



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

***Enterococcus faecium* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK
DUYARLILIĞININ HIZLI YÖNTEM KULLANILARAK
TESPİT EDİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Elvina ZEYNALOVA

Danışman
Doç. Dr. Kemal BİLGİN

SAMSUN
2023

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



***Enterococcus faecium* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK
DUYARLILIĞININ HIZLI YÖNTEM KULLANILARAK
TESPİT EDİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Elvina ZEYNALOVA

Danışman
Doç. Dr. Kemal BİLGİN

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Elvina ZEYNALOVA tarafından, Doç. Dr. Kemal BİLGİN danışmanlığında hazırlanan “*Enterococcus faecium* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ HIZLI YÖNTEM KULLANILARAK TESPİT EDİLMESİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 17.08.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Doç. Dr. Kemal BİLGİN Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Mustafa KEREM ÇALGIN Ordu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☒

Hayır ☐

12 / 09 / 2023
Elvina ZEYNALOVA

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: *Enterococcus faecium* İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ HIZLI YÖNTEM KULLANILARAK TESPİT EDİLMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 22.06.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 17

Tek kaynak oranı : % 4 çıkmıştır.

12 / 09 / 2023
Doç. Dr. Kemal BİLGİN

ÖZET

Enterococcus faecium İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ HIZLI YÖNTEM KULLANILARAK TESPİT EDİLMESİ

Elvina ZEYNALOVA
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans, Ağustos/2023
Danışman: Doç. Dr. Kemal BİLGİN

Enterococcus faecium insan ve hayvanlarda normal intestinal florada bulunan fırsatçı patojen niteliğindeki mikroorganizmadır. Birden fazla antimikrobiyallere karşı direnç oluşturma yeteneğine sahip olup insan sağlığı için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Oluşan enfeksiyonlarda erken tanı kadar, doğru antibiyotik seçimi ve oluşturduğu duyarlılık sonuçları da büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda; kan örneklerinden izole edilen *E. faecium* izolatlarında antibiyotik duyarlılığının hızlı yöntem kullanılarak tespit edilmesi araştırılmıştır.

Çalışmaya Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Bakteriyojji laboratuvarında rutin gönderilen kan örneklerden izole edilen 122 adet *E. faecium* izolatı dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen *E. faecium* izolatlarının resazurin mikropalak yöntemi kullanılarak vankomisin ve yüksek düzey gentamisin duyarlılığının erken tespit edilebilmesi araştırılmıştır. Çalışmada referans yöntem olarak mikrodilüsyon yöntemi kullanılmış ve resazurin mikropalak yöntemiyle referans mikrodilüsyon yöntemi sonuçları karşılaştırılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen izolatların resazurin mikropalak yönteminin altıncı ve yedinci saat sonuçları ile standart mikrodilüsyon yönteminin bir gecelik inkübasyon sonuçları değerlendirildiğinde vankomisin için altıncı ve yedinci saat KU oranı %99.1 olarak, yüksek düzey gentamisin için altıncı saat ve yedinci saat KU oranı sırasıyla %86.0, %95 olarak tespit edilmiştir. Vankomisin için altıncı ve yedinci saat TU oranı sırasıyla %94.2, %96.7 olarak, yüksek düzey gentamisin için altıncı saat ve yedinci saat TU oranı sırasıyla %76.2, %83.6 olarak tespit edilmiştir. Vankomisin için altıncı ve yedinci saat ÇBU oranı %4.5 olarak, yüksek düzey gentamisin için altıncı ve yedinci saat ÇBU oranı sırasıyla %20.5 ve %7.2 olarak tespit edilmiştir. Yüksek düzey gentamisin için altıncı ve yedinci saat BU oranı %2.5 olarak tespit edilmiştir. Vankomisin ve yüksek düzey gentamisin antibiyotiklerinin altıncı ve yedinci saatleri için BU ve KÜU oranı tespit edilmemiştir.

Buna göre *E. faecium* izolatlarında vankomisin duyarlılığını resazurin mikropalak yöntemi ile standart yönteme kıyasla erken tespit edilebilmesine olanak sağlama potansiyeli olduğu düşünülmektedir. Ancak yüksek düzey gentamisin için yeni inkübasyon süreleri gibi farklı protokollerin denenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir. Çok sayıda ve farklı izolatın dahil edildiği, standart yöntemlerle karşılaştırmalı olarak geniş çaplı tekrar edilebilirliğin değerlendirildiği çalışmaların yapılmasının yöntemin uygulanabilirliğinin anlaşılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: *Enterococcus faecium*, Vankomisin, Gentamisin, Resazurin mikropalak yöntemi

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY IN *ENTEROCOCCUS FAECIUM* ISOLATES USING THE RAPID METHOD

Elvina ZEYNALOVA
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Medical Microbiology
Master, August/2023
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kemal BİLGİN

Enterococcus faecium is an opportunistic pathogen found in normal intestinal flora of humans and animals. Its resistance ability against antimicrobials has posed a threat to human health. The early identification of a causative agent with a selective antibiotic and its sensitivity result can be important in diagnosis. In our study, the determination of antibiotic sensitivity in *E. faecium* isolates isolated from blood samples using the rapid method were investigated.

The study collected 112 *E. faecium* isolates of blood samples from the routine bacteriology laboratory at Ondokuz Mayıs University of Medicine. The resazurin microplate method was used to detect early susceptibility of vancomycin and high-level gentamicin in *E. faecium* isolates. The microdilution method was used as a reference method. The results of the resazurin microplate method and the reference microdilution method then were compared.

The results of the resazurin microplate method were observed at the sixth to seventh hour though the results of the standard microdilution method were evaluated after 24 hours of incubation. The Categorical Agreement rates for the vancomycin were 99.1%, and the Categorical Agreement rates for the high levels of gentamicin were 86.0%, and 95%, respectively. The Essential Agreement rates for the vancomycin were 94.2% and 96.7%, and the Essential Agreement rates for the high levels of gentamicin were 76.2% and 83.6%, respectively. The Very Major Error rates for the vancomycin were 4.5%, and the Very Major Error rates for the high levels of gentamicin were 20.5% and 7.2%, respectively. The Major Error rate for the high levels of gentamicin was 2.5% respectively. The Minor Error and Major Error rate of vancomycin and high levels of gentamicin antibiotics was not determined.

As a result, the resazurin microplate approach is anticipated to have the ability to detect vancomycin susceptibility in *E. faecium* isolates earlier than the traditional method. However, various methods, such as new incubation times for high-level gentamicin, are thought to be advantageous. It is hoped that completing research using a large number of diverse isolates and comparing wide-scale repeatability to established procedures will aid in understanding the method's applicability.

Keywords: *Enterococcus faecium*, Vancomycin, Gentamicin, Resazurin microplate method

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bana daim yol gösteren, akademik desteğini her zaman hissettiğim değerli tez danışmanım, sevgili hocam Doç. Dr. Kemal BİLGİN'e minnettarlığımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım boyunca bilgi, ilgi ve yardımseverlikleriyle desteklerini gördüğüm ve her zaman rehberliklerine başvurduğum değerli hocalarım Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Asuman BİRİNCİ, öğretim üyeleri Doç. Dr. Yeliz TANRIVERDİ ÇAYCI ve Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜR VURAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim süresince bana pek çok konuda destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı asistanları, doktora ve yüksek lisans öğrencileri ile laboratuvar çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca her ihtiyaç duyduğumda bilgi ve birikimlerini hiç esirgemeyen Arş. Gör. İlknur BIYIK ve Arş. Gör. Kübra HACİEMİMNOĞLU'ya teşekkürü borç bilirim.

Ailemden uzak olduğum bu süreçte bana abi ve abla olarak hem maddi hem manevi desteğini esirgemeyen, kendilerini tanıdığım için çok şanslı hissettiğim Seroloji Laboratuvarı çalışanları Sağlık Teknisyeni Resul SIVACI'a, Biyolog Burcu ÖZYURT'a ve bu süreçte bana yardım ve desteğiyle yanımda olan canım arkadaşım Esmira AHMADOVA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Beni bu günlere getiren, hayatım boyunca iyi ve kötü günümde hep yanımda olan, maddi manevi desteklerini esirgemeyen, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim babam İslamzade ZEYNALOV'a, canım annem Mirvari ZEYNALOVA'a, abim Elvin ZEYNALOV'a ve ailesine, birbirimizden uzakta olsak da sevgisi ve desteğiyle hep yanımda hissettiğim nişanlım Nicat MİKAYILOV'a sonsuz teşekkür ederim.

Elvina ZEYNALOVA

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Enterococcaceae'nın Genel Özellikleri	3
2.2. Sınıflandırma	3
2.2.1. Epidemiyoloji	3
2.2.2. Morfoloji ve Kimyasal Özellikleri	4
2.2.3. <i>Enterococcus</i> Enfeksiyonları	4
2.3. Antimikrobiyal Ajanlar	6
2.3.1. Vankomisin	6
2.3.2. Yüksek Düzey Genatmisin	6
2.4. <i>Enterococcus</i> 'ların Virülans Faktörleri	6
2.4.1. Hemolizin/Sitolizin	7
2.4.2. Jelatinaz	7
2.4.3. Agregasyon maddesi	8
2.4.4. Ekstraselüler yüzey proteini (ESP)	8
2.4.5. Hiyalüronidaz	8
2.4.6. MSCRAMM Ace-Acm	8
2.4.7. Ekstra Selüler Süperoksit	9
2.5. Standart Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri (ADT)	9
2.5.1. Disk Difüzyon Testi	9
2.5.2. Gradient Difüzyon Testi	10
2.5.3. Agar Dilüsyon Testi	10
2.5.4. Makrodilüsyon Testi	10
2.5.5. Mikrodilüsyon Testi	11
2.6. Moleküler Yöntemler	11
2.7. Otomatik Sistemler	11
2.8. Alternatif Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	12
2.8.1. Kolorimetrik yöntemler	12
2.8.2. Resazurin (Alamar Mavisi) Testi	12
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Materyal	14
3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen İzolatlar	14
3.2. Metot	14
3.2.1. Bakterilerin tanımlanması	14
3.2.2. Besiyerinin Hazırlanması	14
3.2.3. Antibiyotik Stoklarının Hazırlanması	14
3.2.4. Resazurin Stoğunun Hazırlanması	15

3.2.5. Mikroplakların Hazırlanması	15
3.2.6. Mikroorganizmaların inokülasyonu.....	15
3.2.7. Resazurin Mikroplak Yöntemi.....	16
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	18
4.1. Bulgular.....	18
4.1.1. İzolatlar	18
4.1.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntem ve Resazurin Mikroplak Yöntem Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	18
4.1.3. Vankomisin Sonuçları.....	18
4.1.4. Yüksek Düzey Gentamisin Sonuçları	23
4.2. Tartışma.....	29
5. SONUÇ	35
KAYNAKLAR	36
EKLER.....	43
Ek 1. Etik Kurul Kararı	43
ÖZ GEÇMİŞ.....	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
ADT	: Anti Mikrobiyal Duyarlılık Testi
AGG	: Agregasyon Maddesi
BOİ	: Biyolojik Oksijen İhtiyacı
BU	: Büyük Uyumsuzluk
CFU	: Colony Forming Units
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
ÇBU	: Çok Büyük Uyumsuzluk
EMB	: Eosin Methylene Blue
ESP	: Ekstraselüler Yüzey Proteini
Etest	: Epsilometre Testi
EUCAST Testing	: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility
ID	: Bakteri İzolatlarının Tanımlanması
İYE	: İdrar Yolu Enfeksiyonu
KAMHB	: Katyon Ayarlı Mueller-Hinton Sıvı Besiyeri
KU	: Kategorik Uyum
KÜU	: Küçük Uyumsuzluk
L	: Litre
MALDI-TOF MS	: Matris Aracılı Lazer Desorpsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi
mg	: Miligram
MHA	: Mueller Hinton Agar
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
ml:	: Mililitre
MS	: Kütle Spektrometresi
NASBA	: Nükleik Asid Sekans Bazlı Amplifikasyon
PAI	: Patojenik Adalar
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAR	: Sodyum Absorpsiyon Oranı
TU	: Temel Uyum
VRE	: Vankomisin Dirençli Enterokok
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Resazurin ve resorufinin kimyasal yapıları.....	13
Şekil 4.1. Çalışmaya dahil edilen izolatların servislere göre dağılım grafiği	18
Şekil 4.2. Vankomisin; altıncı saat resazurin MİK değeri.....	22
Şekil 4.3. Vankomisin; yedinci saat resazurin MİK değeri.....	23
Şekil 4.4. Gentamisin; altıncı saat resazurin MİK değeri.....	27
Şekil 4.5. Gentamisin; yedinci saat resazurin MİK değeri.....	27



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. İzolatların vankomisin mikropak, resazurin mikropak 6. ve 7. saat MİK sonuçları ve duyarlılık durumları	19
Tablo 4.2. İzolatların yüksek düzey gentamisin mikropak, resazurin mikropak 6. ve 7. saat MİK sonuçları ve duyarlılık durumları.....	23
Tablo 4.3. Tüm izolatların hata ve uyum oranları	28
Tablo 4.4. Resazurin mikropak ve standart yöntemden elde edilen MİK sonuçlarının uyum dağılımı.....	29



1. GİRİŞ

Küresel endişe nedenlerinden biri olan antimikrobiyallere karşı direnç, giderek artan eğilimi nedeni ile insan sağlığı için büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Holmes et al., 2016; Laxminarayan et al., 2016).

Enterococcus türleri olumsuz çevre koşullarına karşı dayanıklı olma yeteneğine sahip olup doğada yaygın olarak bulunmakla birlikte, hemen her yerde yaşamlarını sürdürebilen mikroorganizmalardır (Berktaş vd., 2013; Çıragil, 2016).

Dünya çapında özellikle insanlar için patojenik olarak tanınan *Enterococcus* türlerinden en yaygın olanları *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur. Oluşan tüm enterokok enfeksiyonlarından *E. faecalis* %80-90 oranında, *E. faecium* ise %5-10 oranında sorumludur (Çıragil, 2016; Ogier and Serror, 2008). *E. faecium*, insan ve hayvanlarda normal intestinal florada bulunan ve önemli sağlık sorunları yaşatabilen fırsatçı patojen niteliğindeki mikroorganizmadır (Huycke et al., 1998). Tedavisi en zorlu *Enterococcus* türü olan *E. faecium*, endokardit, kateterle ilişkili idrar yolu enfeksiyonları (İYE) ve bakteriyemi gibi nozokomiyal enfeksiyonlara neden olabilir. Özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde, altta yatan önemli bir hastalığı olan yaşlılarda ve hastanede yatarak tedavi alan hasta grubunda enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Ödemiş vd., 2018). Ayrıca et ve süt ürünlerinin fermentasyonunda hayatta kalabilme ve çoğalma yeteneğine sahiptirler (Hugas et al., 2003).

Yüksek oranda antibiyotik direnci olan bakteriler hastane ortamında bulunmakla beraber toplum kaynaklı olarak da saptanabilmektedir. Bunlardan bağırsak kolonizasyonu sık olan enterokoklar, son yıllarda özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda etken olarak daha fazla görülmektedir (Erbek ve Özakin, 2002).

Enterokokların en önemli özelliği, Gram pozitif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan birçok antimikrobiyal ajana karşı kısmi veya tam direnç göstermeleridir. Birçok antimikrobiyal ajana karşı intrinsek direnç oluşturan enterokokların bazı türlerinin birden fazla antibiyotiğe karşı çoklu direnç göstermeleri tedavide zorluklarla sonuçlanmıştır. Önemli hastane enfeksiyonları oluşturan *E. faecium* antimikrobiyal ajanlara karşı daha dirençli olma eğilimindedir (Berktaş vd., 2013; Paganelli et al., 2016). *Enterococcus*'ların son yıllarda yüksek düzeyde aminoglikozid'lere, glikopeptid'lere ve penisiline karşı olan direncinde belirgin artış gözlenmektedir (Korten, 2017; Yıldırım, 2007). Aynı zamanda son yıllarda enterokoklar plazmid ve transpozonlar yoluyla eritromisin, klindamisin ve

tetrasiklinlere karşı da direnç göstermektedir. Enterokokların çeşitli antimikrobiyallere doğal direnç göstermelerinin yanında, yeni mekanizmalarla antibiyotik direnci oluşturduğu ve bu direnci aktarabildiği de bilinmektedir (Erbek ve Özakın, 2002; Yıldırım, 2007).

Antibiyotiklerin bilinçsiz ve yoğun bir şekilde kullanımı dirençli bakterilerin oluşumuna neden olmakla birlikte aynı zamanda bulaşıcı hastalıkların önlenmesinde de birsıra zorluklara neden olmaktadır. Son zamanlarda oluşan enfeksiyonlara karşı tedavide geliştirilen antibiyotiklerin kullanımı bakterilerde antibiyotiklere karşı yüksek oranda direnç gelişimi ile sonuçlanmıştır. Bu nedenle, enterokok suşlarında antibiyotik duyarlılığının saptanması, uygun tedavinin seçilebilmesinde oldukça önemlidir (Kahraman vd., 2017; Özgüneş, 2005; Yıldırım, 2007).

Çalışmamızda, kan örneklerinden izole edilen *Enterococcus faecium* izolatlarında vankomisin ve yüksek düzey gentamisin duyarlılığının hızlı yöntem kullanılarak erken tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enterococcaceae'nın Genel Özellikleri

2.2. Sınıflandırma

Enterococcus'lar gram pozitif, katalaz negatif, sporsuz, tek veya çift halinde görülebilen kok şeklinde mikroorganizmalardır (Fisher and Phillips, 2009).

Enterococcaceae familyasının üyesi olan *Enterococcus*'lar ilk defa 1899 yılında, Fransa'da Thiercellin tarafından yayınlanan bir makalede gram pozitif koklar olarak tanımlanmıştır (Fisher and Phillips, 2009; Stiles and Holzapfel, 1997). Enterokoklar taksonomide 1980'li yıllara kadar *Streptococcus* cinsinin bir parçası olarak kabul edilmiştir. Schleifer ve Klipper-Balz tarafından 1984 yılında yapılan DNA-DNA ve DNA-rRNA hibridizasyon çalışmaları, 16S rRNA çalışmalar sonucunda *Streptococcus faecium* ve *Streptococcus faecalis* suşlarının diğer streptokoklardan önemli farkları olduğu ve *Enterococcus* olarak diğer bir grupta değerlendirilmesi gerektiği ortaya konulmuştur (Klein, 2003; Schleifer and Klipper-Balz, 1984).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar sonucunda *Enterococcus* cinsi içerisinde en az 34 farklı tür olduğu tanımlanmıştır (*E. flavescens*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. malodoratus*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. solitarius* ve *E. faecalis*, *E. faecium*) (Billström et al., 2008). *E. faecium* türü en sık izole edilen patojenlerden biri olup, yaygın olarak gastrointestinal (GI) sisteme yerleşerek normal bağırsak florasını oluşturmaktadır (Etiz vd., 2014).

2.2.1. Epidemiyoloji

Enterokoklar olumsuz çevre koşullarına karşı toleranslarından dolayı su, bitki, toprak ve besin gibi maddelerden de izole edilebilmektedirler. İnsan ve hayvan mikroflorasının önemli bir parçası olarak kabul edilen enterokoklar son zamanlarda giderek artan sıklıkta karşılaşılan hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olmaktadır. Enterokokların neden olduğu enfeksiyonlardan %60'nı nozokomiyal enfeksiyonlar oluşturmaktadır. İnsanlarda ve hayvanlarda oluşan enterokok kökenli enfeksiyonların %80-90'dan *E. faecalis*'in, geriye kalan %10-20 enfeksiyondan ise *E. faecium*'un sorumlu olduğu belirtilmiştir. Belirli bir zamana kadar enterokokların genellikle endojen kaynaklı enfeksiyonlara yol açtığı düşünülse de, son yıllarda yapılan çalışmalarda hastane enfeksiyon patojeni oldukları ortaya çıkmıştır.

Hastanede yatan veya periton diyalizli, diyabetik ayak enfeksiyonlu hastalarda *Enterococcus* kolonizasyonu enfeksiyon kaynağıdır. Ayrıca akciğer, yumuşak doku, menenjit, paranasal sinüs, kulak, göz ve periodontal doku enfeksiyonlarına da neden olabilirler (Çıragil, 2016; Gür, 2015; Yıldırım, 2007).

2.2.2. Morfoloji ve Kimyasal Özellikleri

Enterococcus cinsi bakteriler çiftler ve kısa zincirler halinde bulunan gram-pozitif kok şeklinde, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob mikroorganizmalardır. Zenginleştirilmiş koyun kanlı agarda üretildiği zaman kabarık, gri-beyaz renkli, 1-2 mm büyüklüğünde S tipi koloniler oluştururlar. Nadir olarak R tipi oluşturmaktadırlar. Aşırı sıcaklık (10-45°C), düşük pH (4.5-10) ve %6.5 NaCl konsantrasyonu gibi olumsuz çevre koşullarına karşı tolerans gösterebilmeleri önemli özelliklerindendir (Çıragil, 2016; Korten, 2017). Ayrıca 60°C'de 30 dakika canlılıklarını da koruyabilirler (Aktaş ve Derbentli, 2009).

Enterokoklar kanlı agarda ürerler ve 24 saatlik inkübasyon sonucunda non-hemolitik, alfa hemolitik ve bazen de beta hemolitik koloniler oluştururlar. Hemolizleri değerlendirmek için insan veya at kanı kullanılırsa, hemoliz sitolizin aktivitesine dayanır ve bir B-hemolitik reaksiyona neden olur. Bu nedenle oluşan hemolizleri değerlendirmek amacıyla Triptikaz soya agar veya Columbia agarı (%5 (hh) defibrine koyun kanı içeren) kullanılmaktadır (Korten, 2017).

Enterokoklar olumsuz çevre koşullarına, fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı dayanıklı mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalar glükozun son ürünü olarak laktik asit üretmelerinden dolayı laktik asit bakterileri grubuna dahil bir cinstir (Garcia-Solaghe and Rice, 2019).

Safra varlığında eskülin hidrolizi yapabilme yeteneğine sahiptirler. Hem *E. faecalis*'in hem de *E. faecium*'un pH 4,6-9,9 aralığında üreme gösterebilmekle birlikte optimal pH 7,5 olarak kabul edilmiştir. Enterokokların üremelerine etki gösteren faktörlerden en önemlisi pH olmakla birlikte, tuz konsantrasyonu ve sıcaklık daha az etki göstermektedir. Hücre zarı asit ve alkalilere karşı dayanıklı olan *E. faecalis* geniş bir pH aralığına direnç oluşturmaktadır (Berghe et al., 2006; Nakajo et al., 2006).

2.2.3. *Enterococcus* Enfeksiyonları

Enterokoklar hastane kaynaklı ve hastane dışı etkenler olarak görülebilmektedir. Bu bakteriler, tüm nozokomiyal enfeksiyonların %10'undan, bakteriyemilerin

%9'undan, nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonlarının %16'sından sorumludur (Çıragil, 2016).

Son yıllarda enterokokların sebep olduğu enfeksiyonlarda artış gözlenmektedir. Tedavi başarısızlıklarında rol oynayan enterokoklar duyarlı hastalarda en sık üriner sistem enfeksiyonları, sepsis, endokardit, bakteriyemi, pelvik enfeksiyonları, karın içi enfeksiyonlar, cerrahi yara enfeksiyonları ve menenjit gibi enfeksiyonlara aynı zamanda hastada kalıcı olan cihazlar (intravasküler kateter gibi) yoluyla da enfeksiyonlara neden olmaktadır. Enterokokların son zamanlarda vankomisine ve aminoglikozidlere karşı oluşturduğu direnç sebebiyle de önemleri her geçen gün artmaktadır (Sakaryalı vd., 2022; Yıldırım, 2007).

Üriner sistem enfeksiyonları

Enterokokların en sık sebep olduğu nozokomiyal enfeksiyonlardan biri üriner sistem enfeksiyonları olup genellikle tekrarlayan hastalığı olan kişilerde görülmektedir. Ayrıca üriner kateterizasyon işleminden sonra ortaya çıkarak sistite, prostatite ve piyelonefrite sebep olabilmektedir (Yıldırım, 2007).

Endokardit

Endokardite neden olan etkenler arasında üçüncü sırada yer alan enterokokların bakteriyel endokarditin %5-15'ni oluşturduğu bilinmektedir. Enterokokların neden olduğu diğer enfeksiyonlarda da olduğu gibi, sıklıkla etken olan tür *E. faecalis*'dir. Ancak enterokokların diğer üyelerinin de bu hastalığı oluşturduğu bilinmektedir. Enterokoklar çoğunlukla subakut bakteriyel endokardite sebep olmaktadır (Yıldırım, 2007).

Bakteriyemi

Enterokokal bakteriyemi zaman içinde artış göstermektedir. Çevresel kaynaklı olabilecekleri gibi sıklıkla üriner sistem enfeksiyonları sonucu nozokomiyal bakteriyemi olarak da oluşum gösterebilirler. Bunların yanında protezler, yaralar ve intravenöz kateterler de diğer giriş yolları olarak söz edilebilmektedir (Yıldırım, 2007).

Menenjit

Enterokokal menenjit daha çok santral sinir sistemi cerrahisi, kafa travması ile yabancı cisimlerin yerleştirilmesi gibi risk artıran faktörlerin varlığında görülmektedir.

Menenjitte bağı bir hastalık geçmişi olan hastalarda immün sistemi baskılayıcı ya da üriner sistem enfeksiyonu gibi altta yatan klinik sebeplerin olduğu bildirilmektedir. Ayrıca enterokoka bağı menenjit enfeksiyonu aynı zamanda AIDS hastalarında, çok nadir hallerde de neonatal sepsisli hastalarda görülebilmektedir (Yıldırım, 2007).

2.3. Antimikrobiyal Ajanlar

2.3.1. Vankomisin

Glikopeptid bir antibakteriyel olan vankomisin yaklaşık 50 yıl önce penisilinaz üreten *Staphylococcus aureus* suşlarını tedavi etmek için geliştirilmiştir (Levine, 2006). Glikopeptidler arasında yalnızca vankomisin gram pozitif bakterilere karşı etki gösteren bir antibiyotiktir (Yunusoğlu vd., 2020).

Vankomisin pentapeptidin D-ala-D-ala terminal dizisine geri dönüşümsüz olarak bağlanır ve bu sayede hücre duvar sentezini inhibe eder. Son zamanlarda antibiyotiklerin bilinçsiz bir şekilde kullanımı vankomisine dirençli enterokokların (VRE) artışı ile sonuçlanmıştır (Yunusoğlu vd., 2020).

2.3.2. Yüksek Düzey Genatmisin

Keşfi 1944 yılına dayanan aminoglikozidler geniş spektrumlu antibiyotiklerdir ve 1970 yılından 1980'lerin ortalarına kadar ampirik tedavilerde sıklıkla kullanılmışlardır (Drusano et al., 2007; Mingeot-Leclercq et al., 1999). Aminoglikozidler arasında gentamisin, bakterisidal etkili bir antibiyotiktir. Sitoplazmaya girdikten sonra bakteri ribozomunda mRNA translasyonunu bozarak protein sentezini engelleyip yanlış protein sentezine neden olur (Beganovic et al., 2018).

Gentamisinin yanı sıra diğer antibiyotiklerle kombine edildiği zaman gram pozitif bakterilere sinerjik etki gösterdikleri söylene de etki mekanizmaları henüz tam olarak bilinmemektedir (Kohanski et al., 2007).

2.4. Enterococcus'ların Virülans Faktörleri

Normal bağırsak florasında bulunan enterokoklar virülans faktörleri sayesinde birçok dokuya yayılarak ciddi hastalıklara neden olabilmektedirler. Bu nedenle enterokokların virülans faktörleri, oluşturdukları enfeksiyonlarda önemli rol oynamaktadır (Fisher and Phillips, 2009; Upadhyaya et al., 2009).

Enterokoklar uzun yıllar boyunca düşük virülanslı mikroorganizmalar olarak

bilinmelerine rağmen, son yıllarda hastane kaynaklı enfeksiyonlar oluşturabilen özelliklere sahip oldukları anlaşılmıştır. Bu özellikleri sayesinde, gastrointestinal sistemde kolonize olabilir, idrar yolu ve ağız boşluğu epiteline yapışabilirler (Baylan, 2019; Fisher and Phillips, 2009).

Virülans faktörleri Patojenik Adalar (PAI) olarak isimlendirilen ve genom üzerinde seçici bölgelerde bulunan virülans genleri ile düzenlenmektedir. Bu virülans genlerinin büyük bir kısmı kromozom ya da plazmidler üzerinde kodlanır (Jett et al., 1994; Upadhyaya et al., 2009). Enterokoklar başta ekstraselüler yüzey proteini (ESP) ve Agregasyon maddesi (Agg), hemolizin/sitolizin, jelatinaz, MSCRAMM Ace-Acm (yapışkan matris moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleri), serin proteaz, kapsül, hücre duvarı polisakariti ve süperoksit olmak üzere birçok virülans faktörüne sahiptir (Fisher and Phillips, 2009).

2.4.1. Hemolizin/Sitolizin

E. faecium suşları tarafından üretilen ve aynı zamanda hemolizin olarak da adlandırılan sitolizin bakteriyel bir toksindir. Ancak bu suşların bazıları tarafından üretilen sitolizin insan ve hayvan eritrositlerine etki göstermesine rağmen insanda hastalık oluşturan enfeksiyonların patogenezindeki rolü henüz net olarak bilinmemektedir (Koch et al., 2004; Upadhyaya et al., 2009). Üretilen sitolizin gram pozitif bakteriler üzerinde bakterisidal etki sağlar ve insanlarda β –hemolitik özelliğe sahiptir. Gram negatiflere karşı ise etkisizdir (Hallgren et al., 2009).

2.4.2. Jelatinaz

Jelatinaz ilk olarak 1964 yılında Bleiweis ve Zimmerman tarafından saflaştırılan ekstraselüler çinko metallo endopeptinazdır (Bleiweis and Zimmerman, 1964; Koch et al., 2004). Jelatinaz enzimi *Enterococcus*'ların virülans faktörlerinde yer almasına rağmen kesin rolleri henüz bilinmemektedir (Semedo vd., 2003). Ancak jelatinaz ve serin proteazın enterokok patogenezinde biyofilm oluşumunda ve aynı zamanda konakçı dokuyu parçalayarak oradaki bakterilerin besin ihtiyacını karşılamak gibi rolleri olabileceği düşünülmektedir (Kayaoglu and Orstavik, 2004; Mohamed and Huang, 2007). Kazein, hemoglobin, kollajen gibi birçok biyoaktif peptidleri hidrolize etme yeteneğine sahiptir. Jelatinazı kodlayan gen kromozom üzerinde bulunur ve hücrenin yoğunluk derecesine göre düzenlenir (Koch et al., 2004). GeLE ile birlikte kopyalanan bir diğer gen ise serin proteazı kodlayan sprE genidir (Lopes et al., 2006). Bu genlerin transkripsiyonu, quorum sensing mekanizması tarafından büyüme fazına

bağlı olarak düzenlenir (Sifri et al., 2002).

2.4.3. Agregasyon maddesi

Agregasyon maddesi mikroorganizmaların kümeleşmesini sağlayan, bakteriyel konjugasyonu kolaylaştıran, *asal* geni tarafından kodlanan ve feromon duyarlı bir bakteriyel adezindir (Çıragil, 2016; Fisher and Phillips, 2009; Upadhyaya et al., 2009).

Enterokokların hücre yüzeyinin hidrofobikliğini artıran agregasyon maddesi hücre yüzeyinde saça benzer bir yapı olarak görülmektedir. Bunun sonucunda kolesterolün fagozom ve lizozomal veziküllerle füzyonuna etki ettiği veya engellediği düşünülmektedir (Eaton and Gasson 2002; Wanner et al., 1989).

Yapılan çalışmalar sonucunda agregasyon maddesi sayesinde enterokokların nötrofillere ve kültür ortamındaki üriner sistem epitel hücrelerine bağlanabildiği görülmektedir (Baylan vd., 2011).

2.4.4. Ekstraselüler yüzey proteini (ESP)

1999 yılında Shankar ve diğerleri tarafından *Enterococcus* türlerinde tanımlanan ekstraselüler yüzey proteini (ESP), hücre duvarı ile ilişkili bir proteindir. *E. faecium* izolatları fazla miktarda ekstraselüler yüzey proteini sentezleme yeteneğine sahiptir. Yapılan çalışmalarda ESP'nin enterokoklarda biyofilm oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Shankar et al., 2001; Toledo-Arana et al., 2001). Aynı zamanda ESP'nin bakterinin antibiyotiklere direnç sağlamasını arttırdığı da düşünülmektedir (Fisher and Phillips, 2009).

2.4.5. Hiyalüronidaz

Doğada yaygın olarak bulunan hiyalüronidaz, enterokok türlerinin virülansında rol oynayan, hyalüronik asit üzerine etki eden bir enzimdir. Hiyalüronidaz bağ dokusunu parçalayarak enterokokların toksinlerinin konakçı doku yoluyla yayılmasını kolaylaştırmaktadır. Enterokoklar gibi streptokoklar ve diğer bakteriler tarafından da yüksek miktarda üretilmektedir. Hiyalüronidazın diğer bir rolü ise bakterilere besin sağlamaktır. Kromozomal *hyl* geni tarafından kodlanan hiyalüronidazın enterokokların virülansındaki rolü henüz net olarak anlaşılmamıştır (Hynes and Walton, 2000; Kayaoglu and Orstavik, 2004; Semedo vd., 2003).

2.4.6. MSCRAMM Ace-Acm

E. faecium'un yüzeyinde bulunan Ace ve Acm adlı kollajen bağlayıcı proteinleri

özellikle hücrenin dış yüzeyindeki proteinlerine kollajen ve laminine bağlanmayı sağlayan mikrobiyal yüzey bileşenleridir. Fekal izolatlarla nispeten kollajen bağlayıcı protein olan Ace klinik izolatlarında daha çok bulunmaktadır (Hubble et al., 2003; Singh et al., 2010; Sillanpää et al., 2009).

2.4.7. Ekstra Selüler Süperoksit

Süperoksitler genellikle kan ve idrar gibi örneklerden izole edilerek inflamasyon bölgelerinde doku hasarlarına sebep olmaktadır. Aynı zamanda enterokokları canlı ortamlarda daha baskın hale getirerek onların hayatta kalmalarına sebebiyet vermektedirler (Kayaoglu and Orstavik, 2004; Upadhyaya et al., 2009).

2.5. Standart Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri (ADT)

Antimikrobiyal ajanın bulaşıcı hastalıklara neden olan etken bakteri türüne karşı in-vitro etkinliğini saptamak amacıyla klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında antimikrobiyal duyarlılık testleri uygulanmaktadır. Duyarlılık testleri sonucunda enfeksiyon etkeni mikroorganizmaların, antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık durumunun belirlenmesi tedavi başarısını belirlemede önem taşır (Datar et al., 2022; Miller et al., 2018).

Etken olarak kabul edilen bakterilerin gösterdikleri direnç nedeniyle tedavi başarısızlıklarının azaltılması, yalnızca duyarlılık testlerinin standart bir yöntem ile uygulanması ve klinisyenler tarafından doğru yorumlanması ile mümkündür (Datar et al., 2022; Miller et al., 2018).

Laboratuvarlarda antimikrobiyal duyarlılık testlerinin standardizasyonu amaçlayan Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ve European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) gibi yönergeler kullanılmaktadır. Sonuç olarak patojen mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı tepkisi duyarlı (S), orta (I) ve dirençli (R) şeklinde sınıflandırılmaktadır (Gülmez; Turnidge and Paterson, 2007).

2.5.1. Disk Difüzyon Testi

Bakterilerin duyarlılığını doğrulamak için altın standart kabul edilen disk difüzyon duyarlılık testleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Disk difüzyon yönteminde elde edilen inhibisyon zonu ile oluşan zon çapı değerlendirilir. Yöntem, bakteri izole edilmiş bir agar ortamının yüzeyinde antimikrobiyal doyurulmuş kağıt diskleri yerleştirmekten, bir gece boyunca 35°C’de inkübasyondan ve disklerin çevresinde

inhibisyon zonunun varlığının ve yokluğunun ölçülmesinden oluşur. Eğer test doğru şekilde yapılmış ise, inhibisyon zonunun ölçümü ve netliği kolay olmalıdır. Antimikrobiyal ile doyurulmuş disk agar yüzeyine temas ettikten sonra antimikrobiyal madde hemen ortama yayılır ve ilacın difüzyonu başlar. Antimikrobiyal maddenin diskten dışarıya çıkış oranı, besiyerinin içine doğru olan yayılım oranından büyüktür. Dolayısıyla, diskin hemen sınırındaki ilaç yoğunluğu diskteki yoğunluğun üzerine çıkabilir (Karatuna vd., 2017). Sonuç olarak disk difüzyon testinde elde edilen zon çapları yorumlama standartları ile karşılaştırılır. (Karatuna vd., 2017).

2.5.2. Gradient Difüzyon Testi

Gradient difüzyon testi, disk difüzyon ve agar dilüsyon yöntemlerinin bir arada uygulanmasının esasına dayanan bir yöntemdir. Bu yöntemde yapılan çalışmaların sonuçları konvansiyonel Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) testleri ile benzer sonuçlar vermektedir. Uygulaması diğer yöntemlere nispeten pratik ve kolay olsa da, maliyet bakımından uygulanması yeterince cazip değildir. Antimikrobiyal ile doyurulmuş şerit disk difüzyon testinde olduğu gibi bakteri ile zengin agar yüzeyine yerleştirildikten sonra inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonucu şerit etrafında damla şeklinde inhibisyon zonu oluşur ve zonun şerit ile kesiştiği nokta MİK değeri olarak elde edilir (Karatuna vd., 2017).

2.5.3. Agar Dilüsyon Testi

Testin uygulanacağı zaman antibiyotik sulandırımı kadar sayıda besi yeri eritilerek steril edilir. Besi yerleri soğutulduktan sonra antimikrobiyal ajan erimiş agar ile karıştırılarak petri plaklarına dökülür. Böylelikle hazırlanan her plakta antibiyotiğin farklı konsantrasyonları bulunur. Mikroorganizmanın büyümesine önemli ölçüde etki eden en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak belirlenir (Korkak vd., 2022).

2.5.4. Makrodilüsyon Testi

Eski referans bir yöntem olarak kullanılan makrodilüsyon yönteminin mikrodilüsyon yönteminden farkı antibiyotiklerin büyük hacimde kullanılmasıdır. Deney tüpleri 35°C’de 18-24 saatlik inkübasyon sonrası değerlendirilir. İnkübasyon süresinin sonunda tüpler bulanıklık açısından çıplak gözle incelenerek üreme görülmeyen en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilir. İki kat seri sulandırım sonucunda antibiyotiklerin belirli mikroorganizmalara karşı MİK değerleri belirlenebildiğinden kantitatif sonuç alınabilir. Kantitatif bir sonucun elde edilmesi

makrodilüsyon yönteminin avantajı olarak kabul edilir. Test edilmesi gereken antibiyotiklerin sayısındaki büyük artış ve zahmetli bir yöntem olması nedeniyle klinik laboratuvarlarda makrodilüsyon testinin bir uyarlaması olan mikrodilüsyon testi kullanılmaktadır (Karatuna vd., 2017).

2.5.5. Mikrodilüsyon Testi

Antimikrobiyal ajanların MİK değerlerinin tespit edilmesi için dilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır. Mikrodilüsyon, EUCAST ve CLSI tarafından MİK tayininde yaygın olarak kullanılan uluslararası referans bir yöntemdir. Bir mikroorganizmanın gözle görünebilen üremesini engelleyen en düşük antimikrobiyal ajan konsantrasyonu "Minimal İnhibitör Konsantrasyon" olarak belirlenir. Mikrodilüsyon yöntemi prensip olarak makrodilüsyon yöntemi ile benzerlik göstererek uyumlu sonuçlar vermektedir. Bu yöntem sayesinde, çok sayıda farklı mikroorganizmanın basit ve ucuz bir şekilde bir antibiyotik paneline karşı test edilmesi mümkün olmaktadır. Ancak standart ticari panellerde bulunan antibiyotik seçimlerinin bir miktar katı olabilmesi yöntemin ana dezavantajı olarak kabul edilmektedir (Karatuna vd., 2017; Reller et al., 2009).

2.6. Moleküler Yöntemler

Antibiyotik tedavisine gereksinim duyan bakterilerin hızlı bir biçimde antimikrobiyal tanısını koyabilmek amacıyla protein ve nükleik asit bazlı yöntemler kullanılabilmektedir (Hasdemir, 2014).

Mikrobiyoloji laboratuvarlarında sık kullanılan bir yöntem olan Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), bakterinin tanı ve antimikrobiyallere karşı duyarlılığının saptanmasında kullanılabilen bir yöntemdir. Ayrıca bakterilerde antimikrobiyal direncini saptamak için "Matrix-assisted desorption ionization-time of flight mass spectrometry" (MALDI-TOF MS) umut verici yeni bir yöntem olarak değerlendirilebilmektedir (Hasdemir, 2014).

2.7. Otomatik Sistemler

Halk sağlığı için giderek daha önemli hale gelen antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesinde tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında manuel yöntemlere göre daha çok tercih edilen otomatik sistemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Otomatik sistemler mikroorganizmaların antimikrobiyal ilaçlara karşı duyarlılığına, sonuçların daha hızlı elde edilebilir ve tekrarlanabilirliğine olanak sağlar. Her ne kadar otomatik

sistemler önemli ölçüde geliştirilmiş olsa da olağan dışı direnç fenotiplerinin çoğu kolaylıkla tespit edilememektedir (Gajic et al., 2022).

2.8. Alternatif Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

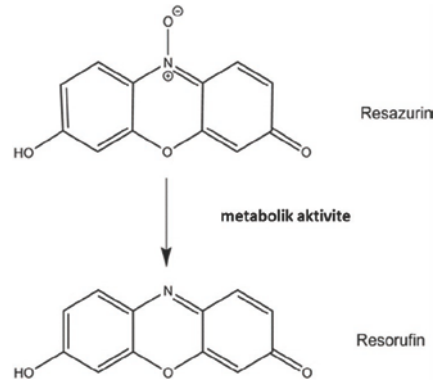
2.8.1. Kolorimetrik yöntemler

XTT [2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sulfofenil)-2Htetrazolyum-5-karboksanilid] ile MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum tuzları] testleri hücre canlılığı ve sitotoksosite ile ilgili yapılan çalışmalarda yaygın olarak kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir (O'brien et al., 2000; Rampersad, 2012). MTT testi yalnızca hücre canlılığında değil aynı zamanda in-vitro olarak doku kültürlerinde de kullanıma uygundur (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

1993'ten beri MTT testi için iyi bir alternatif olarak kullanılan alamar mavisi oksidasyon-redüksiyon indikatörü olup ortam içinde hücre aktivitesiyle koyu mavi renkten pembe bir flüoresan boyaya dönüşmektedir. Alamar mavisi kantitatif olarak insan, bakteri ve birçok hücre canlılığının belirlenmesinde, aynı zamanda hücre büyümesinin izlenmesinde de kullanılmaktadır (Erkekoğlu ve Baydar, 2021; O'brien et al., 2000).

2.8.2. Resazurin (Alamar Mavisi) Testi

Alamar mavisi testi, ilk kez 1950 yılında biyolojik sıvılarda ve sütte bakteriyel kontaminasyonun belirlenmesi için kullanılan bir testtir. Bu testin amacı canlı hücreler tarafından alamar mavisi (resazurin) adlı bileşiğin resorufin bileşiğine dönüştürülmesidir. Hücre zarından serbestçe geçerek hücre içerisinde pembe renkli resorufin bileşiğine dönüşen resazurin, oksidatif formda bulunan koyu mavi renkte bir redoks boyasıdır. Metabolik aktivitelerini kaybeden ölü hücreler ise resazurin boyasını floresans bir madde olan resorufin'e indirgeyemez ve sinyal oluşturmazlar. Florometre kullanılarak tespit edilen sinyalin yeterli oluşumunun sağlanması için inkübasyon süresinin artırılması oldukça önemlidir. Resazurin testinde lizis, ekstraksiyon ve yıkama gibi prosedürler yer almamaktadır. Ek olarak bu test pH değişikliklerine karşı dayanıklılık göstermektedir. Test zamanı renk değişiminden sonra ortamdaki hücreler çıkarılsa veya ölse dahi renk değişikliği sabit kalmaktadır. Resazurin ve resorufinin kimyasal yapıları Şekil 2.1'de gösterilmiştir (Erkekoğlu ve Baydar, 2021; Tokur ve Aksoy, 2017).



Şekil 2.1. Resazurin ve resorufinin kimyasal yapıları (Erkekoğlu ve Baydar, 2021)

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilen İzolatlar

Çalışmamız Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar ve Etik Kurulu'nun 27.04.2023 tarihinde alınan OMÜ KAEK 2023/125 karar nolu izni ile yürütülmüştür.

Çalışmaya dahil edilen izolatlar Ocak 2021 – Aralık 2022 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Bakteriyoloji Laboratuvarı'na rutin inceleme için gönderilen kan örneklerinden izole edilen suşlardan seçilmiştir. Bu kapsamda çalışmamıza toplam 122 *E. faecium* izolatı dahil edilmiştir. Örnekler belirlenirken tekrar izolatların dahil edilmemesine dikkat edilmiştir. Ayrıca *E. faecalis* ATCC 29212 suşu çalışmaya dahil edilmiştir. İzolatlar çalışılncaya kadar saklama ortamında, -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Bakterilerin tanımlanması

Çalışmaya dahil edilen *E. faecium* izolatlarının tanımlanması, Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda yapıldı. Bu amaçla üreme sinyali veren kan kültürü şişelerinden %5 koyun kanlı agara ve (bioMérieux, Fransa) ve Eosin Methylene Blue (EMB) (bioMérieux, Fransa) agara ekim yapılarak 36°C'de 18-24 saat inkübasyona kaldırıldı. İnkübasyon işleminin sonucunda üreyen koloniler değerlendirildi ve tanımlanma işlemi için Vitek-MS (bioMérieux, Fransa) sistemi kullanıldı. Bu işlemlerin sonunda *E. faecium* olarak tanımlanan izolatlar saklama ortamına alınarak çalışılncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi.

3.2.2. Besiyerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan Mueller-Hinton Broth (MHB) (Himedia; Mumbai, India) besiyeri üreticinin önerileri doğrultusunda hazırlandı ve otoklavda 121°C'de 1 atm basınçta 15 dakika steril edilip soğutulduktan sonra katyon ayarı yapıldı. Hazırlanan bu Katyon Ayarlı MHB (KAMHB) kullanılncaya kadar 4°C'de saklandı.

3.2.3. Antibiyotik Stoklarının Hazırlanması

Çalışmada kullanılan antibiyotik stokları; gentamisin (Sigma-Aldrich) 8192 µg/ml, vankomisin (Sigma-Aldrich) 4096 µg/ml konsantrasyonlarında olacak şekilde

steril su ile çözülerek hazırlandı. Tamamen çözündüğünden emin olunan antibiyotik solüsyonları 0,22 µm'lik filtreden geçirildi ve steril mikrosantrofüj tüplerine dağıtılarak çalışılncaya kadar -20°C'de saklandı. Çalışmaya başlamadan önce antibiyotikler oda sıcaklığında eritilerek kullanıldı.

3.2.4. Resazurin Stoğunun Hazırlanması

Resazurin (Sigma-Aldrich) distile suda çözülerek %0,02 konsantrasyon olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan resazurin solüsyonu 0,22 µm'lik filtreden geçirilerek steril edildi ve kullanılncaya kadar 4°C'de saklandı.

3.2.5. Mikroplakların Hazırlanması

Mikrodilüsyon yöntemini uygulayabilmek için steril 96 kuyucuklu U tabanlı plaklar kullanıldı. Vankomisin MİK değerlerinin tespit edilebilmesi için mikrodilüsyon plakları şu şekilde hazırlandı: Tüm kuyucuklara 100 µl KAMHB (HiMedia, Hindistan) eklendi. Daha önce hazırlanmış olan stok vankomisin 1-10. satırlara 64-0.125 µg/ml final konsantrasyonları olacak şekilde dağıtıldı. 11. kuyucuk üreme kontrol, 12. kuyucuklar ise negatif kontrol olarak kullanıldı. Yüksek düzey gentamisin MİK değerlerinin tespit edilebilmesi için mikrodilüsyon plakları şu şekilde hazırlandı: Tüm kuyucuklara 100 µl KAMHB (HiMedia, Hindistan) eklendi. Daha önce hazırlanmış olan stok gentamisin A-G sütunlarına 512-8 µg/ml final konsantrasyonları olacak şekilde dağıtıldı. Her izolat için H kuyucuğu üreme kontrol olarak kullanıldı.

Her iki antibiyotik için de ayrı plaklarda hazırlandı ve çalışılncaya kadar -20°C de saklandı (Aktaş, 2013).

3.2.6. Mikroorganizmaların inokülasyonu

Mikrodilüsyon çalışılacak izolatlar kanlı agar besiyerinde taze olarak üretildi ve saf olduğundan emin olunduktan sonra 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlandı. Bu süspansiyon KAMHB kullanarak 1/10 oranında dilüe edildi ve negatif kontrol hariç tüm kuyulara 5 µl dağıtıldı. İnokülüm işlemi tamamlanan plaklar 37°C'de bir gün inkübe edildikten sonra üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon, MİK değeri olarak değerlendirildi (Dündar, 2013).

Çalışmaya dahil edilen her mikroorganizma için her iki antibiyotik çalışıldı ve sonuçlar European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)'a göre değerlendirildi ve kaydedildi (EUCAST, 2021).

3.2.7. Resazurin Mikroplak Yöntemi

Resazurin mikroplak yöntemi için kullanılacak plaklar mikrodilüsyon yöntemi ile aynı şekilde hazırlandı. Mikrodilüsyon ve resazurin mikroplak yönteminde aynı inokülüm içerikleri kullanıldı ve aynı ortamda inkübasyona kaldırıldı. Mikrodilüsyon yönteminden farklı olarak resazurin mikroplak yönteminde inkübasyon işleminin beşinci saatinde %0.02'lik 15 µl resazurin damlatıldı ve tekrar inkübe edildi. İnkübasyonun altıncı ve yedinci saatlerinde sonuçlar değerlendirildi. Değerlendirmede kuyucuklardaki renk değişimi (maviden kırmızı/pembeye) gözlemlendi ve üreme kontrol kuyucuğundaki renk değişimi ile karşılaştırılarak not edildi. Üremenin olmadığı son kuyucuk (mavi renkli en düşük antibiyotik konsantrasyonu olan kuyucuk) MİK değeri olarak belirlendi.

3.2.7. İstatistiksel Yöntem

Sonuçlar ADT (Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri) için ABD FDA kriterlerine göre değerlendirildi. Buna göre temel uyum (TU), kategorik uyum (KU), çok büyük uyumsuzluk (ÇBU), büyük uyumsuzluk (BU), küçük uyumsuzluk (KÜU) oranları aşağıda gösterilen formüller ve tanımlamalar kullanılarak hesaplandı (US FDA. Class II Special Controls Guidance Document, 2009).

TU: Yeni yöntemin MİK'lerinin referans yöntemle ± 1 dilüsyon içindeki uyumudur.

$$TU = \frac{\text{MİK'in } \pm 1 \text{ dilüsyon içinde uyumlu olanlar}}{\text{Test edilen toplam organizma sayısı}} \times 100$$

KU: Yeni yöntem ve referans yöntem arasında duyarlı, orta duyarlı, dirençli kategorik sonuçları arasında uyum olmasıdır.

$$KU = \frac{\text{Referans yöntemle kategorik uyumlu olanlar}}{\text{Test edilen toplam organizma sayısı}} \times 100$$

ÇBU: Referans yöntemle kategorik olarak dirençli iken yeni yöntemle duyarlı bulunmasıdır.

$$\text{ÇBU} = \frac{\text{Kategorik uyuma bağlı çok büyük uyumsuzluklar}}{\text{Standart yöntemle dirençli bulunan organizma sayısı}} \times 100$$

BU: Referans yöntemle kategorik sonuç duyarlı, yeni yöntemle dirençli sonuç vermesidir.

$$BU = \frac{\text{Kategorik uyuma bağı büyük uyumsuzluklar}}{\text{Referans yöntemle duyarlı bulunan organizma sayısı}} \times 100$$

KÜU: Referans yöntemle kategorik olarak dirençli veya duyarlı, yeni yöntemle orta duyarlı ya da tam tersi sonuç vermesidir.

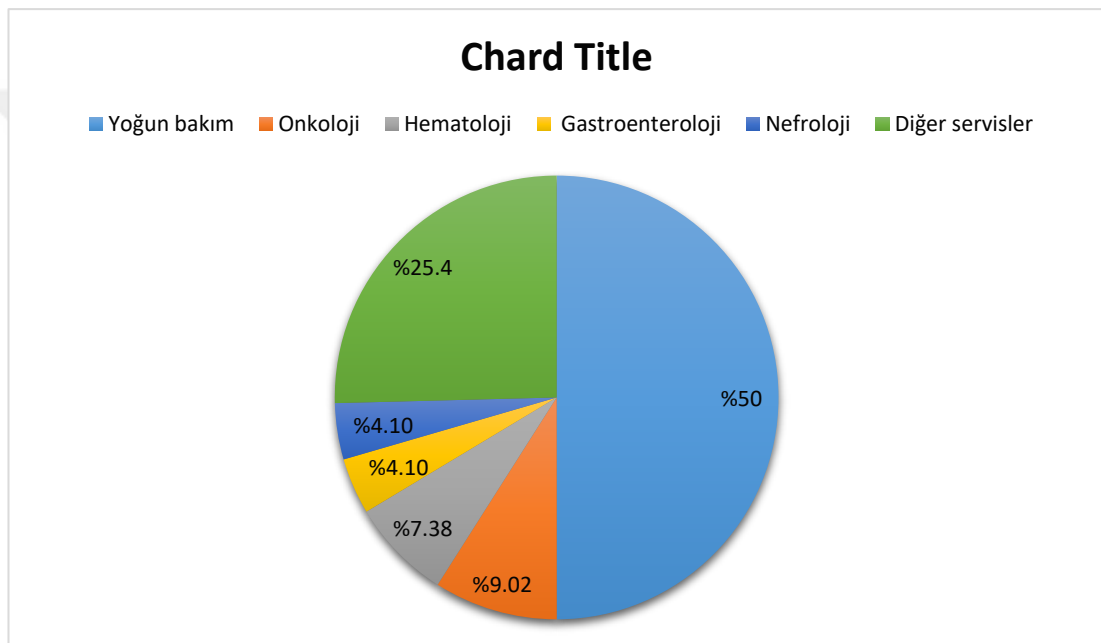
$$KÜU = \frac{\text{Kategorik uyuma bağı küçük uyumsuzluklar}}{\text{Test edilen organizma sayısı}} \times 100$$

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. İzolatlar

Çalışmamızda dahil edilen 122 *E. faecium*'un izole edildiği kan örneklerinin gönderildiği servislerin dağılımı; yoğun bakım %50 (n=61), onkoloji %9.02 (n=11), hematoloji %7.38 (n=9), gastroenteroloji %4.1 (n=5), nefroloji %4.1 (n=5) ve diğerler servisler %25.4 (n=31) şeklinde sıralanmaktadır. İzolatların gönderildiği servislerin dağılımı Şekil 4.1'de verilmektedir.



Şekil 4.1. Çalışmaya dahil edilen izolatların servislere göre dağılım grafiği diğer servisler; Çocuk Genel Servis % 4.1 (n=5), Genel Cerrahi % 4.1 (n=5), Göğüs Hastalıkları % 4.1 (n=5), Acil ve İlk yardım % 3.28 (n=4), Enfeksiyon Hastalıkları % 3.28 (n=4), Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Servis % 3.28 (n=4), Beyin Cerrahi % 1.64 (n=2), İç Hastalıkları % 0.82 (n=1), Kardiyoloji % 0.82 (n=1).

4.1.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntem ve Resazurin Mikroplak Yöntem Sonuçlarının Değerlendirilmesi

4.1.3. Vankomisin Sonuçları

Çalışmamıza dahil edilen tüm izolatların vankomisin mikroplak, resazurin mikroplak altıncı saat MİK sonuçları değerlendirilebilmiştir. İzolatlardan 121 tanesinin resazurin yedinci saat MİK sonuçları değerlendirilebilmiş ancak bir izolatın sonucu değerlendirilememiştir. Tüm izolatların vankomisin mikroplak, resazurin

mikroplak 6. ve 7. saat MİK sonuçları ve duyarlılık durumları Tablo 4.1’de toplu olarak verilmiştir.

Tablo 4.1. İzolatların vankomisin mikroplak, resazurin mikroplak 6. ve 7. saat MİK sonuçları ve duyarlılık durumları

İzolatlar	Referans MİK	6. Saat Resazurin MİK	7. Saat Resazurin MİK
1.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
2.	1 / S	0.5 / S	1 / S
3.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
4.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
5.	1 / S	1 / S	1 / S
6.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
7.	1 / S	≤0.125 / S	1 / S
8.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
9.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
10.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
11.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
12.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
13.	>64 / R	>64 / R	>64 / R
14.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
15.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
16.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
17.	>64 / R	>64 / R	>64 / R
18.	0.5 / S	0.25 / S	0.25 / S
19.	>64 / R	>64 / R	>64 / R
20.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
21.	64 / R	64 / R	64 / R
22.	0.5 / S	0.5 / S	1 / S
23.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
24.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
25.	>64 / R	>64 / R	>64 / R
26.	0.5 / S	0.25 / S	0.5 / S
27.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
28.	1 / S	0.5 / S	1 / S
29.	1 / S	0.5 / S	1 / S
30.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
31.	0.25 / S	0.5 / S	0.5 / S

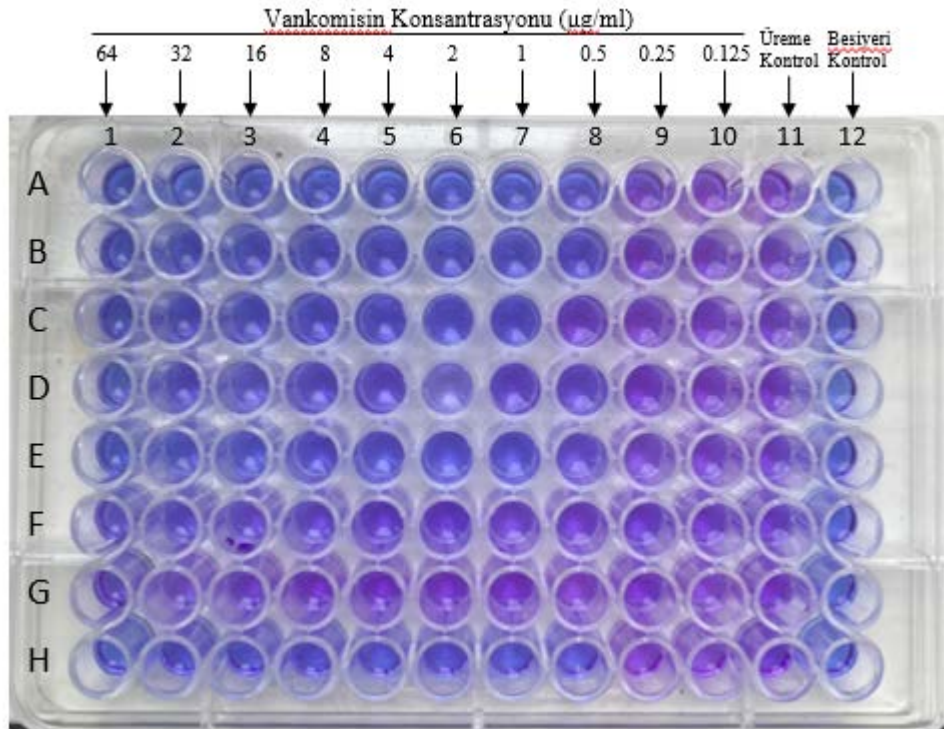
32.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
33.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
34.	>64 / R	64 / R	64 / R
35.	2 / S	1 / S	1 / S
36.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
37.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
38.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
39.	1 / S	1 / S	1 / S
40.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
41.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
42.	1 / S	0.5 / S	1 / S
43.	4 / S	1 / S	1 / S
44.	32 / R	0.5 / S	Değerlendirilemedi
45.	1 / S	1 / S	1 / S
46.	>64 / R	>64 / R	>64 / R
47.	>64 / R	>64 / R	>64 / R
48.	>64 / R	>64 / R	>64 / R
49.	64 / R	64 / R	>64 / R
50.	>64 / R	64 / R	>64 / R
51.	>64 / R	64 / R	>64 / R
52.	>64 / R	64 / R	64 / R
53.	>64 / R	64 / R	64 / R
54.	64 / R	64 / R	>64 / R
55.	16 / R	8 / R	8 / R
56.	>64 / R	>64 / R	>64 / R
57.	>64 / R	>64 / R	>64 / R
58.	64 / R	16 / R	16 / R
59.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
60.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
61.	0.25 / S	0.5 / S	0.5 / S
62.	1 / S	1 / S	1 / S
63.	2 / S	0.5 / S	2 / S
64.	0.5 / S	1 / S	1 / S
65.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
66.	0.5 / S	1 / S	1 / S
67.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
68.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
69.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
70.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S

71.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
72.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
73.	1 / S	0.5 / S	1 / S
74.	1 / S	0.5 / S	1 / S
75.	1 / S	0.5 / S	1 / S
76.	1 / S	0.5 / S	1 / S
77.	1 / S	0.5 / S	1 / S
78.	1 / S	0.5 / S	1 / S
79.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
80.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
81.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
82.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
83.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
84.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
85.	4 / S	2 / S	4 / S
86.	4 / S	4 / S	4 / S
87.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
88.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
89.	1 / S	1 / S	1 / S
90.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
91.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
92.	1 / S	0.5 / S	1 / S
93.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
94.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
95.	64 / R	>64 / R	>64 / R
96.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
97.	1 / S	1 / S	1 / S
98.	2 / S	1 / S	1 / S
99.	0.5 / S	0.25 / S	0.25 / S
100.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
101.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
102.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
103.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
104.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
105.	0.5 / S	1 / S	1 / S
106.	64 / R	>64 / R	>64 / R
107.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
108.	1 / S	1 / S	1 / S
109.	1 / S	0.5 / S	1 / S

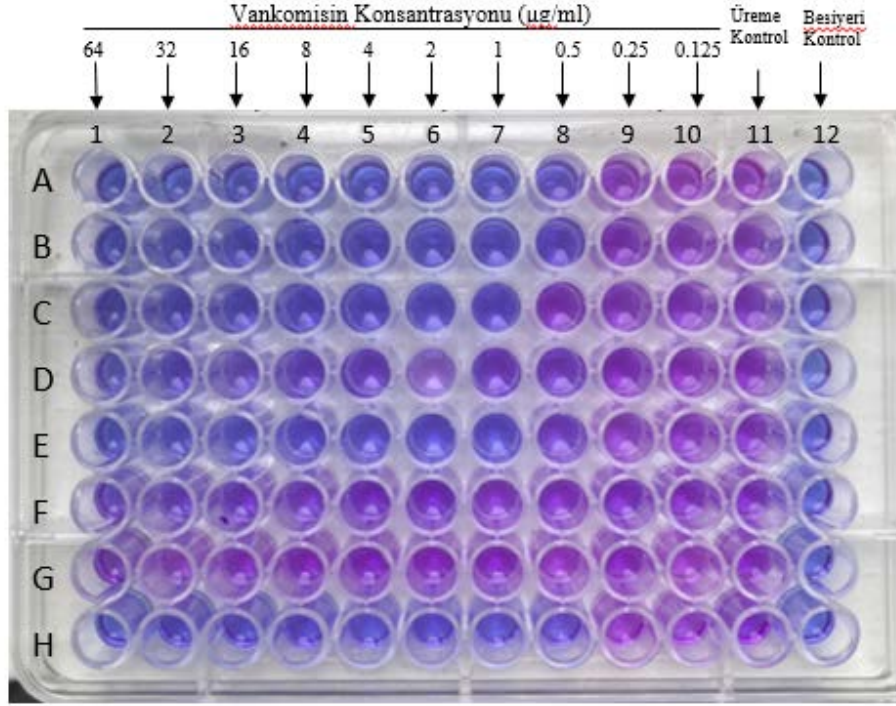
110.	2 / S	2 / S	2 / S
111.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
112.	0.5 / S	0.5 / S	1 / S
113.	2 / S	0.5 / S	0.5 / S
114.	0.25 / S	0.25 / S	0.25 / S
115.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
116.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
117.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
118.	0.5 / S	0.5 / S	0.5 / S
119.	0.5 / S	2 / S	1 / S
120.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
121.	1 / S	0.5 / S	0.5 / S
122.	0.25 / S	0.5 / S	0.5 / S

S: Duyarlı, R: Dirençli, I: Orta duyarlı

Vankomisin için resazurin mikropak yöntemi ile çalışılan örnek plağın altıncı ve yedinci saat görüntüleri Şekil 4.2 ve 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Vankomisin; altıncı saat resazurin MİK değeri



Şekil 4.3. Vankomisin; yedinci saat resazurin MİK değeri

4.1.4. Yüksek Düzey Gentamisin Sonuçları

Çalışmamıza dahil edilen tüm izolatların yüksek düzey gentamisin mikropalak MİK sonuçları değerlendirilebilmiştir. İzolatlardan 112 tanesinin resazurin altıncı saat MİK sonuçları değerlendirilebilmiş ancak 10 izolatın sonucu değerlendirilememiştir. İzolatlardan 120 tanesinin resazurin yedinci saat MİK sonuçları değerlendirilebilmiş ancak iki izolatın sonucu değerlendirilememiştir. Tüm izolatların yüksek düzey gentamisin mikropalak, resazurin mikropalak 6. ve 7. saat MİK sonuçları ve duyarlılık durumları Tablo 4.2’de toplu olarak verilmiştir.

Tablo 4.2. İzolatların yüksek düzey gentamisin mikropalak, resazurin mikropalak 6. ve 7. saat MİK sonuçları ve duyarlılık durumları

İzolatlar	Referans MİK	6. saat Resazurin MİK	7. saat Resazurin MİK
1.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
2.	>512 / R	Değerlendirilemedi	256 / R
3.	>512 / R	Değerlendirilemedi	256 / R
4.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
5.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
6.	>512 / R	Değerlendirilemedi	256 / R
7.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S

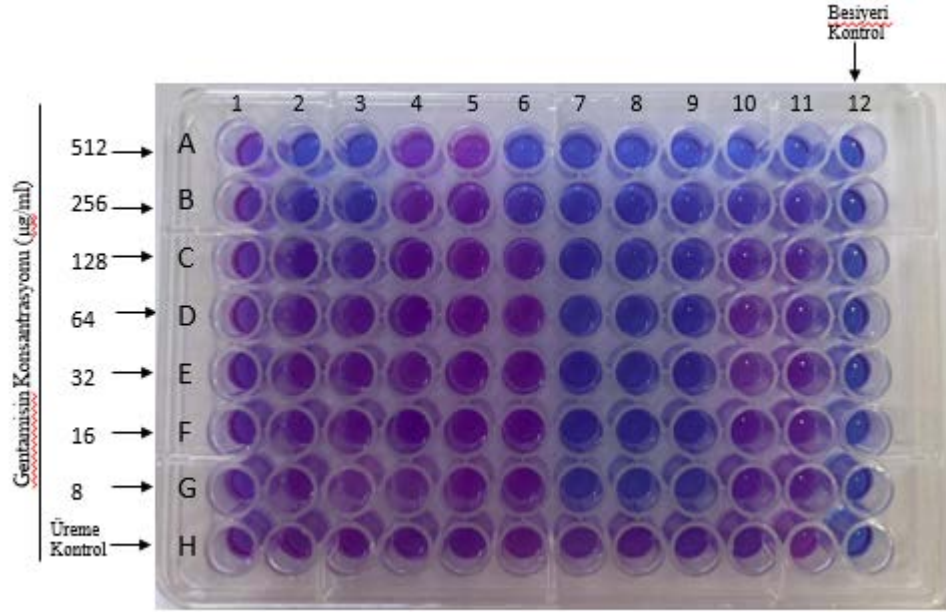
8.	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$
9.	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$
10.	$> 512 / R$	Değerlendirilemedi	256 / R
11.	$> 512 / R$	256 / R	512 / R
12.	$> 512 / R$	128 / S	256 / R
13.	$> 512 / R$	Değerlendirilemedi	256 / R
14.	$> 512 / R$	$> 512 / R$	$> 512 / R$
15.	$> 512 / R$	Değerlendirilemedi	256 / R
16.	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$
17.	$> 512 / R$	Değerlendirilemedi	512 / R
18.	512 / R	$\leq 8 / S$	128 / S
19.	$> 512 / R$	$> 512 / R$	$> 512 / R$
20.	256 / R	Değerlendirilemedi	256 / R
21.	$> 512 / R$	512 / R	512 / R
22.	$> 512 / R$	128 / S	128 / S
23.	$> 512 / R$	256 / R	512 / R
24.	$> 512 / R$	128 / S	128 / S
25.	$> 512 / R$	$\leq 8 / S$	512 / R
26.	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$
27.	$> 512 / R$	128 / S	128 / S
28.	$> 512 / R$	512 / R	512 / R
29.	64 / S	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$
30.	$> 512 / R$	512 / R	512 / R
31.	$> 512 / R$	512 / R	512 / R
32.	$> 512 / R$	$> 512 / R$	$> 512 / R$
33.	$> 512 / R$	256 / R	256 / R
34.	$> 512 / R$	$> 512 / R$	$> 512 / R$
35.	16 / S	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$
36.	$> 512 / R$	$> 512 / R$	512 / R
37.	$> 512 / R$	$> 512 / R$	$> 512 / R$
38.	16 / S	16 / S	16 / S
39.	$> 512 / R$	512 / R	512 / R
40.	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$
41.	$> 512 / R$	512 / R	512 / R
42.	$> 512 / R$	512 / R	512 / R
43.	16 / S	16 / S	16 / S
44.	$> 512 / R$	$> 512 / R$	$> 512 / R$
45.	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$	$\leq 8 / S$
46.	$> 512 / R$	256 / R	512 / R

47.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
48.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
49.	>512 / R	Değerlendirilemedi	Değerlendirilemedi
50.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
51.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
52.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
53.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
54.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
55.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
56.	>512 / R	512 / R	512 / R
57.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
58.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
59.	512 / R	>512 / R	512 / R
60.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
61.	>512 / R	512 / R	512 / R
62.	>512 / R	512 / R	512 / R
63.	16 / S	≤8 / S	≤8 / S
64.	>512 / R	512 / R	512 / R
65.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
66.	>512 / R	512 / R	512 / R
67.	>512 / R	512 / R	512 / R
68.	>512 / R	512 / R	512 / R
69.	>512 / R	512 / R	512 / R
70.	>512 / R	512 / R	512 / R
71.	>512 / R	512 / R	512 / R
72.	>512 / R	512 / R	512 / R
73.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
74.	>512 / R	512 / R	512 / R
75.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
76.	>512 / R	256 / R	256 / R
77.	16 / S	≤8 / S	≤8 / S
78.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
79.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
80.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
81.	16 / S	≤8 / S	≤8 / S
82.	16 / S	≤8 / S	≤8 / S
83.	>512 / R	>512 / R	512 / R
84.	>512 / R	>512 / R	512 / R
85.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S

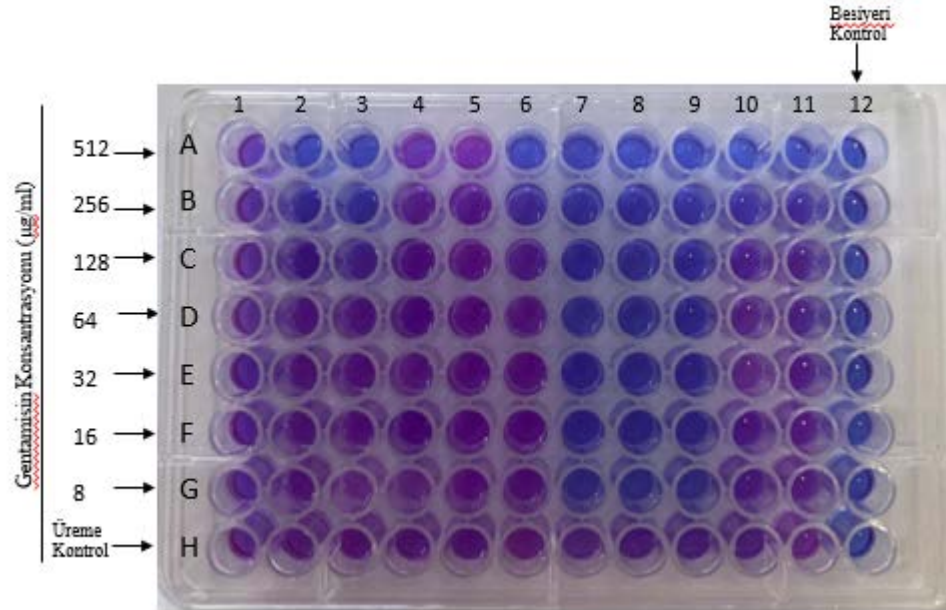
86.	16 / S	16 / S	16 / S
87.	>512 / R	256 / R	512 / R
88.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
89.	>512 / R	512 / R	512 / R
90.	16 / S	≤8 / S	≤8 / S
91.	512 / R	512 / R	512 / R
92.	>512 / R	512 / R	512 / R
93.	>512 / R	256 / R	512 / R
94.	>512 / R	512 / R	512 / R
95.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
96.	16 / S	≤8 / S	≤8 / S
97.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
98.	16 / S	16 / S	16 / S
99.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
100.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
101.	>512 / R	256 / R	512 / R
102.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
103.	512 / R	512 / R	512 / R
104.	≤8 / S	16 / S	16 / S
105.	>512 / R	512 / R	512 / R
106.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
107.	>512 / R	128 / S	256 / R
108.	>512 / R	512 / R	512 / R
109.	>512 / R	256 / R	256 / R
110.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
111.	>512 / R	256 / R	256 / R
112.	>512 / R	512 / R	512 / R
113.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
114.	≤8 / S	Değerlendirilemedi	Değerlendirilemedi
115.	16 / S	16 / S	16 / S
116.	64 / S	≤8 / S	≤8 / S
117.	>512 / R	>512 / R	>512 / R
118.	16 / S	≤8 / S	≤8 / S
119.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
120.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S
121.	16 / S	≤8 / S	≤8 / S
122.	≤8 / S	≤8 / S	≤8 / S

S: Duyarlı, R: Dirençli, I: Orta duyarlı

Yüksek düzey gentamisin için resazurin mikroplak yöntemi ile çalışılan örnek plağın altıncı ve yedinci saat görüntüleri Şekil 4.4 ve 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.4. Gentamisin; altıncı saat resazurin MİK değeri



Şekil 4.5. Gentamisin; yedinci saat resazurin MİK değeri

Çalışmaya dahil edilen izolatların resazurin mikropalak yönteminin altıncı ve yedinci saat sonuçları ile standart mikrodilüsyon yönteminin bir gecelik inkübasyon sonunda tespit edilen sonuçları değerlendirildiğinde vankomisin için altıncı ve yedinci saat KU oranı %99.1 olarak, yüksek düzey gentamisin için altıncı saat ve yedinci saat KU oranı sırasıyla %86.0 ve %95.0 olarak tespit edilmiştir. Vankomisin için altıncı ve yedinci saat TU oranı sırasıyla %94.2 ve %96.7 olarak, yüksek düzey gentamisin için altıncı saat ve yedinci saat TU oranı sırasıyla %76.2 ve %83.6 olarak tespit edilmiştir. Vankomisin için altıncı ve yedinci saat ÇBU oranı %4.5 olarak, yüksek düzey gentamisin için altıncı ve yedinci saat ÇBU oranı sırasıyla %20.5 ve %7.2 olarak tespit edilmiştir. Yüksek düzey gentamisin için altıncı ve yedinci saat BU oranı %2.5 olarak tespit edilmiştir. Vankomisin ve yüksek düzey gentamisin altıncı ve yedinci saatleri için BU ve KÜU oranı tespit edilmemiştir. Resazurin mikropalak ve standart yöntemden elde edilen MİK sonuçlarının altıncı ve yedinci saatlerdeki uyum dağılımı Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo. 4.3. Tüm izolatların hata ve uyum oranları

		Hata Oranı (%)			Uyum Oranı (%)	
		KÜU	BU	ÇBU	KU	TU
Vankomisin	6. saat n (%)	-	-	1 %4.5	121 %99.1	115 %94.2
	7. saat n (%)	-	-	1 %4.5	121 %99.1	118 %96.7
Yüksek Düzy Gentamisin	6. saat n (%)	-	1 %2.5	17 %20.5	105 %86.0	93 %76.2
	7. saat n (%)	-	1 %2.5	6 %7.2	116 %95.0	102 %83.6

KÜU: Küçük uyumsuzluk, BU: Büyük uyumsuzluk, ÇBU: Çok büyük uyumsuzluk, KU: Kategorik uyum, TU: Temel uyum

Vankomisin için 6. saat sonuçlarında 115 (%94.2) izolat temel uyum gösterirken, 1 (%0.82) izolat iki dilüsyon yüksek, 4 (%3.28) izolat iki dilüsyon düşük, 1 (%0.82) izolat üç dilüsyon düşük, 1 (%0.82) izolat dört veya daha fazla dilüsyon düşük olarak tespit edilmiştir. Vankomisin için 7. saat sonuçlarında 118 (%96.7) izolat temel uyum gösterirken, 3 (%2.48) izolat iki dilüsyon düşük olarak tespit edilmiştir. Resazurin mikropalak ve mikrodilüsyon yöntemden elde edilen MİK sonuçlarının

uyum oranı Tablo 4.4’de toplu olarak verilmektedir.

Yüksek düzey gentamisin için 6. saat sonuçlarında 93 (%76.2) izolat temel uyum gösterirken, 10 (%8.93) izolat iki dilüsyon düşük, 7 (%6.25) izolat üç dilüsyon düşük, 2 (%1.78) izolat dört veya daha fazla dilüsyon düşük olarak tespit edilmiştir. Yüksek düzey gentamisin için 7. saat sonuçlarında 102 (%83.6) izolat temel uyum gösterirken, 13 (%10.83) izolat iki dilüsyon düşük, 5 (%4.17) izolat üç dilüsyon düşük olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.4. Resazurin mikropalak ve standart yöntemden elde edilen MİK sonuçlarının uyum dağılımı.

		≥-4	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	≥+4
Vankomisin	6. saat n (%)	1 %0.82	1 %0.82	4 %3.28	58 %47.54	49 %40.16	8 %6.56	1 %0.82	-	-
	7. saat n (%)	-	-	3 %2.48	42 %34.71	63 %52.07	13 %10.74	-	-	-
Yüksek Düzey Gentamisin	6. saat n (%)	2 %1.78	7 %6.25	10 %8.93	34 %30.36	57 %50.9	2 %1.78	-	-	-
	7. saat n (%)	-	5 %4.17	13 %10.83	45 %37.5	56 %46.67	1 %0.83	-	-	-

4.2. Tartışma

Toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlar oluşturan mikroorganizmalar arasında *Enterococcus* türlerine sıklıkla rastlanmaktadır. Gastrointestinal sistemde bulunan *E. faecium*, özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları ve endokardit gibi birçok hastalığa neden olabilen fırsatçı patojen bir türdür (Byappanahalli et al., 2012; Van Hal et al., 2021).

Nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkan enterokokların birden fazla antimikrobiyale karşı göstermiş olduğu direnç ülkemizde de büyük bir sorun oluşturmaktadır. Enterokokların antibiyotiğe karşı doğal direnç göstermeleri ile birlikte bu direnci aktarabildiği de bilinmektedir. Bu sebeple klinik örneklerden izole olunmuş enterokok suşlarının neden olduğu enfeksiyonlara uygun tedavinin seçilmesi

açısından antibiyotik duyarlılığının saptanması büyük önem taşıtmaktadır (Aguş vd., 2006; ınar vd., 1999).

Enterococcus ailesinden sıklıkla *E. faecium* ve *E. faecalis* vankomisine direnç göstererek enfeksiyonlara neden olmaktadır (Ardıç vd., 2013). Uygunsuz antibiyotik kullanımı sonucu VRE kolonizasyonu giderek artma potansiyeli göstermektedir (Aguş vd., 2006).

E. faecium dünyada VRE izolatları arasından baskın tür olduğu bilinmektedir. 2016 yılında *E. faecium* izolatlarının vankomisin direnci %11.6 oranındayken, 2020 yılında %16.8 olarak belirgin artış göstermiştir. Türkiyede ise bu oranın 2016 yılında %14.6 iken, 2020’de %15.4 olduğu bildirilmiştir (Gümüş, 2023).

Son yıllarda VRE suşların sayısı giderek artmaktadır. Kanada’da 2007-2011 yılları arasında yapılan çalışmalarda VRE etkenli enfeksiyon oranı %6 olarak bulunmuştur. Bu oran Fransa, İspanya ve İsveç’te %1’in altında iken, Yunanistan, İrlanda, Portekiz ve Birleşik Krallık’ta %20’nin üzerindedir (Tarakçı vd., 2020; Karahocagil vd., 2011; Zhanel et al., 2013). Ayrıca direnç genlerini diğer Gram pozitif mikroorganizmalara da aktarılabil-diğinden vankomisinin bilinçli bir şekilde kullanımı gerektiği bildirilmektedir (Tarakçı vd., 2020).

Enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin sayısı zaman içinde artmaktadır. Öte yandan; bu antibiyotiklerin kullanımında etkili sonuç almak amacıyla, mikroorganizmalar üzerinde antibiyotiklerin etkilerini in-vitro ortamda belirlemek rutin haline gelmiştir. İnsan sağlığı için büyük bir tehdit oluşturan antimikrobiyal direncin belirlenmesinde çeşitli ADT’ler kullanılmaktadır. ADT, mikroorganizmaların dirençli veya duyarlı fenotiplerini belirlemek için kullanılan yöntemlerdir. Kullanılan in-vitro yöntemler antibiyotiklerin etkisini ve MİK değerlerini belirleyebilmektedir. Sonuç olarak güvenilir ve hızlı sonuç verebilen yöntemler tercih edilmektedir (Abbasoğlu, 1996; Datar et al., 2022).

İdelevich ve Becker çalışmalarında, uygun tedavinin en kısa sürede uygulanması açısından, ADT sonuçlarının önemli olduğunu belirtmişlerdir. Bu amaçla fenotipik ve kolorimetrik yöntemlerin etkili olabileceğini vurgulamışlardır (İdelevich and Becker, 2019).

Enfeksiyöz bir patojenin antimikrobiyal duyarlılığının belirlenmesi amacıyla broth mikrodilüsyon (BMD), agar dilüsyon ve disk difüzyon gibi ADT testleri uygulanabilmektedir (Chen and Hong, 2021). Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında altın standart olarak kabul edilen ve kantitatif sonuç verebilen BMD yöntemi ile tüm

yeni ADT yöntemleri uyumluluk göstermelidir (Datar et al., 2022).

Maliyet ve zaman bakımından avantaj sağlayarak, hızlı ve güvenilir sonuçlar elde edilmesinin mikrobiyoloji laboratuvarlarındaki önemi birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Barenfanger et al., 1999; Barenfanger et al., 2001; Doern et al., 1994). Bu amaçla bakteri izolatlarının tanımlanması (ID) ve ADT için hızlı sonuç verebilen ticari fenotipik yöntemler kullanılmaktadır (Eigner et al., 2005).

Günümüzde kantitatif olarak hücre canlılığının belirlenmesinde kullanılan yöntemler bulunmaktadır. En sık kullanılan kolorimetrik yöntemlerden biri AlamarBlue testidir. AlamarBlue yönteminde mavi indikatör olarak kullanılan resazurin, bakterinin canlılığını izleme potansiyeline sahip bir floresan boyadır. Bu yöntem aynı zamanda resazurin redüksiyon yöntemi olarak da bilinmektedir (Avesar et al., 2017; Erkekoğlu ve Baydar 2021).

Humphries ve arkadaşları, tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında altın standart olarak kullanılan sıvı mikrodilüsyon referans yönteminin ticari antimikrobiyal duyarlılık test sonuçlarını karşılaştırmak amacıyla kullanılması gerektiğini belirtmiştir (Humphries et al., 2018).

Tiballi ve arkadaşları, *Candida albicans* izolatlarının flukonazol duyarlılıklarını test etmek için referans sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle, alamar ayırıcı ile modifiye edilen makrodilüsyon ve mikrodilüsyon yöntemi sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Sonuçlar değerlendirildiğinde alamar ayırıcı ile modifiye edilen makrodilüsyon yöntemiyle sıvı mikrodilüsyon yöntemi %94 uyumlu, alamar ayırıcı ile modifiye edilen mikrodilüsyon yöntemi %95 uyumlu olduğu tespit edilmiştir (Tiballi, 1995).

Kansak ve arkadaşları, çalışmalarında *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin duyarlılığının hızlı tespitinde iki ticari sistemin sonuçlarını ve referans sıvı mikrodilüsyon yöntemini karşılaştırmışlardır. Sensititre ve Micronaut kitleri ile referans yöntemin TU ve KU oranlarını sırasıyla %74-76 ve %97-100 olarak tespit etmişler (Kansak, 2020).

Pfennigwerth ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direncinin hızlı tespitinde altı farklı yöntem kullanmışlardır. Micronaut-S ve Sensititre kitleri için TU ve KU oranları sırasıyla %82.8-91.3 ve %94.2-98.5 olarak bulunmuştur. Çalışmada Micronaut-S kiti ile bir izolatta BU, iki izolatta ÇBU; Sensititre kiti ile 10 izolatta BU, iki izolatta ise ÇBU saptanmışlar (Pfennigwerth et al., 2019).

Gün ve arkadaşları, yaptığı çalışmada 110 klinik *E. coli* izolatlarının antibiyotik

duyarlılıklarını mikrodilüsyon ve resazurin mikropalak yöntemi ile çalışarak sonuçları karşılaştırmışlardır. Sekiz farklı antibiyotiğin kullanıldığı çalışmada tüm antibiyotikleri için TU ve KU oranlarının sırasıyla %82.72-100 ve %95.45-100 arasında değiştiğini tespit etmiştir (Gün, 2021).

Matuschek ve arkadaşları, çalışmalarında yedi farklı yöntemle *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direncini araştırmışlar. Sonuç olarak hem Sensititre hem de Micronaut kiti için TU ve KU oranlarını >%90 olarak tespit etmiştir (Matuschek et al., 2018).

Lescat ve arkadaşları, çalışmalarında *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarındaki polimiksin direncini Hızlı ResaPolymyxin *Acinetobacter* / *Pseudomonas* NP yöntemi kullanarak değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçları sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak Hızlı ResaPolymyxin *Acinetobacter* / *Pseudomonas* NP yönteminin referans sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %100 ve %95 olarak tespit edilmiştir (Lescat et al., 2019).

Jayol ve arkadaşları, çalışmalarında gram negatif basillerin kolistine karşı gösterdikleri direnç ve duyarlılık sonuçlarını üç farklı yöntem kullanarak değerlendirmişlerdir. Sonuçlar değerlendirildiğinde Sensititre sisteminin KÜU oranı %97.8 olarak tespit edilirken, %3 ÇBU oranı saptanarak BU saptanmamıştır (Jayol et al., 2018).

Beşli ve arkadaşları, çalışmalarında *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarında kolistin duyarlılığının belirlenmesinde ResaPolymyxin NP testinin etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonuçlarını referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak ResaPolymyxin NP testinde KÜU ve BU oranları *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatları için sırasıyla %85.7; %92.3 ve %14.7; %10.8 oranında olduğu görülürken, ÇBU oranının *K. pneumoniae* için %1.8 olduğu tespit etmişlerdir (Beşli vd., 2022).

Jia ve arkadaşları, çalışmalarında Gram negatif bakterilerde kolistin duyarlılığını Rapid ResaPolymyxin NP testi kullanarak değerlendirmişlerdir. Sonuçları sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak Rapid ResaPolymyxin *Acinetobacter* / *Pseudomonas* NP testinin sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %100 ve %99 olarak tespit edilmiştir (Jia et al., 2020).

Germ ve arkadaşları, çalışmalarında, hızlı Alifax testi ile hızlı Polimiksin NP

testi kullanarak Enterobakterlerde kolistin direncinin tespit etmişlerdir. Her iki test ile elde edilmiş sonuçları referans sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Alifax testi için genel KU %81.5 oranında bulunurken, Rapid Polimiksin NP testi için %98.3 oranında tespit edilmiştir (Germ et al., 2021).

Baker ve Tenover, çalışmalarında klinik *Enterococcus* ve *Stafilococcus* izolatlarında yirmi farklı antibiyotik duyarlılığı test etmek için resazurin mikrodilüsyon yöntemiyle referans sıvı mikrodilüsyon yöntemini karşılaştırmışlardır. Sonuçlar değerlendirildiğinde tüm izolatlar için TU oranının >%99 olduğunu tespit etmişlerdir. *Enterococcus* izolatları için ÇBU görülmediği halde, BU ve KÜU oranları tespit edilmiştir. *Stafilococcus* izolatları için ise hem ÇBU hem de BU ve KÜU oranları tespit edilmiştir. Referans yöntemi ile test yöntemi arasındaki mutlak kategorik uyum enterokoklar için %91.5 oksasiline duyarlı stafilokoklar için %99.8 ve oksasiline dirençli stafilokoklar için %97.4 olarak bulmuşlardır (Baker and Tenover, 1996).

Bardet ve arkadaşları, tarafından yapılan çalışmada sonuçlar karşılaştırıldığında, Sensititre kitinin TU oranı %96, KU oranı ise %94.7 olarak bulunmuş; %10.2 oranında BU saptanırken, ÇBU saptanmamıştır. Aynı çalışmada Micronaut testinin TU ve KU oranları sırasıyla %99 ve %90.7 olarak bulunurken, BU (%12.8) ve ÇBU (%5.6) kabul edilebilir değerin üzerinde saptanmıştır (Bardet and Rolain, 2018).

Çoban ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada *Enterococcus* izolatlarında vankomisin duyarlılıklarının hızlı belirlenebilmesi için Resazurin Microplate Method'u sonuçlarını sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonunda KU ve TU %100 olduğunu, KÜU, BU ve ÇBU oranlarının %0 olduğunu bildirmişlerdir (Çoban vd., 2005).

Zabransky ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada 100 klinik *Enterococcus* izolatlarında vankomisin direncinin tespit etmek için Resazurin mikropak yöntemini kullanmışlardır. Araştırmacılar sonuçların agar dilüsyon yöntemiyle karşılaştırmışlardır. Sonuçlar değerlendirildiği zaman 88 izolattan 47'si her iki yöntemle duyarlı, 41'i her iki yöntemle dirençli bulunmuştur. Ancak izolatlardan üçünün resazurin mikropak sonuçları duyarlı bulunurken, agar dilüsyon sonuçları dirençli bulunmuştur. Alamar MİK sonuçları için değerler %94 duyarlı ve %88 orta ve dirençli olarak tespit edilmiştir (Zabransky et al., 1995).

Çalışmaya dahil edilen izolatların resazurin mikropak yöntemi sonuçları ile mikrodilüsyon yönteminin bir gecelik inkübasyon sonunda tespit edilen sonuçları

değerlendirildiğinde; vankomisin için altıncı ve yedinci saat KU oranı %99.1 olarak, yüksek düzey gentamisin için altıncı saat ve yedinci saat KU oranı sırasıyla %86.0 ve %95 olarak tespit edilmiştir. Vankomisin için altıncı ve yedinci saat TU oranı sırasıyla %94.2 ve %96.7 olarak, yüksek düzey gentamisin için altıncı saat ve yedinci saat TU oranı sırasıyla %76.2 ve %83.6 olarak tespit edilmiştir. Vankomisin için altıncı ve yedinci saat ÇBU oranı %4.5 olarak, yüksek düzey gentamisin için altıncı ve yedinci saat ÇBU oranı sırasıyla %20.5 ve %7.2 olarak tespit edilmiştir. Yüksek düzey gentamisin için altıncı ve yedinci saat BU oranı %2.5 olarak tespit edilmiştir. Vankomisin ve yüksek düzey gentamisin antibiyotiklerinin altıncı ve yedinci saatleri için BU ve KÜU oranları tespit edilmemiştir.

Buna göre *E. faecium* izolatlarında vankomisin duyarlılığını resazurin mikropalak yöntemi ile standart yöntemle kıyasla erken saatlerde tespit edilebilmesine olanak sağlama potansiyeli olduğu düşünülmektedir. Yüksek düzey gentamisin için özellikle altıncı saat sonuçlarında ÇBU oranını beklenen değerlerden yüksek olduğu görülmektedir. Yedinci saat yapılan değerlendirilmede ÇBU oranının altıncı saate göre daha düşük oranlara indiği görülmekle birlikte, resazurin mikropalak yöntemiyle yüksek düzey gentamisin duyarlılığının tespiti için; yeni inkübasyon süreleri gibi farklı protokollerin denenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Resazurin mikropalak yönteminin; çok sayıda ve farklı izolatların dahil edildiği, farklı antibiyotiklerin kullanıldığı, standart yöntemlerle karşılaştırmalı olarak geniş çaplı tekrar edilebilirliğin değerlendirildiği çalışmalarının yapılmasının yöntemin uygulanabilirliğinin anlaşılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

5. SONUÇ

- 1) Vankomisin; altıncı saat TU ve KU oranları sırasıyla %94.2, %99.1 olarak bulunmuştur.
- 2) Vankomisin; yedinci saat TU ve KU oranları sırasıyla %96.7, %99.1 olarak bulunmuştur.
- 3) Vankomisin; altıncı ve yedinci saat ÇBU oranı %4.5 olarak bulunmuştur.
- 4) Vankomisin; altıncı ve yedinci saat BU ve KÜU oranları tespit edilmemiştir.
- 5) Gentamisin; altıncı saat TU ve KU oranları sırasıyla %76.2, %86.0 olarak bulunmuştur.
- 6) Gentamisin; yedinci saat TU ve KU oranları sırasıyla %83.6, %95.0 olarak bulunmuştur.
- 7) Gentamisin; altıncı ve yedinci saat ÇBU oranı sırasıyla %20.5, %7.2 olarak bulunmuştur.
- 8) Gentamisin; altıncı ve yedinci saat BU %2.5 olarak bulunmuştur.
- 9) Gentamisin; altıncı ve yedinci saat KÜU oranı tespit edilmemiştir.

KAYNAKLAR

- Abbasoglu, U. (1996). Antimikrobiyal aktivite araştırma yöntemleri. *Fabad J. Pharm. Sci*, 22, 111-118.
- Aguş, N., Sarıca, A., Özkalay, N., Cengiz, A. (2006). Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotik Direnci. *Ankem Derg*, 20(3), 145-147.
- Aktaş, E. 'Sıvı mikrodilüsyon MİK plaklarının hazırlanması', *Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El Kitabı*, ed. Başustaoğlu A, Yıldırım Ş.T., Atlas Kitapçılık, 3. bs., Ankara 2013, s: 515.
- Andrewes, F.W., Horder, T. (1906). A study of the streptococci pathogenic for man. *The Lancet*, 168(4334), 775-783.
- Ardıç, N., Kılıç, A., Çivici, N.Y. (2013). Bir Rehabilitasyon Merkezindeki İlk Vankomisin Dirençli Enterococcus Faecium Enfeksiyonu. *Turkish Journal of Physical Medicine and Rehabilitation/Turkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi*, 59(3), 264-267.
- Baker., C. N., and Tenover, F. C. (1996). Evaluation of Alamar colorimetric broth microdilution susceptibility testing method for staphylococci and enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(11), 2654-2659.
- Bardet, L., and Rolain, J. M. (2018). Development of New Tools to Detect Colistin-Resistance among Enterobacteriaceae Strains. *The Canadian journal of infectious diseases & medical microbiology = Journal canadien des maladies infectieuses et de la microbiologie medicale*, 2018, 3095249. <https://doi.org/10.1155/2018/3095249>
- Barenfanger, J., Drake, C., Kacich, G. (1999). Clinical and financial benefits of bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *Journal of clinical microbiology*, 37(5), 1415–1418. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.5.1415-1418.1999>
- Barenfanger, J., Short, M. A., and Groesch, A. A. (2001). Improved antimicrobial interventions have benefits. *Journal of clinical microbiology*, 39(8), 2823–2828. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.8.2823-2828.2001>
- Baylan, I.O. (2019). Enterokok enfeksiyonlarında immünopatogenez ve virülans faktörleri. *Nobel Medicus Journal*, 15(2), 5-16.
- Baylan, O., Nazik, H., Bektöre, B., Çitil, B.E., Turan, D., Öngen, B., Haznedaroğlu, T. (2011). Üriner enterokok izolatlarının antibiyotik direnci ile virülans faktörleri arasındaki ilişki. *Mikrobiyol Bul*, 45(3), 430-45.
- Beganovic, M., Luther, M.K., Rice, L.B., Arias, C.A., Rybak, M.J., LaPlante, K.L. (2018). A Review of Combination Antimicrobial Therapy for Enterococcus faecalis Bloodstream Infections and Infective Endocarditis. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 67(2), 303-309.
- Berктаş, M., Çıkman, A., Parlak, M., Güdücüoğlu, H., Özkaçmaz, A. (2013). An Kültürlerinden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotik Direnci. *Sakarya Tıp Dergisi*, 3(2), 76-79.
- Beşli, Y., Liste, Ü., Kırbaş, E., and Sancak, B. (2022). Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae İzolatlarında Kolistin Duyarlılığının Belirlenmesinde ResaPolymyxin NP Testinin Kullanımı. *Mikrobiyol Bul*, 56(2), 349-356.
- Billström, H., Lund, B., Sullivan, A., Nord, C.E. (2008). Virulence and antimicrobial resistance in clinical Enterococcus faecium. *International journal of antimicrobial agents*, 32(5), 374-377.
- Bleiweis, A.S., Zimmerman, L.N. (1964). Properties of proteinase from Streptococcus faecalis var. liquefaciens. *Journal of bacteriology*, 88(3), 653-659.

- Byappanahalli, M.N., Nevers, M.B., Korajkic, A., Staley, Z.R., Harwood, V.J. (2012). Enterococci in the environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(4), 685-706.
- Chen, C., and Hong, W. (2021). Recent development of rapid antimicrobial susceptibility testing methods through metabolic profiling of bacteria. *Antibiotics*, 10(3), 311.
- Çınar, T., Leblebicioğlu, H., Sünbül, M., Eroğlu, C., Esen, Ş., Günaydın, M. (1999). Enterokoklarda yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direncinin araştırılması. *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 4(2), 114-119.
- Çıragil, P. 'Enterococcus ve Diğer Gram-Pozitif Koklar', *Tıbbi Mikrobiyoloji*, ed. Dürdal, Us., Başustaoğlu A., Pelikan Kitapevi, 7. bs., Ankara 2016, s: 205-208.
- Çoban, A.Y., Darka, O., Fisgin, T.N., Cihan, C.C., Bilgin, K., Akgunes, A., Guven, T., Dokuzoguz, B., Birinci, A., Durupinar, B. (2005). The resazurin microplate method for rapid detection of vancomycin resistance in enterococci. *Journal of chemotherapy (Florence, Italy)*, 17(4), 361-366. <https://doi.org/10.1179/joc.2005.17.4.361>
- Datar, R., Orenge, S., Pogorelnik, R., Rochas, O., Simner, P.J., van Belkum, A.(2022). Recent advances in rapid antimicrobial susceptibility testing. *Clinical chemistry*, 68(1), 91-98.
- Doern, G. V., Vautour, R., Gaudet, M., and Levy, B. (1994). Clinical impact of rapid in vitro susceptibility testing and bacterial identification. *Journal of clinical microbiology*, 32(7), 1757-1762. <https://doi.org/10.1128/jcm.32.7.1757>
- Drusano, G.L., Ambrose, P.G., Bhavnani, S.M., Bertino, J.S., Nafziger, A.N., Louie, A. (2007). Back to the future: using aminoglycosides again and how to dose them optimally. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 45(6), 753-760. <https://doi.org/10.1086/520991>
- Dündar, D. 'Sıvı mikrodilüsyon MİK testi', *Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El Kitabı*, ed. Başustaoğlu A, Yıldırım Ş.T., Atlas Kitapçılık, 3. bs., Ankara 2013, s: 52.
- Eaton, T.J., and Gasson, M.J. (2002). A variant enterococcal surface protein Espfm in *Enterococcus faecium*; distribution among food, commensal, medical, and environmental isolates. *FEMS microbiology letters*, 216(2), 269-275.
- Eigner, U., Schmid, A., Wild, U., Bertsch, D., and Fahr, A. M. (2005). Analysis of the comparative workflow and performance characteristics of the VITEK 2 and Phoenix systems. *Journal of clinical microbiology*, 43(8), 3829-3834.
- Erbek, S., ve Özakin, C. (2002). Enterokok Suşlarında Saptanan Yüksek Düzeyli Aminoglikozid ve Glikopeptid Direnci. *Hastane Enfeksiyon Derg*, 6, 142-149.
- Erkekoğlu, P., ve Baydar, T. (2021). Güncel in vitro sitotoksikite testleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 41(1), 45-63.
- Etiz, P., Kibar, F., Ekenoğlu, Y., Yaman, A. (2014). İdrar kültüründen izole edilen enterokok türlerinin antibiyotik direnç profillerinin değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 44(3), 107-113.
- Fisher, K., and Phillips, C. (2009). The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology (Reading, England)*, 155(6), 1749-1757.
- Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Culafic, M.D., Trudic, A., Ranin, L., Opavski, N. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(4), 427. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427>

- Garcia-Solache, M., and Rice, L.B. (2019). The Enterococcus: a model of adaptability to its environment. *Clinical microbiology reviews*, 32(2), e00058-18.
- Germ, J., Seme, K., Cerar, T., Krizan Hergouth, V., and Pirs, M. (2021). Evaluation of two rapid phenotypical tests-Alifax rapid AST colistin test and Rapid Polymyxin NP test for detection of colistin resistance in Enterobacterales. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 40(8), 1749–1753. <https://doi.org/10.1007/s10096-02104182-w>
- Gülmez, D.K. (2014). Antimikrobiyal direnci belirlemede fenotipik yöntemler veya klasik yöntemler. *ANKEM Dergisi*, 28, 221-228.
- Gümüş, H. (2023). Vankomisine Dirençli Enterococcus faecium: Kısa Bir Derleme. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 32(1), 1-9.
- Gun, M. A., Cayci, Y. T., Durupinar, B., & Coban, A. Y. (2021). A new colorimetric method for rapid detection of antibiotic resistance in Escherichia coli isolates. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 14(11).
- Gür, D. ‘Streptokoklar’, *Tıbbi Mikrobiyoloji*, ed. Yenen, O.Ş., Nobel Tıp Kitabevleri, 1. bs., İstanbul 2015, s: 222-224.
- Hallgren, A., Claesson, C., Saeedi, B., Monstein, H.J., Hanberger, H., Nilsson, L.E. (2009). Molecular detection of aggregation substance, enterococcal surface protein, and cytolysin genes and in vitro adhesion to urinary catheters of Enterococcus faecalis and E. faecium of clinical origin. *International Journal of Medical Microbiology*, 299(5), 323-332.
- Hasdemir, M.U. (2014). Antimikrobiyal Direncin Belirlenmesinde Moleküler Yöntemler. *ANKEM Dergisi*, 28(2), 229-234.
- Holmes, A.H., Moore, L.S., Sundsfjord, A., Steinbakk, M., Regmi, S., Karkey, A., Piddock, L.J. (2016). Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *The Lancet*, 387(10014), 176-187.
- Hubble, T.S., Hatton, J.F., Nallapareddy, S.R., Murray, B.E., Gillespie, M.J. (2003). Influence of Enterococcus faecalis proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. *Oral microbiology and immunology*, 18(2), 121–126.
- Humphries, R.M., Ambler, J., Mitchell, S.L., Castanheira, M., Dingle, T., Hindler, J.A., Sei, K. (2018). CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. *Journal of clinical microbiology*, 56(4), e01934-17.
- Huycke, M.M., Sahm, D.F., Gilmore, M.S. (1998). Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerging infectious diseases*, 4(2), 239.
- Hynes, W.L., and Walton, S.L. (2000). Hyaluronidases of Gram-positive bacteria. *FEMS microbiology letters*, 183(2), 201–207.
- Idelevich, E.A., and Becker, K. (2019). How to accelerate antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(11), 1347-1355.
- Jayol, A., Nordmann, P., André, C., Poirel, L., and Dubois, V. (2018). Evaluation of three broth microdilution systems to determine colistin susceptibility of Gram negative bacilli. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(5), 1272-1278.
- Jett, B.D., Huycke, M.M., Gilmore, M.S. (1994). Virulence of enterococci. *Clinical microbiology reviews*, 7(4), 462-478.

- Jia, H., Fang, R., Lin, J., Tian, X., Zhao, Y., Chen, L., and Zhou, T. (2020). Evaluation of resazurin-based assay for rapid detection of polymyxin-resistant gram-negative bacteria. *BMC microbiology*, 20(1), 1-11.
- Kahraman, E. P., Karakeçe, E., Erdoğan, F., Uluyurt, H., Köroğlu, M., ve Çiftci, İ. H. (2017). Klebsiella pneumoniae izolatlarının antibiyotiklere direnç durumlarının değerlendirilmesi. *Ortadoğu Tıp Dergisi*, 9(1), 12-18.
- Kansak, N., Aslan, M., Adaleti, R., Aksaray, S. (2020). Klebsiella pneumoniae İzolatlarında Sıvı Mikrodilüsyon Temelli İki Ticari Sistemin Referans Mikrodilüsyon Yöntemine Göre Değerlendirilmesi [Evaluation of the Two Commercial Methods Based on Broth Microdilution Against Reference Microdilution Method for Klebsiella pneumoniae Isolates]. *Mikrobiyoloji bulteni*, 54(4), 606-612. <https://doi.org/10.5578/mb.69828>
- Karahocagil, M. K., Yaman, G., Göktaş, U., Sünnetçioğlu, M., Çıkman, A., Bilici, A., and Akdeniz, H. (2011). Hastane enfeksiyon etkenlerinin ve direnç profillerinin belirlenmesi. *Van Tıp Dergisi*, 18 (1), 27-32.
- Karatuna, O., Açıkgöz, Z.C., Yıldız, S.S., Özkütük, A.A., Karadenizli, A. 'Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri', *Tanışal Mikrobiyoloji Renkli Atlası ve Ders Kitabı*, ed. Başustaoğlu, A., Dürdal Us, A., Hipokrat Kitabevi, 7. bs., Ankara 2017, s: 1075-1119
- Kayaoglu, G., Orstavik, D. (2004). Virulence factors of Enterococcus faecalis: relationship to endodontic disease. *Critical reviews in oral biology and medicine: an official publication of the American Association of Oral Biologists*, 15(5), 308-320. <https://doi.org/10.1177/154411130401500506>
- Klein, G. (2003). Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *International journal of food microbiology*, 88(23), 123-131.
- Koch, S., Hufnagel, M., Theilacker, C., Huebner, J. (2004). Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. *Vaccine*, 22(7), 822-830.
- Kohanski, M.A., Dwyer, D.J., Hayete, B., Lawrence, C.A., Collins, J.J. (2007). A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*, 130(5), 797-810. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.049>
- Korkak, F.A., Alkaç, Z.K., Tanyıldızı, S., Dağoğlu, G. (2022). Doğal Kaynaklardan Yeni Antimikrobiyal Madde Tarama Yöntemleri. *Firat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 36(3), 251-257.
- Korten, V. 'Enterokoklar', *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji*, ed. Willke Topçu, A., Söyletir, G., Doğanay, M., Nobel Tıp Kitapevleri, 4. bs., Ankara 2017, s: 1497-1506.
- Laxminarayan, R., Matsoso, P., Pant, S., Brower, C., Rottingen, J.A., Klugman, K., Davies, S. (2016). Access to effective antimicrobials: a worldwide challenge. *The Lancet*, 387(10014), 168-175.
- Lescat, M., Poirel, L., Tinguely, C., and Nordmann, P. (2019). A resazurin reduction based assay for rapid detection of polymyxin resistance in Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa. *Journal of clinical microbiology*, 57(3), e0156318.
- Levine, D. P. (2006). Vancomycin: a history. *Clinical infectious diseases*, 42, 5-12.
- Lopes, M.D.F.S., Simoes, A.P., Tenreiro, R., Marques, J.J.F., Crespo, M.T.B. (2006). Activity and expression of a virulence factor, gelatinase, in dairy enterococci. *International journal of food microbiology*, 112(3), 208-214.
- Matuschek, E., Åhman, J., Webster, C., and Kahlmeter, G. (2018). Antimicrobial susceptibility testing of colistin-evaluation of seven commercial MIC products against standard broth microdilution for Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae,

- Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. *Clinical Microbiology and Infection*, 24(8), 865-870.
- Miller, J.M., Binnicker, M.J., Campbell, S., Carroll, K.C., Chapin, K.C., Gilligan, P.H., Yao JD. (2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), 1-94.
- Mingeot-Leclercq, M.P., Glupczynski, Y., Tulkens, P.M. (1999). Aminoglycosides: activity and resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 43(4), 727-737.
- Mohamed, J.A., and Huang, D.B. (2007). Biofilm formation by enterococci. *Journal of medical microbiology*, 56(12), 1581-1588. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47331-0>
- Morandi, S., Brasca, M., Andrighetto, C., Lombardi, A., Lodi, R. (2006). Technological and molecular characterisation of enterococci isolated from north-west Italian dairy products. *International Dairy Journal*, 16(8), 867-875.
- Nakajo, K., Komori, R., Ishikawa, S., Ueno, T., Suzuki, Y., Iwami, Y., Takahashi, N. (2006). Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. *Oral microbiology and immunology*, 21(5), 283-288. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2006.00289.x>
- O'brien, J., Wilson, I., Orton, T., Pognan, F. (2000). Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European journal of biochemistry*, 267(17), 5421-5426.
- Ogier, J.C., Serror, P. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: the *Enterococcus* genus. *International journal of food microbiology*, 126(3), 291-301.
- Ödemiş, İ., Şükran, K., Ersan, G., Çelik, D., Akbulut, İ. (2018). Hastanede yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 75(4), 345-352.
- Özgüneş, İ. (2005). Akılcı antibiyotik kullanımında hastane pratiğinde sorunlar. *Ankem Dergisi*, 19(2), 185-189.
- Paganelli, F.L., Huebner, J., Singh, K.V., Zhang, X., Van Schaik, W., Wobser, D., Leavis, H.L. (2016). Genome-wide screening identifies phosphotransferase system permease BepA to be involved in *Enterococcus faecium* endocarditis and biofilm formation. *The Journal of Infectious Diseases*, 214(2), 189-195.
- Pfennigwerth, N., Kaminski, A., Korte-Berwanger, M., Pfeifer, Y., Simon, M., Werner, G., and Gatermann, S. G. (2019). Evaluation of six commercial products for colistin susceptibility testing in Enterobacterales. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(11), 1385-1389.
- Rampersad, S.N. (2012). Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. *Sensors*, 12(9), 12347-12360.
- Reller, L.B., Weinstein, M., Jorgensen, J.H., Ferraro, M.J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical infectious diseases*, 49(11), 1749-1755.
- Sakaryalı, D., Koçak, A.A., Başustaoğlu, A.C. *Enterococcus Faecalis* ve Diş Hekimliğindeki Yeri. *Selcuk Dental Journal*, 9(3), 936-946.
- Schleifer, K.H., and Kilpper-Bälz, R. (1984). Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 34(1), 31-34.

- Semedo, T., Santos, M.A., Lopes, M.F., Marques, J.J.F., Crespo, M.T., Tenreiro, R. (2003). Virulence factors in food, clinical and reference enterococci: a common trait in the genus. *Systematic and Applied Microbiology*, 26(1), 13-22.
- Shankar, N., Lockatell, C.V., Baghdayan, A.S., Drachenberg, C., Gilmore, M.S., Johnson, D.E. (2001). Role of *Enterococcus faecalis* surface protein Esp in the pathogenesis of ascending urinary tract infection. *Infection and immunity*, 69(7), 4366-4372.
- Sherman, J.M. (1937). The streptococci. *Bacteriological reviews*, 1(1), 3-97.
- Sifri, C. D., Mylonakis, E., Singh, K. V., Qin, X., Garsin, D. A., Murray, B. E., and Calderwood, S. B. (2002). Virulence effect of *Enterococcus faecalis* protease genes and the quorum-sensing locus *fsr* in *Caenorhabditis elegans* and mice. *Infection and immunity*, 70(10), 5647-5650.
- Singh, K.V., Nallapareddy, S.R., Sillanpaa, J., Murray, B.E. (2010). Importance of the collagen adhesinace in pathogenesis and protection against *Enterococcus faecalis* experimental endocarditis. *PLoS pathogens*, 6(1), e1000716.
- Stiles, M.E., and Holzapfel, W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*, 36(1), 1-29.
- Tarakçı, A., Çolkesen, F.D., Armağan, Ş.Ö., Can, S. (2020). Vankomisine Dirençli Enterekok Enfeksiyonlarının İrdelenmesi. *Turk J Intensive Care*, 20, 44-50.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, 2021. (<http://www.eucast.org>).
- Tiballi, R. N., He, X., Zarins, L. T., Revankar, S. G., and Kauffman, C. A. (1995). Use of a colorimetric system for yeast susceptibility testing. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(4), 915-917.
- Tokur, O., Aksoy, A. (2017). In vitro sitotoksiste testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1), 112-118.
- Toledo-Arana, A., Valle, J., Solano, C., Arrizubieta, M.J., Cucarella, C., Lamata, M., Lasa, I. (2001). The enterococcal surface protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *Applied and environmental microbiology*, 67(10), 4538-4545.
- Turnidge, J., Paterson, D.L. (2007). Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints. *Clinical microbiology reviews*, 20(3), 391-408.
- U.S. Food and Drug Administration. Class II Special Controls Guidance Document: Antimicrobial Susceptibility Test (AST) Systems. Maryland, USA: Center for Devices and Radiological Health; 2009.
- Upadhyaya, P.G., Ravikumar, K.L., Umapathy, B.L. (2009). Review of virulence factors of enterococcus: an emerging nosocomial pathogen. *Indian journal of microbiology*, 27(4), 301-305.
- Van den Berghe, E., De Winter, T., De Vuyst, L. (2006). Enterocin A production by *Enterococcus faecium* FAIR-E 406 is characterised by a temperature- and pH dependent switch-off mechanism when growth is limited due to nutrient depletion. *International journal of food microbiology*, 107(2), 159-170.
- Van Hal, S. J., Willems, R. J., Gouliouris, T., Ballard, S. A., Coque, T. M., Hammerum, A. M., Bowdeni R. (2021). The global dissemination of hospital clones of *Enterococcus faecium*. *Genome medicine*, 13(1), 1-12.
- Wanner, G., Formanek, H., Galli, D., Wirth, R. (1989). Localization of aggregation substances of *Enterococcus faecalis* after induction by sex pheromones: an ultrastructural

comparison using immuno labelling, transmission and high resolution scanning electron microscopic techniques. *Archives of microbiology*, 151, 491-497.

Yıldırım, M. (2007). Enterokoklar ve enterokoklarla gelişen infeksiyonlar. *Düzce Tıp Dergisi*, 9(2), 46-52.

Yunusoğlu, O., Berköz, M., Yardım, Y. (2020). Çoklu antibiyotik direnci gösteren bakterilere karşı geliştirilen yeni antibiyotikler; dalbavansin, telavansin ve oritavansin. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(2), 45-54.

Zabransky, R. J., Dinuzzo, A. R., and Woods, G. L. (1995). Detection of vancomycin resistance in enterococci by the Alamar MIC system. *Journal of clinical microbiology*, 33(4), 791-793.

Zhanel, G. G., Adam, H. J., Baxter, M. R., Fuller, J., Nichol, K. A., Denisuik, A. J., and Walkty, A. (2013). Antimicrobial susceptibility of 22746 pathogens from Canadian hospitals: results of the Canward 2007–11 study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(1), 7-22.



EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/202

28.04.2023

Sayın Doç. Dr. Kemal BİLGİN

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz Enterococcus faecium İzolatlarında Antibiyotik Duyarlılığının Hızlı Yöntem Kullanılarak Tespit Edilmesi başlıklı OMÜ KAEK 2023/125 Karar nolu Mikrobiyoloji çalışması nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, Klinik Araştırmalar Etik kurulu yönergesine göre 27.04.2023 tarihli Etik Kurulumuzda incelenmiş etik açıdan uygun bulunmuştur. Ancak araştırma bütçesinin maddi desteği henüz sağlanamadığından projeye bütçe desteği sağlanıp, tarafımıza bildirilmesinden sonra başlanmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.

Prof.Dr.Ramis ÇOLAK
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

ÖZ GEÇMİŞ

Elvina Zeynelova, ilk, orta ve lise eğitimimi Sheki'de tamamladı. 2016 yılında Bakü Devlet Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nü kazandı. 2020 yılında 'Biyolog' ünvanı ile mezun oldu. 2020'de Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans bölümünde eğitime başladı. Halen bu eğitimimi sürdürmekte.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0009-0009-8457-184X

Yayınlar:

1. Elvina Zeynalova, Kemal Bilgin, Yeliz Tanrıverdi Çaycı, Demet Gür Vural, Asuman Birinci. Escherichia Coli İzolatlarında Gentamisin Duyarlılığının Hızlı Yöntem Kullanarak Tespit Edilmesi. 11. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi. Bildiri Numarası: PS-178