



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİNDE
İZOLE EDİLEN ENTEROKOKLARDA YÜKSEK DÜZEY
AMİNOGLİKOZİD DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI VE
MOLEKÜLER ANALİZİ**

Asef BOZKUŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. Yasemin ZER

Gaziantep
2017



T. C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİNDE
İZOLE EDİLEN ENTEROKOKLARDA YÜKSEK DÜZEY
AMİNOGLİKOZİD DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI VE
MOLEKÜLER ANALİZİ**

Asef BOZKUŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. Yasemin ZER

Gaziantep
2017

BEYAN

Bu tez çalışması şahsıma ait olup, tezin planlanından yazım aşamasına kadar etik dışı herhangi bir davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilen bütün bilgi ve yorumlamalara kaynak gösterdiğim ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışım olmadığı beyan ederim.

Asef BOZKUŞ

TEŐEKKÖR

Bu tezimin başlangıcından bitişine kadar olan bÖtÖn aşamalarında her tÖrlÖ deşeğini bÖtÖn Öğrencilerinde olduğu gibi benden de esirgemeyen, kendisinin disiplinli çalışmasını ve gayretlerini sÖrekli Örneğ aldığım alacağım hocam Prof. Dr Yasemin ZER'e, bizlere sÖrekli yol gÖsteren bÖlÖm hocalarımızdan Prof. Dr. Tekin KARSLIGİL'e aramızdan ayrılrsa da Özerimde emeği olan Prof. Dr. Ayşen BAYRAM'a ve ayrıca gÖler yÖzÖnÖ bizlerden hiçbir zaman eksik etmeyen Doğ. Dr. Fahriye EKŐİ hocalarıma ve tezimde katkısı olan tÖm laboratuvar çalışanı arkadaşlarıma ve aileme teőekkÖrlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	viii
ÖZET	1
ABSTRACT.....	3
1.GİRİŞ ve AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1.Tarihçe.....	7
2.2.Mikrobiyolojik Özellikleri	8
2.2.1.Morfoloji ve Biyokimyasal Özellikler.....	8
2.2.2.Görünüm ve Boyanma Özellikleri.....	11
2.3. Üreme Özellikleri.....	12
2.4. Genom Özellikleri.....	13
2.5. Epidemiyoloji.....	13
2.6. Virulans Faktörleri	15
2.6.1. Hemolizin ve Sitolizin.....	15
2.6.2. Jelatinaz	15
2.6.3. Enterokokal Surface Protein (ESP)	15
2.6.4. Akragasyon faktörü	16
2.6.6. Lipoteikoik Asit (LTA)	16
2.6.7. Süperoksit.....	16
2.6.8. Seks Feromonları.....	17
2.6.9. Hyaluronidaz	17
2.6.10. Kapsül, Hücre Duvarı Polisakkaritleri	17
2.6.11. AS-48.....	17
2.7. Enterokokların Yaptığı Hastalıklar	17
2.7.1. Üriner Sistem Enfeksiyonları	18
2.7.2.Endokardit	18

2.7.3. Bakteriyemi	18
2.7.4. Yara ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları	19
2.7.5. İntraabdominal ve Pelvik Enfeksiyonlar	19
2.7.6. Neonatal İnfeksiyonlar	19
2.7.7. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları	19
2.7.8. Solunum Sistemi Enfeksiyonları	20
2.7.9. Diğer Enfeksiyonlar	20
2.8. Enterokokların Antibiyotik Dirençleri	20
2.8.1. İntrensek (yapısal) Olan Direnç	20
2.8.1.1 Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Olan İntrensek Direnç	20
2.8.1.2. Aminoglikozid Antibiyotiklere İntrensek Dirence Sahip Olan Enterokoklar	21
2.8.2. Kazanılmış Direnç	22
2.8.2.1. Beta-laktam Antibiyotiklerine Karşı Kazanılmış Olan Direnç	22
2.8.2.2. Aminoglikozid Antibiyotiklerine Karşı Kazanılmış Direnç	22
2.8.2.3. Glikopeptid Antibiyotiklere Karşı Direnç	24
2.8.2.4. Diğer Antibiyotikler	26
2.9. Vankomisine Bağımlı Enterokoklar (VBE)	26
2.10. Vankomisine Dirençli Enterokok Saptama Yöntemleri	27
2.11. Enterokok Enfeksiyonlarında Tedavi	28
2.12. Nozokomiyal Vankomisin dirençli enterokok Geçişinin Kontrolü ve Önlenmesi	31
3. MATERYAL METOD	34
3.1. Örneklerin toplanması	34
3.2. Kullanılan Besiyerleri	35
3.2.1. Vankomisin Tarama Agarı (Vancomycin Screen Agar)	35
3.2.2. Kanlı Agar (BD/Germany)	35
3.2.3. Skim Milk Agar	36
3.3. Besiyerlerinin Hazırlanması	36
3.4. Bakterilerin Tanımlanması	36
3.4.1. Phoenix mikroorganizma tanımlama sistemi	36
3.5. Vankomisin Direncinin Saptanması	38
3.6. Yüksek Düzey Aminoglikozid Direncinin Saptanması	38
3.7. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)	39

3.7.1. DNA Ekstraksiyonu.....	39
3.7.2. Amplifikasyon	40
3.7.3.PCR Kitinin İçeriği.....	40
4. BULGULAR.....	42
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
7. KAYNAKLAR	54
8. ÖZGEÇMİŞ	62



KISALTMALAR

AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
BHI	: Brain-Heart İnfusion
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
HICPAC	: Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee
H₂S	: Hidrojen Sülfür
LAP	: Lösinaminopeptidaz
LTA	: Lipoteikoik Asit
MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
PCR	: Polimerase Chain Reaction
PYR	: L-pyrolidonyl beta naphthylamid
rRNA	: Ribozomal RNA
TMP-SMX	: Trimetoprim-Sulfometaksazol
VBE	: Vankomisine Bağımlı Enterokoklar
VRE	: Vancomycin Resistant Enterococci
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi
YDAD	: Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4. 1. PCR ile pozitif saptanan gen bölgelerinin grafiği	44
---	----



RESİMLER DİZİNİ

Resim 2. 1. Enterokokların mikroskopik görüntüsü	12
Resim 4. 1. Yüksek düzey aminoglikozid dirençli izolat	42



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3. 1. Gram pozitif bakterilerin tanımlanmasında kullanılan biyokimyasal reaktifler	37
Tablo 4. 1. Rektal sürüntü örneklerinin saptandıkları kliniklere göre dağılımı.....	43
Tablo 4. 2. Vankomisin dirençli izolatların türlere göre dağılımı	43
Tablo 4. 3. Aminoglikozid modifiye edici gen bölgeleri ve saptanan izolatlar.....	44



ÖZET

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde İzole Edilen Enterokoklarda Yüksek Düzey Aminoglikozid Direncinin Araştırılması ve Moleküler Analizi

Prof. Dr. Yasemin ZER
Bio. Asef BOZKUŞ
Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Enterokoklar son yıllarda hastanelerde en sıklıkla izole edilen patojenler olup, sahip oldukları doğal direnç mekanizmaları yanı sıra, kazanılmış direnç genleri ile de en dirençli bakterilerden biridir.

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerin enterokok enfeksiyonlarında tek başına kullanımı bakterinin metabolik aktivitesine uygun olmadığından, genellikle bir hücre duvar sentezini inhibe eden antibiyotikle kullanımı gereklidir. Bununla birlikte eğer bakteride yüksek düzey aminoglikozid direnci de bulunuyorsa bu sinerjik etkili kombinasyon tedavide kullanılamamaktadır.

Yüksek düzey aminoglikozid direnci kazanılmış bir direnç olup, genellikle aminoglikozid modifiye edici enzimler ile oluşmaktadır. Bu çalışma bir moleküler epidemiyolojik çalışma olarak, hastanemizde izole edilen enterokoklarda rastlanan aminoglikozid modifiye edici enzimlerin, yada bunları sentezleten genlerin neler olduğunun saptanması amacıyla yapılmıştır.

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına süreyans amacıyla gönderilen rektal sürüntü örneklerinden izole edilen vankomisin dirençli enterokoklar (VRE) ile bu çalışma yapıldı. Süreyans için gönderilen örnekler vankomisin selektif agar besiyerine ekildi. Üreme olan enterokok izolatlarının vankomisin için MİK değeri E test ile belirlendi. Bakterilerin tanımlaması, Bruker (BD, ABD) ile yapıldı. İzolatların 120 µg gentamisin içeren disk kullanılarak yüksek düzey aminoglikozid direnci belirlendi. Yüksek düzey aminoglikozid direnci saptanan izolatların multiplex PCR ile; [aac(6₁)-Ie-aph(2₁)-Ia, aph(2₁)-Ib1, aph(2₁)-Ic, aph(2₁)-Id, aph(3₁)-IIIa] gen bölgeleri çalışıldı. Gen dizaynı için literatür kullanıldı. Dizayn edilen bölgeler, Light Cycler (Roche) cihazı ile çalışıldı.

Çalışmaya alınan, vankomisine ve, yüksek düzey aminoglikozid dirençli 100 enterokok suşunun 82'si (% 82) *E. faecium*, 11'i (%11) *E. faecalis*, 7'si *E. gallinarum* olarak tanımlandı.

Suşların 67'sinde (% 67) aph(3_) -IIIa gen bölgesi, 2'sinde (% 2) aph(2_) -Id gen bölgesi ve 1 izolatta aph(2_) -Ib1 bölgesinde pozitiflik bulundu. aac(6_) -Ie-aph(2_) -Ia ve aph(2_) -Ic bölgeleri hiçbir izolatta saptanmadı. İzolatların % 30'unda hiçbir gen bölgesinde pozitiflik saptanmadı.

Enterokoklardaki aminoglikozid direncinden hastanemizde de çoğunlukla aminoglikozid modifiye edici enzimlerin sorumlu olduğu bulunmuştur. Bakteriler arasında bu enzimleri taşıyan ve kodlayan genler aktarılabileceğinden direnç gelişiminin kontrol altında tutulabilmesi için rasyonel antibiyotik kullanımı önemli olduğu görölmüştür.

Anahtar kelimeler: Enterokok, yüksek düzey aminoglikozid direnci, aminoglikozid modifiye edici enzimler

ABSTRACT

“Investigation and Molecular Analysis of High Level Aminoglycoside Resistant Enterococci Isolated from Medical Faculty Hospital of Gaziantep University”

Prof. Dr. Yasemin ZER

Bio. Asef BOZKUŞ

University of Gaziantep, Institute of Health Sciences

Department of Medical Microbiology

Enterococci are the most common nosocomial pathogens that encountered currently in surveillance cultures as colonization agent, increased ratios in clinical samples as factor. As well as having natural resistance mechanisms enterococcus are the most resistant bacteria with gained resistance genes.

Since the use of aminoglycoside group antibiotics in enterococ infections alone is not suitable to the metabolic activity of the bacteria, generally they have to use with a antibiotic that inhibits cell wall synthesis. However, if there is a high level of aminoglycoside resistant in the bacteria this synergistic combination also has not been used in treatment.

High level of aminoglycoside resistance is a gained resistance that arises with aminoglycoside modifying enzymes. This study has been conducted to determine the aminoglycoside modifying enzymes that encountered in enterococcus isolated from our hospital, or to determine the genes that make the synthesizing of these.

This study was conducted with vancomycin resistant enterococcus (VRE) isolated from rectal swap samples sent to the Gaziantep University Faculty of Medicine, Microbiology laboratory for surveillance. The samples sent for the surveillance are incubated to vancomycin selective agar. The MIC value for the vancomycin of the enterococ isolates that reproduce was calculated with E test. The identification of the bacteria has been made by Bruker (BD, USA). High level of aminoglycoside resistance of the isolates has been determined with the disk that contains 120 µg gentamycin. The following areas of the isolates that have high level of aminoglycoside resistance have been studied with multiplex PCR; [aac(6₂)-Ie-aph(2₂)-Ia, aph(2₂)-Ib1, aph(2₂)-Ic, aph(2₂)-Id, aph(3₂)-III]. The literature has been used for gene design. The designed areas have been studied with Light Cycler (Roche).

82 (82 %) of the enterococ strains included in the study has been determined as *E. faecium*, 11 (11 %) as *E. faecalis*, 7 (7 %) as *E. gallinarum*. Positivity has been found in 67 (67 %) of the strains aph(3_{II})-IIIa gene region, in 2 (2 %) of the strains aph(2_I)-Id gene region and in 1 isolate aph(2_I)-Ib1 region. aac(6_I)-Ie-aph(2_I)-Ia and aph(2_I)-Ic regions have not been determined in any isolate. Positivity has not been determined in any gene region of 30 of the isolates.

It has been found that aminoglycoside modifying enzymes are responsible for aminoglycoside resistance in enterococcus in our hospital too. Since these genes may be transferred, rational antibiotic usage is important for the control of resistance development.

Keywords: Enterococci, high level of aminoglycoside resistance, aminoglycoside modifying enzymes.

1.GİRİŞ ve AMAÇ

İnsanlarla mikroorganizmaların arasında kommensal, fırsatçı patojen veya patojen şekillerinde bir birlikte yaşam söz konusudur. Mikroorganizmaların insanlar için oluşturduğu patojenlik enfeksiyon hastalıkları olarak tanımlanır. İnsanın varoluşundan beri hayatında olan mikroorganizmalara karşı yürüttüğü mücadele, önceleri çeşitli şifalı otlar yada maddeler düzeylerinde devam ederken, Alexander Fleming’ in bir bilimsel tesadüf ile penisilini keşfetmesi antimikrobik bu kimyasal maddeleri hayatımıza katmıştır. Antibiyotikler aslında doğadaki denge için mikroorganizmaların salgıladığı kimyasal bileşenler olarak binlerce yıldır mevcut iken, insanın hayatına girmiş olduğu 70-80 yıllık süre içerisinde bakterilerin geliştirdiği çeşitli savunma mekanizmaları (ki buna direnç deniyor) ile neredeyse birçoğu etkisiz hale gelmiştir.

Bakteriler, antibiyotikleri çeşitli mekanizmalar ile etkisizleştirmektedirler. Antibiyotiğin hedefi olan yapıyı değiştirerek, antibiyotiğin moleküler yapısını bozan bir enzim salgılayarak ya da antibiyotiğin hedefi olan bölgeye ulaşmasını engellenmesi bu mekanizmalardan en sık rastlananlardır. Yapısal olmayan ve sonradan kazanılmış direnç mekanizmalarının en önemli özelliği çoğunun plazmid veya bakteriyofajlar gibi genetik yapılar ile bakteriler arasında aktarılabilmeleridir.

Enterokoklar insan gastrointestinal sisteminde bulunan ve son yirmi yıl içerisinde hastane enfeksiyonlarından sık olarak soyutlanan bakterilerdendir. Gerek yapısal özelliklerinden, gerekse kazanılmış mekanizmalara bağlı olarak birçok antibiyotiğe dirençlidir. Enterokoklarda düşük doz penisiline, düşük doz aminoglikozid grubu antibiyotiklere, trimetoprim-sülfametaksazole, linkosamide intrensik olarak direnç vardır. Enterokoklarda kazanılmış direnç mekanizmalarından en önemlisi 1988 yılında ilk kez İngiltere’den bildirilmiş olan vankomisin direncidir. İlk tanımlandığı yıllarda panik değer olarak kabul edilen vankomisin dirençli enterokoklar (VRE) için günümüzde geline nokta gerçekten endişe vericidir. Vankomisin direnci hayvan yemlerine ilave edilen avaparsin maddesinin moleküler olarak glikopeptidlere benzemesine dayandırılmıştır. Vankomisin direncine neden olan genetik yapılardan VanA ve VanB’nin aktarılabılır özellikte olması, enterokoklardaki bu yayılmanın oluşturduğu etkinin yanı sıra başka bakterilere (özellikle stafilokoklar) aktarılabılme ihtimalini de bereberinde getirmiştir. Hatta invitro olarak bu gerçekleştirilmiştir.

Vankomisin direnci, enterokok enfeksiyonlarında kullanılabilecek antibiyotiklerin kullanımlarının da kısıtlanmalarına neden olmuştur. Sinerjistik etki sağlamak amacı ile beta laktam bir antibiyotiğin bir aminoglikozidle kombine edilmesi en yaygın kullanılan tedavi seçeneklerindendir. Aminoglikozidlere karşı enterokoklarda yapısal olarak var olan düşük düzeyli direnç hücre duvarlarının geçirgenliğinin azalmasından kaynaklanmaktadır. Yüksek oranlı direnç inaktive edici enzimlere bağlı olarak veya ribozomal hedef değişikliği ile ortaya çıkmakta ve varlığı durumunda beta-laktamla sağlanan sinerjistik etki ortadan kalkmaktadır. Aminoglikozid modifiye edici enzimlerden adenil transferaz streptomisin direncine, 2'-fosfotransferaz-6 asetiltransferaz ise gentamisin direncine neden olmaktadır. Gentamisin direncine ek olarak kanamisin, tobramisin, amikasin ve netilmisin antibiyotikleri de direnç oluşturabilmektedir. Bundan dolayı gentamisin direncinin araştırılması streptomisinin dışında kalan diğer bütün aminoglikozidlere karşı direncin daha iyi tespit edilebilmesinde kullanılmaktadır.

Hastanemizde VRE izolatları, gerek sürveyans kültürlerinden, gerekse klinik izolatlardan sıklıkla izole edilmektedir. Daha önce bölümümüzde aminoglikozid modifiye edici enzimlerle ilgili benzer bir çalışma yapılmamış olup, bu çalışma hastanemizde saptanan vankomisine dirençli ve yüksek düzey aminoglikozid direnci olan izolatlarda, dirence neden olan aminoglikozid modifiye edici enzimlerin oranının ve türlerinin saptanması amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

Güncel adı ile “enterokoklar” olarak bilinen bu bakteriler, ilk tanımlandıklarında “fekal orijin gösteren streptokok” olarak gruplandırılmış ve yüz yıl kadar önce *Streptococcus faecalis* adı kullanılmıştır. Enterokok ismi ilk olarak Thiercelin tarafından kullanılmıştır. Bunu takiben Alexander Gordon, hayvan dışkıları ile kontamine olmuş besiyerinde fekal orijin gösteren streptokok ürettiğini bildirmiştir. Bindokuzyüzlü yılların başında F.W.Andrews ve T.J.Horder *Streptococcus faecalis*’in bazı biyokimyasal özelliklerini tanımlamıştır (1).

Daha sonra 1919 yıllarında Orla-Jensen bu grupta fermentasyon özelliği bakımından *S. faecalis*’ten farklı olduğunu deneysel gözlemlerle gösterdikten sonra *Streptococcus faecium* adını verdiği ikinci bir organizmayı tanımlamıştır. 1935 ve 1937 yılları arasında J.M.Sherman ve Helen U.Wing tarafından *S.faecium* gibi benzer bazı özellik gösteren fakat daha az oranda fermentasyon özelliği bulunan üçüncü bir tür olan *Streptococcus durans* bakterisini tanımlamışlardır. 1930’lu yıllarda J.M.Sherman streptokoklar için “Enterococcal grup” terimini ilk kez kullanmıştır. Uzun bir süre enterokoklar, Lancefield’in kullanmış olduğu sınıflamaya göre serolojik özellikleri bakımından Grup D Streptokoklar ile *Streptococcus* cinsine bağlı olarak kendilerine bu cins adı altında yer bulmuşlardır (1).

1984 yılında iki Alman bilim adamı K. H. Schleifer ve R. Klipper-Baltz tarafından, *S. faecalis* ve *S. faecium* bakterilerinin diğer streptokok türlerinden farklı olduklarını ileri sürerek, bu bakterilerin *Streptococcus* cinsinden ayrılması gerektiğini ve *Enterococcus* olarak yeni bir cins adı altında tanımlanmasını önermişlerdir. Moleküler alanındaki gelişmeler sonucunda da enterokokların yeni bir cins olarak tanınması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu cins içerisinde 16 tür yer almakta olup, insandan en fazla izole edilen türler; *E. faecium* ve *E. faecalis*’tir. *E. casseliflavus*, *E. avium*, *E. cecorum*, *E. gallinorum*, *E. durans*, *E. raffinosus*, *E. hirae*, *E. malodoratus*, *E. mundtii* ve *E. dyspar* diğer nadir olarak saptanan türlerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalar ile yeni türlerinde varlığı bilinmektedir. 16 S rRNA çalışmaları sonucunda en az 34 tür bulunduğu gösterilmiştir (2-4).

2.2.Mikrobiyolojik Özellikleri

2.2.1.Morfoloji ve Biyokimyasal Özellikler

Mikroskobik olarak, genel anlamda Gram pozitif olarak boyanan ikiyeşerli şekilde, oval diplokoklar veya kısa zincirler oluşturmuş şekilde görülürler. Sıvı besiyerlerinin alt kısımlarında bir çöküntü oluşturur fakat besiyerleri içerisinde bulanık bir görüntü oluşturmadan ürerler. Enterokoklar dirençli bakteriler olup, büyük bir kısmı 60 °C'nin altında 30 dakika ısıtılsalar bile canlılıklarını korurlar. Enterokoklar aşırı soğuk ve nemli topraklarda 3 aylık bir süreye kadar canlı kalabilirler, fakat ani ısı değişimleri yani donma ve sonra tekrar eritme durumları ile bakteri canlılığını kaybedebilmektedir. Safralı ve eskülinli besiyerleri enterokoklar için seçici ve ayırt edici özelliktir (5).

Sitokrom oksidaz ve katalaz enzimleri yoktur. *E. faecalis* kanlı besiyerlerinin içerisinde yalancı katalaz reaksiyonu gösterebilmektedir. Fakültatif anaerob özellik gösterirler. Son derece dayanıklı bakteriler olup, pH 9.6'da, 10-45 °C sıcaklık arasında ve % 6.5 oranındaki NaCl varlığında üreme gösterebilirler. Alfa, beta veya gama hemoliz yapabilirler. % 40'lık safralı ortamda eksulini hidrolize eder, *E. gallinorum*, *E. flavescens*, *E. casseliflavus* ve gibi bazı türleri hareketli haldedir. *E. columbae*, *E. cecorum* ve *E. saccharolyticus* dışındaki bütün enterokok türleri ise L-pyrolidonyl beta naphthylamid (PYR) pozitifdir. Gösterdiği bu özellik enterokokları, vankomisine direnç bakımından karışabilecekleri *Leuconostoc* ve *Pediococcus* türleri ve A grubunun dışında kalan streptokok türlerinden ayırt etmek için önemlidir. Bütün enterokok türlerinde lösinaminopeptidaz (LAP) üretimi vardır (6,7).

Enterokok türlerinin büyük çoğunluğu grup D antiserumu ile reaksiyona girebilmektedirler. *E. faecalis*, *E. faecium*'dan farklı olarak tellüritli besiyerlerinde üreyebilir ve tetrazoliumu, formazona dönüştürebilir (8).

Enterokoklar ve benzer türlerin belli başlı özellikleri Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2. 1. Enterokok ve benzeri türlerin belli başlı fenotipik özellikleri

GENUS	VAN	GAZ	PYR	LAP	ESKÜLİN	KATALAZ	0,065 NaCl	10 °C'DE ÜREME	45 °C'DE ÜREME	HEMOLİZ
Enterococcus	S-R	-	+	+	+	-	+	+	+	αγ
Streptococcus	S	-	-1	+	D	-	D	-	-	αβγ
Lactococcus	S	-	+	+	+	-	D	+	-	αγ
Aerococcus	S	-	D	D	-	-	+	D	-	α
Leucocnostonoc	R	+	-2	D	D	-	D	+	D	αγ
Pediococcus	R	-	-	-	+	-	D	-	D	α
Gemella	S	-	D	+	-	-	-	-	-	γ
Vagococcus	S	-	+	+	+	-	+	+	-	αγ
Tetragococcus	S	-	-	+	NA	-	NA	-	-	α

VAN: Vankomicin , GAZ: Glukozdan gaz oluşumu, LAP: Lösin amino peptitaz, PYR: Pyrrolidonyl-betanaphthylamine, D: Değişken, 1 Spogenes pozitifdir, 2 Lactococcus garviae pozitifdir.

Enterokoklar sorbitol, sorboz ve mannitol içeren besiyerlerinde asit oluşturabilmeleri ve arginini hidrolize etmelerine göre beş grup altında incelenir (9).

Grup 1. Mannitol, sorbitol ve sorboz içeren besiyerinde asit oluştururken, arginini hidrolize etmeyen bakteriler; *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. pallens*, *E. gilvus*.

Grup 2. Arginini hidrolize edip, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluşturan, sorbozdan asit oluşturmeyen bakteriler (sorbitollü reaksiyonları değişken); *E. haemoperoxidus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. mundtii*, *E. casseliflavus*, ve *E. gallinorum*.

Grup 3. Bu grupta bulunan türler D antijeni içermezler, arginini hidrolize edebilirken sorboz, mannitol ve sorbitol barındıran sıvı besiyerlerinin hiçbirisinde asit oluşturmeyen bakteriler; *E. dispar*, *E. villorum*, *E. durans*, *E. ratti*, *E. hirae*, *E. faecium* ve *E. faecalis*'in mannitol negatif varyantlarıdır.

Grup 4. Sorboz ve mannitol içeriği olan sıvı besiyerlerinde asit oluşturamadığı gibi arginini de hidroliz edemeyen bakteriler; *E. sulfurens*, *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve *E. cecorum*.

Grup 5. Arginini hidrolize edemedikleri gibi mannitollü sıvı besiyerinde asit oluşturma yetenekleri vardır, sorboz kullanarak asit oluşturamayan bu türler; *E. canis*, *E. columbae* ve *E. moraviensis*'tir.

Tablo 2. 2. Enterokok Türlerinin biyokimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması

<u>Grup I</u>	<u>GrupII</u>	<u>Grup III</u>	<u>Grup IV</u>	<u>Grup V</u>
<i>E.avium</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>E.durans</i>	<i>E.asini</i>	<i>E.canis</i>
<i>E.malodoratus</i>	<i>E.faecium</i>	<i>E.hirae</i>	<i>E.cecorum</i>	<i>E.columbae</i>
<i>E.raffinosis</i>	<i>E.casseliflavus</i>	<i>E.ratti</i>	<i>E.sulfurens</i>	<i>E.moraviensis</i>
<i>E.pseudoavium</i>	<i>E.mundtii *</i>	<i>E.dispar</i>	<i>E.phoeniculicola</i>	<i>E.casseliflavus*</i>
<i>E.palens</i>	<i>E. haemoperoxidus</i>	<i>E.faecalis*</i>		<i>E.faecalis*</i>
<i>E.gilvus</i>	<i>E. gallinorum</i>	<i>E.faecium*</i>		
<i>E.saccharolyticus</i>		<i>E.villorum</i>		

*Aynı türler farklı taşıdıkları özelliklere göre farklı gruplar içerisine dahil edilmiştir.

***E. faecalis*:** Gastrointestinal sistemin normal flora bakterisidir. Bunun dışında nadiren de olsa, ağız, hepatobiliyer sistem ve vajinadan da bulunabilir. İnsan enfeksiyonları bakımından önemli bir etkindir. İnsan dışında çeşitli hayvan türlerinden de izole edilmiştir. Yara enfeksiyonu, üriner sistem enfeksiyonu, pelvik apse, peritonit, bakteriyemi ve endokardit yapabilmektedir. Beta hemolitik olup, % 6.5 oranında NaCl ve pH 9.6 da üreyebilir.

***E. faecium*:** Sığır ve insan gastrointestinal sistemde bulunmaktadır. Çevresel alanlarda (sebze ve hayvan yemleri gibi) bulunabilir. İki biyotipi bulunmaktadır. *E. faecalis*'e göre antimikrobiyallere daha direçlidir. Alfa hemoliz yapar, %6.5'luk NaCl ve pH 9.6'da üreyebilmektedir.

***E. durans*:** Süt ve çeşitli gıdalardan izole edilebilmektedir. İnsan ve hayvanlarda nadiren, genito üriner sistem de ve barsakda bulunur. Alfa hemolitik olan bu bakteriler, % 6.5 NaCl içeren ve pH 9.6 olan ortamlarda üreyebilirken sıcaklığın 50°C olduğu ortamlarda üreyemezler.

***E. avium*:** Çeşitli hayvanlardan (tavuk, kuşlar, köpek gibi) izole edilmiştir. İnsan gastrointestinal sistemin florasında da bulunur. İnsanda otit, apendisit ve beyin apselerine neden olabilmektedir. Alfa hemolitik olup % 6.5'luk NaCl bulunan besiyerlerinde üreme oranları düşüktür. H₂S üretir, pigmentsizdir.

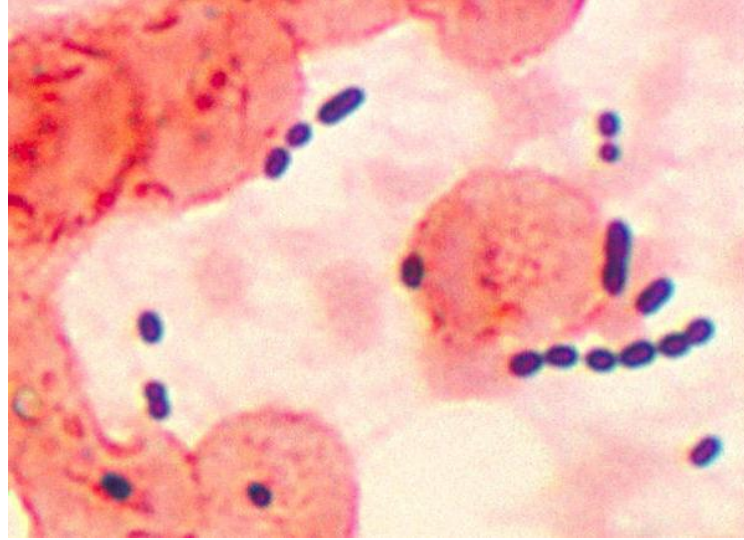
***E. casseliflavus*:** Vankomisine doğal dirençli olup, bitki ve toprakta bulunur. Fırsatçı enfeksiyonlara neden olur. % 6.5 oranında NaCl içeren ve pH'sı 9.6'da ürerler. Hareketli olup, sarı pigment oluşturabilmektedir.

***E. gallinorum*:** Evcil kuş gibi hayvanların gastrointestinal sistemlerinde flora üyesi olarak bulunur. Vankomisine düşük düzeyli bir yapısal direnç gösterebilir. Nonhemolitik, % 6.5'luk NaCl ve pH 9.6'da üreyebilir. Hareketlidir, pigment oluşturmaz.

***E. hirae*:** Domuz ve tavuklarda flora elemanı olarak bulunur. Önceden atipik *E. faecium* olarak kabul edilirdi. Hemoliz yapamaz. 10-45 °C derecelerinde ve % 6.5 NaCl içeren, pH 9.6'da ürerler (10).

2.2.2.Görünüm ve Boyanma Özellikleri

Enterokoklar tekli olarak, ikili olarak veya kısa zincirler oluşturarak görülebilen, Gram pozitif olan koklardır (Resim 2.1) (11).



Resim 2. 1. Enterokokların mikroskopik görüntüsü

Mikroskopik görünümüleri *S. pneumoniae* ile çok benzerdir. 0.5-1 μm çapında , tekli veya diplokoklar halinde bulunan ayrıca kısa zincirler olarak görülebilen, oval yuvarlak yada kokobasil şeklinde görülebilirler. Sıvı besiyerinde üretildiklerinde daha uzun zincirler oluştururlar. *E. casseliflavus*, *E. flavescens* ve *E. gallinorum* gibi bazı bakteriler hareketli olduğu halde çoğu hareketsizdir. Katalaz negatif olmalarına karşın bazı suşları ilk izole edildiklerinde görülemeyen ancak seri pasajlar ile yalancı katalaz aktivitesi gösterebilir. Bu, özellikle *E. faecalis*'de görülür (12).

2.3. Üreme Özellikleri

Enterokoklar fakültatif anaeroptur. Optimum 10-45 $^{\circ}\text{C}$ 'de üreyebilmektedirler. Yirmidört saatlik koyun kanlı agardaki taze kültürlerinde, 1-2 mm çaplarında , streptekoklara oranla daha iri, gri, kabarık veya beyaz renkli S tipi koloniler oluşturabilirler. Bazen zayıf bir alfa hemoliz meydana getirebilirler ama genel olarak nonhemolitiklerdir. *E. durans* ve *E. faecalis* suşları kanlı agarda beta hemoliz yapabilirler. *E. faecalis*'lerin bir kısmı insan, tavşan ve at kanlı agarda beta hemoliz oluşturabiliyorken koyun kanlı agarlarda hemoliz yapma yetenekleri yoktur. Alfa hemolitik olan suşlar peroksit üretimi yapan nonhemolitik suşlardır. Besiyerlerde yeşil renk oluşturmaları eritrositlerde bulunan peroksitin etkisi ile oluşmaktadır (13, 14).

Enterokok bakterileri % 6.5 oranında NaCl'de üreyebilirler, % 40 safra içeriğinde eskülünü hidrolize edebilirler (safra-eskülün içeren besiyerleri ile bu durum besiyerindeki

renk değişikliği ile gözlenebilir). Diğer alfa hemolitik streptokokların (*S. bovis* ve *viridans* streptokokla) bazıları safra-eskölünü hidroliz edebilirler (15,16).

E. columbae, *E. saccharolyticus* ve *E. cecorum* dışında kalan bütün enterokok türleri, PYR testi pozitifdir. Tüm suşlarda lösin aminopeptidaz aktivitesi görülebilmektedir.

Selektif besiyerlerinin içerisinde bulunan kimyasal maddelerden kaynaklı olarak koloni rengi değişmekte ve Gram negatif bakterilerinde içinde bulunduğu karışık örneklerden enterokokları ayırt etmede kolaylık sağlayabilir. Örneğin tetrazolium içeren agarda kolonilerin ortasında tuğla kırmızısı renk oluşmaktadır. Glikozdan gaz oluşturma yetenekleri yoktur ve glikoz fermentasyonun son ürünü laktik asittir. Karbon metabolizması, solunum, iyon transportu, stres cevapları, reaktif oksijen türleri metabolizmaları ve metabolik ihtiyaçları suştan suşa farklılık gösterebilmektedir. Örneğin *E. faecalis*'in üremesi için metionin, histidin, izolösin ve triptofan gerektirirken bazı türler ise ek olarak glutamat, arginin ve valine ihtiyaç duyarlar (17,18).

Enterokokların hücre duvarlarının % 40'ı peptidoglikan tabakadan oluşmaktadır. Enterokokların büyük bir kısmı Lancefield'in serolojik sınıflandırmasında D grubunda bulunan antiserumlar ile aglütinasyon verirler.

2.4. Genom Özellikleri

Hastane enfeksiyonlarından en fazla izole edilebilen *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarının bütün genom analizleri daha tamamlanmamıştır (19).

E. faecium ve *E. faecalis* suşlarında ilaç direncinde etkisi olduğu bilinen çok sayıda plazmid, integre plazmid geni, transpozon ve faj bölgeleri bulunmaktadır. Enterokoklar da ayrıca konjugatif transpozonlar aracılığı ile genetik bilgi değişimi olmaktadır. Transpozonlar da çeşitli ilaçlara direnç genleri taşımaktadır.

2.5. Epidemiyoloji

Enterokoklar dış ortam şartlarına dirençlidirler, toprak, su ve yiyeceklerde bulunurlar. İnsan ve hayvanların barsak florasında bulunurlar. Gaitanın gramında 10^5 - 10^7 cfu/mL bulunur. İnsanda en yaygın rastlanan türler *E. faecalis*, *E. faecium*'dur (20).

Daha az olarak orofarengial ve vajinal sekresyonlarda ve ciltte özellikle de perineal bölgede bulunmaktadır.

Enfeksiyonları genelde endojen kaynaklıdır. Nadiren hospitalize hastalarda eksojen kaynaklı olabilir. Nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan enterokok suşları, hastane ve sağlık personellerinin ellerinde, çevredeki yüzeylerde bulunabilmektedir (21, 22).

Enterokoklar nozokomiyal patojenler içerisinde en sık görülen ikinci bakteri türüdür. Nozokomiyal enterokok enfeksiyonu veya kolonizasyonu için özellikle vankomisin dirençli enterokoklarda (VRE) risk faktörleri; altta yatan ciddi hastalıklar, immünsupresyon, renal yetmezlik, intraabdominal ve kardiyotorasik cerrahi geçirmiş hastalar, üriner veya santral venöz katater gibi diğer invaziv prosedürler, hastane veya yoğun bakım ünitesinde uzun süre yatma, hastane içinde katlar arası hasta transferleri en büyük risk grubunu oluşturmaktadır. Önceden antibiyotik kullanımı da (özellikle geniş spektrumlu olanlar) dirençli enterokokların neden olduğu enfeksiyonlara zemin hazırlamaktadır. Enterokok enfeksiyonlarının yarısından fazlası nozokomiyaldir. Hastane kaynaklı enfeksiyonlarında da diğer nozokomiyal etkenlerde olduğu gibi çoğunluğu yoğun bakım ünitesi (YBÜ) hastalarında oluşur. Enterokoklar CDC tarafından 1990-1992 yıllarında *E.coli* ve stafilokoklardan sonra en sık görülen üçüncü nozokomiyal etken olarak bildirilmiştir. Bütün nozokomiyal enfeksiyonların % 9'unda ve nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonlarının yaklaşık %16'sında etkendirler. Tüm enterokok enfeksiyonlarının % 80-90'ından *E. faecalis*, % 5-10'undan *E. faecium* tarafından oluşturulur. Sağlık çalışanlarının elleri nozokomiyal enfeksiyonlarda başlıca kaynaktır. Özellikle hastaların dışkı ve idrarları ile çevresel alanların kontamine olması, iyi uygulanmayan dezenfeksiyon ve antisepsi sonucunda bakterilerin yayılmaları hızlanır. İlaç bağımlısı kişiler dışında direkt çapraz enfeksiyon görülme olasılığı azdır. Enfeksiyon öncesi hasta ve hastane personelindeki dirençli organizmalar sıklıkla gastrointestinal kanalda kolonize olmaktadır. Dirençli enterokoklar ile enfekte olmuş hastalarda bakteri uzun süre kolonizasyonunu sürdürmektedir. Sağlık personeli eli dışında, hastalarda ortak kullanılan (tansiyon aleti, termometre gibi) malzemeler de bakterinin yayılımında rol oynayabilir. Enteroklarda nozokomiyal etken olarak sık rastlanılmalarının yanı sıra kaygı verici gelişme dirençli izolatların yaygınlaşmasıdır. Çoğu antibiyotiğe yapısal özelliklerinden dolayı doğal dirençli olan enterokların tedavisinde yaygın kullanılan glikopeptidlere, direnç kazanması önemlerini daha da

artırmıştır. İlk olarak vankomisin dirençli enterokok (VRE) 1988 yılında ortaya çıkmış ve tüm dünyada hızla yaygınlaşmıştır. Özellikle tavuk yemlerine konan bir antibiyotik olan avoparsinin moleküler olarak glikopeptidlere benzemesinden dolayı bu direnç mekanizmasının başlangıç noktası olduğu bildirilmiştir. Ayrıca nozokomiyal enfeksiyonlarda saptanma oranları da 1989 yılından itibaren anlamlı oranda artmıştır. Vankomisin direnci *E. faecium* suşlarının yarısından fazlasında mevcutken bu oran *E. faecalis* suşlarında yaklaşık %2 oranındadır. Yoğun bakım ünitelerinde VRE insidansı diğer ünitelere göre daha yüksektir .

2.6. Virulans Faktörleri

Düşük virulanslı bakterilerdir. Bununla birlikte yapısal yada kazanılmış mekanizmalarla birlikte bir çok antikora karşı dirençli olmaları virulansta önemlidir (23,24).

2.6.1. Hemolizin ve Sitolizin

Önceleri hemolizin olarak tanımlanan sitolizin enzimleri, eritrositler üzerinde litik aktiviteleri olan proteindir. Sitolizin enzimini kodlayan gen kısmı plazmidlerin üzerinde veya bakteriyel kromozomlara entegre olarak bulunmaktadır. İmmün sistemdeki polimorfonükleer lökositlere ve makrofajlara zarar verici etkileri olduğundan ve direkt doku harabiyeti yapabildikleri belirtilmiştir. Bununla birlikte özellikle Gram pozitif olan bakterilerde bakteriyosin etkisi vardır. Toksinin insan ile at kanını içeren besiyerlerinde hemolitik aktiviteye sahipken, koyunların eritrositlerinde etkisizdir (25).

2.6.2. Jelatinaz

Jelatinaz enzimin varlığı ilk kez *E. faecalis*'in suşlarında bulunmuştur. Genel olarak tüm enterokoklarda jelatinaz üretiminden sorumlu tutulan 'fsr' geni saptanmıştır. Jelatinaz üretimi yapan suşların akut toksik etkileri üretim yapmayan suşlara oranla daha fazla olduğu bilinmektedir (26).

2.6.3. Enterokokal Surface Protein (ESP)

Enterokok yüzey proteini, endokardit ve bakteriyemi ile ilişkili olduğu bilinen yüksek moleküler ağırlıklı, konjugasyon ile izolatlar arasında aktarabilir özelliği bulunan bir

proteindir. *E. faecalis*'in kolaylıkla mesane epiteline yapışmasına yol açtığı gibi biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğu da bilinmektedir. Hücreye tutunmayı sağlayan karboksil ucu proteinin iç kısmında tekrar eden ünitelerden oluşabilmektedir ve moleküle esneme, kısalma gibi özellikler verebilmektedir.

2.6.4. Agregasyon faktörü

Agregasyon faktörü bir yüzey proteinidir. Hücre ile hücre arasındaki etkiyi düzenleme, hücre dışında bulunan matriks proteinlerine adezyonla konak hücre yüzeyine yapışma ve hücre yüzeyinin hidrofobitesini artırması ile ilgilidir. Agregasyon faktörü, enterokokların birçok dokuya (kalp kapakları, böbrek epitel hücreleri gibi) bağlanabilme ve bu sayede genito üriner sistem ve endokardit enfeksiyonu oluşturma yeteneğini sağlamaktadır (27).

2.6.5. Yüzey yapışma faktörü

Hücre dışında bulunan matriks proteinlerine tutunmayı sağlayan protein çeşididir. Özellikle *E. faecalis*'in oluşturduğu endokarditlerde önemli bir virülans faktörüdür.

2.6.6. Lipoteikoik Asit (LTA)

Lipoteikoik asit, enterokokların yapısında bulunan bir antijendir ve virülans etkisi vardır. AS-48 plazmidi tarafından kodlanır, *E. faecalis*'in bazı suşları tarafından salınır. Litik aktivite gösterebilir (28).

2.6.7. Süperoksit

E. faecalis suşlarının büyük bir kısmında bulunur. Süperoksit üretimi yapan bakterilerin yaşam sürelerinin uzadığı bilinmektedir. Enterokokların neden olduğu, bakteriyemi ve endokarditli hastalardan izole edilen izolatların daha fazla süperoksit radikali ürettiği gösterilmiştir.

2.6.8. Seks Feromonları

Seks feromonlarının kromozomlarda kodlanabilen, 7-8 amino asit kadar küçük, hidrofobik peptit yapıları vardır. *E. faecalis* bakterilerinde sinyal peptitlerinin yerine işlev görebilmektedirler. Antibiyotik direnci ile birlikte virulans etkileri *E. faecalis* suşlarında görülmektedir (29).

2.6.9. Hyaluronidaz

Hyaluronidaz, bağ dokusunun önemli bir yapı taşı olan hyaluronik asiti parçalayarak doku hasarlarına yol açtığı bilinen bir enzimdir. Bakterinin bağ dokuda yayılmasını sağlamaktadır.

2.6.10. Kapsül, Hücre Duvarı Polisakkaritleri

E. faecalis'in izolatlarının genelinde üretilen kapsül polisakkaritleri kodlayabilen gen bölgeleri bulunur. Kapsülün, *epa* ve *cps* operonlarında üretilen bir polisakkarit olduğu düşünülmektedir. Bakterinin immün yanıttan kaçmasını kolaylaştırarak virulansa katkıda bulunmaktadır.

Enterokoklarda hücre duvarı, beta-D glikoz-1-fosfat, teikoik asit ve tetra-heteroglikan komponentlerinden oluşmaktadır. İmmünite için hedef rolü oynayabilirler. Bu sebeple aşı oluşturmada üzerinde çalışılan bölgelerdendir.

2.6.11. AS-48

E. faecalis S-48 suşu kullanılarak izole edilmiştir. Peptit yapısında olan bakteriyosindir. Birçok bakteriye karşı sitolitik aktivite göstermektedir. Hedef hücrede sitoplazmik membran potansiyelinin bozulmasına neden olabileceği düşünülmektedir.

2.7. Enterokokların Yaptığı Hastalıklar

Enterokoklar birçok enfeksiyon hastalığının etyolojisinde rol oynamaktadır.

2.7.1. Üriner Sistem Enfeksiyonları

Enterokokların yaptıkları enfeksiyonlarda ilk sırada üriner sistem enfeksiyonları gelir. Unkomplike piyelonefrit, sistit, prostatit ve renal abselere neden olmaktadır. Çoğunlukla nozokomial üriner enfeksiyonlara neden olurlar. ABD’de nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonlarında ikinci sırada yer alır (30).

Ülkemizde yapılmış olan çok merkezli bir çalışmada nozokomiyal üriner sistem enfeksiyonlara en çok neden olan beşinci etkeni enterokoklar oluşturmaktadır.

2.7.2. Endokardit

Bakteriyel endokarditlerin % 5-15’lik kısmını enterokoklar oluşturur. Tüm endokarditler içinde de en sık rastlanılan üçüncü etken, enterokoklardır. Endokardite yol açan sebeplerden bir tanesi damar içinden ilaç kullananlar gibi altta yatan bir nedenle yatkınlık sonucu gelişebildiği gibi hazırlayıcı bir faktör olmadan da doğrudan gelişebilmektedir (31).

En sık dejeneratif kalp hastalığının arttığı 50 yaş ve üzeri yaş grubunda ve genitoüriner sorunları olanlarda rastlanır. İntravenöz ilaç bağımlılığı da bu enfeksiyonlar için risk faktörüdür. Kadınlarda ise daha genç yaşlarda sık olarak görülür. Enterokok bakterileri prostetik kapakta oluşan endokarditlerinin % 6-7’lik kısmından sorumlu tutulmaktadır. Hastalık genel olarak subakut olmakla birlikte bazen akut seyredebilir (32, 33).

2.7.3. Bakteriyemi

Enterokokkal bakteriyemilerin % 78’i hastanelerde görülmektedir. Bu bakteriyemilerin bir kısmında endokardit de vardır. Toplum kaynaklı bakteriyemilerde endokardit daha sıktır.

Polimikrobiyal bakteriyemilerde en sık neden, Gram pozitif enterokoklardır. Vakaların büyük bir kısmında intravasküler veya üriner katater bulunurken, biliyer, intraabdominal, pelvik ya da yara enfeksiyonlarına kaynak olabilir.

Ko- morbit sebeplerin varlığında mortalite % 50'nin üzerine çıkmaktadır.

2.7.4.Yara ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Enterokoklar nadiren derin yumuşak doku, sellülit enfeksiyonlarına neden olabilirler.

2.7.5.İntraabdominal ve Pelvik Enfeksiyonlar

Enterokoklar barsakta diğer enterik bakterilerle birlikte bulunabilirler ve burada intraabdominal enfeksiyon yapabilirler. İntraabdominal enfeksiyon enterokokların ikincil sıklıkla yaptığı enfeksiyon türüdür. Ayakta periton diyalizi yapan hastalarda nadiren peritonit yapabilirler.

2.7.6. Neonatal Enfeksiyonlar

Enterokokkal sepsis ve menenjit sık olup, tüm olguların %13'ünde enterokoklar etken olarak soyutlanır (34).

Bu enfeksiyonların gelişiminde düşük doğum ağırlığı, erken membran rüptürü, prematürite ve uygulanan uzun süren hastane yatışları, sefalosporin kullanımı, invaziv girişimler gibi etkenler en sık rastlanılan risk faktörlerini oluşturmaktadırlar.

2.7.7. Santral Sinir Sistemi Enfeksiyonları

Sağlıklı bireylerde enterokoklar nadiren de olsa menenjit etkeni olmaktadır. Enterokokkal menenjitler kafa travmaları, beyin cerrahi girişimlerinden sonra yada santral sinir sistemlerinde anatomik olarak defekti bulunan hastalarda görülmektedir. Bununla birlikte AIDS, bakteriyemiler ve akut lösemiye benzer şekilde immünsüprese olmuş hasta gruplarında da enterokokların neden olduğu menenjitlerine rastlanmaktadır (35).

2.7.8.Solunum Sistemi Enfeksiyonları

Enterokoklara bağılı solunum yolu enfeksiyonları oldukça nadir görölmektedir. Enterokokların neden olduğu pnömoni ve akciğer apsesi olguları genellikle altta yatan kronik başka hastalıkların varlığı ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ile ilişkilidir.

2.7.9.Diğer Enfeksiyonlar

Enterokoklar diyabetik veya nondiyabetik olan hastalarda nadiren kronik osteomyelite sebep olmaktadır. Bu hastalarda enfeksiyon polimikrobiyal özellik gösterir ve enterokokların yanı sıra *S.aureus* da enterokoklar ile birlikte izole edilmektedir. Bu hastalıklara ek olarak otitis media ve pnömoni enterokokların oluşturduğu diğer enfeksiyonları oluşturur.

2.8. Enterokokların Antibiyotik Dirençleri

Enterokoklarda intrinsek (yapısal) olan ve kazanılmış olan direnç mekanizması vardır. Kazanılmış direnç mekanizmaları ile enterokoklar birçok antibiyotiğe dirençli hale gelebilir (36).

2.8.1. İntrensek (yapısal) Olan Direnç

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

2.8.1.1 Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Olan İntrensek Direnç

Enterokoklarda bulunan intrinsek penisilin direnci beta-laktam antibiyotiklerine karşı düşük bağlanma afinitesi gösterir. Bu temelini PBP-5 enziminden almaktadır.

E. faecalis'in penisiline karşı olan MİK değerleri diğer streptokok türlerinden fazladır. *E. faecalis* suşlarının penisiline olan direnci, *E. faecium* bakterisinden daha fazladır. Yarı sentetik, penisilinaza dirençli olan beta-laktam grubunda antibakteriyel ilaçlara karşı direnç yüksektir.

Enterokoklarda beta-laktam antibiyotiklerine karşı direnç türlere göre farklılıklar gösterebilir. Beta-laktam grubundaki antibiyotikler enterokoklara karşı bakterisidal değil, bakteriyostatik olarak etkindir.

2.8.1.2. Aminoglikozid Antibiyotiklere İntrensek Dirence Sahip Olan Enterokoklar

Enterokoklar düşük düzey aminoglikozid direnci gösterirler. Bu tipte olan dirençte iki mekanizmadan söz etmek mümkündür. Birinci olan mekanizma bütün enterokok türlerinde vardır ve bakteri duvarının bu gruptaki antibakteriyel ilaçlara geçirgenliğinin düşük olmasından kaynaklanmaktadır. İkinci mekanizma ise yalnızca *E. faecium* bakterisinde bulunmaktadır.

E. faecium aac6'-li gen tarafından kodlanan 6' asetiltransferaz (AAC-6') enziminden kaynaklanmaktadır. Bu enzim aminoglikozidlerin yapısındaki amino grubunda asetil-CoA'yı modifiye eder. Bu ilaçlar sitoplazmada inaktif formdadır. Bu enzim aminoglikozidlerden gentamisin dışında (kanamisin, netilmisin, isepamisin, sisomisin ve tobramisin) kalan antibiyotiklere etki eder (37).

Aminoglikozid grubundaki antibakteriyel özellikte bulunan ilaçlar, beta-laktam antibiyotikleri veya vankomisin gibi hücre duvarının sentezine etki ederek bunu engelleyen antibiyotik grupları ile kombine edilecek olurlarsa, zedelenmiş olan hücre duvarından antibakteriyeller daha kolay geçebileceğinden etkileri artar. Aminoglikozid ve β -laktam antibiyotiklerinin enterokoklara karşı sinerjistik etkisi buna bağlıdır.

Enterokoklar linkozomid grubundaki antibiyotiklere karşı da düşük olan düzeylerde intrinsek bir şekilde direnç gösterebilirler.

Enterokoklar ekzojen folat kullanılacak kapasiteye sahiptirler. Bundan dolayı trimetoprim-sulfametaksazole intrinsek olarak dirençlidirler. İn vitro etkili olsa bile in

vivo olarak etkisizdir. Bu sebepten dolayı TPM-SMX'in test edilmesine gerek yoktur (38).

2.8.2. Kazanılmış Direnç

Kazanılmış direnç mekanizması genel olarak DNA mutasyonu veya yeni oluşan DNA segmentinin transferi sonucunda gelişmektedir. Enterokok bakterilerinde yeni oluşan DNA segmenti transferinden en fazla sorumlu tutulan mekanizma konjugasyon mekanizmasıdır.

2.8.2.1. Beta-laktam Antibiyotiklerine Karşı Kazanılmış Olan Direnç

Enterokok bakterilerinin iki farklı direnç mekanizmasının yanı sıra beta-laktam grubunda bulunan antibiyotiklere karşı direnç kazandığı belirtilmiştir. Bunlardan birincisi *E. faecium*'unsuşlarında görülür. Penisiline olan afinitenin azalması ile PBP 5 oranının artması sonucunda ortaya çıkan direnç mekanizmasıdır (39).

İkincisi ise beta-laktamazın üretimi oluşturmaktadır. Beta-laktamaz suşları ilk olarak 1981 yılında Amerika'da keşfedilerek kayıtlara geçmiştir. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda enterokoklarda beta-laktamaz kaynaklı dirence rastlanılmamıştır.

Enterokoklarda bulunan beta-laktamazlar, gentamisine direnç genini içeren bir plazmidin üzerine kodlanmışlardır. Enterokoklarda bulunan beta-laktamazlar ampisilin, penisilin, piperasilin ve diğer üreidopenisilin grubu antibiyotikleri hidrolize edebilirken; penisiliaza dirençli olan sefalosporinlere, penisilinlere, imipeneme etki etmezler.

Beta-laktamaz oluşturabilen suşlar rutin olarak güvenli bir şekilde belirlenemezler. Bu nedenle nitrosefin deneyleri önerilmektedir. Beta-laktamaz üretebilen enterokokların belirlenemediği bölgelerde, rutin olarak beta-laktamaz testleri yapılmaz.

2.8.2.2. Aminoglikozid Antibiyotiklerine Karşı Kazanılmış Direnç

Aminoglikozidler ribozomların 30 S alt birimine bağlanıp protein sentezini inhibe edebilirken, bununla birlikte hücre duvarında bulunan polisakkaritleri birbirine

bağlayabilen Mg^{+2} ve Ca^{+2} 'nin elementlerinin yerine de geçebilirler. Hücre duvarında bulunan delikler oluşmasına rağmen hücre duvarının permabilitesini bozarlar. Enterokok bakterilerinde kazanılmış yüksek düzeyde bulunan aminoglikozid direnci (YDAD) yaygın halde bulunmaktadır.

YDAD üç adet temel mekanizma ile oluşmaktadır.

1. Ribozomal bağlanma bölgelerindeki değişiklikler,
2. Aminoglikozid geçişlerinin değişmesi durumlarında,
3. Aminoglikozidleri modifiye eden enzimlerin üretimleri,

Bir ribozomal proteinde oluşan tek bir aminoasit değişikliği, antibiyotiğin ribozoma bağlanmamasına, yada düşük afiniteye neden olur. Enterokok bakterilerinde ribozomal bağlanma bölgelerinin değişikliği ile oluşan bu direnç, bütün aminoglikozid gruplarına karşı direnci oluşturur.

Aminoglikozid geçişinin değişmesi sonucunda oluşan direnç kromozomal genler tarafından kontrol edilmektedir.

Enterokoklarda YDAD'nde en fazla görülebilen mekanizma aminoglikozidleri modifiye eden enzimin üretimidir. Enzimleri kodlayabilen genler transpozon ve plazmid kaynaklı olabilmektedir.

Üç çeşit aminoglikozidi modifiye edici enzim mevcuttur; bunlar, asetiltransferaz, adeniltransferaz, fosfotransferazdır.

Aminoglikozidi modifiye eden enzim gruplarını kodlayabilen direnç genleri gentamisin, kanamisin ile netilmisinde bulunurken, streptomisinde ise bulunmaz.

YDAD saptamak için disk difüzyon, agar dilüsyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır.

Ülkemiz genelinde gram negatif bakterilerin aminoglikozidlere karşı oluşturdukları direnç mekanizmalarını araştıran bir çalışmada, *E. coli*, *Klebsiella* spp. , ve *Enterobacter* spp.'de en çok bulunan beş enzim ve direnç oluşturdukları bilinen

aminoglikozidlerin AAC(3)-II (gentamisin-tobramisin-netilmisin), ANT(2'')-I (gentamisin-tobramisin), AAC(6)-I (tobramisin-netilmisin-amikasin), AAC(6')-III (gentamisin-tobramisin-netilmisin-amikasin-iseepamisin) ve AAC(6')-IV (gentamisin-tobramisin-netilmisin-amikasin) olduğu ve bu enzim gruplarının bir kaçının aynı bakterilerde bulundukları bildirilmiştir. *P. aeruginosa*'da ise aminoglikozidlere karşı en yaygın direnç mekanizmasının tüm dünyada olduğu gibi geçirgenliğinin azalmasına bağlı olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, ülkemizde *P. aeruginosa*'nın aminoglikozid antibiyotiklere karşı yüksek orandaki direncini açıklamaktadır. Aminoglikozidleri değiştiren enzimlerin büyük bir kısmı plazmidlerin kontrolü ile sentezlenebilmekte ve bu enzim gruplarının sentezinden sorumlu olan genler çoğu kez transpozonlarda taşınabilmektedir. Bu transpozonlar aynı zamanda farklı grup antibiyotiklere de direnç oluşturduğundan, aminoglikozidler dışındaki antibiyotiklerin kullanımı da aminoglikozidlere direncin artışına yol açmaktadır.

2.8.2.3. Glikopeptid Antibiyotiklere Karşı Direnç

Glikopeptid grubunda bulunan antibiyotikler, hücre duvarının sentezi sırasında peptido glikan polimerlerinin tamamını oluşturabilecek öncül olan maddelerden olan D-ala-D-ala'nın terminal uç kısmına bağlanarak hücre duvarı sentezini bozarlar. Vankomisin dirençli enterokoklarda ise ligaz, D-ala-D-ala ucunun yapısını değiştirir ve D-ala-D-ala-laktat veya Dala-D-ala-serin meydana getirir. Bu uç kısmına vankomisinin bağlanma özelliği çok azalır. Dirençlerin sınıflandırılmasında önceden izolatlardaki MİK değerleri baz alınarak yapılabilmektedir. Günümüz koşullarında ise sınıflandırmada spesifik olan ligaz genlerinin varlığına göre yapılmaktadır. VanA, VanB ile VanD tipindeki dirençler; D-ala-D-ala-laktat, VanC ve VanE tipindeki dirençlerde ise D-ala-D-ala-serin yapabilmeleri ile ilişkilidir.

Enterokok bakterilerinde glikopeptidlere karşı oluşan antibiyotik direncini ilk olarak 1980'li yıllarda Uttley ve arkadaşları ile bildirilmiştir (40).

VRE olgusunun ilk olarak ülkemiz de 1998 yılında Antalya'da bir çalışmada Tümer ve arkadaşları ile rapor edilmiştir. Bunun arkasından çeşitli hastane izolatlarından olguların yanı sıra epidemilerde kayıt altına alınmıştır (41).

Enterokoklarda son çalışmalara kadar glikopeptidler için tanımlanabilmiş olunan altı adet direnç fenotipi bulunmaktadır; VanA, VanB, VanC, VanD, VanE, VanG'dir.

VanA tipi direnç: En sık bulunan direnç çeşididir. Vankomisin kısmından yüksek, teikoplanin kısmından ise zayıf olarak indüklenebilir özelliği olan direnç olarak gözükür. İndüklenebilir yeteneği olan VanA direncinin mekanizmasında sadece vankomisin varlığında oluşan PBP'lerin artışı sonucunda beta-laktam antibiyotiklerine karşı bir duyarlılık oluşmaktadır.

VanB tipi direnç: Enterokoklarda VanB tipi direnç glikopeptidler aracılığı ile oluşan direnç VanA ligazına yapısal olarak benzerlik gösteren VanB ligazı ile oluşmaktadır. Kromozomal yerleşimlidir, ancak transpozon (Tn 1547, Tn 5382) veya plazmidlerin üzerlerinde de bulunabilir ve transfer edilmektedir. Genetik anlamda VanA ile VanB ortak özelliklerinin yanı sıra aralarında bazı mevcut olan farklı özelliklerde bulunmaktadır. Vankomisin ile indüklenen direnç mekanizmasına sahiptir. VanB sadece *E. faecium* ve *E. faecalis*'de vardır.

VanC tipi direnç: Bu grupta vankomisine düşük düzeyde direnç söz konusu olmaktadır. Bu tip direncin *E. gallinorum*, *E. casseliflavus* ve *E. flavesceus* suşlarında varlığı bilinmektedir. Bu direncin VanC-1, VanC-2, VanC-3 olarak toplamda üç alt tipi mevcuttur. Bu gen gruplarının türlere özgü olduğu varsayılmaktadır. (*E.gallinorum*-vanC-1, *E.casseliflavus*-vanC-2 ve *E. flavesceus*-vanC-3). VanC tipindeki dirence sahip suşlar teikoplanine karşı duyarlı olmaktadırlar. Yapısal anlamda indükleme yapamaz ve transfer edilemezler.

VanD tipi direnç: Bir tek *E. faecium*'da saptanmıştır. VanD geni izolatlarda yapısal olarak hem vankomisine (MİK 64-128 µg/mL) bunun yanı sıra teikoplanine (MİK 4-64 µg/mL) dirençli haldedirler. VanD geni yapısal olarak kromozomaldır ve konjugasyon ile transferi söz konusu değildir.

VanE tipi direnç: *E. faecalis*'in BM4405 izolatında saptanmıştır. Düşük oranda vankomisin direnci (MİK 16 µg/mL) vardır. Teikoplanine karşı hassastır (MİK 0.5 µg/mL). VanE geni konum olarak kromozomların üzerlerinde bulunur ve transferi mümkün değildir. Yeni olan bu direnç fenotip olarak VanC tipindeki direnç ile az da

olsa benzerlik göstermektedir. Fakat VanE tipinin direncini genetik belirleyicisi farklıdır ve intrinsek olan bir direnç oluşturmazlar.

VanG tipi direnç: İlk olarak bu direnç *E. faecalis* bakterisinin WCH9 suşlarında tanımlanmıştır. Tipik olarak düşük oranda vankomisine direnç gösterir (MİK 12-16 µg/mL), teikoplanin antibiyotığına ise duyarlıdır (MİK 0.5 µg/mL). Enterokok bakterilerinde glikopeptidlere olan direncin en sakıncalı kısmı laboratuvar ya da klinik koşullar altında bu direnç mekanizmasından sorumlu genlerin diğer Gram pozitiflere aktarılabilmesi oluşturmaktadır.

2.8.2.4. Diğer Antibiyotikler

İlk olarak 1964 yılında direnç genlerinin bir enterokoktan diğer enterokoka transferi kayıtlara altına alınmıştır (kloramfenikol direnci). Yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda enterokok bakterilerinin kloramfenikol antibiyotığına direnç gösterdiği ve bu dirençten en fazla sorumlu tutulan mekanizmanın kloramfenikol asetiltransferaz üretimi olduğu bilinmektedir. Eritromisin direnci de diğer enterokoklarda bulunan bir direnç türüdür ve genel olarak ermB gen yapısı bu direnç ile ilişkili olduğu bilinmektedir. ermB geni, ribozomal olan RNA'nın metilasyon yapmasından sorumlu olmaktadır. Tetrasiklin antibiyotığına olan direnç enterokoklarda konjugasyon ile kazanılmış olan direnç mekanizmasının en tipik örneklerini oluşturur. Bunun yanı sıra kinopristin-dalfopristin, rifampin ve linezolid karşı da yine direnç gelişebilmektedir.

2.9. Vankomisine Bağımlı Enterokoklar (VBE)

Vankomisin tedavisi gören hastalardan alınan kültürlerde saptanan enterokoklarda belirlenmiş olan bir tablodur. Bu izolatların bazılarının subkültürlerde üremedikleri, ancak vankomisin diskinin çevresinde yada vankomisin içeriği olan besiyerlerinde üredikleri anlaşılmıştır. VBE'lerden *E. faecium*, *E. faecalis* idrar, kan ve gaitadan izole edilir. VBE'lerin pulsedfield jel elektroforezi ile VRE'ye benzer DNA paternine sahip olduğu bilinmektedir. VanA ve VanB tarafından sentezlenebilen D-ala-D-ala-lac, vankomisin indüksiyonun sonucu olarak üretilmiştir.

2.10. Vankomisine Dirençli Enterokok Saptama Yöntemleri

VRE sayısındaki son yıllarda artışın nedeni ile bu bakterinin insanlardan ve hayvanlardan erken izolasyonunu sağlayabilmek için vankomisin içeriği olan besiyerlerine olan ihtiyaç ortaya çıkmıştır. VRE'nin kolonizasyon tespiti için kullanılmakta olan bir yöntem yoktur. Gerek enterokokkosel-vankomisin broth gerekse brain-heart infüzyon (BHI)-vankomisin agar, VRE'nin fekal örneklerinde hızlı ve selektif bir şekilde izolasyonunu sağlamaktadır.

Enterokokkosel sıvı besiyeri ile brain heart infüzyon agar kolaylıkla bulunabilmektedir. Bunların içerisine (6 µg/mL) sonradan vankomisin de eklenebilmektedir. Düşük düzeyli dirence neden olan VanB veya VanC tipi izolatların özellikle de VanC genotipini taşımakta olan *E. casseliflavus* ve *E. gallinorum* gibi türlerde disk difüzyon testi direncin belirlenmesinde yetersiz kalır. Vankomisinli tarama besiyerleri bu amaçla kullanılmalıdır. Vankomisin tarama besiyerleri de yetersiz olursa tür düzeylerinde tanımlama yapılması önerilir. Tarama besiyerlerinde *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerinin VanA veya VanB tipi direnci ayrı ayrı saptanabilmektedir. Yapısal dirençli izolatlarda var olan VanC tipi direncin saptanmasında gerekirse vankomisin MİK düzeyleri saptanmalıdır. VanC tipindeki direnç 16 µg/mL'nin üzerine çıkmazken, VanA ve VanB tiplerindeki dirençlerde MİK 32 µg/mL'nin üzerindedir. VanC izolatlarında ampisilin ve aminoglikozide direnç yoktur.

Bazı rehberler disk difüzyon yöntemi ile duyarlı halde bulunan izolatlarda kesin olarak MİK belirlenmesini önermektedir. MİK yada disk difüzyon değerlendirilmelerinde tam 24 saatlik inkübasyon süresi tamamlanmalıdır. VanB ve VanC tiplerindeki direncin saptanmasında otomatize sistemler yetersizdir. Agar tarama, laboratuarlarda en çok kullanılan ve kolay bir yöntemdir. Özellikle rektal sürüntü örneklerinden sürveyans amacıyla alınan örneklerde, 6 µg/mL vankomisin ve 4 µg/mL seftazidim içeren D-Coccosel agara ekim yapılması ve 37 °C'de 24-72 saat süreyle inkübe edilmesi önerilmektedir. Bu tür selektif besiyerlerinde saptanan siyah renkli kolonilerden kanlı agarlara pasajlar yapılarak tür düzeylerinde tanımlama yapılmalıdır. Sürveyansda eredikasyon üst-üste en az üç hafta alınan kültürlerde negatif sonuç olarak tanımlanmalıdır. Testlerde *E. faecalis* ATCC 29212 suşunun kalite kontrolü için kullanılması önerilir. Vankomisin tarama besiyerlerinin özgüllüğü ve duyarlılığı yüksektir (sırasıyla % 96-99, % 100). Özellikle *E. flavescens* ve *E.gallinorum* gibi

intrensik olarak VanC direnç mekanizmasına sahip izolatların ayırımında yetersiz kalmaktadır.

Önemli enterokok enfeksiyonlarında hücre duvarlarına etki gösterebilen antibiyotik grupları ve streptomisin, gentamisin duyarlılıkları mutlaka çalışılmalıdır. Çünkü bu grupta bulunan ilaçların dirençli olmaları sinerjistik etkiyi ortadan kaldırmaktadır. Enterokoklarda trimetoprim-sülfametoksazol, aztreonam, klindamisin, oksasilin, metisilin sefalosporinlere standart konsantrasyonlarında aminoglikozid grupları test edilmeyen antibiyotikler sınıfını oluşturur.

2.11. Enterokok Enfeksiyonlarında Tedavi

Enterokok enfeksiyonlarının tedavisi, farklı özellikte antibiyotik duyarlılık özellikleri göstermeleri ve bunun tümünün laboratuarlarda aynı anda tespit edilememesinden dolayı son derece zor ve karmaşıktır (56).

Ampisilin, vankomisin, penisilin G ve teikoplanin gibi hücre duvarında etki gösteren ilaçlar, klinik anlamda ulaşılabilir konsantrasyonlarda olan enterokoklarda bakteriyostatik etkilidir. Bununla beraber bakterisidal bir ajanla kullanıldıklarında sinerjistik etki gösterebilirler (42).

İmmun sistemi normal hastalarda gelişen, peritonit, genito-üriner sistem enfeksiyonu, yumuşak doku enfeksiyonları gibi enfeksiyonların varlığında bakterisid etkili olmasalar da beta-laktamlar monoterapide kullanılabilir. Bu enfeksiyonlarda ampisilin, penisilin yada amoksisilin kullanılabilir. Tavsiye edilen tedavi süreleri 7-14 gündür. Daha geniş etki spektrumu sağlanmak istenen enfeksiyonlarda üreidopenisilinler tercih edilebilir. Penisiline alerjisi bulunan hastalarda yada yüksek oranda penisilin direnci bulunan türlerde (*E. faecium*) glikopeptid grubundan bir antibiyotik kullanılması yerinde olmaktadır. Nitrofurantoin enterokokların oluşturduğu suşların büyük bir kısmında etkili olduğundan (% 90-96) genito üriner sistemin enfeksiyonunda kullanılır.

Fosfomisin de in vitro koşullarda enterokoklarda yeterli düzeyde etkin olduğundan genito üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır (43).

Kinolonlar da nitrofurontoin gibi ürener sistem enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Fakat genito ürener enfeksiyonların dışında başka enfeksiyonlar da var ise kinolonlar kullanılamaz. Gatifloksasin, levafloksasin ve moksifloksasin; ofloksasine ve siprofloksasine göre enterokok bakterilerine karşı invitro olarak daha etkili olmaktadırlar. Kinolon grubunda bulunan antibiyotiklerin çoğul direnç gösteren enterokok enfeksiyonlarında etkileri kısıtlıdır.

Hızlı direnç gelişme riskinden dolayı rifampisinin tek başına kullanılmaması önerilir.

Enterokoklarla oluşan menenjit ve endokardit gibi sistemik enfeksiyonların tedavilerinde sorun oluşabilmektedir. Enterokokkal endokardit olduğu bilinen hastaların büyük bir kısmında sadece penisilin kullanılmasının tedaviye katkısı yoktur.

Bu tür enfeksiyonun tedavilerinde, klasik tedavi protokolü, beta-laktam bir antibiyotiğin, aminoglikozid grubu bir antibiyotikle kombine kullanılmasıdır. Bu kombinasyonla sağlanan sinerjik etki, her iki grup antibiyotiğin de etkisinin tek kullanılandan daha fazla olmasını sağlamaktadır. Endokarditlerin tedavilerinde günlük olarak gentamisinin dozunun iki yada üçe ve bunun yanında streptomisinin dozunun iki eşit parçaya bölünerek verilmesi önerilmektedir.

Enterokokların oluşturduğu endokardit tedavilerinde dört haftalık süre yeterli olmaktadır. Fakat semptomların süreleri üç aydan daha uzun olan hastalarda, mitral ve prostetik kapak tutulumunda, relapslarda, altı hafta süren bir tedavi uygulanır. Menenjitlerde ise iki-üç haftalık tedavi uygulanır. VRE'nin zıt olan afinitesi ve BOS içinde geçişi gayet iyi olan linezolid grubu antibiyotikler enterokoklara karşı bakteriyostatik etkisi vardır.

Beta-laktamaz üretimi yapan enterokokların neden olduğu enfeksiyonlarda, beta-laktam antibiyotiklerin, beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonları kullanılabilir (piperasilin-tazobaktam, ampisilin-sulbaktam ve amoksisilin klavulanik asit gibi). Teikoplanin ve vankomisin gibi hücre duvarında etkili olan glikopeptid grubu antibiyotikler de bu grup hastalarda kullanılabilir (44). Teikoplanin özellikle VanB tipinde direnç gösteren VRE suşlarında etkilidir. VanB tipinde bulunan VRE'lerin sebep olduğu bilinen endokarditlerinde tedavilerinde teikoplanin ile birlikte diğer aktif olan bir ajan (örneğin aminoglikozid) kombinasyonu birlikte kullanılabilir.

Yüksek düzeyde penisilin direnci olan *E. faecium* enfeksiyonlarının tedavisinde vankomisin verilmelidir. Büyük bir çoğunluğu vankomisin dirençli enterokoklar (özellikle *E. faecalis*) ampisilin veya penisiline duyarlı olabilir. Bu tür VRE enfeksiyonlarının tedavisinde ampisilin veya penisilin kullanılabilir. Vankomisine dirençli *E. faecalis* enfeksiyonları, penisiline karşı alerjisi yoksa, 8-12 gr/gün ampisilin kullanımı tedavi için yeterlidir.

Bununla beraber hem penisilin hem de vankomisine yüksek oranda dirençli izolatlarda (genellikle *E. faecium*) tedavileri büyük bir sorunu oluşturmaktadır. Bu izolatlarda ampisilin MİK değeri $\leq 64 \mu\text{g/mL}$ ise yüksek dozlarda ampisilin kullanılması tedavide etkili olabilir. MİK değeri $100 \mu\text{g/mL}$ 'nin üzerinde bulunan *E. faecium*'da ise yeterli oranda serum seviyesi sağlanamaz.

VRE izole edildiği bilinen hastaları tedavi etmeye başlamadan önce, karar verilmesi gereken nokta kolonizasyon-enfeksiyon ayırımının yapılmasıdır.

Sistemik yada lokal enfeksiyon bulguları olmayan hastalarda yüzeysel alanlardan, intraperitoneal, değiştirilen intravasküler kateterlerden ve safra drenlerinden ve piyüri olmadığında idrardan VRE izole edildiği zaman, kolonizasyon olarak değerlendirilip, antibakteriyel tedavi verilmesi önerilmemektedir.

Yeni geliştirilmiş antibiyotik gruplarından bazıları (linezolid, everninomisin, kinopristin-dalfopristin, LY3328 (yeni olan bir glikopeptid türetilmesi) çoklu dirençli enterokokların tedavilerinde umut vericidir. Çoğunlukla klinik veri dalfopristin-kinopristin (streptogramin A-streptogramin B) için vardır. Bu ilaçlar, *E. faecalis* için etkili olmazken, *E. faecium*'a karşı bakteriyostatik etkilidir. Oksazolidinon, linezolid sınıfında yer alan sentetik olan bir antibiyotiktir. Vankomisin dirençli olan *E. faecium* ve *E. faecalis*'e karşı bakteriyostatik etkisi vardır. Fakat linezolid tedavisinden sonra dirençli olan enterokok suşları gelişebilmektedir (45).

Kloramfenikol çoklu ilaç direnci olan *E. faecium* izolatlarına karşı in vitro etkilidir. Fakat bazı VRE suşlarında kloramfenikol direncine rastlanabilmektedir Kloramfenikol enterokoklara karşı bakteriyostatik etkilidir.

Yeni kullanıma başlanan kinolonlar, özellikle sitafloksasin ve klinafloksasin VRE'lere karşı, eski kinolon grubunda bulunan antibiyotiklere göre daha etkili bulunmuştur.

Vankomisin dirençli enterokoklar için önerilen tedavi seçenekleri Tablo 2.3’de gösterilmiştir.

Tablo 2. 3. Vankomisine dirençli enterokok enfeksiyonlarında tedavi seçenekleri

• Gentamisin duyarlı	Ampisilin-amoksisilin+gentamisin
• Gentamisin dirençli	Ampisilin-amoksisilin+streptomisin (duyarlı ise)
• VanE	Vankomisin-teikoplanin+gentamisin
• VanB	Teikoplanin+gentamisin veya streptomisin
• VanA	Vankomisin-beta-laktam+gentamisin
• İmipenem+ampisilin+teikoplanin	
• Kloramfenikol	
• Yeni glikopeptidler	
• Yeni kinolonlar	
• Glisiklinler	
• Oksazolidinonlar	
• Everninomisin	
• Kinopristin-dalfopristin (eğer <i>E. faecium</i> ise)	

2.12. Nozokomiyal Vankomisin dirençli enterokok Geçişinin Kontrolü ve Önlenmesi

Sağlık enfeksiyon kontrol uygulamaları danışma kurulu (Healthcare infection control practices advisory committee-HICPAC) VRE geçişinin önlenmesi için alınması gereken izolasyon önlemlerini belirlemiştir (46). Buna göre;

- VRE bulaşmış veya kolonize (VRE pozitif) olmuş hastalar tek kişilik odalarda veya diğer VRE pozitif hastalar ile birlikte aynı odalara yerleştirilmesi,
- VRE pozitif olduğu saptanan hastaların olduğu odalara girerken steril halde bulunmayan temiz olan eldiven giyilmesi,

- Hasta ile direkt olarak veya hasta odasında bulunan temasın fazla olmasının beklendiği durumlarda, hastalarda idrar yada gaita inkontinansı bulunması durumlarında, kolostomi, ileostomi yada açık yaranın drene olduğu durumlarda VRE pozitif olan hastaların odalarına girerken steril olmasa bile temiz bir önlüğün giyilmesi (bazı merkezlerce bu tavsiye VRE pozitif olduğu bilinen her bir hastanın odasına girerken önlük giyilmesi şeklinde modifiye edilmesi ile uygulanabilmektedir),
- Hasta odasından çıkarken önce önlük ve eldivenin çıkarılması ve hasta odasından çıkmadan önce, el antisepsisinin sağlanması,
- Önlük ve eldiven çıkarılıp, el dezenfeksiyonu yapılmasının ardından odada bulunan yüzeylerin hiçbirisi ile yeniden temas edilmemesi önerilmektedir,

VRE'lerin oluşturduğu enfeksiyonu ve kolonizasyonu tanımlayarak önlemek ve korunmayı sağlamak için mutlaka her hastane enfeksiyon kontrol komitesini oluşturmalıdır. Bu komitede oluşturulacak alt komiteler (antibiyotik kullanımını kontrol eden alt-komite, sterilizasyon ve dezenfeksiyon kontrolünden sorumlu alt-komite) oluşturulmalıdır. Bu komitede bulunan tüm birimlerin hastanedeki eczane, mikrobiyoloji laboratuvarları, klinik bölümleri, mutfak, çamaşırhaneler gibi tüm ilgili birimlerle koordine çalışması sağlanmalıdır.

Tüm sağlık kurumlarında yaygınlaşmış olan sürveyans programları ve VRE saptanması durumunda uygulanan çeşitli öneriler vardır. Bu öneriler aşağıdaki şekilde sıralanabilir .

Vankomisin kullanılması tavsiye edilen durumlar.

- Beta-laktam grubu antibiyotiklere dirençli bakterilerin neden oldukları enfeksiyonlar,
- Gram pozitif bakterilerin enfeksiyon oluşturduğu bilinen ve penisiline karşı alerjisi olan kişiler,
- Hayatı tehdit edebilen, metronidazol tedavisine cevap vermeyen antibiyotikle ilişkisi olduğu bilinen enterokolitler,
- Yüksek endokardit risk taşıyan hasta gruplarının profilaksisi,

- MRSA yada metisilin dirençli *S. epidermidis* (MRSE) oranları yüksek olan hastanelerde uygulanan büyük cerrahi girişimlerden önce profilaktik uygulanabilir. Ama uygulama iki doz şeklinde olmalıdır.

Vankomisin kullanılmasının tavsiye edilmediği durumlar;

- Rutin olarak cerrahi profilaksi amacıyla,
- MRSA oranının yüksek olmadığı hastanelerde, febril nötropenide ampirik tedavi amacıyla,
- Aynı zamanda alınmış olan çift kan kültürünün birinde koagülaz-negatif olarak stafilokok üremesi,
- Ampirik olarak başlanılan vankomisin tedavisine, kültürde saptanan etkenin dirençli olması durumunda,
- Kateter uygulamalarında, enfeksiyonu önlemek amacıyla,
- İzole gastrointestinal sistemin dekontaminasyonu amacıyla,
- MRSA kolonizasyonlarının eradikasyonu için,
- Antibiyotik kullanımlarına bağlı olan kolitlerin başlangıç tedavilerinde,
- Düşük doğum ağırlıklı olduğu yenidoğanlarda rutin profilaksi amacıyla,
- Ayaktan periton diyalizi yapan hastalarda rutin profilaksi amacıyla,
- Böbrek yetmezliği bulunan hastalarda beta-laktam grubu antibiyotiklere duyarlı enfeksiyonların tedavisinde.

3. MATERYAL METOD

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nin Merkez Laboratuvarı mikrobiyoloji birimine 1 Ocak-30 Eylül 2015 tarihleri arasında, aktif VRE sürveyansı yapılan birimlerden (YBÜ'leri yenidoğan, pediatri, dahiliye, anesteziyoloji-reanimasyon, cerrahi), genel pediatri, pediatrik hematoloji, pediatrik nefroloji, erişkin hematoloji) gönderilen rektal sürüntü örneklerinden izole edilen suşlar çalışmaya alındı. İzolatların yüksek düzey aminoglikozid direnci de test edildi ve yüksek düzey aminoglikozid direnci olan ve aynı zamanda vankomisine dirençli olarak da bulunan enterokok izolatları belirlenen çalışma sayısına ulaşana dek -20 °C'de bekletildi. İzolat toplanması tamamlandıktan sonra tüm izolatların taze kültürü yapılarak PCR ile aminoglikozid modifiye edici enzimler araştırıldı.

Çalışmanın öncesinde araştırma yapmak için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 23.02.2015 tarihinde 68 karar numarası ile onay alındı (Bkz. Ek).

3.1. Örneklerin toplanması

Hastanemizde aktif VRE sürveyansı yapılan yoğun bakım ünitelerinden (dahiliye YBÜ, cerrahi YBÜ, reanimasyon YBÜ, pediatri YBÜ ve yeni-doğan YBÜ)'nde periyodik olarak (haftada bir-iki kez) laboratuara gönderilen rektal sürüntü örnekleri çalışmaya alındı. Örnekler ilgili birimin sorumluluğunda Stuart (Oxoid, İngiltere) taşıma besiyeri ile alınarak laboratuara gönderildi. Laboratuvarda örneklerin tümü, 6 µg/mL vankomisin içeren seçici besiyerine vankomisin tarama ağara (Enterococcosel agar, BD, USA) ekildi. 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Siyah renkli koloni saptanan bakterilerden Gram boyanma ile katalaz testleri yapıldı. Katalaz negatif, Gram pozitif olan izolatların % 5 koyun kanlı besiyerlerinde pasajı yapıldı ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Besiyerinde izolatların tür düzeyinde tanımlaması yapıldı.

3.2. Kullanılan Besiyerleri

3.2.1. Vankomisin Tarama Agarı (Vancomycin Screen Agar)

1 Litre Saf Su için Formül

• Beyin Kalp İnfüzyonu	8 gr
• Hayvan Dokularının Peptik Dijesti	5 gr
• Kazeinin Pankreatik Dijesti	16 gr
• Sodyum Klorür	5 gr
• Dekstroz	2 gr
• Disodyum Fosfat	2.5 gr
• Agar	13.5 gr
• FD&C Sarı-5 Boya	0.56 gr
• Vankomisin	6 mg

3.2.2. Kanlı Agar (BD/Germany)

1 L saf su içinde hazırlanan besiyeri içeriğinde;

▪ Kazeinin Pankreatik Dijesti	12 gr
▪ Hayvan Dokularının Peptik Dijesti	5 gr
▪ Maya Ekstraktı	3 gr
▪ Sığır Eti Ekstraktı	3 gr
▪ Mısır Nişastası	1 gr
▪ Sodyum Klorür	5 gr
▪ Agar-agar	13.5 gr

Defibrinleştirilmiş koyun kanı % 5 içermekte olup, pH aralığı 7.3 ± 0.2 'dir.

3.2.3.Skim Milk Agar

1 Litre Saf Su için Formül

• Pepton	5.0 gr
• Yeast ekstrakt	2.5 gr
• Yağsız süt tozu (inhibitörsüz)	1.0 gr
• Glikoz	1.0 gr
• Agar-agar	10.5 gr

pH 7.4 ± 0.2

3.3. Besiyerlerinin Hazırlanması

Dehidrate besiyeri (skim milk besiyeri), ticari paketlerindeki formülasyona uygun olarak tartıldı. Bidistile su içinde eritildi. Otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi. Daha önce steril edilmiş olan ependorf tüplerine aseptik koşullarda döküldü. Hazırlanan besiyerleri +4 °C'de 2 hafta süreyle kullanıldı. İki hafta içinde kullanılmayan besiyerlerine ekim yapılmadı.

3.4. Bakterilerin Tanımlanması

Kanlı besiyerlerinde 0.5-1.5 mm boyutlarında, kabarık, gri-beyaz renklere, küçük nonhemolitik veya alfa hemoliz yapmış olan, kokobasil morfolojisinde, katalaz testi negatif, hareketsiz, mikroskopik görüntüleri açısından Gram pozitif kok şekillerinde görünebilen bakterilerin *Enterococcus* olabileceği düşünülerek tür düzeyinde tanımlama yapıldı.

Üreyen bakterilerin tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler ve Phoenix (BD, USA) otomatize bakteri tanımlama sistemi kullanıldı.

3.4.1.Phoenix mikroorganizma tanımlama sistemi

Phoenix bakteri ve maya gibi mikroorganizmaları tür düzeylerinde tanımlanmalarını ve antibiyogramlarının yapılabilmelerini sağlayabilen, geniş bir veri tabanı bulunan, tam

otomatize bir sistemdir. Mikroorganizmaların tanımlanmalarında kullanılabilen panellerde, bir dizi geleneksel, fluorojenik ve kromojenik biyokimyasal testler kullanılabilir. Tanımlama (ID) ve antibiyogramın (AST) aynı anda yapılabilirdiği paneller, 136 mikro kuyucukta kurutulmuş reaktifler içeren polistiren yapı halindedir. Phoenix Paneli, 51 kuyucuklu ID tarafından ve 85 kuyucuklu AST tarafından oluşmaktadır. ID tarafı, kurutulmuş halde bulunan biyokimyasal substratlar ve 2 adet floresan kontrol kuyucukları mevcuttur. AST tarafı, liyofilize antimikrobiyal madde içeren 84 kuyucuk ve 1 üreme kontrol kuyucukları içermektedir. Cihazda paneller 35 °C’de inkübe edilir. İnkübasyon sırasında cihaz, panelleri periyodik olarak test etmektedir. Kuyucuklarda oluşan biyokimyasal reaksiyonlar yada bulanıklık kendiliğinden her 20 dakikada bir test edilerek o etken için veriler bir işlemci içerisinde toplanabilmektedir. Reaksiyonların tamamlanmalarının ardından veri tabanlarında bulunan bilgiler ile kıyaslayarak bakteri ve mayalar cinsler ve ardından tür düzeylerinde tanımlanarak işlem tamamlanır. Çalışmada Gram pozitif bakteri tanımlama panelleri kullanıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3. 1. Gram pozitif bakterilerin tanımlanmasında kullanılan biyokimyasal reaktifler

1	4Mu-Bd-Selobiyozid	25	D-Fruktoz
2	l-Alanin-Amc	26	İminodiasetik Asit
3	4Mu-Bd-Glikozid	27	Alfa-Ketoglutarik Asit
4	l-Prolin-Amc	28	D-Mannitol
5	l-Piroglutamik Asit-Amc	29	3-Metiladipik Asit
6	l-Fenilalanin-Amc	30	Timidin
7	l-Triptofan-Amc	31	Floresan Pozitif Kontrolü
8	4Mu-Fosfat	32	Floresan Pozitif Kontrolü
9	Metionin-Amc	33	Alanin-Alanin-Pna
10	4Mu-Ad-Glikozid	34	l-Prolin-Pna
11	Arginin-Arginin-Amc	35	Valin-Alanin-Pna
12	Glisin-Prolin-Amc	36	Pnp-Ad-Glikozid
13	4Mu-Bd-Glukuronid	37	Pnp-Fosfat
14	l-Lökin-Amc	38	Beta-Gentiobioz
15	4Mu-N-Asetil-Bd-Glikozaminid	39	D-Sükroz
16	l-Arginin-Amc	40	Maltotrioz
17	4Mu-Fosfat (trehalozla)	41	N-Asetil-Glikozamin

18	l-Histidin-Amc	42	D-Trehaloz
19	l-İzolökin-Amc	43	D-Tagatoz
20	4Mu-Bd-Galaktozid	44	Maltoz
21	Kolistin	45	Dekstroz
22	Polimiksin	46	Üre
23	D-Glukonik Asit	47	Eskülin
24	3-Metil Glutarik Asit	48	Nitrosefin

Mikroorganizmaların 24 saatlik taze kültürlerinden aseptik şartlarda, steril eküvyonlu çubukla alınan koloniler Phoenix ID besiyeri (4.5 mL) içinde süspanse edildi. Süspansiyonların bulanıklığı BD PhoenixSpec ile 0.5-0.6 McFarland bulanıklığına uygun şekilde hazırlanarak prosedürüne uygun olarak panele dağıtıldı. Cihaza yerleştirildi.

3.5. Vankomisin Direncinin Saptanması

Vankomisin tarama besiyerinde 6 µg/mL vankomisin varlığında üreme saptanan enterokokların vankomisin MİK değeri epsilometer test (AB Biodisk) yaparak saptandı. 0.5 McFarland eşdeğerinde hazırlanmış olan bakteri inokulumu, Mueller Hinton agar besiyerine dağıtıldı ve üzerine E test stripleri yerleştirildi. 35±2 °C’de 24 saat inkübe edildi. Elips şeklinde olan inhibisyon kısmında stripi kestiği saptanan konsantrasyon MİK değeri olarak belirlendi. Değerlendirme EUCAST standartlarına uygun olarak yapıldı ve MİK değeri, ≥32 µg/mL olanlar dirençli olarak kabul edildi.

E Testinin uygulanması için kullanılan stripler AB Biodisk firması tarafından temin edilmiştir ve üretici firmanın önerisiyle -20 °C’de saklanarak, kullanmadan 30 dakika önce çıkarılıp oda sıcaklığına ulaşması sağlandı.

3.6. Yüksek Düzey Aminoglikozid Direncinin Saptanması

Enterokoklarda YDAD direnci disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Mueller Hinton besiyerine taze bakteri kültüründen 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonları dağıtıldı. Üzerlerine 120 µg gentamisin içeren antibiyotik diski (Oxoid) yerleştirildi. 35±2 °C’de 24 saat boyunca inkübe edildi. Değerlendirme EUCAST standartlarına uygun olarak yapıldı ve zon çapları ≤ 14 mm olan suşlar yüksek düzey aminoglikozid dirençli olarak kabul edildi.

3.7. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

3.7.1. DNA Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon kitinin içeriği

- Kumlu tüp
- 2 ml'lik ependorf tüp
- Kolonlu tüp
- MD1, MD2, MD3, MD4, MD5 Solusyonu

1. 300 µL MicroBead çözeltisi, her biri içerisinde kum tanesi bulunan MicroBead tüpüne dağıtıldı,
2. Besiyerinden numune alındı (2 defa 1 µL öze),
3. MicroBead tüpündeki sıvı içerisinde, alınan enterokok kolonileri öze ile iyice karıştırıldı,
4. 50 µL MD1 çözeltisi eklendi,
5. 10 dakika boyunca 2400 rpm'de vortekslendi,
6. 30 saniye 10.000×g'de çevrildi,
7. 100 µL MD2 çözeltisi temiz ependorf tüplere boşaltıldı,
8. Tüm süpernatantı (6. adımdan) 100 µL MD2 çözeltisine (içerisinde kum tanesi olmamasına dikkat edilerek) aktarıldı,
9. Kısa bir süre vortekslendi,
10. 15 dakika +4 °C'de soğutuldu,
11. 1 dakika 10.000×g de çevrildi,
12. 450 µL MD3 çözeltisi temiz ependorf tüplere boşaltıldı,
13. 200 µL süpernatant (11. adımdan) 450 µl MD3 çözeltisine aktarıldı,
14. Kısa bir süre vortekslendi (40-50 saniye),
15. Kısa bir süre santrifüj edildi (1 dakika kadar),
16. Süpernatant (15. adımdan, 650µL) temiz bir spin filtreye transfer edildi,
17. 30 saniye 10.000×g'de çevrildi ve aşağı akan sıvı atıldı,
18. 300 µL MD4 çözeltisi spin filtreye boşaltıldı (17. adımdan),
19. 30 saniye 10.000×g de çevrildi ve aşağı akan sıvı atıldı,

20. 1 dakika 10.000×g kuru olarak çevrildi,
21. Spin filtre yeni temiz bir tüpe yerleştirildi,
22. 35 µL MD5 çözeltisi spin filtrenin tam ortasına ve filtreye dokunmadan boşaltıldı,
23. 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi,
24. Filtre çıkarıp atıldı,
25. DNA toplama tüpünde tutuldu ve DNA izolasyonu tamamlandı.

3.7.2. Amplifikasyon

Amplifikasyon için suşların DNA izolatlarından her bir örnek için 5 µL alınarak, PCR için belirtilen kit içeriğinden her bir örnek için 15 µL alınarak toplamda 20 µL solüsyon karışım hazırlandı. Hazırlanan mix PCR Light Cycler (Roche, Germany) cihazı içerisine yerleştirildi. Yaklaşık 90-120 dakika süre sonunda cihazdan sonuçlar alınarak program ile analiz edildi.

3.7.3. PCR Kitinin İçeriği

• Her bir enterokok suşu için qPCR tüpüne konulması gereken hacim	
• dH2O (µL) 2 numara	3.8
• F Primer (µL)	0.4
• R Primer (µL)	0.4
• UPL Probe (µL)	0.4
• Probe Master (µL) 1 numara	10
• Toplam (µL)	15
+	
• DNA (µL)	5
Toplam (µL)	20

Kullanılan primerler ve dizileri (78);

Aminoglikozid rezistans geni	Ürün boyutu (bp)	Primer dizaynı (5_ 3)
aac(6_-)Ie-aph(2_-)Ia	369	CAGGAATTTATCGAAAATGGTAGAAAAG

CACAATCGACTAAAGAGTACCAATC

aph (3)-IIIa

348

CAGAGCCTTGGGAAGATGAAG

CCTCGTGTAATTCATGTTCTGGC

aph(2_-)Ib

867

CTTGGACGCTGAGATATATGAGCAC

GTTTGTAGCAATTCAGAAACACCCTT

aph(2_-)Ic

444

CACAATGATAATGACTCAGTTCCC

CCACAGCTTCCGATAGCAAGAG

aph(2_-)Id

641

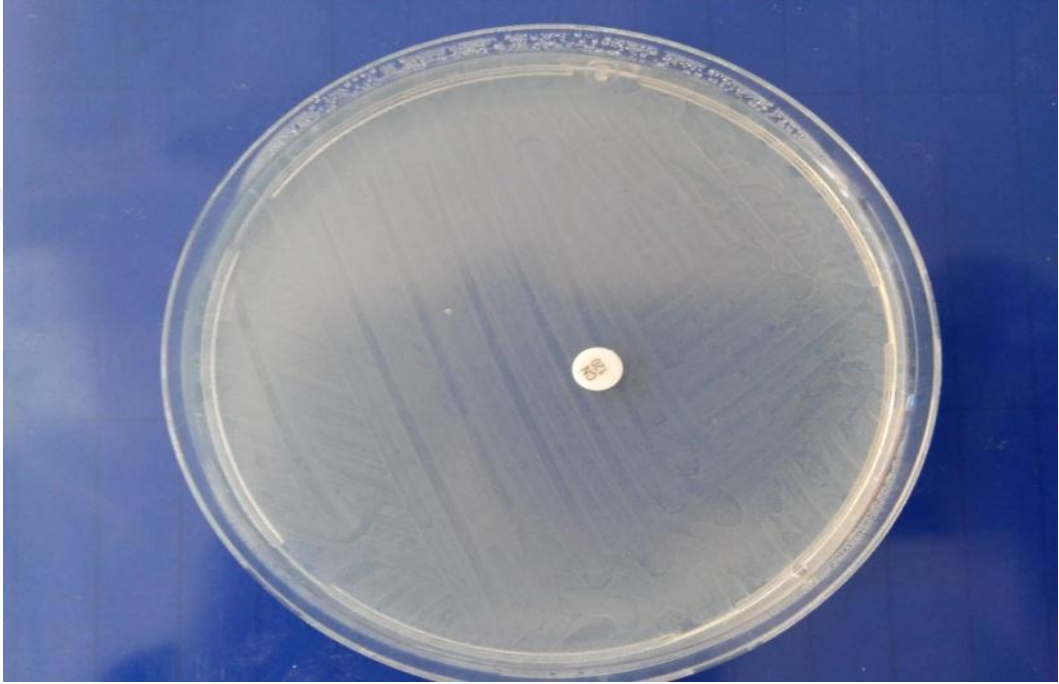
GTGGTTTTTACAGGAATGCCATC

CCCTCTTCATACCAATCCATATAACC

Herbir çalışmada 32 örnek çalışıldı. Her çalışma 90-120 dakikada tamamlandı. Yüz örnekte 5 bölge olmak üzere 500 test çalışılmış oldu.

4. BULGULAR

Çalışmanın yapıldığı süre içerisinde laboratuvarımızda 3595 rektal sürüntü örneği incelenmiş olup bu izolatlardan 309 (% 8.6)'unda VRE saptandı. Vankomisin direnci saptanan izolatlardan yüksek düzey aminoglikozid direnci de olan 100 enterokok izolatu çalışmaya dahil edildi (Resim 4.1). Çalışmamızda 309 VRE izolatlarından 100 (% 32.3)'ü YDAD olarak bulundu.



Resim 4. 1. Yüksek düzey aminoglikozid dirençli izolat

Hastalar 8 ay-86 yaş arasında olup, yaş ortalaması 7.68 ve standart sapma 12.7 olarak hesaplanmıştır. Bu hastaların, 53'ü (% 53) kadın ve 47'si (% 47) erkek olarak bulundu. Her hastaya ait tek bir örnek çalışmaya dahil edildi.

Örneklerin gelmiş olduğu kliniklere göre dağılımları Tablo 4.1 de gösterilmiştir.

Tablo 4. 1. Rektal sürüntü örneklerinde saptanan VRE'lerin kliniklere göre dağılımları.

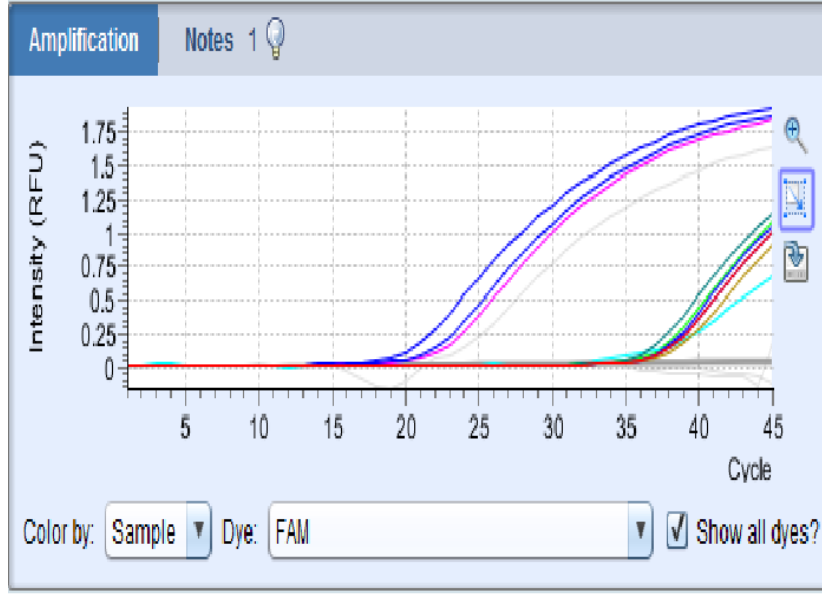
Klinik	Sayı (%)
Pediyatrik hematoloji	39 (39)
Pediyatri	27 (27)
Anesteziyoloji ve reanimasyon YBÜ	9 (9)
Dahiliye YBÜ	8 (8)
Erişkin hematoloji	8 (8)
Yenidoğan YBÜ	7 (7)
Pediyatrik nefroloji	1 (1)
Erişkin nefroloji	1 (1)
TOPLAM	100

Saptanan izolatların 74'ünün (% 74) pediyatrik yaş grubuna ait hastalar olduğu bulundu. Çalışmaya alınan, vankomisine dirençli, yüksek düzey aminoglikozid dirençli 100 enterokok suşunun 82'si (% 82) *E. faecium*, 11'i (%11) *E. faecalis*, 7'si *E. gallinarum* olarak tanımlandı (Tablo 4.2).

Tablo 4. 2. Vankomisin dirençli izolatların türlere göre dağılımı

Tür	Sayı (%)
<i>E. faecium</i>	82 (82)
<i>E. faecalis</i>	11 (11)
<i>E. gallinarum</i>	7 (7)
TOPLAM	100 (100)

İzolatların % 70'inde moleküler olarak aminoglikozid modifiye edici enzimlerden biri saptandı (Şekil 4.1, Tablo 4.3).



Şekil 4. 1. PCR ile pozitif saptanan gen bölgelerinin grafiği

Tablo 4. 3. PCR ile aranan aminoglikozid modifiye edici gen bölgeleri ve saptanan izolatlar

Enzim	Sayı	Açıklama
aph(3_)-IIIa	67	Tüm servislerden
aph(2_)-Id	2	Yetişkin hematoloji, çocuk hematoloji
aph(2_)-Ib	1	Pediyatri
aph(2_)-Ic	-	
aac(6_)-Ie-aph(2_)-Ia	-	
Toplam	70	

En fazla aph(3_)-IIIa gen bölgesi saptandı. Bu gen bölgesine örnek alınan tüm kliniklerde rastlanıldığı bulundu (Tablo 4.3).

aph(2_)-Id 2 hastada ve aph(2_)-Ib bölgesi de 1 hastada saptandı. aph(2_)-Ib bölgesi saptanan hastanın pediatri servisinde yatmakta olduğu saptandı. Bu hastanın bir başka sağlık biriminden sevk edilmiş olan, nörolojik problemleri olan bir hasta olduğu gözlemlendi.

Yüksek düzey aminoglikozid direnci olan izolatların 30'unda (% 30) araştırılan bölgelere ait modifiye edici enzim saptanmadı.



5. TARTIŞMA

Tıp dünyasında meydana gelen yenilikler, sağlanan gelişmelerin hastalıkların tanı ve tedavisine getirmiş olduğu geniş yelpaze kuşkusuz ki insanların yaşam süresini uzatmıştır. İnvaziv girişimsel uygulamalarda artış, yoğun antibiyotik kullanımı ve uzamış hospitalizasyon süresi son iki-üç dekadlık periyotta “hasta bakımı ile ilgili enfeksiyonlar” (hastane enfeksiyonları) ve “çoğul dirençli (veya panrezistant) mikroorganizma” gibi bazı kavramları rutin hayatımıza girmelerine neden olmuştur.

Enterokoklar da son yıllarda önemi artmış mikroorganizmalardan biridir. Enterokoklar insan ve hayvan gastrointestinal sisteminin normal flora üyesidir. Gram pozitif bakterilerdir. Fransız bir araştırmacı olan Thiercelin tarafından bundan yaklaşık yüz yıl önce “enterocoque” ismi verilmiştir. Bindokuzyüzyetmiş’lerin başından itibaren sefalosporinlerin yaygın kullanımı ve enterokoklarında bu gruptaki ilaçlara doğal dirençli olması gibi nedenler, enterokokkal enfeksiyonların yaygınlaşmasına neden olmuştur. Enterokokların sindirim sisteminin yanı sıra, genito-üriner sistem normal florasında da bulunduğu bilinmektedir.

Enterokoklar nozokomiyal enfeksiyonların önde gelen etkenleridir. İnsanlarda normal florada bulunduğu enfeksiyonları çoğu endojen kaynaklıdır. Düşük virulanslı mikroorganizmalardır. Hastanede yatan olgularda izole edilen enterokokların çoğunun endojen barsak flora kaynaklı olduğu düşünülmekteydi, ancak çoklu ilaç direnci gösteren enterokokların artışı sonucu yapılan epidemiyolojik çalışmalar bu organizmaların nozokomiyal yayıldığını göstermektedir. Vankomisin dirençli enterokok (VRE) ve diğer enterokoklar uzun süre çevrede bulunmakta ve direkt hastadan hastaya bulaş, kolonize sağlık personelinin el teması sonucu ya da kontamine tıbbi cihazlar ile yayılım olmaktadır (47).

Enterokoklar, endokardit, yara enfeksiyonu ve üriner sistem enfeksiyonu ile ilişki olup, aynı zamanda nozokomiyal bakteriyemi etkenidir. Vankomisin dirençli enterokoklar (VRE) önemli bir nozokomiyal patojen olarak en sık izole edilen 2. veya 3. patojenler olarak rapor edilmektedir.

Enterokokların en ciddi klinik seyirlerinden olan bakteriyemiler, sıklıkla yaşlı, altta yatan başka ko-morbid bir hastalığı olan, immün yetmezlik veya uzun süren hastanede kalış süresi ile ilgilidir. Avrupa’da kan akımı enfeksiyonlarında 4. sıklıkta, ABD’de 3. sıklıkta izole edilmekte, yaklaşık epizodların %10’unu oluşturmaktadır (48).

Enterokokkal bakteriyemilerin çoğu nozokomiyal kaynaklıdır. Nozokomiyal enterokokkal bakteriyemi sıklıkla polimikrobiyal bakteriyeminin bir parçası olarak saptanmakta olup, enterokokkal bakteriyeminin %21-45'inde polimikrobiyal üreme saptanır (49).

Erişkinlerde enterokokkal bakteriyemi yüksek mortalite ve morbidite riski taşır. Çocuklarda nozokomiyal enterokokkal bakteriyemi erişkinlere göre daha düşük oranda mortalite riski taşır, mortalite oranı % 7.5-12 oranında bildirilmektedir

Çocuk yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda görülen kan akımı enfeksiyonlarının %6.2'sine enterokokların neden olduğu bildirilmektedir (50).

Bakteriyemi ve sepsis sıklıkla altta yatan ciddi hastalığı (yenidoğan, hematoloji, onkoloji, immun yetmezlik gibi) olan çocuklarda görülür. Erişkinlerde üriner enfeksiyon bakteriyemi odağı iken, çocuklarda sıklıkla odak saptanamaz. Olguların çoğunda gastrointestinal ya da solunum yolu hastalığı vardır. Santral venöz kateter ilişkili bakteriyemi oranı % 22-28 olarak bildirilmektedir.

Kateterle ilişkili kan akımı enfeksiyonlarının en sık nedenlerinden biri enterokoklar olup, olguların %5'inde VRE etken patojendir (51).

Enterokokların hastane enfeksiyonu etkenleri dağılımındaki önemi çok hızla artmıştır. CDC istatistiklerine göre, 1989 yılında VRE olduğu bilinen suşlar nozokomiyal enfeksiyonların % 0.3'üne neden olurken, 1993'te yapılan araştırmada bu oran % 11.4'e yükseldiği bildirilmiştir. YBÜ'lerinde de bu oranın % 0.4'ten % 13.6'e yükseldiği bildirilmiştir. Çalışmamızda toplamda 3595 rektal sürüntü örneği incelenmiş olup bunlardan 309 (%8.6)'unda VRE kolonizasyonu saptanmıştır. Bu çalışmada saptanan izolatlar, enfeksiyon etkeni olarak tanımlanmamış olsa da kolonizasyon oranındaki artışın enfeksiyon oranındaki artışla ilgili olduğu bilinmektedir. Bazı merkezler kolonize infekte hasta oranını 10/1 olarak bildirmektedir (52).

VRE kolonizasyonu olan olguların %10'unda VRE enfeksiyonu gelişebilmektedir, bu oran hematolojik malignitesi olan olgularda %32-71'e kadar artış gösterebilmektedir (53).

Enterokoklarda vankomisin direnci ilk kez 1988 yılında tanımlanmış ve daha sonra dirençli suşlar tüm dünyada yaygın hale gelmiştir. "National Nosocomial Infections Surveillance System (NNIS)" verilerine göre VRE oranı 1989'da %0.3 iken 1993'te

%7.9'a yükselmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda VRE oranında %31'lik bir artış olduğu bildirilmektedir (54).

Avrupa'da ve ABD'de birçok merkezde nozokomiyal *E. faecium* izolatlarının %50'sinin VRE olduğu saptanmıştır (55).

Türkiye'de vankomisin dirençli ilk *E. faecium* suşu 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi'nden Vural ve ark. (56) tarafından bildirilmiştir. Bu suş, malign histiyositozis tanısı almış akciğer enfeksiyonu olan 11 aylık bir erkek çocuktan, 15 gün arayla alınmış iki ayrı plevra sıvısından izole edilmiştir.

Bunu 1999 İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi ve Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisinden bildirilen suşlar izlemiştir (57).

Avrupa'da erişkinlerin %28'inde VRE kolonizasyonu bildirilmekte olup, Avrupa'da VRE suşlarının yaygınlaşmasının, hayvanların beslenmesinde kullanılan glikopeptid olan avoparsinle ilişkili olduğu gözlenmiştir (58).

Başka bir çalışmada hastanede yatan hastalarda VRE kolonizasyonu %1.5-32 iken, ayaktan izlenen hastalarda %1-3.5 olarak bulunmuştur .

Hastanemizde daha önce yapılan çalışmalarda Zer ve ark. (59) 2002 yılında hiç VRE izolatı saptamamış, Menteş ve ark. (60) tarafından 2007 yılında % 3.2 oranında VRE saptanmıştır. Bu çalışmada % 8.6 oranında VRE saptanmıştır. Bakterinin yaygınlığındaki artış dikkat çekici boyuttadır.

Enterokoklarda vankomisin direncinin artması ile CDC'ye bağlı "Hospital Infection Control Practices Advisory Committee" (HICPAC) nozokomiyal VRE yayılmasını önlemeye ilişkin bir "öneri paketi" yayınlamıştır .

Bu önerilerden biri, VRE saptanması durumunda, aynı odada ve aynı serviste yatan tüm hastalardan sürveyans kültürleri alarak kolonize hastaların saptanması ve izolasyonlarının sağlanmasıdır. Bu tür önerilerin, birçok merkezde olduğu gibi hastanemizde de uygulanması ile rutin tarama yapıldığından VRE saptanması artmıştır. Rutin taramalarda etken ilk saptanmaya başlandığı yıllarda sayı az olduğundan moleküler testler sık kullanılırken, günümüzde tarama amacıyla vankomisin içeren seçici besiyerleri kullanılmaktadır. Burada saptanan izolatların MİK doğrulaması yapılarak bildirilmesi hem pratik hem de ekonomiktir. Bu uygulama bu çalışma kapsamında da yapılmıştır.

Hastanemizde de hastane enfeksiyonu kontrol prosedürleri kapsamında hastanenin bazı birimlerinde aktif sürveyans çalışması yapılmakta ve VRE izolatu saptanması durumunda izolasyon yapılmaktadır.

Vankomisin ve teikoplanin, pentapeptidin D-alanyl-D-alanine (D-ala-D-ala) terminaline yüksek bir afiniteyle bağlanarak peptidoglikan sentezini inhibe eder. Enterokoklarda glikopeptid direncinin temeli, D-ala-D-ala yerine D-ala-D-lac (Van A ve Van B) veya D-ala-D-ser (VanC) ile biten peptidoglikan prekürsörlerinin sentezlenmesine dayanır. Vankomisin ve teikoplanin bu yeni terminale yüksek afiniteyle bağlanamaz ve duvar sentezini inhibe edemez (61).

VRE kolonizasyon ve enfeksiyonu için altta yatan hastalığın ciddiyeti, transplantasyon, uzun süre hastanede yatış, kardiyotorasik ya da abdominal operasyon, santral venöz kateter, üriner kateter kullanımı, vankomisin, 3.kuşak sefalosporin ve anti-anaerobik antibiyotik kullanımı risk faktörleridir .

Yapılan bir çalışmada *C. difficile* enfeksiyonunda oral vankomisin kullanımının VRE enfeksiyonlarında artışa neden olduğu bildirilmiştir (62).

Klinik örneklerden *E. faecalis* en sık izole edilen enterokok türü olmasına rağmen, *E. faecium* türleri yüksek oranda vankomisin direncine sahiptir (63). VRE'ların % 98'ini *E. faecium* oluşturmaktadır (64).

Bu çalışmada saptanan izolatların % 83'ü *E. faecium*, % 11'i *E. faecalis* ve % 7'si *E.gallinarum* olarak saptanmıştır. Şekercioğlu ve ark. Akdeniz Üniversitesi'nde yaptıkları bir çalışmada izolatların % 50'sini *E. faecalis* ve % 47'si *E. faecium* olarak saptamışlardır. Torun ve ark. (65) oranı sırasıyla %77 ve %23, Yüce ve ark. (66) %93 ve %7 bulunmuştur. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesinde ise bu oran 2007 de ilk bildirim yapılan yılda sırasıyla: *E. faecium* % 42, *E. faecalis* %31, *E. avium* %12, *E. gallinarum* %8, *E. casseliflavus* %5.6 olarak belirlenmiştir.

Enterokoklarda saptanan hareketli bir genetik materyal üzerinde kodlanan vankomisin direncinden sorumlu transpozonun diğer gram pozitif koklara da aktarılabileceği gösterilmiştir (67).

Bu durum bu direnç paterninin son derece önemli ve endişe verici diğer bir boyutudur.

Aslında enterokokların yaygın virülans faktörleri olmadığı halde, hastane enfeksiyonları etkenleri arasında bu denli ön sıralarda yer almasının birkaç sebebi vardır. Bunlardan

biri endojen florada yer alması, bir diğeri de çevresel alanlarda uzun süre canlılığını devam ettirebilmesidir. Dekontaminasyon ve izolasyon kurallarının iyi uygulanmaması durumunda bakteriler çevresel alanlarda uzun süre çapraz bulaşa neden olabilmektedir.

Bu çalışmada izole edilen VRE suşlarının 39'unun pediatrik yaş grubuna ait hastalar olduğu saptanmıştır. Çocuklarda doğumsal hastalıklar, immün direnç düşüklüğü gibi faktörler VRE'nin sık rastlanmasına ve ciddi seyrine neden olmaktadır. Bakteriemi, endokardit, üriner sistem enfeksiyonu, menenjit etkeni olarak enterokoklar sıklıkla izole edilmektedir. Özellikle pediatri servis ve YBÜ'lerinde birden fazla hastanın barındığı odalar, yetersiz koşullardan dolayı izolasyonların yapılamaması, hatta hastaların kendilerinin mikroorganizmanın yayılmasında etkili olabileceği söylenebilir.

Glikopeptidlere direnç, enterokoklarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde diğer seçenek ilaçların kullanımını gerektirmiştir. Aminoglikozid grubu antibiyotikler bu grupta yer alan antibiyotiklerden olup, enterokok enfeksiyonlarında yaygın kullanılmaktadır. Hücre duvar yapısı gereği aminoglikozitlere düşük düzey bir direnç enterokoklarda yapısal olarak vardır. Düşük ve orta seviyeli (MİK=62-500 ug/ml) direncin nedeni, azalmış geçirgenlik olup, beta laktam grubu bir antibiyotik (sıklıkla penisilin) ile birlikte kullanıldığında bu sorun aşılmaktadır. Yüksek aminoglikozit direnci (MİK>2000 ug/ml), ribozomal kaynaklı veya aminoglikozid-inaktive eden enzimler aracılığıyla olabilir. Streptomisin direnci, diğer aminoglikozidler direnci yansıtmazken, gentamisin direnci tobramisin, netilmisin, amikasin ve kanamisin direnci için iyi bir belirteçtir .

YDAD varlığında beta-laktam grubu antibiyotiklerle olan sinerjik etki sağlanamamaktadır. Aminoglikozit modifiye edici enzimler olarak ifade edilen enzimler, aminoglikozitlerin fosforile yada asetile olması gibi mekanizmalarla bileşiğin kimyasal yapısını bozmakta ve etkisizleştirmektedir. Aminoglikozid modifiye edici enzimler transpozon yada plazmit gibi aktarılabılır genetik yapıların üzerinde kodlanmaktadır. Bu açıdan yayılım hem vertikal hem de horizontal olmaktadır.

Enterokoklarda en yaygın aminoglikozidler modifiye eden enzim, aac6'- aph2'' geni tarafından kodlanan, birbirine kaynaşmış iki enzimden oluşan APH(2'')-AAC(6') enzimidir ve streptomisin dışındaki tüm aminoglikozidlere dirençten sorumludur. Aslında gentamisin direnci streptomisin dışındaki tüm aminoglikozitleri de kapsadığından bu enzimlerin varlığı streptomisin dışındaki aminoglikozitlere direnci de

gösterir. AAD(6) enzimi streptomisin için spesifiktir. Bu çalışmada gentamisin direncinden sorumlu tutulan bölgeler seçilmiştir. Streptomisin yan etkilerinin fazlalığı nedeniyle (ototoksik ve nefrotoksik) sık kullanılan bir aminoglikozit değildir. Spesifik tedavilerde (tüberküloz, bruselloz gibi) kombinasyonlarla kullanılmakla birlikte enterokoklarda önerilen bir tedavi seçeneği değildir.

Çok merkezli bir çalışmada Türkiye’de % 48.1 oranında yüksek düzey aminoglikozid direnci saptanmıştır .

Bu oran ile Türkiye Avrupa’da yüksek düzey aminoglikozid direnci açısından ikinci sırada yer almıştır. Türkiye’de yapılan çeşitli çalışmalarda YDAD; Kaçmaz ve ark. (68) %8, Öztürk ve ark. (69) % 11.2, Hoşgör ve ark. (70) % 23 ve Akgül ve ark. (71) % 65 olarak bildirmiştir. Bizim çalışmamızda bu oran % 32.3 olarak bulunmuş olup, Türkiye verilerine benzer olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada YDAD için 5 gen bölgesi çalışılmış ve izolatların % 70’inde bu gen bölgelerinden birine rastlanmıştır. Literatürde Türkiye’de moleküler olarak aminoglikozid modifiye edici enzimlerin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamış olup, çalışmamız bu konuda yapılmış ilk çalışmadır.

İzolatların % 30’unda YDAD olduğu halde modifiye edici enzimler saptanmamış olup bunun aminoglikozid direncinden sorumlu diğer mekanizmalara (ribozomal hedef değişimi, antibiyotiğin hücre içi konsantrasyonunda azalma gibi) bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Hastane enfeksiyonu etkenlerinin zaman içerisindeki değişimi bu konunun içindeki kişilerin bazı uygulamaları yanlış yaptığını düşündürmektedir. Geniş spektrumlu bir antibiyotiğin yaygın kullanımı, diğer bir başka etkenin ön plana çıkmasına neden olurken, kontrol programlarında aksaklıklar etkenlerin hızla hastadan hastaya yayılımına neden olmaktadır. Yani enfeksiyon kontrol önlemleri multidisipliner bir prosedir. Mikrobiyoloji laboratuvarı bu süreçte belirleyici olmakla beraber, uygulamada, klinisyen, hemşire, temizlik, eczane gibi birçok birimin aynı ciddiyette çalışması gerekmektedir. Bu çalışmada VRE izolatlarında ilk tedavi seçeneği olan aminoglikozid direncinin oranı ve önemi tartışılmıştır. Bundan sonra yapılacak benzer çalışmalarla dirençteki değişimin gözlenmesi ve yapılan uygulamaların geriye dönük kontrolü açısından çalışmamızın kaynak olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamıza toplam 3595 rektal sürüntü örneği dahil edilmiştir.
2. Bu izolatların 309 tanesi yani yaklaşık olarak %8.6 'sında VRE pozitif olarak saptandı.
3. VRE pozitif olan 309 izolattan 100 tanesi YDAD olarak bulundu.
4. YDAD olan hastalar 8 ay ile 86 yaş grubundaki hastalardan oluşmaktadır.
5. Bu hastaların 53'ü kadın ve 47 'sini erkekler oluşturmaktadır.
6. Bu hastaların yaş ortalamaları 7.68 ve standart sapmaları 12.7 olarak bulundu.
7. Örneklerin büyük bir kısmı pediatri servisinden geldiği kayıt altına alındı.
8. YDAD saptanan izolatların 82'si *E. faecium* , 11'i *E. faecalis* ve 7'si *E. gallinorum* olarak tanımlandı.
9. İzolatların 70'inde aminoglikozid modifiye edici enzimlerden birisine rastlanıldı.
10. PCR ile pozitif saptanan gen bölgelerinin grafiği kayıt altına alındı.
11. En fazla aph(3_-IIIa gen bölgesi saptandı ve örnek alınan bütün kliniklerde bu gen bölgesine rastlanıldı.
12. aph(2_-Id toplamda 2 hastada ve aph(2_-Ib bölgesi ise toplamda 1 hastada saptanmıştır.
13. YDAD saptanan izolatların 30'unda araştırmış olduğumuz herhangi bir gen bölgesi bulunamamıştır.

Hastane enfeksiyonu etkenlerinin zaman içerisindeki değişimi bu konunun içindeki kişilerin bazı uygulamaları yanlış yaptığını düşündürmektedir. Geniş spektrumlu bir antibiyotik yaygın kullanımı, diğer bir başka etkenin ön plana çıkmasına neden olurken, kontrol programlarında aksaklıklar etkenlerin hızla hastadan hastaya yayılımına neden olmaktadır.

Yani enfeksiyon kontrol önlemleri multidisipliner bir prosesdir. Mikrobiyoloji laboratuvarı bu süreçte belirleyici olmakla beraber, uygulamada, klinisyen, hemşire, temizlik, eczane gibi birçok birimin aynı ciddiyette çalışması gerekmektedir. Bu çalışmada VRE izolatlarında ilk tedavi seçeneği olan aminoglikozid direncinin oranı ve önemi tartışılmıştır. Bundan sonra yapılacak benzer çalışmalarla dirençteki değişimin

gözlenmesi ve yapılan uygulamaların geriye dönük kontrolü açısından çalışmamızın kaynak olabileceği düşünülmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. Akan Ö.A. Enterokok türlerinin mikrobiyolojisi. Ed: Ünal S, Vahapoğlu H. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2004;5-9.
2. Yıldırım M. Enterokoklar ve Enterokoklarla Gelişen İnfeksiyonlar. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2007; 2: 46-52.
3. Ural O. Nozokomiyal Enterokok Bakteriyemisi. Hastane İnfeksiyonları Dergisi, 1998; 2: 217-223
4. Unat E. K, Gram Pozitif Koklar, Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, 2. Baskı. İstanbul: Emek Matbaacılık, 1986: 429-480.
5. Korten V, Murray BE, Gillespies et al eds. "Enterococci in Principles and Practise of Clinical Bacteriology. 1th Ed. Chichester: John Wiley & Sons; 1997: 93-108
6. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Procop G, Woods G. Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology. Sixth edition. Philadelphia: Lippincott Co 2005:700-711.
7. Korten V. Enterokoklar. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti . 2.baskı. İstanbul 2002:1497-1506.
8. Murray BE. The life and times of the enterococcus. Clin. Microbiol. Rev 1990;3:46-65.
9. Facklam RR, Teixeria LM. Enterococcus. In: Collier L, Bolows A, Sussman (eds). Topley & Wilson's Microbiology and microbial infections. Vol 2 (Systematic Bacteriology). Ed: Edvard Arnold, 9th edition. London 1998:669 682.
10. Başustaoglu A, Aydoğan H. Enterokoklar. Ed: Uzun Ö. İnfeksiyon Hastalıkları Serisi. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2002;5(2):45-60.

11. Cengiz T. Streptecoccus. In: Ustaçelebi Ő. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 349-365.
12. Sosyal A. Enterokoklar. Pediatri İnfeksiyon Dergisi, 2007; 1: 39-42.
13. Berzeg D. Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnci, Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci ve E test ile Vankomisin Mik Değerlerinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İstanbul 2005.
14. Kathryn L, Ruoff Lorena M, Margaret J, Murtagh, Jean Dmary Jane Ferraro. Species Identities of Enterococci Isolated from Clinical Specimens. J. Clin. Mic, 1990; 28(3): 435-437.
15. Tok N. Enterokoklarda Vankomisin Direnci. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haydarpaőa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İstanbul 2006.
16. Esen Ő, Sümbül M, Barut Ő, Eroğlu C, Sani A, Leblebicioğlu H. Glikopeptit Beta-Laktam Grubu Antibiyotiklerin Enterokoklara İn-Vitro Etkinliği. Ankem Derg, 2001; 15: 59-63.
17. Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-Resistant Enterococci. Clin. Mic. Rev. 2000; 13: 686-707.
18. Devriese L, Baele M, Butaye P. The Genus Enterococcus: Taxonomy. Prokaryotes, 2006; 4: 163-174.
19. Upadhyaya PMG, Ravikumar KL, Umapathy BL. Review of virulence factors of enterococcus: An emerging nosocomial pathogen. Indian Journal of Medical Microbiology. 2009; 27: 301-305.
20. Moaddab S, Treci K,. Enterokok suşlarında tr tayini, vankomisin ve diğer bazı antibiyotiklere direnç aranması. Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg 2000; 30: 77-84.
21. Zervos M J, Terpennig MS, Schaberg DR, Theaesse PM, Medenderp SV, Kauffman CA. High-level aminoglycoside resistant enterococci: Colonization of nursing home and acut care hospitalpatients. Arch Intern Med 1987;147:1591-1594.

22. Zervos M J, Dembinski S, Mikesell T, Schaberg DR. High-level resistance to gentamicin in *Streptococcus faecalis*: Risk factors and evidence for exogenous acquisition of infection. *J Infect Dis* 1986;153:1073-1083.
23. Sayiner S. H. Hastanemizde Sürveyansla Saptanan VRE"lerin Dağılımı Antibiyotik Duyarlılıkları ve Kolonize Hastalarda Risk Faktörlerinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi İstanbul 2008.
24. Vergis EN, Shankar N, Chow JW, Hayden MK, David R. et. Association between the Presence of Enterococcal Virulence Factors Gelatinase, Hemolysin, and Enterococcal Surface Protein and Mortality among Patients with Bacteremia Due to *Enterococcus faecalis*. *Clinical Infectious Diseases* 2002; 35: 570–575.
25. Kayaoğlu G, Orstavik D. Virulence Factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship To Endodontic diseases. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004; 15: 308-320.
26. Akçimen B. Hastane Enfeksiyonlarından İzole Edilen Vankomisin Dirençli Enterokokların Pulsed Field Jel Elektroforez Yöntemi İle Genotip Tayini. Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Adana 2010.
27. Murray BE. Diversity among Multidrug-Resistant Enterococci. *Emerging Infectious Diseases*, 1998; 4: 37-47.
28. French GL. Enterococci and Vancomycin Resistance. *Clinical Infectious Diseases* 1998; 27: 75–83. 9.
29. Shankar N, Coburn P, Pillar C, Haas W, Gilmore M. Enterococcal cytolysin: activities and association with other virulence traits in a pathogenicity island. *International Journal of Medical Microbiology*., 2004; 293: 609-618.
30. Esen Ş. Enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar ve tedavi seçenekleri. Ed: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara 2004:159-170.

31. Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A. Enterococcal infections & antimicrobial resistance. *Indian J Med Res* 128, 2008; 111-121.
32. Lance R. Thurlow, Vinai Chittezhham Thomas, Sanjeev Narayanan, Sally Olson, Sherry D. Fleming, Lynn E. Hancock at al. Gelatinase Contributes to the Pathogenesis of Endocarditis Caused by *Enterococcus faecalis*. *Infection and Immunity*, 2010; 78 (11): 4936–4943.
33. Maki DG and Tambyah PA. Engineering Out the Risk of Infection with Urinary Catheters. *Emerging Infectious Diseases*, 2001; 7(2): 42-347
34. Taşova Y, İnal A.S. Enterokok enfeksiyonlarında klinik. Ed: Şardan Y Ç. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar 2004. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2004:17-22.
35. Khanand FY, Elshafi S. *Enterococcus gallinarum* meningitis: a case report and literature review. *J Infect Dev Ctries*, 2011; 5(3): 231-234.
36. Başustaoğlu A. Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu. Ed: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara 2004: 141-158.
37. Lefort A, Mainandi JL, Tod M, Lortholory O. Anti enterococcal antibiotics. *Med Clin North Ame* 2000; 6:1471-1495.
38. Korten V. Enterokok enfeksiyonları. In: İliçin G, Ünal S, Biberoğlu K, Akalın S, Süleymanlar G (eds). *Temel İç Hastalıkları. İkinci baskı*. Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara 2005 3118-3120.
39. Derbentli Ş. Nozokomiyal enterokok enfeksiyonları. *Galenos*.1998;23: 14-17.
40. Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin resistant enterococci. *Lancet* 1988;1:57-58.
41. Öngen B, Gürler N, Esen F, Karayay S, Töreci K. Glikopeptidlere ve denendiği bütün antibiyotiklere dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *Ankem Derg* 1999;13:501-505.

42. Robert C, Moellering RC. Enterococcus species, Streptococcus bovis and Leuconostoc species. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (edc). Principles and Practice of Infectious Disease. Vol 2. Sixth edition. Elsevier Churchill Livingstone 2005: 2411-2417.
43. Facklam RR, Sahm DF. Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manual of Clinical Microbiology. Sixth edition. ASM Press. Washington 1995: 308-315.
44. Kutlu SS, Dokuzoğuz B. Enterokok enfeksiyonlarında tedavi seçenekleri. Ed: Ünal S, Vahapoğlu H. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2004: 23-32.
45. Balık İ, Birengel S. Oksazolidinonlar: Ed: Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. Linezolid-eperezolid. Antibiyotikler. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2003: 365-374.
46. Center for disease Control and Prevention. Recommendation for preventing spread of vancomycin resistance. Infect Control Hosp Epidemiol 1995;16:105-113.
47. Boyce JM, Opal SM, Chow JW, et al. Outbreak of multidrug-resistant Enterococcus faecium with transferable vanB class vancomycin resistance. J Clin Microbiol. 1994;32(5):1148-53.
48. Sandoe JA, Witherden IR, Au-Yeung HGC, Kite P, Kerr KG, Wilcox MH. Enterococcal intravascular catheter-related bloodstream infection: management and outcome of 61 consecutive cases. J Antimicrob Chemot 2002; 50: 577-82.
49. Das I, Gray J. Enterococcal bacteremia in children: A review of seventy-five episodes in a pediatric hospital. Infect Dis J 1998; 17: 1154-8.).
50. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, et al. Nosocomial infections in pediatric intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. Pediatrics 1999; 103: e39.
51. Boulanger JM, Ford-Jones EL, Matlow AG. Enterococcal bacteremia in pediatric institution: A four year review. Rev Infect Dis 1991; 13: 847.

52. Montecalvo MA, de Lencastre H, Carraher M, Gedris C, Chung M, VanHorn K, et al. Natural history of colonization with vankomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16: 680-685.
53. Saka V, Tsiodras T, Galani L, et al. Risk-factors and predictors of mortality in patients colonised with vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Infect* 2007; 10.1111/j.1469-0691.2007.01840.x.
54. Gold H. Vancomycin-resistant enterococci: Mechanisms and clinical observations. *Clin Infect Dis* 2000; 33: 210-9.
55. Lambiase A, Del Pezo M, Piazza O, Petagna C, De Luca C, Rossano F. Typing of Vancomycin-resistant enterococcus *faecium* strains in a cohort of patients in an Italian intensive care unit. *Infection* 2007; DOI 10.1007/s15010-007-6288-4.
56. Vural T, Şekercioğlu AO, Ögünç D, ve ark. Vankomisine dirençli *E. faecium* suşu. *Ankem Derg*, 1999; 13: 1 – 5.
57. Başustaoğlu A., Özyurt M., ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen glikopeptid dirençli *E. faecium*. *Flora* 2000; 5: 142-7.
58. Murray BE. Vancomycin-resistant enterococcal infections. *N Engl J Med* 2000; 342; 710-21.
59. Zer Y, Bayram A, Balcı İ, Korkmaz G. Hastanede yatan hastalardan izole edilen enterokok suşlarının vankomisin duyarlılıklarının E-test yöntemi ile belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cem Derg* 2002; 32(1-2):55-7.
60. Menteş O, Balcı İ, *Enterococcus* spp. colonized in the gastrointestinal tract of patients in hemato-oncology and intensive care units and their resistance profiles to vancomycin, *Microbiyol Bult* 2007;41(4):585-89.
61. English BK, Shenep JL. Enterococcal and Viridans Streptococcal infections. In: Feigin RD, Cherry JD (eds). *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 5th edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 2004, 1175-92.
62. Bhavnani SM, Drake JA, Forrest A, et al. A nationwide, multicenter, case-control study comparing risk factors, treatment, and outcome for vancomycin-

- resistant and –susceptible enterococcal bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 36: 145-58.
63. Sümerkan B. Vankomisine duyarlı enterokoklar. 2. Sterilizasyon Dezenfeksiyon Hastane İnfeksiyonları Kongresi, 25-28 Nisan 2001, Samsun, Kongre özet kitabında. 2001: 187-191.
64. Bratcher DF. Vancomycin-resistant enterococci in the pediatric patient. *Pediatr Infect Dis* 2001; 20: 621-2.
65. Mamal Torun M, Altinkum SM, Bahar H, Kocagöz S, Biçer P, Demirci M. Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* kökenlerinde genotipik ve fenotipik özelliklerin araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005; 35: 153-158.
66. Yüce A, Karaman M, Gülay Z, Yulug N; Yenidoganlarda vankomisine dirençli enterokokların fekal taşıyıcılığı. *ANKEM Derg*.1999;13:7-11
67. Maniatis AN, Pournaras S, Kanellopoulou M, Kontos F, Dimitroulia E, Papafrangas E, Tsakris A. Dissemination of clonally unrelated erythromycin and glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* isolates in a tertiary Greek hospital. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4571.
68. Kaçmaz B, Akça G, Sultan N. Enterokoklarda antimikrobiyal duyarlılık. *ANKEM Derg* 1:28 (2003).
69. Öztürk R, Eroğlu C, Köksal F, Mert A, Aygün G. Enterokoklarda antibiyotiklere direnç ve yüksek düzeyde gentamisin direnci. *ANKEM Derg* 9:351 (1995).
70. Hoşgör M Çavuşoğlu C, Tünger A, Özinel MA. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci. *İnfek Derg* 11:7 (1997).
71. Akgül SG, Sümerkan B. Enterokok türlerinde vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozit direncinin araştırılması. *İnfek Derg* 13:67 (1999).



8. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	Asef BOZKUŞ
Doğum Yeri	Gaziantep
Doğum Tarihi	20.05.1991

LİSANS EĞİTİM BİLGİLERİ

Üniversite	Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi
Fakülte	Fen-Edebiyat
Bölüm	Biyoloji

YABANCI DİL BİLGİSİ

İngilizce	KPDS (.....) ÜDS (.....) TOEFL (.....) EILTS (.....)
...	

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurum	Gaziantep Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi
Görevi/Pozisyonu	Biyolog/ Laboratuvar
Tecrübe Süresi	2.5 yıl

KATILDIĞI

Kurslar	
Projeler	

İLETİŞİM

Adres	
E-mail	asef_bozkus@hotmail.com

