



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
ENTEROCOCCUS TÜRLERİNDE ANTİBİYOTİK
DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI**

Tıpta Uzmanlık Tezi

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR**

Dr. Şule ÇELİK

İSTANBUL - 2013

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda geçirdiğim uzmanlık eğitimim boyunca yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Nuri KİRAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin araştırma projesinin planlanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren değerli hocam Prof. Dr. Müzeyyen MAMAL TORUN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin çalışma aşamasında ve yazımının tamamlanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen, uzmanlık eğitimim boyunca akademik bilgi ve tecrübelerini aktaran, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk ve gurur duyduğum değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen, akademik bilgi ve tecrübelerini aktaran, anaerop bakteriyolojide yetişmemde büyük emeği olan, teşvik edici yardımları ile tez çalışmalarımda destek olan değerli hocam Doç. Dr. Hrisi BAHAR'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana destek veren değerli hocalarım Prof. Dr. Bekir KOCAZEYBEK'e, Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI'ya, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ'ye, Prof. Dr. Murat HÖKELEK'e, Prof. Dr. Gökhan AYGÜN'e, ve Doç. Dr. Kenan MİDİLLİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Erdal POLAT'a, Doç. Dr. Suat Sarıbaş, Doç. Dr. Mustafa ASLAN ve Doç. Dr. Sevgi ERGİN'e teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki eğitimim süresince beraber çalıştığım, tanışmış olmaktan büyük mutluluk duyduğum değerli asistan ve uzman arkadaşlarıma, laborant arkadaşlarıma, Anabilim Dalı sekreterlerine, kayıтта çalışan arkadaşlarıma ve burada adını belirtmediğim diğer birimlerde çalışan tüm arkadaşlarıma,

Büyük bir özveriyle beni bugünlere getiren, her zaman yanımda olduklarını hissettiğim anneme, babama ve başından sonuna kadar sabırla beni destekleyen sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından, 24494 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	4
ŞEKİL LİSTESİ	5
KISALTMALAR.....	7
ÖZET	9
SUMMARY.....	10
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	11
2.GENEL BİLGİLER	13
2. 1. TARİHÇE:	13
2. 2. <i>ENTEROCOCCUS</i> CİNSİ BAKTERİLERİN SINIFLANDIRILMASI:	13
2. 3. ENTEROKOKLARIN MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ:	17
2. 3. 1. <i>Morfolojisi ve Antijenik Yapısı</i> :	17
2. 3. 2. <i>Kültür ve Fizyolojik Özellikleri</i> :	17
2. 4. ENTEROKOKLARIN VİRULANS VE PATOJENİTELERİ:	18
2. 4. 1. <i>Sitolizin (Hemolizin)</i> :	19
2. 4. 2. <i>Lipoteikoik asit (LTA)</i> :	19
2. 4. 3. <i>Feromonlar</i> :	19
2. 4. 4. <i>Agregasyon maddesi</i> :	19
2. 4. 5. <i>Jelatinaz</i> :	20
2. 4. 6. <i>Süperoksitler</i> :	20
2. 4. 7. <i>Enterokok Yüzey Proteini (Esp)</i> :	20
2. 4. 8. <i>Hyaluronidaz</i> :	21
2. 4. 9. <i>Antibiyotik Direnci</i> :	21
2. 5. EPİDEMİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ:	21
2. 6. ENTEROKOKLARIN YAPTIĞI HASTALIKLAR:	23
2. 6. 1. <i>Üriner Sistem Enfeksiyonları (ÜSE)</i> :	23
2. 6. 2. <i>İntraabdominal Enfeksiyon</i> :	24
2. 6. 3. <i>Bakteriyemi</i> :	24
2. 6. 4. <i>Endokardit</i> :	24
2. 6. 5. <i>Kateter İlişkili Bakteriyemi</i> :	25
2. 6. 6. <i>Neonatal Sepsis</i> :	25
2. 6. 7. <i>Menenjit</i> :	25
2. 7. TANI:	25
2. 7. 1. <i>Ticari sistemlerle tür düzeyinde tanımlama</i>	27
2. 7. 2. <i>Moleküler yöntemlerle tanımlama</i> :	27
2. 8. ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ:	29
2. 8. 1. <i>İntrensek (doğal) direnç</i> :	30

2. 8. 1. 1. Beta-laktam direnci:	30
2. 8. 1. 2. Aminoglikozid direnci:	30
2. 8. 1. 3. Trimetoprim-sulfametoksazol direnci:	30
2. 8. 2. <i>Kazanılmış Direnç</i> :	30
2. 8. 2. 1. Beta-laktam Direnci:	31
2. 8. 2. 2. Aminoglikozid Direnci:.....	31
2. 8. 2. 3. Kloramfenikol direnci:	32
2. 8. 2. 4. Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B (MLSB) direnci:.....	32
2. 8. 2. 5. Tetrasiklin direnci:	32
2. 8. 2. 6. Kinolon direnci:.....	33
2. 8. 2. 7. Oksazolidinon direnci:	33
2. 8. 2. 8. Glikopeptit direnci:	33
2. 8. 2. 9. Tolerans:.....	36
2. 8. 2. 10. Enterokoklarda Vankomisin Direncinin Saptanması:	36
2. 9. TEDAVİ:	36
2. 10. NOZOKOMİYAL VRE KONTROLÜ:	37
2. 10. 1. <i>Uygun vankomisin kullanımı:</i>	37
2. 10. 2. <i>Hastane personelinin eğitimi:</i>	37
2. 10. 3. <i>Mikrobiyoloji laboratuvarının etkin kullanımı:</i>	37
2. 10. 4. <i>Kontrol önlemlerinin uygulanması:</i>	38
2. 11. SÜRVEYANS KÜLTÜRLERİ:	39
2. 12. KOLONİZASYONUN ERADİKASYONU:	39
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	41
3. 1. GELEN KLİNİK MATERYALLERDEN ENTEROKOKLARIN İZOLASYONU :	41
3. 2. DEĞERLENDİRME:	42
3. 2. 1. <i>Katalaz testi-deneyi:</i>	43
3. 2. 2. <i>Bile eskulin testi deneyi:</i>	43
3. 2. 3. <i>Tuz Tolerans Testi (% 6,5' luk NaCl testi):</i>	43
3. 2. 4. <i>PYR Testi:</i>	43
3. 2. 5. <i>Nitrosefin testi:</i>	44
3. 2. 6. <i>İzole Edilen Enterokokların Tür Tayini:</i>	44
3. 2. 7. <i>Duyarlılık Testleri:</i>	46
3. 2. 7. 1. <i>Disk Difüzyon testi:</i>	46
3. 2. 7. 2. <i>E-test yöntemiyle minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) tayini:</i>	48
4. 2. 8. <i>PCR:</i>	48
4. BULGULAR	52
5. TARTIŞMA	67
6. SONUÇ	81
7. KAYNAKLAR:	82

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 2. 1: Enterokoklar ile bazı gram pozitif bakterilerin ayırımında kullanılan testler	14
Tablo 2. 2: Enterokok türlerinin gruplara ayrılması ve fenotipik özellikleri	16
Tablo 2. 3: Enterokoklarda antimikrobiyal direnç	29
Tablo 2. 4: Enterokoklarda Aminoglikozid - Penisilin Sinerjisini Ortadan Kaldıran Aminoglikozidi Modifiye Edici Enzimler	32
Tablo 2. 5: Enterokoklarda glikopeptit direnç tipleri.	34
Tablo 3. 1: API 20 Strep'in değerlendirme kriterleri	45
Tablo 3. 2: CLSI standartlarına göre zon çapı sınır değerleri (Clinical and Laboratory Standards Institute (2010))	46
Tablo 3. 3: EUCAST kriterlerine göre tigesiklin için zon çapı sınır değerleri	48
Tablo 3. 4: Çalışmada kullanılan oligonükleotit primerleri	49
Tablo 4. 1. Gönderilen Materyallerin Dağılımı	51
Tablo 4. 2. Materyallerin Kliniklere Göre Dağılımı	53
Tablo 4. 3: Enterokok kökenlerinin izole edildiği hasta gruplarına göre antibiyotik direnç oranları	54
Tablo 4. 4. Hastaların Özellikleri	55
Tablo 4. 5. Enterokokların tür düzeyinde dağılımı ve izole edildiği örnekler	56
Tablo 4. 6: <i>E.faecalis</i> ve <i>E.faecium</i> antibiyotik direnç oranları	56
Tablo 4. 7. Türlerine göre AME, erm ve Van genlerinin dağılımı	57
Tablo 4. 8. VRE Kökenlerinin Vankomisin ve Teikoplanin MİK Değerleri	58
Tablo 4. 9. VRE kökenlerinin antibiyotik direnç oranları	59

ŞEKİL LİSTESİ

Resim No:	Sayfa No:
Resim 1: Kökenlerde ermA (139 bp),ermC (299 bp), aph (3)-IIIa (523 bp) için elde edilen agaroz jel görüntüsü. 12[ermC, aph (3')-IIIa], 13 (ermC), 14 [ermA, ermC, aph (3')-IIIa], 15 (ermC), 16 [aph (3')-IIIa],17 (ermC), 18 (ermC), 19 (ermC), 20 (ermC), 21 (ermA, ermC)	61
Resim 2: 1 (ermC), 2 (ermC), 3 [ermC, aph (3')-IIIa], 4 (ermC), 5 (ermC), 6 (ermC), 8 (ermC), 9 [ermC, aph(3')-IIIa], 10 (ermC), 11 (ermC)	61
Resim 3: 34 [aph (3')-IIIa], 36 [aph (3')-IIIa], 37 [aph (3')-IIIa],38 [aph (3')-IIIa], 41 [aph (3')-IIIa, ermC], 42 (ermC), 43 (ermC).	62
Resim 4: 23 (ermC), 28 [aph (3')-IIIa, ermC], 30 [aph (3')-IIIa], 31 [aph (3')-IIIa], 32 [aph (3')-IIIa].	62
Resim 5: Kökenlerde ermA (139 bp),ermC (299 bp), aph (3)-IIIa (523 bp), ermB (142 bp), ant(4') (294 bp) için elde edilen agaroz jel görüntüsü. 44, 45, 46, 47, 48 =ermC. 1, 2, 3, 4, 5= ermB	63
Resim 6: Kökenlerde ermB (142 bp), ant (4') (294 bp) için elde edilen agaroz jel görüntüsü. 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15= ermB	63
Resim 7: Kökenlerde ermB (142 bp), ant (4') (294 bp), aac (6')-aph (2'') (369 bp) için elde edilen PCR ürünleri. 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29,	64
Resim 8: Kökenlerde ermB (142 bp), ant (4') (294 bp), aac (6')-aph (2'') (369 bp) için elde edilen PCR ürünleri. 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,43, 44, 45, 46, 47, 48= ermB	64
Resim 9: Tüm kökenlerde VanA ve VanB için elde edilen PCR ürünleri. 20, 26, 34, 38, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49= VanA	65

Resim 10: aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia (505 bp) için elde edilen agaroz jel görüntüsü **65**

Resim 11: Marker. 9, 11, 12, 13, 18, 21, 27, 28, 31, 33, 35, 36, 41, 42, 45, 48= aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia **66**

KISALTMALAR

VRE: Vankomisine dirençli enterokok

GRE: Glikopeptitlere dirençli enterokok

BE: Safra-eskülin

LAPaz: Lösin aminopeptidaz

LAP: Lösin-beta-naftilamid

PYR: L-pirolidonil-beta-naftilamid

YDG: Yüksek düzey gentamisin

YDS: Yüksek düzey streptomisin

YDGD: Yüksek düzey gentamisin direnci

YDSD: Yüksek düzey streptomisin direnci

YDAD (HLAR): Yüksek düzey aminoglikozid direnci

MHA: Mueller Hinton Agar

LTA: Lipoteikoik Asit

Esp: . Enterokok Yüzey Proteini

ÜSE: Üriner Sistem Enfeksiyonları

BOS: Beyin Omirilik Sıvısı

ETA: Endotrakeal Aspirat

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

MMP: Matriks metalloproteinaz (MMP)

MRSA: Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus

PBP: Penisilin Bağlayıcı Protein

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

HICPAC: Hospital Infection Control Practices Advisory Committee

ETA: Endotrakeal Aspirasyon

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Aac (6')- aph (2''): 6'-N-asetiltransferaz-2''-O-fosfotransferaz

Aph (3'): 3'-O-fosfotransferaz

Ant (4'): 4'-O-adeniltransferaz

MLSB: Makrolid Linkozamid Streptogramin B

Erm: Eritromisin dirençli metilaz

MBK: Minimal Bakterisidal Konsantrasyon

MİK: Minimal İnhibitör Konsantrasyon

EARSS: Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi

ÖZET

Ocak 2012-Ocak 2013 tarihlerinde Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gelen 128 klinik örnekten enterokok kökeni izole edildi. APİ 20 Strep testi ile tiplendirildi. Antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon ve vankomisin, teikoplanin, daptomisin, yüksek düzey gentamisin duyarlılığı E-test yöntemi ile yapıldı. Toplam 50 kökünde multipleks PCR ile aminoglikozit modifiye edici enzimleri kodlayan genler, eritromisin metilaz genleri ve vankomisin direnç genleri araştırıldı.

128 enterokok kökeninin; % 49 *E.faecalis*, % 46 *E.faecium*, 4'ü *E.avium*, 2'si *E.durans*'dı. %78'i tetrasikline, % 73'ü eritromisine, %52'si rifampisine, %50'si kinupristin/dalfopristine, %49'u siprofloksasin ve levofloksasine, %37'si penisilin ve ampisiline, %27'si kloramfenikole, %22'si yüksek düzey streptomisine, %23'ü vankomisin ve teikoplanine,%17'si nitrofurantoine, %16'sı yüksek düzey gentamisine dirençliydi. Kökenlerimizin hiçbirinde daptomisin, linezolid ve tigesiklin direnci saptanmadı ve beta laktamaz negatifti.

E. faecium incelediğimiz antibiyotiklere *E.faecalis*'e göre anlamlı derecede daha dirençliydi (p< 0,05).

İzole ettiğimiz 30 VRE kökeninin 29'unda vanA geni tespit edildi. YDG direnci olan 20 kökenin 17'sinde aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia geni, 2'sinde aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia ve aph (3')-IIIa geni saptandı. Fenotipik olarak YDGD olan bir kökünde ise bu gen tespit edilmedi. YDGD olmayan 30 kökenin 11'inde aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia geni, 6'sında aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia ve aph (3')-IIIa geni, 7'sinde aph (3')-IIIa geni saptandı ve incelenen kökenlerin hiçbirinde ant (4') geni tespit edilmedi. Çalışılan 50 kökenin 49'unda ermB geni saptandı. Bir kökünde ermA ve ermC geni tespit edildi.

Sonuç olarak izole ettiğimiz vankomisin dirençli enterokok kökenlerinin vanA genotipinde olduğu, çoğunun aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia ve aynı zamanda ermB ve ermC geni taşıdığı belirlenmiştir. Bu çalışma, ciddi enterokok enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde daha dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir

Anahtar kelimeler: enterokok, antibiyotik direnci, direnç genleri

SUMMARY

In this study enterococcus strains were isolated from 128 clinical samples that were collected between October 2012-October 2013 in the Cerrahpaşa Medical Faculty Microbiology Department. They have been typed with API 20 strep test and their antibiotic sensibilities have been analysed with disc diffusion method. E-test method has been used for identifying vancomycin, teicoplanin, daptomicin and high level gentamicin susceptibility.

A total of 50 strains were analysed genes which encodes aminoglycosides modifying enzymes, erythromycin methylase genes and vancomycin resistant genes by using multiplex PCR method.

Among the 128 enterococcus strains, the prevalence was: *E. faecalis* 49%, *E. faecium* 46%, *E. avium* 4 and *E. durans* 2. Of these 78% to tetracycline, 73% to erythromycin, 52% to rifampicin, 50% to quinupristin/ dalfopristin, 49% to ciprofloxacin and levofloxacin, 37% to penicillin and ampicillin, 27% to chloramphenicol, 22% to high level streptomycin, 23% to vancomycin and teicoplanin, 17% to nitrofurantoin, 16% to high level gentamicin were resistant. Daptomicin, linezolid ve tigecycline resistance have not been detected and also beta lactamase was negative.

E. faecium strains when compared with *E. faecalis* strains showed significantly higher antibiotic resistance ($p < 0,05$).

vanA gene has been found in 29 of the isolated 30 VRE strain. 17 aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia gene, 2 aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia ve aph (3')-IIIa gene have been determined from 20 of the HLGR strains. This gene has not been determined in one of phenotypically HLGR strain. 11 aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia gene, 6 aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia ve aph (3')-IIIa gene, 7 aph (3')-IIIa gene have been found in 30 strains which have not HLGR and ant (4') gene have not been detected none of the strains. ermB gene has been found in 49 of a total of 50 strains. ermA and ermC gene have been found only in one strain.

As a result isolated enterococcus strains are vanA genotype, most of them carry aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia and also both ermB and ermC genes. This study is show that we should be aware of more for the empirical treatment of serious enterococcal infections.

Keywords: enterococcus, antibiotic resistance, resistance genes

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Enterokoklar, 1980'li yılların ortalarında, moleküler tanı ve tiplendirme yöntemleri ile ayrı bir cins olarak streptokoklardan ayrılmış, Enterococcus genusu olarak taksonomide yer almışlardır (1). Enterokoklar gastrointestinal ve genital flora üyesidir. Ancak kronik hastalığı bulunan yaşlılarda ya da geniş spektrumlu antibiyotik kullanan, invazif işlem uygulanmış, uzun süreli hastane yatışı olan hastalarda fırsatçı enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Bu bakteriler nozokomiyal enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan etkenler arasında yer almaktadır. En çok idrar yolu enfeksiyonu etkeni olmak üzere bakteriyemi, endokardit ve yenidoğan menenjit gibi ölümcül seyirli olabilecek enfeksiyonlara da neden olabilmektedirler (2).

Tüm enterokok enfeksiyonlarının % 80-90'ından *E. faecalis*, % 5-10'undan *E. faecium* sorumludur (2). Enterokoklar, kommensal mikroorganizmalardır. Hastalık oluşturabilmeleri için önce kolonizasyon bölgesinden ayrılır ve vücudun savunma mekanizmalarından kaçarak konakta patolojik değişikliklere neden olurlar. Bunu doğrudan toksik etki ile ya da dolaylı olarak inflamatuvar yanıt oluşturarak yaparlar (3).

Gerek intrinsek olarak taşıdıkları klindamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, düşük düzey penisilin ve düşük düzey aminoglikozid direnç özellikleri gerekse mutasyon ya da genetik madde aktarımı sonucu kazandıkları eritromisin, tetrasiklin, kloramfenikol, rifampin, nitrofurantoin, fusidik asit, florokinolon, vankomisin, yüksek düzey aminoglikozid, yüksek düzey penisilin direnç özellikleri ve beta-laktamaz aktiviteleri; her tür ortamda canlılıklarını sürdürebilme yeteneklerinden dolayı bu kommensal bakterilerin nozokomiyal patojenler arasında görülme sıklığı artmaktadır (4, 5).

İntrinsek direnç enterokok türlerinin kromozomlarında kodlanmış bir özelliktir. Kazanılmış direnç ise, yapısal DNA'daki mutasyonlarla veya plazmid ya da transpozon üzerindeki bir genetik materyalin transferiyle oluşur (4). Enterokoklar son 20 yılda glikopeptid antibiyotiklere karşı da direnç geliştirmiş olmaları nedeni ile hastanelerde önemli bir sorun haline gelmişlerdir. Vankomisin dirençli enterokok (VRE) enfeksiyon ve kolonizasyonu giderek artmaktadır (5,6). Enterokok türlerinden, özellikle *E. faecium* yüksek düzey glikopeptid direncinin yayılmasından sorumlu tutulmaktadır. VanA en sık bildirilen fenotiptir. Konjugasyon ile transfer edilebilir özellikte olan bu direnç *S. aureus* gibi önemli bir patojende ilk kez 2002 yılında ABD'de bildirilmiştir (7, 8). Türkiye'den ilk VRE kökeni 1998

yılında Akdeniz Üniversitesi'nden bildirilmiş bunu Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İstanbul Tıp Fakültesi ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nden bildirilen kökenler izlemiştir. VRE sorunu ülkemizde de giderek artmaktadır (9, 10,11). Vankomisin dirençli enterokoklarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotik seçimi önemli ölçüde azalmaktadır. Vankomisine dirençli patojenler çoğunlukla diğer antibiyotiklere de dirençli olduklarından tedavide sorunlar yaşanmaktadır. Enterokoklar ve diğer multirezistan gram pozitif kokların neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için geliştirilen kinupristin/dalfopristin, daptomisin, ramoplanin, everninomicin, linezolid gibi yeni ajanların hastaya verilme güçlükleri, yan etkileri ve bu antibakteriyel ilaçlara da direnç gelişme riski herşeyi tekrar gözden geçirmemizi gerekli kılmaktadır.

Uygun olmayan antibiyotik kullanımı VRE kolonizasyonunu arttırarak hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Bu nedenle hastanelerin kendi kültür (izolasyon) ve direnç profillerine göre antibiyotik kullanım politikaları oluşturmaları enfeksiyonun yayılımını önlemede önemli rol oynamaktadır.

Biz bu çalışmamızda, hastanemizin çeşitli kliniklerinden laboratuvarımıza gönderilen örneklerden izole ettiğimiz enterokok kökenlerinin antibiyotik duyarlılıklarını ve son yıllarda giderek artan VRE varlığını araştırdık.

2.GENEL BİLGİLER

2. 1. Tarihçe:

Enterokok ismi ilk defa 1899 yılında Fransa'da Thiercelli tarafından, bakterinin intestinal kaynaklı olduğunu belirtmek için kullanılmıştır. 1906 yılında Andrewes ve Holder tarafından endokarditli bir hastanın kanından izole edilen mikroorganizmaya *Streptococcus faecalis* ismi verilmiş ve 1919'da Orla-Jensen *Streptococcus faecium*'u tanımlamıştır (2, 12). 1937'de Sherman'ın sınıflaması ile streptokoklar; piyojenik, viridans, laktik, enterokoklar diye 4 gruba ayrılmıştır. Enterokoklar 1980'li yılların ortalarına kadar D grubu streptokoklar arasında gösterilmiş, gelişen moleküler tanı ve tiplendirme çalışmaları sonucunda *Streptococcus* cinsinden ayrılarak, *Enterococcus* adı altında ayrı bir cins olarak sınıflandırılmışlardır (1). İlk tanımlandıkları yıllarda hemen sadece endokardit olgularında etken olarak gösterilmiştir. Zamanla rekombinasyon özellikleri ve sık gerçekleşen horizontal gen transferi, bakteri genomunun yüksek düzeyde değişikliğe uğramasına yol açmış ve bu durum enterokokların, değişen çevre koşullarına hızla yanıt vermesini sağlayarak tüm dünyada yayılmasına neden olmuştur (13,14). Enterokoklar, zorlu çevre şartlarında canlılıklarını sürdürebilme yetenekleri ve zamanla glikopeptit yapısındaki antibiyotiklere direnç kazanmalarından dolayı, hastane enfeksiyonlarının gittikçe önemi artan nozokomiyal patojenleri arasında yer almaktadır. Glikopeptitlere dirençli enterokokların (GRE), 1988 yılında Avrupa'da ilk kez ortaya çıkışının ardından, bu izolatların hastanelerde artan sıklıkta salgınlara yol açması dikkatlerin hızla bu bakteriye çevrilmesine neden olmuştur (13,15). 1993 yılında, ABD hastanelerindeki yoğun bakım ünitelerinde VRE prevalansının 20 kat arttığı görülmüştür (13). Ülkemizde de 1990'lı yılların sonundan itibaren VRE izolatları birçok merkezden bildirilmeye başlanmıştır (16).

2. 2. *Enterococcus* Cinsi Bakterilerin Sınıflandırılması:

Taksonomik analizlerde genetik yöntemler kullanılmaya başlanmadan önce, enterokoklar diğer streptokok ve ilgili bakterilerden, 10-45° C'de üreyebilmeleri, % 40 safrada da canlı kalabilmeleri, pirrolidonil arilamidaz (PYR) üretebilmeleri ile ayırt edilmekteydiler. % 90'dan fazlası da hücre duvarlarında Lancfield grup D lipoteikoik asit içermektedir (4).

Tablo 2. 1: Enterokoklar ile bazı gram pozitif bakterilerin ayırımında kullanılan testler (4)

Test	Pozitiflik Oranı (%)					
	Enterococcus	Lactococcus	Aerococcus	Pediococcus	Leuconostoc	Lactobacillus
Glikozdan gaz oluşumu	<1	0	0	0	100	50
Vankomisine direnç	<1*	0	0	100	100	90
D Grubu anti serumuyla reaksiyon	80	0	0	95	35	25
Safra-eskülin pozitifliği	99	75	60	100	90	50
PYR hidrolizi pozitifliği	100	69	100	0	0	7
%6.5 NaCl'de üreme	100	56	100	35	60	40
45°C'de üreme	99	25	0	83	0	60
10°C'de üreme	85	100	0	4	75	100

*Enterokoklarda vankomisine direnç giderek artmaktadır

Yıllarca *Streptococcus* cinsinin temel gruplarından biri olarak kabul edilen enterokoklar, DNA hibridizasyon çalışmaları, 16S rRNA dizi analizi ve total hücre protein profil analizi gibi gelişen moleküler tanı ve tiplendirme çalışmaları ile yeni bir cins olarak tanımlanmışlardır (4). Enterococcus cinsi içinde 38 tür tanımlanmıştır. *Enterococcus faecalis* en önemli türdür ve insanlardaki enterokok enfeksiyonlarının % 80-90'ından sorumludur. *Enterococcus faecium* ikinci sıklıktadır ve enfeksiyonların %10-15'inden izole edilmektedir. Son zamanlardaki bulgular özellikle çoklu antibiyotiğe karşı dirençli *E. faecium* sıklığının birçok hastane merkezinde arttığını göstermektedir. *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. cecorum*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. raffinosus*, *E. malodoratus*, *E. dispar* ise daha nadir olarak klinik olgulardan izole edilmektedir (2, 17, 18, 19). Enterokoklar mannitol, sorbitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arginini hidrolize etmelerine göre beş gruba ayrılırlar (Tablo 2. 2) (18,20):

Grup I: Mannitol, sorbitol, sorboz sıvı besiyerinde asit oluşturur, arjinini hidrolize etmez. *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. pallens*, *E. gilvus*'dan oluşur.

Grup II: Mannitol sıvı besiyerinde asit oluşturur, arjinini hidrolize eder ancak sorbozda asit yapmaz, sorbitolde ise değişken reaksiyon verirler. *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. haemoperoxidus*, *E. mundtii* ve *E. gallinorum*'dan oluşur.

Grup III: Arjinini hidroliz eder, ancak üç karbonhidrattan da asit yapmaz. *E. villorum*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. ratti* ve *E. faecalis* ile *E. faecium*'un mannitol negatif varyantları bu grubu oluşturur

Grup IV: Grup D antijeni içermez. Mannitol, inulin, arabinoz, arjinin testlerinde reaksiyon vermez. *E. sulfurens*, *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve *E. cecorum* bu grupta bulunmaktadır

Grup V: Sorbitol besiyerinde asit oluşturmaz, arjinini hidroliz etmez. Mannitol'den asit oluşturur. *E. columbae*, *E. canis*, *E. moraviensis* bu grupta bulunur.

Tablo 2. 2: Enterokok türlerinin gruplara ayrılması ve fenotipik özellikleri (20)

Türler	MA	SOR	ARG	ARA	SBL	RAF	TEL	MO	PIG	SUC	PYU
Grup 1											
<i>E. avium</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+
<i>E. malodoratus</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+
<i>E. raffinosus</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
<i>E. pseudoavium</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>E. saccharolyticus</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-
Grup 2											
<i>E. faecalis</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+
<i>E. faecium</i>	+	-	+	+	V	V	-	-	-	+	-
<i>E. casseliflavus</i>	+	-	+	+	V	+	-	+	+	+	V
<i>E. mundtii</i>	+	-	+	+	V	+	-	-	+	+	-
<i>E. gallinarum</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-
Grup 3											
<i>E. durans</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. hirae</i>	-	-	+	-	-	V	-	-	-	+	-
<i>E. dispar</i>	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+
<i>E. faecalis</i> var.	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
<i>E. faecium</i> var.	-	-	+	+	-	V	-	-	-	+	-
Grup 4											
<i>E. sulfureus</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
<i>E. cecorum</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
Grup 5											
<i>E. casseliflavus</i>	+	-	-	+	V	+	V	+	+	+	V
<i>E. gallinarum</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-
<i>E. faecalis</i>	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
<i>E. columbae</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+

Tablodaki kısaltmalar: MAN: mannitol; SOR: sorboz; ARG: arginin; ARA: arabinoz; SBL: sorbitol; RAF: raffinoz; TEL:(%0.04) tellürit; MOT: hareketlilik; PIG: pigment; SUC: sukroz; PYU: piruvat +: >%90 ; -: <%10; v: değişken

Yine enterokoklar, yapılan moleküler çalışmaların (16S rRNA gen dizi analizi yöntemi ile filogenetik analiz) sonucunda, fenotipik olarak benzedikleri streptokoklar ve laktokoklara kıyasla, vagokoklar, tetragenokoklar ve karnobakteriler ile daha yakın ilişkili bulunmuşlardır (4).

2. 3. Enterokokların Mikrobiyolojik Özellikleri:

2. 3. 1. Morfolojisi ve Antijenik Yapısı:

Enterokoklar; katalaz negatif, gram pozitif, tekli, ikili ya da kısa zincirli koklardan oluşur. Mikroskopik görünümleri ile *Streptococcus pneumoniae*'den ayırt edilmeleri zordur. Kanlı agarda 24 saatlik üreme sonrasında büyük, beyaz, hafif kabarık, S tipi koloniler oluşturur. Koloniler 1-2 mm büyüklüğünde; bazı varyantlar daha küçük olabilirler (4,17).

Çoğu enterokok kökeni, Lancefield sınıflandırmasında grup D antijeni olarak tanımlanan hücre duvarına bağlı gliserol teikoik asit içerir. Grup D'nin varlığının serolojik olarak gösterilmesi tanımlamada işe yarayabilir ancak bu antijen enterokok izolatlarının sadece % 80'inde mevcuttur (4,17). Bakteri genomu yaklaşık 2000-3500 kb büyüklüğünde olup, G+C içeriği % 32-44 arasında değişmektedir (4).

2. 3. 2. Kültür ve Fizyolojik Özellikleri:

Enterokokların laboratuvar ortamında üretilmesi kolaydır. Çoğu 60° C 'de 30 dakika ısıtılmaya dayanıklı olup, buzdolabında aylarca, -70 ° C 'de yıllarca saklanabilir. Normal etüv ortamında, her türlü besiyerinde kolayca ürer (4). Koyun kanlı agar besiyerlerinde 24 saatlik inkübasyon periyodundan sonra büyük koloniler non-hemolitik, alfa-hemolitik ve beta-hemolitik olarak görülebilirler. *E. faecalis* türlerinin bir kısmı (yaklaşık 1/3'ü) tavşan, at veya insan kanı içeren agarlarda beta hemoliz oluştururken, koyun kanlı agarda hemoliz yapmazlar. Diğer türler genellikle alfa ya da non hemolitiklerdir. Hemoliz özelliği plazmid geçişli olup non hemolitik türlere de aktarılabilir (17, 20, 21).

Enterokoklar fakültatif anaerob bakteriler olup, karbonhidratları laktik asite indirgemeleri nedeniyle tipik olarak laktik asit bakterileri olarak değerlendirilirler (22). Gaz oluşturmazlar. İdeal üreme ısıları 35° C olmakla birlikte, 10° C ile 45° C arasındaki ısılarda da üreyebilirler. Türlerin büyük kısmı % 6,5 NaCl içeren buyyonda üreyebilir ve safra tuzları varlığında eskülini hidrolize ederler [Safra-eskülin (BE) testi] (4). Lösin aminopeptidaz (LAPaz) oluşturarak, lösin-beta-naftilamid'i (LAP) hidrolize ederler. Enterokokların çoğu pirolidonil arilamidaz (pirolidonaz PYRaz) üretimi ile L pirolidonil-beta-naftilamid (PYR)'i hidrolize eder (4).

Enterokoklarda sitokrom enzimi olmadığı için katalaz testi negatiftir. Ancak kanlı agar besiyerinde üreyen bazı *E. faecalis* kökenlerinde katalaz testinde zayıf bir köpürme gözlemlenebilir. Ayrıca kanlı agar plağında üreyen *E. haemoperoxidus* kökenlerinde ise katalaz testi pozitif olarak bildirilmiştir. *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* hareketlidir. *E. cecorum*, *E.*

columbae, *E. pallens*, *E. canintestini*, *E. devriesei*, *E. moraviensis* ve *E. saccharolyticus* dışında kalan tüm kökenler PYR pozitifdir. Tüm türler LAP pozitifdir. *E. casseliflavus*, *E. gilvus*, *E. mundtii*, *E. pallens* ve *E. sulfureus* pigmentlidir (4).

İnsan enfeksiyonlarından izole edilen *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Vagococcus* kökenlerinin fenotipik özellikleri enterokoklarla benzer bulunmuştur. Bu yüzden sadece BE testi ve % 6,5 NaCl buyyonda üreme özelliğine bakılarak yapılan değerlendirmelerde hatalı sonuçlara ulaşılabilir. Ayrıca diğer streptokok cinsi bakteriler ile de ayırımın yapılması gerekmektedir (4). Katalaz negatif, gram pozitif bir kokun enterokok olarak tanımlanabilmesi için, kökenin BE, PYR ve LAP testlerinin pozitif olması, % 6,5 NaCl varlığında 45° C 'de üremesi gereklidir (4).

Enterokokların tiplendirilmesinde biyokimyasal testler (laktoz, mannitol, sorbitol, arabinoz fermentasyonu gibi), APİ sistemleri ve total plazmid içeriği kullanılmaktadır.

2. 4. Enterokokların Virulans ve Patojeniteleri:

Enterokoklar, düşük virülanslı bakterilerdir. Pek çok antibiyotiğe karşı intrensek olarak dirençli olmaları, diğer antibiyotiklere de kolaylıkla direnç geliştirebilmeleri ve çevreye adaptasyonlarının iyi olması nedeni ile toplum kaynaklı ve özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli etkenlerdir (23).

Enterokok enfeksiyonlarının prognozunda, bakterinin virulans faktörleri ve konağın savunma mekanizmaları arasındaki etkileşim tam olarak bilinmemektedir. Ancak sitolitik toksin, jelatinaz, Enterokok yüzey proteini (Esp), süperoksit, agregasyon faktörü oluşturabilme, hiyaluronidaz, lipoteikoikasit, fibronektin, yüzey karbonhidratları ve antibiyotik direnci enterokokların hastalık oluşturma yeteneklerine katkıda bulunduğu düşünülen virulans özellikleridir (26, 27). Enterokok enfeksiyonlarının oluşmasında biyofilm oluşturabilme yetenekleri de önemli rol oynamaktadır (28). Virulans faktörlerinin içerikleri genellikle patojenite adalarında kodlanır. Patojenite adaları, birçok virulans faktörünü kodlayan gen setlerinden oluşmuş büyük kromozomal bölgelerdir. Genellikle virulans, patojenite adasında bulunan birçok genin koordineli ekspresyonu sonucunda meydana gelebileceği gibi, tek bir uyarım sonucunda da oluşabilir (sindirim sisteminin ısısı, lizozomun pH'ı gibi) (29).

Enterokokların bilinen virülans faktörleri:

2. 4. 1. Sitolizin (Hemolizin):

E. faecalis ve *E. faecium*'un bazı suşları tarafından üretilir. İnsan, at ve tavşan eritrositlerinde parçalanmaya neden olan sitolitik bir enzimdir (30). Hemolizini kodlayan gen bölgesi plazmid üzerinde ya da bakteri kromozomuna integre olan bir patojenite adasında bulunmaktadır. İmmün sistem üzerinde makrofaj ve polimorfonükleer lökositlere zarar verici etkisi olduğu ve doğrudan doku harabiyeti yapabildiği gösterilmiştir. İnsan ve at kanlı besiyerlerinde hemolitik aktiviteye sahip olan toksinin, koyun eritrositlerinde etkili olmayışı klinik laboratuvarlarda tanısal açıdan önemli bir özelliktir. İnsanlarda patojen olan enterokok kökenleri arasında, hemolizin üretenlerin oranının, patojen olmadığı düşünülen kökenlerden daha fazla olduğu gösterilmiştir (26, 30).

2. 4. 2. Lipoteikoik asit (LTA) :

Poligliserol fosfat omurgasına glikolipidlerin bağlanması ile oluşan bir moleküldür. Gram pozitif bakteri hücre yapısında bulunan bu molekülün lipid parçası ile epitel hücreleri, trombosit, eritrosit, lenfosit ve polimorf nüveli lökosit gibi pek çok ökaryotik hücreye bağlanabilirler. Adeziv özellik gösteren LTA, agregat oluşumu ve plazmid transferinde rol oynayan önemli bir virülans faktörü olarak değerlendirilmektedir (31, 32, 33).

2. 4. 3. Feromonlar:

E. faecalis'de bulunur. Suşlar arasında plazmid DNA'sının konjugatif transferini kolaylaştıran ve organizma tarafından salınan küçük peptitlerdir. Konjugatif plazmitlerin transfer hızını artırdığı bilinmektedir. Ayrıca seks feromon sistemi sayesinde *E. faecalis* kökenleri arasında antibiyotik direnci ve sitolizin gibi diğer pek çok virülans faktörünün yayılımı kolaylaşmaktadır (32). Nötrofiller için kimyasal olarak çekici olduklarından enfeksiyonlarda inflamatuvar cevabı artırır (2).

2. 4. 4. Agregasyon maddesi:

Plazmid tarafından kodlanan bakteri yüzeyine bağlı bir proteindir. Mikroorganizmaların kümelenmesini ve böylece plazmid aktarımının artmasını sağlamaktadır. Bu yapı bakterinin intestinal ve renal epitel hücrelerine adheransının gerçekleşmesinde rol oynamaktadır. Ayrıca *E. faecium*'a göre kateter enfeksiyonlarından daha sık izole edilen *E. faecalis* kökenlerinde katetere tutunmada rol oynadığı bildirilmektedir. Genel anlamda değerlendirildiğinde hücreler arası etkileşimi sağlama, hücre dışı matriks proteinlerine adere olarak konak hücreye yapışma ve hücre yüzey hidrofobitesini artırma

gibi virülansta rol oynayan özellikleri vardır. Bakteri yüzeyindeki AF (Agregasyon Faktör) yapısının süperantijen rolü oynadığı, enterokok hücre yüzeyinin hidrofobik özelliğini arttırarak fagoositozu ve fagozom lizozom füzyonunu engellediği düşünülmektedir (26, 32).

2. 4. 5. Jelatinaz:

Jelatinaz; konak hücreye tutunmayı sağlayan adezinlerden olan jelatin, kollajen, kazein, hemoglobin ve diğer peptidleri hidrolize eden, çinko içeren bir metalloendopeptidazdır. Matriks metalloproteinaz (MMP) ailesinin bir üyesi olan jelatinaz; inflamatuvar hücreler, fibroblast ve osteoklast gibi memeli hücreleri tarafından üretilir. Klinik örneklerden izole edilen kökenlerde sıklıkla gösterilmesi önemli bir virulans faktörü olarak değerlendirilmesine neden olmuştur (32).

Jelatinaz üreten *E. faecalis* kökenlerinin hayvan modellerinde endokardit oluşmasıyla ilişkili olabileceği gösterilmiştir (30). Yine jelatinaz enzimi bulunan ve bulunmayan *E. faecalis* kökenleri ile yapılan çalışmalarda, jelatinaz üreten kökenlerin akut toksik etkilerinin, üretmeyen kökenlere kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir (26). Biyofilm oluşumu enterokoklarla oluşan enfeksiyonların patogenezinde önemli bir faktör olup, jelatinaz'ın biyofilm tabaka oluşturulmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (34, 35).

2. 4. 6. Süperoksitler:

Süperoksitler, *E. faecalis* kökenlerinin büyük çoğunluğu ve bazı *E. faecium* kökenleri tarafından sentezlenmekte olup, süperoksit üretiminin bakterinin yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir (26). Bakteriyemi ve endokardit gibi ciddi seyirli olgulardan izole edilen enterokoklarda süperoksit üretiminin, dışkı kaynaklı izolatlarla göre çok daha yüksek oluşu virulans faktörü olarak değerlendirilmesine neden olmuştur (32).

2. 4. 7. Enterokok Yüzey Proteini (Esp):

Yüksek moleküler ağırlığa sahip olan Esp, patojenite adasında taşınan esp geninde kodlanır ve konjugasyonla enterokok kökenleri arasında aktarılabilir (32). İlk kez *E. faecalis* türlerinde tanımlanan bu büyük yüzey proteininin bakterinin immün yanıtı kaçışını kolaylaştırdığı düşünülmektedir (26). Hayvan kaynaklı enterokokların Esp proteinlerini sentezlemesi, bakterinin insanlarda kolonize olmasına ve dolayısıyla enfeksiyon oluşturmaya yol açmaktadır (2).

2. 4. 8. Hiyaluronidaz:

Hiyaluronidaz, hiyaluronik asiti (hiyaluronat, hiyaluronan) parçalayarak doku hasarına neden olan bir enzimdir. Bağ dokularındaki mukopolisakkarit yapıyı depolimerize ederek bakterinin dokulara invazyonunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Ayrıca yıkım ürünleri olan disakkaritler bakteriler tarafından metabolize edilerek besin kaynağı olarak kullanılabilir. Hiyaluronidaz bakteri ve toksinlerinin konak dokuya yayılımını kolaylaştırır. Kendi yıkıcı etkisinin yanı sıra bakteri toksinlerinin zararlı etkilerini arttırdığı saptanmıştır (32).

2. 4. 9. Antibiyotik Direnci:

Nozokomiyal enterokok enfeksiyonların kabaca iki basamaklı bir yol izlediği söylenebilir. İlk aşamada hastanın hastaneye yatışından kısa bir süre sonra intestinal florada bulunan, antibiyotiklere dirençli, sitolitik toksin oluşturma gibi virulans özelliklerine sahip kökenlerin, antibiyotik kullanımı sonucu (duyarlı kökenlerin ortadan kalkmaları ile birlikte) sayıca artmalarıdır. İkinci aşamada ise gastrointestinal floradan kaynaklanan bu kökenler hastaların bir kısmında doku invazyonuna neden olabilmektedir. Virulans faktörleri arasında bulunan antibiyotik direnci, kökenlerin intestinal florada seçilip çoğalmasını kolaylaştırırken, sitolitik toksin ve jelatinaz gibi faktörler de doku invazyonunu kolaylaştırmaktadır (26).

2. 5. Epidemiyolojik özellikleri:

Enterokokların esas konakları insan ve hayvanların gastrointestinal sistemidir. Ayrıca genitoüriner sistem ve oral kavitede de az sayıda bulunurlar. Normal barsak florasının önemli bir kısmını oluştururlar. İnsan dışkılarından en sık *E. faecalis*, ikinci sıklıkta ise *E. faecium* izole edilir. *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* gibi diğer türler de insan gastrointestinal sistemi normal florasında bulunabilen bakterilerdir ancak bunların düşük düzeyde vankomisin direncine sahip olmaları nedeniyle gerçek VRE (*E. faecium*, *E. faecalis*) izolatlarından ayırımı yapılmalıdır (4). Enterokoklar bazı yapısal özellikleri sayesinde zorlu koşullar altında yaşayabilir ve üreyebilirler. Doğada yaygın olup; toprak, bitkiler, su, besinler ve hayvanlarda da bulunabilirler (4).

Enterokoklar; çevre şartlarına karşı dayanıklı olmaları, çeşitli antibiyotiklere intrinsek direnç göstermeleri ve yeni direnç geliştirme yeteneklerinden dolayı son yıllarda hastane enfeksiyonlarının önemli nedenleri arasında yer almaktadır (5, 6).

Enterokoklar ve VRE ile oluşan hastane kaynaklı enfeksiyonlarda risk faktörleri şu şekildedir: (23, 24, 25).

1. Demografik risk faktörleri:

- Hastanede veya Yoğun Bakım Ünitesinde (YBÜ) yatış süresi,
- VRE ile kolonize ya da infekte hastanın yakınında bulunulması ve VRE ile kolonize hastaya bakım veren bir hemşireden bakım alınması,
- Hastane içinde bir servisten diğerine transfer edilmesi,
- VRE ile kontamine olmuş tıbbi aletlere maruz kalınması,

2. Altta yatan hastalığın ağırlığı ile ilgili risk faktörleri:

- Yüksek APACHE II skoru,
- Böbrek yetmezliği,
- Yakın zamanda ameliyat geçirme,
- *C.difficile* 'e bağlı kolit,
- Hepatobiliyer hastalık,
- İmmüsupresyon veya organ alıcısı olmak,
- Enteral beslenme,

3. Antimikrobiklerle ilgili risk faktörleri:

- Antibiyotik tedavisinin süresi ve miktarı
- Kullanılan antibiyotikler vankomisin, 3.kuşak sefalosporin, anti-anaerob antibiyotik, kinolon, aztreonam
- Operasyon öncesi barsak hazırlığı

Enterokoklara bağlı gelişen enfeksiyonların genellikle hastanın kendi florasından kaynaklanan endojen enfeksiyonlar olduğu düşünülmekteyken, son yıllarda yapılan çalışmalarda, enterokokların ekzojen yolla da yayılabileceği gösterilmiştir. Özellikle hastadan hastaya veya kolonize hastane personeli tarafından hastalara bulaştırılabilmekte ve böylece hastane içinde veya hastaneler arasında dirençli enterokoklar kolayca yayılabilmektedir (5). Ayrıca elektronik termometre, stetoskop gibi araçlar da dirençli organizmanın yayılımına yol açabilmektedir. Dirençli enterokok ile kolonizasyon sonrası, hastalar bu mikroorganizmaları gastrointestinal sisteminde aylarca hatta yıllarca taşıyabilmektedir (2). Genelde enterokok enfeksiyonlarının % 60'ı nozokomiyal olup, bu enfeksiyonların yarısı yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda görülmektedir. Tüm nozokomiyal enfeksiyonların % 10'unda, bakteriyemilerin % 9'unda ve nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonlarının yaklaşık % 16'sında sorumlu etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Enterokok enfeksiyonlarının % 80-90'nından *E. faecalis*, % 5-10'undan *E. faecium* sorumludur (2).

Günümüzde VRE artışı kaygı verici bir sorundur. VRE'lerin etken olduğu nozokomiyal enfeksiyonların oranı ilk tanımlandıkları yıllardan bu yana yaklaşık 20 kat artış göstermiştir ve artmaya da devam etmektedir (2). VRE epidemiyolojisi Avrupa ve ABD'de farklılıklar göstermektedir. ABD'de genel olarak nozokomiyal etken olarak karşımıza çıkmakta, Avrupa'da ise VRE'nin rezervuarı toplumdur ve hastaların çoğunun bu bakteriyi toplumdan edindiği ileri sürülmektedir. Avrupa'da 1970'li yıllardan beri çiftlik hayvanlarının hızlı büyümesi için glikopeptit türü bir antibiyotik olan avoparsin kullanılmasının, seçici baskı sonucunda VRE'nin yayılmasına neden olduğu düşünülmektedir. Et ve et ürünleri, hayvan çiftlikleri ve lağım sularından VanA direnci gösteren enterokok suşları izole edilmiştir (36). Almanya'da hayvan yemlerinde avoparsin kullanımına son verilmesinden sonra sağlıklı kişilerde VRE'nin barsak kolonizasyonu prevalansı % 12'den % 3'e düşmüştür (37).

Son yayınlar hastaneye yatırılan hastalarda VRE'den metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'a vanA geninin horizontal yayılımının yüksek düzeyde vankomisin direncine neden olduğunu göstermiştir (5, 38).

Türkiye'de ilk vankomisine direnç, 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi'nden bildirilmiştir. Bu köken malign histiyositozis tanısıyla takip edilen bir bebeğin plevra sıvısından izole edilmiştir (9). İkinci izolasyon ise 1999 yılında İstanbul Tıp Fakültesi'nden Öngen ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Crush sendromu tanısıyla yoğun bakım ünitesinde takip edilen 23 yaşındaki hastanın santral venöz kateterinden alınan örnekte vankomisin ve teikoplanin dirençli *E. faecium* izole edilmiştir. Bu kökenin vanA geni taşıdığı saptanmıştır (39).

2. 6. Enterokokların Yaptığı Hastalıklar:

Enterokoklar üriner sistem enfeksiyonları, bakteriyemi, endokardit, intraabdominal ve pelvik enfeksiyonlar, yara ve yumuşak doku enfeksiyonları, neonatal sepsis ve nadiren de menenjit etkeni olabilirler (31). Klinik olarak en sık üriner sistem enfeksiyonları ve ürosepsise neden olmaktadır (5).

Aşağıda, enterokoklara bağlı sık görülen enfeksiyonlar kısaca belirtilmiştir:

2. 6. 1. Üriner Sistem Enfeksiyonları (ÜSE):

Enterokokların en sık neden olduğu enfeksiyonlar ÜSE'dir. Daha çok altta yatan ürinersistem anomalileri olan kişilerde enfeksiyona yol açan enterokoklar; komplike olmayan

sistit, perinefritik abse ve prostatite neden olabilmektedirler. Enterokokların neden olduğu ÜSE'lerin çoğu nozokomiyal kökenlidir (5). Hemolitik özelliğe sahip enterokokların ÜSE'a neden olma oranları daha fazladır (26).

Enterokok enfeksiyonlarındaki olası risk faktörleri; üriner kateterizasyon ve/veya üriner alet kullanma, yapısal anomaliler ve önceden antimikrobiyal ilaç kullanımınıdır. Bununla birlikte enterokoklar üriner sistemde yapısal anomalisi veya tekrarlayan enfeksiyonu olmayan sistitli genç ve sağlıklı kadınlarda etken olarak oldukça düşük oranlarda (% 5) izole edilmektedir. Bakteriyemi, enterokoka bağlı üriner sistem enfeksiyonlarının nadir bir komplikasyonu olarak saptanmaktadır (2, 40).

2. 6. 2. İntraabdominal Enfeksiyon:

Enterokokların barsakta bulunan diğer aerop ve anaerop bakterilerle birlikte polimikrobiyal floranın bir parçası olmalarının sonucu olarak intraabdominal enfeksiyonlar, enterokokların ikinci sıklıkta etken olarak izole edildikleri enfeksiyonlardır. Enterokoklar siroz veya nefrotik sendrom gibi klinik durumlarda spontan peritonit etkeni olarak izole edilmişlerdir (2, 5).

2. 6. 3. Bakteriyemi:

Enterokoklar, pozitif kan kültürlerinin yaklaşık % 5'inden izole edilmekte olup, bakteriyemilerde en sık karşılaşılan odak (% 19-24) üriner sistemdir (2). Bakteriyemiler, özellikle hematoloji-onkoloji ve yoğun bakım ünitelerinde saptanan nozokomiyal kaynaklı enfeksiyonlarda gittikçe artan oranlarda görülmeye başlamıştır (5). Nozokomiyal enterokok bakteriyemisi sıklıkla polimikrobiyaldir. Primer enterokok bakteriyemileri ise daha çok immün yetmezliği olan hastalarda görülür ve genellikle tek başına (monomikrobiyal) etkendir ve kaynak genellikle gastrointestinal sistemdir (2).

2. 6. 4. Endokardit:

Enterokoklar, streptokok ve stafilokoklardan sonra endokarditin üçüncü en sık etkenidirler (5). İnfektif endokarditlerin yaklaşık % 5-10'undan enterokoklar sorumludur. En sık izole edilen tür *E. faecalis* iken, bunu *E. faecium* izlemektedir. Enterokoklar normal kalp kapaklarında da hastalık oluşturabileceği gibi daha çok altta yatan kalp kapağı hastalığı bulunan veya protez kapak öyküsü olan hastalarda etken olarak karşımıza çıkmaktadır ve enfeksiyon genellikle subakut olarak seyretmektedir (2).

2. 6. 5. Kateter İlişkili Bakteriyemi:

Kateterle ilişkili bakteriyemi genellikle kateterlerin en sık kullanıldığı yerler olan yoğun bakım ünitelerinde izlenen hastalarda görülmektedir. Kateter enfeksiyonlarında virulans faktörlerinin etkisi net olarak tanımlanamasa da, bakterinin Esp ve biyofilm oluşturma özelliklerinin enfeksiyon oluşumuyla ilgili olabileceği bildirilmektedir (5).

2. 6. 6. Neonatal Sepsis:

Enterokoklar, erken başlangıçlı neonatal sepsisin nadir görülen bir etkeni olmakla birlikte salgın dönemlerinde bu tip enfeksiyonlardan daha yüksek oranlarda bildirilmektedir. Neonatal bakteriyemi olgularının yaklaşık % 10'undan sorumlu olan enterokokların görülme sıklığı yıldan yıla artış göstermektedir. Bu durumun; nozokomiyal yayılım ve prematüre bebeklerin yaşam sürelerindeki artış, hastanede kalış zamanının uzaması, santral venöz kateter kullanımı, nekrotizan enterokolit ve uzun süre antibiyotik kullanımına bağlı olduğu düşünülmektedir (5).

2. 6. 7. Menenjit:

Enterokokların neden olduğu menenjit spontan veya post operatif olarak her yaşta gözlenebilmektedir ancak özellikle santral sinir sisteminde anatomik defekti, geçirilmiş beyin cerrahisi operasyonu veya kafa travması gibi altta yatan predispoze faktörleri bulunan çocuklarda daha sık görülmektedir (2, 5, 31).

2. 7. Tanı:

Kolay izole edilmeleri ve çevre koşullarındaki değişimlere dayanıklı olmaları nedeniyle standart yöntemlerle alınan kan, idrar, yara, vücut sıvısı veya sürüntü örneklerinin, herhangi bir taşıyıcı besiyeri ya da kuru eküvyonla laboratuvara ulaştırılmaları tanı için yeterlidir. Alınan örnekler en kısa zamanda besiyerlerine ekilmelidir (4).

Enterokokların laboratuvar ortamında üretilmesi ve yaşatılması kolaydır. Enterokoklar triptik soy agar (TSA), beyin kalp infüzyon agar, koyun kanlı (% 5) agar veya % 5 hayvan kanı içeren herhangi bir agarda izole edilebilirler. 35-37° C de normal atmosfer koşullarında (artmış CO2'e ihtiyaç duymadan) iyi ürerler. Son yıllarda kromojenik besiyerleri sıklıkla kullanılmaktadır. İzolasyonlarında seçici besiyerleri de kullanılabilir. Azid içeren besiyerleri, Columbia kolistin - nalidiksik asit agar (CNA) ve feniletıl alkol agar (PEA) seçici besiyerlerine örnek olarak verilebilir (4). Örnekte yoğun olarak gram negatif basil

kontaminasyonu düşünülüyorsa sodyum azid içeren besiyeri (safra-eskülin-azid agar gibi) izolasyonu kolaylaştırır. Hastanede yatan hastalarda dışkıda veya rektal sürüntüde enterokok araştırılan epidemiyolojik çalışmalarda sefaleksim-aztreonam arabinoz agar kullanılabilir. Bu besiyerinde arabinozdan asit oluşturmaya bağlı olarak *E. faecium* sarı halolu beyaz koloniler şeklinde görülürken, *E. faecalis* ise halosuz koloniler şeklinde görülmektedir (2).

Enterokokların tür düzeyinde tanımlanması; tedavi, epidemiyolojik çalışmalar ve enfeksiyon kontrol amaçlı olarak yapılmaktadır. VRE'lerin çoğunluğunu *E. faecium* suşları oluşturmaktadır. VRE suşlarının tarama amaçlı özellikle rektal sürüntülerden ve gaita örneklerinden hızlı saptanmasına yönelik agar ve sıvı besiyerleri kullanılmaktadır. Bu besiyerlerine vankomisin ilave edilmesiyle (yaklaşık 6 µg/mL) besiyeri yarı seçici hale gelmektedir. Ayrıca klindamisin ve aztreonam gibi antibiyotikler de ilave edilebilir. Bazı VRE suşlarının üremesi bu kombinasyonlarda inhibe olabilirler. Bundan dolayı seçici sıvı besiyerinden seçici ve seçici olmayan agar besiyerine pasaj yapılması izolasyon şansını arttırabilmektedir (2).

Günümüzde, enterokoklarda vankomisin direncinin artması ile birlikte VRE'nin seçici izolasyonu önem kazanmıştır. VRE ile kolonizasyon ya da enfeksiyonun erken dönemde saptanması, yayılımın önlenmesi için gereklidir (4).

Hastane enfeksiyonları kontrolünde VRE açısından dışkı tarama kültürlerinin yapılması güncel öneriler arasında yer almasına rağmen kullanılacak en uygun yöntem henüz tam netlik kazanmamıştır. Bugün için; genel uygulamalarda kabul edilmiş olan tek bir tarama yönteminden söz edilmese de, zenginleştirme kültürleri VRE'nin tayininde en etkili yöntem gibi gözükmemektedir. Ancak bu yöntemlerin sonuçlandırılmalarının birkaç gün alması, duyarlılıklarının değişken ve enfeksiyon kontrol önlemleri açısından zaman kaybettirici olması gibi dezavantajları vardır (4).

Bu nedenle son yıllarda VRE'nin hızlı ve doğru tanısı için ve ayrıca patojenin yakalanma olasılığının arttırılması amacıyla moleküler tekniklerin kullanımı gündeme gelmiştir. Zaman kazanmak açısından, VRE'nin doğrudan hasta örneklerinden saptanması, klinik için oldukça gereksinim duyulan bir noktadır (4).

Enterokok türlerinin tanımlanmasında biyokimyasal ve fizyolojik testler kullanılmaktadır. Enterokok türleri L-arabinoz, mannitol, sorbitol, rafinoz, sakkaroz, melibioz'dan asit oluşturma, hareket, pigment, PYR hidrolizi, % 6,5 NaCl varlığında üreme gibi özellikleriyle birbirlerinden ayrılırlar (20). Facklam ve Collins enterokok türlerini mannitol ve sorboz sıvı besiyerinde asit yapımına ve arjinin hidrolizine göre beş gruba ayırmıştır (Tablo 2. 2 gösterilmiştir).

E. faecalis en önemli türdür ve insanlardaki enterokok enfeksiyonlarının % 80-90'ından sorumludur. *E. faecium* ikinci sıklıktadır ve enfeksiyonların % 10-15'ininden izole edilmektedir. Son zamanlardaki bulgular özellikle çoklu antibiyotiğe karşı dirençli *E. faecium* sıklığının birçok hastane merkezinde arttığını göstermektedir. *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. avium*, *E. raffinosus*, *E. caccae*, *E. cecorum*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. gilvus*, *E. hawaiiensis*, *E. hirae*, *E. italicus*, *E. malodoratus*, *E. mundtii*, *E. palens*, *E. pseudoavium*, *E. sanguinicola* ve *E. faecalis* varyant suşları gibi diğer enterokok türleri klinik örneklerden nadir olarak izole edilmiştir (4, 19, 23, 41). Son yıllarda saptanan enterokok türlerinden *E. gilvus* ve *E. pallens* insan klinik örneklerinden izole edilmişlerdir ve grup I'de yer almaktadırlar, grup III'te yer alan *E. villorum*, *E. ratti* ve grup IV'te yer alan *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve grup V'ten *E. canis* hayvan kaynaklarından ve grup II'den *E. haemoperoxidus* ile grup V'ten *E. moraviensis* çevre örneklerinden izole edilmişlerdir (41).

2. 7. 1. Ticari sistemlerle tür düzeyinde tanımlama

Enterokok türlerinin tanımlanmasında minyatürize, manuel, yarı otomatize ve tam otomatize ticari kitler mevcuttur. Bu kitler arasında API 20Strep, API Rapid ID 32 Strep sistemleri (bioMerieux, Fransa), Crystal gram pozitif ve Crystal hızlı gram pozitif tanımlama sistemleri (Becton Dickinson Microbiology Systems), Vitek sisteminin gram pozitif tanımlama kartı (bioMerieux), MicroScan Walkaway System gram pozitif tanımlama paneli (Dade Microscan, West Sacramento, California) ve Phoenix otomatize gram pozitif tanımlama paneli (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD) sayılabilir. Genel olarak enterokok izolatlarının büyük bir çoğunluğu bu sistemlerin herhangi biri ile doğru olarak tiplendirilebilmektedir (4).

2. 7. 2. Moleküler yöntemlerle tanımlama:

Bazı laboratuvarlarda DNA-DNA hibridizasyon, 16S rRNA genlerinin sekanslanması gibi moleküler yöntemler kullanarak farklı hedef moleküllerin tespit edilmesi suretiyle taksonomik çalışmalar yapılmaktadır. Enterokok türlerinin hızlı ve doğru tanımlanması için birçok moleküler teknik geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden bazıları şunlardır: Sodyum-dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi, tüm hücre protein profili, vibrasyonel spektroskopik analiz, proton magnetik rezonans spektroskopik analiz, randomize amplifiye polimorfik DNA analizi, 16S rRNA geninin sekans analizi, PCR ile çoğaltılmış 16S rRNA geninin restriksiyon-fragman- uzunluk- polimorfizm analizi, 16S rRNA geninin veya groESL geninin geniş aralık amplifikasyonu, 23S rRNA geninin domain V'in sekanslanması, tRNA veya

rRNA'nın "intergenic spacer" amplifikasyonu, D-ala: D-ala ligazların ve vankomisin direnç genlerinin amplifikasyonu, Enterococcus protein A genlerinin veya *E. faecalis* kollajen adezin geninin problemlenmesi, EF-Tu elongasyon faktörü veya pEM1225 genlerinin amplifikasyonu, manganeze bağımlı süperoksid dismutaz geninin sekanslanması, chaperonin 60 geninin sekanslanması, RNA polimeraz β alt birim geninin sekanslanması, RNA polimeraz alt ünite ve fenilalanil-tRNA sentaz genlerinin ve ATP sentaz geninin sekanslanması. Bu testlerin çoğu bütün enterokok türlerine uygulanabilse de bir kısmı türe özgüdür (4).

Farklı enterokok türlerinin tanımlanması için önerilen moleküler teknikler arasında tüm hücre protein profillerinin sodyum-dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi analizi ve 16S rRNA genlerinin sekanslanması referans yöntemler olarak kullanılmaktadır (4).

Enterokokların birçok antibiyotiğe direnç gösteren önemli bir nozokomiyal etken olarak belirlenmesi ve enterokok enfeksiyonlarının ekzojen yolla da kazanılabileceğine dair kanıtların ortaya çıkması; kökenlerin tiplendirilmesi ve epidemiyolojik çalışmalara ağırlık verilmesine neden olmuştur (4). Bu amaçla kullanılan yöntemlerin, enterokok izolatlarının salgın analizinin yanısıra değişik çevre ya da konakta enterokok yayılımının nasıl olduğunu saptaması ve çoklu antibiyotik direncine sahip kökenlerin yayılım şeklinin izlenmesine olanak sağlaması gerektiği bildirilmektedir (4).

Kökenler arasındaki farklılıkları ortaya koymak için tek başına kullanıldıklarında klasik fenotipik yöntemlerin epidemiyolojik çalışmalar için yararı kısıtlı olmuştur. Yoğunlukla kökenler arasında yeterli ayırım yapılamamıştır. Bununla birlikte moleküler çalışmalar sonucu elde edilen veriler ile desteklenen fenotipik bulgular ise daha değerli bilgiler edinmemizi sağlamıştır. Ayırt edici moleküler tiplendirme yöntemleriyle kökenlerin, hastalar arası doğrudan ya da dolaylı temaslarla ekzojen olarak da yayılabildiği gösterilmiştir. Yine antibiyotik dirençli enterokokların hastane içinde taşınabileceği ve hastaneler arası yayılabileceği de bu yöntemlerle gösterilmiştir (4).

Enterokok kökenleri arasında ayırım için, kromozomal DNA restriksiyon endonükleaz profillerinin pulsed-field jel elektroforezi (PFGE) ile tayini, en yararlı yöntem olarak kabul edilmektedir (4, 42). Son zamanlarda multilokus sekans tiplendirmesi (MLST) gibi moleküler teknikler geliştirilmiştir. Bu teknikler enterokok popülasyonu içerisinde yer alan klonal kompleksleri tanımlamak, kökenler arasında genetik bağlantıyı araştırmak amacıyla kullanılmaktadır (4, 42).

2. 8. Antimikrobiyal Direnç:

Enterokoklarda antimikrobiyal direnç intrensek veya kazanılmış olabilir. İntrensek direnç enterokok türlerinin çoğunda ya da tümünde doğal olarak kromozomlarda kodlanmış bir özelliktir. Buna karşı kazanılmış direnç daha değişken olup, mevcut DNA'daki mutasyonlarla veya plazmid ya da transpozon üzerindeki bir genetik elemanın kazanımıyla ortaya çıkar (4, 43). Bu antibiyotiklerin çoğu enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmayan, ancak normal dışkı florasının bir üyesi olması nedeniyle diğer enfeksiyonların tedavisi sırasında selektif olarak enterokoklara da baskı uygulayan antibiyotiklerdir. Tablo 2. 3.'de enterokokların intrensek ve sonradan kazanılmış direnç profilleri verilmiştir (2).

Tablo 2. 3: Enterokoklarda antimikrobiyal direnç

İntrensek direnç	Kazanılmış direnç
Aminoglikozid direnci (düşük düzeyde direnç)	Aminoglikozid direnci (yüksek düzeyde direnç)
Beta-laktamlar (yüksek MİK değerleri)	Beta-laktamlar (PBP'lerde değişiklik)
Linkozamidler (düşük düzeyde direnç)	Penisilin ve ampisilin (beta laktamaz)
Trimetoprim-sulfametoksazol (sadece in vivo direnç)	Hücre duvarına etkili ajanlar (tolerans)
Kinupristin/dalfopristin (sadece <i>E. faecalis</i>)	Florokinolonlar
	Linkozamidler (yüksek düzeyde direnç)
	Makrolidler
	Rifampisin
	Tetrasiklinler
	Vankomisin
	Kinupristin/dalfopristin
	Linezolid

2. 8. 1. İntrensek (doğal) direnç:

Bu direnç tipi, türlerin tümünde bulunan kromozomal dirençtir. Enterokoklardaki intrensek direnç iki ana grup antibiyotikte kendini gösterir; aminoglikozidler ve beta laktamlar. İntrensek direnç nedeniyle antibiyotiklerin enterokoklar üzerinde zayıf etki etmesi sonucunda endokarditte, menenjitte veya özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ortaya çıkan diğer sistemik enfeksiyonlarda tedavide beta-laktam gibi hücre duvarına etkili bir antibiyotik (tercihen penisilin) veya vankomisin ile birlikte bir aminoglikozid (genellikle gentamisin ya da streptomisin) verilir. Böylece sinerjistik etki ile hücre duvarına etki eden antibiyotik sayesinde aminoglikozid antibiyotiğin hücre içine girmesi kolaylaşır ve intrensek direncin üstesinden gelinerek enterokoklara karşı bakterisidal etki sağlanmış olur (4).

2. 8. 1. 1. Beta-laktam direnci: Bütün enterokoklar, penisilin bağlayan proteinler (PBP)'e özellikle PBP5'e düşük afinite göstermesi nedeniyle beta-laktam antibiyotiklere karşı rölatif direnç gösterirler. Özellikle *E. faecium*'da *E. faecalis*'e göre intrensek penisilin direncinde ciddi artış gözlenmektedir (2). *E. faecium* suşlarında ampisilin direnci % 85–90'lara ulaşırken *E. faecalis* suşlarında ampisilin direnci sadece % 2–3 oranında görülmektedir (26).

2. 8. 1. 2. Aminoglikozid direnci: Enterokoklar doğal olarak aminoglikozidlere karşı düşük düzeyde direnç gösterirler. Bu tip direnç bakteri duvarının aminoglikozidlere karşı geçirgenliğinin az olmasından kaynaklanmaktadır. Aminoglikozid grubu ilaçlar, beta-laktam antibiyotik veya vankomisin gibi hücre duvarı sentezini engelleyen antibiyotikler ile kombine kullanıldığında, zedelenen hücre duvarından bu gruptaki antibakteriyeller daha kolay geçeceğinden aminoglikozidlerin etkinliği önemli oranda artmaktadır. Enterokoklara karşı, beta-laktam veya glikopeptid grubu antibakteriyel ilaçlar ile aminoglikozid grubu ilaçların kombinasyonunun sinerjistik etkisi bu mekanizmayla açıklanmaktadır (44).

2. 8. 1. 3. Trimetoprim-sulfametoksazol direnci: Enterokok suşlarının çoğu invitro koşullarda trimetoprim-sulfametoksazol'e duyarlı olduğu halde bu ajan invivo koşullarda enterokoklara etkisizdir. Enterokokların, ekzojen kaynaklı folik asiti kullanarak bu antibiyotiğin etkisini azalttığı tahmin edilmektedir (2).

2. 8. 2. Kazanılmış Direnç:

Enterokoklar arasında kazanılmış direnç genellikle genetik olarak plazmid veya transpozonlar aracılığıyla aktarılır. Bunlar arasında en önemlisi yüksek düzeyde aminoglikozid direnci (HLAR), glikopeptid direnci, beta laktamaz yapımı veya diğer mekanizmalarla gelişen yüksek penisilin direncidir. Mutasyon sonucu oluşan direnç genleri de

enterokoklar arasında veya başka mikroorganizmalara aktarılabilir. Diğer bakterilerde olduğu gibi enterokoklarda da gen transferinden en sık sorumlu olan mekanizma konjugasyondur (2).

2. 8. 2. 1. Beta-laktam Direnci: Enterokoklarda beta-laktam antibiyotiklere karşı kazanılmış direnç beta-laktamaz enzimi üretimi ve PBP'lerde değişiklik şeklinde görülebilir. Beta-laktamaz üreten enterokok kökenleri çok yaygın değildir. Bu tip enterokoklarla oluşan enfeksiyonların tedavisi klinik olarak fazla sorunlu değildir (23). Beta-laktamaz üreten enterokok kökeni ilk defa 1981 yılında ABD'den rapor edilmiştir (45). *E. faecalis* suşlarında beta laktamaz üretimi diğer türlere göre daha sık görülmektedir. DNA hibridizasyon çalışmaları sonucu enterokok kökenlerinin ürettiği beta-laktamaz enziminin *Staphylococcus aureus*'un ürettiği plazmid kaynaklı beta-laktamaz ile aynı olduğu gösterilmiştir. Nitrosefin testi gibi bir beta-laktamaz testi kullanılarak bu kökenler kolaylıkla tanımlanabilir. Beta laktamaz üreten enterokok kökenlerinin büyük çoğunluğunda aynı zamanda yüksek düzeyde gentamisin direnci de tespit edilmiştir (46, 47).

2. 8. 2. 2. Aminoglikozid Direnci: Enterokoklar aminoglikozidlere karşı yüksek düzeyde direnç kazanabilirler. Bu tür direnç gösteren bakteriler için, duvar sentezini inhibe eden bir antibiyotik ile aminoglikozid kombinasyonu ile sağlanan sinerjistik etki ortadan kalkar. Yüksek düzeyde aminoglikozid direnci iki farklı mekanizma ile oluşabilir:

a) Ribozomal direnç: Ribozomlarda aminoglikozid bağlanma yerinin değişmesi ile oluşur. Sadece streptomisine karşı gelişen bu direnç nadir görülür ve aktarılamaz.

b) Aminoglikozid modifiye eden enzimlerin sentezi ile oluşan direnç: Yüksek düzeyde aminoglikozid direnci enterokokların aminoglikozid modifiye edici enzimlerine bağlıdır. Duyarlı kökenlere aktarılabildiğinden hızla yayılan bu tür dirençte adeniltransferaz, fosfotransferaz ve asetiltransferaz enzimleri rol oynar. Bu enzimlerin birçoğu plazmid kontrolünde sentezlenmektedir ve bu enzimlerin sentezinden sorumlu olan genler çoğu kez transpozonlarla taşınabilmektedirler. Tablo 2. 4'de enterokoklarda aminoglikozid ile penisilin sinerjisini ortadan kaldıran enzimler gösterilmiştir. Gentamisine yüksek düzeyde dirençten sorumlu olan enzim hem 6'-asetiltransferaz hem de 2'-fosfotransferaz aktivitesine sahiptir. Bu özellik streptomisin dışında diğer tüm aminoglikozidlerin sinerjistik etkisini ortadan kaldırır (2). Bu enzimler genellikle konjugatif plazmidler tarafından kodlanır. Gentamisine yüksek düzeyde direnç gösteren bir kökenin streptomisin dışında diğer tüm aminoglikozidlere yüksek düzeyde dirençli olabileceği unutulmamalı ve bu kökenler streptomisin direnci yönünden araştırılmalıdır (2, 26, 48, 49).

Tablo 2. 4: Enterokoklarda Aminoglikozid - Penisilin Sinerjisini Ortadan Kaldıran Aminoglikozidi Modifiye Edici Enzimler

Enzim	Aminoglikozid			
	Streptomisin	Gentamisin	Tobramisin	Amikasin
6- Adeniltransferaz	+	-	-	-
3'-Fosfotransferaz	-	-	-	+
6'-Asetiltransferaz	-	-	+	
4'-Adeniltransferaz	-	-	+	±
2'-Fosfotransferaz / 6'-Asetiltransferaz	-	+	+	+

2. 8. 2. 3. Kloramfenikol direnci: Kloramfenikole dirençten en sık sorumlu mekanizma kloramfenikol asetil transferaz üretimidir. Yapılan çeşitli çalışmalarda enterokokların % 20–42'sinin kloramfenikole dirençli olduğu bildirilmektedir (51).

2. 8. 2. 4. Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B (MLS_B) direnci: Kromozomal veya plazmid kökenli, indüklenebilir veya konstitif olabilir. MLS_B direnci üç mekanizma ile gelişir. 1-Hedef bölge değişikliği, 2-Antimikrobiyal inaktivasyon, 3-Aktif olarak ilacın dışarı atılması (efluks). Makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLS_B) grubu antibiyotiklerde görülen en önemli direnç mekanizması hedef bölge değişikliğidir. MLS_B tipi direnç plazmid veya transpozonlarla yönetilir. Erm (eritromisin dirençli metilaz) geninin kodladığı enzimlerin etkisi ile ribozomun makrolidlere karşı afinitesi azalır. 23S ribozomal RNA'nın metilasyonu sonucu gelişir. Sonuçta antibiyotiğin ribozoma bağlanması azalır. Enterokoklarda eritromisine karşı kazanılmış direnç genellikle ribozomal RNA'nın metilasyonundan sorumlu ermB geni ile ilişkili bulunmuştur. Aynı mekanizma, klindamisinin enterokoklara karşı yüksek düzey direncinden de sorumludur. ermB geni, çeşitli plazmidler üzerinde Tn917 transpozonunun bir parçası olarak diğer mikroorganizmalara aktarılabilmektedir (51).

Enterokoklar linkozamid grubu antibiyotiklere de düşük düzeyde doğal direnç göstermektedirler (50). *E. faecalis* doğal olarak kinupristin/dalfopristine dirençlidir (50).

2. 8. 2. 5. Tetrasiklin direnci: Enterokoklarda tetrasiklin grubu antibiyotiklere karşı dirençten sorumlu olan çok sayıda gen tanımlanmıştır. tetM, tetO, tetN ve tetL genleri bunlardan bazılarıdır. tetM, tetO ve tetN genleri tetrasiklinlerin ribozomlar üzerindeki etkisini

inhibe eder. tetL geni ise mikroorganizma tetrasiklinle karşılaştığında aktive olur. Enterokokal bir plazmid üzerinde taşınır. Bu direnç geni tetrasiklinlerin hücre dışına pompalanmasını sağlayan aktif transport sistemini kodlar (51).

2. 8. 2. 6. Kinolon direnci: Direnç gyrA (giraz) ve parC (topoizomeraz) genlerindeki mutasyonlara bağlı gelişir. Enterokokal kökenlerin çoğunluğu kinolonlara intermediate duyarlılık veya direnç gösterir (52).

2. 8. 2. 7. Oksazolidinon direnci: Çoklu ilaç direnci gösteren enterokoklar ile oluşan enfeksiyonlarda oksazolidinon grubu antibiyotik olan linezolid iyi bir seçenektir. Ancak 2002 yılında linezolid direnci bildirilmiştir ve bu dirençten 23S rRNA V domainindeki mutasyonlar (G-2576- T) sorumlu tutulmaktadır (52, 53).

2. 8. 2. 8. Glikopeptit direnci: Enterokoklarda peptidoglikan sentezi için iki D-alanin molekülü, bir ligaz enzimi tarafından birbirine bağlanır. Oluşan D-ala-D-ala UDP-N-asetilmuramil-tripeptide eklenerek UDP-N-asetilmuramil pentapeptid oluşur. Daha sonra bu da transglikolizasyon yoluyla mevcut peptidoglikana eklenir. Glikopeptidler bu pentapeptidin D-ala-D-ala terminal ucuna bağlanarak peptidoglikan sentezinin transglikolizasyon aşamasını inhibe ederek hücre duvarı sentezini engellerler. VRE ise farklı bir ligaz enzimi senteziyle D-ala-D-ala'daki alanin yerine laktat veya serin bağlayarak uç kısmın yapısını değiştirir ve D-ala-D-laktat veya D-ala-D-serin meydana gelerek vankomisin hücre duvarına bağlanma yeteneğinin azalmasına neden olur (19, 44). Enterokoklarda 2 tipte de glikopeptid direnci görülür. İlki doğal direnç mekanizmasıdır. Vankomisine düşük düzeyde direnç görülür. Diğeri ise kazanılmış dirençtir. Direnç sınıflandırması ligaz sentezleyen genlerin varlığına göre yapılmaktadır. Vankomisin direncinde tanımlanmış 6 fenotip vardır. Bunlar VanA, VanB, VanC, VanD, VanE ve VanG'dir. VanD, VanE ve VanG fenotiplerinin önemi tam olarak bilinmiyor. VanA ve VanB tipi direnç *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerinde tanımlanmış olup kazanılmış dirençlerdir. VanA, VanB, VanD tipi dirençte D-ala-D-laktat üretimi görülürken VanC, VanE ve VanG tipi dirençte D-ala-D-serin üretimi görülür (19, 44, 54, 55). Enterokoklarda direnç tipleri tablo 2. 5'de gösterilmiştir (56). Fenotipik adlandırma; enterokok suşunun vankomisin ve teikoplanin direncine, direncin indüklenebilme ve diğer bakterilere aktarılabilme özelliklerine göre yapılmaktadır. Bunlardan en sık karşılaşılanı VanA ve VanB'dir. İlk olarak 1988'de İngiltere ve Fransa'dan bildirilen VRE suşları günümüzde birçok ülkede enfeksiyon veya kolonizasyon etkeni olarak daha sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (57).

Tablo 2. 5: Enterokoklarda glikopeptit direnç tipleri

Fenotip	Genotip	Vankomosin MİK(µg/ml)	Telkoplanin MİK(µg/ml)	Genin İfadesi	Aktarılabirlik	Tür
VanA	vanA	64->1000	16-512	İndüklenebilir	Evet	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. avium</i> , <i>E. gallinarum</i> , <i>E. durans</i> , <i>E. casseliflavus</i> , <i>E. raffinosus</i> , <i>E. hirae</i>
VanB	vanB	4-1000	0.25-2	İndüklenebilir	Evet	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. gallinarum</i> , <i>E. durans</i>
VanC	vanC-1	2-32	0.12-2	Yapısal, indüklenebilir	Hayır	<i>E. gallinarum</i>
VanC	vanC-2	2-32	0.12-2	Yapısal	Hayır	<i>E. casseliflavus</i>
VanC	vanC-3	2-32	0.12-2	Yapısal	Hayır	<i>E. flavescens</i>
VanD	vanD	16-256	2-64	Yapısal	Hayır	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>
VanE	vanE	16	0.5	İndüklenebilir	Hayır	<i>E. faecalis</i>
VanG	vanG	16	0.5	İndüklenebilir	Hayır	<i>E. faecalis</i>

VanA tipi direnç: Enterokoklarda glikopeptit direncinin en sık saptanan tipi olan VanA, D-Ala ve D-Lac arasında ester bağının oluşumunu katalizleyen bir ligazdır. Bu sayede peptidoglikan sentezinde normal yapıda bulunan D-Ala-D-Ala dipeptidinin yerini D-Ala-D-Lac alır ve vankomisin direnci oluşur. VanA izolatları hem vankomisin'e (MİK ≥ 64 $\mu\text{g/ml}$) hem de teikoplanin'e (MİK ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$) yüksek düzeyde dirençlidir. VanA fenotipinin ekspresyonu için gerekli genler Tn1546 transpozonu üzerinde taşınır. Bu transpozon plazmid içinde yer değiştirebildiği gibi konjugatif plazmidlerle taşınarak enterokok suşları arasında aktarılabilmek özelliğine sahiptir. VanA esas olarak *E. faecium*'da tanımlanmakla beraber başta *E. faecalis* olmak üzere *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. raffinosus* ve enterokok dışı bazı türlerde de bulunduğu gösterilmiştir (56, 58).

VanB tipi direnç: Enterokoklarda VanB tipi glikopeptit direnci VanA ligaza yapısal benzerlik gösteren VanB ligaz ile oluşur. VanB proteini yine D-ala-D-lac pentapeptidinin oluşumuna neden olur. Kromozomal yerleşimlidir. Ancak Tn1549, Tn5382 transpozonu ve plazmidler üzerinde de taşınarak aktarılabildiği bildirilmiştir. VanB tipi direnç taşıyan enterokok izolatları vankomisine değişken düzeyde direnç gösterirken (MIC=4-1000 $\mu\text{g/ml}$), teikoplanine duyarlıdır. VanB tipi direnç esas olarak *E. faecalis* ve *E. faecium*'da tanımlanmışlardır. Buna ek olarak nadiren *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* ve enterokok dışı bazı türlerinde VanB fenotipi taşıdığı bildirilmiştir (19, 54, 55).

VanC tipi direnç: VanC direnç profilinin özelliği vankomisine düşük düzeyde dirençli iken, teikoplanine duyarlı olmasıdır. VanC ligaz D-ala-D-ser pentapeptidinin oluşumuna neden olur. VanC tipi direnç *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ve *E. flavescens* suşlarında görülen intrensek bir direnç türüdür ve aktarılamaz. Bu suşlarda hemen her zaman VanC bulunmasına rağmen vankomisin için MİK değeri genellikle 8-16 $\mu\text{g/ml}$ arasındadır (19, 54, 55).

VanD tipi direnç: VanD, az sayıda *E. faecium* suşunda tanımlanan bir direnç tipidir. vanD geni kromozomal bir lokalizasyona sahip olup konjugasyonla diğer enterokoklara aktarılamaz. VanD tipi direnç taşıyan suşlar hem vankomisine, hem de teikoplanine orta düzeyde direnç gösterirler (44).

VanE tipi direnç: Bu direnç tipi ilk olarak *E. faecalis* suşunda tanımlanmıştır. Tipik olarak vankomisine düşük düzeyde dirençli (MİK=16 $\mu\text{g/ml}$), teikoplanine ise duyarlıdır (MİK=0,5 $\mu\text{g/ml}$). vanE geni kromozom üzerinde bulunur ve aktarılamaz. Vankomisin direnci D-ala-D-ser ile sonlanan peptidoglikan prekürsörlerinin sentezi ile ilişkilidir. VanC tipi dirence benzemekle birlikte VanE tipi direncin genetik belirleyicisi farklıdır ve intrensek bir direnç tipi değildir (44).

VanG tipi direnç: VanG tipi direnç ilk olarak *E. faecalis* suşunda tanımlanmıştır. Tipik olarak vankomisine düşük düzeyde (MİK=16 µg/ml) direnç gözlenirken, teikoplanine duyarlıdır (MİK=0,5 µg/ml). Dirençten vanG geni sorumludur. Nadir görülen bir direnç tipidir ve aktarılamaz (44).

2. 8. 2. 9. Tolerans: Hemen hemen izole edilen tüm enterokoklar, beta-laktamlar, vankomisin ve teikoplaninin de dahil olduğu bütün hücre duvarına etkili antibiyotiklere karşı tolerans gösterirler. Bu tolerans klinik açıdan oldukça önemlidir. Tolerans, minimal bakterisid konsantrasyonu (MBK)'nun, minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK)'ndan çok yüksek olması, yani bakterinin üremesinin durdurulması ancak öldürülememesidir. Bu nedenle bu antibiyotikler enterokoklara karşı bakteriyostatik etkilidirler. ÜSE'de tek başına kullanılabilirlerse de, endokardit, menenjit gibi bakterisidal etki gerektiren enfeksiyonlarda standart kombinasyon tedavisi önerilmektedir. Bu amaçla tedavide enterokoklara karşı sinerjik bakterisid aktiviteye, hücre duvarına etkili bir penisilin veya glikopeptit antibiyotiğe bir aminoglikozid eklenerek ulaşılabilmektedir (43, 59).

2. 8. 2. 10. Enterokoklarda Vankomisin Direncinin Saptanması:

VanA fenotipinde direnç gösteren enterokoklarda vankomisin direncini saptamada disk difüzyon, E-test ve otomatize sistem yöntemlerinden herhangi birinde sorun yaşanmazken, düşük düzey vankomisin direnci gösteren suşlarda (VanB fenotipi) direnci saptamak kolay değildir. Sonuçların değerlendirilmesinde kritik sonuçlar elde edildiğinde vankomisin direncini saptamak için tarama testi yapılmalıdır. Bu amaçla test edilecek suşlar 6 µg/ml vankomisin içeren beyin kalp infüzyon agar yüzeyine 0,5 McFarland yoğunluğunda hazırlanmış süspansiyonundan 1-10 µl yayılır. 35-37 °C ve normal atmosfer basıncında 24saat inkübasyondan sonra koloni sayısı değerlendirilir. >1 koloni olası vankomisin direnci olarak değerlendirilir (24, 60).

2. 9. Tedavi:

Enterokok kaynaklı enfeksiyonların tedavisi, izolatin duyarlılığına ve enfeksiyon bölgesine bağlıdır. Genelde komplike olmamış üriner sistem ve yumuşak doku enfeksiyonlarında monoterapi yeterlidir. Ampisilin veya penisilin bu tür enfeksiyonların tedavisinde uygulanacak ilk seçenek olabileceği gibi, nitrofurantoin idrar yolu enfeksiyonu için iyi bir alternatif olabilir. Eğer suş beta-laktamaz aktivitesine sahip ise amoksisilin klavulanat ve nitrofurantoin, ampisilin veya penisiline tercih edilebilir. Yüksek düzeyde penisilin direnci veya nitrofurantoin direnci varsa, bu kez de glikopeptitler veya linezolid

tedavi seçeneği olarak değerlendirilirler (4). Enterokokların neden olduğu endokardit veya menenjit tedavisinde ise kombinasyon tedavisi uygulanması gerekmektedir. Bu kombinasyon hücre duvarına etkili bir ajan ve bir aminoglikozid grubu antibiyotik birlikteliğinden oluşmakta ve duyarlı izolatlar için ampisilin veya penisilinle birlikte bir aminoglikozid kombinasyonu (gentamisin) tercih edilmektedir (61).

2. 10. Nozokomiyal VRE kontrolü:

Son yıllarda enterokoklardaki vankomisine dirençte gözlenen artış nedeniyle VRE yayılımının önlenmesi ve korunma amaçlı 1995 yılında Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) tarafından bazı önerilerde bulunulmuştur:

2. 10. 1. Uygun vankomisin kullanımı: Vankomisin kullanımının VRE kolonizasyonu ve enfeksiyonu için bir risk faktörü olduğu birçok çalışma ile kanıtlanmıştır. Ayrıca uygunsuz vankomisin kullanımının *S. aureus* ve *S. epidermidis* suşlarında vankomisine direnç gelişimine ve yayılımına zemin hazırlayacağı düşünülmektedir (62).

2. 10. 2. Hastane personelinin eğitimi: VRE yayılımının önlenmesinde eğitim en önemli faktörlerden biridir. Hemşire, laboratuvar personeli, eczacı, konsültan ve asistan doktorlar, öğrenciler, temizlik işlerinden sorumlu personel ve hasta bakımı ile ilgili diğer tüm personeli kapsayacak şekilde devamlı bir eğitim programının yürütülmesi gereklidir. Eğitim programında öncelikle VRE'nin neden önemli olduğu (maliyet, tedavi gücü vb) açıklanmalı, ayrıca VRE epidemiyolojisi ve kontrol yöntemleri hakkında bilgi verilmelidir (62).

2. 10. 3. Mikrobiyoloji laboratuvarının etkin kullanımı: VRE'nin hastane içinde yayılımını önlemede mikrobiyoloji laboratuvarı ilk savunma basamağıdır. Bir laboratuvarın enterokokları tanımlayabilmesi, vankomisin direncini acil ve kesin olarak tespit edebilmesi, VRE kolonizasyonunun ve enfeksiyonunun önlenmesi açısından çok önemlidir. Bunlara ek olarak laboratuvar ile enfeksiyon kontrol komitesi arasındaki koordinasyon bu çalışmaları kolaylaştırır. Hastanede VRE ile bir defa karşılaşıldıktan sonra çevre kültürlerinde (steril olmayan alanlar) enterokok saptanan tüm örnekler için vankomisin duyarlılık testleri yapılmalıdır. Henüz VRE ile karşılaşmamış ancak aynı coğrafik bölgelerde bulunan hastaneler tüm enterokokal izolatlar için duyarlılık testleri yapmalıdırlar (62). VRE tespiti için vankomisin duyarlılığını kesin olarak tespit edebilecek testler kullanılmalıdır. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre disk difüzyon yöntemi ile orta

derecede duyarlı olarak değerlendirilen bir izolat için mutlaka vankomisin MİK değeri saptanmalı ve bu izolat tür düzeyinde tanımlanmalıdır. Disk difüzyon yöntemi kullanan laboratuvarlar plakları 24 saat boyunca inkübe etmelidirler. MİK değerleri agar dilüsyon, agar gradient dilüsyon (E test), makro veya mikro broth dilüsyon metotlarıyla tespit edilebilir. Bu yöntemlerde de inkübasyon 24 saat olmalıdır (63). Otomatize sistemler VRE tespitinde özellikle de VanB direncini belirlemede güvenilir değildir (64).

Enterokoklarda vankomisin direnç tespiti için kullanılacak bir diğer yöntem de PCR ile glikopeptid direncinden sorumlu genin saptanmasıdır. Bu tip testler özellikle vankomisine düşük direnç gösteren VanB, VanC tipi direnci belirlemede faydalı olabilir. VRE izolatlarının teikoplanine karşı olan duyarlılıklarını tespit için disk difüzyon testini kullanmak sıklıkla VanA ve VanB suşları arasındaki farkı ortaya koyabilecektir. VRE için yapılan sürveyans kültürleri laboratuvarlar için zaman alıcı ve pahalıdır. Son zamanlarda bazı hastanelerde PCR'in VRE sürveyansı için maliyetetkin olduğu bildirilmiştir (65). VRE'nin hastanede yayılımının tek bir suşla mı yoksa birkaç farklı klonun aynı anda ortaya çıkmasıyla mı olduğunu tespit edebilmek önemlidir. VRE'nin klonal ilişki derecesini belirlemek için çok çeşitli moleküler tiplendirme yöntemleri kullanılmaktadır (66).

2. 10. 4. Kontrol önlemlerinin uygulanması: HICPAC tarafından önerilen, hastadan hastaya VRE geçişini önlemek için alınması gereken izolasyon ve temas önlemleri özetle şunlardır:

-VRE ile enfekte veya kolonize olan hastaların tek kişilik odalara ya da diğer VRE pozitif hastalar ile aynı odaya yerleştirilmesi. VRE pozitif hastaların odalarına girerken temiz eldiven giyilmesi.

-Hasta ile veya hasta odasındaki yüzeylerle temasın fazla olmasının beklendiği durumlarda, hastada idrar veya gaita inkontinansı olması, iloestomi, kolostomi veya açık yara drenajı varlığında VRE pozitif hastanın odasına girerken temiz bir önlük giyilmesi.

VRE'lerin endemik olduğu veya VRE yayılımının yukarıda belirtilen önlemlere rağmen devam ettiği hastaneler için ise şu önerilerde bulunulmuştur:

-Kontrol çalışmaları yoğun bakım ünitelerinde ve VRE yayılımının en hızlı olduğu servislerde yoğunlaştırılmalıdır

-Mümkünse VRE pozitif hasta grubuna bakım veren sağlık personelinin VRE negatif hastalara da bakım vermesinden kaçınılmalıdır

-Nadiren sağlık personelinde VRE taşıyıcılığı ve buna bağlı VRE yayılımı bildirilmiştir. VRE'nin kontrol altına alınamadığı durumlarda personel kronik cilt ve tırnak problemleri yönünden incelenmelidir

-VRE pozitif hastaların yattıkları odalardaki yüzeylerin ve cihazların temizliğine ve dezenfeksiyonuna özel önem verilmelidir

-Ayrıca yayılım paternleri ve kaynakları saptamak için suşların belli aralıklarla klonal yakınlıklarının araştırılması gereklidir (62).

2. 11. Sürveyans kültürleri:

VRE yayılımını önlemede, enfeksiyon kaynağını saptama ve ortadan kaldırmaya yönelik epidemiyolojik araştırmalar ilk basamağı oluşturmaktadır. Bir salgın esnasında gastrointestinal kolonizasyonu tespit etmek için özel sürveyans kültürleri yapılması başarılı bir VRE kontrol programı için gereklidir. Kolonize hastaları tespit için gaita, rektal veya perirektal sürüntü prevalans taramaları yeni bir VRE pozitif olgu saptandığında sadece aynı odada izlenmekte olan hastaların taranması ile sınırlı olabileceği gibi, aynı servisteki tüm hastaların veya hematoloji-onkoloji servisi, yoğun bakım ünitesi, transplantasyon ünitesi gibi birimlerde izlenen yüksek risk grubundaki hastaların da taranması şeklinde çok daha geniş kapsamlı olabilir (19, 62, 67). Kolonize hastaları tespit için gaita, rektal veya perirektal sürüntü taramasının yapılması gerekir. Kolonize kişileri saptamada perirektal kültürler rektal kültürler kadar duyarlıdır (68, 69).

Her merkez VRE kolonizasyon oranını ve fekal taşıyıcılık tarama programını belirlemelidir. Bu oran % 20'nin üzerinde ise VRE fekal taşıyıcılık açısından sürekli sürveyans yapılmalıdır. VRE taşıyıcılık oranı düşük ya da hiç saptanmayan ünitelerde ise risk grubunu oluşturan hastalarda nokta prevalans ile VRE taramasının daha uygun olduğu bildirilmiştir (70).

2. 12. Kolonizasyonun eradikasyonu:

Hasta kişilerdeki enfeksiyon riskini ortadan kaldırmak, enfeksiyon kontrolündeki harcamaları minimize etmek ve çevredeki VRE rezervuarını azaltma çabaları gastrointestinal eradikasyona odaklanmıştır. Bu konuda birçok çalışma yapılmıştır. Oral basitrasin, basitrasin ile birlikte doksisisiklin kombinasyonu, doksisisiklin ve rifampin kombinasyonu ve novobiyosin içeren antimikrobiyal rejimlerin uygulanması VRE kolonizasyonunun eradikasyonu amacıyla denenmiş, ancak kalıcı eradikasyonun sağlanamadığı görülmüştür (71, 72). Bütün bu çalışmalar sonucunda tek başına hiçbir rejimin VRE'yi gastrointestinal sistemden eradike edemediği ve bu konuda uzun süreli çalışmalar ve gözlemlere gereksinim olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca bazı Avrupa ülkelerinde (İrlanda,

Almanya ve Yunanistan gibi) VRE oranları artış göstermekte olup, Hollanda gibi bazı ülkelerde ise VRE prevalansı hala düşük seviyelerdedir. Avusturya, Portekiz ve İtalya gibi ülkelerde ise VRE oranları düşüş eğilimindedir. Bunun en önemli sebebi olarak bu ülkelerdeki antibiyotik kullanım politikalarındaki değişiklikler, sürveyans çalışmalarının çok sıkı bir şekilde sürdürülmesi ve el dezenfeksiyonu dahil enfeksiyon kontrol ve korunma önlemlerinin sıkı bir şekilde takibi olarak gösterilmektedir. Ayrıca bazı ülkelerde özellikle risk altındaki hasta gruplarında VRE taramasının rutin yapılması, gerek otomatize sistemlerle gerekse agar tarama ve moleküler yöntemlerle VRE'nin hızlı bir şekilde saptanması salgınları önlemede en önemli husus olarak gösterilmektedir (73).

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nin farklı kliniklerinden Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'mız laboratuvarlarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden (kan, yara, abse, kateter, BOS, idrar, ETA, balgam) izole edilen 128 enterokok kökeni çalışmaya alınmıştır. Streptomisin 300 µg, gentamisin 120 µg, vankomisin, teikoplanin, siprofloksasin, levofloksasin, tetrasiklin, nitrofrantoin, penisilin, ampisilin, linezolid, kinupristin/dalfopristin, eritromisin, kloramfenikol, rifampisin, tigesiklin (Oxoid) için disk difüzyon yöntemiyle duyarlılıkları değerlendirildi. Vankomisin, teikoplanin, daptomisin (AB Biomerieux), yüksek düzey gentamisin (HİMEDİA) MİK değerleri ise E Test ile araştırıldı.

3. 1. Gelen Klinik Materyallerden Enterokokların İzolasyonu :

Materyal gönderilen hastalardan;

1-Yaş

2-Cinsiyet

3-Hangi klinik veya poliklinikten geldiği

4-Antibiyotik alıp almadıkları

5-Altta yatan bir hastalıklarının olup olmadığı bilgileri kaydedildi.

Gönderilen materyaller çeşitlerine göre izolasyon amaçlı çeşitli besiyerlerine ekildi.

1-Cerrahi yara-abse materyalleri: Gelen materyaller koyun kanlı agar (PREMED), çukolatamsı agar, Mc Conkey agar (HİMEDİA) ve thioglikolatlı sıvı besiyerine (Oxoid) ekildi. Anaerop kültür için PH ve KV agara ekildi. Anaerogen kiti (Oxoid) kullanılarak hazırlanan anaerop jar içine konuldu. Gram boyaması için preparat hazırlandı. Kültürler 18-24 saat 35°-37° C'de inkübe edildi. Subklavian katater, multilümen ucu gibi materyaller çukolatamsı besiyerine maki yöntemi ile ekildi. 18-24 saat 35°-37° C 'de inkübe edildi. Eküvyonla gelen cerrahi yara, akıntı, sürüntü gibi materyaller koyun kanlı agar, Mc Conkey agar, çukolatamsı besiyerine, thioglikolatlı sıvı besiyerine ekildi.

2-İdrar: Bebeklerden steril idrar toplama poşetlerinden yararlanarak, daha büyük çocuklardan ve yetişkinlerden orta akım idrarları alınarak ölçülü öze (0.01 ml) ile kromojenik

agar (HIMEDİA) besiyerlerine ekimleri yapıldı. Gram preparatı hazırlandı. Kültürler 37°C'de 24 ve 48 saat inkübasyondan sonra incelendi.

3-Kan: Hastalardan kan kültürü örnekleri BACTEC 9120 kan kültür sisteminde (Becton Dickinson, ABD) takip edildi. Bu sistemde; uygun besiyeri, lökosit ve antibiyotik bağlayan reçineler bulunan kan kültürü şişelerine hastalardan venöz kan alınır. Kan kültürü şişeleri laboratuvarımızdaki Bactec 9120 kan kültürü cihazına kodlanarak yerleştirildi. Pozitif sinyal veren şişelerden koyun kanlı agar, Mc Conkey agar, çukolatamsı besiyerine pasaj yapılarak besiyerleri % 5-10 CO₂'li etüv içine konuldu ve 18- 24 saat süreyle inkübe edildi.

4-Endotrakeal aspirat: Yoğun bakım ünitesinde yatan ve ventilatöre bağlı hastadan laboratuvarımıza yollanan endotrakeal aspirat materyali gelir gelmez çukolatamsı besiyerine, koyun kanlı agara, Mc Conkey agara ekilip Gram boyaması için preparat hazırlandı. Ekilen kültürler 18-24 saat 35°-37° C'de inkübe edildi.

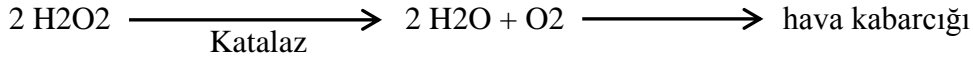
5-Balgam: Hastadan steril kaplara alınan balgam örnekleri koyun kanlı agar, Mc Conkey agar, çukolatamsı besiyerine ekilerek % 5-10 CO₂'li etüv içine konuldu ve 37°C'de 18- 24 saat süreyle inkübe edildi. Gram preparatı hazırlandı.

3. 2. Değerlendirme:

Ekilen kültürler 18-24 saat sonra besiyerlerinde üreme olup olmaması yönünden değerlendirildi. Gram boyalı preparatlar lökosit varlığı, bakteri özellikle gram pozitif kok görülüp görülmemesi yönünden araştırıldı. Koyun kanlı agarda alfa hemolitik olanlar ve hemoliz yapmayan kolonilerden, çukolatamsı besiyerinde üreyen 0,5-1 mm çaplı gri, düz, kenarları belirgin, beyaz-yeşilimsi kolonilerden Gram boyaması yapıldı. Gram pozitif kok olarak görülen bu bakteriler için Gram pozitif kok ayırıcı tanısı için yaptığımız şu işlemler yapıldı: Gram pozitif kok olan bakterilere katalaz deneyi yapıldı. Katalaz negatif bu bakteriler Bile eskülin agara ekilip 35°-37° C'de inkübe edildi. % 40 safralı ortamda üreyerek eskülini hidrolize eden ve besiyerinde siyah pigmentasyon oluşturan bakteriler Bile eskülin pozitif kabul edilip % 6,5'luk NaCl'de üreyip üremedikleri kontrol edildi. Bunun için % 6,5'luk NaCl içine yeni pasaj yapılmış kültürlerden ekim yapılarak 35°-37° C'de 3 saat süreyle inkübe edildi. 3 saat sonunda % 6,5'luk NaCl'den koyun kanlı agara pasaj yapılarak 35°-37° C'de 18-24 saat inkübe edilmek üzere etüve kaldırıldı. Bu pasajlarda Gram pozitif kok üremesi üzerine bakterilerin % 6,5'luk NaCl deneyi pozitif kabul edildi. Ardından PYR testi

yapılarak PYR pozitif bakteriler *Enterococcus spp.* kabul edilerek tür ayrımı için API 20Strep (BioMerieux, Fransa) sistemi kullanıldı.

3. 2. 1. Katalaz testi-deneyi:



Çukolatamsı besiyerinden alınmış koloni üzerine % 3'lük Hidrojen peroksitten (H₂O₂) bir damla damlatılır. Hızla moleküler O₂ üretimi sonucu damlatır damlatmaz hava kabarcığının oluşması pozitif test olarak kabul edilmektedir.

3. 2. 2. Bile eskulin testi deneyi:

Bu test belirli bazı bakterilerin (enterokoklar ve D grubu streptokoklar) eskülini %4 safra tuzlu veya % 40 safralı ortamda hidrolize etmesi temeline dayanır. Eskülinin safralı ortamda hidrolizi glikoz ve eskületinin açığa çıkmasına yol açar. Eskületin zamanla besiyerindeki ferrik iyonlarla reaksiyona girerek siyah diffüz bir kompleks oluşturur. Bu testi yapmak için koloniden özeye alınıp Bile eskülin agara (HIMEDIA) ekilir. 35° C de 18-24 saat inkübe edilir. Besiyerinde oluşan siyahlık testin pozitif olduğunu gösterir. Enterokoklar, bazı viridans streptokoklar (% 3) pozitif iken diğer streptokoklar negatiftir. Bile eskulin agar hazır toz besiyerinden laboratuvarımızda steril petrilere dökülerek hazırlanır.

3. 2. 3. Tuz Tolerans Testi (% 6,5'lük NaCl testi):

Özellikle enterokokların identifikasyonunda kullanılan bir testtir. Biz laboratuvarımızda hazırladığımız % 6,5'lük NaCl besiyerini kullandık. Besiyerine 2-3 koloni ekilip 3 saat 35° C'de inkübe edildi. Ardından üreme kontrolü için koyun kanlı agara pasaj yapıldı. Üreme olanlar pozitif kabul edildi.

3. 2. 4. PYR Testi:

Enterokoklar ve A grubu beta hemolitik streptokokların identifikasyonunda kullanılan önemli bir testtir. Bu testte kullanılan PYR substratı 'L-pyrrolidonyl-beta-naftilamid'dir. Bu substrat spesifik bakteriyel aminopeptidaz enzimiyle hidrolize edilir. Oluşan kırmızı renk pozitif reaksiyonu gösterir. Bu test için ticari PYR test kiti (Oxoid) kullanıldı. Bir öze yardımıyla bakteri kolonisinden bir miktar alınıp test kartlarının işaretlenmiş alanına sürülerek yayıldı ve üzerine bir damla ayıraç damlatıldı. Oda sıcaklığında beş dakika bekletildikten sonra üzerine bir damla tampon solüsyonu damlatıldı. Enterokokların PYR maddesini

hidrolize etmesiyle oluşan beta naftilamin'in ayrıca reaksiyona girmesi ile oluşan pembe-mor renk pozitif sonuç olarak değerlendirildi.

3. 2. 5. Nitrosefin testi:

Enterokoklardaki beta-laktamaz varlığı kromojenik yöntem (Nitrosefin strip, Oxoid) ile araştırıldı. Bu testin kalite kontrolünde beta-laktamaz pozitif *S.aureus* ATCC 29213 kullanıldı.

3. 2. 6. İzole Edilen Enterokokların Tür Tayini:

Enterokokların tür tayini API 20Strep (BioMerieux, Fransa) sistemi kullanılarak yapılmıştır. 24 saatlik saf kültürden 2 ml'lik distile suda 4 Mc Farland'tan daha bulanık bir süspansiyon hazırlandı. Hazırlanan bu süspansiyon stripte bulunan Voges Proskauer (VP), hippurik asit hidrolizi (HIP), eskülin hidrolizi (ESC), pyrolidonyl arylamidaz (PYRA), alfa-galaktosidaz (α GAL), beta-glukoronidaz (β GUR), beta-galaktozidaz (β GAL), alkalın fosfataz (PAL), lösin amino peptidaz (LAP) ve arginin dihidrolaz (ADH) kuyucuklarına yaklaşık 100 μ l kuyucukları tamamen dolduracak şekilde dağıtıldı. Bu süspansiyondan 0,5 ml GP mediuma eklendi ve bu yeni süspansiyon geriye kalan riboz asidifikasyonu (RIB), arabinoz asidifikasyonu (ARA), mannitol asidifikasyonu (MAN), sorbitol asidifikasyonu (SOR), laktoz asidifikasyonu (LAC), trehaloz asidifikasyonu (TRE), inulin asidifikasyonu (INU), rafinoz asidifikasyonu (RAF), amidon asidifikasyonu (AMD) ve glikojen asidifikasyonu (GLYG) kuyucuklarına yalnızca tüpler dolacak şekilde dağıtıldı. Son 11 kuyucuğa (ADH'tan GLYG'e kadar) parafin yağ damlatıldı. 4 saat aerobik koşullarda nemli bir ortamda inkübe edildikten sonra VP testine birer damla VP1 ve VP2, HIP testine 2 damla NIN, PYRA, α GAL, β GUR, β GAL, PAL, LAP tüplerine birer damla ZYM A ve ZYM B damlatılarak oluşan reaksiyonlar değerlendirilip sayısal profil yapıldı ve tür tayini yapıldı. API 20 Strep testin değerlendirme kriterleri Tablo 3. 1'de verilmiştir.

Tablo 3. 1: API 20 Strep testin değerlendirme kriterleri

TESTLER	AKTİF İÇERİKLER	MİKTAR (mg/küp)	REAKSİYONLAR/ENZİMLER	SONUÇLAR	
				negatif	Pozitif
VP	Sodyum piruvat	1,9	Asetoin üretimi(Voges-Proskauer)	renksiz	Pembe
HIP	Hippurik asit	0,4	Hidroliz (HIPpurik asit)	renksiz	Mor
ESC	Eskülin ferik fosfat	1,16 0,152	Beta-glukozidaz hidrolizi(ESCulin)	renksiz	Siyah
PYRA	Pyroglutamik asit beta-naftilamid	0,0256	PYRrolodinil Arylamidaz	renksiz	Turuncu
α GAL	6-bromo-2-naftil-D-galakto piranozoid	0,0376	alfa-GALaktozidaz	renksiz	Eflatun
β GUR	Naftol ASBI-glukoronik asit	0,0537	Beta-GIUKoRonidaz	renksiz	Mavi
β GAL	2-naftil-D-galaktopiranozoid	0,0306	Beta-GALoksidaz	renksiz	Eflatun
PAL	2-naftil fosfat	0,0244	Alkalin fosfataz	renksiz	Eflatun
LAP	L-lösin-beta-naftilamid	0,0256	Lösin AminoPeptidaz	renksiz	Turuncu
ADH	L-arginin	1,9	Arginin DiHidrolaz	kırmızı	Turuncu/sarı
RIB	D-ribose	1,4	Asidifikasyon(RIBoz)	kırmızı	Turuncu/sarı
ARA	L-arabinoz	1,4	Asidifikasyon(ARAbinoz)	kırmızı	Turuncu/sarı
MAN	D-mannitol	1,36	Asidifikasyon(MANnitol)	kırmızı	Turuncu/sarı
SOR	D-sorbitol	1,36	Asidifikasyon(SORbitol)	kırmızı	Turuncu/sarı
LAC	D-laktoz	1,4	Asidifikasyon(LACtoz)	kırmızı	Turuncu/sarı
TRE	D-trehaloz	1,32	Asidifikasyon(TREhaloz)	kırmızı	Turuncu/sarı
INU	İnulin	5,12	Asidifikasyon(INUlin)	kırmızı	Turuncu/sarı
RAF	D-raffinose	3,12	Asidifikasyon(RAFFinoz)	kırmızı	Turuncu/sarı
AMD	Nisasta	2,56	Asidifikasyon(AMiDon)	kırmızı	Turuncu/sarı
GLYG	Glikojen	1,28	Asidifikasyon(GLYcoGen)	Kırmızı/ turuncu	Parlak Sarı

3. 2. 7. Duyarlılık Testleri:

3. 2. 7. 1. Disk Difüzyon testi: İzole edilen suşların antibiyotik duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'a göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile saptandı (63). Antibiyotiklere duyarlılığın saptanmasında vankomisin (30 µg), teikoplanin (30 µg), ampisilin (10 µg), penisilin (10 ünite), siprofloksasin (5 µg), levfloksasin (5 µg), nitrofurantoin (300 µg), linezolid (30 µg), rifampin (5 µg), kloramfenikol (30 µg), eritromisin (15 µg), tetrasiklin(30 µg), kinupristin/dalfopristin (15 µg), tigesiklin (15 µg), yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılmasında gentamisin (120 µg) ve streptomisin (300 µg) diskleri (Oxoid) kullanıldı. Tigesiklin hariç tüm antibiyotikler için duyarlılık sınırlarının belirlenmesinde CLSI kriterleri esas alınırken, tigesikline ait duyarlılık sınırlarının belirlenmesinde ise European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)'ın belirlediği disk difüzyon sınır değerleri esas alındı (118).

Mueller Hinton Agar (MHA):

Satıcı firmadan 500 gr'lık kutuda hazır olarak satın alınmış Mueller Hinton Agar besiyeri (HIMEDIA) kullanıldı. Üzerindeki tarife göre 38 gr toz besiyeri 1000 ml distile suda eritilerek otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edildi. Steril plastik petrilere 4 mm kalınlıkta olacak şekilde döküldü. Bu besiyeri disk difüzyon ve E-test yöntemi ile antibiyotik direncinin saptanması için kullanıldı (12). MHA besiyeri ATCC 27853 *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC 25922 *E. coli*, ATCC 29212 *E. faecalis* kontrol suşu ile test edildi. Bakterilerin taze katı plak kültürlerinden steril serum fizyolojik içinde 0,5 Mc Farland süspansiyon hazırlandı. Eküvyon yardımıyla MHA besiyeri üzerine homojen bir şekilde yayıldı. 15 dakika besiyerinin kurumaması beklendikten sonra antibiyotik diskleri plak kenarına 15 mm ve birbirinden en az 25-30 mm uzakta olacak şekilde yerleştirildi. Test edilecek antibiyotikler ticari firmalardan temin edildi (Oxoid) . Bir petri kutusuna en fazla 8 disk konuldu. 16-18 saatlik 37° C'de inkübasyonu takiben disklerin etrafındaki ürememe zonlarının çapları mm olarak ölçülerek CLSI standartlarına göre “dirençli” ve “duyarlı” olarak değerlendirildi. Orta duyarlı olanlar dirençli olarak kabul edildi. CLSI standartlarına göre antimikrobik ilaç zon çapı tablo 3. 2'de verilmiştir.

Tablo 3. 2:CLSI standartlarına göre zon çapı sınır değerleri(63)

Antimikrobik İlaç	Disk İçeriği	Zon Çapı Sınır Değeri (mm)		
		Duyarlı	Orta	Dirençli
Ampisilin	10 µg	≥ 17	-	≤ 16
Penisilin	10 ünite	≥ 15	-	≤ 14
Siprofloksasin	5 µg	≥ 21	16-20	≤ 15
Levofloksasin	5 µg	≥ 17	14-16	≤ 13
Nitrofurontain	300 µg	≥ 17	15-16	≤ 14
Vankomisin	30 µg	≥ 17	15-16	≤ 14
Linezolid	30 µg	≥ 23	21-22	≤ 20
Teikoplanin	30 µg	≥ 14	11-13	≤ 10
Gentamisin	120 µg	≥ 10	-	≤ 6
Streptomisin	300 µg	≥ 10	-	≤ 6
Tetrasiklin	30 µg	≥ 19	15-18	≤ 14
Rifampin	5 µg	≥ 20	17-19	≤ 16
Kloramfenikol	30 µg	≥ 18	13-17	≤ 12
Kinupristin- Dalfopristin	15 µg	≥ 19	16-18	≤ 15
Eritromisin	15 µg	≥ 23	14-22	≤ 13

Tablo 3. 3: EUCAST kriterlerine göre tigesiklin için zon çapı sınır değerleri

Antimikrobik İlaç	Disk İçeriği	Zon Çapı Sınır Değeri (mm)		
		Duyarlı	Orta	Dirençli
Tigesiklin	15 µg	≥ 18	-	≤ 15

3. 2. 7. 2. E-test yöntemiyle minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) tayini:

Çalışmamızda daptomisin, yüksek düzey gentamisin, vankomisin ve teikoplaninin MİK değerlerini belirleyebilmek için E-test yöntemi kullanıldı. E-test şeritleri (AB Biomerieux, İsveç ve HIMEDIA) kullanım zamanına kadar -20 °C’de saklandı. Kullanılacağı zaman bir müddet oda sıcaklığında bekletildi. 0.5 Mc Farland bulanıklığında bakteri süspansiyonu eküvyon yardımıyla Mueller Hinton besiyerine yayılıp 15 dakika kuruması beklendikten sonra besiyerine daptomisin, yüksek düzey gentamisin, vankomisin ve teikoplanin E-test şeritleri yerleştirildi. 37 °C’de 24 saat inkübasyondan sonra elips şeklindeki inhibisyon alanının şeritle kesiştiği nokta MİK değeri olarak belirlendi. CLSI-2011 (M100-S21 Vol 31 No:1) önerilerine göre vankomisin için MİK değeri ≤ 4 µg/ml duyarlı, 8-16 µg/ml orta derece duyarlı, ≥ 32 µg/ml dirençli olarak kabul edildi. Teikoplanin için MİK değeri ≤ 8 µg/ml duyarlı, 16-32 µg/ml olan suşlar orta derece duyarlı, ≥ 32 µg/ml olan suşlar dirençli olarak kabul edildi. Daptomisin için MİK değeri ≤ 4 µg/ml duyarlı kabul edildi. Yüksek düzey gentamisin için MİK değeri ≥ 500 µg/ml olanlar dirençli kabul edildi.

4. 2. 8. PCR:

13 VRE ve eritromisin, 17 VRE, YDGD ve eritromisin, 3 YDGD ve eritromisin, 17 eritromisin direnci olan toplam 50 kökünde aminoglikozid modifiye eden enzimleri kodlayan genler; 6'-N-asetiltransferaz-2''-O-fosfotransferaz [aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia], 3'-O-fosfotransferaz [aph (3')-IIIa], 4'-O-adeniltransferaz [ant (4')], eritromisin rezistan metilaz genleri (ermA, ermB, ermC) ve vankomisin direnç genleri olan vanA ve vanB Tablo 3. 2’de listelenen primerlere göre multipleks-PCR yöntemi ile tespit edildi (95).

Tablo 3. 4: Çalışmada kullanılan oligonükleotit primerler

Tür	Primer	Amplifike Ürün Büyüklüğü (bp)	Referans No
aac(6')- Ie aph(2'')-Ia	GAGCAATAAGGGCATAACCAAAAAT CCCGTGCATTTGTCTTAAAAAACTG G	505	132
aph(3')- IIIa	GGCTAAAATGAGAATATCACCGGC TTTAAAAAATCATAACAGCTCGCG	523	95
ant(4')-Ia	CAAACCTGCTAAATCGGTAGAAGCC GGAAAGTTGACCAGACATTACGAA CT	294	95
ermA	TAT CTT ATC GTT GAG AAG GGA TT CTA CAC TTG GCT GAT GAA A	139	95
ermB	CTA TCT GAT TGT TGA AGA AGG ATT GTT TAC TCT TGG TTT AGG ATG AAA	142	95
ermC	AAT CGT CAA TTC CTG CAT GT TAA TCG TGG AAT ACG GGT TTG	299	95
VanA	GGG AAA ACG ACA ATT GC GTA CAA TGC GGC CGT TA	732	95
VanB	ATG CGA AGC CGA TAG TC GAT TTC GTT CCT CGA CC	638	95

1-DNA izolasyonu;

-Kültürden hazırlanan 200 mikrolitre örnek 1,5 ml lik ependorf tüplere alındı, üzerine 1ml Steril Distile su ekleyip vortekslendi.

- 30 dk kaynayan suda tüpler inkübe edildi.

-Tüpler soğumaya alındıktan sonra minisantrifüjde 12000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi.

- Süpernatanttan 500 mikrolitre DNA içeren izolat alınıp farklı tüplere alıktlandı ve -20 °C derin dondurucuya alındı.

2-DNA ölçümü;

-Her bir örneğin izolatu içersindeki DNA miktarını belirlemek için NanoDrop 1000 Spektrofotometreyle (Thermo Fisher Scientific/ Amerika Birleşik Devletleri) ölçümleri yapıldı.

3-Multipleks (Çoklu)PCR;

VanA ve VanB direnç genleri tespiti için Seegene Seeplex VanR kiti (Güney Kore) kullanım kılavuzunda belirtilen protokole uygun olarak çalışıldı:

PCR Ana karışımın (Mastermix) hazırlanması

4 µl	5X VRE PM (Primer Mixture: VanA ve VanB primer çifti, internal kontrol primer çifti, internal control örneği)
3 µl	8-Mop Solüsyonu (8-methoxypsoralen soüsyonu;
10 µl	2X Multipleks Anakarışımı(DNA polimeraz, dNTP çözeltisi, MgCl ₂ , sabitleyici)
17 µl	Toplam PCR Anakarışım Miktarı

-Tüpü vorteksleyerek karıştırdıktan sonra çok az santrifuj edildi.

- Her örnekten 3 µl nükleik asit eklendi

17 µl	PCR Anakarışım Miktarı
3 µl	Örnek Nükleik Asidi
20 µl	Toplam PCR Anakarışım Miktarı

-Tüp önceden ısıtılmış (94°C) thermal cycler'a yerleştirildi ve 15 dakika ilk denatürasyonun ardından 35 döngü şeklinde 94 °C'de 30 saniye, 60 °C'de 1 dakika, 72 °C'de 1 dakika döngüsel çoğaltmayı takiben 72 °C'de 5 dakika inkübasyonla gen uzama gerçekleştirildi.

ermA, ermB, ermC ve aph (3')-IIIa, ant (4') ve aac (6')-le aph (2'') genleri Emaneini ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada belirtilen protokolle PCR işlemi gerçekleştirildi (95):

-Amplifikasyon, son hacim 25 mikrolitre olacak şekilde, her primerden 300 nM, reaksiyon buffer 1x 2,5 mM MgCl₂, 0. 2 nM dNTPs, 5 mikrolitre izole edilen DNA, 1.5 U taq polimeraz (Fermantasi UAB, Lithuania) içeriği ile gerçekleştirildi.

-Polimeraz Zincir Reaksiyonu için 94 °C'de 5 dakikalık ilk denatürasyonun ardından, 30 döngü 94 °C'de 45 saniye, 55 °C'de 45 saniye (erm genleri için 50 °C) ve 72 °C'de 45 saniyelik döngüsel çoğaltmayı takiben 72 °C'de 5 dakika inkübasyonla gen uzama gerçekleştirildi.

- Amplifike ürünler % 1,5 agaroz jel içeren elektroforez ve ScreenTape Lab901 (İngiltere) otomatik kapiler elektroforez cihazı ile analiz edildi. DNA bandları etidyum bromür ile boyandı ve UV ışınları altında fotoğraflandı.

İstatiksel Analiz:

Veriler sık ve yüzde oran kullanılarak tanımlanmıştır. Sonuçlar ki-kare testleri ile değerlendirilmiştir. İstatiksel anlamlılık $p < 0,05$ ise kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Ocak 2012- Ocak 2013 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik materyalden 128 enterokok kökeni izole edildi ve bunların disk difüzyon ile duyarlılık ve E test ile MİK değerleri araştırıldı. Kökenlerin gönderilen materyallere göre dağılımı Tablo 4. 1’de görülmektedir.

Tablo 4. 1. Gönderilen Materyallerin Dağılımı

Materyal cinsi	Sayı
İdrar	69
Cerrahi alan(abse, yara, doku, dren sıvısı, kateter)	35
Kan	21
Balgam	2
Endotrakeal aspirat	1

Enterokok izole edilen materyallerin çoğunu idrar, kan, cerrahi yara ve abse oluşturmaktadır. Balgam, endotrakeal aspirat gibi materyallerden daha az sıklıkta enterokok saptandı. Gönderilen materyallerin kliniklere göre dağılımı Tablo 4. 2’de görüldüğü gibidir.

Tablo 4. 2. Materyallerin Kliniklere Göre Dağılımı

Klinik	Sayı
Çocuk Hastalıkları Poliklinik	21
Çocuk Cerrahi Poliklinik	5
Çocuk Hastalıkları Servisi	4
Çocuk Cerrahi Servisi	8
Genel Dahiliye Servisi	25
Genel Cerrahi Servisi	24
Nöroşirürji Servisi	5
Kalp Damar Cerrahi Servisi	2
Üroloji Servisi	1
Ortopedi Servisi	1
Kadın Hast. Servisi	4
YBÜ	14
Genel Dahiliye Poliklinik	9
Üroloji Poliklinik	4
Ortopedi Poliklinik	1

Enterokok kökenlerinin % 66'sı çocuk hastalıkları polikliniğinden, dahiliye ve cerrahi servisleri ile yoğun bakım ünitelerinden gönderilen idrar, kan ve yara-abse materyallerinden izole edildi.

Hastaların Özellikleri: Çalışma grubuna aldığımız 128 enterokok kökeninin 68'i erkek 60'ı kadın hastadan izole edildi, kadın/erkek oranı açısından anlamlı bir fark bulunmadı. Örneklerin 43'ü (% 34) çocuk, geri kalan 85'i (% 66) ise yetişkin hastaya aitti. Çalışılan örneklerin 41'i (% 32) ayaktan tedavi gören hastalara ait olup 87'si (% 68) yatarak tedavi gören hastalara aitti. Çalışmamızı oluşturan kökenlerin çoğunluğunu hastanemiz çeşitli servislerinde yatan hastalardan elde ettik.

Tablo 4. 3: Enterokok kökenlerinin izole edildiği hasta gruplarına göre antibiyotik direnç oranları [N(%)]

Antibiyotikler	Poliklinik	Servis	N	P
Ampisilin	5(12)	42(48)	47(37)	<0.001
Penisilin	5(12)	42(48)	47(37)	<0.001
Vankomisin	1(2)	29(33)	30(23)	<0.001
Teikoplanin	1(2)	29(33)	30(23)	<0.001
Tetrasiklin	31(76)	69(79)	100(78)	>0.05
Siprofloksasin	13(32)	50(57)	63(49)	<0.05
Levofloksasin	13(32)	50(57)	63(49)	<0.05
Linezolid	0	0	0	>0.05
YDG	2(5)	18(21)	20(16)	<0.05
YDS	6(15)	23(28)	29(22)	<0.05
Nitrofurantoin	1(2)	21(24)	22(17)	<0.001
Rifampisin	15(37)	52(60)	67(52)	<0.05
Kloramfenikol	13(32)	22(25)	35(27)	>0.05
Eritromisin	25(61)	68(78)	93(73)	<0.05
Kinupristin/Dalfopristin	27(66)	37(43)	64(50)	<0.05
Tigesiklin	0	0	0	>0.05
Toplam	41(32)	87(68)	128	

128 enterokok kökeninin 100'ü (% 78) tetrasikline, , 93'ü (% 73) eritromisine, 67'si (% 52) rifampisine, 64'ü (% 50) kinupristin/dalfopristine, 63'ü (% 49) siprofloksasin ve levofloksasine, 47'si (% 37) penisilin ve ampisiline, 35'i (% 27) kloramfenikole, 29'u (% 22) yüksek düzey streptomisine, 22'si (% 17) nitrofurantoinine, 20'i (% 16) yüksek düzey gentamisine dirençliydi. Kökenlerin 30'unda (% 23) vankomisin ve teikoplanin direnci tespit edildi.

Kökenlerde daptomisin, linezolid ve tigesikline direnç görülmedi. Kökenlerin hiçbirinde beta laktamaz varlığı saptanmadı.

Yatan hasta örneklerinden izole edilen enterokokların poliklinikten gelen örneklere göre ampisilin, penisilin, vankomisin, teikoplanin, siprofloksasin, levofloksasin, YDS, YDG, nitrofurantoin, rifampisin, eritromisin direncinin anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi. Kinupristin/dalfopristin direnci ise poliklinikten gelen örneklerden izole edilen enterokoklarda daha yüksek oranda saptandı ($p < 0,05$).

Bizim çalışma grubumuzdaki hastaların % 91'i cerrahi operasyon geçirmiş, uzun süre hastanede yatan, çeşitli ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan ve genellikle altta yatan önemli bir hastalığı veya predispozan faktörü bulunan hastalar oluşturmaktadır. Tablo 4. 4' de hasta popülasyonumuzun özellikleri sıralanmaktadır.

Hastalarımızın 50'si (% 39) örneğin alındığı sırada antibiyotik kullanmıyordu. Ancak 78 (% 61) hasta örneğin alındığı sırada ya da öncesinde geniş spektrumlu antibiyotik kullanıyordu.

Tablo 4. 4. Hastaların Özellikleri

Altta Yatan Hastalık/Özellik	Sayı
Cerrahi operasyon geçiren	10
Reanimasyonda yatan	6
KBY'li ve sondalı hasta	5
Kronik İsemik Kalp Hastası	5
Diabetes mellitus	4
Karsinom	41
Sinir ve Kas Sistemi bozuklukları	7
Üriner Sistem Bozuklukları	25
Solunum Sistemi Bozuklukları	5
Deri ve Eklem Hastalıkları	5
Sindirim Sistemi Bozukluğu	2
Gebe	1

Tablo 4. 5. Enterokokların tür düzeyinde dağılımı ve izole edildiği örnekler [n(%)]

Tür	İdrar	Kan	Cerrahi alan	Diğer	N
<i>E.faecalis</i>	37(54)	6(28,5)	20(57)	0	63(49)
<i>E.faecium</i>	32(46)	15(71,5)	9(26)	3	59(46)
<i>E.avium</i>	0	0	4(11)	0	4(3)
<i>E.durans</i>	0	0	2(6)	0	2(2)
Toplam	69(54)	21(17)	35(27)	3(2)	128

Çalışmamızda 128 enterokokun 63'ü (% 49) *E.faecalis*, 59'u (% 46) *E.faecium*, 4'ü *E.avium*, 2'si *E. durans* olarak tespit edildi.

E. faecium penisilin, ampisilin, vankomisin teikoplanin, siprofloksasin, levofloksasin, YDG, YDS, nitrofurantoin, rifampisin, kloramfenikole *E. faecalis*'e göre anlamlı derecede daha dirençli, ancak *E. faecalis* kinupristin/dalfopristine daha dirençli tespit edildi ($p < 0,05$). *E. faecalis* ve *E. faecium* antibiyotik direnç oranları tablo 4. 6'da gösterilmiştir.

Tablo 4. 6: *E. faecalis* ve *E. faecium* antibiyotik direnç oranları [n (%)]

Antibiyotikler	<i>E.faecalis</i>	<i>E.faecium</i>	P
Ampisilin	1(2)	42(71)	<0.001
Penisilin	1(2)	42(71)	<0.001
Vankomisin	0	30(51)	<0.001
Teikoplanin	0	30(51)	<0.001
Tetrasiklin	51(81)	47(80)	>0.05
Siprofloksasin	17(27)	43(73)	<0.001
Levofloksasin	17(27)	43(73)	<0.001
Linezolid	0	0	>0.05
YDG	1(2)	18(31)	<0.001
YDS	10(16)	19(33)	<0.05
Nitrofurantoin	1(2)	20(34)	<0.001
Rifampisin	20(32)	42(71)	<0.001
Kloramfenikol	25(40)	10(17)	<0.05
Eritromisin	42(67)	46(78)	>0.05
Kinupristin/Dalfopristin	63(100)	1(2)	<0.001
Tigesiklin	0	0	>0.05
Toplam	63(49)	59(46)	

13 VRE ve eritromisin, 17 VRE, YDG ve eritromisin, 3 YDG ve eritromisin, 17 eritromisin direnci olan toplam 50 kökende multipleks PCR yöntemi ile vanA, vanB, ermA, ermB, ermC, aph (3')-IIIa, ant (4') ve aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia direnç genleri araştırıldı. Tablo 4. 7'de türlere göre direnç genlerinin dağılımı verilmiştir.

Tablo 4. 7. Türler göre AME, erm ve van genlerinin dağılımı:

Direnç genleri	<i>E.faecalis</i>	<i>E.faecium</i>	<i>E.avium</i>	<i>E.durans</i>	Toplam
aac (6')-Ie aph (2'')-Ia	4	23	1	0	28
aph (3')-IIIa	3	2	1	1	7
ant (4')-Ia	0	0	0	0	0
aac (6')-Ie aph (2'')-Ia+aph (3')-IIIa	1	6	1	0	8
ermA+ ermC	0	1	0	0	1
ermA+ermB+ ermC	0	1	0	0	1
ermB	10	7	3	1	21
ermB+ ermC	1	25	1	0	27
VanA	0	29	0	0	29
VanB	0	0	0	0	0

Çalışılan 50 kökenin 49'unda ermB geni (21 kökende sadece ermB geni, 27 kökende hem ermB hem de ermC geni, bir kökende ise ermA, ermB, ermC geni üçü birlikte) saptandı. Bir kökende ermA ve ermC geni tespit edildi.

Disk difüzyon ve E test ile YDGD olan 20 kökenin 19'unda (18 *E. faecium*, 1 *E. avium*) 6'-asetiltransferaz- 2'-fosfotransferaz enzimini kodlayan aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia geni saptandı, YDGD olan bir *E. faecalis* kökeninde bu gen tespit edilmedi. YDGD olmayan 30 kökenin 11'inde (7 *E. faecium*, 4 *E. faecalis*) sadece aac (6')-aph (2'')-Ia geni, 6'ında (4 *E. faecium*, 1 *E. faecalis*, 1 *E. avium*) aac (6')-aph (2'')-Ia ve aph (3')-IIIa geni, 7'sinde (2 *E. faecium*, 3 *E. faecalis*, 2 *E. avium*, 1 *E. durans*) sadece aph (3')-IIIa geni saptandı. Kökenlerde 4'-adeniltransferaz enzimini kodlayan ant (4') geni tespit edilmedi.

30 vankomisine dirençli *E. faecium* kökeninin 29'unda vanA geni tespit edildi. Kökenlerin hiçbirinde vanB geni saptanmadı. VRE kökenlerinin vankomisin ve teikoplanin MİK değerleri tablo 4. 8'de gösterilmiştir.

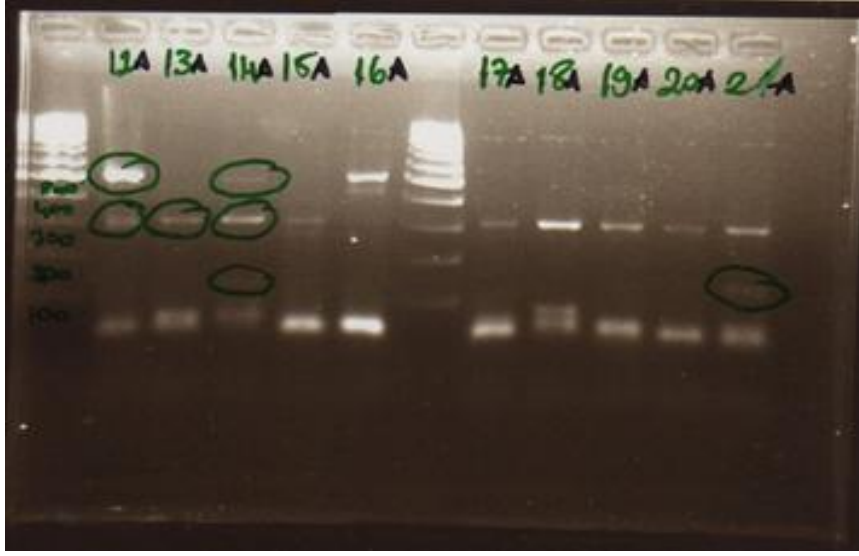
Tablo 4. 8. VRE Kökenlerinin Vankomisin ve Teikoplanin MİK Değerleri

Köken No	Vankomisin MİK	Teikoplanin MİK	Fenotip
1	>256	128	Van A
2	>256	128	Van A
3	>256	256	Van A
4	>256	64	VanA
5	>256	128	Van A
6	>256	64	Van A
7	>256	256	Van A
8	>256	64	Van A
9	>256	64	Van A
10	>256	256	Van A
11	>256	256	Van A
12	>256	128	Van A
13	>256	128	Van A
14	>256	64	Van A
15	>256	256	Van A
17	>256	128	Van A
18	>256	128	Van A
19	>256	64	Van A
20	>256	256	Van A
21	256	128	VanA
26	>256	256	Van A
34	64	64	Van A
38	128	128	Van A
43	>256	128	Van A
44	>256	256	Van A
45	>256	256	Van A
46	>256	128	Van A
47	64	64	Van A
48	128	64	Van A
49	>256	128	Van A

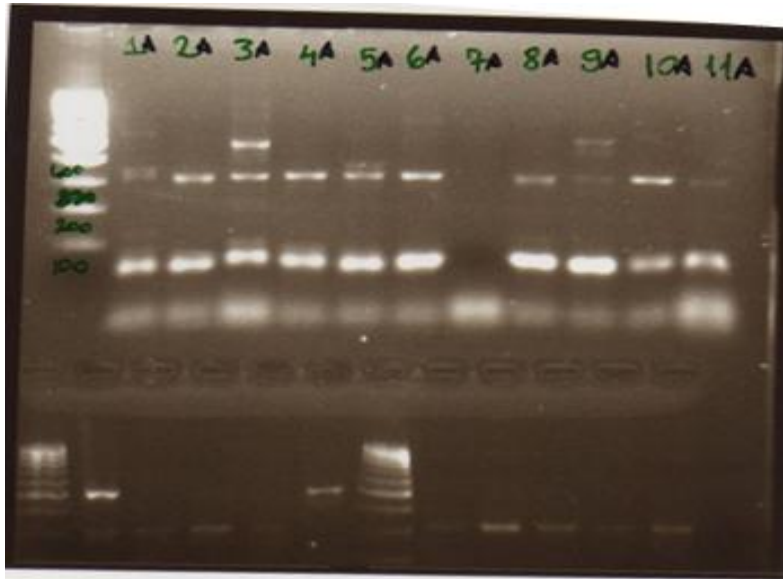
Tablo 4. 9. VRE kökenlerinin antibiyotik direnç oranları [n (%)]

Tigesiklin	0
Linezolid	0
Eritromisin	30 (100)
Kinupristin/Dalfopristin	1(3)
Kloramfenikol	10 (33)
Rifampisin	29(97)
Nitrofurantoin	19(63)
YDG	17 (56)
YDS	14(47)
Levofloksasin	29(97)
Siprofloksasin	29(97)
Tetrasiklin	29(97)
Teikoplanin	30(100)
Ampisilin	30(100)
Penisilin	30(100)
Antibiyotikler	n (%)

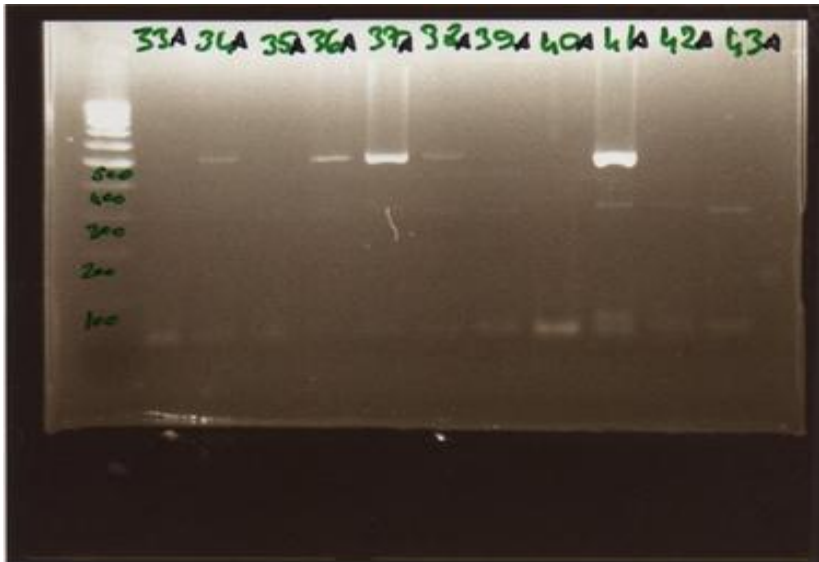
VRE kökenlerinde daptomisin, linezolid, tigesikline direnç görülmedi. Kinupristin-dalfopristine % 3 oranında direnç tespit edildi. Diğer antibiyotiklere ise yüksek oranlarda direnç tespit edildi.



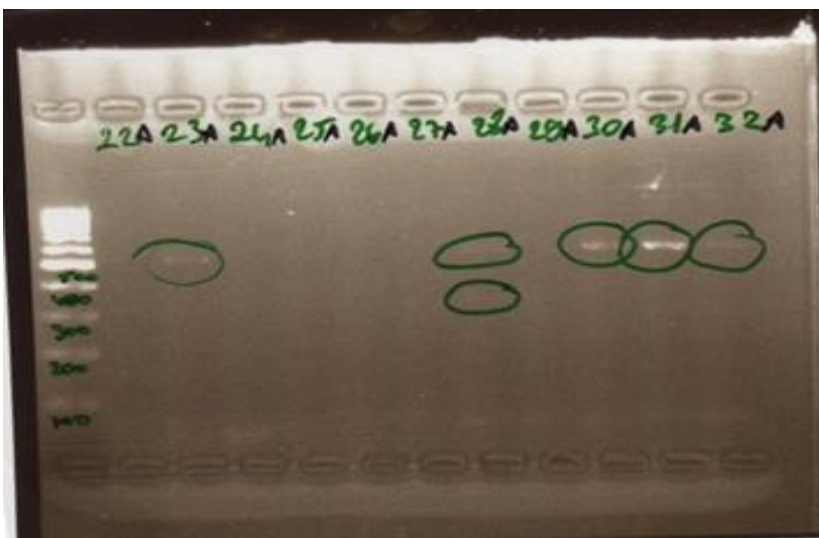
Resim 1: Kökenlerde ermA (139 bp),ermC (299 bp), aph (3')-IIIa (523 bp) için elde edilen agaroz jel görüntüsü. 12 [ermC, aph (3')-IIIa], 13 (ermC), 14 [ermA, ermC, aph (3')-IIIa], 15 (ermC), 16 [aph (3')-IIIa],17 (ermC), 18 (ermC), 19 (ermC), 20 (ermC), 21 (ermA, ermC).



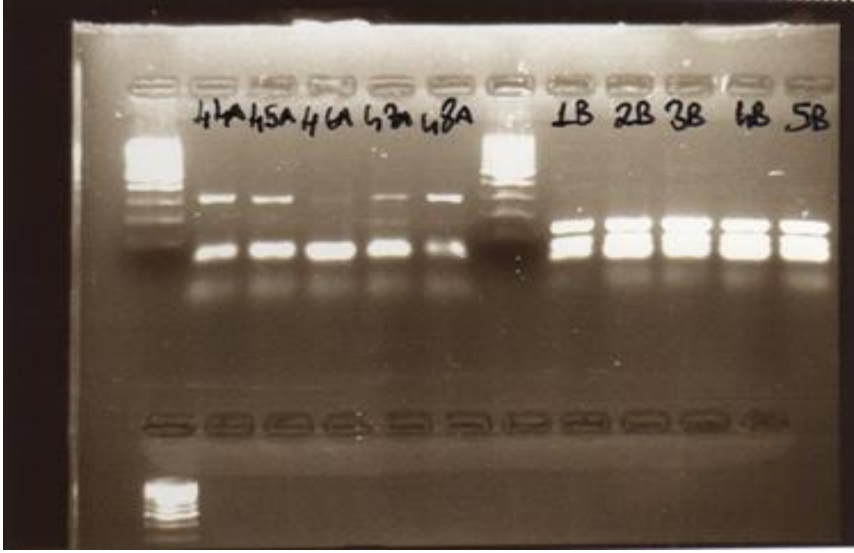
Resim 2: 1 (ermC), 2 (ermC), 3 [ermC, aph (3')-IIIa], 4 (ermC), 5 (ermC), 6 (ermC), 8 (ermC), 9 [ermC, aph (3')-IIIa], 10 (ermC), 11 (ermC)



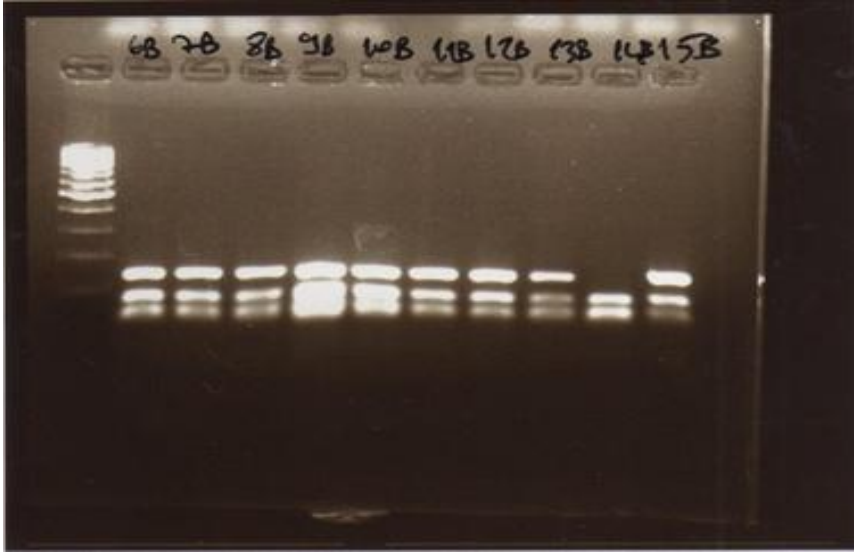
Resim 3: 34 [aph (3')-IIIa], 36 [aph (3')-IIIa], 37 [aph (3')-IIIa],38 [aph (3')-IIIa], 41 [aph (3')-IIIa, ermC], 42 (ermC), 43 (ermC).



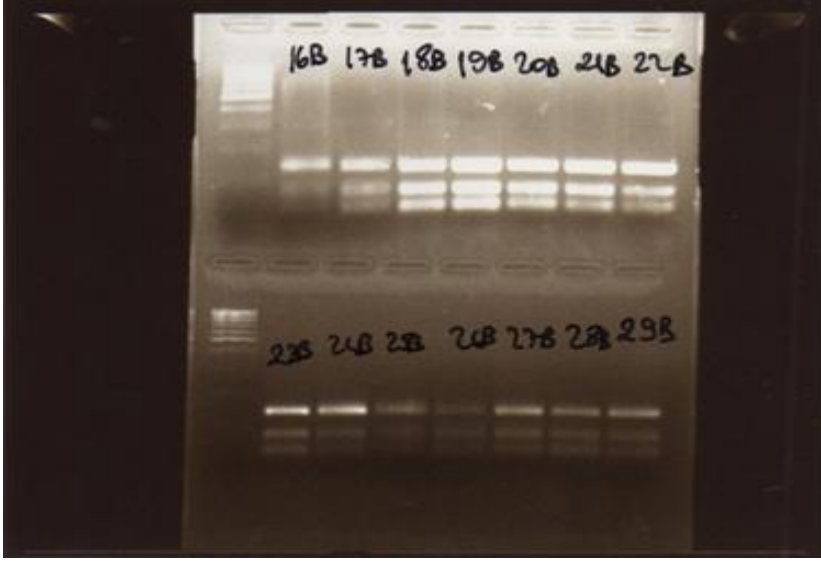
Resim 4: 23= ermC; 28 =aph (3')-IIIa; ermC 30 =aph (3')-IIIa; 31= aph (3')-IIIa; 32=aph (3')-IIIa.



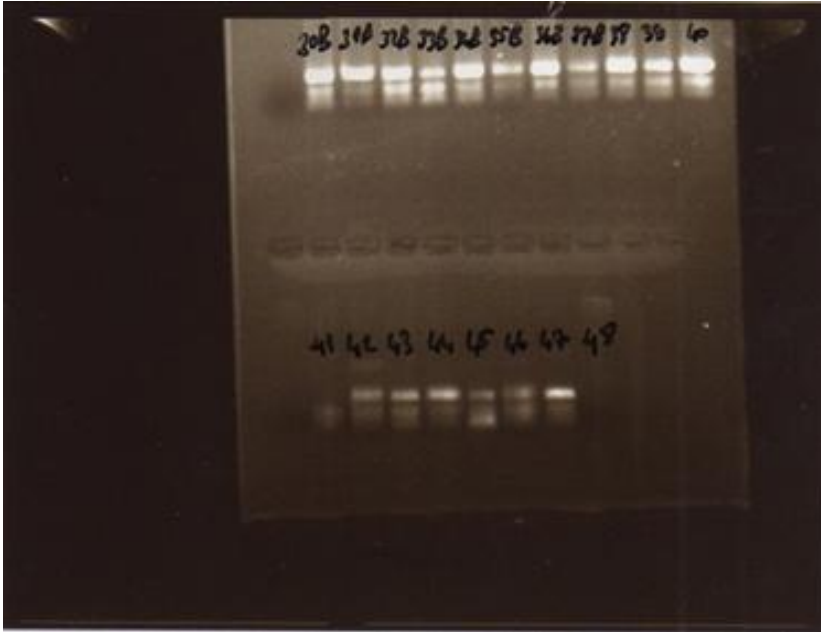
Resim 5: Kökenlerde ermA (139 bp), ermC (299 bp), aph (3)-IIIa (523 bp), ermB (142 bp), ant (4') (294 bp) için elde edilen agaroz jel görüntüsü. 44= ermC, 45 =ermC, 46 =ermC,47 =ermC, 48 =ermC. 1, 2, 3, 4, 5= ermB



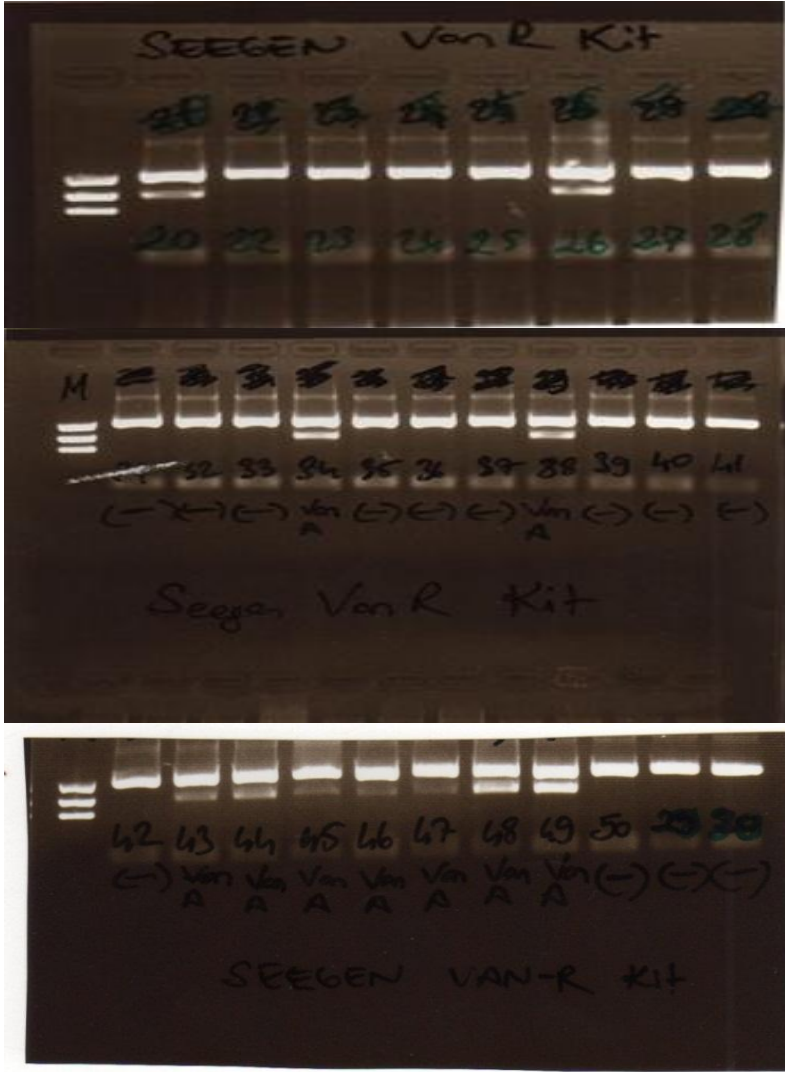
Resim 6: Kökenlerde ermB (142 bp), ant (4') (294 bp) için elde edilen agaroz jel görüntüsü. 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15= ermB



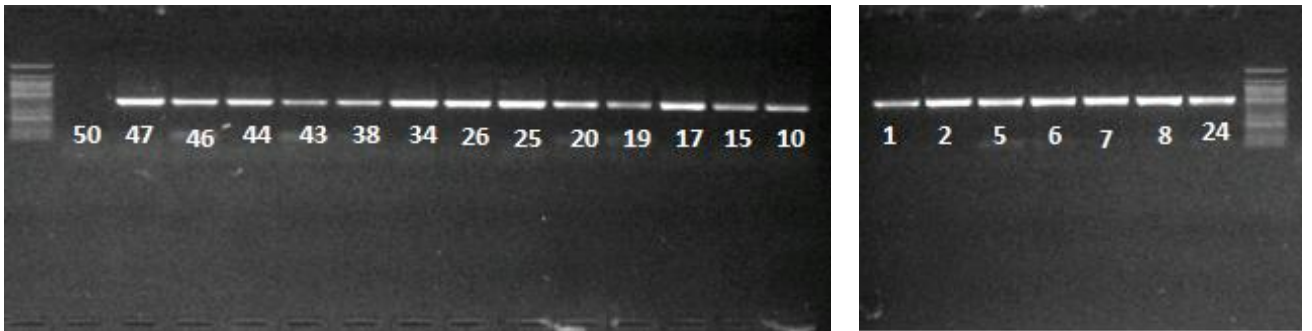
Resim 7: Kökenlerde ermB (142 bp), ant (4') (294 bp) için elde edilen agaroz jel görüntüsü. 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29= ermB



Resim 8: Kökenlerde ermB (142 bp), ant (4') (294 bp) için elde edilen agaroz jel görüntüsü. 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,43, 44, 45, 46, 47, 48= ermB

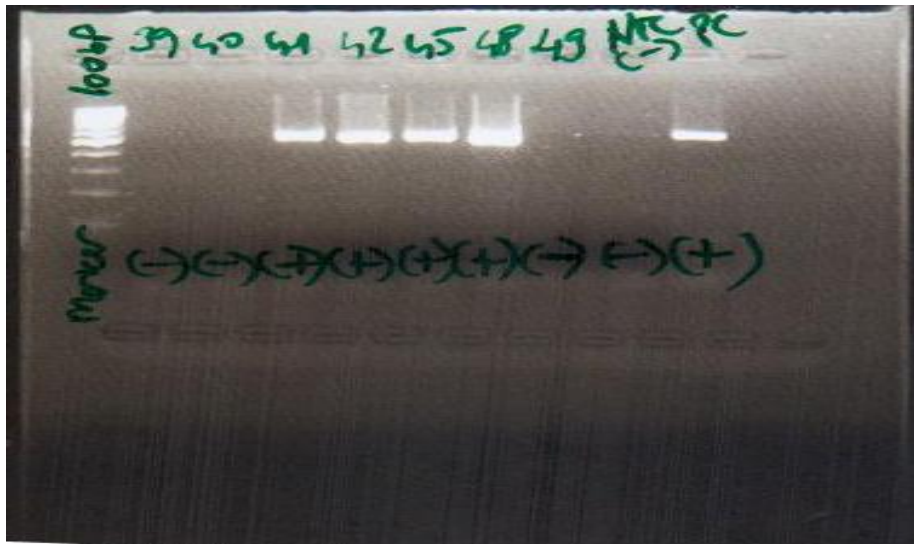
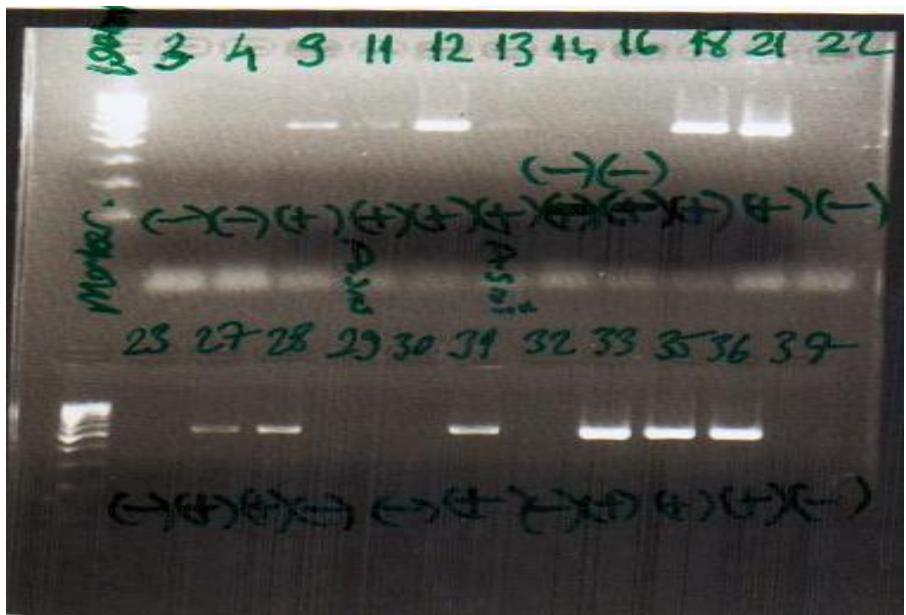


Resim 9: Kökenlerde vanA ve vanB için elde edilen agaroz jel görüntüsü. 20, 26, 34, 38, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49= VanA



Resim 10: aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia (505 bp) için elde edilen agaroz jel görüntüsü

1, 2, 5, 6, 7, 8, 24, 10, 15, 17, 19, 20, 25, 26, 34, 38, 43, 44, 46, 47= aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia



Resim 11: Marker. 9, 11, 12, 13, 18, 21, 27, 28, 31, 33, 35, 36, 41, 42, 45, 48= : aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia

5.TARTIŞMA

Enterokoklar, hastane enfeksiyonlarında *Staphylococcus aureus*'dan sonra en sık görülen ikinci etkindir ve nozokomiyal enfeksiyonlardan, özellikle üriner sistem enfeksiyonlarından bu bakterilerin izolasyon sıklığı da giderek artmaktadır (74).

Ülkemizde yapılan araştırmaların çoğunda da enterokoklar en sık idrar örneklerinden izole edilmektedir (75-80). Bizim çalışmamızda da enterokok kökenlerinin % 54'ü idrar örneklerinden izole edilmiştir.

Enterokoklar ile enfeksiyon riski gastrointestinal kolonizasyon, altta yatan ciddi hastalık, uzun süre hastanede kalmak, geçirilmiş cerrahi operasyon, renal yetmezlik, nötropeni, transplantasyon, yoğun bakım ünitesinde yatmak, üriner veya vasküler kateter varlığı gibi durumlarda artmaktadır (18).

Bizim çalışma grubumuzdaki hastaların çoğunluğunu da cerrahi operasyon geçirmiş, uzun süre hastanede yatan, çeşitli ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan ve genellikle altta yatan önemli bir hastalığı veya predispozan faktörü bulunan hastalar oluşturmaktadır.

Tüm enterokok enfeksiyonlarının % 80-90'ından *E. faecalis*, % 5-10'undan *E. faecium* sorumlu olduğu bildirilmektedir (2). Pek çok ülkeden yapılan yayınlarda *E. faecium* enfeksiyonlarının arttığı gözlenmektedir.

Meksika'da *E. faecalis* % 62 ve *E. faecium* % 38, İtalya'da *E. faecalis* % 44 ve *E. faecium* % 52, Çin'de *E. faecalis* % 45 ve *E. faecium* % 43, Sudi Arabistan'da yapılan bir çalışmada *E. faecalis* % 59 ve *E. faecium* % 27 olarak bildirilmiştir (89, 130, 132, 142).

Ülkemizden bildirilen çeşitli çalışmaların sonuçlarına göre izole edilen enterokok türlerinin % 52-85'ini *E. faecalis*, % 15-46'sını ise *E. faecium* oluşturmaktadır (75, 79, 92, 117). Ancak birkaç çalışmada *E. faecium* (% 61-65) oranları *E. faecalis* (% 35-39) oranlarından daha yüksek tespit edilmiştir (84, 90).

Bizim çalışmamızda ise *E. faecalis* % 49, *E. faecium* % 46 oranında tespit edildi.

Görüldüğü gibi hem ülkemizde hem de diğer ülkelerde klinik örneklerden *E. faecium* kökenlerinin izolasyonu artmıştır. Ayrıca *E. faecalis* genellikle antibiyotiklere duyarlı, *E. faecium* ise dirençli olması ile dikkati çekmektedir. Türlerle göre antibiyotik duyarlılığının değişiklik göstermesi, tür seviyesinde tanımlamayı gerektirmektedir.

Enterokoklar pek çok antibiyotiğe karşı intrinsek olarak dirençlidir ve yeni mekanizmalarla birçok antibiyotiğe de kazanılmış direnç göstermektedir ve bu direnci aktarabilmektedir (18). Giderek artan çoklu ilaç direnci bu bakteriye bağlı enfeksiyonların tedavisinde sorun oluşturmaktadır. Bu nedenle klinik örneklerden izole edilen enterokokların duyarlılığın saptanması uygun tedavinin seçilebilmesi için büyük önem taşımaktadır.

Enterokok enfeksiyonlarında beta-laktam, aminoglikozit ve glikopeptid antibiyotikler en çok kullanılan antibakteriyel ajanlardır. Son yıllarda beta-laktamaz oluşturma veya diğer mekanizmalarla ampisilin ve penisilin direncinin artması bu antibiyotiklerin ampirik tedavide kullanımını sınırlandırmaya başlamıştır (78, 85).

Hindistan'da yapılan çalışmada pediatrik yoğun bakım hastalarına ait enterokok suşlarının ampisilin ve penisilin direnci % 72 ve % 100 olarak bulunmuştur (86). Tunus'da yapılan çalışmada 1999'da enterokoklarda ampisilin direnci saptanmazken 2006'da % 57 oranında direnç saptanmıştır (140). 2008'de yayınlanan Avrupa ülkelerinin antibiyotik duyarlılıklarının araştırıldığı çok merkezli bir çalışmada, Fransa, Almanya, İngiltere, İspanya ve İtalya'da *E. faecalis* kökenlerinde ampisilin direnci saptanmazken *E. faecium*'da % 27-41 oranlarında ampisilin direnci tespit edilmiştir (141).

Ülkemizde 2004 - 2012 yıllarında yapılan çeşitli çalışmalarda penisilin direnci % 26-85 ve ampisilin direnci % 23-78 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (76, 79, 80, 82). Yapılan pek çok çalışmada *E. faecalis* kökenlerinde ise % 3-11, *E. faecium* kökenlerinde bu antibiyotiklere % 80-92 oranında direnç tespit edilmiştir (75, 83-85).

Ülkemizde yapılan çalışmalara benzer şekilde, bizim çalışmamızda da ampisilin ve penisilin direnci *E. faecalis* kökenlerinde % 2, *E. faecium*'da % 71 oranında direnç tespit edildi. Enterokok türlerinde ampisilin ve penisilin direncinin artış göstermesi nedeniyle ampirik tedavide bu antibiyotiklerin kısıtlanması gerekmektedir.

Siprofloksasin in-vitro olarak enterokoklara karşı aktif bir ajan olmasına rağmen, bakterisidal etkisinin olmaması nedeniyle bu bakterinin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanımı sınırlıdır.

Avrupa'da yapılan çok merkezli bir çalışmada levofloksasin direnci *E. faecalis* ve *E. faecium* için sırasıyla Fransa'da % 6, % 50; Almanya'da % 46, %90; İtalya'da % 32, % 71; İspanya'da % 35, % 55 oranında bildirilmiştir (141).

Isenberg ve arkadaşları Amerika'da levofloksasin direncini % 34, siprofloksasin direncini ise % 91 olarak bildirmişlerdir (88). Meksika'da ise enterokoklarda siprofloksasine % 60 oranında direnç bildirilmiştir (89).

İngiltere'de yapılan bir çalışmada *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatları için MİK 90 değerleri siprofloksasin için > 128 mg/L, levofloksasin için 64 mg/L olarak belirlenmiştir. Levofloksasinin daha düşük MİK değerine sahip olması bu antibiyotiğin kullanıma daha geç girmesi ile açıklanmaktadır (87).

Çin'de yapılan bir çalışmada siprofloksasin direnci *E. faecalis*'de % 25, *E. faecium*'da % 83 olarak tespit edilmiştir (132). Sudi Arabistan'da 163 enterokokla yapılan bir çalışmada *E. faecalis* siprofloksasine % 60, *E. faecium* ise % 77 oranında dirençli bulunmuştur (142). Kinolonlar için verilen farklı oranlar, muhtemelen ülkeler ve hastaneler arasındaki epidemiyolojik farklılıktan kaynaklanmaktadır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda siprofloksasin direnci *E. faecalis* için % 21 - 72 ve *E. faecium* için % 39 - 92 oranlarında tespit edilmiştir (75, 78-80, 85, 90).

Çalışmamızda siprofloksasin ve levofloksasin direnci *E. faecalis*'de % 27, *E. faecium*'da % 73 olarak tespit edildi. Kökenlerin levofloksasine daha duyarlı olması beklenirken siprofloksasin ile aynı oranda olması levofloksasinin toplumda ve hastanelerde sık kullanılmaya başlamasının bir sonucu olabilir.

Enterokokların neden olduğu idrar yolu enfeksiyonlarında nitrofurantoin kullanılabilir. Yapılan invitro çalışmalarda nitrofurantoinin VRE kökenlerinde % 80'den fazla etkili olduğu bildirilmektedir (158).

Ersoy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada idrar örneklerinden izole edilen enterokok kökenlerinin % 3'ü nitrofurantoin dirençli bulunmuştur (80). Bizim çalışmamızda ise idrardan izole edilen enterokok kökenlerinde % 16 oranında direnç tespit edildi. Ancak idrardan izole ettiğimiz VRE kökenlerinin % 80'ninde nitrofurantoin direnci saptandı.

ABD'de VRE kökenlerinde tetrasikline % 56, kloramfenikole % 5 oranında direnç bildirilmiştir.

Avrupa'da *E. Faecalis*'de kloramfenikole % 19, rifampisine % 5, *E. faecium*'da kloramfenikole % 1, rifampisine % 66 ve direnç tespit edilmiştir (155). Salem Bekhit ve arkadaşları kloramfenikol direncini % 23, tetrasiklin direncini % 49 olarak bildirmiştir (142).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda kloramfenikole, rifampisine, tetrasikline sırasıyla % 43, % 65, % 47 oranında direnç bildirilmiştir (93, 159).

Bizim çalışmamızda ise kloramfenikol direnci % 27, rifampisin direnci % 52, tetrasiklin direnci % 78 olarak saptandı.

Enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kloramfenikol, rifampisin ve tetrasiklin kombinasyon şeklinde kullanılmıştır. Ancak direnç gelişme potansiyeli ve güvenilirlik bu antibiyotiklerin kullanımını kısıtlamıştır (152).

Aminoglikozidlerin hücre zarından geçişlerindeki zorluk, düşük düzeyde aminoglikozid direncine neden olmaktadır. Bu nedenle, sinerjistik etki oluşturmak amacıyla hücre duvarı sentezini inhibe eden bir antibiyotikle aminoglikozid grubu antibiyotiğin kombine kullanımı tedavide başarı oranını artırmaktadır. Ancak plazmid ve transpozonlar aracılığı ile kazanılmış yüksek düzey aminoglikozid direncinin ortaya çıkışı tedavide aminoglikozidler ile kombine olarak hücre duvarı sentezini inhibe eden ajanların kullanılması ile elde edilen sinerjistik etkiyi ortadan kaldırmaktadır. Bu nedenle enterokoklarla oluşan endokardit gibi ciddi enfeksiyonlarda YDAD' nin belirlenmesi gerekmektedir (91).

Gentamisine yüksek düzey dirençten sorumlu olan enzim aac (6') -aph (2'') geni ile kodlanmaktadır ve hem 6'-asetiltransferaz hem de 2'-fosfotransferaz aktivitesine sahiptir. Bu özellik streptomisin dışında diğer tüm aminoglikozidlerin sinerjistik etkisini ortadan kaldırmaktadır (2). Bu enzimler genellikle konjugatif plazmitler tarafından kodlanır. Gentamisine yüksek düzeyde direnç gösteren bir kökenin streptomisin dışında diğer tüm aminoglikozidlere yüksek düzeyde dirençli olabileceği unutulmamalı ve bu kökenler streptomisin direnci yönünden araştırılmalıdır (2, 26, 48, 49). *Enterococcus spp.*'de görülen gentamisin, kanamisin, tobramisin, netilmisin ve amikasini inaktive eden en yaygın AME aac (6')-aph (2'') enzimidir. Aph (3') enzimi kanamisin ve amikasini inaktive eder; ant (4') enzimi kanamisin, tobramisin ve amikasini inaktive eder; ant (6') enzimi streptomisini inaktive eder (129).

Türkiye'de pek çok merkezde yapılan değişik çalışmalarda, enterokok enfeksiyonlarında değişik oranlarda (% 9 -51) yüksek düzey aminoglikozid direnci bildirilmiştir (78-80, 84, 90, 92, 93). Tür düzeyinde yapılan çalışmalarda ise *E. faecium* kökenlerinin YDAD *E. faecalis* kökenlerine göre daha yüksek oranlarda tespit edilmiştir (75, 85, 94).

Avrupa'da antimikrobiyal direnç gelişimini saptamak amacıyla kurulan Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (EARSS) verilerine göre birçok Avrupa ülkesinde *E. faecium* ve *E. faecalis*'in izole edildiği bakteriyemilerde YDAD % 25 olarak belirtilirken, bazı ülkelerde bu oranın % 50'lere ulaştığı bildirilmektedir. 2006 yılında İngiltere ve İrlanda'da enterokok kaynaklı bakteriyemilerde YDGD, *E. faecalis* ve *E. faecium* için sırasıyla % 48, % 31 olarak bulunmuştur (143).

İran'daki bir çalışmada YDGD ve YDSD oranları *E. faecalis* suşlarında % 50 ve % 69, *E. faecium* suşlarında % 56 ve % 78 olarak bildirilmiştir (95).

Diğer bazı ülkelerde Kapoor ve arkadaşları YDGD % 31, Akhter ve arkadaşları % 30, Quinones ve arkadaşları % 66 olarak bildirmişlerdir (86, 96, 97).

Birçok çalışmada belirtildiği gibi aac (6')-aph (2'')-Ia geni gentamisin dirençli entrokoklarda yaygın görülen AME direncinden sorumlu genlerdir (126, 127, 128).

Emaneini ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada YDG duyarlı olan kökenlerin % 21'inde, YDG dirençli olan kökenlerin ise hepsinde aac (6')-aph (2'') geni tespit edilmiştir. aph (3')-IIIa geni % 37 oranında saptanmıştır. Kökenlerin hiçbirinde ant (4')-Ia geni tespit edilmemiştir. aac(6')-aph (2'')-Ia ve aph (3')-IIIa birlikte *E. faecalis* kökenlerinin % 28'inde ve *E. faecium* kökenlerinin ise % 49'unda görülmüştür (95).

İtalya'da yapılan bir çalışmada YDG direnci *E. faecalis*' de % 44 ve *E. faecium*'da % 52, YD amikasin direnci *E. faecalis*'de % 50 ve *E. faecium* 'da % 56 olarak tespit edilmiştir. YDGD olan *E. faecalis* kökenlerin hepsinde aac (6')-aph (2'') -Ia geni görülmüştür. Ayrıca YD amikasin direnci görülen 34 *E. faecalis* kökeninin ikisinde yalnızca aac (6')-aph (2'')-Ia geni, 21'de hem aac (6')-aph (2'')-Ia hem de aph (3')-IIIa genleri, 6'sında aac (6')-aph (2'')-Ia, aph (3')-IIIa ve ant (4')-Ia genleri, ikisinde aph (3')-IIIa ve ant (4')-Ia genleri ve 3'ünde yalnızca aph (3')-IIIa geni olduğu görülmüştür. Düşük seviyeden orta seviyeye kadar amikasin direnci görülen 29 *E. faecalis* kökeninde sadece aph (3'')-IIIa geni görülmüştür.

E. faecium kökenlerinde ise YDGD olan 12 kökenin 10'nunda aac (6')-aph (2'')-Ia geni tespit edilmiş, 2'sinde bu gen saptanmamıştır. Yüksek düzey amikasin direnci olan 13 *E. faecium* kökeninin 6'sında aac (6')-aph (2'')-Ia ve aph (3')-IIIa geni, 6'sında aac (6')-aph (2'')-Ia, aph (3')-IIIa ve ant (4') geni, 1'inde sadece aph (3')-IIIa geni tespit edilmiştir (130).

Ting-ting Q. ve arkadaşları Çin hastanesinde YDGD olan enterokoklar türlerinde genotip çeşitliliği ve epidemiyolojisini araştırdıkları çalışmalarında 68 YDGD olan kökenlerin 59'unda aac (6')-aph (2'')-Ia geni tespit etmişlerdir. Üç kökende aph (2'')-Id'ye benzeyen aph (2'')-Ie geni tespit etmişlerdir (132). aph (2'')-Ic, aph (2'')-Id ve aph (2'')-Ib enterokoklarda nadir bulunmaktadır (124, 125).

Yapılan literatür taramasında ülkemizde enterokoklarda AME'leri kodlayan genlerin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bizim çalışmamızda ise YDG % 16, YDS % 22, *E. faecalis* ve *E. faecium* için sırasıyla YDGD % 2 ile % 31 oranında, YDSD % 16 ile % 33 oranında direnç tespit edildi.

Dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalara göre bizim çalışmamızda YDAD daha düşük oranlarda tespit edildi. Bilindiği gibi enterokok enfeksiyonlarında aminoglikozitler hücre duvarı penetrasyonundaki zorluktan dolayı tek başına kullanılamazlar. Hücre duvarına etkili bir antibiyotikle aminoglikozit birlikte kullanılarak sinerjistik etki oluşur ve düşük düzeyli direnç aşılır. Ancak sonuçlarımıza göre YDGD olanlarda ampisilin ve vankomisin direncinin de yüksek oranda olması ciddi enfeksiyonlarda ampirik tedavide bu antibiyotik kombinasyonu yerine linezolid, daptomisin tercih edilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Multipleks PCR ile VRE, YDGD ve eritromisin direnci olan 50 kökende aac (6')-aph (2'')-Ia, ant (4') ve aph (3')-IIIa genlerini araştırdığımız çalışmamızda disk difüzyon ve E test ile YDGD olan 20 kökenin 17'inde (16 *E. faecium*, 1 *E. avium*) aac (6')-aph (2'')-Ia geni, 2 *E. faecium* kökeninde aac (6')-aph (2'')-Ia ve aph (3')-IIIa geni tespit edildi. YDGD olan bir *E. faecalis* kökeninde bu gen görülmedi. YDGD olmayan 30 kökenin 11'inde (7 *E. faecium*, 4 *E. faecalis*) sadece aac (6')-aph (2'')-Ia geni, 6'ında (4 *E. faecium*, 1 *E. faecalis*, 1 *E. avium*) geni, 7'sinde (2 *E. faecium*, 3 *E. faecalis*, 1 *E. avium*, 1 *E. durans*) sadece aph (3')-IIIa geni saptandı ve geri kalan 6 kökende bu iki gene rastlanmadı. Kökenlerde 4'-adeniltransferaz enzimini kodlayan ant (4') geni tespit edilmedi.

Gram pozitif koklarda aminoglikozit direncinden sorumlu genler aac (6')-aph (2'')-Ia, ant (4') ve aph (3')-IIIa genleridir. Gram pozitif koklarda amikasin ve netilmisin ile alınan in-vitro sonuçlar klinik sonuçlarla uyumsuz olduğu için duyarlılık testlerinde kullanılmamaktadır (144). Pek çok ülkede yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi aac (6')-aph (2'')-Ia geni en sık görülen AME genidir ve bir kökende birden fazla AME geni bulunabilmektedir. Bu gen sadece YDGD olan kökenlerde değil aynı zamanda fenotipik olarak YDGD saptanmayan

kökenlerde de tespit edilebilmektedir. Bu durumda genin sessiz kaldığı ya da genin yeterli miktarda eksprese edilemediği tahmin edilmektedir (95, 130). Enterekoklarda aminoglikozit modifiye edici enzim ve genlerin tipleri ve dağılımları coğrafi bölgelere göre de değişiklik göstermektedir (129, 131).

Linkozamidler ve streptogramin B ile yapısal olarak benzerlik gösteren makrolidler 50S bakteriyel ribozoma etki eder. Peptidil transferaz inhibisyonu sonucu protein sentezini bozarlar ve bakteriyel üreme engellenir (133). Makrolid-linkozamid-streptogramin B (MLS_B) grubu antibiyotiklerde görülen en önemli direnç mekanizması hedef bölge değişikliğidir. MLS_B tipi direnç plazmid veya transpozonlarla yönetilir. erm geni eritromisin dirençli metilaz enzimini kodlar. Bu enzimin etkisi ile 23S ribozomal RNA'nın metilasyonu olur ve sonuçta antibiyotiğin ribozoma bağlanması azalır. Aynı mekanizma, klindamisin enterokoklara karşı yüksek düzey direncinden de sorumludur (51, 134).

İran'da yapılan çalışmada eritromisin direnci *E. faecalis* ve *E. faecium* kökenleri için sırasıyla % 39 ve % 56 oranında tespit edilmiştir. Kökenlerin % 41'inde ermB, % 5'inde ermA geni tespit edilmiş ve hiçbirinde ermC geni saptanmamıştır. ermA ve ermB geninin herikisi birlikte üç kökende (bir *E. faecalis* ve iki *E. faecium*) görülmüştür (95).

Portillo ve arkadaşları yüksek düzey eritromisin direnci olan 40 enterokok kökeninin 39'da ermB geni, bir tanesinde ermA geni tespit etmişlerdir, ermC geni saptamamışlardır. ermA geninin *Staphylococcus aureus* için tanımlanan ermA geni ile aynı olduğu bulunmuştur (135).

Tunus' da yapılan bir çalışmada 41 *E. faecium* kökeninde % 91 oranında eritromisin direnci ve bunların 24'ünde ermB, 2'sinde ermA geni tespit edilmiştir, 4 tanesinde ise direnç geni görülmemiştir (136).

Çin'de domuzlardan izole edilen *E. faecalis* kökenlerinin 78'inde (% 67) eritromisin direnci görülmüş ve bunların da 34 'ünde ermB, 20'sinde ermA ve ermB, 16'ında ermA, 2'sinde ermB ve ermC, bir tanesinde ermC geni tespit edilmiştir (137).

Ülkemizde enterokoklarda makrolid antibiyotiklere karşı direnç oranları oldukça yüksek düzeylerde (% 40 -100) bildirilmektedir (57, 75, 90, 98). Ancak literatür taramalarında enterokoklarda makrolid direncinden sorumlu olan erm genleri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bizim çalışmamızda ise eritromisin direnci % 73, *E. faecalis* kökenlerinde % 67, *E. faecium* kökenlerinde % 78 oranında tespit edildi.

Multipleks PCR ile çalışılan 50 kökenin 49'unda ermB geni (21 kökende sadece ermB geni, 27 kökende hem ermB hem de ermC geni, bir kökende ise ermA, ermB, ermC geni üçü birlikte) saptandı. Bir kökende ermA ve ermC geni tespit edildi

ermA ve ermC genleri daha çok stafilokoklardaki makrolid direncinden, ermB geni ise enterokoklardaki makrolid direncinden sorumlu tutulmaktadır (165). Çalışmalarda da görüldüğü gibi enterokoklarda eritromisine karşı kazanılmış direnç çoğunlukla ribozomal RNA'nın metilasyonundan sorumlu ermB geni ile ilişkili bulunmuştur. İran, İspanya, Tunus'da yapılan çalışmalarda ermC geni tespit edilmemiştir. Çin'de 3 kökende ermC geni saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise kökenlerin 49'unda ermB, 29'unda ermC geni tespit edildi. Bu da ülkeler arasında makrolitlerdeki dirençten sorumlu genlerin dağılımının farklı olduğunu göstermektedir.

Glikopeptidler enterokoklara karşı halen en etkili antibiyotikler olarak bilinirken, ülkemizden ve dünyadan giderek artan oranda vankomisin ve teikoplanine dirençli suşlar bildirilmektedir (9, 11, 19, 99). Glikopeptit antibiyotiklerden vankomisin gram pozitif bakterilerde peptidoglikan prekürsörlerine bağlanarak etki eder. Pentapeptidin serbest karboksil ucunda bulunan D-ala-D-ala terminal ucuna bağlanır ve peptidoglikan sentezini dolayısıyla hücre duvarı sentezini engeller. VRE'ler ise ligaz enzimi ile D-ala-D-ala ucunun yapısını değiştirir ve uca vankomisinin bağlanma yeteneği azalır. Böylece hücre duvarı sentezi ve üreme devam eder. Günümüzde spesifik ligaz genlerinin varlığına göre yapılan sınıflandırmada VanA, VanB, VanC, VanD, VanE ve VanG olarak adlandırılan 6 farklı direnç fenotipi tanımlanmıştır. VanA direnci indüklenebilir ve aktarılabilir bir dirençtir. Direnç genleri Tn 1546 transpozonunda bulunan 7 gen tarafından kontrol edilir (4, 19, 44, 100).

VRE ilk olarak 1988 yılında Uttley ve arkadaşları tarafından İngiltere'den ve Leclercq ve arkadaşları tarafından Fransa'dan bildirilmiş, bunu diğer Avrupa ülkeleri ve ABD bildirilen olgular izlemiştir (101,102). ABD Ulusal Sürveyans raporlarında, yoğun bakım enfeksiyonlarına neden olan enterokoklardaki vankomisin direnç oranları 1996 yılında % 10,4 iken, 2002 yılında % 28,5 olarak bildirilmiştir (99). Enterokokların direnç oranlarındaki bu değişikliğin sorumlusu olarak immünsüprese hastaların sayısının, yaşam süresinin ve dolayısıyla hastanede yatış sürelerinin artması, sefalosporinler ve kinolonlar gibi enterokoklara etkinliği olmayan antibiyotiklerin daha fazla oranda kullanılması, buna bağlı olarak dirençli

fenotiplerin seçilmesi ve yeni direnç mekanizmalarının gelişebilmesi gibi faktörler önemli rol oynamaktadır (99).

Türkiye’de ilk VRE kökeni 1998 yılında Vural ve arkadaşları tarafından Akdeniz Üniversitesinden bildirilmiş ve bunu 1999 yılında Başustaoglu ve arkadaşları tarafından Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisi’nden bildirilen kökenler izlemiştir (9, 10). Cerrahpaşa Tıp Fakültesi’nde ilk VRE kökeni 1999 yılında Mamal Torun ve arkadaşları tarafından abseden izole edilmiş, API 20 strep kiti ile *E. faecium* olarak tanımlanmıştır (11).

VRE sorunu ülkemizde de giderek artmaktadır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda Ağuş ve arkadaşları vankomisin ve teikoplanine % 5 direnç saptarken, bazı çalışmalarda dirençli köken saptanmamıştır (76, 80, 84, 93). Bir başka çalışmada ise *E. faecalis* kökenlerinde vankomisin ve teikoplaninin direnci saptanmazken, *E. faecium* kökenlerinde her iki antibiyotiğe % 29 oranında direnç saptanmıştır (94). Iraz ve arkadaşları *E. faecalis* kökenlerinde vankomisine % 4 ve teikoplanine % 5 direnç saptarken, *E. faecium* kökenlerinde vankomisine % 23 ve teikoplanine % 21 oranında direnç saptamıştır (85).

EARSS verilerine göre 2006 yılında İngiltere’de vankomisin direnci *E. faecalis*’de % 3, *E. faecium*’da % 32 olarak bildirilmiştir. Almanya, İtalya, İrlanda, Yunanistan, Portekiz’de de benzer oranlar bildirilmiştir (143). İsviçre’de 2007’de VRE % 1 iken 2010 yılında % 4 oranında bildirilmiştir (161).

ABD’de Avrupa ülkelerine göre glikopeptit direnci daha yüksek oranda görülmektedir. 2004 yılında ABD’de yapılan araştırmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen *E. faecalis* ve *E. faecium* sırasıyla % 10 ve % 72 oranında vankomisin direnci tespit edilmiştir. 2007 yılında tür ayırımı yapılmadan izole edilen 705 enterokok kökeninde vankomisin direnci % 30 olarak saptanmıştır (143). Morh ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada enterokok bakteriyemili 159 hastada vankomisin direnci *E. faecalis*’te % 23, *E. faecium*’da % 91 olarak saptanmıştır (103).

Almanya’da yapılan bir çalışmada 24 VRE suşunun tamamı vanA genotipinde *E. faecium* olarak tespit edilmiştir (138). Xu ve arkadaşları izole ettikleri 32 VRE kökeninin tamamının vanA genotipinde *E. faecium* olduğunu bildirmişlerdir (139).

Fransa’da yapılan geniş çaplı bir çalışmada Ocak 2006-Aralık 2008 arasında 112 farklı merkezden 902 VRE suşu incelenmiştir. *E. faecalis* suşlarının % 83’ünde vanA, % 17’sinde

vanB geni pozitif bulunmuştur. *E. faecium* suşlarının % 66'sının vanA, % 34'nün vanB geni taşıdığı bulunmuştur (145).

Avusturalya'da yapılan bir çalışmada 23 üniteden toplam 169 VRE suşu izole edilmiştir. İzolatların tamamı vanB pozitif *E. faecium* olarak tanımlanmıştır (146).

İran'da vankomisin ve teikoplanine %12 oranında direnç tespit edilmiş ve 38 VRE kökeninin (12 *E. faecalis*, 26 *E. faecium*) hepsinde vanA geni saptanmıştır (95).

Dünyadaki çalışmalara bakıldığında enterokok türleri arasında *E. faecium* Kuzey Amerika, Avrupa, Asya ve Uzakdoğu ülkelerinde vankomisin direncinin en sık olarak tespit edildiği türdür. Bu ülkelerde *E. faecium* izolatlarında VanA, fenotipik ve genotipik olarak en sık saptanan glikopeptid direnç türüdür. Avusturalya kıtasında farklı olarak VanB direnç fenotipi diğer fenotiplere göre daha yaygın olarak saptanmaktadır.

Türkiye'den bildirilen çalışmalarda da VanA fenotip ve/veya genotipinde *E. faecium* öne çıkmaktadır (106, 147-149).

Bizim çalışmamızda ise vankomisin ve teikoplanin direnci % 23 olarak tespit edildi. *E. faecalis* kökenlerinde vankomisin ve teikoplanin direnci görülmezken, *E. faecium* kökenlerinde % 51 oranında direnç tespit edildi. VanA fenotipi gösteren VRE kökenlerinin % 97'si vanA genine sahipti. VanA fenotipi gösteren bir VRE kökeninde ise vanA geni görülmedi. Kökenlerimizin hiçbirinde vanB genine rastlanmadı.

Enterokoklarda bulunan ve yüksek düzey vankomisin direncinden sorumlu olan vanA geni plazmidlerle streptokoklar ve stafilokoklara transfer edilebilme özelliğindedir. 2002 yılında ABD'de iki hastadan vankomisine dirençli iki *S. aureus* kökeni izole edilmiş, bunların vanA geni taşıdığı saptanmıştır. Bu yüksek düzeydeki vankomisin direncinin *E. faecalis* 'den transpozonlar aracılığı ile taşındığı düşünülmektedir (7, 104).

VRE kolonizasyonu ve enfeksiyonunun gelişimindeki en önemli risk faktörlerinden birisi de vankomisin kullanımınıdır. Vankomisin oluşturduğu antibiyotik baskısı sindirim sisteminde bulunan Gram pozitif bakterilerin üremesini engelleyerek, VRE suşlarının üremesine ve kolonize olmasına olanak sağlamaktadır (104-106).

Yapılan çalışmalarda VRE enfeksiyonlarının diğer enterokok enfeksiyonlarına göre daha ciddi seyirli, mortalitesi ve rekürrensünün daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bunun

yanında VRE enfeksiyonlarının hem tedavi maliyeti daha fazla hem de tedavi seçenekleri daha kısıtlıdır (107).

Atina'da yapılan bir çalışmada 18 VRE kökeninin hepsi eritromisin, siprofloksasin, YDS'e dirençli iken tetrasiklin ve kloramfenikole duyarlı olarak tespit edilmiştir (162).

Fransa'da VRE kökenlerinin % 99' u eritromisine, % 94'ü ampiciline, % 92'si levofloksasine, % 63'ü doksisikline, % 52'si YDS'e, % 22'si YDG'e, % 9'u rifampisine, % 3'ü kloramfenikole dirençli bildirilmiştir. Linezolid ve tigesiklin direnci tespit edilmemiştir (145).

Ertek ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada VRE kökenlerinde rifampisine % 85, tetrasikline % 69, eritromisine % 62, teikoplanine % 31 oranında direnç saptanmıştır (57). Çetinkaya ve arkadaşları 49 VRE kökeninin hepsinde teikoplanin, ampicilin, YDGD ve YDSD tespit etmişler, nitrofurantoine % 96, rifampisine % 79, tetrasikline % 55, kloramfenikole % 18 oranında direnç bildirmişlerdir (163).

Köksal Çakırlar ve arkadaşları VRE kökenlerinin hepsini ampicilin, eritromisin, siprofloksasine dirençli, nitrofurantoine % 94, YDG'e % 93, rifampisine % 83, kloramfenikole % 36, tetrasikline % 34, kinupristin-dalfopristine % 11 oranında direnç tespit etmişlerdir (164).

Bizim çalışmamızda VRE kökenlerinde linezolid, tigesiklin, daptomisin direnci tespit edilmedi. Hepsi ampicilin, penisilin, teikoplanin, eritromisine dirençli olarak bulundu. Tetrasiklin, siprofloksasin, levofloksasin, rifampisin direnci % 97, nitrofurantoin direnci % 63, YDGD % 53, YDSD % 47, kloramfenikol direnci % 33, kinupristin-dalfopristin direnci % 3 olarak tespit edildi.

Çalışmalarda görüldüğü gibi VRE kökenlerinde çoklu ilaç direnci dikkat çekicidir (107). VRE gastrointestinal sistemde kolonize olabilmekte ve hastane ortamında çevresel örneklerde tespit edilebilmektedir, dolayısıyla bu taşınabilir direnç önlemler alınmazsa hem enterokoklarda artarak, hem de ülkemizde henüz bildirilmemiş olmasına rağmen *S. aureus*'da karşımıza çıkacaktır.

Glikopeptit direnci VRE'de yeni tedavi seçeneklerinin kullanılmasını gerekli kılmıştır. Bu seçeneklerden özellikle ikisi, linezolid ve tigesiklin, in-vitro olarak VRE'in çoğuna etkili bulunmaktadır.

Linezolid, oksazolidinonlar sınıfından yeni bir antibiyotik olup etkisini protein sentezini inhibe ederek gösterir. Metisiline dirençli stafilokoklar, penisiline dirençli pnömokoklar, makrolidlere dirençli streptokoklar ve vankomisine dirençli enterokokların da aralarında bulunduğu klinik açıdan önemli tüm Gram pozitif bakterilere karşı iyi in-vitro aktiviteye sahiptir. Enterokok kökenlerinde linezolide karşı nadir de olsa suboptimal dozlarda kullanım sonucu ya da spontan mutasyonla direnç gelişebileceği belirtilmektedir (108). Son yıllarda linezolid direnci ciddi bir tehlike oluşturmaya başlamış, bazı birimlerde linezolid direnci VRE izolatlarında % 10-20'lere varmıştır (84, 109, 110).

Bangladeş'te yapılan bir çalışmada % 4 oranında linezolid direnci bildirilirken, 13 Avrupa ülkesinin katıldığı çok merkezli bir çalışmada 333 enterokok izolatından sadece biri linezolide dirençli bildirilmiştir (96, 111).

Ülkemizde yapılan çoğu çalışmada linezolid direnci bildirilmemiştir (83, 84, 94). Ancak birkaç çalışmada % 2-4 oranında direnç bildirilmiştir (75, 85, 90).

Çalışmamızda çoğu araştırmayla uyumlu olarak linezolid direnci tespit edilmedi. Direnç gelişiminin engellenmesi adına, diğer tüm antimikrobiyallerde olduğu gibi bu ajanın da antibiyotik duyarlılık testleri yapılarak uygun endikasyonlarda ve yeterli dozlarda kullanılması gerekmektedir.

VRE enfeksiyonlarının çoğunun intra abdominal kaynaklı ve polimikrobiyal olması nedeniyle tigesiklin, eşlik eden diğer mikroorganizmaların varlığında tercih edilmektedir (109). Tigesiklin, glisilsiklin grubunun ilk üyesi olup tetrasiklinden türetilmiştir. Minosiklinin yapısal analogudur ve grubun diğer üyelerine göre daha geniş etki spektrumuna sahiptir. Tetrasiklin direncinden sorumlu iki farklı genetik mekanizmaya (ribozomal korunma ve efluks mekanizma) karşı dirençli olması en önemli özelliğidir (119, 120).

Fransa, Almanya, İngiltere, İspanya, İtalya'nın katıldığı çok merkezli çalışmada enterokok kökenlerinde tigesiklin direnci saptanmamıştır (141). Gales ve Jones'un yaptığı çalışmada vankomisine dirençli enterokok suşlarında tigesiklin direnci tespit edilmemiştir (122). Souli ve arkadaşları 60 *E. faecium* suşunda tigesiklin direnci saptamamışlardır (123).

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda tigesiklin direnci tespit edilmemiştir (121, 150, 151). Bizim çalışmamızda da yapılan çalışmalara uyumlu olarak tigesiklin direnci tespit edilmedi.

Daptomisin, *Streptomyces roseosporus*'dan elde edilmiş, Gram pozitif bakterilere etkili olan siklik bir lipopeptittir. Hızlı bakterisidal etkinliği vardır. Duyarlı bakterilerin stoplazmik membranına irreversible olarak bağlanır ve membran depolarizasyonuna neden olur. Bakteri hücrelerini lizis yapmadan bakterilerin ölümüne neden olduğundan toksin salınımına bağlı komplikasyon gelişme riski azalmaktadır. Bu antibiyotik için de tedavi sırasında direnç gelişme riski söz konusudur. Antibiyotik ile karşılaşma sonucu bakteri hücre duvarının kalınlaşması veya çeşitli mutasyonlarla direnç geliştiği ve böylece daptomisinin hücre membranına bağlanmasının azaldığı gösterilmiştir (112, 113).

ABD, Hindistan, Avustralya, Yeni Zelanda, Brezilya'da yapılan çalışmalarda daptomisin direnci tespit edilmemiştir (103, 114-116).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda da daptomisin direnci saptanmamıştır (94, 117). Biz de mevcut çalışmamızda diğer çalışmalarla uyumlu olarak dirençli köken tespit etmedik.

Kinupristin/dalfopristin *Streptomyces pristinaspiralis*'den elde edilen streptograminlerdir. Bu ilaç kinupristin (streptogramin B) ve dalfopristin (streptogramin A) denen iki sinerjik parçadan oluşmaktadır. Oral ve topikal formları Avrupa'da antistafilokokal antibiyotik olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde halen piyasaya girmemiş bir antimikrobiyaldir (152). *E. faecalis* kinupristin-dalfopristine daha az duyarlıdır. Bunun sebebi, *E. faecalis* izolatlarının kinupristin-dalfopristine intrinsek olarak dirençli olmasıdır (153).

Kinupristin/dalfopristin kullanımını kısıtlayan önemli bir özellik direnç gelişimidir. Üç önemli direnç mekanizması vardır. Birincisi erm geni taşıyan plazmidlerle oluşan hedef değişikliğidir ki kinupristinin ribozomal afinitesinde azalma meydana gelmektedir. Dalfopristin molekülü bundan etkilenmez. İkincisi modifiye edici enzimlerle ilaçta değişiklik oluşturulmasıdır. Bu tip direnç sadece dalfopristin molekülü için söz konusudur. Üçüncü mekanizma ise efluks pompalarının aktivasyonudur. Fenotipik olarak direncin görülebilmesi için her iki moleküle birden direnç olmalı, dolayısı ile iki veya daha fazla direnç mekanizmasının aynı anda bulunması gerekmektedir (153).

Kinupristin/dalfopristin direnci daha çok toplum kaynaklıdır. Özellikle kümes hayvanları ve domuz çiftliklerinden elde edilen *E. faecium* suşlarında yüksek düzeyde direnç olduğu gözlenmiştir. Bir çalışmada kinupristin/dalfopristin direnci ile hayvanların büyümesini artırmak için kullanılan bir streptogramin olan virginiamisin kullanımını arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Virginiamisin; streptogramin A ve B bileşiklerinden oluşmaktadır ve yıllardır

Avrupa'da hayvan besiciliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Virginiamisine dirençli enterokok izolatları aynı zamanda kinupristin/dalfopristine karşı da çapraz direnç göstermektedir (154).

2007 yılında Avrupa'da kinupristin/dalfopristine *E. faecalis* % 97, *E. faecium* % 27 oranında dirençli tespit edilmiştir. ABD'de ise *E. faecalis* kökenlerinin hepsi, *E. faecium* kökenlerinin % 10'u dirençli bulunmuştur (155). 2005'de Tayvan'da yapılan çalışmada *E. faecalis*'de duyarlılık saptanmamıştır. *E. faecium* kökenlerinde ise % 25 oranında direnç tespit edilmiştir (156).

Yenişehirli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kinupristin/dalfopristine *E. faecalis*'de % 73, *E. faecium*'da % 7 oranında direnç tespit edilmiştir (157). Türken Ulusoy ve arkadaşları *E. faecalis*'de % 83, *E. faecium*'da % 20 oranında direnç tespit etmişlerdir (160).

Bizim çalışmamızda ise *E. faecalis* kökenlerinin hepsi kinupristin/dalfopristine dirençli tespit edildi, *E. faecium* kökenleri ise % 2 oranında dirençli bulundu.

6. SONUÇ

Çalışmamızda 128 enterokokun 63'ü (%49) *E.faecalis*, 59'u (%46) *E.faecium*, 4'ü *E. avium*, 2'si *E. durans* olarak tespit edildi.

İzole ettiğimiz 128 enterokok kökeni tetrasikline (% 78), eritromisine (% 73), rifampisine (% 52), siprofloksasin ve levofloksasine (% 49) yüksek oranda dirençli bulundu. Penisilin ve ampisiline (% 37), kloramfenikole (% 27), YDS (% 22), nitrofurantoine (% 17) ve YDG (% 16) nispeten daha az dirençliydi. Kökenlerin % 23'ünde vankomisin ve teikoplanin direnci tespit edildi. VRE'lerde kinupristin/dalfopristin direnç oranı % 3'dü. İzole ettiğimiz kökenlerde daptomisin, linezolid ve tigesiklin direnci saptanmadı ve beta laktamaz tespit edilmedi.

Yatan hasta örneklerinden izole edilen enterokokların ampisilin, penisilin, vankomisin, teikoplanin, siprofloksasin, levofloksasin, nitrofurantoin, rifampisin, eritromisin direnci poliklinikten gelen örneklere göre anlamlı derecede yüksekti ($p < 0,05$).

VRE kökenlerinin tamamı *E. faecium*'du ve bu kökenlerin antibiyotik direnci *E. faecalis*'e göre anlamlı derecede yüksekti. Bu durum bakterilerin tür seviyesinde ayırım ve duyarlılık paternlerinin belirlenmesinin enterokok enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde katkı sağlayacağını göstermektedir.

Multipleks PCR yöntemiyle antibiyotik direnç genlerine baktığımız çalışmamızda vankomisin dirençli enterokok kökenlerinin vanA genotipinde olduğu, çoğunun aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia ve aynı zamanda ermB ve ermC geni taşıdığı tespit edildi.

Sonuç olarak izole ettiğimiz enterokok kökenlerinde görülen yüksek düzey antibiyotik direnci bize ciddi enterokok enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde daha dikkatli olunması gerektiğini göstermektedir.

7.KAYNAKLAR:

1. Franz C.M.A.P., Belkum M.J.V., Holzapfel W.H., Abriouel H., Galvez A. (2007): Diversity of enterococcal bacteriocins and their grouping in a new classification scheme, *FEMS Microbiol Rev*, 31, 293-310,
2. Durmaz G. (2008): Enterokoklar İçinde: Wilke Topçu A., Söyletir G., Doğanay M. (eds): Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 3. Baskı, 2. Cilt, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s.2057-2065
3. Jankoska G., Trajkovska D.E., Panovski N., Popovska J.K., Petrovska M. (2008): Virulence factors and antibiotic resistance in *Enterococcus faecalis* isolated from urine samples, *Sec. Biol. Med. Sci.*, 29(1), 57-56,
4. Teixeira LM., Carvalho MGS., Facklam RR., (Çeviri Ö. Akan) (2009): Enterococcus, İn: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds): Manual of Clinical Microbiology, 9.baskı kitabının çevirisi Klinik Mikrobiyoloji, Cilt 1'de , Atlas Kitapçılık Tic. Ltd. Sti., Ankara, s. 430-442,
5. Çelik Ü., Alhan E. (2008): Pediatrik Enfeksiyonlarda Zorlu Patojen: Enterokoklar, *Çocuk Enf Derg* (J Pediatr Inf), 2, 58-66,
6. Muller C., Breton Y.L., Morin T., Benachour A., Auffray Y., Rince A. (2006): The Response Regulator CroR Modulates Expression of the Secreted Stress-Induced SalB Protein in *Enterococcus faecalis*, *Journal Of Bacteriology*, Apr., 2636-2645,
7. Noble WC., Virani Z., Cree RG: Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 72: 195 (1992).
8. Witte W: Antibiotic resistance in Gram-positive bacteria: Epidemiological aspects, *j Antimicrob Chemother* 44 (suppl 1):1 (1999)
9. Vural T., Şekerciolu AO., Ögünç D: Vankomisin dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *ANKEM Derg* 13: 1 (1999).
10. Başustaoğlu A., Aydoğan H., Beşirbellioğlu B., Alaca R., Dizer U., Özyurt M: GATA'da izole edilen ikinci glikopeptid dirençli *Enterococcus faecium*. *Gülhane Tıp Dergisi* 44: 82 (2002).
11. Mamal Torun M., Bahar H., Altinkum S., Yüksel P: Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid ve vankomisin direncinin araştırılması. *ANKEM Derg* 13: 105 (1999).

12. Koneman EW., Allen SD., Janda WM., Schreckenberger PC., Winn WC. *Enterococcus species*. In: Koneman EW (ed.) Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fourth edition, Philadelphia: Lippincott Company, 1992;440-6.
13. Rob J.L., Willems ve Marc J.M. Bonten. (2007): Glikopeptide dirençli enterokoklar: virülans, direnç ve epidemiye ait özellikler, Current Opinion in Infectious Diseases Türkçe baskı, Cilt 2, Sayı 3, 20, 181-190,
14. Nallapareddy S.R., Wenxiang H., Weinstock G.M., Murray B.E. (2005): Molecular characterization of a widespread, pathogenic and antibiotic resistance-receptive *Enterococcus faecalis* lineage and dissemination of its putative pathogenicity island, Journal of Bacteriology, Aug., 5709-5718,
15. Mascini E. M., Bonten M.M. (2005): Vancomycin-resistant enterococci: consequences for therapy and infection control, Clin Microbiol Infect, 11(4), 43-56,
16. Sümerkan B. (2005): *Streptococcus pneumoniae* ve enterokoklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye haritası, Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Derneği 20. ANKEM Kongresi, Antalya, 22-26 Mayıs 2005, Kongre Sunuları, 19 (Ek 2) , 61-65
17. Murray P., Rosenthal KS., Pfaller MA. (2009). *Enterococcus* and Other Gram-Positive Cocci, Medical Microbiology, 6th ed., Mosby Elsevier, Philadelphia, p. 243-246
18. Moellering RC. *Enterococcus species*. İçinde Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editörler. Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. Vol. 2. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000: pp. 2147-56.
19. Çetinkaya Y., Falk P., Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000;13: 686-707
20. Facklam RR., Teixeira LM. Enterococcus. İçinde Collier L, Balows A, Sussman M, editörler. *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 9th ed. Vol. 2. London: Edward Arnold; 1998: pp.669-82.
21. Fisher K., Phillips C. (2009): The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*, *Microbiology*, 155, 1749- 1757
22. Izquierdo E., Bednarczyk A., Schaeffer C., Cai Y., Marchioni E., Dorsselaer A.V., Ennahar S.(2008): Production of Enterocins L50A, L50B, and IT, a New Enterocin, by *Enterococcus faecium* IT62, a Strain Isolated from Italian Ryegrass in Japan, *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, June, 1917-1923,
23. Moellering RC. *Enterococcus Species, Streptococcus bovis* and *Leuconostoc Species*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases (6th ed). Churchill Livingstone, Philadelphia 2005, pp. 2411-2417.

24. Sümerkan B. Vankomisine dirençli enterokoklar. In:Günaydın M, Esen Ş, Saniç A, Leblebicioğlu H, eds. Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane İnfeksiyonları Samsun: Samsun İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Araştırmaları Derneği 2002: 329-334.
25. Boyce JM., Mermel LA., Zerves MJ et al. Controlling vancomycin resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16: 634- 637
26. Gültekin M. (2004): Enterokoklar: Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji ve Patogenez. İçinde: Ulusoy S., Usluer G., Ünal S. (ed): Önemli ve sorunlu gram pozitif bakteri infeksiyonları, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, s.121-140
27. Giard J.C., Riboulet E., Verneuil N., Sanguinetti M., Auffray Y., Hartke A. (2006): Characterization of Ers, a PrfA-like regulator of *Enterococcus faecalis*, *FEMS Immunol Med Microbiol* ,46, 410-418
28. Creti R., Koch S., Fabretti F., Baldassarri L., Huebner J. (2006): Enterococcal colonization of the gastro-intestinal tract: role of biofilm and environmental oligosaccharides, *BMC Microbiology*, 6,60
29. Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A. (2010): Bakteriyel Patogenezin Mekanizmaları, Çev: Özkuyumcu C., İçinde: Basustaoğlu A.C. (Çev ed.), Yıldırım Ş.T., Tanyüksel M., Yapar M. (Yard. Çev. Ed.), Tıbbi Mikrobiyoloji, 6. Baskı, Atlas kitapçılık, Ankara, s.179-187
30. Archimbaud C., Shankar N., Forestier C., Baghdayan A., Gilmore M.S., Charbonne F., Joly B. (2002): In vitro adhesive properties and virulence factors of *Enterococcus faecalis* strains, *Research in microbiology* ,153(2), 75-80
31. Winn Jr. W., Allen S., Janda W., Koneman E., Procop G, Schereckenberger P., Woods G. (2006): *Enterococcus species*. In: Koneman's Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology, 6th ed., Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins, p.700-704,
32. Kayaoğlu G., Orstavik D. (2004): Virulence Factors Of *Enterococcus faecalis*: Relationship To Endodontic Disease, *Crit Rev Oral Biol Med*, 15(5), 308-320,
33. Fabretti F., Theilacker C., Baldassarri L., Kaczynski Z., Kropec A., Holst O., Huebner J.(2006): Alanine esters of Enterococcal lipoteichoic acid play a role in biofilm formation and resistance to antimicrobial peptides, *Infection and Immunity*, July, 4164-4171
34. Rosa D.R., Creti R., Venditti M., D'amelio R., Arciola C.R., Montanaro L., Baldassari L. (2006): Relationship between biofilm formation, the enterococcal surface protein (Esp) and gelatinase in clinical isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*, *FEMS Microbiol Lett*, 256, 145-150

35. Hancock L.E., Perego M. (2004): The *Enterococcus faecalis* fsr two-component system controls biofilm development through production of gelatinase, *Journal Of Bacteriology*, Sept., 5629-5639
36. Donskey CJ., Rice LB. Vancomycin resistance in enterococci. In: Moellering RC Jr, ed. *Emerging Pathogens: Implications for the Future*. Chicago: PharmaLibri Publ Inc, 2000: 5-32.
37. Klare I., Badstübner D., Konstabel C., Böhme G., Claus H., Witte W. Decreased incidence of VanA-type vancomycin-resistant enterococci isolated from poultry meat from fecal samples of humans in the community after discontinuation of avoparsin usage in animal husbandry. *Microb Drug Resist* 1999; 5: 45-52
38. Chang S., Sievert DM., Hageman JC., Boulton ML., Tenover FC., Downes FP., et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N Engl J Med* 2003; 348: 1342-7
39. Öngen B., Gürler N., Esen F., Karayay S., Töreci K. (1999): Glikopeptidlere ve denendiği bütün antibiyotiklere dirençli *Enterococcus faecium* suşu, *Ankem Dergisi*, 13(4), 501-505,
40. Barros M., Martinelli R., Rocha H. (2009): Enterococcal Urinary Tract Infections in a Universty Hospital: Clinical Studies, *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 13(4), 294-296
41. Sommers MH., Dowell VR. The gram positive cocci. In: Winn W, Allen S, Janda W, Konemann EW, Procop P (eds), *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (6th ed). W&W Lippincott company, Philadelphia 2006, pp. 700-704.
42. Garbajosa P. R., Bonten M.J.M., Robinson D.A., Top J., Nallapareddy S. R. (2006): Multilocus sequence typing scheme for *Enterococcus faecalis* reveals hospital-adapted genetic complexes in a background of high rates of recombination, *Journal Of Clinical Microbiology*, June, 2220-2228
43. Tanır G., Göl N. (1999): Antibiyotik direnci. *Klinik dergisi*, 12(2), 47-54
44. Başustaoğlu A. Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu. Kitabında: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (editörler). *Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları*. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2004, sn. 141-158.
45. Murray BE., Mederski-Samoraj B. Transferable beta lactamase a new mechanism for in vitro penicillin resistance in *Streptococcus faecalis*. *J Clin Invest* 1983; 72: 1168-1171.
46. Markowitz SM., Wells VD., Williams DS., Stuart CG., Coudron PE., Wong ES. Antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology of β -lactamase producing aminoglycoside-resistant isolates of *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35 (6): 1075-1080.

47. Çınar T., Leblebicioğlu H., Eroğlu C., Sünbül M., Esen Ş., Günaydın M. Enterokoklarda penisilin-aminoglikozid sinerjisinin araştırılması. *Klimik Dergisi* 1999; 12 (1): 39-42.
48. Brooks G.F., Butel J.S., Carroll K.C., Morse S.A. (2010). Javetz, Melnick ve Adelberg Tıbbi Mikrobiyoloji, Lange Tıp Kitabı (Çev. Ed: Yenen O.Ş.), Nobel tıp kitabevleri, İstanbul, s. 241-245.
49. Sood S., Malhotra M., Das B.K., Kapil A. (2008): Enterococcal infections & antimicrobial resistance, *Indian J Med Res* 128, August, 111-121.
50. Lefort A., Mainardi JL., Tod M., Lortholary O. Antienterococcal antibiotics. *Med Clin North Am* 2000; 84 (6): 1471-1495.
51. Murray BE. The life and times of the enterococcus. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3 (1): 46-65.
52. 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.
53. Gómez-Gila R., Romero-Gómez MP., García-Ariasa A., Ubedab MG., Busseloc MS., Cisternac R., Gutiérrez-Altés A., Mingorancea J. Nosocomial outbreak of linezolid-resistant *Enterococcus faecalis* infection in a tertiary care hospital. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2009; 65: 175–179.
54. Malathum K., Murray B.E. (1999) : Vancomycin-resistant enterococci: recent advances in genetics, epidemiology and therapeutic options, *Drug Resistance Updates* 2, 224- 243.
55. Rice L.B. (2001): Emergence of Vancomycin resistant enterococci, *Emerging Infectious Diseases*, 7(2), 183-189.
56. Zırakzadeh A., Patel R. (2006): Vancomycin-Resistant Enterococci: Colonization, Infection, Detection and Treatment, *Mayo clin Proc.*, 81(4), 529-536.
57. Ertek M., Yazgı H., Aktaş A.E., Erol S., Taşyaran M.A. (2003): Vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonu araştırılması ve diğer antimikrobiyallere duyarlılıkları, *İnfeksiyon Dergisi* (Turkish Journal of Infection) , 17(4), 447-451.
58. Aktaş G., Derbentli Ş. (2009): Vankomisine dirençli enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri, *İnfeksiyon Dergisi*, 23(4), 201-209.
59. Kaye D. (1982): Enterococci; Biologic and epidemiologic characteristics and in vitro susceptibility, *Arch Intern Med*, oct., 25(142), 2006-2009.
60. Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları; Ondokuzuncu Bilgi Eki, M100-S19, Vankomisin direnci için tarama testleri, cilt: 29, sayı 3, s.128.

61. Yıldırım M. (2007): Enterokoklar ve enterokoklarla gelişen infeksiyonlar, *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2, 46-52.
62. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for preventing spread of vancomycin resistance recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR Recomm Rep 1995; 44: 1-13.
63. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty first Informational Supplement, CLSI Document M100- S21, Wayne, PA (2011).
64. Endtz HP., Braak NVD., Belkum AV et al. Comparison of eight methods to detect vancomycin resistance in enterococci. J Clin Microbiol 1998; 36 (2): 592- 594.
65. Satake S., Clark N., Rimland D., Nolte FS., Tenover FC. Detection of vancomycin resistant enterococci in fecal samples by PCR. J Clin Microbiol 1997; 35 (9): 2325-2330.
66. Morrison D., Woodford N., Barrett SP., Sisson P., Cookson BD. DNA banding pattern polymorphism in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and criteria for defining strains. J Clin Microbiol 1999; 37 (4): 1084-1091.
67. Alp Ş, Şardan YÇ. Vankomisine dirençli enterokokların epidemiyolojisi ve kontrolü. Hacettepe Tıp Dergisi 2008; 39: 89-95.
68. Boyce JM. Vancomycin-resistant enterococcus: detection, epidemiology and control measures. Infect Dis Clin North Am 1997; 11 (2): 367-384.
69. Weinstein JW., Tallapragada S., Farrel P and Dembry LM. Comparison of rectal and perirectal swabs for detection of colonization with vancomycin-resistant enterococci. J Clin Microbiol 1996; 34 (1): 210-212.
70. Delisle S., Perl TM. Vancomycin-resistant enterococci. A road map on how to prevent the emergence and transmission of antimicrobial resistance. Chest 2003; 123 (5): 504-518.
71. Chia JKS., Nakata MM., Park SS., Lewis RP., McKnee B. Use of bacitracin therapy for infection due to vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. Clin Infect Dis 1995; 21 (6): 1520.
72. Montecalvo MA., Horowitz H., Wormser GP., Seiter K., Carbonaro CA. Effect of novobiocin-containing antimicrobial regimens on infection and colonization with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39 (3): 794.
73. Werner G., Coque TM., Hammerum AM et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. Euro Surveill 2008; 13 (47): 1-11.

74. Yavuz MT., Şahin İ., Öztürk E., Behçet M., Kaya D. Hastane kökenli üriner sistem izole edilen *Enterococcus* türlerinin insidansı ve antibiyotik direnç profilleri, Türk Mikrobiyol Cem Derg 2006;36(4):195-9.
75. 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 (4): 256-62.
76. Ağuş N., Sarıca A., Özkalay N., Cengiz A. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik direnci, ANKEM Derg 2006; 20(3):145-7.
77. Aykut-Arca E., Mert-Dinç B., Karabiber N. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok türlerinin kliniklere dağılımı, Türk Hij Den Biyol Derg 2009; 66 (1):1-5.
78. Gazi H., Kurutepe S., Sürücüoğlu S., Ecemiş T., Özbakkaloğlu B. Hastane kökenli *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarında antimikrobiyal direnç, ANKEM Derg 2004; 18 (1): 49-52.
79. Meriç M., Rüzgar M., Gündeş S., Willke A. Hastanede yatan hastalardan izole edilen enterokok türleri ve antibiyotiklere direnç durumu, ANKEM Derg 2004; 18 (3): 141-4.
80. Ersoy Y., Bayraktar M., Fırat M., Yağmur M., Durmaz R. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, ANKEM Derg 2005; 19 (2): 92-6.
81. Şirin MC., Adloğlu AK. Comparison of five antimicrobial susceptibility tests in detecting high level aminoglycoside and vancomycin resistances in hospital acquired enterococcus isolates, Clin Lab 2011; 57 (3-4):157-62. PMID: 21500722.
82. Berzeg D., Yaşar KK., Şensöz G., Kutlu SB., Nazlıcan Ö. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları, Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2005; 35: 279-283
83. Kalaycı Ö., Yurtsever SG., Güngör S., Uzun B., Kurultay N. İdrar örneklerinden izole edilen enterokokların in vitro antibiyotik direnç oranlarının değerlendirilmesi, Klimik Derg 2011;24(2):105-7.
84. Mert Dinç B., Aykut Arca E., Yağcı S., Karabiber N. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarında in-vitro antibiyotik duyarlılığı, Turk Hij Den Biyol Derg 2009; 66 (3): 117-21
85. Iraz M., Ceylan A., Akkoyunlu Y. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, ANKEM Derg 2012;26(4): 176-180
86. 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): 101-3. PMID:15858289.

87. Harnett SJ., Fraise AP., Andrews JM., Jevons G., Brenwald NP., Wise R: Comparative study of the in vitro activity of a new fluoroquinolone, ABT-492, J Antimicrob Chemother 2004;53:783.
88. Isenberg HD., Alperstein P., France K: In vitro susceptibility of recent gram-positive isolates to ciprofloxacin, levofloxacin, and trovafloxacin, Diagn Microbiol Infect Dis 1998; 32: 115.
89. Calderon-Jaimes E., Arredondo-Garcia JL., Aguilar-Ituarte F., Garcia- Roca P: In vitro antimicrobial susceptibility in clinical isolates of *Enterococcus species*, Salud Publica Mex 2003;45: 96
90. Aral M., Paköz NİE., Aral İ., Doğan S. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarının antibiyotik direnci, Türk Hij Den Biyol Derg 2011;68(2): 85-92.
91. Shepard BD., Gilmore MS. Antibiotic resistant enterococci: the mechanisms and dynamics of drug introduction and resistance, Microbes Infect 2002;4(2):215-24.
92. Çaylan R., Üstünakın M., Kadımov V., Aydın K., Köksal İ. Fekal ve Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları, Türk Mikrobiyoloji Cem Derg (2004) 34: 24-28.
93. Çiçek A., Kuzucu Ç., Durmaz R. Bir yıl içerisinde kan kültürlerinden infeksiyon etkeni olarak izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları, ANKEM Derg 2006; 20 (1):13-7.
94. Şamlıoğlu P., Ece G., Atalay S., Köse Ş. Yoğun bakım birimlerinden izole edilen Gram pozitif koklarda daptomisin duyarlılığı, ANKEM Derg 2011; 25 (3): 173-7.
95. Emaneini M., Aligholi M., Aminshahi M. Characterization of Glycopeptides, Aminoglycosides, Macrolide Resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Isolates from Hospitals in Tehran, Polish Journal of Microbiology 2008;Vol.57, No 2, 173-178
96. Akhter S., Asna ZH., Rahman MM. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Enterococcus* species isolated from clinical specimens, Mymensingh Med J 2011;20(4):694-9.
97. Quiñones Pérez D., Abreu Capote M., Marrero D et al. Antimicrobial susceptibility and genetic bases for resistance of infection-causing *Enterococcus* strains in Cuba, Rev Panam Salud Publica 2011;30(6):549-54.
98. Ulusoy S., Hoşgör M., Özkan F., Özinel M., Tokbaş A. *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un antibiyotik direncinin araştırılması, ANKEM Derg 1995;9(1):12-6.
99. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report. Data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004, Am J Infect Control 2004; 32: 470-85.

100. Pootoolal J., Neu J., Wright GD: Glycopeptide antibiotic resistance. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 42: 381 (2002).
101. Uttley AH., Collins CH., Naidoo J., George RC: Vancomycin resistant *Enterococcus*. *Lancet* 1: 57 (1988).
102. CDC. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin in United States, 1989-1993. *MMWR*. 42: 597 (1993).
103. Mohr JF., Friedrich LV., Yankelev S., Lamp KC. Daptomycin for the treatment of enterococcal bacteraemia: results from the Cubicin Outcomes Registry and Experience (CORE), *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33 (6):543-8.
104. Climo MW., Archer GL., Monroe S: Vancomycin resistant Gram positive pathogens: Potential approaches for prevention and control. "Wenzel RP (ed): *Prevention and Control of Nosocomial Infections*" 4th ed, p: 169, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2003)
105. Lai CC., Wang CY., Chu CC et al. Correlation between antimicrobial consumption and resistance among *Staphylococcus aureus* and enterococci causing healthcare-associated infections at a university hospital in Taiwan from 2000 to 2009, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30 (2): 265-71.
106. Mamal Torun M., Altinkum S., Bahar H., Kocagöz S., Biçer P., Demirci M. Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* kökenlerinde genotipik ve fenotipik özelliklerin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg*(2005) 35: 153-158
107. Arias CA., Contreras GA., Murray BE. Management of multidrug-resistant enterococcal infections, *Clin Microbiol Infect* 2010;16(6):555-62.
109. Köksal İ. (2007): Hangi infeksiyon? Hangi antibiyotik? *ANKEM Dergisi*, 21(Ek 2), 126-132.
110. Korten V. (2007): Linezolid, *Ankem Dergisi*, 18 (ek 2), 178-180,
111. Sader HS., Farrell DJ., Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive cocci isolated from skin and skin-structure infections in European medical centres, *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36(1):28-32.
112. Arias CA., Panesso D., McGrath DM et al. Genetic basis for in vivo daptomycin resistance in enterococci, *N Engl J Med* 2011;365(10):892-900
113. Enoch DA., Bygott JM., Daly ML., Karas JA. Daptomycin, *J Infect* 2007;55(3):205-13
114. Padmaja K., Umabala P., Prasad K., Lakshmi V. In vitro study to evaluate the sensitivity to daptomycin among gram positive clinical isolates, *Indian J Med Microbiol* 2012; 30 (1): 114-5

115. Bell JM., Turnidge JD., Sader HS., Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of daptomycin: results from the surveillance program in Australia and New Zealand (2008), *Pathology* 2010; 42(5):470-3.
116. Gales AC., Sader HS., Ribeiro J., Zoccoli C., Barth A., Pignatari AC. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY Program (2005-2008), *Braz J Infect Dis* 2009;13(2):90-8.
117. Türk Dağı H., Arslan U., Uğur A.R., Alp F., Fındık D., Tuncer İ. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Daptomisine Duyarlılığı, *ANKEM Derg* 2012; 26 (3):111-115.
118. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing: Breakpoints tables for interpretation of MICs and zone diameters, Version 1.0, December (2009).
119. Lee D. K., Kim Y., Park K. S., Yang J. W., Kim K., Ha1 N. J. (2007): Antimicrobial activity of Mupirocin, Daptomycin, Linezolid, Quinupristin/Dalfopristin and Tigecycline against Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) from clinical isolates in Korea (1998 and 2005), *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 40(6), 881- 887,
120. Waites K.B., Duffy L.B., Dowzicky M.J. (2006): Antimicrobial susceptibility among pathogens collected from hospitalized patients in the United States and in vitro activity of tigecycline, a new glycylyccline antimicrobial, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Oct, 3479-3484.
121. Karaoğlan İ., Zer Y., Namıduru M.Vankomisine Dirençli Enterokok Suşlarında Tigesiklinin İn-vitro Etkinliği, *ANKEM Derg* 2008; 22 (3): 153-155.
122. Gales AC., Jones RN: Antimicrobial activity and spectrum of the new glycylyccline, GAR-936 tested against 1,203 clinical bacterial isolates, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 36(1): 19-36.
123. Souli M., Kontopidou FV., Koratzanis E et al: In vitro activity of tigecycline against multiple-drug resistant, including pan-resistant, Gram negative and Gram positive clinical isolates from Greek hospitals, *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(9):3166-9.
124. Kao SJ., You I., Clewell DB., Donabedian SM., Zervos MJ., Petrin J., et al. Detection of the high-level aminoglycoside resistance gene aph(2'')-Ib in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2876–9.
125. Tsai SF., Zervos MJ., Clewell DB., Donabedian SM., Sahm DF., Chow JW. A new high-level gentamicin resistance gene, aph (2'')-Id, in *Enterococcus spp.* *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 1229–32.

126. Feizabadi M., Maleknejad P., Asgharzadeh A., Asadi S., Sayadi S (2006). Prevalence of aminoglycoside modifying enzymes gene among isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in Iran. *Microb. Drug Resist.*, 12:256-268.
127. Vakulenko B., Donabedian M., Voskresenskiy M., Zervos J., Lerner A., Chow W (2003). Multiplex PCR for Detection of Aminoglycoside Resistance Genes in Enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47:1423-1426.
128. Kaçmaz B., Aksoy A., Antimicrobial resistance of enterococci in Turkey. *International Journal of Antimicrobial Agents* 25 (2005) 535–538.
129. Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 586–99.
130. Zarilli R., Tripodi MF., Popolo A., Fortunato R., Bagattini M., Crispino M., Florio A., M Triassi M. and Utili R. Molecular epidemiology of high-level aminoglycoside-resistant enterococci isolated from patients in a university hospital in southern Italy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2005) 56, 827–835.
131. Donabedian SM., Thal LA., Hershberger E. et al. Molecular characterization of gentamicin-resistant Enterococci in the United States: evidence of spread from animals to humans through food. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1109–13.
132. Qu TT., Chen Y., Yu YS., Wei ZQ., Zhou ZH., Li LJ. Genotypic diversity and epidemiology of high-level gentamicin resistant *Enterococcus* in a Chinese hospital. *Journal of Infection* (2006) 52, 124–130.
133. Carbon C., Rubinstein E. Macrolides, lincosamides, streptogramins. In: Armstrong D, Cohen J. (eds). *Infectious Diseases*. London, Mosby. 1999:7.006.1-7.6.12
134. Jensen L. B., Frimodt-Moller N., and Aarestrup F. M. Presence of erm gene classes in gram-positive bacteria of animal and human origin in Denmark. 1999: *FEMS Microbiol. Lett.* 170:151–158.
135. Portillo A., Ruiz-Larrea F., Zarazaga M., Alonso A., Martinez JL., Torres AC. Macrolide Resistance Genes in *Enterococcus* spp. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy* 2000: p.967–971
136. Bouchami O., Achour W., Ben Hassen A. Prevalence of resistance phenotypes and genotypes to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics in Gram-positive cocci isolated in Tunisian Bone Marrow Transplant Center. *Pathologie Biologie* 59 (2011) 199–206
137. L.-K. Zou, H.-N. Wang, B. Zeng, J.-N. Li, X.-T. Li, A.-Y. Zhang, Y.-S. Zhou, X. Yang, C.-W. Xu, Q.-Q. Xia. Erythromycin resistance and virulence genes in *Enterococcus faecalis* from swine in China. 2011: *New Microbiologica*, 34, 73-80.
138. Abele-Horn M., Vogel U., Klare I., et al. Molecular epidemiology of hospital acquired

vancomycin-resistant enterococci. J Clin Microbiol. 2006; 44 (11): 4009-4013.

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

140. M. Belhaj, I. Boutiba-Ben Boubaker S. Ben Redjeb. Molecular characterisation of high-level ampicillin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from hospitalised patients in Tunisia. International Journal of Antimicrobial Agents 32 (2008) 278–286

141. A. C. Rodloff, R. Leclercq, E. A. Debbia, R. Canto'n, B. A. Oppenheim and M. J. Dowzicky. Comparative analysis of antimicrobial susceptibility among organisms from France, Germany, Italy, Spain and the UK as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. Clin Microbiol Infect 2008; 14: 307–314

142. Salem-Bekhit M., Ibrahim Moussa I.M., Muharram M. M. Elsherbini A.M. and AlRejaie S. Increasing prevalence of high-level gentamicin resistant enterococci: An emerging clinical problem. African Journal of Microbiology Research Vol. 5(31) pp. 5713-5720, 23 December, 2011

143. Woodford N., Livermore D.M. (2009): Infections caused by Gram-positive bacteria: a review of the global challenge, *Journal of infection*, 59 (S1), S4-S16

144. Gülay Z. Gram Pozitif Bakterilerde Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Yorumu. ANKEM Derg. 14 (No.4):512-521 (2000)

145. Bourdon N., Fines-Guyon M., Thiolet JM., et al. Changing trends in vancomycin resistant enterococci in French hospitals, 2001-08. J Antimicrob Chemother. 2011; 66 (4): 713-721

146. Christiansen KJ., Tibbett PA., Beresford W., et al. Eradication of a large outbreak of a single strain of vanB vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* at a major Australian teaching hospital. Infect Control Hosp Epidemiol 2004; 25 (5): 384- 390

147. Kırdar S., Şener AG., Yurtsever SG., Aslan U., Payzın B., Bozdoğan B. Vankomisin dirençli *Enterococcus faecium* salgınının moleküler yöntemlerle incelenmesi. Ankem Derg 2008; 22 (1): 7

148. Güdücüoğlu H., Aktaş E., Cömert FB. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Pediatri Servisinde vankomisine dirençli enterokokların ilk izolasyonu ve çoğul klonların tespiti. Mikrobiyol Bul 2009; 43: 535-543

149. Özhak B., Ögünç D., Çolak D. ve ark. Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde vankomisin dirençli enterokok (VRE) salgını. Hastane İnf Derg 2006; 10 (Ek-1): 66

150. Köse Ş., Ece G., Türken M., Gözaydın A., Tatar B. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında İzole Edilen Bakterilerin Tigesiklin ve Diğer Antibiyotiklere Duyarlılığının İncelenmesi. Fırat Tıp Dergisi 2012; 17(1): 10-13.
151. Aktepe O. C., Aşık G., Çiftçi İ.H., Çetinkaya Z. Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 41(2):86-90, 2011.
152. Tünger Ö. Vankomisine Dirençli Enterokok İnfeksiyonlarının Tedavisinde Eski ve Yeni Tedavi Seçenekleri. ANKEM Derg 2012; 26 (4): 215-227.
153. Linden PK., Moellering R.C. Jr, Wood C.A. et al. Treatment of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* infections with quinupristin/dalfopristin, Clin Infect Dis 2001; 33 (11): 1816-23.
154. Smith D.L., Johnson J.A., Harris A.D. et al. Assessing risks for a pre-emergent pathogen: virginiamycin use and the emergence of streptogramin resistance in *Enterococcus faecium*, Lancet Infect Dis 2003; 3(4): 241-9.
155. Deshpande L.M., Fritsche T.R., Moet G.J. et al. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, Diagn Microbiol Infect Dis 2007;58 (2): 163-70.
156. Hsueh P.R., Chen W.H., Teng L.J., Luh K.T. Nosocomial infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci at a university hospital in Taiwan from 1991 to 2003: resistance trends, antibiotic usage and in vitro activities of newer antimicrobial agents, Int J Antimicrob Agents 2005; 26 (1): 43-9.
157. Yenişehirli G., Bulut Y. Yoğun Bakım Ünitesinden İzole Edilen Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnci. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2006, 26: 477-482.
158. Zhanel G.G., Hoban D.J., Karlowsky J.A. Nitrofurantoin is active against vancomycin resistant enterococci, Antimicrob Agents Chemother 2001; 45 (1):324-6.
159. Duman Y., Kuzucu Ç., Çuğlan S.S. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Bakteriler ve Antimikrobiyal Duyarlılıkları. Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal) 2011; 33 (3): 189-196.
160. Türken Ulusoy M., Köse Ş., Ece G., Tatar B. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Pozitif Kokların Kinupristin/Dalfopristin Duyarlılığının İncelenmesi ve Diğer Antibiyotiklerle Karşılaştırılması. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2012; 32 (5): 1260-6.

161. Thierfelder C., Keller P. M., Kocher C., Gaudenz R., Hombach M., Bloemberg G. V., Ruef C. Vancomycin-resistant Enterococcus. Swiss Med. Wkly. 2012;142:w13540.
162. Voudiris H.V., Petropoulou D.M., Ganteris G., et al. Isolation of glycopeptide resistant enterococci from hospitalized Greek patients. Clin Microbiol Infect 2001; 7 (Suppl 1): 90.
163. Çetinkaya Y., Zarakolu P., Altun B, Kaya G., Yıldırım A., Ünal S. Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesi'nde sürveyans programı kapsamında izole edilen VRE'lerin epidemiyolojik özellikleri. XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre kitabı 2004, s.263.
164. Köksal Çakırlar F., Samastı M., Barış İ., Kavaklı H., Karakullukçu A., Sirekbasan S., Bağdatlı Y. The Antimicrobial resistance patterns, epidemiological and molecular characterization of vancomycin-resistant enterococci isolated from rectal swab samples of hospitalized patients in Turkey. II International Conference on Antimicrobial Research-ICAR2012 Lisbon (Portugal) 21-23 November 2012.
165. Schmitz F.J., Sadurski R., Kray A., Boos M., Geisel R., Köhrer K., Verhoef J., Fluit A.C. Prevalence of Macrolide-Resistance Genes in *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium* Isolates from 24 European University Hospitals. Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2000) 45, 891-894.