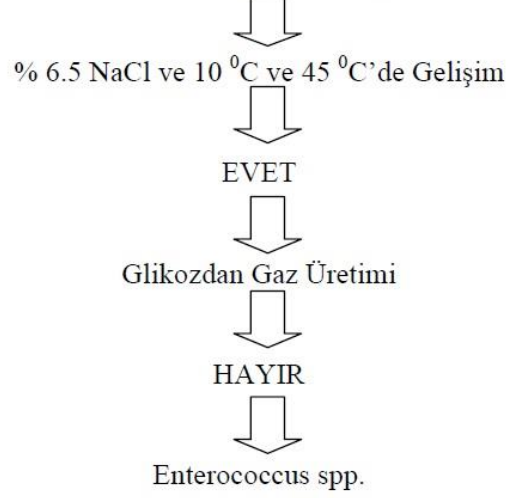
Araştırmamızda izole edilen *E. faecium* türlerinin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için E-Test yöntemi kullanılmıştır. Oxoid® firmasından temin edilen Tetrasiklin, Tigesiklin, Klindamisin, Seftriakson ve Ampisilin E-test stripleri antibiyogram için kullanılmıştır.

## 3.4. Yöntem

### 3.4.1. Enterokokların İzolasyon ve İdentifikasyonu

Örnekler kanlı agar ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreyen kolonilere gram boyama yapılarak Gram pozitif kok olanlara katalaz testi uygulandı. Katalaz testi negatif olanlar *Streptococcus* spp. olarak nitelendirilip enterokok tanımı yapılması için 'safra esculin agar'a (Enterocococel Agar) ekildi. 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreyen siyah koloniler seçilerek 'brain heart infusion agar' besi yerine pasajları yapıldı. İzole edilen enterokok şüpheli izolatlara oksidaz testi, PYR testi, % 6.5'luk NaCl'de üreme testi uygulanarak *Enterococcus* spp. olarak cins düzeyinde tanımlandı (Şekil 9).

Gram Pozitif, Katalaz Negatif, Kok Şekli İzolatlar



Şekil 9. *Enterococcus* spp.'nin tanımlanması (Klein, 2003)

### 3.4.2. Katalaz Testi

Kanlı agar besi yerinde üretilmiş 24 saatlik saf bakteri kültüründen 3-5 koloni öze ile lam üzerine konuldu. Lam üzerine bir damla % 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrojen peroksit) konuldu. Hava kabarcıkları oluşturmayan suşlar katalaz negatif olarak değerlendirildi ve gram pozitif, katalaz negatif kok olarak çalışmaya alındı (Winn ve ark, 2006).

### 3.4.3. Oksidaz Testi

Kanlı agar besi yerinde üretilmiş 24 saatlik saf bakteri kültüründen öze yardımıyla test kiti (Bactident Oxidase, Merck) üzerine sürüldü. Mor renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.

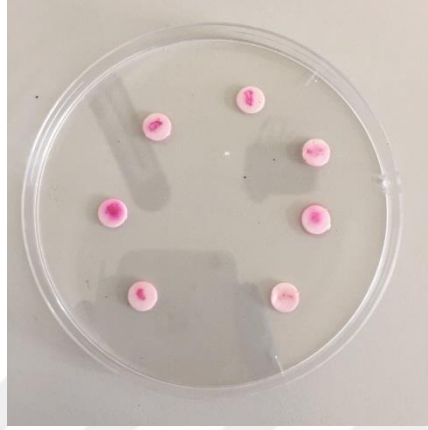
### 3.4.4. Safra Eskülin Testi

Bu test için bile-esculin-azid agar kullanıldı. Bu besiyerine kanlı agarda saf kültür olarak üreyen 24 saatlik bakteri kültüründen ekim yapıldı. Safra eskulin agarda 37 °C'de 24-48 saatlik inkubasyon sonrasında agarda üreyen ve eskülini parçalayarak siyah renk oluşturan suşlar pozitif olarak değerlendirildi (Winn ve ark, 2006).



### 3.4.5. Pyrolidonyl Arylamidase (PYR) Testi

Pyrolidonyl naphthylamid (Sigma) emdirilmiş kağıt tabaka üzerine 24 saatlik saf bakteri kültüründen bir-iki koloni konulduktan sonra bir damla PYR ayıracı (% 0.015 pdimetylaminocinnamaldehyde) damlatılarak 2 dk. inkubasyona bırakıldı. Pembe renk veren suşlar pozitif olarak değerlendirilip Şekil 10'da gösterilmiştir (Gordon ve ark,1987).



Şekil 10. PYR hidroliz testi

### 3.4.6. % 6.5 NaCl'de Üreme Testi

Kanlı agarda 24 saat üretilmiş koloniden öze ile % 6.5 NaCl (Merck) içeren brain heart infüzyon buyyonu içine ekilerek 35 °C'de 24–72 saat inkube edildi. Buyyonda üreme sonucu turbidite oluşturan suşlar pozitif olarak değerlendirildi (Bilgehan 2002).

### 3.4.7. DNA Ekstraksiyon Kiti

DNA ekstraksiyonu amacıyla birçok mikroorganizmadan yüksek kaliteli genomik DNA'nın izolasyonu için dizayn edilmiş genomik DNA ekstraksiyon kiti kullanılmıştır.

### 3.4.8. PCR Yöntemi

Araştırmada *ddl<sub>E. faecalis</sub>*, *ddl<sub>E. faecium</sub>*, *vanA* ve *vanB* primer çiftleri ile yapılan PCR için mastermiks hazırlanma oranları Tablo 6 (Ke ve ark 1999), Tablo 7 ve Tablo 8'de (Dutka-Malen ve ark 1995) belirtilmiştir.

**Tablo 6.** *Enterococcus sp.* için hazırlanan mastermiks oranları

Reaktifler	Miktar (µl)
PCR Buffer 10X KCl)	3
Taq polymerase (5 U)	0.18
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	2.5
dNTP (10 mM)	0.6
Primer- F	0.12
Primer- R	0.12
Template DNA	5
ddH <sub>2</sub> O	18.48
TOPLAM	30

**Tablo 7.** *E. faecalis* ve *E. faecium* ayrımı için hazırlanan mastermiks oranları

Reaktifler	Miktar (µl)
PCR Buffer 10X KCl)	2.5
Taq polymerase (5 U)	0.18
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	3
dNTP (10 mM)	2.5
Primer- <b>ddl</b> <i>E. faecalis</i> (100 pmol)-F	1
Primer- <b>ddl</b> <i>E. faecalis</i> (100 pmol)-R	1
Primer- <b>ddl</b> <i>E. faecium</i> (100 pmol) -F	1
Primer- <b>ddl</b> <i>E. faecium</i> (100 pmol) -R	1
Template DNA	5
ddH <sub>2</sub> O	12.6
TOPLAM	30

**Tablo 8.** Vankomisin direnci için hazırlanan mastermiks oranları

Reaktifler	Miktar (µl)
PCR Buffer 10X (+KCl)	14.8
Taq polymerase (5 U)	0.4
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	3
dNTP (10 mM)	0.8
Primer-F	0.5
Primer-R	0.5
Template DNA	5
ddH <sub>2</sub> O	14.8
TOPLAM	30

Mastermiks hazırlandıktan sonra 0,2 µL'lik tüpler, örnek adedi kadar numaralandırılıp, içlerine hazırlanan mastermiksden 25'er µl ilave edilmiştir. Daha sonra, ekstraksiyonu yapılan her bir template DNA'dan ayrı ayrı olmak üzere 5'er µl alınıp, ilgili tüplerin içlerine eklenmiş ve ağızları sıkıca kapatılmıştır. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenip, programlanmıştır. PCR analizlerinde kullanılan ısıl döngü ve süre diyagramları Tablo 9, Tablo 10 ve Tablo 11'de gösterilmiştir.

**Tablo 9.** *Enterococcus* spp. PCR koşulları (Ke ve ark 1999)

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre
Başlangıç Denatürasyon	1	95	5 dk
Denatürasyon	30	95	30 sn
Bağlanma		55	30 sn
Uzama		72	30 sn
Son Uzama	1	72	10 dk
Bekletme	1	4°C	∞ dk

**Tablo 10 .** *ddl<sub>E. faecalis</sub>* ve *ddl<sub>E. faecium</sub>* primer çiftleri ile yapılan PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı (Dutka-Malen ve ark 1995)

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
Başlangıç Denatürasyon	1	94°C	5 dk
Denatürasyon	30	94°C	1 dk
Bağlanma		52°C	1 dk
Uzama		72°C	2 dk
Son Uzama	1	72°C	5 dk
Bekletme	1	4°C	∞ dk

**Tablo 11.** Vankomisin direnci için yapılan PCR işlemine ait ısıl döngü ve süre diyagramı (Dutka-Malen ve ark 1995)

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
Başlangıç Denatürasyon	1	95°C	5 dk
Denatürasyon	35	95°C	1 sn
Bağlanma		52°C	1 sn
Uzama		72°C	30 sn
Son Uzama	1	72°C	10 dk
Bekletme	1	4°C	∞ dk

### 3.4.9. Antibiyogram

*E. faecium* izolatlarının duyarlılıklarının MİK düzeyinde saptanması için E-test yöntemi kullanıldı. Çalışmaya alınan 22 *E. faecium* suşlarının her biri ile steril serum fizyolojik

içerisinde, 0.5 Mc Farland bulanıklıkta süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan steril eküvyon ile Mueller Hinton besiyeri içeren 15 cm çapındaki 2 adet plak yüzeyine yaygın ekim yapıldı. Plaklar kuruduktan sonra tetrasiklin, tigesiklin, klindamisin, seftriakson ve ampisilin stripleri yerleştirildi. Plaklar 37°C’de, 20-24 saat inkübe edildikten sonra E-test striplerinin inhibisyon elipsleri ile kesiştiği noktalardaki MİK değerleri okunarak kaydedildi. Antibiyotikler için elde edilen MİK değerleri, CLSI (2013)’nin önerileri doğrultusunda değerlendirildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. İzolasyon Bulguları

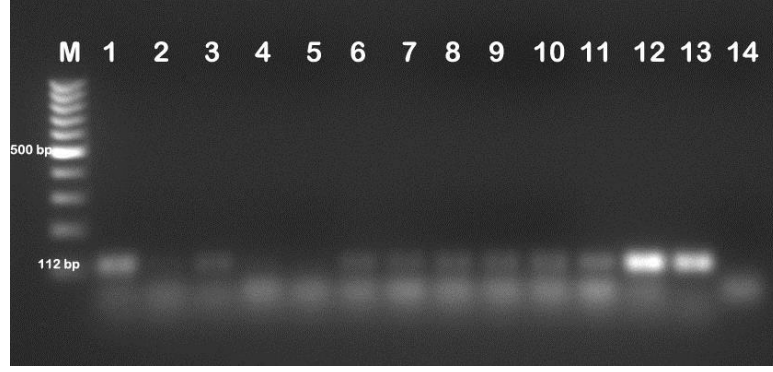
Araştırmamızda 100 adet köpekten idrar numunesi toplanmış ve Enterokok türleri açısından identifikasyona tabi tutulmuştur. Örnekler kanlı agara ekilerek 37 °C’de 24 saat inkübe edildikten sonra üreyen kolonilere gram boyama yapılmıştır. Gram pozitif kok olanlara katalaz testi uygulanmıştır. Katalaz testi negatif olanlar Enterococcel Agara ekilmiştir ve 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Enterococcel Agarda üreyen siyah koloniler seçilerek oksidaz testi, PYR testi, % 6.5’luk NaCl’de üreme testi uygulanmıştır. Bu biyokimyasal testler sonucunda 100 adet idrar numunesinden 22 (% 22) adet *Enterococcus* spp. cins düzeyinde tanımlanmıştır.

### 4.2. PCR Bulguları

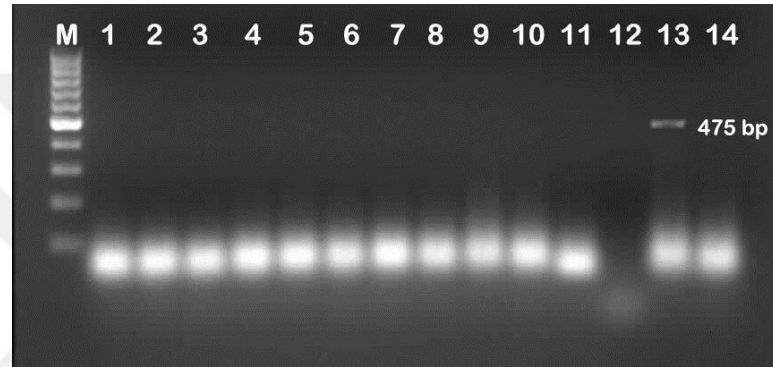
Araştırmamızda cins düzeyinde *Enterococcus* spp. olarak identifiye edilen 22 adet suşun, *ddl<sub>E. faecalis</sub>* ve *ddl<sub>E. faecium</sub>* primer çiftleri ile yapılan PCR işlemi sonucunda 22 (% 100) adedi *E. faecium* olarak identifiye edilmiştir. Vankomisin direncinin belirlenmesi için yapılan PCR sonucu 10 (% 45) adet *E. faecium* suşunda *vanB* gen varlığı sonucu vankomisin direncine rastlanmıştır. Enterokokların tür bazında identifikasyon oranları Tablo 12’de gösterilmiştir. *E. faecium* suşlarına ait elektroforez görüntüsü Şekil 3.1.’de gösterilmiştir.

**Tablo 12.** Enterokokların tür bazında identifikasyon oranları

Suş (n: )	İdentifikasyon Sayısı	İdentifikasyon Oranı
<i>E. faecalis</i>	-	-
<i>E. faecium</i>	22	100



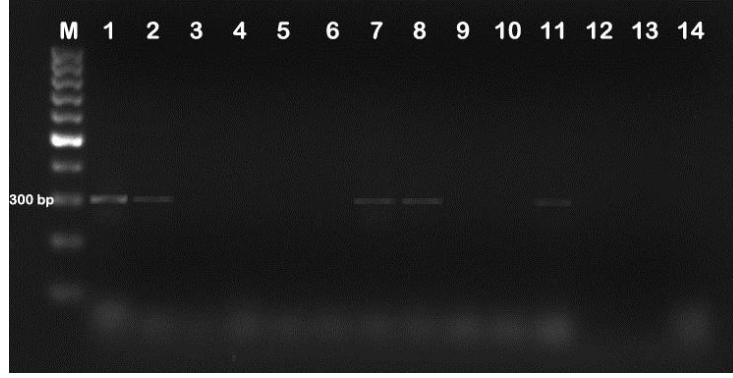
**Şekil 11.** *Enterococcus* sp. için elektroforez görüntüsü M:100 bp DNA ladder, 1-11: *Enterococcus* sp. pozitif örnekler, 12: *E. faecalis* ATCC 29212 pozitif kontrol, 13: *E. faecium* ATCC 19434 pozitif kontrol, 14: Negatif Kontrol



**Şekil 12.** *E. faecalis* için elektroforez görüntüsü M:100 bp DNA ladder, 1-11: *E. faecalis* negatif örnekler, 12: Negatif Kontrol, 13: *E. faecalis* ATCC 29212 pozitif kontrol, 14: *E. faecium* ATCC 19434 pozitif kontrol



**Şekil 13.** *E. faecium* için elektroforez görüntüsü M:100 bp DNA ladder, 1-11: *E. faecium* pozitif örnekler, 12: *E. faecalis* ATCC 29212 pozitif kontrol, 13: Negatif Kontrol, 14: *E. faecium* ATCC 19434 pozitif kontrol



**Şekil 14.** Vankomisin direnci için elektroforez görüntüsü M:100 bp DNA ladder, 1-2-7-8-11: *vanB* pozitif örnekler, 3-4-5-6-9-10-12: *vanB* negatif örnekler 12: *E. faecalis* ATCC 29212 pozitif kontrol, 13: *E. faecium* ATCC 19434 pozitif kontrol, 14: Negatif Kontrol

### 4.3. Antibiyogram Bulguları

Örneklerin izolasyon ve identifikasyon çalışmalarında, Brain Heart Infusion Agar (Oxoid®), Brain Heart Infusion Broth (Oxoid), Kanlı Agar, Müller Hinton Agar (Oxoid®) ve Enterocococel Agar (Difco®) besi yerleri kullanıldı. Üretici firmalarının önerileri doğrultusunda hazırlanan besi yerleri sterilite kontrolü yapılarak (bir gece 37 °C’de bekletildikten sonra) kullanılmaya kadar +4 °C’de buzdolabında saklandı. *E. faecium* izolatlarının duyarlılıklarının MİK düzeyinde saptanması için E-test yöntemi kullanıldı. Çalışmaya alınan 22 *E. faecium* suşlarının her biri ile steril serum fizyolojik içerisinde, 0.5 Mc Farland bulanıklıkta süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan steril eküvyon ile Mueller Hinton besiyeri içeren 15 cm çapındaki 2 adet plak yüzeyine yaygın ekim yapıldı. Plaklar kurduktan sonra tetrasiklin, tigesiklin, klindamisin, seftriakson ve ampisilin stripleri yerleştirildi. Plaklar 37°C’de, 20-24 saat inkübe edildikten sonra E-test striplerinin inhibisyon elipsleri ile kesiştiği noktadaki MİK değerleri okunarak kaydedildi. Antibiyotiklerin MİK aralıkları ve *E. faecium* suşlarının MİK sonuçlarına göre dirençlilik sonuçları Tablo 13 ve Tablo 14’de gösterilmiştir.

**Tablo 13.** Antibiyotiklerin MİK aralıkları (CLSI, 2013)

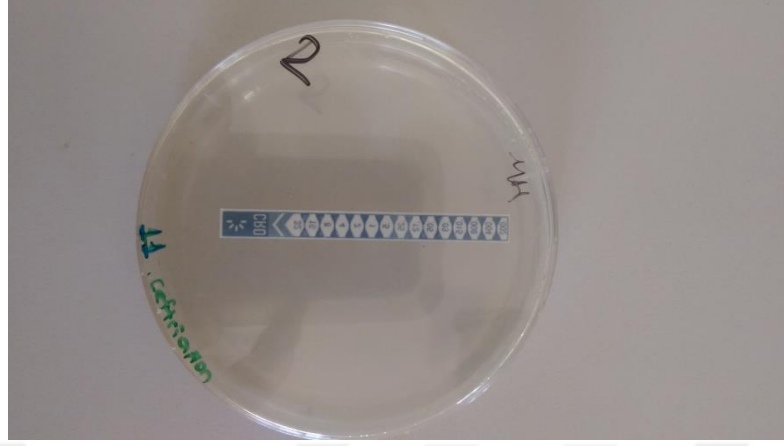
Antibiyotik	MİK Aralıkları	MİK standartları (µg/mL)		
		S	I	R
Ampisilin	256–0.015	≤0.25	-	≥0.5
Tetrasiklin	256–0.015	≤4	8	≥16
Tigesiklin	256–0.015	≤0.03	-	≥0.12
Klindamisin	256–0.015	≤0.5	1-2	≥4
Seftriakson	32–0.002	≤8	16-32	≥64

**Tablo 14.** *E. faecium* suşlarının MİK sonuçlarına göre dirençlilik sonuçları

Antibiyotik	MİK Aralıkları	MİK Değeri	MİK <sub>50</sub>	MİK <sub>90</sub>	Direnç (%)
<b>Ampisilin</b>	256–0.015	4-0.12	0.5	1	<b>100</b>
<b>Tetrasiklin</b>	256–0.015	128-2	16	128	<b>100</b>
<b>Tigesiklin</b>	256–0.015	16-0.12	2	4	<b>100</b>
<b>Klindamisin</b>	256–0.015	32-0.06	16	32	<b>100</b>
<b>Seftriakson</b>	32–0.002	128-2	128	128	<b>100</b>



Antibiogram sonuçlarına göre *E. faecium* izolatları tigesiklin, ampisilin, tetrasiklin, klindamisin seftriaksona karşı % 100 oranında dirençli olarak saptanmıştır.



Şekil 15. E-test antibiyogram uygulanması

## 5. TARTIŞMA

Enteroklar, gastrointestinal sistemde yüksek oranda bulunmalarına rağmen ürogenital sistemlerde, deri, oral kavite, alt solunum yolu ve daha az sayıda normal florada olarak bulunmaktadır (Huycke ve ark, 1998). Düşük virulenli olsa bile konağın vücut direncinin düşmesi ile birlikte fırsatçı patojenler ortaya çıkarak menenjit, endokardit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları sıklıkla olmakla birlikte sıklıkla idrar yolu enfeksiyonlarına sebebiyet vermektedir (Schouten ve ark, 1999; Ustaçelebi ve ark, 1999; Devriese ve ark, 2006).

Enterokoklar, değişen sıcaklık, pH ve hatta bazı bakterisidal etkenlerin varlığında da canlı kalabilmektedirler. Enterokokların özellikle hastane kökenli enfeksiyonlardaki önemleri gittikçe artmakta, bazı olgularda hastane kökenli bakteriyemilerden sorumlu olabilmektedirler (Lautenbach ve ark, 199; Patterson 2000). Birçok ülkede astone kökenli enfeksiyon etkenleri arasında Enterokokların ikinci sırada yer alabildiği bilinmektedir. Klinik numunelerden izole edilen Enterokokların % 85-95'i *E. faecalis* iken, % 5-10'unu ise *E. faecium* olduğu belirtilmektedir (Teixeria ve ark, 2003).

Özseven ve ark., (2011) idrar örneklerinden izole ettikleri 124 enterokok suşunun 60 (%48)'inin *E. faecalis* ve 61 (%49)'inin de *E. faecium* olduğunu; Baylan ve ark., (2011) yaptıkları çalışmada alınan idrar örneklerinden izole ettikleri toplam 91 enterokok izolatatının 59 (%64.8)'unun *E. faecalis*, 31 (%34.1)'inin ise *E. faecium* olarak tanımladığını; Vural ve ark., (2014) ise idrar örneklerinden izole edilen 187 enterokok suşunun 103 (%55.1)'ünü *E. faecalis*, 74 (%39.5)'ünü de *E. faecium* olarak belirlediklerini ifade etmişlerdir.

Yazgı ve ark., (2003), inceledikleri 116 enterokok suşunun 67 (% 57.7)'sini *E. faecalis*, 45 (% 38.8)'ini de *E. faecium*, olarak tanımladıklarını; Kaçmaz ve ark., (2003) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 62 enterokok suşunun 20 (%74)'sini *E. faecalis* ve 5 (%19)'ini de *E. faecium* olarak belirlediklerini; Ergin ve ark., (2013) ise idrar örneklerinden izole ettikleri 47 enterokok kültürünün 21 (% 44.7)'inden *E. faecalis* ve 18 (% 38.3)'inden de *E. faecium* tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, köpeklerden alındıktan sonra incelenen 100 adet idrar örneğinden toplam 22 (% 22) adet *Enterococcus* spp. izole ve tanımlanmıştır. İzolatların multipleks PCR tekniği ile tür spesifik primerler kullanılarak yapılan tanımlamalarında idrar orijinli Enterokok suşlarının daha önceki yapılan çalışmalardan daha düşük oranla olmakla birlikte 22 (% 100) adedi *E. faecium* olarak tanımlanırken; izolatlarda *E. faecalis*'e rastlanmamıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda (Kaçmaz ve ark, 2003; Yazgı ve ark, 2003; Baylan ve ark, 2011; Özseven ve ark, 2011; Ergin ve ark, 2013; Vural ve ark, 2014), *E. faecalis*'in izolasyon oranı % 44-74, *E. faecium*'un izolasyon oranı ise %19-49 arasında değiştiği görülmektedir. Bu çalışmada idrar orijinli Enterokok suşlarının tamamında *E. faecium* belirlenmiştir. Bu durumun köpek sahibi olan insanlar için risk teşkil edebileceği ortaya konulmuştur.

Enterokok suşlarının büyük bir kısmının Gram pozitif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antimikrobik ajanlara karşı doğal dirençli olduğu belirtilmektedir (Güçkan ve ark, 2013). Penisilinler, sefalosporinler, kinolonlar ve düşük düzeyde aminoglikozidler gibi çok sayıda antibiyotiğe doğal direnç göstermelerinin yanı sıra Enterokokların yeni mekanizmalarla antibiyotik direnci oluşturduğu ve bu direnci plazmidler aracılığıyla aktarabildiği tespit edilmiştir (Moellering, 2000). Araştırmamızda da seftriaksona bütün suşların dirençli olduğu, ayrıca klindamisine karşı %82 oranında direnç geliştiği ve bu durumun üriner sistem enfeksiyonlarında göz önünde bulundurulması gerektiği ortaya konulmuştur.

Vankomisin'in enterokoklara karşı kullanılabilir en etkili antibiyotik olduğunu bildiren pek çok çalışmaya karşın vankomisin dirençli suşların sayısındaki artışın oldukça önemli olduğu belirtilmektedir. Bu kapsamda vankomisin dirençli enterokoklar (VRE) pek çok enfeksiyonda etken olarak belirlenebilmektedir. Vankomisin, bakterilerde hücre duvarı sentezini sağlayan peptidoglikan prekürsörlerini transglükolizasyon aşamasını bloke ederek engeller, böylece transpeptidasyon aşaması da engellenmiş olur. VanA, vanB, vanC, vanD, vanE, and vanG olmak üzere çoklu vankomisin dirençli fenotipler bulunmaktadır. Klinik olarak en önemli suşlar vanA ve vanB dirençli suşlardır. VanA genine sahip suşlar vankomisin ve teikoplanine yüksek düzeyde direnç gösterir, vanB genine sahip suşlar ise sadece vankomisine direnç göstermektedir (Güçkan ve ark, 2013). *E. faecalis*'in en sık izole edilen Enterokok türü olması yanında en yüksek oranda vankomisin direnci *E. faecium*'da rapor edilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa merkezli hastane kökenli enfeksiyonlardan elde edilen *E. faecium* izolatlarının %50'sinde vankomisin direnci belirlenmiştir (Sümerkan, 2001).

Türkiye'de ilk glikopeptid grubu antibiyotiklere dirençli *E. faecium* suşu Vural ve ark, (1999) tarafından Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde bildirilmiştir. Devam eden yıllarda klinik örneklerden izole edilen enterokoklarda gerçekleştirilen çalışmalarda suşların neredeyse tamamının vankomisine duyarlı olduğu belirlenmiştir (Baykan, 2001; Mete ve Kaleli, 2006; Kalaycı ve ark, 2011; Güçkan ve ark, 2013).

Çalışmamızda *vanA* ve *vanB* primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışması sonucunda izole edilen *E. faecium* suşlarında *vanB* direncine sahip olan 10 (% 45) *E. faecium* suşu saptanmıştır. E-test sonucunda ise *E. faecium* izolatları tigesiklin, ampisilin, tetrasiklin, klindamisin seftriaksona karşı % 100 oranında dirençli olarak saptanmıştır.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmamızda Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç Hastalıkları ve Cerrahi kliniklerine getirilen dişi ve erkek köpeklerden sistosentez yoluyla elde edilmiş olan 100 adet idrar numunesinden 22 adet *E. faecium* enterokok suşu izole ve identifiye edilmiştir. Bu suşların, 10 (% 45) adedinde ise *vanB* direnç geni tespit edilmiştir.

Enterokoklar virulensi düşük bakteriler olmakla birlikte birçok antibiyotiklere karşı doğal ya da kazanılmış dirence sahip olmaları nedeniyle özellikle son yıllarda hastane enfeksiyon etkenleri arasında önemli yere sahiptir. Diğer ülkelerde olduğu gibi Türkiye'de de antibiyotiklerin yaygın ve kontrolsüz kullanımı, dirençli bakteri suşlarının artmasına neden olmaktadır. Ülkemizde gerçekleştirilen çeşitli çalışmalarla özellikle klinik örneklerden izole edilen bakterilerde antibiyotiklere karşı direncin artışı ortaya konulmaktadır. 1980'li yıllardan sonra antibiyotiklere karşı çeşitli tiplerde direnç mekanizmaları geliştiren ve tedavide mevcut antibiyotik kullanımını sınırlayan enterokok enfeksiyonlarında antibiyotik direncinin genetiği sıklıkla araştırılmıştır. Çoklu dirence sahip enterokokların direnç genini taşıyan plazmidleri streptokok ve stafilokoklara aktarmaları yoluyla vankomisin ve penisilin direnç özelliklerini iletebilmeleri ve bu enfeksiyonların hızla yayılma olasılığı yüksek risk taşımaktadır. Bu anlamda hazırlayıcı etkenlerin ve risk faktörlerinin, direnç tarama ve saptama yöntemleri ile korunma yollarının belirlenmesi oldukça önemlidir.

Tıp Hekimliğinde hastane enfeksiyonlarında önemli yeri olan olan enterokokların Veteriner Hekimlik'te yeterince değerlendirilmemesinin nedeni yoğun bakım ünitelerinin eksikliğinden kaynaklanabilmektedir. Fakat köpeklerin insanlarla yakın temas halinde bulunabilmesinin özellikle Enterokok taşıyıcılığı bakımından önemli risk oluşturduğu, muayene ve laboratuvar analizlerde bu durumun göz önüne alınması gerekliliği ortaya konulmuştur.

Antibiyotik dirençlilikleri ele alındığında çalışmamızda elde edilen bulgulara göre kullanılan antibiyotiklerin tümüne % 100 oranında direnç saptanması, üriner sistem enfeksiyonlarında laboratuvar muayeneleri gerçekleştirilmeden yoğun ve kontrolsüz antibiyotik kullanımı sonucu tam dirençli suşların ortaya çıkabileceği, bu nedenle enterokok kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının kronik seyredebileceği kanısına varılmıştır. Enterokokların çoklu ilaç dirençlilikleri ile ilgili Veteriner Hekimlik'te daha fazla çalışma

yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Araştırmamızın elde edilen bulgulara göre ileride gerçekleştirilecek çalışmalara kaynak oluşturabilecek nitelikte olduğu düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- Aarestrup FM, Agerso Y, Gerner–Smidt P, Madsen M, Jensen LB.** Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2000; (37):127–137.
- Aguş N, Sarıca A, Özkalay N, Cengiz A.** Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik direnci, *ANKEM Derg* 2006, 20, 3, 145-147.
- Ağalar C.** Toplum Kökenli Enfeksiyonların Tedavisi: Üriner sistem enfeksiyonları, EKMUD Bilimsel Platformu 2006, 91-4.
- Aktaş G, Derbentli Ş.** Vankomisine dirençli Enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal Of Infection)* 2009; 23 (4): 201-209,
- Altun D, Erdem G, Çöplü N, Çağatay M.** Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının tür düzeyinde tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının çeşitli yöntemlerle araştırılması. *ANKEM Derg* 2013, 27, 3, 130-134.
- Andrews F, Horder TA.** Study of streptococci pathogenic for man. *Lancet* 1906, 2, 708-713.
- Anonim Enterokoklar Genel Bilgi. <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210011701.pdf>  
Erişim Tarihi: 15.04.2015.
- Aral M, Paköz NİE, Aral İ, Doğan S.** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarının antibiyotik direnci, *Türk Hij Der Biyol Derg* 2011, 68, 2, 85-92.
- Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N ve Akay Ö.** Özel Mikrobiyoloji Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar Ders Kitabı. Medisan yayınları 1997,No:26. Ankara.
- Arda M.** Temel Mikrobiyoloji, 3. Baskı, 80-102, Medisan Yayınları 2006, Ankara.
- Barisic Z, Punda-Polic V.** Antibiotic resistance among enterococcal strains isolated from clinical specimens, *Int J Antimicrob Agents* 2000, 16, 1, 65-68.
- Barrie PS, Christou NV, Patchen DE.** Patogenicity of the enterococcus in surgical infections. *Annals of Surgery* 1990, 212, 155-159.
- Başustaoğlu A, Aydoğan H.** Enterokoklar, *İnf Hast Serisi* 2002, 5, 2, 45-60.
- Baykan M.** İdrar örneklerinden izole edilen enterokokların *in vitro* antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *Genel Tıp Derg* 2001, 11, 3, 119-121.
- Baykan M.** İdrar örneklerinden izole edilen enterokokların *in vitro* antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *Genel Tıp Derg.* 2001; 11, 3, 119-121.

- Baylan O, Nazik H, Bektöre B, Çitil BE, Turan D, Öngen B, Özyurt M, Açikel CH, Haznedaroğlu T.** Üriner enterokok izolatlarının antibiyotik direnci ile virulens faktörleri arasındaki ilişki. *Mikrobiyol Bul* 2011, 45, 3, 430-445.
- Baylan O, Nazik H, Bektöre B, Çitil BE, Turan D, Öngen B, Özyurt M, Açikel CH, Haznedaroğlu T.** Üriner enterokok izolatlarının antibiyotik direnci ile virulens faktörleri arasındaki ilişki. *Mikrobiyol Bul*. 2011; 45, 3, 430-445.
- Berzeg D, Kart Yaşar K, Şengöz G, Batı Kutlu S, Nazlıcan Ö.** Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005, 35, 279-283.
- Berzeg D.** Çeşitli klinik materyallerden izole edilen enterokok suşlarında antibiyotik direnci, yüksek düzey aminoglikozid direnci ve E test ile vankomisin MİK değerlerinin değerlendirilmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi 2005, İstanbul.
- Berzeg D.** Çeşitli klinik materyallerden izole edilen enterokok suşlarında antibiyotik direnci, yüksek düzey aminoglikozid direnci ve e test ile vankomisin mik değerlerinin değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye. 2005.
- Bilgehan H.** “Streptokoklar” Klinik Mikrobiyoloji. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 9.Basım. İzmir: Şafak Matbaacılık 1995, 248-286.
- Butler KM.** Enterococcal infection in children. *Seminars in Pediat Infect Dis* 2006, 128-139.
- Chenoweth C, Schaberg D.** The epidemiology of enterococcus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990, 9, 80-89
- Chew DJ, Dibartola SP, Schenck P.** Cystitis and Urethritis: Urinary Tract Infection. Chew DJ, Dibartola SP, Schenck P. (Eds.) In: Canine and Feline Nephrology and Urology, 2. Baskı. Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri 2011, p. 240-271.
- Clinical and Laboratory Standards Institute.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility 23th informational supplement. CLSI Document M100-S23, (ISBN1-56238-865-7-Print:1-56238-866-5–Electronic) Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 2013, 19087 USA.
- Coşkun Ö.** Rekürren üriner sistem enfeksiyonları, *Gülhane Tıp Dergisi* 2008, 50: 226-231.
- Çetinel A S.** Yüksek lisans tezi. Süt dişi kanallarından enterococcus faecalis izolasyonu, kültürel ve moleküler yöntemlerle tanılanması ve antibiyotik duyarlılık profillerinden saptanması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye 2008.



- Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG.** Vancomycin-resistant enterococci. *Clinical Microbiology Reviews* 2000; 13: 686-707.
- Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG.** Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000, 13, 686-707.
- Çetinkaya Y.** Vankomisin dirençli enterokoklar: epidemiyoloji ve kontrol. *Flora* 2000, 5, 24-33.
- Devriese L, Baele M, Butaye P ()**. The Genus *Enterococcus*: Taxonomy. *Prokaryotes* 2006, 4, 163-174.
- Devriese LA, Ieven M, Goossens H, Vandamme P, Pot B, Hommez J, Haesebrouck F.** Presence of vancomycin-resistant enterococci in farm and pet animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1996, p. 2285–2287.
- Devriese LA, Deherdt P, Uyttendaele E, Lepoutre C, Ducatelle R, Dom P, Haesebrouck F.** Streptococcal and enterococcal infections in poultry. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 1994, 63: 109-111.
- Devriese LA, Hommez J, Wijfels R, Haesebrouck F.** Composition of the enterococcal and streptococcal intestinal flora of poultry. *Journal of Applied Bacteriology* 1991,(71): 46-50.
- 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: 1675–1677.
- Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P.** Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol* 1995, 33, 24–27.
- Eliopoulos GM, Eliopoulos CT** (1990). Therapy of Enterococcal Infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 9, 118-126.
- Ergin ÖY, Bayram ED, Uzun B, Güngör S, Demirdal T** (2013). İdrar kültürlerinden izole edilen *Enterococcus* türleri ve antibiyotik dirençleri. *ANKEM Derg*, 27, 4, 173-178.
- Ersoy Y, Bayraktar M, Fırat M, Yağmur M, Durmaz R** (2005). Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, *ANKEM Derg*, 19, 2, 92-96.
- Facklam RR, Collins MD** (1989). Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J Clin Microbiol*, 27, 4, 731-734.
- Facklam RR, Sahm DF** (1995). *Enterococcus*. In: Murray, PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington: ASM Press, pp: 308-314.

- Facklam RR, Teixeria LM** (1998). *Enterococcus*. In: Collier L, Bolows A, Sussman (eds). Topley & Wilson's Microbiology and Microbial infections. Vol 2 (Systematic Bacteriology). Ed: Edvard Arnold, 9th edition. London pp: 669-682.
- Facklam RR, Washington JA** (1991). *Streptococcus* and related catalase negative Gram positive cocci. In: Ballows A, Hausler WJ. Manual of Clinical Microbiology. 5th ed., Washington DC: American Society for Microbiology Published; pp: 238-257.
- Fisher K, Phillips C** (2009). The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. Microbiol, 155, 1749-1757.
- Franz CMAP, Holzapfel WH, Stiles ME**. Enterococci at the crossroads of food safety? Review. Int J Food Microbiol, 1999;47, 1-24.
- Franz CMAP, Stiles ME, Schleifer KH, Holzapfel WH**. Enterococci in foods - a conundrum for food safety. Review article. Int J Food Microbiol 2003; 88, 105-122.
- Gazi H, Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Ecemiş T, Özbakkaloğlu B** (2004). Hastane kökenli *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarında antimikrobiyel direnç. *Ankem Derg*, 18, 1, 49-52.
- Gordon S, Swenson JM, Hill BC, Pigott NE, Facklam RR, Cooksey RC, Thornsberg C, Jarvis WR, Tenover FC** (1992). Antimicrobial susceptibility patterns of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States. *J Clin Microbiol*, 30, 9, 2373-2378.
- Gordon S, Swenson JM, Hill BC, Pigott NE, Facklam RR, Cooksey RC, Thornsberg C, Jarvis **WR, Tenover FC**. Antimicrobial susceptibility patterns of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States. *J Clin Microbiol*. 1992; 30:2373-2378.
- Graham NC, Bartley EO** (1939). Some observations on the classification of Enterococci. *J Hygiene*, 39, 538-552.
- Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları, Bilimsel Tıp Yayınevi 2004; 121-40.
- Güçkan R, Elmas A, Tilgel S, Yüksel G**. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Int J Basic Clin Med* 2013, 1, 2, 74-77.
- Güçkan R, Elmas A, Tilgel S, Yüksel G**. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Int J Basic Clin Med*. 2013; 1:74-77.
- Gülay Z**. Gram pozitif bakteri infeksiyonları: direnç ve epidemiyoloji. *ANKEM Derg* 2008, 22, Ek 2, 276-286.
- Gültekin, M**. Enterokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi. Önemli ve Sorunlu

- Hijazi N, Elmanama AA, Al-Hindi A.** Vancomycin-resistant enterococci in fecal samples from hospitalized patients and non-hospitalized individuals in Gaza City. *J Public Health* 2009, 17, 243-249.
- Hoşgör M, Çavuşlu C, Tünger A, Özinel MA.** Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci. *İnfeksiyon Derg.* (1997) 11, 1, 7-9.
- Hummell, DS, Winkelstein JA.** Bacterial lipoteichoic acid sensitizes host cells for destruction by autologous complement. *J. Clin. Invest* 1986; 77:1533-1538.
- Huycke MM, Sahm DF, Gilmore MS.** Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerg Infect Dis* 1998, 4, 2,239-249.
- Jackson CR, Fedorka-Cray PJ, Barrett JB** Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of *Enterococci*. *J Clin Microbiol* 2004, 42, 8, 3558-3565.
- Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS.** Virulence of enterococci. *Clinical Microbiology Reviews* 1994; p. 462-478.
- Jett BD, Jensen HG, Atkuri RV, Gilmore MS.** Evaluation of therapeutic measures for treating endophthalmitis caused by isogenic toxin-producing and toxin-nonproducing *Enterococcus faecalis* strains. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36:9-12.
- Kaçmaz B, Akça G, Çağlar K, Sultan N.** Enterokoklarda antimikrobiyel duyarlılık. *ANKEM Derg.* 2003; 17:28-32.
- Kaçmaz B, Akça G, Çağlar K, Sultan.** Enterokoklarda antimikrobiyel duyarlılık. *ANKEM Derg N* 2003, 17, 28-32.
- Kalaycı Ö, Yurtsever S, Güngör S, Uzun B, Kurultay N.** İdrar örneklerinden izole edilen Enterokokların *In vitro* antibiyotiklere direnç oranlarının değerlendirilmesi. *Klimik Derg* 2011, 24, 2, 105-107.
- Kalaycı Ö, Yurtsever S, Güngör S, Uzun B, Kurultay N.** İdrar örneklerinden izole edilen Enterokokların *In vitro* antibiyotiklere direnç oranlarının değerlendirilmesi. *Klimik Derg.* 2011; 24: 105-107.
- Kalina AP.** The taxonomy and nomenclature of enterococci. *IJSEM*, (1970), 20, 2, 185-189.
- 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, 2, 101-103.
- Karadenizli A, Kolaylı F.** Kocaeli Üniversitesi tıp fakültesi hastanesinde izole edilen enterokok türleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* (2002), 32, 3-4, 212-215.

- Karagöz G.** Uzmanlık Tezi. Yoğun Bakım Ünitesinde Vankomisin Dirençli Enterokok Taşıyıcılığının Araştırılması. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye. 2005.
- Kart KY, Pehlivanoglu F, Şimşek M, Şengöz G.** Çocuk kliniği ve yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edilen enterokok suşlarında antibiyotik direnci. *Zeynep Kamil Tıp Bül.* (2010), 41, 3, 143-147.
- Kayaoglu G, Orstavik D.** Virulence factors of *Enterococcus faecalis*. Relationship To Endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15:308-320.
- Kayaoglu G, Orstavik D.** Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med,* (2004) 15, 308-320.
- Ke D, Picard FJ, Martineau F, Menard C, Roy PH, Ouellette M, Bergeron MG.** Development of a PCR assay for rapid detection of enterococci. *Journal of Clinical Microbiology* 1999, 37, 3497–3503.
- Klare I, Heier H, Claus H, Reissbrodt R, Witte W** (1995). VanA-mediated high-level glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from animal husbandry. *FEMS Microbiol Lett,* 125, 165-171.
- Klare I, Konstabel C, Badstubner D, Werner G, Witte W.** Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. *International Journal of Food Microbiology* 2003; 88: 269–290.
- Klein G.** Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastrointestinal tract. *Int.J.Food Microbiol* 2003; 88: 123-131.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM** (1997). The Gram Positive Cocci Part II Streptococci, Enterococci and The Streptococci Like Bacteria. In *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5th Ed. Philadelphia: Lippincott, pp: 577-629.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC** (1992). *Enterococcus* species. In: Koneman EW (ed.) *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fourth edition, Philadelphia: Lippincott Company, pp: 440-446.
- Koneman, EW, Allen, SD, Dowell, VR, Janda, WM Sommers, HM, Winn, WC** (1988). *Color atlas and text book of diagnostic microbiology* third edition. Lippincott comp. Philadelphia, USA.
- Lautenbach E, Bilker W, Brennan P** (1999). Enterococcal bacteremia: risk factor for vancomycin resistance and predictors of mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol,* 20 , 5, 318-323.

- Lautenbach E, Bilker W, Brennan P.** Enterococcal bacteremia: risk factor for vancomycin resistance and predictors of mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2000; 20: 318-323.
- Loza E, Martinez B, J Baquerof LA, Canton R, Garijo B** (1992). Comparative *in vitro* activity of clarithromycin. Spanish Collaborative Group, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 11, 9, 856-866.
- Mamikoğlu L, İnan D:** İdrar Yolu Enfeksiyonları, “Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M(eds): Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Sistemlere Göre Enfeksiyonlar 1” kitabında s. 1487-99, Nobel tıp kitabevi, İstanbul, 2008.
- Marothi YA, Agrihotri H, Dubey D.** Enterococcal resistance –An overview. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 2005; 23:214-219.
- Mascini EM, Troelstra A, Beitsma M** (2006). Genotyping and preemptive isolation to control an outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Clin Infect Dis*, 42, 739-746.
- Meriç M, Rüzgar M, Gündeş S, Willke A** (2004). Hastanede yatan hastalardan izole edilen enterokok türleri ve antibiyotiklere direnç durumu. *ANKEM Derg*, 18, 141-144.
- Mert-Dinç B, Aykut-Arca E, Yağcı S, Karabiber N** (2009). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarında *in vitro* antibiyotik duyarlılığı, *Türk Hij Den Biyol Derg*, 66, 3, 117-121.
- Mete E, Kaleli İ** (2006). Besici ve sığırlardan izole edilen enterokok türlerinin dağılımı ve antibiyotik duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bült*, 40, 75-80.
- Moellering JC** (2000). *Enterococcus* Species. In Mandell GL, et al. Principles and Practise of Infectious Diseases 5th Ed. NewYork: Churcill Livingstone, pp: 2147-2156.
- Moellering JC.** *Enterococcus* Species. In Mandell GL, et al. Principles and Practise of Infectious Diseases 5th Ed. NewYork: Churcill Livingstone, 2000; 2147-2156.
- Moellering RC** (1992). Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. *Clin Infect Dis*, 14, 1173-1178.
- Moellering RC** (2005). *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* and *Leuconostoc* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed., New York. Churchill Livingstone, pp: 2411-2421.
- Murray BE** (1998). Diversity among multidrug resistant *Enterococcus*. *Emerg Infect Dis*, 1, 37-47.
- Murray BE** (2000). Vancomycine resistant enterococcal infections. *N Eng J Med*, 342, 710-721.

- Murray, B.E.** The life and times of the Enterococcus. *Clinical Microbiological Reviews* 1990; 3: 46-65.
- Murray, B.E.** The life and times of the Enterococcus. *Clinical Microbiological Reviews* 1990; 3: 46-65.
- Özmen Toğay S, Temiz A.** Gıda kaynaklı enterokokların gıda ve insan sağlığı yönünden önemi. *Gıda* 2011; 36 (5):303-310.
- Özseven AG, Sesli Çetin E, Cicioğlu Arıdoğan B, Çiftçi E, Özseven L** (2011). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Derg*, 25, 4, 256-262.
- Özseven AG, Sesli Çetin E, Cicioğlu Arıdoğan B, Çiftçi E, Özseven L.** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Derg.* 2011; 25: 256-262.
- Patterson JE** (2000). New Gram positive agents in nosocomial infection. *Curr Opin Infect Dis*, 13, 6, 593-598.
- Patterson JE, Sweeney AH, Simms M** (1995). An analysis of 110 serious enterococcal infections: epidemiology, antibiotic susceptibility and outcome. *Medicine*, 74, 4, 191-200.
- Patterson JE.** New Gram positive agents in nosocomial infection. *Curr Opin Infect Dis.* 2000; 13: 593-598.
- Pesce A, Debbia E A, Toni M, Schito GC** (1992). Antibiotic resistance of isolates of *Enterococcus* in Italy. *Clin Infect Dis*, 15, 3, 490-494.
- Rodrigues J, Poeta P, Martins A, Costa D** (2002). The importance of pets as reservoirs of resistant *Enterococcus* strains, with special reference to vancomycin. *J Vet Med B*, 49, 6, 278-280.
- Ruoff KL, Maza L, Murtagh MS** (1990). Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol*, 28, 435-437.
- Schouten MA, Vose A, Hoogkamp-Karstanje JAA.** Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. *Antimicrob Agents Ch.* 1999; 43: 2542-2546.
- Schouten MA, Vose A, Hoogkamp-Karstanje JAA.** Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. *Antimicrob Agents Ch.* 1999; 43: 2542-2546.
- Shankar N, Baghdayan AS, Gilmore M. S.** Modulation of virulence within a pathogenicity island in vancomycinresistant *Enterococcus faecalis*. *Nature* 2002; 417: 746– 750.
- Shepard BD, Gilmore MS** (2002). Antibiotic resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. *Microbes Infect*, 4, 215-224.

- Shepard BD, Gilmore MS.** Antibiotic-resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance. *Microbes and Infection*. 2002; 4: 215–224.
- Söyletir G, Çerikçioğlu N** (2002). Streptokok infeksiyonları. In Willke TA, Söyletir G, Doganay M (eds): *İnfeksiyon Hastalıkları*. İkinci baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, pp: 1467-1497.
- Sümerkan B** (2001). Vankomisine duyarlı enterokoklar 2. Sterilizasyon Dezenfeksiyon Hastane İnfeksiyonları Kongresi (25-28 Nisan 2001, Samsun), Kongre Özet Kitabı, s: 187-191.
- Şirin MC, Adloğlu AK** (2011). Comparison of five antimicrobial susceptibility tests in detecting high level aminoglycoside and vancomycin resistances in hospital acquired enterococcus isolates. *Clin Lab*, 57, 3-4, 157-162.
- Teixeira LM, Facklam RR** (2003). Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. Eighth edition, Washington. ASM Press, Washington DC. pp: 422-433.
- Teixeira LM, Siqueira-Carvalho MG, Facklam RR.** Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (2007). *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, Washington DC. pp: 430-442.
- Tsutsui, O, Koikeguchi S, Matsumura T, Kato K.** Relationship of the chemical structure and immunobiological activities of lipoteichoic acid from *Streptococcus faecalis* (*Enterococcus hirae*) ATCC 9790. *FEMS Microbiol. Immunol* 1991; 3:211-218.
- Tunail N.** Microflora of the Intestine/ Biology of the Enterococcus spp. in; *Encyclopedia of Food Microbiology*. Robinson RK (chief ed), Academic Press, UK 1999; pp 1365-1373.
- Türkdağı H, Arslan U, Tuncer Eİ** (2011). Kan kültürlerinden izole edilen enterokoklarda antibiyotik direnci. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 41, 3, 103-106.
- Ulusoy S, Hoşgör M, Özakan F, Özinel MA, Tokbaş A** (1995). *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un antibiyotik direncinin araştırılması. *Ankem Derg*, 9, 1, 12-16.
- Ulusoy S.** Dirençli Gram pozitif bakteri infeksiyonları. *Hast İnf Derg*. 1999; 3:212-221.
- Unat EK** (1986). Gram Pozitif Koklar, Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, 2.Baskı. İstanbul: Emek Matbaacılık, s: 429-480.
- Unat EK.** Gram pozitif koklar. Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, 2. Baskı, Emek Matbaacılık 1986: 429-480.
- Upadhyaya PMG, Ravikumar KL, Umopathy BL.** Review of virulence factors of enterococcus: An emerging nosocomial pathogen. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2009; 27:301-305.

- Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö** (1999). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, 1.Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara. s: 81-108,
- Ünlü M, Vardar Ünlü G, Bakıcı MZ, Şahin A** (2002). Klinik örneklerden soyutlanan *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere direnci. *İnfeksiyon Derg*, 16, 4, 471-475.
- Vural DG, Temiz H, Aktar GS, Onur A, Ayaydın Z, Turhanoğlu M, Vural H** (2014). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik direnç oranları, 29.Ankem Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi, Bodrum, 28-31 Mayıs 2014, *ANKEM Derg*, 28 , Ek 1, 26.
- Vural T, Şekercioglu AO, Ögünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A, Ünal S, Kocagöz S, Mutlu G** (1999). Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *Ankem Derg*, 13, 1, 1-4.
- Weese JS, Blondeau JM, Boothe D.** Antimicrobial Use Guidelines for Treatment of Urinary Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *Veterinary Medicine International*. 2011; 1-9.
- Winn W, Stephan A, Janda W, Koneman EW, Procop G** (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of diagnostic Microbiology. Baltimore Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. 6th ed., pp: 640- 643.
- Winn WC, Koneman EW, Allen SD, Procop GW, Schreckenberger PC, Janda WM, Woods GL** (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th ed, Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia.
- Yavuz MT, Şahin İ, Öztürk E, Behçet M, Kaya D** (2006). Hastane kökenli üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *Enterococcus* türlerinin insidansı ve antibiyotik direnç profilleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 36, 4, 195-199.
- Yazgı H, Ertek M, Uslu H, Kadanalı A,** (2003). Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci ile beta laktamaz üretimi ilişkisi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 33, 4, 333-336.
- Yıldırım M** (2007). Enterokoklar ve enterokoklarla gelişen infeksiyonlar. *Düzce Üniv Tıp Fak Derg*, 2, 46-52.
- Zouain MG, Araj GF** (2001). Antimicrobial resistance of enterococci in Lebanon. *Int J Antimicrob Agents*, 17, 3, 209-213.



# ÖZGEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : Gamze BALAT  
**Uyruk** : T.C  
**Doğum yeri ve tarihi** : ÇORUM  
**Telefon** : 05055046161  
**E-mail** : gbalat@adu.edu.tr  
**Yabancı Dil** : İngilizce

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Y. Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi	...
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi	2014

## BURSLAR ve ÖDÜLLER:

xxxx

## İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2007- ...	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	Biyolog

## AKADEMİK YAYINLAR

### 1. MAKALELER

Göksel ERBAŞ Ugur PARIN, Şükrü KIRKAN, Kerem URAL, H. Tugba YÜKSEL, Gamze BALAT Identification of Bacterial Pathogens that Cause Urinary Tract Infections and Detection of Their Antibiotic Susceptibility. Indian Journal Of Animal Research DOI: 10.18805/ijar.11174

### 2. PROJELER

xxx

### 3. BİLDİRİLER

#### A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

xxx

#### B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

xxx