

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SİVAS İLİ VE ÇEVRESİNDEKİ İÇME VE
KULLANMA SULARINDA
ENTEROKOKLARIN VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

NURCAN ÖZTÜRK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SİVAS
2014**

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİVAS İLİ VE ÇEVRESİNDEKİ İÇME VE
KULLANMA SULARINDA ENTEROKOKLARIN
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

NURCAN ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. A. YASEMİN ÖZTOP

SİVAS
2014

SİVAS İLİ VE ÇEVRESİNDEKİ İÇME VE
KULLANMA SULARINDA ENTEROKOKLARIN
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

NURCAN ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2014

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Ömer POYRAZ _____

Üye Prof. Dr. Ali ÇELİKSÖZ _____

Üye (Danışman) Prof. Dr. A. Yasemin ÖZTOP _____

ONAY

Bu tez çalışması, 05/09/2014 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali ÇELİKSÖZ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 009 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Çalışma sırasında bana destek olan eşim Mustafa ÖZTÜRK, çocuklarım Demir
Ali, Nehir ve Zeynep Ece'ye...

ÖZET

SİVAS İLİ VE ÇEVRESİNDEKİ İÇME VE KULLANMA SULARINDA ENTEROKOKLARIN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Nurcan ÖZTÜRK

Yüksek Lisans Tezi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Yasemin ÖZTOP

2014, 39 sayfa

Bu çalışmada içme ve kullanma sularında *Enterococcus* türlerinin varlığının araştırılması ve izole edilen suşların antimikrobiyal dirençlerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla Sivas ili merkez ve ilçelerinden toplam 657 su örneği toplandı.

Su örnekleri membran filtre yöntemiyle analiz edildi. Örneklerin kültüründe Slanetz-Bartley ve safra-eskülin-azid agar besiyerleri kullanıldı. Türler BD Phoenix™-100 otomatize sistemle (Becton Dickinson, Diagnostic Instrument Systems, Sparks USA) tanımlandı. Antimikrobiyal duyarlılık testleri BD Phoenix™-100 otomatize sistemle (Becton Dickinson, Diagnostic Instrument Systems, Sparks USA), Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) göre yapıldı.

Çalışmada 657 su örneğinin 98'inden (%14.92) *Enterococcus* türleri izole edildi. Toplam 98 *Enterococcus* suşunun 47'si (%47.9) *E. faecalis*, 36'sı (%36.7) *E. faecium*, 9'u (%9.2) *E. gallinarum*, 3'ü (%3.1) *E. durans*, 3'ü (%3.1) *E. hirae*'di. Doksan sekiz suşun penisilin ve yüksek düzeyli gentamisine direnç oranları sırasıyla, % 2,04 ve 1,02'di. Suşların tümü vankomisin, teikoplanin ve daptomisine duyarlıydı. Yalnızca bir suş linezolide orta duyarlı bulundu. Yerleşim yerlerine göre enterokok suşlarının oranları istatistiksel olarak analiz edildiğinde, fark önemli bulundu ($p<0,05$). Enterokokların en yüksek izolasyon oranı (%17.2) Temmuz'da saptandı. Sonuç olarak, enterokok türleri 16 ilçenin su örneklerinde üretildi.

Anahtar kelimeler: İçme ve kullanma suları, Enterokoklar

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF ENTEROCOCCUS IN DRINKING AND POTABLE WATER IN SIVAS PROVINCE AND AROUND

Nurcan OZTURK

Thesis of M.S., Microbiology Department

Supervisor: Prof. Dr. A. Yasemin OZTOP

2014, 39 pages

The aim of study was to investigate the presence of *Enterococcus spp.* in the drinking and potable waters and to determine the antimicrobial resistance of isolated strains. For this propose, a total of 657 water samples were collected from Sivas province and its districts.

Water samples were analyzed according to the membrane filtration method. The culture of the samples, Slanet-Bartley and bile-esculin-azide agar were used. The strains were identified by BD PhoenixTM-100 Automated System (Becton Dickinson, Diagnostic Instrument System, Sparks, USA). Antibiotic susceptibility tests were performed by BD PhoenixTM-100 Automated System (Becton Dickinson, Diagnostic Instrument System, Sparks, USA) according to the standards of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Enterococcus strains were isolated from 98 (14.9%) of 657 water samples in the study. 47 (47.9%) were *E. faecalis*, 36 (36.7%) were *E. faecium*, 9 (9.2%) were *E.gallinarum*, 3 (3.1%) were *E. durans* and 3 (3.1%) *E.hirae* a total of 98 *Enterococcus* strains. The resistance rates of the 98 isolates for penicillin and high level gentamisin were 2.04% and 1.02% respectively. All of the strains were susceptible to vancomycin, teicoplanin and daptomycin. Only one strain was found to be intermediate resistance to linezolid. When the range of the enterococcus strains were analyzed according to the location as statistically, the important differences were found ($p < 0.05$). The highest enterococcus isolation rate was found in July (17.2%). As a result, the strains of *Enterococcus* were isolated in water samples of 16 districts.

Key Words: Drinking and Potable Water, Enterococcus.

TEŞEKKÜR

Tez alıőmam sırasında, alıőmaları baőından sonuna kadar yakından izleyen, karşılaşılan her tŸrlŸ sorunun özŸlmesinde titizlikle ve sabırla yol gŸsteren danışman hocam Prof. Dr. A. Yasemin ŖZTOP'a teőekkŸr ederim.

Ayrıca çalıőmamın tŸm aőamasında emeği geçen, bilgi ve tecrŸbelerinden yararlandığım Yrd. Doç. Dr. Mehmet ATAŐ'a, istatistiksel verilerin yorumlanmasındaki katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a ve her konuda sabırla yardımcı olan eőime ve aileme desteklerinden dolayı teőekkŸr ederim.

Bu alışma Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından T-554 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
DESTEK.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1 GİRİŞ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Tarihçe.....	3
2.2 Sınıflandırma.....	3
2.3 Morfolojik ve Boyanma Özellikleri.....	4
2.4 Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri.....	4
2.5 Patojenite ve Virülans Faktörleri.....	5
2.6 Enterokok Enfeksiyonları.....	6
2.7 Enterokoklarda Antibiyotik Direnci.....	7
2.7.1 İntrensek (Kromozomal) Direnç.....	7
2.7.1.1 Beta-Laktam Antibiyotiklere İntrensek Direnç.....	7
2.7.1.2 Aminoglikozid Antibiyotiklere İntrensek Direnç.....	8
2.7.2 Ekstrensek (Kazanılmış) Direnç.....	8
2.7.2.1 Beta-Laktam Antibiyotiklere Kazanılmış Direnç.....	9
2.7.2.2 Aminoglikozid Antibiyotiklere Kazanılmış Yüksek Düzeyde Direnç.....	9
2.7.2.3 Glikopeptid Antibiyotiklere Karşı Direnç.....	9
2.8 İçme ve Kullanma Sularının Özellikleri.....	12
2.8.1 Suyun Mikroflorası.....	15
2.8.2 Sularda Fekal Bulaşmayı Gösteren Bakteriler.....	16
2.9 Su Örneklerin Toplanması ve Taşınması.....	16
2.10 Enterekokların Sularda Belirlenmesi.....	16
2.10.1 Standart Analiz Yöntemi.....	16
2.10.1.1 Seçici Besiyerine Ekim.....	16
2.10.1.2 Biyokimyasal Tanımlama.....	17
2.10.1.3 Hızlı Analiz Yöntemi.....	19
3 GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1 Kullanılan Araç ve Gereçler.....	20
3.2 Kullanılan Besiyerleri.....	20
3.2.1 Slanetz-Bartley besiyeri (Bazal besiyeri ve TTC besiyeri).....	20
3.2.1.1 Bazal besiyeri.....	20
3.2.1.2 TTC çözeltisi.....	21
3.2.1.3 Tamamlanmış besiyeri.....	21
3.2.2 Safra-eskülin- azid agar.....	21
3.3 Su Örneklerinin Toplanması.....	22
3.4 Su Örneklerinden Enterokok İzolasyonu.....	22

3.5 Enterokok türlerinin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testinin yapılması.....	22
3.6 İstatistiksel Yöntem.....	23
4 BULGULAR.....	24
4.1 Enterokokların Antibiyotik Duyarlılıkları.....	28
5 TARTIŞMA.....	29
6 SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	34
7 KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇMİŞ.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 Enterokok suşlarının slantz-bartley besiyerindeki görünümü.....	24
Şekil 4.2 Enterokok suşlarının safra-eksülin azid agar besiyerindeki görünümü.....	25
Şekil 4.2 Enterokok türlerinin yüzdellik dağılımı.....	26

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Enterokokların sınıflandırılması.....	3
Çizelge 2.2 İnsani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmeliğe göre kaynak suyu, içme suyu ve içme-kullanma suyu kalite standartları.....	13
Çizelge 2.3 Enterokokların diğer gram pozitif, fakültatif anaerobik koklardan ayrımında kullanılan testler	18
Çizelge 2.4 Enterokokların tipik biyokimyasal özellikleri.....	19
Çizelge 4.1 Üretilen enterokok türlerinin dağılımı.....	26
Çizelge 4.2 Üretilen enterokok suşlarının yerleşim yerlerine göre dağılımı.....	27
Çizelge 4.3 Üretilen enterokok türlerinin aylara göre dağılımı.....	28

1 GİRİŞ

Enterokoklar insanların ve hayvanların gastrointestinal sistem florasında bulunan gram pozitif bakterilerdir. Hayvanlardan elde edilen besin ürünlerinde, kanalizasyon ve hayvan gübresi gibi kontamine olmuş çevrelerde yaygındırlar (Franz ve ark., 2001).

Enterokoklar bakteriyemiye, endokardite, batin içi enfeksiyonlara, pelvik ve üriner sistem enfeksiyonlarına neden olabilirler. Hastane enfeksiyonlarına neden olan ve antibiyotiklere çoklu direnç gösteren etkenler arasında yer alırlar. Enterokokların antibiyotiklere direnci doğal ve kazanılmış dirençten kaynaklanır. Bu bakteriler plazmid veya transpozonlar aracılığıyla birçok antibiyotiğe direnç geliştirme yeteneğindedirler (Yamazhan ve Ulusoy, 2013). Ayrıca çevresel kaynaklı enterokokların direnç genlerini patojen bakterilere aktarma riskinin olduğu bildirilmiştir (Oryaşın, 2008).

Enterokoklar koliform bakteriler ve *E.coli* ile birlikte içme ve kullanma sularının bakteriyolojik kalitesini değerlendirmek için örneklerde araştırılan indikatör bakterilerdendir. Bu indikatör bakterilerin sularda bulunması fekal kirlenmenin yanı sıra, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Aeromonas hydrophyla*, gibi patojen bakterilerinin de bulunabileceğini gösterir. Çeşitli ülkelerde içme ve kullanma sularının kalitesini belirlemek için standartlar bulunmaktadır. Ülkemizde ‘‘Sağlık Bakanlığı’nın çıkardığı İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik’’ te; içme ve kullanma sularında toplam koliform, Enterokok, *E. coli*, *P. aeruginosa*, patojen stafilokok ve sülfid indirgeyen anaerobların bulunmaması gerektiği bildirilmiştir.

Enterokoklar suda diğer indikatör mikroorganizmalara göre daha dayanıklıdırlar. Özellikle dezenfektan maddelere karşı dirençli olmalarından dolayı, suların arıtım sonrasındaki değerlendirmesinde aranan, gösterge organizmalardır. Enterokoklar su içinde *E.coli*’lerden daha uzun süre yaşayabilirler ve çevresel koşullara daha dayanıklıdırlar (Oryaşın, 2008).

Günümüze kadar, Sivas ili ve çevresinde klinik örneklerden üretilen enterokokların antibiyotiklere direnç durumlarını bildiren çalışmalar olmasına rağmen (Çelik ve ark., 2013), içme suları gibi çevresel örneklerden üretilen enterokok oranları ve bunların direnç durumları ile ilgili çalışma yapılmamıştır. Bu

nedenle alışmamızda Sivas ili ve ilçelerindeki içme ve kullanma sularında enterokokların varlığının araştırılması, direnç durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamız, su rnekerinin içme suyu standartlarına uygunluğunun belirlenmesi ve izole edilen enterokokların direnç durumları hakkında veri sağlaması açısından önem taşımaktadır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe

Enterococcus cinsindeki bakteriler yıllarca *Streptococcus* cinsinin bir elemanı olarak kabul edilmişlerdir. *Streptococcus faecalis* adı ilk kez bir asır önce tanımlanmıştır. Enterokok terimi, ilk kez Thiercelin tarafından 1899 yılında kullanılmıştır. Bundan yaklaşık 10 yıl sonra fermentasyon özellikleri daha farklı olan *Streptococcus faecium* türü tanımlanmıştır. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda enterokokların taksonomilerinde değişiklikler olmuş ve enterokoklar streptokoklardan ayrılarak yeni bir cins olarak tanınmaya başlamışlardır. Sherman ilk kez 1937 ve 1938 yılında enterokokları gruplara ayırarak, bu grupları tanımlamıştır (Akan, 2004).

2.2 Sınıflandırma

Enterokoklar DNA-DNA-rRNA hibridizasyon çalışmaları sonunda streptokoklardan ayrı bir cins olarak kabul edilmişlerdir (Akçimen, 2010). Bu sonuç 16SrRNA sekans analizi ile kanıtlanarak, enterokokların laktokoklar ve bazı gram pozitif koklardan da farklı olduğunu açığa çıkarmıştır. Enterokoklar Firmicutes Divisio'sunda bulunmaktadır. Taksonomileri Çizelge 2.1'de verilmiştir. Günümüze kadar *Enterococcus* cinsinde 40 tan fazla tür tanımlanmıştır (Akçimen, 2010).

Çizelge 2.1 Enterokokların sınıflandırılması (Facklam ve Teixeira, 1998)

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

2.3 Morfolojik ve Boyanma Özellikleri

Enterococcus cinsi üyeleri gram pozitif tekli, ikili ya da kısa zincirli koklardan oluşur. Katı besiyerinde üretilen bakteriler kok veya kokobasiller şeklinde görülürken, sıvı besiyerlerinde üretilen enterokokların daha uzun zincirler oluşturdukları gözlenir. Anilin boyalarla kolay boyanırlar. *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* hariç, çoğu hareketsizdir (Çetinkaya ve ark., 2000).

2.4 Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

Enterokolar fakültatif anaerob bakterilerdir. Bu bakteriler %5 koyun kanlı agar, beyin kalp infüzyon kanlı agar veya %5 hayvan kanı içeren herhangi bir agar da üreyebilirler. Kolonileri kanlı agarda büyükçe, gri renkli, parlak, buğulu görünümündedir. Alfa, beta veya gama hemoliz yapabilirler. Enterokokların izolasyonunda seçici besiyerleri kullanılır. Safra, eskülin ve azid içeren ticari besiyerleri gram negatif bakterilerin bulunduğu bir ortamda primer izolasyonlarında kullanılan ideal besiyerleridir. Seçici besiyerlerinden en sık kullanılan Slanetz-Bartley agardır.

Enterokoklar katalaz negatiftir fakat bazı kökenlerinde 'pseudo katalaz' yapımı vardır. 10-45°C arasında üreyebilir, %6.5'lük NaCl'lü ortamda üremeyi sürdürebilir, 60°C'de 30 dakika canlı kalabilir ve eskülini hidrolize edebilirler. Glikozdan gaz oluşturmamaları *Leuconostoc* cinsinden ayırmada önemlidir. Ayrıca pH 9.6'da %40 safra tuzu içeren besiyerinde de üreyebilirler (Başustaoğlu ve Aydoğan, 2002; Bilgehan, 2002).

E. casseliflavus ve *E. gallinarum* gibi bazı suşlar hareketlidir. *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* dışında kalan tüm suşlar L-pyrolidonyl beta naphthylamid (PYR) maddesini hidrolize ederler. Tüm kökenlerde lösinaminopeptidaz (LAP) üretimi vardır (Koneman ve ark., 2005).

Enterokoklar mannitol, sorbitol, sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arginini hidrolize etmelerine göre beş gruba ayrılırlar (Facklam ve Teixeira, 1998).

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

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

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

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

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

2.5 Patojenite ve Virülans Faktörleri

Enterokokların insanda, patojenitelerine katkıda bulunan faktörler hakkındaki bilgiler kısıtlıdır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarla enterokokkal bakteriyemili hastalarda mortalitenin %31-37 arasında olduğu gösterilmiştir. Orofarinkse kolonize oldukları halde nadiren alt solunum yolu infeksiyonu yaparlar. Çoğu enterokokta klasik virülans faktörleri yoktur. İntrinsik antimikrobik dirençleri, antibiyotik tedavisi altındaki hastalarda yaşamalarına ve çoğalmalarına izin verir. Bu sebeple geniş spektrumlu antibiyotik kullanan hastalarda süperinfeksiyonlara yol açarlar. Enterokoklar kalp kapakçıkları ve renal epitel hücrelerine yapışabilme özelliklerinden dolayı, endokardit ve üriner sistem infeksiyonları yaparlar. Agregasyon substansı denilen ve plazmidle kodlanan bir protein, mikroorganizmanın kümeleşmesine ve böylece plazmid aktarımının artmasına yol açtığı gibi, deneysel endokardit modellerinde kardiyak vejetasyonlara ve renal-intestinal epitele adheransta rol oynadığı sanılmaktadır (Koneman ve ark., 2005; Moellering, 2002; Murray, 1998).

Yine birçok araştırmacı özellikle *E. faecalis* ve bazı *E. faecium* suşları tarafından salınan insan, tavşan, sığır ve at eritrositlerine karşı hemolizi aktive

eden plazmid aracılı hemolizinlerin virülansta önemli rolü olduğunu öne sürmüştür. Yine bu hemolizinlerin deneysel infeksiyon modellerinde letalite ve toksisiteyi arttırdığı ve nozokomiyal bakteriyemi sonrası ani ölüm riskini 5 kat artırdığı gösterilmiştir (Moellering, 2002).

Feromonlar mikroorganizma tarafından sentezlenen küçük peptidlerdir. Suşlar arasında plazmid DNA'sının konjugasyonunu kontrol ederler. Ayrıca nötrofillere kemoatraktan oldukları sanılmaktadır (Koneman ve ark., 2005; Moellering, 2002; Murray, 1998). Lipoteikoik asit, grup D ve enterokokların yapısal antijeni olup immün cevabın düzenlenmesine yol açan TNF ve IFN yapımını uyararak virülansta rol oynar. AS-48 plazmidle kodlanır, bazı *E.faecalis* suşları tarafından salınan bir bakteriyosindir, litik aktiviteye sahiptir. Bazı *E.faecalis* suşlarında değişik ekstraselüler enzimler bulunur (Jelatinaz, hiyalüronidaz gibi). Enterokoklar komplike üriner infeksiyonlar, bakteriyemi, endokardit, intra abdominal ve pelvik infeksiyonlar, yara ve yumuşak doku infeksiyonları, yenidoğan sepsisi, nadiren menenjit yaparlar. Sistit, piyelonefrit, prostatit ve perinefrik apselerle ilişkilidirler. Bu infeksiyonların çoğu nozokomiyal kaynaklı, yapısal anomali veya üriner instrumentasyon zemininde gelişir. Bakteriyemi gelişiminde immünsüpresyon veya prematürite, malignite ve derin yerleşimli infeksiyonlar (sekonder infekte dekubit yarası gibi), intestinal, genitoüriner veya respiratuvar sistem instrumentasyonu, uzun süreli hastanede kalma ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı gibi düşkünlüğe yol açacak durumlar da rol oynar. Etken genellikle damar yatağına üriner sistemden, intraabdominal veya pelvik sepsis, yaralar, dekubit ülserleri ve İV yollardan ulaşır. Enterokoklar endokarditlerin %5-20'sini oluşturur ve prostetik kapak endokarditinin 5. sıradaki sorumlusudur (Koneman ve ark., 2005).

İntraabdominal ve pelvik infeksiyonlarda enterokoklar genellikle diğer aerop ve anaerop etkenlerle karışık infeksiyonlara yol açarlar. Saf spontan enterokokal peritonit ve periton diyalizi ile ilişkili enterokokal peritonit de rapor edilmiştir (Koneman ve ark., 2005).

2.6 Enterokok Enfeksiyonları

Enterokoklar kommensal mikroorganizmalardır. Daha çok altta yatan önemli bir hastalığı olan yaşlılarda uzun süreli hastanede yatan ya da tedavilerinde invaziv

gereçlerin kullanıldığı veya geniş spektrumlu antibiyotiklerin verildiği bağışık yetmezlikli hasta grubunda enfeksiyonlara sebep olurlar (Eaton ve Gasson, 2001).

Enterokokların direnç özellikleri, bu cinsin üyelerinin konak ya da çevrede uzun süre yaşamasının nedeni olarak görülmektedir. Bu da bakterinin hastane kaynaklı enfeksiyonların etkeni olmasını açıklar. Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSİ), enterokok enfeksiyonlarının en sık rastlanan şeklidir: enterokoklar tahminen tüm ÜSİ'lerin % 10'undan, hastane kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının ise % 16'sından sorumlu tutulmaktadır. ÜSİ ardından ikinci sıklıkta intraabdominal ve pelvik enfeksiyonlar gelir. Enterokoklar ayrıca endokarditlerin önemli etkenleri arasında yer alır. Enterokok endokarditleri ciddi seyirli enfeksiyonlar olmakla birlikte bakteriyemilerden daha seyrek görülürler. Enterokoklar ayrıca solunum yolları ve santral sinir sistemi enfeksiyonlarında, otit, sinüzit, septik artrit ve endoftalmitte rol alabilirler. *E.faecalis* klinik örneklerinden en sık izole edilen türdür. İzolatların %80-90'unu oluşturur. Bunu *E. faecium* izler, enfeksiyonların %5-10'unundan sorumludur (Başustaoğlu ve Aydoğan, 2002).

2.7 Enterokoklarda Antibiyotik Direnci

Enterokoklarda antibiyotik direnci intrinsek ya da kazanılmış olabilir. Plazmidler, transpozonlar ve kromozomlar üzerindeki direnç genlerine bağlı olan kazanılmış direnç ve mevcut direnç genlerinin farklı tür ve cinsteki bakterilere aktarılabilmesi söz konusudur. Bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi klinikte karşılaşılan en önemli sorunlardan biridir (Başustaoğlu, 2004).

2.7.1 İntrensek (Kromozomal) Direnç

İntrensek (doğal) direnç özellikleri türe özgüdür, enterokok türlerinin tümünde bulunan kromozomal direnci ifade eder. Enterokok türleri penisilinlere, sefalosporinlere, linkozomidlere, trimetoprim-sulfometaksazol (TMP-SMX)'e ve aminoglikozidlere (düşük düzeyde), kinopristin-dalfopristine karşı kalıtsal olarak dirençlidirler (Şardan, 2004).

2.7.1.1 Beta-Laktam Antibiyotiklere İntrensek Direnç

Enterokoklardaki intrinsek penisilin direnci beta-laktam antibiyotiklere düşük bağlanma afinitesi gösteren PBP 5 enziminin varlığına bağlıdır. *E. faecalis* için

penisilin MİK (Minimal İnhibitör Konsantrasyon) değeri diğer streptokoklardan 10-100 kat daha yüksektir. *E. faecium* suşları, *E. faecalis* suşlarına oranla penisiline daha dirençlidir. Yarı sentetik ve penisilinaza dirençli beta-laktam grubu antibakteriyel ilaçlara da direnç, oldukça yüksek bulunmuştur. Enterokoklar beta-laktam antibiyotiklere karşı karakteristik olarak tolerans gösterirler. Yani tedavi dozunda MBK/MİK (minimal bakterisid konsantrasyon/ minimal inhibitör konsantrasyon) oranı 32'nin üzerindedir. Dolayısıyla betalaktam antibiyotikler enterokoklara karşı bakterisidal değil, bakteriyostatik etkilidir (Başustaoğlu, 2004).

2.7.1.2 Aminoglikozid Antibiyotiklere İntrensek Direnç

Enterokoklar düşük düzeyde aminoglikozid direnci gösterirler. Bu tip dirençte iki mekanizma söz konusudur. Birinci mekanizma tüm enterokok türlerinde bulunur ve bakteri duvarının bu grupta bulunan antibakteriyel ilaçlara karşı geçirgenliğinin az olmasından kaynaklanır. İkinci mekanizma sadece *E. faecium*'da bulunur. *E. faecium* aac-6'lı geni tarafından kodlanan 6 asetiltransferaz (AAC-6') enzimine sahiptir. Bu enzim aminoglikozid yapısındaki bir amino grubunun asetil CoA'ya bağımlı olarak asetilasyonuna yol açar. Böylece sitoplazmaya geçen ilaç inaktive edilir. Enzim kanamisin, netilmisin, sisomisin, isepamisin ve tobramisinini modifiye eder. Ancak gentamisine etkisi yoktur (Lefort ve ark., 2000). Aminoglikozid grubu antibakteriyel ilaçlar, beta-laktam antibiyotik ya da vankomisin gibi hücre duvarı sentezini engelleyen antibiyotikler ile kombine edilecek olursa, zedelenen hücre duvarından bu gruptaki antibakteriyeller daha kolay geçeceğinden MİK değerleri önemli ölçüde düşecektir. Enterokoklara karşı, beta-laktam veya glikopeptid grubu antibakteriyel ilaçlar ile aminoglikozid grubu ilaçların kombinasyonunun sinerjistik mekanizması bu şekilde açıklanmaktadır (Başustaoğlu, 2004).

Enterokoklar linkozomid grubu antibiyotiklere de yüksek düzeyde intrensek olarak dirençlidir (Şardan, 2004).

2.7.2 Ekstrensek (Kazanılmış) Direnç

Kazanılmış direnç, genellikle bir DNA mutasyonu ya da yeni bir DNA segmentinin transferi sonucunda gelişir. Enterokoklarda yeni DNA segmenti transferinden en sık sorumlu olan mekanizma konjugasyondur (Şardan, 2004).

2.7.2.1 Beta-Laktam Antibiyotiklere Kazanılmış Direnç

Enterokokların iki ayrı direnç mekanizması ile beta-laktam antibiyotiklere direnç kazandığı saptanmıştır. Bunlardan biri *E. faecium* suşlarında görülen, kromozomal olan ve penisilin afinitesinin azalması sonucu PBP 5'in miktarının artması ile ortaya çıkan dirençtir.

İkinci direnç mekanizması ise beta-laktamaz üretimidir. Beta laktamaz oluşturan suş ilk olarak 1981 yılında ABD'de tanımlanmıştır (Derbentli, 1998). Bu 1983 yılında Murray ve Mederski-Samuraj tarafından bir makalede yayımlanmıştır (Murray ve Mederski-Samuraj, 1983).

2.7.2.2 Aminoglikozid Antibiyotiklere Kazanılmış Yüksek Düzeyde Direnç

Enterokoklarda kazanılmış yüksek düzeyde aminoglikozid direnci (YDAD) yaygındır. YDAD, ribozomal bağlanma bölgesinde değişiklik, aminoglikozid transportunun değişmesi, aminoglikozid modifiye edici enzim üretimi olmak üzere 3 temel mekanizma ile meydana gelir (Lefort ve ark.,2000).

Bir ribozomal proteinde oluşan tek bir aminoasit değişikliği, o ribozomun antibiyotiğe karşı düşük afinite göstermesine neden olur. Enterokoklarda bildirilen ve ribozomal bağlanma bölgesinde değişiklik ile olan bu direnç, klinik olarak oldukça nadirdir ve diğer aminoglikozidlere karşı çapraz direnç oluşturmamaktadır (Oryaşın, 2008).

Aminoglikozid transportunun değişmesi ile oluşan direnç de nadir görülmekte ve kromozomal genlerle kontrol edilmektedir. Enterokoklarda YDAD'nde en sık görülen mekanizma aminoglikozid modifiye edici enzim üretimidir. Bu enzimleri kodlayan genler plazmid ve transpozon kaynaklıdır (Lefort ve ark., 2000). Aminoglikozid modifiye edici enzimler, sitoplazmaya geçen ilaçları inaktive edecek miktarlarda sitoplazmada bulunurlar. Üç tip aminoglikozid modifiye edici enzim bulunmaktadır. Bunlar; asetiltransferaz, adeniltransferaz, fosfotransferaz'dır. YDAD saptamak için disk difüzyon, agar dilüsyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır (Oryaşın, 2008).

2.7.2.3 Glikopeptid Antibiyotiklere Karşı Direnç

Glikopeptid antibiyotikler, hücre duvarı sentezinde peptidoglikan polimerlerini oluşturacak öncül maddelerden olan D-ala-D-ala terminal ucuna bağlanır ve hücre duvarı sentezini bozarlar. VRE (Vankomisine Dirençli Enterokoklar) ise ligaz

enzimi ile D-ala-D-ala ucunun yapısını değiştirir ve D-ala-D-laktat veya Dala-Dserin meydana getirir. Byolece bu uca vankomisin bağlanma yeteneği çok azalır ve hücre duvarı sentezi devam eder. Direncin sınıflandırılması önceleri izolatların MİK değerlerine göre yapılmaktaydı. Günümüzde ise sınıflandırma spesifik ligaz genlerinin varlığına göre yapılmaktadır. *VanA*, *VanB*, ve *VanD* tipi direnç; D-ala-D- laktat, *VanC* ve *VanE* tipi direnç ise D-ala-D- serin üretimi ile ilişkilidir (Başustaoğlu, 2004; şardan, 2004).

Enterokoklarda glikopeptid antibiyotiklere direnç, ilk kez 1988 yılında Uttley ve ark.'leri tarafından bildirilmiş ve daha sonra tüm dünyada görülmeye başlanmıştır (Uttley ve ark., 1988). Ülkemizde ilk VRE olgusu 1998 yılında Vural ve ark. tarafından Antalya'dan bildirilmiştir (1999). Daha sonra ngen ve ark., Basustaoglu ve ark., ve çeşitli hastanelerden birçok araştırıcı tarafından olgular ve epidemiler bildirilmiştir (ngen ve ark., 1999; Başustaoğlu ve Aydoğan, 2002).

Enterokoklarda bugüne kadar glikopeptidler için tanımlanmış altı direnç tipi vardır. Bunlar; *VanA*, *VanB*, *VanC*, *VanD*, *VanE*, *VanG*'dir.

***VanA* tipi direnç:** Vankomisin ve teikoplanine yüksek düzeyde direncin (Vankomisin için 64 mg/mL, teikoplanin için 16 mg/mL) olduğu direnç tipidir. *VanA* tipi direncin oluşması için gerekli genler *Tn1546* transpozonu üzerinde, ilgili elemanlar ise *Tn5482* transpozonu üzerinde yer alır. *VanA* geni ilk olarak *E. faecium*'da tespit edilmistir. Ancak *E. faecalis*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. avium*, *E. mundtii*, *E. casseliflavus*, *E. raffinosus* gibi diğer enterokok türlerinde de saptanmıştır.

Vankomisin direncinin regülasyonu ve oluşumunda rol alan diğer genler (*VanR*, *VanS*, *VanH*, *VanX*, *VanY*, *VanZ*) ve *VanA* geni *Tn 1546* transpozonu üzerinde yer almaktadır. *E. faecium*'da ise bu gen plazmid üzerindedir (Oryaşın, 2008).

VanA tipi direnç en sık karşılaşılan dirençtir. Vankomisin tarafından yüksek, teikoplanin tarafından ise zayıf indüklenebilir özellikte, yüksek düzeyde bir dirençtir. İndüklenebilir *VanA* direncinde, yalnızca vankomisin varlığında oluşan PBP'lerin artışı sonucunda beta-laktam antibiyotiklere karşı bir duyarlılık meydana gelir. Bu da vankomisin dirençli enterokokların tedavisinde vankomisin beta-laktam kombinasyonunun başarısını açıklamaktadır (Başustaoğlu, 2004).

***VanB* tipi direnç:** Enterokoklarda *VanB* tipi glikopeptid direnci *VanA* ligaza yapısal olarak benzerlik gösteren *VanB* ligazı ile oluşur. Kromozomal

yerleşimlidir, ancak transpozon (Tn 1547, Tn 5382) veya plazmid üzerinde de olabilir ve transfer edilebilir. Genetik olarak *VanA* ve *VanB* benzer olmakla birlikte aralarında bazı farklılıklar bulunmaktadır. *VanA*'da mevcut genlerden altı tanesi *VanZ* hariç *VanB*'de mevcuttur. *VanB* gen kümesinde görevi tam olarak anlaşılabilen *VanW* geni mevcuttur. Bu tip direnç vankomisine değişik düzeyde direnç gösterir (MİK 4>1024 mg/mL), teikoplanine duyarlıdır (MİK 0.5-2 mg/mL). Vankomisin tarafından indüklenebilen bir dirençtir. Teikoplanin ise indükleyemez. Ancak vankomisin ile indüklenen kökenler teikoplanine de direnç gösterebilirler. *VanB* sadece *E. faecium* ve *E. faecalis*'te saptanmıştır (Şardan, 2004).

VanC tipi direnç: Bu grupta vankomisine düşük düzeyde direnç sözkonusudur. Bu tip direncin *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ve *E. flavescens* suşlarında varlığı bildirilmiştir. Bu direnç tipinin üç alt tipi bulunmaktadır: *VanC-1*, *VanC-2*, *VanC-3*. Bu genlerin türe spesifik olduğu düşünülmektedir (*E. gallinarum-vanC-1*, *E. casseliflavus-vanC-2* ve *E. flavescens-vanC-3*). *VanC* tipi dirence sahip olan suşlar teikoplanine duyarlıdır. Yapısal olarak indüklenemez ve transfer edilemezler (Başustaoğlu, 2004).

VanD tipi direnç: Sadece *E. faecium*'da bildirilmiştir. *VanD* geni izolatları yapısal olarak hem vankomisine (MİK 64-128 mg/mL) hem de teikoplanine (MİK 4-64 mg/mL) dirençlidir. *VanD* geni kromozomaldır ve konjugasyon ile transfer edilemez (Başustaoğlu, 2004).

VanE tipi direnç: *E. faecalis* BM4405 izolatında tanımlanmıştır. Düşük düzeyde vankomisin direnci (MİK 16mg/mL) vardır. Teikoplanine duyarlıdır (MİK 0.5 mg/mL). *VanE* geni kromozom üzerine lokalizedir ve transfer edilemediği bilinmektedir. Bu yeni direnç fenotipi *VanC* tipi direnç ile benzerlik gösterir. Ancak *VanE* tipi direncin genetik belirleyicisi farklıdır ve intrinsek bir direnç tipi değildir (Başustaoğlu, 2004).

VanG tipi direnç: Bu direnç tipi ilk olarak *E. faecalis* WCH9 suşunda tanımlanmıştır. Tipik olarak vankomisine düşük düzeyde dirençli (MİK 12-16 mg/mL), teikoplanine ise duyarlıdır (MİK 0.5 mg/mL). Enterokoklarda glikopeptid direncinin en korkulan yanı laboratuvar veya klinik koşullarda bu dirençten sorumlu genlerin diğer gram pozitif bakterilere aktarılabilme olasılığıdır (Başustaoğlu, 2004).

2.8 İçme ve Kullanma Sularının Özellikleri

Su; insan hayatı için olduğu kadar tabiat ve diğer canlılar için de en temel ihtiyaçtır. Yeryüzünün büyük bir bölümü sularla kaplı olmasına rağmen, sadece %2.5'i tatlı sudur. Bu suların da 2/3'si buzul ya da daimi kar örtüsü şeklindedir. Şu anki dünya nüfusunun üçte biri önemli derecede su sıkıntısı çekmekte, 2025 yılına kadar bu oranın, özellikle kalkınmakta olan ülkelerde daha üst sınırlara yükselmesi beklenmektedir (Anonim, 2003).

Su kirliliği; genel anlamda insan etkileri sonucunda kullanımı kısıtlayan ya da engelleyen, ekolojik dengeleri bozan kalite değişimleri şeklinde tanımlanmaktadır (Munsuz ve Ünver, 1995). Gelişen dünyada tüm hastalıkların yaklaşık %80'inin güvenilir su ve temizlik koşullarının yetersizliğinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Her yıl yarıdan fazlasını çocukların oluşturduğu 5 milyondan fazla kişi, su kirliliğine bağlı olarak hayatını kaybetmektedir (Anonim, 2007).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Çevre Koruma Ajansı (EPA) ve Avrupa Birliği (AB) gibi uluslararası kuruluşlarca içme ve kullanma suları ile ilgili belirlenen standartlar birçok ülke tarafından kabul edilmiştir. Ülkemizde de yapılan son değişikliklerle içme suları ile ilgili standart ve yönetmelikler, bu kuruluşlarla uyumlu hale getirilmiştir. Son zamanlarda büyük şehirlerimizdeki şebeke suları, mikrobiyolojik kaliteleri yanı sıra fizikokimyasal özellikleri yönünden de sorgulanır olmuştur. Sağlık Bakanlığı verilerine göre; ülke genelinde il merkezlerinden alınan şebeke sularının %17'si, kaynak sularının %31.4'ü, ilçelerden alınan şebeke sularının %36.6'si, kaynak sularının ise %36.3'ü standartlara uygunluk göstermemiştir (Anonim, 2004). Ayrıca, değişik bölgelerdeki su kaynaklarının hijyenik kalitesinin incelendiği çalışmalarda (Kıvanç ve ark., 1996; Arısoy ve ark., 1999; Keven, 2002), örneklerin birçoğu standartlara uygun bulunmamıştır.

Ülkemizde yürürlükte olan su yönetmeliğine göre suyun kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik özellikleri belirlenmiş, gereken kontrollerin işletmeciler tarafından nasıl ve ne sıklıkla yapılması gerektiği vurgulanmıştır. Olması gereken değerler aşağıdaki tablolardaki gibidir (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2 İnsani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmeliğe göre kaynak suyu, içme suyu ve içme-kullanma suyu kalite standartları (Anonim, 2006).

a) Mikrobiyolojik parametreler

İçme-Kullanma Suları için:

Parametre	Parametrik değer sayı/100 mL
<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	0/100 mL
Enterokok	0/100 mL
Koliform bakteri	0/100 mL

İçme Suları için (İmlahanedede):

Parametre	Parametrik değer sayı/ mL
<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	0/250 mL
<i>Enterokok</i>	0/250 mL
Koliform bakteri	0/250 mL
<i>P. aeruginosa</i>	0/250 mL
Fekal koliform bakteri	0/250 mL
<i>Salmonella</i>	0/100 mL
<i>Clostridium Perfringens</i>	0/50 mL
Patojen Stafilokoklar	0/100 mL
22 °C'de koloni sayısı	100/mL
37 °C'de koloni sayısı	20/mL
Parazitler	0/100 mL
Diğer mikroskopik canlılar	0/100 mL

Kaynak Suları için:

Parametre	Param.değ. sayı/ mL
<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)	0/250 mL
Enterokok	0/250 mL
<i>Koliform bakteri</i>	0/250 mL
<i>P. aeruginosa</i>	0/250 mL
Fekal koliform bakteri	0/250 mL
Patojen Mikroorganizmalar	0/100 mL
Anaerob sporlu sülfat redükte eden bakteriler	0/50 mL
Patojen Stafilokoklar	0/100 mL
Kaynaktan alınan numunede maksimum: 22 °C'de 72 saatte agar-agar veya agar-jelatin kar. kol. sa. 37 °C'de 24 saatte agar-agar karışımında koloni sayısı	20/mL 5/mL
Ambalajlanmış sularda: 22 °C'de 72 saatte agar-agar veya agar-jelatin kar. kol.sa. 37 °C'de 24 saatte agar-agar karışımında koloni sayısı	100/mL 20/mL
Parazitler	0/100mL
Diğer Mikroskopik Canlılar	0/100mL

b) Kimyasal Parametreler

Parametre	Parametrik değer	Birim	Notlar
Akrilamid	0.1	µg/L	Not-1
Antimon	5.0	µg/L	
Arsenik	10	µg/L	
Benzen	1.0	µg/L	
Benzo (a) piren	0,010	µg/L	
Bor	1	mg/L	
Bromat	10 (içme-kullanma suları için 31 Aralık 2007 yılına kadar 25 µg/L olarak uygulanır)	µg/L	Not 2
Kadmiyum	5,0	µg/L	
Krom	50	µg/L	
Bakır	2	mg/L	Not 3
Siyanür	50	µg/L	
1,2-dikloreten	3,0	µg/L	
Epikloridin	0,10	µg/L	Not 1
Florür	1,5	mg/L	
Kurşun	10 (içme - kullanma suları için 31 Aralık 2012 tarihine kadar 25 µg/L olarak uygulanır)	µg/L	Not 3 ve 4
Cıva	1,0	µg/L	
Nikel	20	µg/L	Not 3
Nitrat	50	mg/L	Not 5
Nitrit	0,50	mg/L	Not 5
Pestisitler	0,10	µg/L	Not 6 ve 7
Toplam pestisitler	0,50	µg/L	Not 6 ve 8
Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	0,10	µg/L	Belli bileşiklerin konsantrasyon toplamı; Not 9
Selenyum	10	µg/L	
Tetrakloreten ve trikloreten	10	µg/L	Belli parametrelerin konsantrasyon toplamı
Trihalometanlar-toplam	100 (içme-kullanma suları için 31 Aralık 2012 tarihine kadar 150 µg/L olarak uygulanır)	µg/L	Belli bileşiklerin konsantrasyon toplamı; Not 10
Vinil Klorür	0,50	µg/L	Not 1

c) Gösterge Parametreleri

Parametre	Parametrik Değer	Birim	Notlar
Alüminyum	200	µg/L	
Amonyum	0,50	mg/L	
Klorür	250	mg/L	Not 1
C. perfringens (sporlular dahil)	0	sayı/100 ml	Not 2
Renk	Tüketicilerce kabul edilebilir ve herhangi bir anormal değişim yok		
İletkenlik	2500	20 °C'de µS / cm	Not 1
PH	≤ 9,5-6,5≤	pH birimleri	Notlar 1 ve 3
Demir	200	µg/L	
Mangan	50	µg/L	
Koku	Tüketicilerce kabul edilebilir ve herhangi bir anormal değişim yok		
Oksitlenebilirlik	5,0	mg/L O2	Not 4
Sülfat	250	mg/L	Not 1
Sodyum	200	mg/L	
Tat	Tüketicilerce kabul edilebilir ve herhangi bir anormal değişim yok		
22 °C'de koloni sayımı	Anormal değişim yok		
Koliform bakteri	0	Sayı/100 mL	Not 5
Toplam Organik Karbon (TOC)	Anormal değişim yok		Not 6
Bulanıklık	Tüketicilerce kabul edilebilir ve herhangi bir anormal değişim yok		Not 7

2.8.1 Suyun Mikroflorası

Yağışlarla beslenen kaynak, yeraltı ve yüzey sularına mikroorganizmalar; hava, toprak ve organik maddelerden geçer. Sulardan izole edilen bakteriler, genellikle *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alcaligenes* ve *Flavobacterium* cinslerindedir. Sularda bulunan küfler ve mayalar, *Torulopsis*, *Rhodotorula*, *Mucor* ve *Aspergillus* cinslerindedir (Özçelik, 1998).

2.8.2 Sularda Fekal Kirlenmeyi Gösteren Bakteriler

İçme sularında fekal kirlenmeyi gösteren indikatör mikroorganizmalar başta koliform bakteriler olmak üzere, mezofil ve termofil mikroorganizmalar, *Proteus mirabilis*, *P.vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterokoklar*, *Clostridium perfringenes*, enteroviruslar ve bakteriyofajlardır.

Koliform bakteriler; Enterobacteriaceae familyasına giren, optimum gelişme sıcaklığı 37°C olan, laktozu asit ve gaz oluşturarak parçalayan, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* ve *Klebsiella* cinsinden olan bakterilerdir. Bazı kaynaklarda yalnızca *Escherichia* ve *Enterobacter* cinslerinden olanlar, koliform bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Koliform bakteriler, insan, hayvan vb. sıcakkanlıların bağırsağında ve toprakta bulunurlar. (Müeller, 1983; Özçelik, 1998).

2.9 Su Örneklerin Toplanması ve Taşınması

Kolay izole edilmeleri ve çevre koşullarındaki değişimlere dayanıklı olmaları nedeniyle enterokok içeren örneklerin taşınmasında özel bir yöntem uygulamak gerekmez. Soğuk zincire uyularak steril cam veya plastik şişelerde 100 mL veya 250 mL su laboratuvara taşınır. Çoğu materyalde olduğu gibi meteryal ilk fırsatta mümkünse ilk 1 saat içerisinde ekilmelidir (Özçelik, 1998).

2.10 Enterokokların Sularda Belirlenmesi

2.10.1 Standart Analiz Yöntemi

Su örneklerinin analizinde yüksek sayıda saptanan enterokoklar fekal kontaminasyon göstergesi olarak kabul edilir.

2.10.1.1 Seçici Besiyerine Ekim

Enterokokların aranmasında genellikle 100 ml su örneği, 100 ml çift kuvvetli selektif sıvı besiyeri ile karıştırılarak 36±1 °C 'de 22-24 saat süre ile inkübasyona bırakılır. Burada Azid Dekstroz Broth gibi selektif besiyerleri kullanılabilir. 24 saat sonunda besiyerinde bulanıklık görülüyorsa test pozitif demektir. Eğer bulanıklık yoksa inkübasyon 24 saat daha devam ettirilir. Süre sonunda yine bulanıklık olmamışsa negatif olarak değerlendirilir (Kaleli ve Özkaya, 2000).

Çift kuvvetli olarak hazırlanan bazı selektif besiyerlerinde sonuç, besiyeri su örneği ile karıştırılarak inkübasyona bırakıldıktan sonra renkte oluşan değişime göre verilir. Eğer besiyeri rengi değişmişse test pozitif, renkte bir değişim olmamışsa negatif olarak değerlendirilir. Böylece daha kısa sürede sonuç alınabilir.

Sayım, standart en muhtemel sayı (EMS) yöntemi ile yapılabileceği gibi membran filtrasyon yöntemi de bu amaç için kullanılabilir. Membran filtrasyon yöntemi için genellikle Enterococcus Selektif Agar gibi selektif bir katı besiyerleri kullanılır. Örnek petri kutusuna aktarıldıktan sonra 36 ± 1 °C 'da 44 ± 4 saat inkübe edilir. Besiyeri bileşimindeki sodyum azid refakatçi Gram negatif florayı inhibe eder. Enterokoklar TTC'yi indirgeyerek kırmızı renkli formazon'a dönüştürürler. Dolayısıyla koloniler kırmızı renkleri ile tanımlanır. Alternatif olarak KF-Str. sıvı ve katı besiyerleri veya Sitrat-Azid-Karbonat Agar (CATC-Agar) besiyeri de kullanılabilir. Burada da oluşan kırmızı renkli koloniler pozitif reaksiyonu verir. Bunlardan başka selektif katı besiyeri olarak Kanamisin Eskülin Azid Agar besiyeri de kullanılarak sayım yapılabilir. Besiyerine sürme yapıldıktan sonra 36 ± 1 °C'de 24 ± 4 saat inkübe edilir. Besiyerinde oluşan siyah koloniler pozitif olarak değerlendirilir (Kaleli ve Özkaya, 2000).

2.10.1.2 Biyokimyasal Tanımlama

Bu amaçla, izole edilen tipik koloniler uygun bir sıvı besiyerinde geliştirilerek öncelikle gram reaksiyonları incelenir. Mikroskopik inceleme sonucunda enterokoklar, gram pozitif olduklarından mavi mor renkte, oval, çiftler veya kısa zincirler halinde görülürler.

Enterokokları, kendileri gibi gram pozitif, fakültatif anaerobik olan *Aerococcus*, *Gemella*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Pediococcus*, *Saccharococcus*, *Staphylococcus*, *Stomatococcus*, *Streptococcus*, *Trichococcus* ve *Vagococcus* 'lardan ayırabilmek amacı ile hareketlilik, 10 °C, 45 °C, pH 9.6, %6.5 NaCl ve %40 safra tuzunda gelişme ve katalaz reaksiyonu incelenmelidir (Kaleli ve Özkaya, 2000).

Çizelge 2.3 Enterokokların diğer gram pozitif, fakültatif anaerobik koklardan ayırımında kullanılan testler (Kaleli ve Özkaya, 2000)

Bakteriler	Hareket	10 °C'de gelişme	45 °C'de gelişme	pH 9,6'de gelişme	%6,5 NaCl 'de gelişme	%40 safra tuzunda gelişme	Katalaz reaksiyonu
<i>Aerococcus</i>	-	+	-	+	+	+	-
<i>Enterococcus</i>	d	+	+	+	+	+	-
<i>Gemella</i>	-	-	-	ND	ND	ND	-
<i>Lactococcus</i>	-	+	-	-	-	D	-
<i>Leuconostoc</i>	-	+	-	ND	d	ND	-
<i>Melissococcus</i>	-	-	-	-	-	ND	ND
<i>Pediococcus</i>	-	ND	D	D	D	D	-
<i>Saccharococcus</i>	-	-	D	ND	ND	ND	+
<i>Staphylococcus</i>	-	D	D	ND	+	D	+
<i>Stomatococcus</i>	-	-	-	-	-	-	+ (zayıf)
<i>Streptococcus</i>	-	D	D	D	D	D	-
<i>Trichococcus</i>	-	+	ND	ND	ND	ND	-
<i>Vagococcus</i>	d	+	-	-	-	ND	-

Şeker testleri *E. faecalis* ve *E. faecium* 'un ayırımında anahtar nitelikli testlerdir. Bu temel testlerin yanı sıra 16 türü birbirinden ayırabilmek amacı ile; hareketlilik, 45 ve 50 °C'de gelişme ile %6,5 NaCl, %0,04 tellürit, %0,01 tetrazolyum, %0,1 metilen mavisi içeren sütte gelişme, sarı pigment oluşumu, hemoliz reaksiyonu, arjinin ve hipurat hidrolizi, Voges-Proskauer reaksiyonu ile α -sikloz, L-raminoz, sakkaroz, laktoz, rafinoz, melezitoz, gliserol, adonitol, sorbitol ve mannitol'den asit oluşum reaksiyonları incelenebilir (Kaleli ve Özkaya, 2000).

Çizelge 2.4 Enterokokların tipik biyokimyasal özellikleri (Kaleli ve Özkaya, 2000)

Özellikler	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>
Potasyum telluritin redüksiyonu	+	V
Tetrasolyumkloritin redüksiyonu	+	V
Arjininden amonyak oluşumu	+	+
Melibiozdan asit oluşumu	-	+
Sorbozdan asit oluşumu	-	+

2.10.1.3 Hızlı Analiz Yöntemi

Suda enterokok aranmasında hızlı bir yöntem olarak Readycult Enterococci kullanılabilir. Enterokokları diğer bakterilerden ayırabilmek amacı ile X-GLU kromojenik substrat kullanılan besiyerinde, enterokoklara özgü bir enzim olan β -D-Glukozidaz 'ın substratı parçalaması sonucu meydana gelen renk değişiminden faydalanılmaktadır. Bu yöntemde 250 ml 'lik steril cam kabın içerisine 100 ml su örneği aktarılarak üzerine aseptik koşullar altında bir paket readycult ilave edilir. Granüller çözününceye kadar iyice karıştırılır. 37 °C'de 18-24 saat süre ile inkübasyona bırakılan örnek renk değişimi yönünden incelenir. Mavi-gri renk oluşumu, enterokok varlığı yönünden pozitif, hafif sarı renk veya renk değişikliğinin olmaması negatif sonuç olarak değerlendirilir (Kaleli ve Özkaya, 2000).

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Araç ve Gereçler

- Membran filtrasyon cihazı (ISO 8199'a uygun)
- Steril membran filtreleri (0,45 µm'lik).
- Etüv (36°C ve 44°C)
- Otoklav
- Steril pensler
- Su banyosu (100 °C)
- Steril petri kutuları (60x15 mm)
- Steril petri kutuları (90x15 mm)
- Halka ve iğne öze
- Mikrosantrifüj tüpü (2 mL'lik)
- 100 mL lik plastik steril su örneği şişesi
- Örnek taşıma kabı

3.2 Kullanılan Besiyerleri

3.2.1 Slanetz-Bartley besiyeri (Bazal besiyeri ve TTC besiyeri)

3.2.1.1 Bazal besiyeri

İçerik:

Triptoz	20,0 g
Maya özütü	5,0 g
Glukoz	2,0 g
Dipotasyum hidrojenfosfat	4,0 g
Sodyum azid	0,4 g
Agar	18,0 g
Distile Su	1000 mL'ye tamamlanır.

Hazırlanması:

Besiyeri içeriği 1000 ml distile suda kaynatılarak çözüldü. Çözünme tamamlandıktan sonra 5 dakika ısıtıldı ve 50°C ye kadar soğutuldu.

3.2.1.2 TTC çözeltilisi

İçerik:

2,3,5-trifeniltetrazolyum klorür	1 g
Distile su	100 mL

Hazırlanması:

İndikatör suda karıştırılarak çözüldü. Membran filtre yöntemiyle süzülerek steril edildi. Çözelti ışıktan uzak tutularak korundu.

3.2.1.3 Tamamlanmış besiyeri

İçerik:

Bazal basiyeri	1000 mL
TTC çözeltilisi	10 mL

Hazırlanması:

TTC çözeltilisi 50°C ye kadar soğutulmuş bazal besiyerine ilave edilerek karıştırıldı. Besiyeri 20 mL olacak şekilde 60 mm çaplı petri kaplarına dağıtıldı. Kullanıncaya kadar +4 °C de saklandı.

3.2.2 Safra-eskülin- azid agar

İçerik:

Tripton	17,0 g
Pepton	3,0 g
Maya özütü	5,0 g
Öküz-safra, dehidrat	10,0 g
Sodyum klorür	5,0 g
Eskülin	1,0 g
Amonyum demir (III) sitrat	0,5 g
Sodyum azid	0,15 g
Agar	18,0 g
Distile Su	1000 mL

Hazırlanması:

Bu karışım kaynatılarak çözüldü. Otoklavda 121°C ± 3°C'da 15 dakika steril edildi. Steril edildikten sonra pH 25°C'da 7,1 ± 0,1 olacak şekilde ayarlandı. 50°C ye kadar soğutuldu ve petri kaplarına 3 mm - 5 mm kalınlığında dağıtıldı. Besiyerleri +4 °C'de saklandı.

3.3 Su Örneklerinin Toplanması

Çalışmada Mart-Temmuz 2013'de Sivas Merkez ve bağlı yerleşim yerleri (MBY)'inden 108, Akıncılar'dan 23, Altınyayla'dan 25, Divriği'den 35, Doğanşar'dan 11, Gemerek'ten 33, Gölova'dan 6, Gürün'den 11, Hafik'ten 33, İmranlı'dan 11, Kangal'dan 60, Koyulhisar'dan 7, Suşehri'nden 63, Şarkışla'dan 61, Ulaş'tan 26, Yıldızeli'nden 74, Zara'dan 70 olmak üzere toplam 657 adet içme ve kullanma su örnekleri toplandı. Örnekler 100 mL'lik steril plastik örnek alma şişelerine alındı ve örnek taşıma kapları içerisinde +4 °C'de laboratuvara getirildi. Analizler bekleme yapılmadan hemen gerçekleştirildi.

3.4 Su Örneklerinden Enterokok İzolasyonu

Örneklerin numaralandırma ve kayıt işlemleri yapılarak mikrobiyolojik yönden incelenmeleri TSE 7899 ve ISO 8199 "Su kalitesi- Mikroorganizmaların kültür yoluyla sayımı genel kurallar" ve ISO 6887-1 "Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi- Deney numunelerinin başlangıç süspansiyonunun ve ondalık seyreltilerinin hazırlanması için genel kurallar" hükümlerine göre yapıldı.

Su örnekleri membran filtrasyon cihazında süzüldü. Her örneğin süzüldüğü filtreler steril koşullara uyularak Slanetz-Bartley besiyerine yerleştirildi. Besiyerleri 36°C± 2°C'da 44±4 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra ortasında veya etrafında, kırmızı, mor veya pembe renkli koloni bulunan tüm besiyerleri değerlendirmeye alındı. Bu besiyerlerinde bulunan filtre kağıtları steril penslerle, 44°C'de bekletilmiş safra-eskülin-azid agar besiyerine yerleştirildi. Besiyerleri 44°C ± 0,5°C'de 2 saat inkübe edildi. Safra-eskülin-azid agar besiyerinde siyahlaşan koloniler enterokok kolonisi olarak kabul edildi. Enterokok kabul edilen bu koloniler gliserinli buyyona alınarak tür tanımlaması ve antibiyogram deneyleri yapılmaya kadar -22 °C'de saklandı.

3.5 Enterokok türlerinin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testinin yapılması

Tüm suşların tür tanımlaması ve enterokokların antibiyotik duyarlılık testleri CLSI'a göre Phoenix 100 (BD Diagnostic Instrument Systems, USA) otomatize sistem ile yapıldı. Çalışmada penisilin, ampisilin, vankomisin, teikoplanin, daptomisin, linezolid ve yüksek düzey gentamisin (500 g) direncine bakıldı. (CLSI, 2012).

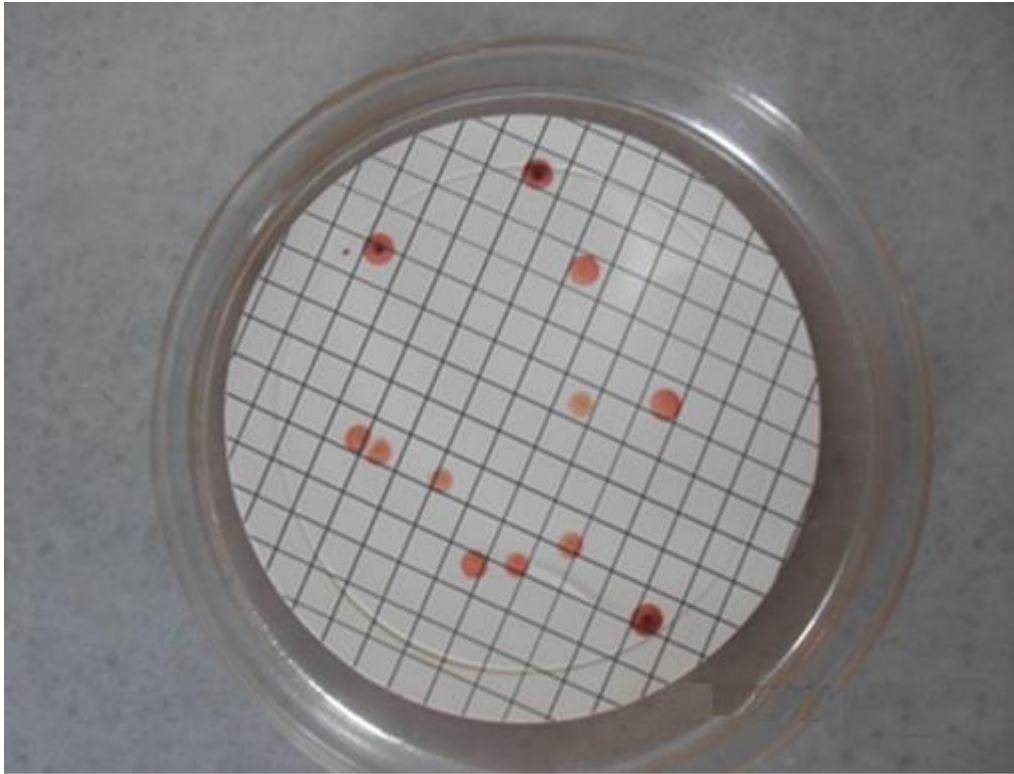
3.6 İstatistiksel Yöntem

Çalışmamızın verilerinin değerlendirilmesinde, tek değişkenli düzenlerde ki-kare testi ve iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi kullanılmış olup, yanılma düzeyi 0.05 olarak alınmıştır.

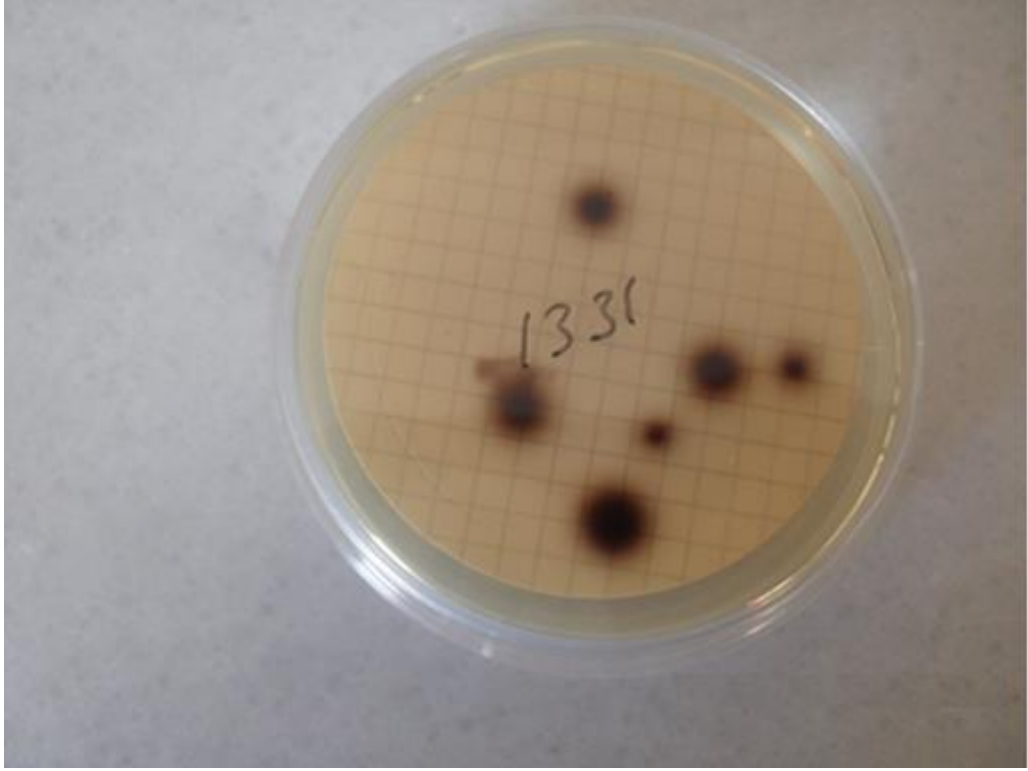
4 BULGULAR

Çalışmamızda; Akıncılar'dan 23, Altınyayla'dan 25, Divriği'den 35, Doğanşar'dan 11, Gemerek'den 33, Gölöva'dan 6, Gürün'den 11, Hafik'den 33, İmranlı'dan 11, Kangal'dan 60, Koyulhisar'dan 7, MBY'den 108, Suşehri'nden 63, Şarkışla'dan 61, Ulaş'dan 26, Yıldızeli'nden 74 ve Zara'dan 70 olmak üzere toplam 657 adet içme ve kullanma su örneği, enterokokların varlığını araştırmak amacıyla toplandı.

Su örneklerine membran filtrasyon işlemiyle süzme uygulandıktan sonra, Slanetz-Bartley besiyerlerine ekimleri yapıldı ve besiyerleri 37⁰C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda Slanetz-Bartley besiyerinde görülen, kırmızı, mor veya pembe renkli koloniler Şekil 4.1'de, safra-eskülin-azid agarda enterokok olarak kabul edilen koloniler Şekil 4.2'deki gibiydi.



Şekil 4.1 Enterokok suşlarının slanetz-bartley besiyerindeki görünümü



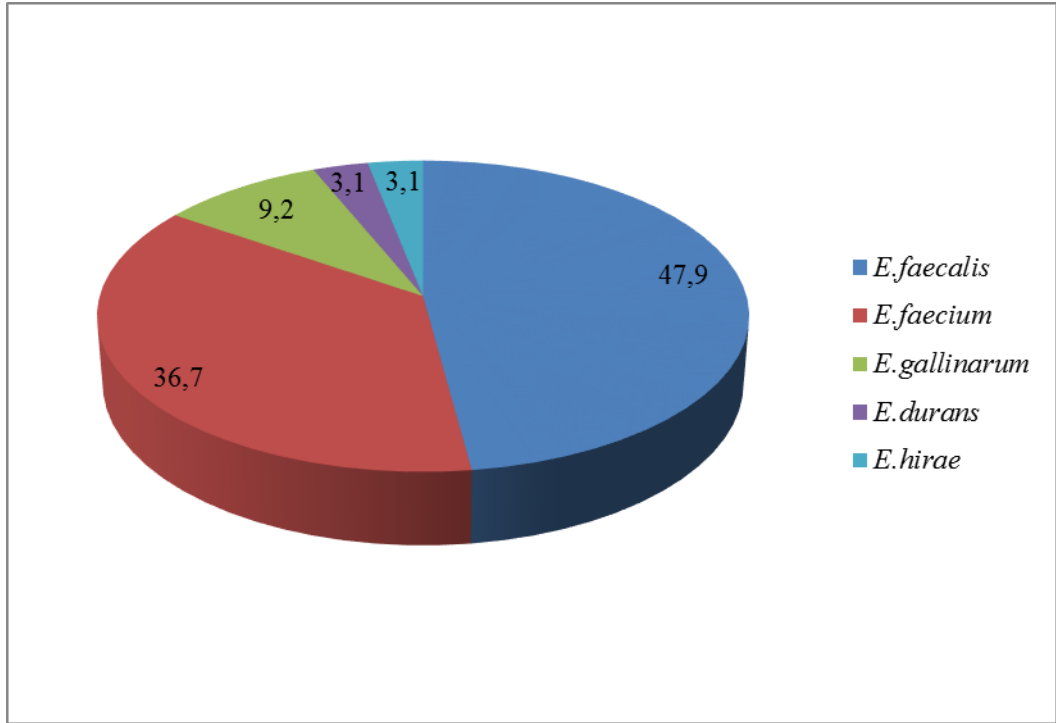
Şekil 4.2 Enterokok suşlarının safra-eksülin azid agar besiyerindeki görünümü

İzole edilen suşların tür tanımlamalarının yapılması sonucunda, 657 su örneğinin 47'sinde (%7.15) *E. faecalis*, 36'sında (%5.48) *E. faecium*, 9'unda (%1.37) *E. gallinarum*, 3'ünde (%0.46) *E. durans*, 3'ünde (%0.46) *E.hirae* olduğu saptandı. İki örnekten (%3.30) üretilen bakterilerin ise *Aerococcus viridans* olduğu belirlendi. Böylece toplam 657 su örneğinin 98'inden (%14.9) beş farklı enterokok türü üretildi.

Çalışmada izole edilen 98 enterokok suşunun türlere göre dağılımı Çizelge 4.1'de ve Şekil 4.3 te verildi. Buna göre, enterokokların 47'si (%47.9) *E. faecalis*, 36'sı (%36.7) *E. faecium*, 9'u (% 9.2) *E. gallinarum*, 3'ü (%3.1) *E. durans* ve 3'ü (%3.1) *E. hirae*'ydi.

Çizelge 4.1 Üretilen enterokok türlerinin dağılımı

Türler	S	(%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	47	47.90
<i>Enterococcus faecium</i>	36	36.70
<i>Enterococcus gallinarum</i>	9	9.18
<i>Enterococcus durans</i>	3	3.06
<i>Enterococcus hirae</i>	3	3.06
Toplam	98	100



Şekil 4.3 Enterokok türlerinin yüzdeleri dağılımı

Üretilen enterokokların yerleşim yerlerine göre dağılımı Çizelge 4.2’de verildi. Yerleşim yerlerinden toplanan sularda üretilen enterokok oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, farkın önemli olduğu bulundu ($p < 0.05$). Buna göre en fazla oranda (%50) Gölöva’da alınan sularda enterokoklar üretilirken, Doğanşar’da alınan suların %36.4’ünde, Altınyayla’da alınan suların %36’sında enterokok görüldü. MBY’den alınan 108 suyun 18’inde enterokoklar saptanırken, il merkezinden alınan sularda bakteriye rastlanmadı.

Çizelge 4.2 Üretilen enterokok suşlarının yerleşim yerlerine göre dağılımı

Enterokoklar						
Yerleşim yeri	Negatif		Pozitif		Toplam	
	S	(%)	S	(%)	S	(%)
Akıncılar	20	87.0	3	13.0	23	100.0
Altınyayla	16	64.0	9	36.0	25	100.0
Divriği	30	85.7	5	14.3	35	100.0
Doğanşar	7	63.6	4	36.4	11	100.0
Gemerek	27	78.8	6	21.2	33	100.0
Gölova	3	50.0	3	50.0	6	100.0
Gürün	11	100.0	0	0	11	100.0
Hafik	31	93.9	2	6.1	33	100.0
İmranlı	10	90.9	1	9.1	11	100.0
Kangal	45	75.0	15	25.0	60	100.0
Koyulhisar	6	85.7	1	14.3	7	100.0
MBY	90	83.3	18	16.7	108	100.0
Şarkışla	54	88.5	7	11.5	61	100.0
Suşehri	59	92.1	4	7.9	63	100.0
Ulaş	26	100.0	0	0	26	100.0
Yıldızeli	57	77.0	17	23.0	74	100.0
Zara	67	95.7	3	4.3	70	100.0
Toplam	559	84.8	98	15.2	657	100.0

$X^2=45,74$

$p=0,001$

$p<0,05$ önemli

Mart-Temmuz aylarında toplanan sulara üretilen enterokokların dağılımı Çizelge 4.3'te verildi. Mart'ta toplanan suların 36'sında (%16.7), Nisan'dakilerin 28'inde (%16.9), Mayıs'takilerin 13'ünde (%9.7), Haziran'dakilerin 11'inde

(%13.6) ve Temmuz'dakilerin 10'unda (%17.2) enterokok türleri izole edildi. Farklı aylarda üretilen bakterilerin oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın önemli olduğu bulundu ($p<0.05$). Temmuz'da toplanan sularda en fazla üreme görülürken, en az üremeye Mayıs ayında rastlandı.

Çizelge 4.3 Üretilen enterokok türlerinin aylara göre dağılımı

Aylar	Enterokoklar				Toplam	
	Negatif		Pozitif			
	S	(%)	S	(%)	S	(%)
Mart	182	83.3	36	16.7	218	100.0
Nisan	138	83.1	28	16.9	166	100.0
Mayıs	121	90.3	13	9.7	134	100.0
Haziran	70	86.4	11	13.6	81	100.0
Temmuz	48	82.8	10	17.2	58	100.0
Toplam	559	85.1	98	14.9	657	100.0

$X^2=20,72$

$p=0,001$

$p<0,05$ önemli

4.1 Enterokokların Antibiyotik Duyarlılıkları

Üretilen 98 enterokok suşunun 2'si (%2,04) penisiline, 1'i (%1,02) gentamisine dirençli, 1'i (%1,02) linezolide orta duyarlı, 94'ünün (%95,92) ise tüm antibiyotiklere duyarlı olduğu bulundu. Penisilin'e dirençli olan suşlar; *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* türleri, gentamisine dirençli olan suş *Enterococcus gallinarum*, linezolide orta duyarlı suş ise *Enterococcus hirae* türüydü.

5 TARTIŞMA

Suların bakteriyolojik kalitesi, indikatör mikroorganizmaların aranmasıyla değerlendirilir. Bu amaçla sularda koliform, fekal koliform, *E.coli*, enterokok ve sülfid indirgeyen anaeroplara aranmaktadır. Bu bakterilerin sulardaki varlığı fekal bulaşmayı göstermekle birlikte, suyla bulaşan diğer patojenlerin de bulunabilme olasılığını ortaya koymaktadır (Anonim, 2006b).

Dünya Sağlık Örgütü, Çevre Koruma Ajansı (EPA) ve Avrupa Birliği gibi uluslararası kuruluşlar tarafından içme ve kullanma suları ile ilgili belirlenen standartlar birçok ülke tarafından kabul edilmiştir. Ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın hazırladığı Doğal Kaynak, Maden ve İçme Suları ile Tıbbi Suların İstihsalı, Ambalajlanması ve Satışı Hakkında Yönetmelik'te ve Türk Standartları Enstitüsü'nün TS 266 İçme ve Kullanma Suları Standardı'nda sularla ilgili kalite kriterleri belirtilmiştir. Halk sağlığı açısından sularda dikkat edilmesi gereken en önemli kriterlerin başında mikrobiyolojik parametreler gelmektedir. Çünkü sudaki patojenler enterik hastalıkların bulaşmasında önemli rol oynamaktadır.

Ülkemizde kabul edilen İçme ve Kullanma Suları Standardı ile ilgili yönetmelikte içme ve kullanma sularında koliform, enterokok, *E. coli*, *P. aeruginosa*, patojen stafilokok ve sülfid indirgeyen anaerobların bulunmaması gerektiği bildirilmiştir.

Yurdumuzda içme ve kullanma sularının bakteriyolojik kalitesini araştıran çalışmaların çoğu genel canlı, koliform ve *E.coli* varlığını araştırmaya yöneliktir. Yapılan çalışmalarda koliform oranı; içme sularında %59.5-88 aralığında (Kıvanç ve ark., 1996; Türkyılmaz ve Kaya, 2003; Avcı ve ark., 2006; Alişarlı ve ark., 2007; Alemdar, 2009) içme-kullanma sularında %5.68-80.2 aralığında (Coşkun ve ark., 1990; Gündüz ve ark., 2006) kaynak sularında %11.6-64 aralığında (Yücel ve Kurdal, 1988; Patır ve ark., 1992) şebeke sularında ise %16.9-57.1 aralığında (Arısoy ve ark., 1999; Ceylan ve ark., 2008) olarak tespit edilmiştir.

Sivas ilinde yapılan çalışmaların birinde, Alim ve Kılıç (1995) şebeke ve kaynak sularında %16.9-%39.5 total koliform, %6.4-25.1 ısıya toleran koliform bulmuşlardır. Diğer bir çalışmada ise, Demirtaş ve ark. (1997) kuyu sularından aldıkları 130 su örneğini incelemişler ve örneklerin % 64.6'sında total koliform, %46.2'sinde ısıya toleran koliform bakteri bulmuşlardır.

Türkiye'de çeşitli su örneklerinde *E.coli* bulunma oranları farklılık göstermektedir. Yapılan çalışmalarda (Uçar, 1990; Kıvanç ve ark., 1996; Keven, 2002; Türkyılmaz ve Kaya, 2003; Alemdar, 2009) içme sularında *E. coli* oranı %25-88 arasında saptanmıştır. Ceylan ve ark. (2008) depo sularında *E.coli* oranını %2.5, Alim ve Kılıç (1995) Sivas ilindeki 1563 şebeke ve kaynak suyunda %59 oranında saptamışlardır.

Enterokoklar, içme ve kullanma sularının bakteriyolojik açıdan değerlendirilmesinde varlığı araştırılan mikroorganizmalardandır. Bu bakteriler cansız yüzeylerde uzun süre kalabilirler. *E. faecalis* ve *E. faecium* türleri suda diğer bağırsak bakterilerinden çok daha uzun süre yaşarlar. *E.coli*'nin bulunmadığı bir su örneğinde enterokokların saptanması bulaşın daha önceden gerçekleştiğini gösterir (Anonim, 2006b).

İspanya (Morinigo ve ark.,1990), Fransa (Bravo ve Vincente 1992), Avustralya (Berdard, 1989; Araujo ve ark., 1990; Muniz ve ark., 1998) gibi çeşitli ülkelerdeki deniz kıyıları ve nehirlerden alınan su örneklerinde enterokokların varlığı araştırılmış, örnekler membran filtrasyon tekniği ile incelenmiştir. Bu çalışmalarda yaz aylarında deniz kıyılarının özellikle fekal atıklar ile kontaminasyon riski bulunan bölgelerinde, insan sağlığı açısından risk oluşturabilecek düzeyde *E. faecalis* izole edilmiştir.

Yurdumuzda Van merkez ve ilçelerde bulunan kuyu, kaynak/çesme ve musluk sularından alınan toplam 366 örnekte enterokok izole edilmiştir. Merkezden alınan örneklerin sırasıyla %27'si, %28'i ve %3'ü; ilçelerdeki kuyu, kaynak/çesme, musluk ve depo sularının ise, sırasıyla %33'ü, %50'si, %49'u ve %43'ü standartlara uygun bulunmamıştır. Van merkezdeki depo sularından alınan örneklerin hiçbirinde enterokoklara rastlanmamıştır. Dere sularında enterokoklar en yüksek düzeyde belirlenmiş ve diğer kaynaklara ait değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulunmuştur (Alişarlı ve ark., 2007).

Bitlis ili ve ilçelerinde yapılan çalışmada 164 içme suyu örneğinde enterokok oranı %30 (49/164) olarak belirlenmiştir. Sadece bir ilçeden alınan depo ve musluk sularında enterokoklar bulunmamıştır. Ayrıca yerleşim yerlerine göre enterokok oranının dağılımı, istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur (Alemdar ve ark., 2009).

Yurdumuzda yapılan diğer çalışmalarda ise, Yalçın ve ark. (1988) içme ve kullanma sularının %24'ünde, Patır ve ark. (1992) içme ve kullanma sularının %11'inde, kaynak sularının % 44'ünde, kuyu sularının ise %30'unda, Kıvanç ve ark. (1996) içme-kullanma sularının %11-88'inde, kaynak sularının %44'ünde, depo sularının %43'ünde, musluk sularının ise %3-49'da, Bilgel ve ark. (1985) inceledikleri kaynak, depo ve şebeke sularının % 54,4'ünde, Arısoy ve ark. (2004) şebeke sularının % 11,9'unda enterokok saptamışlardır.

Ülkemizde enterokoklarla ilgi yapılan daha geniş çaplı bir çalışmada ise; Aydın ilinde çeşitli çevresel kaynaklardan 50 adet enterokok suşu izole edilmiştir. İzole edilen bu enterokoklardan 38'i (%76) *Enterococcus faecium*, 7'si (%14) *Enterococcus gallinarum*, 2'si (%4) *Enterococcus faecalis*, 2'si (%4) *Enterococcus durans*, 1'i (%2) *Enterococcus avium* olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda izole edilen suşların tür tanımlamalarının yapılması sonucunda, 657 su örneğinin 47'sinde (%7.15) *E. faecalis*, 36'sında (%5.48) *E. faecium*, 9'unda (%1.37) *E. gallinarum*, 3'ünde (%0.46) *E. durans*, 3'ünde (%0.46) *E.hirae* olmak üzere toplam 98 (%14.9) enterokok izole edilmiştir. Bulunan enterokok oranı yurdumuzda yapılan çalışmalarda bulunan oranlar ile benzerlik göstermektedir.

Yerleşim yerlerine göre ürettiğimiz enterokokların dağılımı Çizelge 4.3'de verilmiştir. Yerleşim yerlerine göre enterokok oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Buna göre, Gölöva'dan alınan sularda en fazla oranda (%50) bakteri bulunurken, Sivas il merkezden alınan sularda bulunmamıştır. Diğer ilçelerden toplanan suların hepsinde değişen oranlarda enterokokların ürediği görülmüştür. İl merkezinden alınan örneklerin hiçbirinde enterokok bulunmaması, ülkemizin farklı il merkezlerinden bildirilen (Alişarlı, 2007; Alemdar, 2009) sonuçlarla da uyumludur. Sivas il merkezinden alınan suların standarta uygun çıkmasının nedeninin, içme ve kullanma sularının kontrollerinin ve dezenfeksiyon işlemlerinin düzenli yapılmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Yapılan bazı çalışmalarda sulardaki mikroorganizmaların bulunma düzeyi üzerine mevsimlerin etkili olduğu bildirilmiştir. Bitlis'te ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde yapılan bir çalışmada, mevsimlerin psikrofil bakterilerin bulunma oranları üzerine etkisinin önemli olduğu ($p<0.05$) aerop mezofil canlı oranı üzerine ise bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Alemdar ve ark., 2009). Van

Bölgesi içme sularının incelendiği başka bir çalışmada, mezofilik aerop genel canlı bulunma oranının yaz ve sonbahar, psikrofilik aerop genel canlı sayısının ise kış ve ilkbahar mevsimlerinde yüksek çıktığı bildirilmiştir. Bu çalışmada mevsimler arası fark önemli bulunmuştur (Alişanlı ve ark., 2007).

Çalışmamız ilkbahar ve yaz aylarından olan Mart-Temmuz'da yapıldı. Enterokok üretilme oranları aylara göre istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın önemli olduğu ($p<0.05$) bulunmuştur. En yüksek enterokok oranı Temmuz (%17.2) ayında, bu oranı Nisan (%16.9), Mart (16.7), Haziran (13.6) ve Mayıs (%9.7) aylarındaki oranlar izlemiştir. Temmuz ayında enterokok oranının daha fazla bulunmuş olması, havaların ısınması ile suların sıcaklığının artmasına bağlanabilir. Yapılan diğer çalışmalarda (Alişanlı, 2007; Alemdar, 2009) aylara göre enterokok oranlarının dağılımı verilmediğinden verilerimizle karşılaştırılamamıştır.

Enterokoklar plazmid veya transpozanlar aracılığıyla antibiyotiklere direnç geliştirebilirler. Günümüzde bu yolla tetrasiklinler, makrolidler, linkozamidler, kloranfenikol ve aminoglikozidlere dirençli hale gelmişlerdir. Farklı aminoglikozid modifiye edici enzimlerle yüksek düzey aminoglikozid direnci gösterirler. Hastane enfeksiyonlarından üretilen enterokoklarda vankomisin direnci de önemli bir sorundur (Yamazhan ve Ulusoy, 2013).

E.faecalis ve *E.faecium* klinik örneklerden en sık üretilen türlerdir. Ülkemizde klinik örneklerden üretilen *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarını araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında saptanan ampisilin direnci %4-%92 (Iraz ve ark., 2012), %3.9-%84.6 (Çelik ve ark., 2013), %3-%89 (Dinç ve ark., 2009) gibi değişik oranlarda bildirilmiştir. Genellikle *E. faecium* suşlarında yüksek oranda ampisilin direnci bulunmuştur. Klinik örneklerden üretilen enterokollarda bulunan yüksek düzey gentamisin direnci (500 µg/mL) bu bakterilerle olan enfeksiyonların tedavisinde sıkıntı oluşturmaktadır. Sivas ilinde kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole edilen *E. faecalis*'de %33.3, *E.faecium*'da % 63.5 oranında yüksek düzey gentamisin direnci bulunmuştur (Çelik ve ark., 2013). Hastanede yatan hastalarda gastrointestinal sistemde kolonize olan VRE suşları önemli oranda hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Dünyadaki farklı merkezlerden farklı oranlarda vankomisine dirençli enfeksiyonlar bildirilmiştir. Ülkemizde de değişik oranlarda VRE izole edilmiştir (Iraz ve ark., 2012; Türkdagi ve ark., 2011;

Özseven ve ark., 2011). Sivas ilinde kan kültürlerinden üretilen 103 enterokokta %1.9 oranında VRE bulunmuştur (Çelik ve ark., 2013). Linezolid yurdumuzda VRE ve metsiline dirençli stafilokok enfeksiyonlarında kullanılmaya başlanan bir antibiyotiktir. Son yıllarda bazı ülkelerde ve yurdumuzda linezolide dirençli suşlar bildirilmeye başlamıştır (Iraz ve ark., 2012; Türkdagi ve ark., 2011; Özseven ve ark., 2011; Afşar ve ark., 2012).

Klinik örneklerden üretilen enterokokların antibiyotiklere direnç durumlarının araştırıldığı çok sayıda çalışma olmasına rağmen çevresel örneklerden izole edilen enterokokların direnç durumlarını bildiren az sayıda çalışma bulunmaktadır. İskenderun kıyı körfez şeridindeki deniz suyu örnekleri ile yapılan bir çalışmada, örneklerden 158 adet *Enterococcus faecalis* izole edilmiştir. Bu suşların onbeş farklı antibiyotiğe dirençleri araştırılmıştır. İzole edilen suşlar gentamisine %98.7, siproflaksine %77.8, imipeneme %77.2, levofloksasine %72, vankomisine %3.2, minosikline %13.3 ve kinopristin-dalfopristine %13.3 oranında dirençli bulunmuş, linezolide karşı hiçbir izolat dirençli bulunmamıştır (Dinçer ve ark., 2010).

Oryaşın ve ark.'nın Aydın ilinde çeşitli çevresel kaynaklardan izole edilen 50 enterokok suşu ile yaptıkları çalışmada; suşların 17'si (%34) eritromisine, 39'u (%78) klindamisine, 39'u (%78) pirlimisine, 11'i (%22) ampisiline, 15'i (%30) penisiline, 5'i (%10) doksisisikline, 4'ü (%8) vankomisine, 10'u (%20) tetrasikline, 29'u (%58) rifampisine, 6'sı (%12) norfloksasine dirençli olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda; enterokok suşlarının penisilin, ampisilin, vankomisin, teikoplanin, gentamisin, daptomisin, linezolid duyarlılıkları araştırılmıştır. İzole edilen 98 enterokok suşunun 2'si penisiline, 1'i gentamisine dirençli, 1'i linezolide orta duyarlı, 94'ünün ise tüm antibiyotiklere duyarlı olduğu bulunmuştur. Üretilen enterokokların diğer illerdeki yapılan çalışmalarda üretilen enterokoklara göre antibiyotiklere daha duyarlı oldukları görülmüştür.

6 SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Sivas ili, merkeze bağlı yerleşim yerleri ve ilçelerden alınan su örneklerinde membran filtrasyon yöntemi kullanılarak enterokok varlığı ortaya konuldu. Toplam 657 su örneğinde 98 (%14.9) enterokok suşu üretildi.

İzole edilen 98 enterokok'un 47'si (%47.9) *E.faecalis*, 36'sı (%36.7) *E.faecium*, 9'u (%9.2) *E.gallinarum*, 3'ü (%3.1), *E.durans*, 3'ü (%3.1), *E.hirae*'di.

Yerleşim yerlerine göre enterokok oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın önemli olduğu bulundu ($p<0.05$). Sivas il merkezden alınan sularda enterokoklar bulunmadı.

Tüm suşların penisilin, ampisilin, vankomisin, teikoplanin, gentamisin, daptomisin ve linezolide duyarlılıkları araştırıldı. Şuşların 2'sinin penisiline, 1'inin gentamisine dirençli, 1'inin linezolide orta duyarlı, 94'ünün ise tüm antibiyotiklere duyarlı olduğu bulundu.

Sonuç olarak, Sivas ili çevresinden alınan sularda %14.9 oranında enterokok suşlarının üretilmiş olması, bu suların içme ve kullanma suları TSE 266 yönetmeliğine göre standartlara uygun olmadığını göstermiştir. Bu nedenle bu yerleşim yerlerindeki suların rutin bakteriyolojik kontrollerinin yapılmasını, standarta uygun hale getirilebilmesi için gerekli önlemlerin alınmasını önermekteyiz.

7 KAYNAKLAR

- Akan, Ö.A.** (2004). Enterokok türlerinin mikrobiyolojisi, Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar, Bilimsel Tıp Yayınevi, (Ed.: Ünal, S., Ahapoğlu, H.), Ankara, 5-9.
- Akçimen, B.**, (2010). Hastane İnfeksiyonlarından İzole Edilen Vankomisin Dirençli Enterokokların Pulsed Field Jel Elektroforez Yöntemiyle Genotip Tayini, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Adana, 116s.
- Alemdar, S., Kahraman, T., Ağaoğlu, S., Alisharlı, M.** (2009). Bitlis İli İçme Sularının Bazı Mikrobiyolojik ve Fizikokimyasal Özellikleri, Ekoloji, 19, 73, 29-38.
- Alim A., Kılıç H.** (1995). Sivas İl Ve İlçe Merkezlerindeki İçme Sularının Bakteriyolojik İncelenmesi, C.Ü. Tıp Fakültesi Derg, 17, 251-255.
- Alisharlı, M., Ağaoğlu, S., Alemdar, S.**, (2007). Van Bölgesi İçme ve Kullanma Sularının Mikrobiyolojik Kalitesinin Halk Sağlığı Yönünden İncelenmesi, YYÜ. Vet. Fak. Derg., 18, 1, 67-77.
- Anonim** (1998). SAS User's Guide Statistics, SAS Institute Inc, (Ed.: Carry, N.C.), USA.
- Anonim** (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC International, 17th Ed., (Ed.: Horwitz, W.), Gaithersburg, USA.
- Anonim** (2003). National Primary Drinking Water Standards, EPA 816-F-03-016, Washington DC, US Environmental Protection Agency, <http://www.epa.gov/safewater/consumer/pdf/mcl.pdf>
- Anonim** (2003b). Water for People Water for Life, The United Nations World Water Development Report, <http://unesdoc.unesco.org/images/0012/001295/129556e.pdf>.
- Anonim** (2004). Araştırma, Planlama ve Koordinasyon Kurulu Başkanlığı, Sağlık İstatistikleri, Sağlık Bakanlığı, Ankara.
- Anonim** (2005). TS 266: Sular-İnsani Tüketim Amaçlı Sular, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim** (2006). İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik, T.C. Sağlık Bakanlığı, Resmi Gazete, Tarih: 15.09.2006, Sayı: 26290, Ankara.

- Anonim** (2006b). Guidelines for Drinking-Water Quality. Incorporating First Addendum, Vol. 1, Recommendations, 3rd Ed., World Health Organization, http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq0506.pdf.
- Anonim** (2007). Water Quality Outlook. UNEP Global Environment Monitoring System (GEMS)/Water Programme Office, http://esa.un.org/iys/docs/san_lib_docs/water_quality_outlook.pdf.
- Arısoy, M., Ateş, S., Piyal, B., Dalgıç, N., Yıldız, A.** (1999). Keçiören ilçesi şebeke suyunun koliform bakteri yönünden analizi, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 56, 3, 115-120.
- Başustaoğlu, A.** (2004). Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu. Ed: Ulusoy, S., Usluer, G., Ünal, S. Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 141-158.
- Başustaoğlu, A., Aydoğan, H.** (2002). Enterokoklar. Ed: Uzun, Ö. İnfeksiyon Hastalıkları Serisi, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 5, 2, 45-60.
- Bilgehan, H.** (2000). Klinik Mikrobiyoloji, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, Onuncu baskı, İzmir, 271-279.
- Bilgehan, H.** (2002). Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, Üçüncü baskı, İzmir, 495-523.
- CLSI.** (2012). M07-A9, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, ISBN 1-56238-784-7, 32, 2.
- Çetinkaya, Y., Falk, P., Mayhall, CG.** (2000). Vancomycin-Resistant Enterococci. Clinical Microbiology Reviews, 13: 686-707.
- Çelik, C., Uysal, E.B., Gözel, M.G., Bakıcı, M.Z., Elaldı, M.** (2013). Kan Dolaşımı İnfeksiyonlarından İzole Edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* Bakterilerinin Antimikrobiyal Direnç Paterni, Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi, 18, 2, 83-89.
- Derbentli, S.** (1998). Nozokomiyal enterokok enfeksiyonları. Galenos.23: 14-17
- Eaton, T.J., Gasson, M.J.** (2001). Molecular screening of Enterococcus virulence determinants and potential for genetic Exchange between food and medical isolates. Appl. Environ. Microbiol., 67, 1628–1635.
- Facklam, R.R., Teixeria, L.M.** (1998). Enterococcus. *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial infections*. Vol 2 (Systematic Bacteriology). Ed: Edvard Arnold, 9th edition. London, 669-682.

- Franz, C.M., Muscholl-Silberhorn, A.B., Yousif, N.M., Vancanneyt, M., Swings, J., Holzappel, W.H.,** (2001). Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food, *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 4385– 4389.
- Kaleli, D., Durlu Özkaya, F.** (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 17. Bölüm, Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, Sim Matbaası, Ankara, 522.
- Keven, F.** (2002). Elazığ içme sularının yedi yıllık periyottaki kimyasal ve mikrobiyolojik değişimi, *Gıda Dergisi*, 27, 5, 407-410.
- Kıvanç, M., Kunduhoğlu, B, Atik, S., Malkoçoğlu, B.** (1996). Eskişehir içme ve kullanma sularının bakteriyolojik kirliliği, *Ekoloji*, 19, 19-21.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., Procop, G., Woods, G.,** (2005). *Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology*. Sixth edition. Philadelphia: Lippincott, 700-711.
- Korten, V.** (2002). Enterokoklar, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., 2.baskı, (Çeviri: Topçu, A.W., Söyletir, G., Doganay, M.), İstanbul, 1497-1506.
- Lefort, A., Mainandi, J.L., Tod, M., Lortholory, O.** (2000). Antienterococcal antibiotics, *Med Clin North Ame*; 6, 1471-1495.
- Moellering, J.C.** (2002). “Enterococcus Species”. In Mandell G. L, et al. *Principles and Practise of Infectious Diseases*, 5th Ed. NewYork: Churcill Livingstone, 2147- 2156.
- Munsuz, N., Ünver, İ.** (1995). Su Kalitesi. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yay. No: 1389, Ankara, 403.
- Murray, B.E.** (1998). *Diversity among Multidrug-Resistant Enterococci*, *Emerging Infectious Diseases*, 4:37-47.
- Murray, B.E., Mederski-Samoraj, B.** (1983). Transferable beta-lactamase a new mechanism for in vitro penicillin resistance in *Streptococcus feacalis*, *J Clin Invest* 72, 1168-1171.
- Oryaşın, E.,** (2008). Çeşitli Çevresel Kaynaklardan İzole Edilen Enterokokların Disk Difüzyon Yöntemi ile Antibiyotik Duyarlılıklarının Tespiti, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, 80.

- Öngen, B., Gürler, N., Esen, F., Karayay, S., Töreci, K.** (1999). Glikopeptidlere ve denendiği bütün antibiyotiklere dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *Ankem Derg.*, 13, 501-505.
- Şardan, Y.Ç.** (2004). Enterokoklarda direnç sorunu. Ed: Şardan, Y.Ç. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar, Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara, 10-16.
- Tuncay, H.** (1994). Su Kalitesi. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ofset Basımevi, İzmir.
- Uttley, A.H.C., Collins, C.H., Naidoo, J., George, R.C.** (1988). Vancomycin resistant enterococci, *Lanset*, 1, 57-58.
- Vural, T., Sekercioglu, A.O., Ögünç, D., Gültekin, M., Çolak, D., Yeşilipek, A., Ünal, S., Kocagöz, S., Mutlu, G.,** (1999). Vankomisine Dirençli *Enterococcus Faecium* Suşu, *Ankem Der.*, 13, 1, 1-4.
- Yamazhan, T., Ulusoy, S.** (2013). Vankomisine Dirençli Enterokoklar, Hastane Enfeksiyonları, 3, 19.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Nurcan ÖZTÜRK
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas, 25/02/1981
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Şeyhşamil Mah. Kartopu Sokak Megakent Sitesi Sidaş A Blok No:4A Kat:4 Daire 17-Sivas
E-posta Adresi	nurteurk@mynet.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lisans	Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 2008
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2014