



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YOĞUN BAKIM ÜNİTELERİNDE VANKOMİSİN DİRENÇLİ
ENTEROKOK SAPTANMASINDA KLASİK KÜLTÜR İLE
POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONUNUN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Ersin ÇİÇEK
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2018



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YOĞUN BAKIM ÜNİTELERİNDE VANKOMİSİN DİRENÇLİ
ENTEROKOK SAPTANMASINDA KLASİK KÜLTÜR İLE
POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONUNUN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Ersin ÇİÇEK
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Saim DAYAN

DİYARBAKIR-2018

TEŞEKKÜR

Bu günlere gelmemde maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sevgilerimle.

Bu tezin planlanma ve oluşturulma aşamasında her konuda desteği olan ve deneyimlerini paylaşan değerli tez hocam Prof. Dr. Saim DAYAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim süresince her konuda destek olan, bilgi ve deneyimlerini paylaşan çok değerli Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Celal AYAZ, değerli hocalarım, Prof. Dr. Mustafa Kemal ÇELEN ve Doç. Dr. Recep TEKİN'e teşekkür ederim.

Tezin hazırlanmasında büyük emekleri olan, onlarla çalışmaktan mutlu olduğum birbirinden değerli asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniğinin tüm çalışan personeline teşekkür ederim.

Dr. Ersin ÇİÇEK
Diyarbakır – 2018

ÖZET

Enterokoklar, doğal floranın virulansı düşük bakterileri olmasına rağmen bir çok antibiyotiğe karşı sahip oldukları doğal ve kazanılmış direnç mekanizmaları sayesinde hastane kaynaklı infeksiyonlarda önemli bir yer işgal etmektedir. Bu nedenlerle özellikle yoğun bakım hospitalizasyonu yapılan hastalarda VRE kolonizasyonunun erken tespiti, gelişebilecek infeksiyonların kontrolünün sağlanması ve yayılımının önlenmesinde önemli bir eşiktir.

Çalışmamızın amacı, özellikle yoğun bakım ünitelerine yatırılan hastalarda vankomisin dirençli enterokok saptanmasında, eş zamanlı çalışılmış olan klasik kültür (enterococcosel agar) ve polimeraz zincir reaksiyon tarama sonuçlarının karşılaştırılarak klasik kültür (KK) yöntemi ile polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yönteminin birbirlerine üstünlüklerinin değerlendirilmesidir. Çalışmada geçmişe yönelik 23 aylık süre içinde hastanemiz üçüncü basamak yoğun bakımlarında takip edilen 311 hastanın ilk yatışlarında eş zamanlı iki ayrı swab numunesi olarak alınan perirektal sürüntü örneklerinin klasik kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu ile değerlendirilmesi yapıldı. 311 örneğin 66 (%21,2)'sında PZR ile pozitiflik saptanırken, 32 (%10,2) örnekte KK ile pozitiflik saptandı. 3 örnek dışında KK pozitifliği saptanan 29 örnek, PZR ile de pozitif sonuç verdi.

PZR pozitifliği saptanan 66 örneğin, 58'inde VanA geni, 6'sında VanB geni ve 2 örnekte ise VanA+VanB geni tespit edildi. KK'de pozitiflik saptanan 32 örneğin 27'sinde VanA geni, 2'sinde ise VanA+VanB geni saptanırken 3 VRE kültür pozitifliği olan örnekte ise PZR negatif sonuç verdi.

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde; PZR, kültüre nazaran daha hızlı sonuç verdiğinden dolayı, derhal alınacak olan izolasyon önlemleriyle hem diğer hastaların enfekte olmaları, hem de sağlık çalışanlarına bulaş sonucu gelişebilecek taşıyıcılık önlenebilecektir. Böylece VRE'nin hastane ve hastane dışı yayılımının önlenebileceği sonucuna ulaşılmıştır. Ancak PZR yönteminin yüksek yanlış pozitiflik oranları, pozitif prediktif değerinin düşük olduğu sonucunu doğurmaktadır. PZR yönteminin özgüllük ve duyarlılığının düşüklüğü nedeniyle yoğun bakımlarda iki yöntemin birlikte kullanılmasının daha sağlıklı sonuçlar doğuracağı değerlendirilmektedir.

Anahtar kelimeler: Enterococcus faecium, Vankomisin direnci, Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Enterococcosel agar, Yoğun Bakım

ABSTRACT

Enterococcus, which have low virulence in natural flora, because of having innate and acquired resistance mechanisms against antibiotics, many have been an important place in nosocomial infections. For this reason, early detection of VRE colonization, especially in patients with intensive care hospitalizations, is an important threshold to control and prevent the spread of infections.

The purpose of our study is to evaluate the comparison of classical culture method (CC) and polymerase chain reaction (PCR) for especially the patients who are at the intensive care unit; by croschecking the classical culture which were executed cocurrently (enterococcosel agar) with the conclusion of polymerase chain reaction (PCR) method. During the past 23 months, at the first admission of 311 patients followed in the third stage intensive care unit of our hospital, the perirectal swab specimens taken as two separate swab were evaluated by classical culture and PCR. 66 (%21,2) of 311 were PCR positive, and 32 (%10,2) cases were CC positive. Except 3 samples, 29 samples which CC positive were also PCR positive.

PCR positivity was detected In 66 cases, VanA gene was detected in 58, VanB gene in 6, and VanA+VanB gene in 2 samples. Twenty-seven samples with positive VanA gene and 2 with VanA+VanB gene were found positive in the culture, whereas the sample with 3 VRE culture positive gave PCR negative results.

When the results of the study are evaluated, PCR will be faster than the culture, so the isolation precautions to be taken immediately will prevent both the infection of the other patients and the carrier which can result in transmission to healthcare workers. Thus achieving the result that VRE can be avoided from hospital and hospital outbreaks. However high false positive rate of PCR method ensues that the positive predictive value is low. Because of the low sensitivity and specificity of the PCR method, concurrent use of two methods in intensive care should be considered to produce more healthy results.

Keywords: Enterococcus faecium, Vancomisin resistance, Polymerase chain reaction, Enterococcosel agar, Intensive care

İÇİNDEKİLER

	Sayfalar
TEŞEKKÜR	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Mikrobiyolojik Özellikler	4
2.2.1. Morfolojileri ve Boyanma Özellikleri	5
2.2.2. Üreme ve Fizyolojik Özellikler	5
2.2.3. Hücre Duvar Yapıları ve Antijenitleri	6
2.2.4. Sınıflama ve İdentifikasyon	7
2.3. Enterokoklara Ait Virulans Faktörler	8
2.3.1. Agregasyon Faktörü (AF)	8
2.3.2. Ekstraselüler Yüzey Protein (Eyp)	9
2.3.3. MSCRAMM ACE (Molekül adezyonunu tanıyan mikrobiyal yüzey bileşeni kollojen-bağlayıcı adhezin)	10
2.3.4. Enterococcus faecalis Antijen A Proteini (EfaA proteini)	10
2.3.5. Sitolizin (hemolizin, bakteriyosin)	10
2.3.6. Jelatinaz	10
2.3.7. Kapsüler Polisakkarid Antijenleri	10
2.3.8. Lipoteikoik Asit-LTA	11
2.3.9. Ekstraselüler Süperoksit	11
2.3.10. Feromonlar	11
2.3.11. Hyaluronidaz	11
2.3.12. AS-48	12
2.3.13. Antibiyotik Direnci	12

2.4. Enterokoklarda Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	12
2.4.1. İntrensek (doğal-kromozomal) Direnç	12
2.4.1.1. Aminoglikozidlerde Direnç	13
2.4.1.2. β -laktam Antibiyotik Direnci	13
2.4.1.3. Trimetoprim–Sulfametoksazol Direnci	13
2.4.2. Ekstrensek (kazanılmış) Direnç	14
2.4.2.1. Beta-laktam Direnci	14
2.4.2.2. Kloramfenikol Direnci	14
2.4.2.3. Aminoglikozidlerde Direnç	14
2.4.2.4. Tetrasiklin Direnci	15
2.4.2.5. MLSB	15
2.4.2.6. Kinolon Direnci	15
2.4.2.7. Glikopeptit Direnci	16
2.4.2.7.1. Fenotipik Direnç	16
2.4.2.7.2. Vankomisine Bağımlı Enterokoklar (VBE)	18
2.4.2.8. Genotipik Direnç Tanımlaması	18
2.5. VRE Kolonizasyonu ve Risk Faktörleri	20
2.6. Enterokok Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi	21
2.7. Enterokoklarla Gelişen Enfeksiyon Hastalıkları	23
2.7.1. Üriner Sistem Enfeksiyonları (ÜSE)	23
2.7.2. Enfektif Endokardit	23
2.7.3. Bakteriyemi	24
2.7.4. Menenjit	24
2.7.5. Pelvik ve İntraabdominal Enfeksiyonlar	24
2.7.6. Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları	25
2.7.7. Neonatal Enfeksiyonlar	25
2.8. VRE Enfeksiyonlarında Tedavi	25
2.9. VRE'den Korunup Kontrol Altına Alma Önlemleri	26
2.9.1. VRE'de Kaynak ve Bulaş	27
2.9.2. Akılcı Vankomisin ve Antibiyotik Kullanımı	28
2.9.3. Eğitim	28
2.9.4. Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü	29

2.9.5. Enfeksiyon Kontrol Önlemlerinin Uygulanması	29
2.9.5.1. Vankomisin Dirençli Enterokok Sürveyansı	30
2.9.5.2. Sürveyans Kültürleri	30
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	31
3.1. Tür Tayini ve Vankomisin Direncinin Tespiti	31
3.1.1. Klasik Kültür Yöntemi	31
3.1.2. PZR Yöntemi	32
3.2. Hastaların Yatış Tanıları	32
3.3. İstatistik-Analiz	33
4. BULGULAR	34
4.1. Klasik Kültür ve Polimeriz Zincir Reaksiyonu Sonuçları	34
4.2. Klasik Kültür ile VRE üremesi olan Örneklerin, VRE Suşları Açısından Dağılımı	35
4.3. PZR Pozitif Hasta Örneklerinin VRE Suşları Açısından Dağılımı	35
4.3.1. VanA Genotip Pozitif Hasta Örneklerinin VRE Suşları Açısından Dağılımı	35
4.3.2. VanB Genotip Pozitif Hasta Örneklerinin VRE Suşları Açısından Dağılımı	35
4.3.3. (VanA+VanB) Genotip Pozitif Hasta Örneklerinin VRE Suşları Açısından Dağılımı	35
4.3.4. PZR ve KK İlişkisi	36
4.3.5. Klasik Kültürde VRE Üremesi Olan ve PZR Pozitif Hastaların Bulunduğu Dekat ile Cinsiyet Dağılımı	36
4.3.6. KK ile VRE Üremesi Olan, PZR Pozitif Olan ve Hem KK ile VRE Üremesi Olup, Hem de PZR Pozitif Olan Hastaların Son Üç Ayda Hastanede Yatış İlişkisi	37
4.3.7. KK ve PZR Yöntemleri ile Hastaların Mortalite İlişkisi	38
4.3.8. KK ile VRE Üremesi Olan Hastaların Yattıkları Yoğun Bakım Servisleri ile İlişkisi	39
4.3.9. PZR Pozitif Olan Hastaların Yoğun Bakım Servisleri ile İlişkisi	40

4.3.10. KK’de VRE Üremesi Olan, PZR Pozitif Olan, Hem PZR Pozitif Hem de KK ile VRE Üremesi Olan Hastaların, 21 Gün İçinde E.faecium Bakteriyemisi Gelişimi Açısından İstatistiksel Bulguları	41
4.3.11. KK’de VRE Üremesi Olan, PZR Pozitif Olan, Hem PZR Pozitif Hem de KK’de VRE Üremesi Olmasına Göre Yedi Gün İçinde VRE Tedavi Gereksinimi Açısından İstatistiksel Bulgular	42
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ	50
7. KAYNAKLAR	54
8. EKLER	71



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfalar

Tablo 1: Enterococcus cinsi içerisinde yer alan türler	4
Tablo 2: Enterokokları diğer koklardan ayırt etmede kullanılan özellikler	6
Tablo 3: Enterokok türlerinin fenotipik özellikleri	7
Tablo 4: Enterokoklarda glikopeptid fenotip dirençleri	17
Tablo 5: Enterococcosel agar (Klasik Kültür), PZR ve Genotip ilişkisi	34
Tablo 6: Klasik kültür ve polimeraz zincir reaksiyonu ilişkisi	36
Tablo 7: Klasik kültürde VRE üremesi olan ve PZR pozitif hastaların bulunduğu dekad ile cinsiyet dağılımı	37
Tablo 8: KK'de üreme olan hastaların son üç ayda hastanede yatış ile ilişkisi, PZR pozitif olan hastaların son üç ayda hastanede yatış ile ilişkisi	38
Tablo 9: KK ve PZR yöntemleriyle hastaların mortalite ilişkisi	39
Tablo 10: KK ve PZR ilişkisinde hastaların yattıkları yoğun bakım servisleri dağılımı	41
Tablo 11: KK'de VRE üremesi olan, PZR pozitif olan, hem PZR pozitif hem de KK'de VRE üreme olmasına göre 21 günde E.faecium bakteriyemisi gelişimi	42
Tablo 12: KK'de VRE üremesi olan, PZR pozitif olan, hem PZR pozitif hem de KK'de VRE üreme olmasına göre yedi gün içinde VRE tedavi gereksinimi	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfalar

Şekil 1: E. faecalis ve E. faecium Eyp(fm) bakterilerinin Eyp yüzey proteinleri ile S. aureus'un biyofilm-iliskili proteini Bap arasındaki ilişkinin şematik gösterimi	9
---	---



KISALTMALAR

AF	: Agregasyon faktörü
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ADT	: Antimikrobiyal Duyarlılık Testi
CDC	: Center for Diseases Control and Prevention
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
DDT	: Disk Difüzyon Testi
EARSS	: European Antimicrobial Surveillance System
EFA	: Enterococcus faecalis A antijeni
GİS	: Gastrointestinal Sistem
HICPAC	: Hospital Infection Control Practices Advisory Committee
IDSA	: Infectious Diseases Society of America
HEKK	: Hastane Enfeksiyon Kontrol Komitesi
KK	: Klasik Kültür (Enterococcosel Agar)
MRSA	: Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSE	: Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus epidermidis</i>
NNIS	: National Nosocomial Infection Surveillance
PBP5	: Penisilin bağlayan protein 5
PaI	: Patojenite Adacığı
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SCOPE	: Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiological Importance
TMP-SMX	: Trimetoprim-sulfometoksazol
UHESA	: Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı
ÜSE	: Üriner Sistem Enfeksiyonu
VRE	: Vancomycin-Resistant Enterococci
YBÜ	: Yoğun Bakım Ünitesi

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Enterokokların ilk zamanlar, Streptococcuslar olarak adlandırıldığı, 19. Yüzyıl sonlarında ise Enterococcus ismiyle tanımlandırıldığı bilinmektedir (3). Enterokoklar fakültatif anaerob, G(+), katalaz (-), hareketsiz, mikroskop altında birçok farklı şekilli, kısa zincir yapmış koklardır. Enterokoklar insanların sindirim sisteminde ve farklı birçok çevresel bölgede bulunabilen bağırsak florası üyeleridirler (4).

Fransız araştırmacı Thiercelinin tarafından “enterocoque” olarak adlandırılmış olan, bağırsak florasının bu üyeleri, endokardit olgularının önemli patojeni olarak tanımlanmıştır. Enterokokların giderek artan ölçüde sefalosporinlere direnç kazanması, sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonlarda görülme sıklığının artmasına neden olmuştur. Enterokoklar nihayetinde, sağlık hizmetleri ile ilişkili bakteriyemi, üriner sistem enfeksiyonları ve yara yeri enfeksiyonlarının sıklıkla görülen etkenleri olmuşlardır (5, 9).

Çoklu dirençli bakterilerden VRE, ilk olarak 1988 yılında İngiltere’den ve sonrasında da Fransa’dan bildirilmiştir (10, 11). Ülkemizde ilk VRE izolatı 1998 yılında Akdeniz Üniversite’sinden bildirilmiş olup ardından birçok merkezden bildirim yapılmaya başlanmıştır (12).

Enterokoklar normalde bağırsak flora elemanı olmakla birlikte fırsatçı patojenik özellikleriyle çeşitli enfeksiyonlara neden olabilirler. Sıklıkla idrar yolu, kan, endokardium, yanık sonrası ve cerrahi müdahale sonrası oluşan yaralar, batın, kateter ve safra yolunu enfekte ederler. Bu mikroorganizmanın virülansında, çok önemli bir özellik olan biyofilm oluşturma; canlı ya da cansız yüzeylerde kendisine kolonizasyon yapabilme ve antibiyoterapiden etkilenmeme özelliğini sağlar. E.faecalis’in, insanlardan alınan klinik numunelerden % 80-90 oranında, E.faecium’un ise % 5-10 oranında ürediği tespit edilmiştir. Sağlık hizmetleri ile ilişkili enterokokal enfeksiyonlar sıklıkla yoğun bakım ünitelerinde görülmektedir. Enterokoklar sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonların % 10’undan sorumlu iken, bakteriyemilerin % 9 ve sağlık hizmetleri ile ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarının ise % 16’sından sorumludurlar (13).

Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiological (SCOPE) ve SENTRY Antimikrobiyal Sürveyans Program verilerine göre kandan izole edilen *E.faecium* izolatlarının % 60'ı vankomisine dirençlidir. Gastrointestinal sistemlerinde VRE taşıyıcısı olan kişilerin, VRE kolonizasyonundan sonra bu mikororganizmaları haftalarca ve aylarca taşıyabileceği bildirilmiştir. VRE hastadan hastaya bulaşabileceği gibi sağlık çalışanlarının elleri, kontamine olmuş tıbbi aletler ve çevresel yüzeylerden de bulaşır. VRE'nin kolonize olması ile VRE enfeksiyonlarındaki artışın önüne geçmek ve aynı zamanda VRE bulaşını engellemek için CDC'nin Hastane Enfeksiyon Kontrol Uygulamaları Danışma Komitesi'nin hazırlamış olduğu rehberdeki tavsiyeler; vankomisinin dikkatli kullanımı, VRE'li hastaların erken tespiti ve çapraz bulaşmanın sınırlandırılması, hasta izolasyonu, el yıkama, VRE bulaşı hakkında eğitim gibi enfeksiyon kontrol önlemlerini içerir. VRE kolonizasyonu sonrası hastaların küçük bir kesiminde ciddi derecede sistemik enterokok enfeksiyonu görülse de, VRE'nin gastrointestinal kolonizasyonu, sonradan meydana gelen VRE enfeksiyonları ile bağlantılıdır. Karaciğer transplant hastaları, kronik hemodiyaliz hastaları, onkoloji hastaları gibi VRE taşıyıcılarının, ciddi enterokok enfeksiyonlarını geçirme riski diğerlerine göre daha fazladır. Bu yüksek riskli hastalarda, VRE bulaşını ve salgınlarını engellemek için aktif sürveyans yapılmalıdır (13).

VRE enfeksiyonlarının, yatan hastalar arasında yayılımının önüne geçilmesi adına kolonize olanların belirlenmesi ve bu hastaların izolasyonunun sağlanması elzemdir. Bu nedenle hastalarda gaita ve rektal sürüntü kültürleri ile VRE taranması, temel bir sürveyans yöntemidir. Normal şartlarda VRE enfeksiyonlarının sık görülmemesine rağmen, bunun gerçekleşmesi halinde mortalite yüksektir. VRE bakteriyemisi gelişmesi halinde mortalite yaklaşık % 60-70 civarında olup bunların yarısında ölüm nedeni VRE enfeksiyonudur (14). Çalışmamızın amacı Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri üçüncü basamak yoğun bakımlarına yatışı yapılan hastalardan alınan rektal sürüntü örneklerinde VRE kolonizasyonunun en erken ve en güvenilir tespitinin hangi yöntemle yapılabileceğinin ve bu yöntemlerin birbirlerine üstünlüğünün belirlenmesidir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Lancefield, 1930'lu yıllarda yaptığı sınıflandırma ile enterokokları, D grubu streptokoklar içinde kategorize ederken, Sherman ise Lancefield'den sadece bir kaç yıl sonra ilk kez enterokokları tanımlamıştır (15). Enterokok ismi ise ilk defa 1899 yılında Thiercelin'in bir makalesinde kullanılmıştır (16). 1956'da klinik kullanıma giren ve "yenen, fetheden" anlamına gelen "vanquish" kelimesinden adını almış olan, o yıllarda saf preparatı bulunmayan vankomisin, ciddi derecede yan etkilerinden dolayı klinik kullanımda yerini metisilin almıştır. Sonraki yıllarda ise, vankomisin saflaştırılması ile günümüzde kullanılan vankomisin hidroklorür sayesinde gram-pozitif bakteri enfeksiyonlarında olumlu sonuçlar alınmıştır. Bununla beraber, uygunsuz antibiyotik kullanımının bir sonucu olarak vankomisine direnç geliştiren enterokoklar, "VRE (vankomisin dirençli enterokok)" adıyla tıp literatürüne girmiştir (17, 18).

Klinik açıdan 1988'de ilk olarak tanımlaması yapılan ve sonrasında ise hızlı bir şekilde dünyaya yayılan VRE, yaklaşık on yıl sonra ülkemizde de bildirilmiştir. VRE'ler, zamanla tüm hastaneler için sorun olmuştur. Nitekim sağlık bakanlığının 2010 yılındaki antimikrobiyal direnç hızları verilerine bakıldığında Türkiye'de VRE oranının % 11.2 olduğu belirtilmiştir (20, 21, 39).

2011 yılı verilerine göre ise E.faecium suşlarının %17'sinde vankomisine karşı direnç saptanırken bu değer 2012 yılında %16.70 olarak bulunmuştur. 2012 yılında teikoplanin direncinin bir önceki yıla kıyasla arttığı gözlenmiştir (2011 yılında %0.30, 2012 yılı %16). 2012 yılı verilerine göre; E.faecium izolatlarında tedavide güvenilir seçenekler olan vankomisin (%16.70), teikoplanin (%16) ve linezolid (%2.70) direncinin saptanmış olması, kısıtlı antibiyotik kullanımına önem verilmesi gerektiğini göstermektedir. European Antimicrobial Resistance Surveillance (EARS)'ın verilerine göre; E. faecium izolatlarında ortalama vankomisin direnci 2011 yılında %6.30, 2012 yılı için ise %8.10 olarak rapor edilmiştir. Ülkemizde izlenen vankomisin direncinin Avrupa ülkelerinin ortalamasından daha yüksek olduğu izlenmektedir (22).

M.Sherman ve Helen U. Wing tarafından 1935 ve 1937 yıllarına gelindiğinde *Streptococcus durans* tanımlanmıştır. Bu bakteri *S.faecium*'a benzemekte fakat daha az fermentasyon özelliği göstermekteydi. Daha sonra bu gruba S.S.Nowlan ile R.H.Deibel, *Streptococcus avium*'u eklemiştir (23). Sonraları ise, K.H. Schleifer ve R. Klipper-Baltz tarafından *S. faecalis* ve *S. faecium* türlerinin diğer streptokoklardan ayırımı yapılarak, Enterokok adıyla ayrı bir genus olarak sınıflandırılması gerekliliği üzerinde durulmuştur. Yakın zamana kadar yapılan çalışmalar ve analizler ile enterokokların yeni bir cins oldukları ve *Enterococcus* cinslerinin mahiyetinde en az 34 tür olduğu belirtilmiştir (24) (Tablo 1).

Tablo 1: *Enterococcus* cinsi içerisinde yer alan türler (24).

<i>Enterococcus aquimarinus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus pseudoavium</i>
<i>Enterococcus asini</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus ratti</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Enterococcus gallinorum</i>	<i>Enterococcus pallens</i>
<i>Enterococcus caccae</i>	<i>Enterococcus gilvus</i>	<i>Enterococcus phoeniculicola</i>
<i>Enterococcus canintestini</i>	<i>Enterococcus haemoperoxidus</i>	<i>Enterococcus silesiacus</i>
<i>Enterococcus canis</i>	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Enterococcus saccharolyticus</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus hermannienseis</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>
<i>Enterococcus cecorum</i>	<i>Enterococcus italicus</i>	<i>Enterococcus termitis</i>
<i>Enterococcus columbae</i>	<i>Enterococcus mundtii</i>	<i>Enterococcus sulfureus</i>
<i>Enterococcus devriesei</i>	<i>Enterococcus malodoratus</i>	<i>Enterococcus villorum</i>
<i>Enterococcus dispar</i>	<i>Enterococcus moraviensis</i>	<i>Enterococcus thailandicus</i>
<i>Enterococcus durans</i>		

2.2. Mikrobiyolojik Özellikler

Kısa zincirler halinde bulunan enterokoklar, gram pozitif koklardır. Fakültatif anaerob olup optimal üreme sıcaklığı 35 °C'dir. Bütün kökenler % 6.5 NaCl buyyon besiyerinde ürerken % 40 safra tuzlu besiyerinde eskulini hidrolize eder. Hareketli olan türleri vardır. Sitokrom enzimleri yoktur ve glukozdan gaz yapmazlar. Uygun olmayan ortam şartlarında üreme yetenekleri olduğundan sudan toprağa insandan hayvana çoğu yerde yaşayabilmektedirler (25).

Enterokokların çevre şartlarına son derece dayanıklı olduğu bilinir. Bu bakteriler, 60°C’de 30 dakika ısıtmaya dayanıklı olup geniş bir pH aralığında üreyebilirler. *E.faecalis*’in safra tuzları ile deterjanların letal düzeylerine adapte oldukları gösterilmiştir. Uygun olmayan temizlik (dekontaminasyon ve dezenfeksiyon) rejimlerinde canlılıklarını sürdürebilirler, bu da özellikle hastane ortamında kalıcı olmalarını sağlar (26). Laboratuvarlardan elde edilen enterokokların yaklaşık % 80-90’ını *E. faecalis*, % 5-10’unu ise *E. faecium* izolatları oluşturmaktadır (27).

2.2.1. Morfolojileri ve Boyanma Özellikleri

Enterokoklar incelendiğinde 1 µm çapına ulaşabilen, tekli, çiftli kok ya da kısa zincirli dairesel, kokobasil şeklinde olabilirler. Üretildikleri besiyerlerin katı ve sıvı özelliğine göre bakterilerin görünimleri de uzun zincirli koklardan, kok veya kokobasilere kadar değişmektedir. Boyama anilin ile yapılabilir (28).

Enterokoklar genel olarak bazı istisnaları dışında hareketsizdirler. *E.flavescens*, *E. gallinorum* ve *E.casseliflavus* hareket kabiliyetine sahiptir (29).

2.2.2. Üreme ve Fizyolojik Özellikler

Enterokoklar fakültatif anaerob özellikte olup genel olarak üremek için mutlak CO₂’e gereksinimleri yoktur; fakat CO₂ bulunan ortamda üremeleri kolaylaşır. En uygun üreme sıcaklığı 35°C iken pH’ ise 7.2 dir. Bu pH ve sıcaklık değerlerinden daha yüksek değerlerde de üreyebilirler. Koyun kanlı ağarda bir günlük inkubasyon sonucu, 1-2 mm çapına sahip, gribeyaz S şeklinde koloniler görülür. Enterokoklar genel olarak pyrolidonyl arylamidase (PYRase) ve leucine aminopeptidase (LAPase) üretirler (16, 5).

Enterokokların metabolik aktivitesinin devamı için bazı B vitaminlerine, aminoasitlere ve karbon kaynağına gereksinimleri vardır. Aminoasitler histidin, izolösin, metionin, triptofan, arginin, glutamat, glisin, lösin ve valin’e kadar değişiklik gösterir. Vankomisin rezistan enterokok (VRE) izolatlarının belirlenmesinde 6 µg/ml vankomisin ilave edilmiş brain-heart infüzyon agar (BHI) veya Enterococcusel sıvı besiyeri kullanılabilir (27).

Yüksek oranda tuz (% 6.5 NaCl), sıcaklık ve yüksek oranda (%40) safra

tuzlarına karşı dayanıklı olup, bu ortamda üreyebilirler. Eskulin hidrolizi ile, Bile-Esculine (BE) agarda ürerler. Karışık bakteri örneklerinden ayırt edilebilmesi için seçici besiyerlerinden safra-eskulinazid agar, Enterococcosel agar, fenil etil alkol agar (PEA) veya Columbia-Kolistin-Nalidiksik asit agar (CNA) kullanılmaktadır. Besiyerlerinin içeriğindeki maddelerin kimyasal yapıları sebebiyle kolonilerin rengi siyah halo ile çevrili, gri-beyaz renktedir ve bunların hemen ortasında tuğla kırmızısı rengine kadar farklı şekillerde ve yapılarda görülebilirler (16).

2.2.3. Hücre Duvar Yapıları ve Antijenitleri

Enterokok hücre duvarındaki üç ana bileşeninden biri olan peptidoglikanın, %40 oranında bulunduğu, kalan kısımda ise teikoik asit ve polisakkaritlerin bulunduğu bilinmektedir. Peptidoglikan polimer yapıları, glikan zincirlere bağlanan kısa peptitlerden oluşur (16). Lancefield streptokokların çoğunu duvar karbonhidratlarına göre sınıflandırmış olup, enterokokların “D” grubunda serolojik tiplendirilmesinde lipoteikoik asitlerin (LTA) antijenik özelliklerini dikkate almıştır. Gruba özelliğini veren “D” antijeni, gliserol ünitelerine bağlanmış yüksek oranda glukoz içeren poligliserolfosfatın teikoik asit polimeridir (30).

Gr(+) kok, katalaz (-), fakültatif anaeroplara ile Enterokokların farklılıkları Tablo 2'de gösterilmiştir (16, 30).

Tablo 2: Enterokokları diğer koklardan ayırt etmede kullanılan özellikler (16, 30)

Genus	Morfoloji	Hareket	VAN	PYR	BE	NaCl	10°C'de üreme	45°C'de üreme
Enterococcus	Zincir	D	S	+	+	+	+	D
Streptococcus	Zincir	—	S	—	—	—	—	—
Lactococcus	Zincir	—	S	—	+	D	+	—
Leuconostoc	Zincir	—	S	—	D	D	+	—
Pediococcus	küme, tetrat	—	R	—	+	D	—	—

D: Değişken, **S:** Duyarlı, **R:** Dirençli, **VAN:** Vankomisin (30 µg disk) duyarlılığı, **PYR:** L- pyrrolydonyl- β-naphthylamide hidrolizi, **BE:** Safralı eskulin hidrolizi, **NaCl:** % 6,5 NaCl içeren besiyerinde üreme

2.2.4. Sınıflama ve İdentifikasyon

Enterokoklar beş grupta sınıflandırılmıştır. Arjinin hidrolizi ile Sorbitol, mannitol ve sorboz içerikli besiyerlerinde asit çıkarmaları bu sınıflandırma temelinde yatmaktadır (14).

Tablo 3: Enterokok türlerinin fenotipik özellikleri (31)

Grup, Tür	Grup D Antijen	Safra eskulin %6,5				Asit Üretimi														
		NaCl'de üreme	10°C'de üreme	45°C'de üreme	LAP	PYR	Hareket	pigment	ADH	HIP	GLU	MNTL	SORB	ARB	SBTL	RAF	SUK	PRV	MPG	
Grup I																				
<i>E. avium</i>	+	+	+		+	+	+	-	-	-	D	+	+	+	+	+	-	+	+	D
<i>E. gilvus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-
<i>E. malodoratus</i>	+	+	+		-	+	+	-	-	-	D	+	+	+	-	+	+	+	+	D
<i>E. pallens</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E. pseudoavium</i>	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
<i>E. raffinosus</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	D
<i>E. saccharolyticus</i>	-		+			+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-
<i>Enterococcus sp.</i>	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+
Grup II																				
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-
<i>E. faecium</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	D	D	+	-	-
<i>E. casseliflavus</i>	+	+	+		+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	D	+	+	D	+
<i>E. gallinarum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+
<i>E. mundtii</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	D	+	+	-	-
<i>E. haemolyticus</i>	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+
<i>Enterococcus sp.</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+
Grup III																				
<i>E. dispar</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	D	+	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>E. durans</i>	+	+	+		+	+	+	-	-	+	D	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. hirae</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-
<i>E. ratti</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	D	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. villorum</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Grup IV																				
<i>E. asini</i>	+	+	-	D	D	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	D
<i>E. cecorum</i>	-		-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-
<i>E. sulfuricus</i>	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+
<i>E. phoenicicola</i>	-	-	-	-	-			-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Enterococcus sp.</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Grup V																				
<i>E. columbae</i>	-	+	+			+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>E. canis</i>		+	+			+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	D	+	+
<i>E. moraviensis</i>	+	+	+	+	-	+	D	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+

LAP: lizin aminopeptidaz; PYR: pirolidonil arilamidaz; ADH: arginin dihidrolaz; HIP: hipurat hidrolizi; GLU: glukoz; MNTL: mannitol; SORB:sorboz; ARB: arabinoz; SBTL:sorbitol; RAF: raffinoz; SUK: sukroz; PRV: piruvat; MPG: metil-alfa-D-glukopirazonit; D: değişken

2.3. Enterokoklara Ait Virulans Faktörler

Enterokok virulansı, genomdaki patojenite adaları (PAI) ve plazmidlerde kodlanmış virulans genlerle sağlanmaktadır. Bu patojenite adaları 1980’de nozokomiyal salgın ile *E.faecalis*’te tanımlanmıştır. Büyüklüğü yaklaşık 150kb olan bu PAI; enterokokal yüzey protein (eyp), agregasyon faktörü (asa) ve sitolizin (cyl), transpozazlar, transkripsiyonel regülatörler ve proteinlerin kodlandığı genlerin bulunduğu 129 ORF bölgesine sahiptir (32, 36).

Aynı zamanda PAI’de herhangi bir fonksiyonu olmayan 18 ORF bölgesi kodlanmakta olup kommensal enterokokların patojenite adalarında bu ORF bölgeleri bulunmamış, bunun enterokokların hastanede yaşamasına, hastalık geçişine veya patogeneze katkıda bulundukları belirtilmiştir (32). Enterokokların çoğu antibiyotiğe dirençli olmaları nedeniyle geniş antibiyoterapi altında varlıklarını devam ettirebilirken süperenfeksiyonlara da yol açarlar (37).

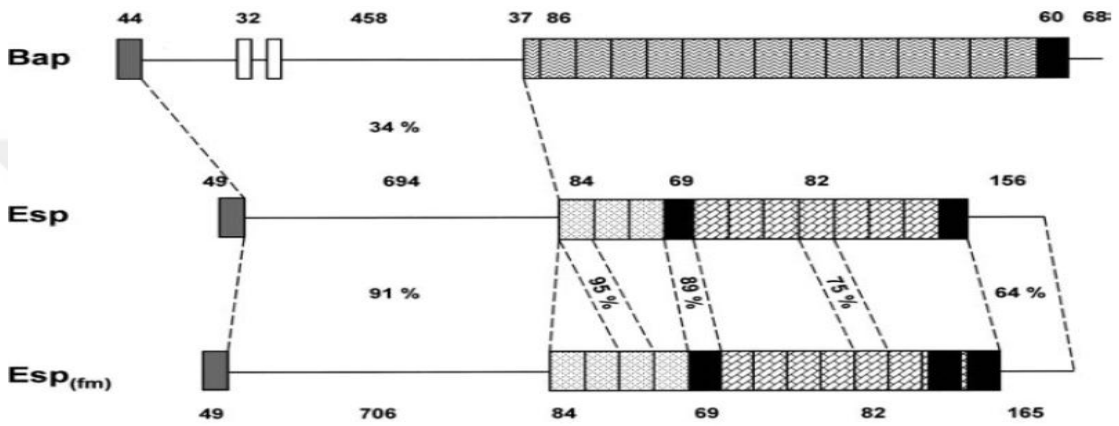
Enterokoklara ait virulans faktörlerini sıralayacak olursak; Serin proteaz, Sitolizin, Jelatinaz, Enterokok yüzey proteini, Agregasyon faktörü, Kollojen-bağlayıcı adhezin, MSCRAMM ACE, Hücre duvarı polisakkaritleri, Kapsül yapısı, LTA, Süperoksitler, Seks feromonları, Hyaluronidaz, Efa, AS 48, ve Antibiyotik direncidir (32, 38).

2.3.1. Agregasyon Faktörü (AF)

Bakterilerin yüzeyinde protein yapıda, feromon-cevap özelliğinde ve plazmidin kodladığı bakteriyel adhezindir. Plazmid transferinin etkinliğini hücre teması ile sağlar. Enterokokların kalp kapaklarına ve böbrek epitel hücrelerine bağlanması ile, endokardit ve üriner sistemde enfeksiyonuna neden olur. AF’nin indüklemesi ile TNF- α , TNF- β , ve IFN- γ salınımı gerçekleşir. Enterokoklar AF sayesinde, kompleman reseptörüyle, opsonizasyondan bağımsız olarak nötrofillere bağlanır, böylece nötrofiller tarafından bakterinin öldürülmesi engellenir. Fagositik yıkıma karşı direnç gelişir (23, 32, 39, 42).

2.3.2. Ekstraselüler Yüzey Protein (Eyp)

Enterokok yüzey protein(Eyp), ilk kez yüksek dereceli virülen gentamisin direncine sahip *E.faecalis*'te tanımlanmış olup, Eyp'nin çoğunluğu korunan ve tekrar eden bloklar içeren yapısal özellikleri vardır. *E.faecalis* MMH594 suşunda olgun Esp 1873 amino asit barındırır. Yinelenen blokların oluşturduğu bölge % 50 oranında protein içerir (33-36). Bu protein, hücre duvarına tutunmayı sahip olduğu karboksi ucuyla gerçekleştirir (23).



Şekil 1: E. faecalis ve E. faecium Eyp(fm) bakterilerinin Eyp yüzey proteinleri ile S. aureus' un biyofilm-ilişkili proteini Bap arasındaki ilişkinin şematik gösterimi (33)

Şekil1'de Eyp'de yinelenen üniteler sırası ile; A, B ve C tekrarları kutucuklar ile belirtilmektedir. Tekrar eden ünitelerin içerdiği amino asitleri sayılar ile gösterilmiştir. Kesikli çizgiler içerisinde bulunun yüzdelerik değerler bölgeler arasındaki bezerlik oranlarıdır (33).

Eyp, *E. faecalis* ve *E. faecium*'un neden olduğu salgın suşlarında bulunduğu için epidemik suşları gösterdiği düşünülmektedir (43, 44). Proteinin içinde tekrarlayan domainler içeren ve molekülün uzayıp ksalmasını sağlayan bir bölge bulunur. Bunun da bakterinin immün yanıtta kaçışında rol oynadığı düşünülür (32, 42, 45).

2.3.3. MSCRAMM ACE (Molekül adezyonunu tanıyan mikrobiyal yüzey bileşeni kollojen-bağlayıcı adhezin)

ACE'nin 71 kDa'lık bir moleküler kütle olduğu ve bir LP X'i içeren Gram pozitif bakterilerde hücre yüzeyi proteinlerinin karakteristik özelliklerini içerdiği öngörülmüştür. Dokulardaki kolonizasyon, adhesiv matriks molekül adezyonunu tanıyan mikrobiyal yüzey bileşeni olan MSCRAMM ile gerçekleşir. Şimdiye kadar, yedi enterokok MSCRAMM ayrıntılı olarak karakterize edilmiştir. ACE'nin laminin ve dentine bağlandığı bildirilmiştir (46,47).

2.3.4. Enterococcus faecalis Antijen A Proteini (EfaA proteini)

Serum tarafından indüklenebilen bir yüzey protein olup ilk olarak E.faecalis endokarditi olan bir hastanın antiserumundan tanımlanmış olan Efa A'nın amino asit dizilimi, adezin olarak bilinen streptokok proteinleri grubuyla % 55-60 homoloji ortaya koymuştur (48,49).

2.3.5. Sitolizin (hemolizin, bakteriyosin)

Eskiden hemolizin olarak bilinen sitolizin; insan, at ve tavşan eritrositleri yanı sıra polimorfonükleer lökosit, makrofaj ve gram pozitif organizmalar içinde lizis aktivitesiyle bilinen sitotoksik proteindir. Sitolizin, bütün gram pozitif organizmalar için bakterisidal, gram negatif bakterilere karşı ise inaktiftir. Sitolizin, feromona hassas plazmid veya PAI'da bulunan kromozomlar üstünde kodlanabilmektedir (38, 50).

2.3.6. Jelatinaz

E.faecalis suşlarında jelatinaz üretimini "fsr" gen bölgesi tarafından düzenlenmekle birlikte, endokardit izolatlarının tamamında dışkı izolatlarının ise yarısında bulunmuştur (32).

2.3.7. Kapsüler Polisakkarid Antijenleri

Kapsül komponentlerinin fagositoza dirençli olmaları bakterilerin konak immün sisteminden kaçışında önemlidir. Aynı zamanda E.Faecalis ile E.faecium'da ikinci bir kapsül polisakkaritinin olduğu bildirilerek, bunun enterokokların

virülansına katkıda bulunmasının yanında enfeksiyonlara karşı da immünitete rol oynadığı belirtilmiştir (23, 32, 33).

2.3.8. Lipoteikoik Asit-LTA

Glikolipit parçalarının kovalent olarak poligliserol fosfat omurgasına bağlanmasıyla oluşur. Lipit yapısal bölgesi ile ökaryotik hücrelere bağlanabilmektedir. Özellikle Gram pozitif bakterilerin hücre yüzeyleri üzerinde bulunur. Enterokokların Dgrubu antijenini oluşturur.LTA, donör hücrenin ürettiği agregasyon faktörü için alıcı hücrede reseptör özelliğiyle plazmid transferi ve agregat oluşumunu hızlandırması ile virulansa katkı sağlar (42, 51).

2.3.9. Ekstraselüler Süperoksit

Süperoksitler yaygın olarak E. faecalis izolatlarının çoğunluğunda E. faecium türlerinin ise bir kısmı tarafından sentezlenmektedir. Mikro-çevreye salınan Süperoksitler bakterinin hayat süresini uzatmaktadır (23, 32, 40, 42).

Enterokokların neden olduğu bakteriyemi ve endokardit olgulu hastalardan alınan örneklerinden elde edilen enterokokların, hasta olmayan kişilerin gaitasından izole edilenlerden daha fazla oranda süperoksit radikali ürettiği belirtilmiştir (32, 42, 40).

2.3.10. Feromonlar

E.faecalis tarafından salınan küçük peptitler olup suşlar arasında plazmid DNA'sının konjugatif transferini kolaylaştırır. Enfeksiyonlarda inflamatuvar cevap artışı olur (2). Bazı feromonlar süperoksit üretimini ve lizozomal enzim sekresyonunun artmasını sağlayarak doku hasarı oluşturur (42, 29).

2.3.11. Hyaluronidaz

Hyaluronik asit tahribi ile doku hasarına yol açan enzimdir. Mikroorganizmalar tarafından hyaluronidaz üretiminin tespiti, hyaluronik asit içeren yarı katı ortama inokülasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Enterokokal hyaluronidazın, invaziv hastalıklarda rol oynadığı belirtilmiştir. Bağ dokusunda mukopolisakkarit depolimerizasyonu ile bakteri yayılmasını sağlar. Hyaluronidaz, diş kökü kanalından

periapikal lezyonlara enterokok geçişini sağlayarak diş çürüklerinde rol oynar (30, 42, 51, 52).

2.3.12. AS-48

Geniş spektrumda bakterilere karşı sitolitik etkilidir. *E. faecalis* S-48 suşundan izole edilen basit peptit yapılı bir bakteriyosindir. Otolizin aktivitesi sayesinde enterokok lizisini indükleyebilir. AS-48, sitolizin operonunda olduğu gibi aktarılabılır. İyon geçiş indüksiyonuyla sitoplazmik membran potansiyelinin hedef hücrede bozulmasına neden olduğu düşünülür (2, 44).

2.3.13. Antibiyotik Direnci

Enterokokların çoğu; β -laktamlar, klindamisin, düşük konsantrasyonda aminoglikozid ve florokinolonlara doğal dirençlidirler. Enterokoklar, yüzey agregasyon maddesinin sentezini etkileyen feromonları salgılayabilirler. Antibiyotik direncinin, virölans özelliklerine sahip enterokok suşlarının canlı florasında çoğalmasını, sağladığı belirtilmiştir (12, 32).

Multi drug dirençli enterokokların dirençten sorumlu plazmidlerini başka bakterilere transfer edebilmesi ile penisilin ve vankomisine direnç özelliklerinin yine başka bakterilere aktarılması ile bu enfeksiyonların yayılma olasılığı artmaktadır (89).

2.4. Enterokoklarda Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Enterococcus'ların İntrensek (doğal-kromozomal) Direnç ve Ekstrensek (kazanılmış) Direnç mekanizmaları ile diğer gram pozitif bakterilerin duyarlı olduğu bir çok antibiyotiğe karşı direnci söz konusudur. Enterokoklara, son zamanlarda hastane enfeksiyonu etkeni olarak daha sık karşılaşılır. Dirençli enterokoklar yoğun antibiyotik kullanımı ile ortamlarda hızla yayılabilirler. Enterokoklarda antibiyotik direnç mekanizmaları İntrensek ve Ekstrensek olmak üzere iki şekildedir (53, 57).

2.4.1. İntrensek (doğal-kromozomal) Direnç

İntrensek direnç tüm enterokok türlerinde bulunan kromozomal dirençtir. Enterokok türlerinde, Aminoglikozidlere, β -laktamlara, Linkozamidlere ve

Trimetoprim-sulfametoksazole karşı kalıtsal olarak intrensek direnç mevcuttur (53, 56, 58).

2.4.1.1. Aminoglikozidlerde Direnç

Aminoglikozid direnci düşük seviyededir. Burda direncin düşük düzeyde intrensek olarak görülme nedeni aminoglikozidlerin bakteri hücre duvarından enerji bağımlı mekanizma ile geçmesinden kaynaklanır. Fakat kombine olarak β -laktam antibiyotikler ile sinerjistik etki oluşturarak, hücre duvarından daha kolay geçebilirler (56, 60, 61).

Diğer bir mekanizma ise sadece *Enterococcus faecium*'un sahip olduğu 6'asetiltransferaz (AAC-6') enzimi ile sitoplazmaya geçen ilaç inaktive edildiği asetilasyon mekanizmasıdır (62).

2.4.1.2. β -laktam Antibiyotik Direnci

Beta-laktam antibiyotiklerin enterokoklarca intrensek ve ekstrensek dirençle karşılaştığı bilinir. Enterokoklardaki intrensek direnç beta-laktam antibiyotiğe karşı düşük seviyede bağlanma isteği olan PBP5 enzimi sayesinde. *E. faecium*'un PBP5 sentezinin kaybı, penisiline karşı direnç sahibi olanların çok duyarlı hale gelmesine sebep olduğu Fontana ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (56,59,60).

Son yıllarda giderek azalan PBP'lerin penisilin afinitesi, *E. faecium* bakterilerinin yaklaşık % 90'nı ampisiline dirençli hale getirmiştir. *E. faecalis* suşlarına bakılacak olursa burada % 3 düzeyine ulaşan direnç mevcuttur (60, 61).

2.4.1.3. Trimetoprim–Sulfametoksazol Direnci

Enterokoklar dış kaynaklı folik asiti kullanma yetenekleri nedeniyle TMP-SMX'e intrensek direnç gösterdikleri düşünülmektedir. Çoğu enterokok suşu TMP-SMX'e in-vitro duyarlı olup, in-vivo şartlarda etkisizdir. Bundan dolayı TMP-SMX antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanımı önerilmez (41, 23).

2.4.2. Ekstreensek (kazanılmış) Direnç

Genel olarak DNA mutasyonu ile meydana gelen dirençli gen yapıları, enterokoklardan birbirlerine veya diğer bakterilere aktarılabilir. Eksterensek direncin, aynı zamanda sıklıkla konjugasyon mekanizması ile olmak üzere yeni bir DNA segmentinin transferi ile oluştuğu bilinir. Aminoglikozid, beta-laktam, Florokinolon, Linkozamid, Makrolid, Penisilin ile ampisilin, Rifampisin, Tetrasiklinler, Vankomisin, Kinupristin/Dalfopristin, ve Linezolid karşı kazanılmış direnç mevcuttur (41, 53, 56, 58, 63, 65).

2.4.2.1. Beta-laktam Direnci

Beta-laktamlara karşı ikinci bir direnç ise beta-laktamaz üretimidir. Nadir izole edilen ve enzime sahip enterokok bakteriler, ilk defa 1981’li yıllarda ABD’de tanımlandı. Enterokokların gentamisin direnç geninin de bulunduğu plazmid üzerinde kodlanan beta-laktamaz enzimi; ampisilin, penisilin, piperasilin ve diğer üreidopenisilinleri etkilerken, penisiliazdan etkilenmeyen penisilinleri, imipenemi ve sefalosporinleri etkilemezler. Kısa süreli β -laktam maruziyeti sonucu hızla tolerans nedeniyle bu ajanlar enterokoklara karşı bakteriyostatik etkilidir. Bakterisidal aktivitenin gerektiği enfeksiyonlarda kombinasyon yapılarak tedavi edilmesi uygundur. Aminoglikozidlerle birlikte β -laktam kombinasyonu sinerjistik bakterisidal etkilidir (62, 66, 68).

2.4.2.2. Kloramfenikol Direnci

Bu antibiyotiğin, multi drug rezistans özelliğe sahip E.faecium’a karşı in vitro etkinliği mevcuttur. Yalnız VRE’lerin bazılarında kloramfenikole de direnç tespit edilmiştir (53, 76).

Yapılan çalışmalar enterokokların yaklaşık % 20’lerden, %40’lara kadar varabilen kloramfenikol direncini göstermiştir. Direncin en önemli mekanizması kloramfenikol asetiltransferaz üretimidir (56).

2.4.2.3. Aminoglikozidlerde Direnç

Enterokoklar, yüksek seviyede aminoglikozidlere karşı dirençli olup, bunlar iki farklı direnç mekanizması olarak belirtilen; Ribozomal direnç ve

Aminoglikozidleri inaktive eden enzimlerin sentezi ile olan direnç şeklindedir. Ribozomal dirençte, ribozomda bulunan aminoglikozid bağlanma bölgesinin değişmesinden dolayı birtek streptomisine karşı gelişen ender olarak görülen transferi olmayan direnç türü söz konusu iken, aminoglikozidleri inaktive eden enzimlerin sentezi ile olan direnç türü ise, en sık görülen direnç mekanizması özelliği ve nedeni olarak da, Adeniltransferaz, fosfotransferaz, ve asetiltransferaz enzimleriyle duyarlı suşlara aktarması ve hızlı yayılması gösterilmektedir. 6'-asetiltransferaz ve 2'-fosfotransferaz aktivitesine sahip olan füzyon proteini gentamisine yüksek düzeyde dirençten sorumludur. Böylelikle streptomisin dışında diğer tüm aminoglikozidlerin sinerjistik etkisi kalmaz (54, 55, 60, 69, 75).

2.4.2.4. Tetrasiklin Direnci

Enterokoklarda Tn916 transpozonu üzerinde tet M geni , enterokokal bir plazmidüzerinde taşınan tet L geni ve tet Q, ile tet N gibi tetrasiklinlere dirençten sorumlu çok sayıda gen tanımlanmıştır. Tet L geni aynı zamanda aktif transport sistemini de kodlayarak, tetrasiklinlerin hücre dışına pompalanmasını sağlar. Enterokokların bu antibiyotiğe karşı göstermiş olduğu konjugasyon yolu ile elde edilen direnç, kazanılmış direnç mekanizmasının en karakteristik örneği olarak değerlendirilebilir (5, 56, 60).

2.4.2.5. MLSB

MLSB antibiyotiklerine (makrolidler, lincosamidler ve B tipi streptograminler) karşı direnç, 50S ribozomal alt birimi olan bakteriyel 23S rRNA'da yaygın olarak bulunan erm (B) geni metilasyon aracılığı ile eritromisinin ribozomlara bağlanması gerçekleşmez. Ayrıca direnç asetiltransferazlar, hidrolaz veya bir eflüks pompa mekanizmasıyla da olabilir (5, 56).

2.4.2.6. Kinolon Direnci

Buradaki direnç mekanizması; enterokok gyrA (giraz) ve parC (topoizomeras) genlerinin mutasyonları ile gerçekleşir. Enterokokların çoğu kinolonlara karşı orta düzeyde duyarlılık gösterirken, çoğu suş da dirençlidir (56).

2.4.2.7. Glikopeptit Direnci

Enterokok peptidoglikan tabaka oluşumunda, ligaz enzimi sayesinde meydana gelen “D-ala-D-ala”nın, UDP-N-asetil muramil tripeptidine eklenmesiyle oluşan UDP-N-asetil muramil pentapeptiti peptidoglikana bağlanarak, kros bağları oluşturur. UDP-N-asetilmuramil pentapeptit yapısının, D-ala-D-ala terminaline bağlanan vankomisin ve teikoplanin peptidoglikan yapının transglikozilasyonunu önler. Sentezlenen tabakanın yan zincirinde D-ala-D-ala’nın değil de ligaz enzimi sayesinde D-ala-D-laktat yahut D-ala-D-serin’in oluşması, vankomisin ve teikoplaninin bu yeni terminale bağlanma isteğini azaltır. Hücre duvarı sentezi devam ederken glikopeptitlere karşı da direnç gelişir.

Fenotipik olarak MİK değerleri; glikopeptitlere karşı gelişen direnç sınıflandırmasında daha önceleri kullanılırken, şimdilerde spesifik ligaz gen mevcudiyeti kullanılmaktadır. VanA, VanB, VanD ve VanG tipi dirençte, D-Ala-D-Laktat, VanC ve VanE tipi dirençte ise, D-Ala-D-Serin yapısının olduğu bilinmektedir (58, 60, 77).

2.4.2.7.1. Fenotipik Direnç

Fenotipik vankomisin direncinin VanA, VanB, Van C, Van D, Van E ve VanG, isimleriyle altı farklı tipi mevcuttur. VanA ile VanB tipi yeni kazanılmış gen dizileri kaynaklı olup E. faecium ile E. faecalis suşlarında belirlenmiştir (58, 60).

Bu kapsamda uyarılabilin en yüksek düzeyde vankomisin ($MİK \geq 64 \mu g/ml$) ve teikoplanin direnci ($MİK \geq 16 \mu g/ml$) görülür. Direncin indüklenmesini sağlayan glikopeptitler arasında vankomisin, teikoplanin, avoparsin ve ristosetin bulunurken, nonglikopeptitler arasında da basitrasin, polimiksin B ve robenidin bulunur. VanA direncinin transfer edilebilirliği, tüm enterokok izolatları arasında olurken VanB de ise bu, sadece E. faecalis ve E. faecium suşlarında olur. Ayrıca vankomisine dirençte [$MİK \geq 32-64 \mu g/ml$ (4-1000 $\mu g/ml$)] değerlerinde daha makul düzeyde uyarılabilir olduğu ‘Fenotipik VanB tipi dirençte söz konusudur. Burada teikoplanin’e duyarlılığın olduğu görülür. Yine düşük düzeylerde vankomisine direnç ($MİK \geq 4-32 \mu g/ml$) ve teikoplanin duyarlılığı Fenotipik VanC tipi dirençte söz konusu olup, E. casseliflavus ve E. gallinorum suşlarında tanımlanmıştır (58, 60, 78).

Enterokoklarda fenotipik belirleme, mevcut suşun vankomisin ve teikoplanin direnci ile bunun indüklenebilmesi ve ayrıca bakteriler arası transfer edilebilir özellikleri dikkate alınarak yapılır. Tablo- 4’de bu özellikler belirtilmiştir (58, 18, 79, 80).

Tablo 4: Enterokoklarda glikopeptit fenotip dirençleri

Özellik	Fenotip				
	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE
Vankomisin MİK (µg/mL)	64- >1000	4-1024	2-32	64-128	16
Teikoplanin MİK (µg/mL)	16-512	< 0.5	< 0.5	4	0.5
Direnç geni	Kazanılmış	Kazanılmış	İntrensek	Kazanılmış	Kazanılmış
Aktarılabileme	Evet	Evet	Hayır	Hayır	Hayır

VanA fenotip direncinde, yüksek seviyelerde vankomisine (MİK $\geq$ 64 µg/mL) ve teikoplanine karşı rezistans (MİK $\geq$ 16 µg/mL) özellik gösterirken, glikopeptidler; polimiksin B, basitrasin, robenidin ile indüklenebilir. VanA gen topluluğu; Tn1546’da bulunur ve bakteriler arası genetik bilgi transferinin bu sıçrayıcı elemanları sayesinde direncin öteki suşlar ve türler arasında hızla yayılabildiği belirtilmiştir. VRE salgınlarının altında yatan fenotip olarak sıklıkla VanA fenotipi enterokok suşları ile olduğu belirtilmiştir (17, 77, 81, 82).

VanB fenotipinin, vankomisine direnci değişik düzeyde iken (4-100 µg/mL) teikoplanine ise duyarlılık mevcut olup bu duyarlılık indüklenebilmekte ve VanB direnç geni bakteriler arası aktarılabilmektedir (81, 18, 83). Yakın dönemlerde ise mutant VanB fenotipleri saptanmış olup, Hayden MK ve arkadaşları teikoplanine karşı dirençli olan VanB geni taşıyan *E.faecium* türü izole ettiklerini bildirmişlerdir (84). En yaygın fenotip olan VanA ve VanB’nin özellikle *E.faecalis* ve *E.faecium* ‘da bulunurken az da olsa *E.casseliflavus*, *E.durans* ve *E.gallinarum* bakterilerinde de bulunduğu belirtilmiştir (80).

VanC fenotipi *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. flavescens* türlerinde bulunup, vankomisine düşük seviyelerde dirençliyken (MİK= 2-32 µg/mL), teikoplanine karşı hassastır (58, 82).

Van D fenotipi direnç te *E. faecium* türünde gösterilmiş, bu tip direnç genlerinin kromozomda yer aldığı ve bakteriler arasında aktarılamadığı belirtilmiştir. Bu suşların vankomisine direnci orta düzeyde olup (MİK= 64-128 µg/mL), teikoplanin hassasiyeti ya da düşük seviyede (MİK= 4 µg/mL) direnci söz konusudur (14, 30, 27, 64).

VanE direnci intrensek VanC direncine benzerliği vardır. *E. faecalis* BM4405 suşunda saptanan bu VanE direnci, vankomisine düşük seviyelerde dirençli (MİK= 16 µg) olup, teikoplanine ise hassastır (79).

2.4.2.7.2. Vankomisine Bağımlı Enterokoklar (VBE)

Vankomisine bağımlı enterokoklar ilk defa Vankomisin tedavisi alan bir hastanın idrar örneğinden 1993 yıllarında izole edilmiştir (93). VanA ve VanB tipi VRE'lerin bir kısmında görülen bu VBE'lerin üremesi için vankomisin gerekli olup, vankomisin içeren agara ekilen klinik örneklerden elde edildiği belirtilmiştir. Vankomisin verilen hasta kültürlerinde çoğunlukla VanB tipi dirence sahip enterokoklar ürettiği belirtilmektedir. Bu izolatlarda doğal ligaz genlerinin mutasyonu ile D-ala-D-ala üretilemez. Vankomisinin, D-ala-D-laktat oluşumunda rol alan dehidrogenaz (VanH) ve ligaz (VanA veya VanB) sentezini indüklemesiyle oluşan D-ala-D-laktat hücre duvarı oluşumunda bulunur. Vankomisin olmadığında ise D-ala-D-laktat üretimi aksamaması hücre duvarı sentezlenmemesine neden olurken, bakterilerin de üreyemediği belirtilmiştir (58, 94).

2.4.2.8. Genotipik Direnç Tanımlaması

VanA genotip direnci:

VanA genotip direncinden Tn1546 ile Tn5482 transpozonları ve ilgili transpozon (Tn1546) üstündeki VanA geninin sorumlu olduğu belirtilmiştir. Bu genin Tüm glikopetirlere karşı olan VanA genotip direnci en sık karşılaşılanıdır. VanA izolatlarında vankomisin (MİK $\geq$ 64 µg/ml) ve teikoplanine (MİK $\geq$ 16 µg/ml) yüksek düzeyde direnç görülür. VanA geni *E. faecium*'da bir plazmid üzerinde bulunur(58,77,78). VanR, VanS, VanH, VanX, VanY, VanZ ve VanA geni Tn 1546 transpozonu üzerinde bulunup vankomisin direncinin oluşumu ve düzenlenmesinde rol oynarlar. VanR ve VanS sayesinde VanH ile VanA ve VanX' in transkripsiyonu

sağlanır. Aktive olan VanH, VanA ve VanX'in, promotorlarının VanR'ye aktarılmasını Vankomisini algılayan VanS yapar (86).Enterokoklar arasında ilk olarak E. faecium'da bulunan VanA geni sonraları E. faecalis, E. durans, E. gallinorum, E. avium, E. mundtii, E. casseliflavus ve E. raffinosus türlerinde de bulunmuştur (58, 77, 78, 87, 88).

Vankomisin ve beta-laktam kombinasyonunun sinerjik başarısı tek başına vankomisin mevcudiyetinde PBP'lerin artışı sonucu beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan duyarlılığı açıkladığı düşünülmüştür (89).

Van B genotip direnci:

VanB ligazının, VanA ligaza genetik yönden Van B gen kümesinin içermiş olduğu VanH_B, VanX_B, VanY_B, VanR_B ve VanS_B genleri açısından benzerliği varken, görevi tam bilinemeyen VanW geni içermekte olup, VanA operonuna farklılığı ise VanZ'dir. VanB genotipi direncinde vankomisine farklı düzeylerde direnç söz konusudur(MİK 4 >1024 mg/mL). Teikoplanine de duyarlılık vardır(MİK 0.5-2 mg/mL). Teikoplanin aksine Vankomisinin indükleyebildiği bu direncin kökenleri teikoplanine karşı da direnç gösterebilirler. VanB' nin temel olarak E. faecium ve E.faecalis'te saptandığı belirtilmiştir. Başka bir ifadeyle VanB gen kümesindeki teikoplanine duyarlı enterokoklar şayet daha önce vankomisinle karşılaşarsa, teikoplanine karşı da direnç gelişebileceği belirtilmiştir (58, 60, 62, 86, 88).

VanC genotip direnci:

VanC genotip direncinin yapısal olduğu, indüklenme ve transfer edilme durumunun olmadığı belirtilmektedir. E.gallinorum, E.casseliflavus ve E.flavescens suşlarında görülen doğal özellikte ve vankomisine düşük düzey seviyesinde direnç varken teikoplanine duyarlılık sökonusudur. E.gallinorum'un VanC ligazı ile, D-ala-D-serin ile sonlanan pentapeptid oluşumu vankomisine ilgiyi azaltır. D-Ala-D-Serin oranının D-Ala-D-Alanin'e oranla daha yüksek olması daha yüksek MİK değerini açıklayabilmektedir (56, 58, 88, 78, 92).

VanD genotip direnci:

E. faecium izolatında 1991’li yıllarda VanD ismiyle yeni bir vankomisin direnç geni tanımlanmıştır. VanD’nin; VanA ve VanB ligaz genlerine %67 oranında benzerlik olup kromozomal yerleşimli olduğu ve konjugasyonla diğer enterokoklara transfer edilemediği belirtilmektedir. VanD genotip direncine sahip suşların vankomisine (MİK=64-256 µg/ml) ve teikoplanine (MİK=4-32 µg/ml) direnci vardır (56, 58, 89).

VanE genotip direnci:

VanE direnç tipi olarak *E. faecalis* BM4405 izolatında tanımlanmıştır. Vankomisine karşı direnci düşük olup (MİK=16 µg/ml) teikoplanine karşı duyarlılığı vardır (MİK=0,5 µg/ml) (49). VanE geni kromozomda yerleşik olup transfer edilememektedir (91, 56, 78, 4).

VanG genotip direnci:

Bu direnç *E. faecalis* suşunda tanımlanmış, vankomisine karşı direnci düşük olup (MİK=16 µg/ml) teikoplanine MİK=0,5 µg/ml) karşı duyarlılığı vardır (91).

2.5. VRE Kolonizasyonu ve Risk Faktörleri

Perirektal sürüntü ile alınan bir örneğin, kültürde VRE pozitifliğini, şayet hastada herhangi bir enfeksiyon semptomu veya kliniği yoksa VRE kolonizasyonu olarak değerlendirebileceğimiz belirtilmektedir. Kolonizasyon herhangi bir sıkıntı olmaksızın uzun müddet sürmesi beklendiği gibi diğer hastalara VRE bulaşı için kaynak oluşturabilmesi de söz konusudur. VRE kolonizasyonu için en önemli risk faktörlerinden arasında antibiyotiklerin (vankomisin, 3.kuşak sefalosporinler, karbapenem) kullanımı olduğu ve VRE kolonizasyon oranının düşürülmesinin vankomisinin kısıtlı kullanılması ile olduğu gösterilmiştir (18, 51, 55). Hastanın hospitalizasyon süresinin uzaması dış kökenli kolonizasyon adına önemli risk faktörü olup hastaların VRE ile kolonize olma durumları, hastanın taburculuğundan aylar sonra bile devam edebilir (58, 95).

Entereokokların intestinal sistemden translokasyon ile VRE endojen kökenli enfeksiyon gelişimi gerçekleşirken, enfeksiyonların kontrolünde aktif sürveyans

kültürleri yapılması ile VRE kolonizasyonunun takibi önem arz etmektedir (12, 95).

Hasta orjinli faktörlerden; uzun süre ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, solid organ transplantasyonu yapılanlar, hematolojik hastalığı olanlar, altta yatan ciddi kronik hastalığı olanlar, VRE kolonizasyonu için yüksek risk oluşturmaktadır. Yine VRE kolonizasyonu ve enfeksiyonu için risk grupları arasında, sağlık çalışanlar ile onların hane halkı ve uzun süre bakım ünitesinde kalmış olanlar yer almaktadır. Bununla beraber, riski arttıran diğer durumlar arasında, VRE kolonizasyonu yada enfeksiyonu olan hastalara sağlık hizmeti veren bir bakım görevlisinin diğer hastalara sağlık bakım hizmeti sunması, cerrahi operasyon sırasında reeksplorasyon yapılmış olan, hastane servisleri arası transfer edilen, enteral beslenme yapılan, sükralfat kullananlar mevcuttur.

Oral vankomisin kullanımının antibiyotik ile ilişkili ishalde kullanımından kaçınılması uyarısı VRE kolonizasyonu için risk faktörü arasında olmalıdır (58, 95).

2.6. Enterokok Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

1988 yılında İngiltere ile Fransada İlk VRE suşları saptanmıştır (23, 24). Ancak ABD’de bu ülkelerden daha sonra görülmesine rağmen, burada VRE enfeksiyonları süratle yayılmış olup, ilk kez 1990 yılında dirençli E.faecium izole edilen bir sağlık kuruluşunda iki yıl içinde VRE oranı % 53’e kadar yükselmiştir (42). CDC istatistiklerinde, 1989’de VRE suşlarının sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonlarda oranı %0.3’ iken, 1993’de bu oran olguların %11,4’üne çıkmıştır. Yoğun bakımlarda ise bunun 34 kat artış ile % 0.4’den % 13.6’ya yükseldiği görülmüştür (10, 11, 45, 96, 97).

Yakın tarihlere kadar enterokok enfeksiyonunun, insanın kendi florasından, kaynaklandığı düşünülürdü. Şimdilerde ise, enterokoklar sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyöz patojen olarak anılmaktadır. Vankomisin, sefalosporin ve aminoglikozidlerin yoğun olarak kullanılmasının, sağlık hizmetleri ile ilişkili enterokok enfeksiyon artışı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (98, 99).

Enterokok enfeksiyonlarından E.faecalis ile oluşan enfeksiyonların oranı diğer türlere göre 10 kat fazla görülürken, son yıllarda, VRE’ler nedeniyle bu oran gittikçe düşüş göstererek E.faecium türleri daha ön plana çıkmıştır. Bugün, ”National Nosocomial Infections Study System (NNIS)” verilerinde, Amerika

Birleşik Devletleri (ABD)'nde enfeksiyon ajanı olarak üretilen enterokoklar içerisinde VRE'lerin oranının % 20'ler düzeyinde olduğu belirtilmektedir. Avrupa'da hayvan çiftlikleri VRE açısından olası kaynaktır. ABD'ye bakıldığında VRE'nin rezervuarı olarak; hastane personelleri, hastaların elleri, stetoskop, termometreler ve bunun gibi birden fazla hastaya kullanılan tıbbi cihazlardır. Avrupa ülkelerinde hayvanların büyümesini olumlu etkileyen avoparsin kullanımı, ABD'de ise gereğinden fazla antibiyotik tüketimi, vankomisin rezistans bakteri artışına sebebiyet verdiği kabul edilmektedir (86, 91).

İnsan gastrointestinal sistem(GİS) florasında bulunan enterokoklar, hastane ve hastane dışında enfeksiyonlara neden olabilmektedir (23).

Çevre şartlarına dayanıklılıkları çok çeşitli ortamda canlı kalmalarını sağlar. Böylelikle objeler vasıtasıyla yada sağlık çalışanlarıyla, enterokoklar hastadan hastaya bulaşarak hastane salgınlarına yol açabilmektedir. Bununla beraber hastane ve bakım evi gibi kurumların çevresel örnekleriyle sağlık çalışanlarının ellerinden, enterokok izolasyonu yapıldığı bildirilmektedir (100, 101, 102).

Farklı hastanelerde 1990 ve 1992 yılları arasında yapılmış olan çalışmanın CDC bildirisinde, sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonların içerisinde enterokokların, yaklaşık %10'luk bir oran ile üçüncü sıklıkta görüldüğü bildirmiştir. Aynı bildiride bu enfeksiyon etkenlerinden %60'tan fazlasının ekzojen kaynaklı olduğu ve yarısından fazlasının da yoğun bakım ünitelerinde görüldüğü belirtilmiştir (58, 103, 104).

ABD'de NNIS'nin verilerine göre; 1989-1997 yılları arasındaki dönemde yoğun bakım ve diğer ünitelerde sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonlarda VRE izolasyon oranlarının çok arttığı ve bu artışın yoğun bakım ünitelerinde daha fazla oranda olduğu sonucu çıkarılmaktadır (105). Ayrıca "National Nosocomial Infections Study System (NNIS) raporunda 2003 yılında yoğun bakım ünitelerinde hastane enfeksiyonlarındaki VRE insidansı ise % 28,5 olduğu belirtilmiştir. 2000'li yıllar başında ABD'deki hastane enfeksiyonu VRE insidansı % 25'in üzerinde olup hastanede yatışı devam eden hastalarda VRE' nin kolonize olma oranı % 5 -18 arasında olduğu belirtilmektedir (97, 106).

European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) 1998 verilerinde bakteriyemi nedeni E.faecium izolatı olan ve VRE oranı en yüksek olan

ülke %24 ile İngiltere olduğu belirtilmiştir. Sonraki yıllarda açıklanan EARSS 2007 verilerine göre VRE oranının Yunanistan ve Portekiz’de % 45’in üzerinde olduğu belirtilmiştir. EARSS 2001 verilerine göre vankomisin dirençli E. faecium Almanya’da % 1 iken 2007 yılına gelindiğinde % 15’e çıktığı görülmüştür. İtalya’da bu oran 2001 yılında % 15 olup, 2003 yılında % 24’e yükselen oran, 2007 yılında ise % 11’lere düşmüştür (107).

Türkiye’de ise ilk olarak bir hastanın plevra sıvısından izole edilmiş olup, vankomisine dirençli bu E.faecium suşu, 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi’nde Vural ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (108, 109).

Günümüzde de VRE ile mücadelede sorun yaşamayan merkez neredeyse yoktur. Yakın zamanlardaki gelişmeler ve veriler, enterokoklarda glikopeptid direncinin kısa süre içinde ülkemiz adına da büyük bir problem olacağını, bu yüzden risk faktörlerinin, direnç saptama ile tarama yöntemlerinin, kontrol tedbirlerinin iyi bilinerek uygulanması elzemdir (23, 110).

2.7. Enterokoklarla Gelişen Enfeksiyon Hastalıkları

Üriner sistem enfeksiyonları, karın içi ve pelvik enfeksiyonlar, enfektif endokardit, bakteriyemi, yara ve yumuşak doku enfeksiyonları, pediatrik enfeksiyonlar ve menenjit şeklinde geniş bir dağılım göstermektedir (111).

2.7.1. Üriner Sistem Enfeksiyonları (ÜSE)

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), enterokokların sıklıkla neden olduğu enfeksiyonların başında gelip, çoğunluk olarak sağlık hizmetleri ile ilişkilidir. Sağlık hizmetleri ile ilişkili VRE enfeksiyonları karşımıza, prostatit, sistit, perinefritik apse ve piyelonefrit olarak çıkar. Sağlık hizmetleri ile ilişkili VRE’de üriner kateterizasyon, bu bölgeye uygulanan sistoskopi gibi invazif girişimler, yine üriner sistem anomalileri ve daha önce antibiyotik kullanmış olma öyküsü önem arz eden risk parametreleri arasındadır (111, 117).

2.7.2. Enfektif Endokardit

Enterokokların bakteriyel endokardit nedeni olma oranları % 5-15 arasında olup, S.aureus ve S.viridans’ın ardından üçüncü sırada gelen en sık enfektif

endokardit etkenidir. Kardiak hastalık ile beraber genitoüriner sistemde rahatsızlığı olan, 50 yaş üstü kişilerde endokardit daha sık görülür. Risk faktörü olarak; genitoüriner sistem yada gastrointestinal sisteme cerrahi girişim yapılmış olması, protez kapağı ya da altta yatan bir kapak hastalığı olması sayılabilir. Enterokokların, en çok mitral ve aort kapağı tutulumu mevcuttur. Prostetik kapak endokarditlerinin % 6-7'sinden sorumludur (113,118, 120).

2.7.3. Bakteriyemi

Vankomisin dirençli enterokok bakteriyemilerinin yakalaşık %78'ini sağlık hizmetleri ile ilişkili bakteriyemiler oluşturur. sağlık hizmetleri ile ilişkili bakteriyemiler, VRE bakteriyemileri içerisinde giderek artmaya başlamıştır (81). Toplum kökenli bakteriyemi nedeni öncelikle endokardit olabileceği, bundan sonra da neden açısından genitoüriner sistem ve gastrointestinal sistem düşünülmesi gerektiği belirtilmiştir (110, 113, 121).

2.7.4. Menenjit

Enterokokal menenjit, genel olarak hematojen yolla, santral sinir sistemine girişim sonrası yani postoperatif olarak, SSS'deki anatomik defektler veya beyin tümörleri ile beyin travması sonrası oluşmaktadır. Yine immünsupresif hastalarda VRE menenjiti gelişebilmektedir (4, 113, 114, 116).

2.7.5. Pelvik ve İntraabdominal Enfeksiyonlar

Enterokoklar karın içi doğal flora elemanları olduklarından burada gelişen enfeksiyonlarda ikinci sıklıkta izole edilir. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, hastalarda enterokokal enfeksiyon riskini arttırmaktadır. Sirozlu veya karaciğer nakli olmuş hastalarda gelişen spontan peritonitte enterokok izole edilme sıklığının arttığı belirtilmektedir. İntraabdominal enfeksiyondan kaynaklanan enterokokal bakteriyemilerde mortalitenin yaklaşık % 40 civarında olduğu belirtilmiştir (4, 69, 113, 114, 116, 120).

2.7.6. Deri ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Enterokoklar az görülen oranlarda deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, dekübit ülserleri, cerrahi alan enfeksiyonları, diyabetik ayak ile yanık enfeksiyonlarına neden olurken, yanık enfeksiyonlarında bakteriyemi halinde mortalitenin yüksek olduğu belirtilmiştir (4, 113, 114, 116).

2.7.7. Neonatal Enfeksiyonlar

Neonatal enterokok enfeksiyon olgularının % 13'ünde etken olup, yenidoğan enfeksiyonları esas olarak hematolojik-onkolojik hastalarda önemli bir rol oynamaktadır. Enterokokların daha çok bakteriyemi ve menenjit ile birlikte sepsise neden olabildiği belirtilmektedir. Pediatrik yaş grubunda enterokokkal enfeksiyonların gelişiminde düşük doğum ağırlığı, invaziv uygulamalar, bağırsak rezeksiyonu, hastanede uzun yatış ve antibiyotik kullanımı önemli risk faktörleridir (4, 113, 114, 116, 120).

2.8. VRE Enfeksiyonlarında Tedavi

VRE enfeksiyonu tedavisi hem bu organizmanın, alışılmadık duyarlılık veya direnç paternleri sergilemesi gerçeğinden dolayı, hem de klinik mikrobiyoloji laboratuvarında gerçek duyarlılıklarını göstermek için özel teknikler kullanmak gerektiği gerçeği nedeniyle karmaşıktır (53). *E. faecalis* izolatları ampisilin ve vankomisine duyarlıyken, *E. faecium*, ise sıklıkla ampisiline yüksek minimal inhibisyon konsantrasyon sergilemekte ve Amerika Birleşik Devletleri'ndeki klinik izolatların çoğunda vankomisine dirençli gözükmektedir. Ampisilin ve seftriakson kombinasyonu, *E. faecalis* endokarditi için alternatif bir tedavidir. *E. faecium*'un yol açtığı ciddi enfeksiyonların tedavisi zordur. Linezolid ve quinupristin-dalfopristin ABD'de multi rezistans dirençli *E. faecium* için onaylanmış ilaçlardır. Ancak bu bileşiklerin önemli sınırlamaları vardır. Bunlar; bakterisid etki eksikliği, toksisite, istenmeyen etkiler ve direnç ortaya çıkışıdır. Daptomisin, enterokoklara karşı *in vitro* bakterisidal etkinliğe sahip bir lipopeptit antibiyotiktir. Fakat tedavi esnasında direnç gelişimi bu antibiyotiğin kullanımı için sınırlama gibi görünmektedir. β -laktamlar, aminoglikozidler ve / veya tigesiklinin daptomisin kombinasyonları birden

fazla ilaca karşı dirençli enterokok enfeksiyonlarının tedavisi için gelecek adına umut verebilir (122).

Enterokok duyarlılığının mikrobiyoloji laboratuvarında net bir şekilde doğru olarak tespit edilememesi VRE enfeksiyon tedavisinin, oldukça zor ve karmaşık durumudur. VRE'lerin antibiyotiklere karşı doğal dirençli olmaları, bu enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik seçimini azaltmakta olup, tedavide kullanılabilecek antibiyotikler arasında da ancak; daptomisin, linezolid, tigesiklin, quinupristin/dalfopristin ve kloramfenikol ile ÜSE'da kullanılan nitrofurantoin ve fosfomisin gösterilebilmektedir (114, 123, 124). Hücre duvar yapısına etki eden bazı antibiyotikler, klinik açıdan ulaşılabilir değerlerde enterokoklara karşı çoğunlukla bakteriyostatik etkili olup, bakterisid davranış için bu ilaçların streptomisin veya gentamisin gibi ilaçlarla kombinasyonu gereklidir (53).

2.9. VRE'den Korunup Kontrol Altına Alma Önlemleri

Doğal gastrointestinal ve kadın genital sisteminin flora üyeleri olan enterokoklar ve bunların oluşturduğu enfeksiyonların kaynağı hastanın endojen florasıdır. Oluşan enfeksiyonlar, hastadan hastaya transfer yolu ile direkt bulaşma yahut kontamine eller, yüzeyler ile gerçekleşebilir. Yapılmış araştırmalar VRE enfeksiyonu açısından en ciddi kaynağın sağlık personellerinin elleri olduğunu göstermektedir.

VRE enfeksiyonlarına karşı koruma adına öncelikli dört faktörün ön planda olduğu belirtilmiştir. Enterokokların vankomisine karşı gösterdikleri direnç artışından dolayı CDC'ye bağlı "Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC)" 1995'te sağlık hizmeti ile ilişkili VRE yayılımının kontrolü adına özellikle 4 maddenin önemini vurgulamıştır.

1. Uygun vankomisin kullanımı,
2. Hastane personelinin eğitimi,
3. Mikrobiyoloji laboratuvarının etkin kullanımı,
4. Kontrol önlemlerinin uygulanması (4, 14, 115, 125, 126).

VRE ile enfekte veya kolonize hastalar için ise önerilen önlemler: A. Hastalar tek kişilik odalara yerleştirilmeli, şartlar uygun değilse, aynı mikroorganizma ile enfekte veya kolonize hastalar aynı odaya konulmalıdır.

B. Hasta odalarına girişte, hasta veya hastayla ilişkili olabilecek yüzeylerle temas öncesinde temiz, nonsteril eldiven ve önlük giyilmeli, odadan çıkıldığında önlük ile eldivenler çıkartılıp, eller antiseptikli sabunla veya su içermeyen antiseptik ajanla yıkanmalıdır.

C. Hasta odasında bulunan tüm yüzey ile tüm aletlerin temizlik ve dezenfeksiyonuna dikkat edilmelidir.

D. VRE pozitif hastalarda kullanılmış rektal termometre, stetoskop, tansiyon aleti gibi tıbbi aletler başka hastalara kullanılmamalıdır.

VRE tedavisine başlamadan önce mutlaka kolonizasyon ve enfeksiyon ayırımı yapılmalıdır. VRE enfeksiyonları ilk ortaya çıktığında tedavi açısından seçenekler kısıtlıydı. Bu dönemlerde yüksek doz ampisilin/sulbaktam, kloramfenikol tedavileri verilmiştir. Şimdilerde ise VRE enfeksiyonlarının tedavisinde kinupristin /dalfopristin, linezolid ve tigesiklin gibi seçeneklerimiz mevcuttur (128, 31).

2.9.1. VRE’de Kaynak ve Bulaş

Hayvanlarda avoparsin kullanılan çiftlik çalışanlarının yarısının dışkılarından VanA VRE izole edilmiş olup, et tüketenlerin dışkılarında VRE saptanması, vejeteryanlarda saptanmaması, hastanede yatışı olmayan insanların floralarında VRE bulunabilmesi, VRE içeren hayvanlardan insanlara VRE’nin bulaşabileceğini desteklemektedir. ABD’de avoparsin kullanılmayan hayvan florasında VRE saptanmadığı belirtilmiştir. (129, 130, 131, 132).

Hastanelerdeki tıbbi aletler, hasta odası içindeki eşyalar; masa, kapı kolu, elektrik düğmeleri yatak gibi yüzeyler VRE kaynağı iken, termometre, EKG elektrodu gibi hastalarda ortak kullanılan aletler de VRE yayılımından sorumlu olabilir (100, 133). VRE suşları, çoklu antibiyotik direnci gösterir, dezenfeksiyon ve ısıya oldukça dirençlidir, bu nedenle hastane ortamında uzun müddet canlılıklarını koruyabilirler (80, 134).

Enterokok etkenli bakteriyemiler genel olarak polimikrobiyal olup, VRE bakteriyemilerinin %80-90’ında etken sadece enterokoktur. Students MJ ve arkadaşları, *E. faecalis* suşlarının sadece % 2.3’ünün vankomisine dirençli olduğunu, *E. faecium* suşlarının ise (%48)’ nin vankomisine dirençli olduğunu saptamışlardır (135, 136).

ABD’de VRE suşlarının hızla yayılmalarının en önemli nedeni de aşırı vankomisin tüketimi olarak gösterilmiş ve vankomisin kullanımı ile VRE arasındaki ilişkiden dolayı, vankomisin endikasyon alanı daraltılmıştır (80, 137).

2.9.2. Akılcı Vankomisin ve Antibiyotik Kullanımı

Vankomisinin, bağırsakların selektif dekontaminasyonunda, cerrahi profilakside, tek kan kültüründe MRSE üremesinin tedavisinde, düşük doğum ağırlıklı bebeklerde profilaktik kullanımında, gram (+) bakteriyel enfeksiyona özgün belirtileri bulunmayan febril nötropenili hastalar, yalnız tek kan kültüründe S.epidermidis üreyen hastalar, periton diyalizi veya hemodiyaliz programında olan hastalarda profilaksi amaçlı kullanılmaması gerektiği vurgulanmıştır (138). Yapılan birçok çalışmada hastanelerde uygun endikasyon dahilinde olamayan vankomisin tüketimi, VRE’nin kolonize ve enfekte olmasını sağlayan önemli derecede bir risk faktörüdür. Vankomisinin uygun endikasyonda ve kısıtlı kullanımı ile direnç gelişiminin engellenmesiyle birlikte risk etkenlerinin minimize edilmesi planlanmıştır. HICPAC önerilerinde vankomisin kullanımının uygun olduğu; beta-laktam antibiyotiklere direnç veya bu antibiyotiklere karşı ciddi alerjisi olan, metronidazole yanıt vermeyen antibiyotiğe bağlı ishallerde, rehberler tarafından önerilen durumlarda infektif endokardit profilaksisinde, protez cihaz implantasyonu içeren büyük cerrahi öncesinde MRSA ve MRSE enfeksiyon oranlarının fazla olduğu sağlık kuruluşlarında profilaksi amaçlı, anestezi indüksiyonu esnasında bir, 6 saati geçen operasyonlarda ikinci doz yapılabileceği belirtilmiştir (4, 14, 115, 125, 126, 139).

2.9.3. Eğitim

Hekim, hemşire, öğrenci, eczacı, yardımcı sağlık personeli ile bütün hastane personeline, VRE’nin önemini, salgınlarını, engelleme yollarını, intestinal sistemde yahut etrafımızdaki yüzeylerde kolonizasyon sağlamış olan VRE suşlarının eller vasıtasıyla çok rahat bir şekilde bulaşma fırsatı bulduğunu, ellerimizin antiseptik solüsyonlar kullanarak temizlenmesiyle hastane enfeksiyonlarının önlenmesinin en basit ve ucuz yol olduğunu belirtmeli, ayrıca bu konuda sürekli eğitim verilip, uygulamalar kontrol edilmelidir (4, 14, 115, 125, 126, 140).

2.9.4. Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü

Hastanelerde VRE yayılımının önlenmesi için gereken tedbirlerin alınabilmesi adına mikrobiyoloji laboratuvarı büyük önem arz etmekte olup, bir örnekten VRE tespit ettiğinde önce, hastaların yatmış oldukları klinik ve Hastane Enfeksiyon Kontrol Komitesine (HEKK)'ne bilgi aktarılmalıdır. Sonuç belli oluncaya kadar hastanın izole edilmesi sağlanmalıdır. Daha sonra vankomisin direnci teyit edilmeli, enfeksiyon kontrol önlemleri açısından da kolonizasyon saptanmasıyla izole edilen VRE suşlarının aralarında bulunan genetik bağın ortaya konması sağlanmalıdır. Snell JJ ve arkadaşları, düşük seviyede VRE tespitinde, yoğun vankomisin barındıran disklerin duyarlılığının az olması nedeniyle, 5 µg'a sahip disklerin uygulanmasını önerirler (72). Kohner ve arkadaşları, 5 µg/mL vankomisin içeren agar tarama testinde VanC fenotip dirençlerinin tespit edilemediğini dolayısıyla "Brain-heart infusion agar" ile elde edilen verilerin "Mueller-Hinton-agar"a nazaran daha fazla sensitiviteye sahip bulduklarını söylemişlerdir (4, 14, 115, 125, 126, 139, 141).

2.9.5. Enfeksiyon Kontrol Önlemlerinin Uygulanması

Mikrobiyoloji laboratuvarı, gelen numunede VRE saptaması halinde, başka metodlar ile doğrulamasını beklemeksizin HEKK birimine bildirimde bulunur. Sonrasında daha önce de üzerinde durulan HICPAC bariyer izolasyonu önlemleri uygulanır (138).

Bariyer izolasyonu önlemleri ile enfekte veya kolonize hastalar, tek kişilik odaya alınır ya da VRE pozitif hastaların aynı odada kalması yani kohortlama uygulanır. Odaya girerken eldiven giyilmeli şayet hastanın dışkı inkontinansı, diyaresi, ileostomi, kolostomi, açık yara drenajı varsa, hasta veya çevre yüzeyleri ile temas etme durumunda ise gömlek giyilmelidir. Odadaki eşyalar ile gereksiz temastan kaçınılmalıdır. Odadan çıkıldığında eldivenler ve önlük kirli sepetine atılır. Eldiven çıkarıldığında VRE bulaşının önüne geçme adına, eller klorheksidinli antiseptikle yıkanmalıdır. Çünkü sadece sabun kullanılması etkili değildir (142). İn vitro şartlarda enterokoklara en etkili antiseptik propanol ve klorheksidin kombinasyonudur (143).

2.9.5.1. Vankomisin Dirençli Enterokok Sürveyansı

Hastane enfeksiyonlarının önlenmesinde Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans ve Kontrol Biriminin hazırlamış olduğu "Vankomisin Dirençli Enterokok (VRE) Sürveyans Protokolü" ile birtakım tedbirler tanımlamış ve bu protokol ile; VRE kolonize hastaları erken dönemde tespit edebilmek ve bu hastalara uygun izolasyon önlemlerini uygulayıp hastanede VRE bulaşını engelleyerek gelişebilecek VRE enfeksiyonlarının önlenmesi amaçlanmıştır. Böylece uzun süre hastanede yatış gerektiren hastaların olduğu, geniş etkiye sahip antibiyoterapinin kullanıldığı ve invazif girişimlerin sayısının fazla olduğu hastaların yattığı riskli bölümlerde sürveyans yapılması ile bu birimlerde yatan hastaların perirektal sürüntü kültürleri alınarak taranması önerilmektedir (126, 139).

2.9.5.2. Sürveyans Kültürleri

Gastrointestinal kolonizasyonun belirlenmesi için sürveyans kültür çalışması etkili bir VRE kontrol programının en önemli basamağıdır. VRE'nin yaygın olduğu hastanelerde periyodik prevalans taramalarının yapılamaması kontrol programının başarıya ulaşmasını engelleyecektir. Perirektal kültürlerin gastrointestinal VRE taşıyıcılığını saptamadaki duyarlılığı ve özgüllüğü rektal kültürlerle benzer olduğu gösterilmiştir (144).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma 09.09.2015 ve 08.08.2017 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde yapıldı. Çalışmaya 3. Basamak yoğun bakım hizmeti veren Nöroloji, Göğüs hastalıkları, Acil yoğun bakım, Anestezi-Reanimasyon, Genel Dahiliye, Genel Cerrahi, Çocuk hastalıkları ve Beyin Cerrahisi yoğun bakımlarında yatan hastalar alındı. Hastaların yatışlarında ve takiplerinde HEKK birim önerileri doğrultusunda rektal sürüntü yöntemiyle alınan örneklerin VRE kolonizasyonun belirlenmesinde Klasik Kültür (Enterococcosel agar besiyeri) ve PZR sonuçları, hastanemizin elektronik dosya sistemi içerisinde retrospektif olarak tarandı.

Çalışmaya; eş zamanlı olarak alınan rektal sürüntü örneklerinde, Klasik Kültür ve PZR ile VRE araştırılmış hastalar dahil edildi. Çalışmamız kesitsel bir araştırma olup, çalışma için etik kurulundan onay alındı (EK-1) (Etik kurul 24.11.2017 tarihli karar no:23).

3.1. Tür Tayini ve Vankomisin Direncinin Tespiti

3.1.1. Klasik Kültür Yöntemi

Çalışmadaki VRE suşları Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında rutin olarak aşağıdaki işlemler uygulanarak değerlendirilmiştir.

Rutin taramalar sonucu alınmış olan rektal sürüntü örnekleri; 6µg/ml vankomisin içeren Enterococcosel agar (Becton Dickinson, İngiltere) besiyerlerine seyreltme yöntemi ile ekildi. 24-48 saat, 37°C’de inkübasyon sonucunda besiyerinde siyah renk oluşumu gözlenen örneklerden %5 Koyun Kanlı Colombia agar (Becton Dickinson, İngiltere) besiyerine pasaj yapıldı. 24 saat 37°C’de inkübasyon sonucunda oluşan koloniler MALDI-TOF MS (Matriks assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry) (Bruker Daltonics, Almanya) kullanılarak tür düzeyinde tanımlandı. Tanımlanan izolatlarda glikopeptid direnci Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistemle çalışıldı. Tryptic Soy Broth (Oxoid, İngiltere) içinde 0.5 MacFarland bulanıklığında suspanse edilen koloniler Kanlı Mueller Hinton agar (Becton Dickinson, İngiltere) yüzeyine ekildi. Besiyerlerine vankomisin 30 µg (Oxoid, UK) ve teikoplanin 30 µg (Oxoid, İngiltere)

diskleri yerleştirilerek 16-18 saat 37°C’de inkübasyon sonrası üreme önlenim zon çapları ölçülüp, izolatlara aynı zamanda Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi (BD Biosciences, ABD) ile antimikrobiyal duyarlılık testi (ADT) çalışılarak glikopeptit dirençleri doğrulanmıştır. Sonuçlar, CLSI önerileri doğrultusunda değerlendirildi.

3.1.2. PZR Yöntemi

Çalışmamızda vankomisin direncinin moleküler yöntemle saptanması adına kullandığımız GeneXpert adlı cihaz çalışma prensibi: Alınan rektal örnekler VanA ve VanB direnç genlerinin saptanması için çoklu, gerçek zamanlı polimeraz zincir tepkimesi (multiplex real-time PZR) sistemi olan GeneXpert™ vanA/vanB (Cepheid, Sunnyvale, CA) otomatize sistemi ile incelenir. GeneXpert™ vanA/vanB sistemi bir saatten kısa bir sürede, rektal örneklerde vankomisin direncinden sorumlu VanA ve VanB direnç genlerini saptayabilen otomatize bir sistemdir. Xpert™ vanA/vanB sisteminde, DNA ekstraksiyonu, amplifikasyonu ve hedef genlerin saptanmasını sağlayan reaktiflerini içeren tek kullanımlık bir kartuş mevcuttur. Bu kartuşta, VanA ve VanB genlerini hedefleyen ve çoğaltan primerler dışında VanA ve VanB gen sekanlarının tümünü taşıyan pozitif bir kontrol ve VanA ve VanB gen dizileri bulunmayan negatif kontrol bulunur. Test edilecek örnekler, üreticinin talimatları doğrultusunda numune reaktifine inoküle edilip vortekslendikten sonra kartuşa aktarılır. Kartuş cihaza yüklenerek VanA/VanB modülü seçilerek çalışma başlatılır. Sonuçların analizi GeneXpert Version 4.4a yazılımı kullanılarak yapılır.

3.2. Hastaların Yatış Tanıları

Hepatik Hastalık, Multitravma, Yenidoğan Sarılığı, Kronik Böbrek Yetmezliği Nörolojik Hastalıklar(Epilepsi,SVO), Diabet ve Komplikasyonlar, Sepsis, Solunum Yetmezliği, Pnömoni, Esansiyel Hipertansiyon, İlaç ve Biyolojik Maddelere maruziyet, Akut Böbrek Yetmezliği, Gastrointestinal Hastalık, Üriner Sisteme Ait Semptomlar, Elektirik Akımına Maruz Kalma, Malign Neoplazmlar Hidrosefali, Sıvı Elektrolit Dengesi Bozuklukları, Aspergilloz, Kardiyovasküler

Hastalıklar, Ateşli Silah Yaralanma, Yenidoğan Solunum Yetmezliğı Cansız Fiziksel Güçlere Maruz Kalma.

3.3. İstatistik-Analiz

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerdendirmesinde IBM SPSS 21.0 for windows istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değışkenler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) ile sunuldu. Kategorik değışkenler sayı ve yüzde (%) ile sunuldu. Nitel değışkenlerin gruplararası karşılaştırılmasında Chi-kare (χ^2) testi analizi kullanıldı. Yeni testin (tanı testi) gerçekte hasta olanların içinden ne kadarını saptayabildiğini (teşhis koyabildiğini) belirlemek için Sensitivite (duyarlılık) ve yeni testin gerçekte sağlam olanların ne kadarını saptayabildiğini (hastalığın ekarte edilmesini) belirlemek için Spesifite (özgüllük) hesaplandı. Hipotezler çift yönlü olup, $p \leq 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Klasik Kültür ve Polimerz Zincir Reaksiyonu Sonuçları

Çalışmada geriye dönük 311 hastanın taraması yapıldığında, bu hastalardan alınan eş zamanlı perianal sürüntü örneklerinin, KK ile 32'sinde VRE üremesi tespit edilirken, 279 hasta örneğinde VRE üremesi olmadı. Bu hasta örneklerinin 66'sında PZR pozitifliği bulunurken 245 hastada PZR negatif sonuç verdi. PZR pozitif 66 örneğin 58'inin VanA, 6'sının VanB ve 2'sinin ise VanA+ VanB genotipik direnç genine sahip olduğu tespit edildi. KK ile üreme olan 32 örneğin 3'ünde PZR negatif olarak bulunurken 29'unda PZR pozitif bulundu. KK ile VRE üremesi olup, PZR pozitif olan 29 örneğin, 27'si VanA, 2'si VanB olarak tespit edildi. Çalışmadaki 311 hasta örneğinde, hem PZR negatifliği hem de KK negatifliği sayısı ise 242 olarak bulundu (Tablo 5).

Tablo 5: Enterococcosel agar (Klasik Kültür), PZR ve Genotip ilişkisi

	KK ile VRE üremesi olan	KK ile VRE üremesi olmayan	P değeri
PZR pozitif hasta sayısı:n:66 (%100)	29(%43,9)	37(%56,1)	0,002
PZR negatif hasta sayısı:n:245 (%100)	3(%1,2)	242(%98,7)	0,002
VanA genotip pozitif hasta sayısı:n:58 (%100)	27(%46,5)	31(%53,5)	0,002
VanB genotip pozitif hasta sayısı:n:6 (%100)	0(%0)	6(%100)	0,002
VanA+VanB genotip pozitif hasta sayısı:n:2 (%100)	2(%100)	0(%0)	0,002

KK ile VRE üremesi olan ve olmayan hastaların PZR ve PZR genotip sonuçları incelendiğinde, KK'ün temel tanı testi olarak kabul edilmesi halinde, PZR sonuçları istatistiksel açıdan anlamlı ($p=0,002$) bulundu (Tablo 5).

4.2. Klasik Kültür ile VRE üremesi olan Örneklerin, VRE Suşları Açısından Dağılımı

Taraması yapılan hastaların örnekleri VRE suşları açısından incelendiğinde; çalışmaya alınan 311 hastanın 32'sinde (% 10,2) E.faecium, tespit edildi. KK ile üreme olan 32 VRE örneğinin tamamı (%100) E.faecium olarak tespit edildi.

4.3. PZR Pozitif Hasta Örneklerinin VRE Suşları Açısından Dağılımı

Mevcut çalışmada 311 hasta örneğinin 66 (%21,2)'sı PZR pozitif sonuç vermiş olup, bu 66 PZR pozitif hasta örneğinin 29 (% 43,9) 'unda KK ile VRE olan, E.faecium üremiştir.

4.3.1. VanA Genotip Pozitif Hasta Örneklerinin VRE Suşları Açısından Dağılımı

PZR pozitif olan 66 hasta örneğinin VanA genotipinde 58 (% 87,8) olduğu görüldü. Bu VanA genotipindeki 58 hasta örneğinin 27'si (% 46,5)'inde KK ile VRE olan, E.faecium üremiştir.

4.3.2. VanB Genotip Pozitif Hasta Örneklerinin VRE Suşları Açısından Dağılımı

PZR pozitif hastaların 66'sı incelendiğinde, VanB genotipinde 6 (% 9,09) olduğu görüldü. Bu hasta örneklerinin hiçbirinde KK ile üreme olmamıştır.

4.3.3. (VanA+VanB) Genotip Pozitif Hasta Örneklerinin VRE Suşları Açısından Dağılımı

PZR pozitif hastaların 66'sı incelendiğinde, (VanA+VanB) genotipinde 2 (% 3,03) olduğu görüldü. Örneklerin 2'si (% 100)'inde de KK ile VRE olan E.faecium üremiştir.

Tablo 6: Klasik Kültür ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu ilişkisi

	KK ile VRE üremesi var	KK ile VRE üremesi yok
PZR pozitif	29	37
PZR negatif	3	242

4.3.4. PZR ve KK İlişkisi

PZR:Sensitivitesi: % 90,6 Spesifitesi: % 86,7 Pozitif Prediktif Değeri: % 43,9 Negatif Prediktif Değeri: % 98,7 Yanlış Negatif Değeri: % 9,3 Yanlış Pozitif Değeri: % 13,2 VANA: Sensitivitesi: % 84,3 Spesifitesi: % 88,8 Negatif Prediktif Değeri: % 98 Pozitif Prediktif Değeri: % 40,5 Yanlış Pozitif Değeri: %11 Yanlış Negatif Değeri: % 15 VANB: Sensivitesi: % 0 Spesifitesi: % 95,7 Pozitif Prediktif Değeri: % 0 Negatif Prediktif Değeri: % 89,5 Yanlış Negatif Değeri: % 100 Yanlış Pozitif Değeri : % 4,2 (VAN+VANB): Sensitivitesi: % 6,2 Spesifitesi: % 100 Pozitif Prediktif Değeri: % 100 Negatif Prediktif Değeri: % 90,3 Yanlış Negatif Değeri: % 93,3 Yanlış Pozitif Değeri: % 0.

4.3.5. Klasik Kültürde VRE Üremesi Olan ve PZR Pozitif Hastaların Bulunduğu Dekat ile Cinsiyet Dağılımı

KK ile VRE üremesi olan hastaların bulunduğu dekat ortalaması 5,34; PZR pozitif örneklerdeki hastaların dekat ortalaması ise 5,51 olarak hesaplandı. PZR pozitif hastaların ve KK ile VRE üremesi olan hastaların içinde bulundukları dekat açısından yöntemler arasında anlamlı bir fark ($p=0,291$) bulunamadı. KK ile üremesi olan hastalardan kadın sayısı 10 (% 30,3), erkek sayısı 22 (% 68,7) idi. PZR pozitif hastalardan kadın sayısı 27 (% 40,9), erkek sayısı 39 (% 59,1) bulundu. Cinsiyet açısından KK ile PZR arasında istatistiksel bir fark ($p=0,212$) bulunamadı. (Tablo 7).

Tablo 7: Klasik Kültürde VRE üremesi olan ve PZR pozitif hastaların bulunduğu dekad ile cinsiyet dağılımı

Demografik durum		KK ile VRE �remesi Olan n:32, %	PZR Pozitif n:66, %	P değeri
Cinsiyet	Kadın	10 (%30,3)	27(%40,9)	0,212
	Erkek	22(%68,7)	39(%59,1)	
Dekad(ortalama)		5,34	5,51	0,291

4.3.6. KK ile VRE  remesi Olan, PZR Pozitif Olan ve Hem KK ile VRE  remesi Olup, Hem de PZR Pozitif Olan Hastaların Son    Ayda Hastanede Yatış İlişkisi

Son üç ay içerisinde hastanede yatış öyküsünün olması ile KK'de VRE üremesi olan hastalar arasında istatiksel olarak ileri derecede anlamlı ilişki bulundu ($p=0.000$) (Tablo-8). Son üç ay içerisinde hastanede yatış öyküsünün olması ile PZR pozitifliği olan hastalar arasında istatiksel olarak ileri derecede anlamlı ilişki bulundu ($p=0.000$) (Tablo-8). Fakat iki yöntem kendi arasında, son üç ay içinde hastanede yatış öyküsü açısından karşılaştırıldığında ise PZR yöntemi ile $p=0,102$ değer, KK ile $p=0,45$ değer, sonuçları bize bu iki yöntem arasında son üç ay içinde hastanede yatış öyküsü açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını gösterdi.

Tablo 8: KK’de üreme olan hastaların son üç ayda hastanede yatış ile ilişkisi, PZR pozitif olan hastaların son üç ayda hastanede yatış ile ilişkisi

	Polimeraz Zincir Reaksiyonu		Klasik Kültür İle Üreme		KK ile VRE üremesi olan Hasta(n), (%) 32(%100)	PZR Pozitif hasta (n), (%) 66(%100)
	Negatif	Pozitif	Yok	Var		
Son 3 ayda hastanede yatış öyküsü olan	53	50	78	25	25 (%78,1)	50 (%75,7)
Son 3 ayda hastanede yatış öyküsü olmayan	192	16	201	7	7(%21,8)	16 (%24,2)
P değeri	0,000		0,000		0,45	0,102

4.3.7. KK ve PZR Yöntemleri ile Hastaların Mortalite İlişkisi

KK ile VRE üremesi olan, PZR pozitif olan, hem PZR pozitif hem de KK ile VRE üremesi olan hastaların yatışlarını takip eden 1 aylık dönem içinde ex olup olmamalarına göre bu iki yöntemin mortalite ile ilişkisi incelendiğinde PZR ile Mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p=0.001$) (Tablo-18).

Aynı zamanda KK ile VRE üremesi olan ve PZR sonucu da ortak olarak pozitif kesişen hastaların laboratuvar sonucunu takip eden 1 aylık dönemde mortalite ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,023$).

KK ile VRE üremesi olan hastaların tüm örnekler içinde karşılaştırılması yapıldığında mortalite ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,073$). VRE üreyen hasta sayısının az olmasının bu sonucu doğurduğu düşünüldü.

Yine her iki yöntem kendi arsında mortalite açısından karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. KK ile $p=0.45$ PZR $p=0,09$ (Tablo-9).

Tablo 9: KK ve PZR yöntemleriyle hastaların mortalite ilişkisi

Mortalite Gerçekleşen süre	Polimeraz Zincir Reaksiyonu		Klasik Kültür İle Üreme		KK ile üreme ve PZR pozitif ortak yöntem		KK ile VRE üremesi olan Hasta(n), (%) 32(% 100)	Hem KK ile VRE üremesi olan hem de PZR pozitif Hasta(n), (%) 29(% 100)	PZR Pozitif hasta (n),(%) 66(% 100)
	Negatif	Pozitif	yok	var	Negatif ❖ Üreme yok	Pozitif ❖ Üreme var			
İlk 30 günlük süre içerisinde ex olan hastalar	69	33	87	15	87	15	15(%)	24(%)	33 (%50)
İlk 30 günlük süre içerisinde ex olmayan hastalar	176	33	192	17	195	14	17(%)	5(%)	33 (%50)
P değeri	0,001		0,073		0,023		0,45	0,422	0,09

4.3.8. KK ile VRE Üremesi Olan Hastaların Yattıkları Yoğun Bakım Servisleri ile İlişkisi

KK ile üremesi olan hastaların yattığı yoğun bakımlar incelendiğinde (Tablo-10) hastaların; Dahiliye YB: 6 (% 18), Göğüs Hastalıkları YB: 6 (% 18), Anestezi YB: 2 (% 6), Genel Cerrahi YB: 0 (% 0), Nöroloji YB: 4 (% 12), Acil YB: 4 (% 12), Çocuk YB: 10 (% 31), Beyin Cerrahi YB: 0 (% 0) ünitelerinde yattıkları görüldü. KK ve servis yoğun bakımları ilişkisi açısından anlamlı bir değer ($p = 0,152$) bulunmadı.(Tablo-10)

4.3.9. PZR Pozitif Olan Hastaların Yoğun Bakım Servisleri ile İlişkisi

PZR pozitif hastaların yattığı yoğun bakımlar incelendiğinde (Tablo-10) hastaların Dahiliye YB: 12 (% 18), Göğüs Hastalıkları YB: 11 (% 16), Anestezi YB: 2 (% 3), Genel Cerrahi YB: 4 (% 6), Nöroloji YB: 6 (% 9), Acil YB: 12 (% 18), Çocuk YB 16 (% 24), Beyin Cerrahi YB: 3 (% 4,5) ünitelerinde yattıkları görüldü. PZR ve servis yoğun bakımları ilişkisi açısından anlamlı bir değer ($p=0,812$) bulunmadı. Ancak yoğun bakımlar arasında bazı yüzdelik oranlar dikkat çekici olup çalışmamızdaki 311 hastada VRE taşıyıcılığı PZR ve KK yöntemleri ile incelendiğinde, KK ile VRE üremesi olmayan iki bölüm dikkati çekmiştir. Bu bölümler G. Cerrahi ve B. Cerrahisi yoğun bakımları olup burarlardan gelen toplam 35 numunenin hiçbirinde KK ile VRE tespit edilemedi.

KK ile VRE üremesi olan yoğun bakımlar incelendiğinde ise acil yoğun bakımdan gönderilen 61 örneğin 4'ünde KK ile VRE üremiş olup en az üreme oranına (% 6,5) sahip yoğun bakım olmuştur. Çocuk yoğun bakımda ise bu oran 37 numunenin 10 (% 27)'unda üreme ile en fazla üreme oranına sahip bölüm olarak belilendi.

PZR ile ise 311 hastanın numunesi incelendiğinde tüm yoğun bakımlarda PZR pozitifliği saptanırken PZR pozitiflik oranı en düşük olan Anestezi yoğun bakım olup gönderilen 28 numunenin 2 (% 7)'sinde pozitiflik saptandı. Bu her iki numunenin gerçek VRE taşıyıcılığı olduğu KK ile doğrulanırken iki hastanın da VRE açısından tedavi gereksinimi ilk hafta içerisinde (% 100) oranında bulundu. PZR pozitifliğinin en yüksek olduğu yoğun bakım ise KK sonuçları ile paralellik gösterir şekilde yine Çocuk yoğun bakım olarak belirlendi. Gelen 37 numunenin 16 (% 43)'sında PZR pozitifliği tespit edildi (Tablo 10).

Tablo 10: KK ve PZR ilişkisinde hastaların yattıkları yoğun bakım servisleri dağılımı

	Genel cerrahi yb.	Beyin cerrahi yb.	Dahili yb.	Gtbc yb.	Acil yb.	Çocuk yb.	Anestezi yb.	Nöroloji yb.	P değeri
Pzr pozitif hasta sayısı:n 66(%100)	4(%6)	3(%4,5)	12(%18)	11(%16)	12(%18)	16(%24)	2(%3)	6(%9)	0,812
kk ile vre üremesi olan hasta sayısı :n 32 (%100)	0(%0)	0(%0)	6(%18)	6(%18)	4(%12)	10(%31)	2(%6)	4(%12)	0,152

4.3.10. KK’de VRE Üremesi Olan, PZR Pozitif Olan, Hem PZR Pozitif Hem de KK ile VRE Üremesi Olan Hastaların, 21 Gün İçinde E.faecium Bakteriyemisi Gelişimi Açısından İstatistiksel Bulguları

KK ile VRE üremesi olan 32 hastanın 6’ında, 21 gün içinde E. feacium bakteriyemisi geliştiği görülmüş ve bu sonuç istatistiksel açıdan anlamlı =0(p,006) bulunmuştur (Tablo 11).

PZR pozitif olan 66 hastanın 5’inde, 21 gün içinde E. feacium bakteriyemisi gelişmiş olup bu sonuç istatistiksel açıdan anlamlı (p=0,121) bulunmuştur (Tablo 11).

İki yöntem ortak olarak değerlendirildiğinde ise E.faecium bakteriyemisi açısından istatistiksel açıdan anlamlı (p=0,032) ilişki bulundu (Tablo 11).

Tablo11: KK’de VRE üremesi olan, PZR pozitif olan, hem PZR pozitif hem de KK’de VRE üreme olmasına göre 21 günde E.faecium bakteriyemisi gelişimi

	21gün içinde bakteriyemi gelişen	21 gün içinde bakteriyemi gelişmeyen	P değeri
KK ile VRE üremesi olan hasta sayısı:n:32 (%100)	6(%)	26(%)	0,006
PZR pozitif hasta sayısı:n:66 (%100)	5(%)	61(%)	0,121
Hem KK ile VRE üreyen hem de PZR pozitif hasta sayısı:29:n (%100)	5(%)	24(%)	0,032

4.3.11. KK’de VRE Üremesi Olan, PZR Pozitif Olan, Hem PZR Pozitif Hem de KK’de VRE Üremesi Olmasına Göre Yedi Gün İçinde VRE Tedavi Gereksinimi Açısından İstatistiksel Bulgular

KK ile VRE üremesi olan hastalardan, 7 gün içinde VRE tedavi gereksinimi olan hastalar istatistiksel olarak incelediğinde ileri derecede anlamlı ($p=0,000$) ilişki bulundu. PZR yönteminde ise anlamlı ($p=0,512$) ilişki bulunmadı. Her iki yöntem beraber kullanıldığında ise istatistiksel olarak ileri dercede anlamlı ($p=0,000$) ilişki bulundu (Tablo 12).

Tablo 12: KK’de VRE üremesi olan, PZR pozitif olan, hem PZR pozitif hem de KK’de VRE üreme olmasına göre yedi gün içinde VRE tedavi gereksinimi

	7 gün içinde VRE tedavisi alması gereken hastalar	7 gün içinde VRE tedavisi alması gerekmeyen hastalar	P değeri
KK ile VRE üremesi olan hasta sayısı:n:32 (%100)	13(%40,6)	19(%59,4)	0,000
PZR pozitif hasta sayısı:n:66 (%100)	13(%19,6)	53(%80,4)	0,512
Hem KK ile VRE üreyen hem de PZR pozitif hasta sayısı:29:n (%100)	12(%41,3)	17(%58,7)	0,000

5. TARTIŞMA

Günümüz klinik mikrobiyolojisinde kullanılan kültür ile organizmaların tespiti 150 yıllık bir standart üzerine inşa edilmiştir. Şimdilerde mikrobiyolojik teşhis ile patojenin benzersiz nükleik asit veya biyokimyasal bileşiminin tespitine kadar ilerleyen dönemdeyiz. Bu dönemde tanıtılan metodlardan biri olan, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemleri, MRSA gibi tek bir etkeni yada 17 solunum yolu virüsünü veya direnç mekanizmasını aynı anda tespit edebilir (145). Yakın bir zamanda beklenen uygulamalar arasında, 5400'den fazla benzersiz organizmayı saatler içerisinde algılayabilen ve tespit edebilen ve pandemilere neden olan virus suşunun gelişimini saptamak ve izlemek için kullanılan bazı cihazlar üzerinde durulmaktadır (146).

Son 40 yılda gram-negatif basil için yeni antimikrobiyal sınıflar bulunmamaktadır ve 18 büyük antibiyotik ilaç tedarikçisinin 15'i artık bu alanı terk etmiştir (147). 2013 yılında yayınlanan bir makalede moleküler yöntemlere vurgu yapılarak yeni teşhis yöntemlerinin kullanımının desteklenmesi, antibiyotik direnci ile mücadelede önemli bir çözüm noktası olarak belirtilmiştir (148).

Bu gelişmeler, uzun yıllardan bu yana kullanılan standart tekniklerden daha hızlı bir şekilde erken tanı yöntemlerinin gerekliliğini göz önüne sermiştir. Çoğu antibiyotik kullanım kararı ampiriktir, ancak moleküler teşhis ve spesifik mikropların daha hızlı tespiti, patojene spesifik tedaviye imkan sağlar. Birleşik Devletlerde yakın zamanda yayınlanan bir raporda, hastane kökenli pnömoni ile hastaneye yatırılan 17435 hastanın sadece %7.6'sında mikrobiyolojik bir tanı yapıldığı gösterilmiştir (149). Bunun aksine, Karolinska Institutet (İsveç) araştırmacılar, sağlık hizmetleri ile ilişkili pnömoni hastalarında, virüsleri ve ilgili bakterileri saptamak için PZR kullanmış, hastaların % 89'unda olası bir patojen saptamıştır (150).

Moleküler teşhisin bir diğer yararı, şimdiye kadar bilinmeyen patojenlere ait nükleik asidin saptanmasıdır. Beyin apse içeriği alınan 39 hastada 16S ribozomal DNA analizi kullanıldı. 76 bakteri türü ve bunların içinde kültüre edilemeyen 23 tür tespit edildi (151). Enfeksiyon kontrol ve tedavisinin; Yukarıdaki analizler ile 2012 yılında yapılan CDC ile birlikte 25 ulusal sağlık örgütünün, antibiyotik direnciyle başa çıkmanın yolları konusunda bir çözüm açıklaması dikkate değerdir (152). Bu çözümlerden biri daha önce de değindiğimiz gibi hızlı tanı testlerine geçmenin

gerekli olduğu önerileri arasında yer alan enfeksiyöz ajanların hızlı tespitinin teşvik edilmesi gerektiği gerçeğidir (148). Böylelikle gereksiz ve yersiz antibiyotik kullanımının önüne geçilmiş olunacak ve antibiyotik direncinin gelişmesinde önemli bir eşik te ortadan kaldırılacaktır.

Son çalışmalarda VanB sınıfı suşlardaki regülatör sistemin teikoplanin ile indüklenmeye duyarsız olduğu, teikoplanin VanA ilişkili protein sentezini indüklediği fakat VanB ilişkili protein sentezini indüklemediğine değinilmiş olup, vankomisinine ise iki sistemde de direnç proteini sentezini indüklediği, VanB gen kümesinde teikoplanine duyarlı enterokokların vankomisine maruz kalmaları halinde teikoplanin direnci gelişebileceği belirtilmiştir (58). Dolayısıyla PZR ile tarama; erken tanı ve tedavi kolaylığı ile gereksiz vankomisin kullanımını engelleyerek, suşların teikoplanine direnç geliştirmesini de önleyecektir.

Yapılan bir çalışmada iki Avrupa birliği ülkesi arasında antibiyotik kullanımı ve direnç arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu gösterilmektedir. Bu çalışmada hızlı tanı yöntemleri ile gereksiz antibiyotik kullanımının önüne geçildiği takdirde gelişebilecek olası dirençli mikroorganizma enfeksiyonlarının da önlenebileceği gösterilmiştir (153).

Bizim çalışmamızda 7 gün içinde VRE tedavi gereksinimi olan hastalar istatistiksel olarak incelediğinde KK ve PZR yöntemleri beraber kullanıldığında istatistiksel olarak ileri dercede anlamlı ($p=0,000$) ilişki bulundu (Tablo 12).

Yakın tarihli bir araştırmada, 75 ülkede 1000'den fazla yoğun bakım ünitesindeki hastalar incelenmiş ve enfekte hastaların, enfekte olmayan hastalara göre iki kat daha fazla ölüm riskini taşıdığı belirtilmiştir (154).

Bizim çalışmamızda da PZR pozitif hastaların mortalite ile ilişkisi istatistiksel açıdan oldukça anlamlı $p:0,001$ çıkmıştır (Tablo 9). Bu sonuçtan hareketle özellikle VRE insidansının yüksek olduğu sağlık merkezleri ve bunların özellikli yoğun bakımlarında VRE kolonizasyonun tespiti ve bunun enfeksiyona dönüşmesinin önlenmesi için, PZR gibi hızlı tanı ve KK gibi temel tanı testinin birlikte kullanılması düşünülebilir. Fakat her iki yöntemin ortak olarak kullanımı, tüm yoğun bakımlardan ziyade, yukarıda bahsedilen özellikli yoğun bakımlarda birlikte kullanılmasının mortalitenin önlenmesi, gereksiz antibiyotik kullanımının önlenmesi ile VRE nin sağlık merkezine ve topluma yayılımının önlenmesi adına olumlu

bir uygulama olacağı düşüncesindeyiz.

Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (IDSA) antimikrobiyal dirençle mücadele ve dirençli etkenlerle gelişen mortalitenin azaltılması için yeni moleküler tanı yöntemlerine ihtiyaç olduğunu belirtmektedir. Bu moleküler tanı yöntemleri ile, hastalık etkeninin bakteriyel kaynaklı olup olmadığının hızlı, duyarlı ve ucuz olmak kaydıyla belirlenmesinin sağlık bakım sonuçlarının iyileştirilmesine, sağlık masraflarının azalmasına ve antibiyotik direncinin azalmasına yol açacağı düşünülmektedir (155).

Hızlı ve doğru tanı konduğu takdirde antibiyotiklerin hastaların hayatlarını kurtarmada son derece etkili olduğuna şüphe yoktur. Yeni antibiyotiklerin de kullanıma girmesinden sonra pnömoni, endokardit ve menenjit gibi hastalıklardan ölüm hızı, belirgin bir şekilde azaldı (156).

Bizim çalışmamızda da KK ile VRE üremesi olan, PZR pozitif olan ve hem PZR pozitif hem de KK ile VRE üremesi olan hastaların yatışlarını takip eden 1 aylık dönem içinde ex olup olmamalarına göre bu iki yöntemin mortalite ile ilişkisi incelendiğinde PZR ile Mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu ($p=0.001$) (Tablo 9). Bunun nedeni hızlı tanı sonucu tedaviye erken başlamak olabilir.

Aynı zamanda KK ile VRE üremesi olan ve PZR sonucu da ortak yöntem olarak değerlendirildiğinde üreme ve pozitifliği kesişen hastaların laboratuvar sonucunu takip eden bir aylık dönemde mortalite ile ilişkisi istatistiksel olarak ($p=0,023$) (Tablo 9) anlamlı bulunurken, KK ile VRE üremesi olan hastaların tüm örnekler içinde karşılaştırılması yapıldığında mortalite ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Yine buradan her iki yöntemin beraber kullanılması halinde nedensel, birbirini tamamladığı istatistiksel veriler ve anlamlı p değeri ile göz önüne serilmiştir.

VRE'lerin tespiti için PZR yöntemi (Cepheid, ABD) ile kültür yöntemini karşılaştıran bir çalışmada, Zhou ve ark. VRE salgınlarında gerçek pozitif ve gerçek negatif hastaların belirlenmesi üzerinde durarak PZR önemini vurgulamış olup, yaptıkları çalışmada PZR'nin KK ile karşılaştırılmasında, örneklerin Swab ile alınarak çalışılması halinde PZR pozitif prediktif değeri: % 41 negatif prediktif değeri: % 100 olarak bulmuşlarken, bizim çalışmamızda bu değerler ppd: % 43,9

npd: % 98,7 sonucu ile uyumlu gelmiştir. Burada PZR pozitif hastaların gerçek hasta olma yüzdesi ppd olup her iki çalışmada da oldukça düşük çıkmışken Zhao ve ark. swab yerine zenginleştirilmiş besiyerinde 24 saatlik inkübasyon sonrası numuneleri bu kez kültür besiyerinden aldıklarında ppd. değeri %100 olarak bulmuşlardır. Her iki yöntem beraber kullanılarak KK sonucu böylece 24 saate düşürülmüş, bu ortak yöntem kullanımı sonrası PZR pozitif hastaların gerçek hasta olma yüzdeleri de %41'den %100 oranına çıkarabilmeyi başarmışlardır. Bu da bizim KK ile PZR'ın beraber kullanılması hususunda savunduğumuz teze bir kanıttır. PZR yanlış negatifliklerine gelince; bu yanlış negatiflikler dışkı örneğindeki PZR inhibitörleri nedeni olup, dışkı örneklerinde bitki, sebze, safra tuzları, üre, glikolipidler, hemoglobin ve heparin gibi besinsel bileşenler, polisakkaridler veya klorofilden kaynaklanabildiği belirtilmiştir (157, 158).

Durmaz ve arkadaşları (162) GeneXpert® vanA/vanB (Cepheid, ABD) ile 136 rektal sürüntü örneğinde yapmış oldukları çalışmada, bu değerleri (duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri), aynı sırayla % 100, % 94.5, % 81.8 ve % 100 olarak tespit ederken, Hatice ve arkadaşları (152) ise yine benzer sıralama ile GeneXpert® vanA/vanB PCR sisteminin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla % 97.4, % 98.4, % 97.4 ve % 97.4 olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da, KK yönteminin temel tanı testi olarak alınması halinde, PZR'ın duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla % 90.6, % 86.7, % 43.9, % 98.7 olarak yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur. Yine başka kaynaklarda da PZR'nin KK'e nazaran sensitivite düşüklüğü, gaita'nın polimeraz enzimini inhibe eden maddeleri bünyesinde barındırmasından kaynaklandığı olasılığı üzerinde durulmuştur (159, 160).

Yapılan bir çok çalışmada, VanA genotipi için % 99.6 gibi yüksek özgüllük saptanırken, VanB genotipi için PZR ile yalancı pozitiflikler saptanmıştır (168, 174). VanB genotip sonuçlarının, KK ile PZR arasındaki uyumsuzluğunun nedeni olarak dışkı florasındaki anaerob bakterilerin direnç genleri ya da besiyerinde kullanılan 3 µg/ml vankomisin miktarı etkisi ile VanB taşıyan suşların inhibisyonundan kaynaklanabileceği belirtilmiştir (169, 173, 174). Mak ve arkadaşları (176) çalışmalarında, PZR ile saptanan VanB genotipinde yalancı pozitiflikler nedeniyle bu yöntemle tespit edilen VanB varlığının, kültürle doğrulanmasını önermişlerdir. Bizim

çalışmamızda da VanA % 88,8 oran ile yüksek spesifiteye sahipken, PZR ile VanB olarak belirlenen 6 örneğin hiçbirinde de KK ile üreme olmamıştır.

Altun ile ark. (175) yapmış oldukları bir çalışmada enterokok vankomisin direncini Vitek 2.0 otomatize sistemi, disk difüzyon ve E-test yöntemleriyle çalışmış, üç sistemin de birbiriyle %100 oranında uyumlu olduğunu tespit ederken, biz de çalışmamızda KK ile üreme olan tüm örneklerin Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi (BD Biosciences, ABD), vankomisin 30 µg (Oxoid, UK) ve teikoplanin 30 µg (Oxoid, İngiltere) diskleri yerleştirilerek disk difüzyon testi (DDT), ve MALDI TOF (Bruker Daltonics, Almanya) kütle spektrometresi ile tür düzeyinde tanımlanmasının yapıldığını, bu türlerin tamamının E. Faecium suşu olduğunu, Phoenix otomatize mikrobiyoloji sistemi (BD Biosciences, ABD), ve Disk Difüzyon yöntemi ile 32 örneğin de VRE açısından doğrulamasının yapıldığını tespit ettik. Her üç sistem de KK ile VRE düşünülen örneklerin doğruluğunu % 100 oranında gösterdi. Hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında KK ile VRE üremesi olan numunelerin DDT ile doğrulaması yapılmaktadır. PZR ile üremeleri olsa dahi KK ile üreme olmayan örnekler bu algorithmada yer almayıp VRE açısından negatif olarak kabul edildi. Çalışılan 32 enterokok suşunun hepsi MALDI TOF (Bruker Daltonics, Almanya) kütle spektrometresi ile tür düzeyinde E. Faecium olarak tanımlanırken, Phoneix ve DDT ile bunların hepsinin yine VRE olduğu tespiti ile, E. faecium olduğu belirlendi. GeneXpert® vanA/vanB Rt-PCR yönteminin, duyarlılık ve özgüllükteki yüksek oranları, ile kısa sürede sonuç vermesinin yanında 100 cfu/ml düzeyine kadar konsantrasyonda dahi bakterileri tanımlayabilmesi gibi avantajları sayesinde özellikle VRE taşıyıcılığı yüksek riskli hastaların rutin taramalarında tavsiye edilmiştir (152).

Türkiye’de Hatice ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalardan (142’si dahiliye YBÜ , 68’i cerrahi YBÜ) alınan 210 perirektal sürüntü örneklerinden kültür yöntemi ile 71 (%33.8)’inden VRE izolasyonunun yapıldığını bildirmişlerdir (152). Landman ve arkadaşları (163) yapmış oldukları bir çalışmada nozokomiyal VRE kolonizasyonunu belirlemek amacıyla, hastanede yatan 189 hastadan perirektal sürüntü örneğini incelemişler ve 101 (%53) hastanın sürüntü kültüründe VRE tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 09.09.2015 ile 08.08.2017 tarihleri arasında toplam 23 aylık süre içinde, yoğun

bakımda yatmakta olan 311 hastanın alınan perirektal sürüntü örneklerinden kültür yöntemi ile 32'sinde (%10.2) VRE tespit edilmiştir. Bu, 32 suş incelendiğinde hepsinin *E. faecium* olduğu tespit edildi. Yine söz konusu 32 örnek PZR ile incelendiğinde bu örneklerin 29'unda PZR pozitifliği görüldü.

VRE ile kolonize hastalarda, yoğun bakım ünitesinde uzun süreli yatış öyküsünün önemli bir risk faktörü olduğu görüldü. VRE enfeksiyonları nedeniyle, hastanede yatışın uzaması da önemli risk faktörlerindendir (4,161). Sung-Ching Pan ve ark. (164) yoğun bakım ünitelerinde yaptıkları bir çalışmada, VRE kolonize hastaların olmayanlara göre hastanede yatış sürelerinin daha uzun olduğunu ($p=0.01$) belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda her iki metodun sonucuna göre son üç aylık süre içinde hastanede yatış öyküsünün etkisini incelediğimizde PZR pozitif hastaların 50 (% 75,7), KK ile üreme olan hastaların 25 (% 78,1), ve her iki metod ile ortak pozitif sonuç veren hastaların ise 24 (% 82,7)'nün son hospitalizasyondan önceki 3 aylık dönem içinde hastanede yatış öykülerinin olduğunu saptadık (Tablo 8).

Bu değerlerin istatistiksel ki kare testi ile karşılaştırılması sonrası ise son üç ay içerisinde hastanede yatış öyküsünün her iki yöntem ile istatistiksel olarak ($p=0,000$) anlamlı bir ilişki olduğu belirlenirken, PZR ve KK ise kendi arasında son üç aylık yatış öyküsü açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak p değeri bize iki yöntem arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. Enterokok kolonizasyonunun hastada enfeksiyon tablosu oluşturması ya da bakteriyemi geliştirmesi beraberinde mortaliteyi arttırmaktadır. Kanada'da yapılan bir surveyans çalışmasında üriner sistem enfeksiyonları ve bakteriyemilerden izole edilen VRE izolatlarının % 98,3'ünün *E. faecium*, geriye kalan %1,7'sinin ise *E. faecalis* olduğu bildirilmiştir (165).

Mevcut çalışmamızda yine KK ile üremenin olduğu hastalarda *E. faecium* bakteriyemisi gelişenlerin sayısı 6 (%18,7), PZR pozitifliği olan hastaların sayısı 5 (%7,5), her iki yöntem ile ortak pozitif sonuçlu hastalar incelendiğinde bu hastalardan *E. faecium* bakteriyemisi gelişenlerin sayısı ise 5 (%17,2) olarak bulunmuştur. Hasta takibinin yapıldığı 21 gün içinde bakteriyemi gelişmesi açısından hastalar incelendiğinde KK grubunda istatistiksel olarak anlamlı sonuç ($p=0,006$) bulunurken, PZR'nin tek başına kullanılması halinde ise anlamlı sonuç ($p=0,121$) bulunamadı. Her iki yöntemin beraber kullanılması halinde ise yine anlamlı sonuç

($p=0,032$) bulunmuştur (Tablo 11). Son yıllarda tüm dünyada VRE izolatları arasında artan sıklıkta etken olmaya başlayan vankomisin resisten *E. faecium*, bizim hastanemizde de en sık izole edilen tür olmuştur.



6. SONUÇ

Hastaların uzun süreli tedavi gördüğü ve antibiyotik kullanımı'nın yaygın olduğu kliniklerde enterokoklar zamanla artan sıklıkla hastane enfeksiyonu ve salgınlarına yol açtıklarından dolayı önemli nozokomiyal patojenlerdir. VRE taşıyıcılığı olan hastaların hospitalizasyon süresince VRE bulaştırıcılığı bir risk faktörü olup aynı zamanda bu kolonizasyonun aylar süresince de devam ettiği düşünüldüğünde (58, 95) VRE taşıyıcılığının tespiti, kolonizasyon sonrası bakteriyemi gelişiminin engellenmesi, hastaların ilk hospitalizasyonunda VRE taşıyıcılık tespiti ve bunun yayılımının engellenmesi, gerekli ve yerinde ilaç kullanımı, hastaların mortalite riskinin arttırılmaması, adına enterokokların vankomisin duyarlılığı araştırılmalı, VRE tespit edilen hastalar için kontrol ve korunma önlemleri hızlı bir şekilde alınmalıdır. Bu nokada PZR'ın avantajını belirtecek olursak, kültüre nazaran çok hızlı sonuç vermekte, laboratuvar iş yükünü hafifletmekte, öyküsü bilinmeyen hastaların transferinde yada henüz yatışı yapılan hastalara vakit kaybetmeden VRE açısından önlem alınmasını sağlamakta ve derhal alınacak olunan bu izolasyon önlemleri ile hastanın kendisinin ve diğer hastaların, bulaş ve enfekte olmalarını önleyecek olması, aynı zamanda sağlık çalışanlarının da taşıyıcılığı ile hastane ve hastane dışı yayılım ile bulaşın bir enfeksiyon etkenine dönüşümünü önleyebilmektedir. Fakat temel tanı testi olarak kültür kabul edilip kıyaslandığında PZR'nin yanlış negatif ve özellikle de yanlış pozitif sonuçlar vermesi dezavantajlarıdır. Ayrıca çalışmamızda PPD'in düşük çıkması da yine bizim çalışmamız için PZR adına dezavantaj iken NPD'in ise yüksek çıkması gerçek sağlam hastaları da dışlama oranının yüksek olduğunu, spesifite ve sensitivitesinin de düşük olmaması PZR adına avantajlardır. Yine çalışmamızda PZR ve mortalite ilişkisi, PZR ve hastane yatış öyküsü ilişkilerinin istatistiksel olarak anlamlı çıkması PZR'nın göz ardı edilemeyen kliniksel yararlarını ve önemli bir tanı parametresi olduğunu gözler önüne sermiştir. PZR ve E.faecium bakteriyemisi ilişkisi ve PZR ile VRE tedavi gereksinimi ilişkilerinin ise istatistiksel olarak anlamlı çıkmaması bir dezavantaj iken yüzdelik oranları açısından yine bir çok klinisyene yol göstereceği kanısındayız (1, 163, 166).

KK'ün yüksek özgüllük ve duyarlılık ile zaten tüm bilim çevrelerince kabul

görmüş geleneksel mikrobiyolojik tanı yöntemi olmasının yanında görülen tek dezavantajı sonuçlandırılma süresinin uzun olması ve düşük konsantrasyondaki bakteri yoğunluğunda üreme gerçekleşmemesidir. Ayrıca vankomisin direncinin (özellikle VanB) saptanmasında tam otomatize yöntemlerin aynı ölçüde güvenilir olmadıkları bilinmektedir (85, 86).

GİS'te kolonize olan VRE, bu kolonizasyonunu uzun dönem semptom vermeden devam ettirebilmekte ve hastanelerde salgınlara yol açarak, mortalite ve morbiditeyi artırabilmektedir. Bu yüzden VRE bulaş ve enfeksiyon riski yüksek olan yoğun bakım gibi bölümlerde belirli aralıklarla perirektal sürüntü alınması ve bunların kültüre edilmesi VRE taşıyıcılığının tespiti açısından önerilmektedir (167).

VRE tespiti için birçok farklı yöntem olmakla birlikte bunlardan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)'un kullanımı ile VRE tespiti hızlı ve kolay bir şekilde mümkün olmakla birlikte KK'e göre sensitivitesinin düşüklüğü de göz ardı edilmemelidir. VRE için rutin tarama kültürleri ise iş yükü, zaman ve maliyet açısından önemli bir yer işgal etmektedir. Gaitada PZR ile VRE taranmasının bazı sağlık kuruluşlarında rutin VRE sürveyans kültürlerine alternatif oluşturabilecek "cost-effective" bir yöntem olduğu bildirilmiş olmasına rağmen sadece PZR kullanılması halinde, suş izolasyon ve tiplendirilmesi yapılamayacaktır. Eğer PZR ve KK entegreasyonu sağlanırsa bu dezavantajların önüne geçilecektir. Dolayısıyla tarama yönteminin dikkatle seçilmesi göz önünde bulundurulması gereken bir konudur (160).

Burada VRE kolonizasyonun, en erken belirlenme yollarından biri olan PZR yöntemi sayesinde yaklaşık 45-60 dakika süre zarfında VRE taşıyıcılığı belirlenebilmekte ve izolasyonun en hızlı şekilde yapılması imkânını bize sağlamaktadır. KK metodu ise 24-96 saat aralığına kadar bir sürede sonuç verebilmektedir. PZR yönteminin KK yöntemine nazaran, VRE saptanması için zaman avantajı ile beraber enfeksiyon kontrol önlemlerinin çok daha seri bir şekilde uygulama kolaylığı sunduğu bir gerçektir.

Öyleyse PZR yada KK ne zaman tercih edilmeli sorusunun yanıtını bulmak gerekmekte; bu noktada, çalışmamızdaki KK ve PZR sonuçlarının yoğun bakım dağılımları incelendiğinde bu sonuçlar ışığında hemen hemen tüm bölümlerde VRE taşıyıcılığı tespit edilirken elektif operasyonlar ile dikkat çeken Genel Cerrahi ve

Beyin Cerrahisi bölümlerinde VRE taşıyıcılık oranının düşük olduğu sonucu çıkarıldı. Çocuk yoğun bakımının ise her yerde olduğu gibi merkezimizde de dikkatli surveyans programı içerisinde çok daha sıkı takip edilmesi gerektiği ve özellikle burada PZR ile beraber KK yönteminin mutlak suretle ortak kullanımı ile alınacak önlemler ve yayılım kontrolünü sağlayacağı görüşü çalışmamızda oluşmuştur. Yine PZR pozitiflik oranı en düşük yoğun bakım anestezi olmasına rağmen hastaların (%100)'ünün VRE açısından tedavi gereksiniminin olması ve (%50)'sinde VRE bakteriyemisi gelişmesi yine PZR pozitifliğini dikkate almamız gerektiğini göstererek, burada dahi her iki yöntemin beraber kullanılmasının uygun olacağını düşündürdü. Özellikle KK ile PZR ortak pozitifliği halinde hastaların tarama programı sonrası gerekli önlemlerin daha hızlı daha doğru ve yerinde müdahalelerle takipte hasta hayatı ve VRE yayılımının önüne geçilebileceği düşünüldü.

Sonuç olarak KK yöntemi altın standart olsa da PZR yönteminin KK'e (1-4) gün arasında süre kısaltarak, hız kattığı düşünülürse; çalışmamızda daha önce belirttiğimiz gibi beyin cerrahisi, genel cerrahi benzeri ve genel olarak elektif operasyonların yapıldığı, hasta yatış süresinin kısa olduğu yoğun bakım bölümlerin dışındaki riskli bölümlerde, PZR VE KK yönteminin beraber kullanılması en etkili, en avantajlı ve en seri yöntem olarak görülmektedir.

Bizim hastanemizde de yüksek riskli hastaların ve ünitelerin, VRE taramaları adına KK ve PZR ile değerlendirildiğini gördük. Çalışmamızdaki veriler ışığında son üç ay içinde hastanede yatış öyküsü olan öncesinde kayıtlarda VRE enfeksiyonu yada VRE taşıyıcılığı olan, VRE açısından ilaç tedavisi almış olan, ko-morbid hastalıkları olan, dış merkezden sevk edilen, özellikle yenidoğan ünitelerinden sevk edilen, mortalite oranlarının yüksek olduğu yoğun bakımlara yatışı yapılan hastaların PZR yöntemi ve KK yöntemi ile VRE açısından taranmasının uygun olacağı kanısındayız.

PZR yöntemi, kısa sürede sonuç alınmasından dolayı KK'ya göre cazip görünmekle birlikte, maliyet açısından kültüre göre daha pahalıdır. Fakat 48-72 saat sonunda KK sonucunun belirlendiği ve bu süre zarfında temas önlemlerinin maliyetinin incelendiği bir çalışmada KK yönteminin aslında gereksiz temas izolasyonu tıbbi sarf malzeme giderleri ile PZR ye göre daha maliyetli olduğuna hükmedilmiştir (90).

Kaldı ki bizim hastanemizde KK sonucu sonrası yukarıda belirtilen DDT, MALDI TOF ve PHONEIX otomotize sistemi kültür duyarlılığı ve tiplendirme için üreme olan her örnekte kullanıldığında aslında sanıldığı gibi KK'ün çok uygun olduğu görüşünü desteklememektedir. Bu nedenle, hasta profili ve yoğun bakım şartları göz önünde bulundurularak en iyi yöntem; her merkezin yoğun bakım sorumluları, enfeksiyon hastalıkları uzmanları, enfeksiyon kontrol komitesi ve ilgili hastane yönetiminin oluşturulacak bir ekip ile algoritma belirlenmeli ve bu çığ gibi büyüyen VRE yayılımının önüne sadece gerekli olan geleneksel koruma yöntemleri ile değil aynı zamanda geliştirilecek yada kullanılacak etkili ve yerinde tanı yöntemleri ile de VRE karşısındaki mücadele desteklenmiş olacaktır.

Çalışmamızda hasta yatış süresinin uzun olduğu, hasta mortalitesinin yüksek olduğu ya da hastane enfeksiyonlarının sık görüldüğü, bulaş riskinin yüksek olduğu ve bunun ciddi sonuçlar doğurabildiği, özellikle yoğun bakımlarda, hem KK ve hem de PZR yöntemlerinin ortak kullanılması halinde, klinisyene takip ve tedavi açısından daha fazla yarar sağlayacağı düşüncesindeyiz. Bununla birlikte bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu da bir gerçektir.

7. KAYNAKLAR

1. Handwerger S, Raucher B, Altarac D. Nosocomial outbreak due to *Enterococcus faecium* highly resistant to vancomycin, penicillin, and gentamicin. *Clin Infect Dis* 1993;16:750-5.
2. Bradley D. Jett, L* Mark M. Huycke, 2 And Michael S. Gilmore3 1994, Virulence of Enterococci American Society for Microbiology Clinical Microbiology Reviews, Oct. 1994, p. 462-478
3. LM Teixeira, MG Siqueira Carvalho, PL Shewmaker, RR Facklam. *Enterococcus*. In: Manual of Clinical Microbiology, Eds: J Versalovic, KC Carroll, G Funke. Volume 1 Eds: JH Jorgensen, ML Landry, DW Warnock. ASM Press, American Society for Microbiology, Washington DC, 2011.
4. G Durmaz. Enterokoklar. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi; Edt: A Willke Topçu, G Söyletir, M Doğanay. 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd: Şti., İstanbul, 2008.s.2057-65
5. Murray BE. The life and times of *Enterococcus*. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3:45-65.
6. Spencer RC. Bacteremia caused by multi-resistant gram-positive microorganisms. *Clin Microbiol Infect* 1999; 5:217-28.
7. Spencer RC, Wheat PF, Magee JT, Brown EH. A three year survey in clinical isolates in the United Kingdom and their antibiotic susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1990; 26:435-46.
8. Oppenheim BA. The changing pattern of infection in neutropenic patients. *J Antimicrob Chemother* 1998;41(Suppl D):7-11.
9. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbiol etiology of nosocomial infections. *Am J Med* 1991;91(Suppl B):72-5.
10. Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J. George RC. Vancomycin resistant enterococci. *Lancet* 1988;1: 57-8.
11. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med* 1988; 319: 157-61

12. Aktaş G, Derbentli Ş, Vankomisine dirençli Enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri, *İnfeksiyon Dergisi* (Turkish Journal Of Infection);2009; 23: 201-9.
13. T.C Sağlık Bakanlığı Ulusal Mikrobiyoloji Standartları 01.01.2014 / Sürüm: 1.0 / AMD-MT-02 /Mikrobiyolojik Tanımlama / AMD Testleri
14. Ulusoy S. Çoğul Dirençli Gram Pozitif Bakteriler. Doğanay M, Ünal S.(Editörler) Hastane Enfeksiyonları'nda.Ankara: Bilimsel Tıp Kitapevi; 2003.s.247-67.
15. Akan ÖA. Enterokok türlerinin mikrobiyolojisi. Ed: Ünal S, Vahapoğlu H. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar.Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2004;5-9.
16. Facklam RR, Teixeria LM. Enterococcus. In: Collier L, Bolows A, Sussman (eds). Topley&Wilson's Microbiology and Microbial infections. Vol 2. 9th edition. London: Edvard Arnold Press; 1998. 669-82
17. Töreci K. Glikopeptid antibiyotikler: Dünü. ANKEM Derg 1999;13:272-7.
18. Kaye KS, Fraimow HS, Abrutyn E. Antibacterial therapy. Pathogens resistant to antimicrobial agents. *Infect Dis Clin North Am* 2000;14:293-314.
19. Arias AC, Murray BE: Enterococcus species, Streptococcus bovis group, and Leuconostoc species, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R: Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th ed." kitabında s. 2643-53, Churchill Livingstone, Philadelphia (2010).
20. Vural T, Şekercioğlu AO, Öğünç D ve ark. Vankomisine dirençli Enterococcus casseliflavus suşu. ANKEM 1998; 12(2): 113.
21. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans ve Kontrol Birimi.Ulusal hastane enfeksiyonları sürveyans ağı (UHESA) raporu. Özetveri,2010.http://www.rshh.gov.tr/enfeksiyon/dosya/analiz_2010.pdf
22. T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi 2012 Yıllık Raporu
23. Gültekin M. Enterokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi. Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi 2004; 121-140.

24. Bilström H. Molecular epidemiology of clinical *E. faecium* (Thesis). Stockholm: Carolinska Institutet; 2008.
25. Facklam RR, Sahm DF, Martins Teizeira L. Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds), Manual of Clinical Microbiology, 7th ed, ASM Press, Washington D.C.p.297-305, 1999.
26. Hancock LE, Gilmore MS. Pathogenicity of Enterococci. In: Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA, Tenover JC (eds), Gram-Positive Pathogens, ASM Press, Washington D.C., p.251-258, 2000.
27. Facklam RR, Sahm DF (eds). Enterococcus. Manual of Clinical Microbiology. 6th edition. Washington DC: American Society for Microbiology; 1995. 308-14
28. Facklam, R.R., Tenover, J.C., "Enterococcus. In: Collier L, Tenover A, Murray PR, Tenover J.C. & Wilson's Microbiology and microbial infections", Systematic Bacteriology, 669-682 (1998)
29. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Tenover JC. Procop G, Woods G. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Sixth edition. Philadelphia: Lippincott Co 2005:700-711.
30. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. Microbiology. 2009;155:1749-1757.
31. Ruoff KL, Maza L, Murtagh MS, et al. Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. J Clin Microbiol 1990; 28:4357.
32. 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.
33. Tendolkar PM, Baghdadyan AS, Shankar N. Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. CMLS, Cell. Mol. Life Sci. 2003; 60:2622-2636.
34. Shankar N, Baghdadyan AS, Willems R., Hammerum AM, Jensen LB. Presence of Pathogenicity Island Genes in Enterococcus faecalis Isolates from Pigs in Denmark. Journal of Clinical Microbiology. 2006; 44:4200-4203.

35. Shankar N, Baghdayan AS, Gilmore MS.. Modulation of virulence within a pathogenicity island in vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Nature*. 2002; 417: 746-750.3333.
36. 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.
37. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji*. İstanbul: Nobel Kitabevi; 2008. 2060-2
38. Moellering RC Jr. *Enterococcus species bovis* and *Leuconostoc species*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease*. 5th edition. London: Churchill Livingstone; 2000. 2147-53.
39. Arias CA, Murray BE. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10(4): 266-78. [Özet]
40. Devriese L, Baele M, Butaye P. The Genus *Enterococcus*: Taxonomy. *Prokaryotes* 2006; 4:163-74.
41. Kreft B, Marre R., Schramm U., Wirth R. Aggregation substance of *E. faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubular cells. *Infect. Immun*. 1992;60 (1): 25-30.
42. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence Factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship To Endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15:308-20.
43. Oancea C, Klare I, Witte W, Werner G. Conjugative transfer of the virulence gene, *esp*, among isolates of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54: 232-5.
44. Coque TM, Willems RJL, Fortuín J, et al. Population Structure of *Enterococcus faecium* causing bacteremia in a Spanish University Hospital: Setting the scene for a future increase in vancomycin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:2693-700.
45. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Gilmore MS, Shankar N. Enterococcal surface protein, *Esp*, enhances biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *Infect Immun* 2004; 72:6032-9.

46. The Journal Of Biological Chemistry © 1999 by The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc. Vol. 274, No. 38, Issue of September 17, pp. 26939–26945, 1999 Printed in U.S.A.
47. Clin Microbiol Infect. 2010 Jun;16(6):533-40. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03213.x. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections. Sava IG¹, Heikens E, Huebner J.
48. Eaton, TJ., Gasson, MJ., (2001), Molecular screening of Enterococcus virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. Appl Environ Microbiol 67, s.1628-1635).
49. Sedgley CM, Molander A, Flannagan SE, Nagel AC, Appelbe OK, Clewell DB, ve diğeri. Endodontik enterokok spp. Virulans, fenotip ve genotip özellikleri. Oral Mikrobiyol İmmünol. 2005; 20 : 10-9.
50. Shankar vd. 2004).(12,22). Gültekin M. Enterokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi. Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi 2004; 121-140.
51. Fabretti F, Theilacker C, Baldassarri L, Kaczynski Z, Kropec A, Holst O, Huebner J. Alanine esters of enterococcal lipoteichoic acid play a role in biofilm formation and resistance to antimicrobial peptides. Infect Immun 2006; 74:4164-71.
52. Jett ve ark 1994, Kayaoglu ve ark 2004). 64. Kayaoglu G, Ørstavik D. 2004. Virulence factors of Enterococcus faecalis: relationship to endodontic disease. Crit Rev Oral Biol Med, 15: 308-320
53. 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.
54. Herman DJ, Gerding DN. Antimicrobial resistance among enterococci. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35:1-4.
55. Derbentli Ş. Stafilokok ve enterokoklarda antibiyotik duyarlılık deneylerinin özellikleri. Ankem Derg 1996; 10:211-9.

56. Klare I, Konstabel Emerging Infectious Diseases C, Badstubner D, Werner G, Witte W. Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. *Int J Food Microbiol* 2003; 88:269-90
57. Chou YY, Lin TY, Lin JC, et al. Vancomycin-resistant enterococcal bacteremia: comparison of clinical features and outcome between *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *J Microbiol Immunol Infect* 2008; 41:124-9
58. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13:686-707.
59. Fontana R, Grossata A, Rossi L, Cheng YR, Satta G. Transition from resistance to hypersusceptibility to β -lactam antibiotics associated with loss of a lower-affinity penicillin-binding protein in a *Streptococcus faecium* mutant highly resistant to penicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28:678-83.
60. Murray BE. Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis* 1998; 4:37-47.
61. Marothi YA, Agrihotri H, Dubey D. Enterococcal resistance—An overview. *Indian J Med Microbiol* 2005; 23:214-9.
62. Lefort A, Mainandi JL, Tod M, Lortholory O. Antienterococcal antibiotics. *Med Clin North Ame* 2000; 6:1471-1495.
63. Moellering R.C.Jr. Infections due to group D streptococci. *Infect. Dis. Rew.* 1981;6:1-7
64. Perichon B, Reynolds P, Courvalin P. VanD type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:2016-8.
65. Murray B. E. Vancomycin resistant enterococci. *Am. J. Med.* 1997; 101: 284-93.
66. Murray BE, Singh KV, Markowitz SM, et al. Evidence for clonal spread of a single strain of β -lactamase-producing *Enterococcus faecalis* to six hospitals in five states. *J Infect Dis* 1991; 163:780-5.
67. Derbentli, Ş.(1998), Nozokomiyal Enterokok enfeksiyonları. *Galenos.* 1998;23: 14-17

68. Maki DG, Agger WAA. Enterococcal bacteremia: Clinical features, the risk of endocarditis and management. *Medicine* 1988;67: 248-69
69. Kaye D. Enterococci. Biologic and epidemiologic characteristics and in vitro susceptibility. *Arch. Intern. Med.* 1982;142:2006-9.
70. Moellering R. C. The enterococcus: a classic example of the impact of antimicrobial resistance on therapeutic options. *J. Antimicrob. Chemother.* 1991;28:1-12
71. Söyletir G., Çerikçioğlu N. Enterokoklar ve infeksiyon hastalıkları. 1. Baskı Ankara, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Sti. 1996;334-5.
72. Hindler J. A., Howard B. J., Keiser J. F. Antimicrobial agents and antimicrobial susceptibility testing. *Clinical and Pathogenic Microbiology*. 2nd edition. St. Louis. Mosby, 1994; 145-95.
73. Brooks G. F., Butel J. S., Ornston L. N. Jawetz, Melnick, and Adelberg's *Medical Microbiology*. 20 th edition, USA: Appleton and Lange, 1995: 202-4
74. Gür D. Antibiyotiklere direnç gelişmesi. Klinik uygulamada antibiyotikler ve diğer antimikrobiyal ilaçlar. 1. baskı, Ankara, Güneş Kitapevi, 1994: 19-37.
75. Eliopoulos G. M. _ncreasing problems in the therapy of enterococcal infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1993;12:409-12.
76. Hijazi N, Elmanama AA, Al-Hindi A. Vancomycin-resistant enterococci in fecal samples from hospitalized patients and non-hospitalized individuals in Gaza City. *J Public Health* 2009; 17:243-9.
77. French GL. Enterococci and Vancomycin Resistance. *Clin Infect Dis* 1998; 27:75-83.
78. Reynolds PE, Courvalin P. Vancomycin resistance in enterococci due to synthesis of precursors terminating in D-Alanyl-D-Serine. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:21-5
79. Fines M, Perichon B, Reynolds P, Sahm DE, Courvalin P. VanE. A new type of acquired glycopeptide resistance in *Enterococcus faecalis* BM4405. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2161-4.
80. Boyce JM. Nosocomial infections. Vancomycin-resistant *Enterococcus*. Detection, epidemiology and control measures. *Infect Dis North Am* 1997; 11:367-84.

81. Woodford N, Jones BL, Baccus Z, Ludlam HA, Brown DFJ. Linkage of vancomycin and high-level gentamicin resistance genes on the same plasmid in a clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *J Antimicrob Chemother* 1995;35:179-84.
82. Murray BE. Problems and perils of vancomycin resistant enterococci. *Braz J Infect Dis* 2000;4:9-14
83. Arthur M, Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1563-71.
84. Hayden MK, Trenholme GM, Schultz JE, et al. In vivo development of teicoplanin resistance in a VanB *Enterococcus faecium* isolate. *J Infect Dis* 1993;167:1224-7.
85. Endtz HP, Van Den Braak N, Van Belkum A, et al. Comparison of eight methods to detect vancomycin resistance in enterococci. *J Clin Microbiol* 1998;36:592-594.
86. Başustaoğlu A, Aydoğan H. Enterokoklar. Ed: Uzun Ö. *İnfeksiyon Hastalıkları Serisi. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara* 2002; 5(2):45-60.
87. Malathum K, Murray BE. Vancomycin-resistant enterococci: recent advances in genetics, epidemiology and therapeutic options. *Drug Resist Updat* 1999; 2:224-43
88. Rice LB. Emergence of vancomycin-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis* 2001;7:183-7.
89. Başustaoğlu A. Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu. Ed: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara* 2004: 141-158.
90. Faruk Karakeçili¹, Burcu Dalyan Cılo², Hırcan Akın¹, Harun Ağca², Melda Sınırtaş², Cüneyt Özakin², Emel Yılmaz³, Halısakalın³ *Onventional Culture And Molecular Screening Methods For Detection Of Vancomycin-Resistant Enterococci Activity Acta Medica Mediterranea*, 2016, 32: 87
91. *Management of Multidrug Resistant Organisms In Healthcare Settings 2006*, <http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/MDRO/MDROGuideline2006.pdf>

92. Dutka-Malen S, Blaimont B, Wauters G, Courvalin P. Emergence of high-level resistance to glycopeptides in *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994 ; 38: 1675–1677.
93. Kirkpatrick BD, Harrington SM, Smith D, Marcellus D, Miller C, Dick J, Karanfil L, Perl TM. An outbreak of vancomycin-dependent *Enterococcus faecium* in a bone marrow transplant unit. *Clinical Infectious Diseases*. 1999; 29:1268-1273.
94. Tambyah PA, Marx JA, Maki DG. Nosocomial infection with vancomycin-dependent enterococci. *Emerg Infect Dis* 2004;10:1277-81.
95. Zirakzadeh A, Patel R. Vancomycin-Resistant Enterococci: Colonization, Infection, Detection, and Treatment. *Mayo Clin Proc* 2006; 81:529-36
96. Mato R, de Lencastre H, Roberts RB, Tomasz A. Multiplicity of genetic backgrounds among vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates recovered from an outbreak in a New York City Hospital. *Microbiol Drug Res* 1996;2:309-17.
97. Centers for Disease Control and Prevention. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin in the United States, 1989-1993. *MMWR* 1993;42:597-9.
98. Tabak F. Yoğun Bakım infeksiyonları: Tanımlar ve Epidemiyoloji. Köksal İ, Çakar N, Arman D (Editörler). *Yoğun Bakım Enfeksiyonları*’nda. 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi; 2005.s.45-51.
99. Moellering RC, JR: *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* and *Leuconostoc* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fifth edition. New York. Churchill Livingstone. pp: 2411-2421, 2005.
100. Lawrence L, Livornese MD, Susan Dias, et al. Hospital acquired Infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* transmitted by electronic thermometers. *Ann Intern Med* 1992; 117:112-6
101. Zervos MJ, Terpenning MS, Schaberg DR, et al. High-level aminoglycoside resistant enterococci: Colonization of nursing home and acute care hospital patients. *Arch Intern Med* 1987; 147:1591-4

102. Zervos MJ, 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; 153:1073-83.
103. Pest V., Tallon C. S., Sanchez A., et al. Epidemiological, microbiological, clinical and prognostic factors of bacteremia caused by high-level vancomycin-resistant enterococcus species. *Eur. J. Clin. Microb. Infect. Dis.* 2000; 19: 742-9.
104. Huckabee CM, Huskins WC, Murray PR. predicting clearance of colonization with vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by use of weekly surveillance cultures. *J Clin Microbiol* 2009; 47:1229-30.
105. Martone WJ. Spread of vancomycin-resistant enterococci: why did it happen in the United States. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19:539-45
106. Bonten MJ, Willems R, Weinstein RA. Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from? *Lancet Infect Dis* 2001; 1:314-25.
107. Werner G, Coque TM, Hemmerum AM, et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Eurosurveillance* 2008; 13:1-11.
108. Vural T, Şekercioğlu AO, Ögünç D, ve ark. Vankomisine dirençli *E. faecium* suşu. *Ankem Dergisi* 1999; 13:1-5
109. Başustaoglu A, Özyurt M, Beyan C ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen glikopeptid dirençli *E. faecium* suşu. *Flora* 2000; 5:142-7
110. Yetkin MA, Ateş Arıca N, Tülek N, Yağcı S, Tekin Koruk S. Vankomisine dirençli enterokok bakteremisi: Olgu sunumu. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* 2004; 8:310-4.
111. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi Mustafa YILDIRIM 2007; 2: 46-52
112. Guidelines For The Prevention And Control Of Vancomycin Resistant Enterococci (VRE) In Long Term Care Facilities; Maryland Department of Health and Mental Hygiene Epidemiology and Disease Control Program. March 1996.

113. Yamazhan T, Ulusoy S. Vankomisin Dirençli Enterokoklar. Doğanay M, Ünal S, Şardan Y. Ç. (Editörler) Hastane Enfeksiyonları 2013. Ankara: Bilimsel Tıp Kitapevi; 2013.s.343-61.
114. Esen Ş. Enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar ve tedavi seçenekleri. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (Editörler). Önemli ve sorunlu gram-pozitif bakteri enfeksiyonları"nda. Ankara: Bilimsel Tıp Kitapevi; 2012.s.245-61
115. Murray P, Rosenthal K.S, Pfaller M.A.(Çeviri: Kılıç A.)Tıbbi Mikrobiyoloji. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2010:s.243-6
116. Çavuşlu ğ. Enterokoki nfeksiyonları. Pekcan M, Pahsa A, Görenek L, Beşirbellioğlu B.A.(Editörler) Hastane Ğnfeksiyonları. Ankara: Gata Yayınları; 2005:s.353-73
117. Aygün H, Memikoğlu OK, Tekeli A, Azap A, Yörük F. Hastanede yatan riskli hasta gruplarında vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonunun sürveyansı. Türk Anest Rean Derg 2008; 36:168-73
118. 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.
119. Esen Ş. Enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar ve tedavi seçenekleri. Ed: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara 2004:159-170.
120. Taşova Y, İnal A.S. Enterokok enfeksiyonlarında klinik. Ed: Şardan Y Ç. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar 2004. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2004:17-22.
121. Catalase-negative, Gram-Positive Cocci. Bailey&Sctt"s Diagnostic Microbiology. Betty A.Forbes, Daniel F. Sahm, Alice S. Weissfeld. Twelfth Edition. Elsevier. 2007: p.265 87
122. Mandell, Douglas, And Bennett's Infectious Disease Essentials Enterococcus Species, Streptococcus gallolyticus Group, and Leuconostoc Species 2016-283 Cesar A. Arias and Barbara E. MurrayISBN: 978-0-323-43101-9
123. Öztürk R. Glikopeptitlere Dirençli Enterokok ve Diğer Gram Pozitif Bakteri enfeksiyonlarına Yaklaşım. Arman D, Vahapoğlu H. (Editörler). Dirençli Mikroorganizma enfeksiyonlarına Yaklaşım. Ankara: Bilimsel Tıp Kitapevi;

2008.s.73-95.

124. Mandel G.L, Bennett J.E., Dolin R., Infection Disease Seventh Edition p.2643-51
125. Tacconelli E, Cataldo MA. Vancomycin-resistant enterococci (VRE): transmission and control. Int J Antimicrob Agents 2008;31(2):99106.
126. Şardan Y. Ç. Vankomisine dirençli enterokoklara bağlı hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (Editörler). Önemli ve sorunlu gram-pozitif bakteri enfeksiyonları'nda. Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi; 2012.s.263-80
127. Vankomisine Dirençli Enterokok Olguları Meltem Işıkgöz Taşbakan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bornova, İzmir ANKEM Derg 2010;24(Ek 2):82-84
128. Lin M, Weinstein RA, Hayden MK. Multiply Drug Resistant Pathogens. Jarvis WR.(Editörler). Bennet @ Brachman's Hospital İnfections. 5. Baskı. Lippincott Williams@Wilkins; 2007. p.193-222
129. Öngen B, Gürler N, Esen F, Karayay S, Töreci K. Glikopeptidlere ve denendiği bütün antibiyotiklere dirençli Enterococcus faecium suşu. ANKEM Derg 1999;13:501-5.
130. Torun MM, Bahar H, Altınkum S, Yüksel P. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid ve vankomisin direncinin araştırılması. ANKEM Derg 1999;13:105.
131. Yüce A, Karaman M, Gülay Z, Yuluğ N. Yenidoğanlarda vankomisin dirençli enterokokların fekal taşıyıcılığı. Ankem Dergisi 1999; 13:7-11
132. Okabe T, Oana K, Kawakami Y. Limitations of Vitek GPS-418 cards in exact detection of vancomycin-resistant enterococci with the VanB genotype. J Clin Microbiol 2000;2:2409-11.
133. Falk PS, Winnike J, Woodmansee C, Desai M, Mayhall CG. Outbreak of vancomycin-resistant enterococci in an intensive care unit. Infect Control Hosp Epidemiol 2000;21:575-82.
134. Kearns AM, Freeman R, Lightfoot NF. Nosocomial enterococci: Resistance to heat and sodium chloride. J Hospital Infect 1995;30:193-9.

135. Road I, Costerton W, Sabharwal U, Sacilowski M, Anaissie E, Bodey GP. Ultrastructural analysis of indwelling vascular catheter: A quantitative relationship between luminal colonization and duration of placement. *J Infect Dis* 1993;168:400-7.
136. Strulens MJ, Byl B, Vincent J-L. Antibiotic policy: A tool for controlling resistance of hospital pathogens. *Clin Microbiol Infect* 1999;5:519-24.
137. Kirst HA, Thompson DG, Nigas TI. Historical yearly usage of vancomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:1303-4.
138. Recommendation for preventing the spread of vancomycine resistance: Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR* 1995;44:1-13.
139. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Kontrol Birimi Vankomisin Dirençli Enterokok (VRE) Sürveyans Protokolü <http://hastaneenfeksiyonlari.saglik.gov.tr/dosya/VRE.pdf>
140. Köksal F. Deri antisepsisi ve el hijyeni. Sterilizasyon, dezenfeksiyon Hastane İnf. Semp. 21-22 Ekim 1999, Samsun; Semp. Kitabı:121-5.
141. Kohner PC, Patel R, Uhl R, et al. Comparison of agar dilution, broth microdilution, E test, disc diffusion and automated Vitek methods for testing susceptibilities of *Enterococcus* spp. to vancomycin. 1997;35:3258-63.
142. Doebbeling BN, Stanley GL, Sheetz CT, et al. Comparative efficacy of alternative hand-washing agents in reducing nosocomial infections in intensive care units. *N Engl J Med* 1992;327:88-93.
143. Kampf G, Hofer M, Wendt C. Efficacy of hand disinfectants against vancomycin-resistant enterococci in vitro. *J Hosp Infect* 1999;42:143-50.
144. Weinstein JW, Tallapragada S, Farrel P, Dembry LM. Comparison of rectal and perirectal swabs for detection of colonization with vancomycin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 1996;34:210-2.
145. Caliendo AM. Multiplex PCR and emerging technologies for the detection of respiratory pathogens, *Clin Infect Dis*, 2011, vol. 52suppl 4(pg. S326-30)

146. Jeng K, Massire C, Zembower TR, et al. Monitoring seasonal influenza A evolution: rapid 2009 pandemic H1N1 surveillance with an reverse transcription-polymerase chain reaction/electro-spray ionization mass spectrometry assay, *J Clin Virol* , 2012, vol. 54 (pg. 332-6)
147. Infectious Diseases Society of America The 10×20 Initiative: pursuing a global commitment to develop 10 new antibacterial drugs by 2020, *Clin Infect Dis* , 2010, vol. 50 pg. 1081
148. Bartlett JG, Gilbert DN, Spellberg B. Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 56, Issue 10, 15 May 2013, Pages 1445–1460,
149. Bartlett JG. Diagnostic tests for agents of community-acquired pneumonia, *Clin Infect Dis*, 2011, vol. 52suppl 4(pg. S296-304)
150. Johansson N, KalinM, Tiveljung-Lindell A, Giske CG, Hedlund J. Etiology of community-acquired pneumonia: increased microbiological yield with new diagnostic methods, *Clin Infect Dis* , 2010, vol. 50 (pg. 202-9)
151. Al Masalma M, Armougom F, Scheld WM, et al. . The expansion of the microbiological spectrum of brain abscesses with use of multiple 16S ribosomal DNA sequencing, *Clin Infect Dis* , 2009, vol. 48 (pg. 1169-78)
152. Hatice Uludağ Altun, Çiğdem Ataman Hatipoğlu, Cemalbulut, Özgenköseoğlu Eser, Ali Pekcan Demiröz Vankomisine Dirençli Enterokokların Sürveyansında, GeneXpert® vanA/vanB PCR Sistemi ile Kültür Yönteminin Karşılaştırılması *Mikrobiyol Bul* 2014; 48(4): 538-544
153. Miyakis S, Pefanis A, Tsakris A. National Institute for Public Health and the Environment; Ministry of Health, Welfare and Sport, NETHMAP 2011: consumption of antimicrobial agents and antimicrobial resistance among medically important bacteria in the Netherlands SWAB. Available at, Yunanistan The challenges of antimicrobial drug resistance in Greece, *Clin Infect Dis* , 2011, vol. 53 pg. 177
154. Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*. 2009;302:2323–9

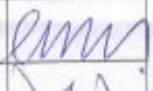
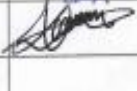
155. Spellberg B, Blaser M, Guidos R, Boucher HW, Bradley JS, Eisenstein B, Gerding D, Lynfield R, Reller LB, Rex J, Schwarz D, Septimus E, Tenover FC, Gilbert DN, for the Infectious Diseases Society of America: Combating antimicrobial resistance: policy recommendations to save lives. *Clin Infect Dis* 2011;52(S5):S397-S428.
156. Armstrong GL, Conn LA, Pinner RW. Trends in infectious disease mortality in the United States during the 20th century. *JAMA*. 1999;281:61–6.
157. Schrader C, Schielke A, Ellerbroek L, Johne R. PCR inhibitors-occurrence, properties and removal. *J Appl Microbiol*. 2012;113:1014–1026. [PubMed]
158. X. Zhou, J. P. Arends, G. A. Kampinga, H. M. Ahmad, B. Dijkhuizen, P. van Barneveld, J. W. A. Rossen and A. W. Friedrich, Department of Medical Microbiology, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, the Netherlands K. C. Carroll, Editor Evaluation of the Xpert vanA/vanB Assay Using Enriched Inoculated Broths for Direct Detection of vanB Vancomycin-Resistant Enterococci. *J. Clin. Microbiol*. December 2014 vol. 52 no. 12 4293-4297
159. Palladino S, Kay ID, Flexman JP, et al. Rapid detection of vanA and vanB genes directly from clinical specimens and enrichment broths by real-time multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol* 2003; 41(6): 2483-6.
160. Satake S, Clark N, Rimland D, Nolte FS, Tenover FC. Detection of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples by PCR. *J Clin Microbiol* 1997; 35(9): 2325-30.
161. Gültekin M. Enterokoklar: Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji ve Patogenez. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (Editörler). Önemli ve sorunlu gram-pozitif bakteri infeksiyonları’nda. Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi; 2012.s.189-219.
162. Durmaz S, Erçal BD, Alp E, Perçin D. Rektal sürüntü örneklerinde vankomisine dirençli enterokok saptanmasında GenXpert vanA/vanB rep-PCR yöntemi ile kültür yönteminin karşılaştırılması. 6. Ulusal Tanısal ve Moleküler Mikrobiyoloji Kongresi, 15-19 Haziran 2010, Ankara. Kongre Kitabı, s: 144, P1-9.

163. Landman D, Quale JM, Oydna E, Willey B, et al. Comparison of selective media for identifying fecal carriage of vancomycin-resistant enterococci. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34:751-752.
164. Pan S-C, Wang J-T, Chen Y-C, Chang Y-Y, Chen M-L. Incidence of and Risk Factors for Infection or Colonization of Vancomycin-Resistant Enterococci in Patients in the Intensive Care Unit. *PLoS ONE*. October 2012; 7(10): e47297.
165. Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program (CNISP) Surveillance for Vancomycin Resistant Enterococci (VRE) in Patients Hospitalized in Canadian Acute-Care Hospitals Participating in CNISP 2006 Results.
166. 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: 1148-1153.
167. Patel R. Clinical impact of vancomycin-resistant enterococci. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003;51 (Suppl): 13-21.
168. Esen Ş, Yıldız İE, Güney AK, Günaydın M. Cepheid Xpert vanA/vanB testinin rektal örneklerde vankomisin-dirençli enterokokların hızlı tespiti için değerlendirilmesi. 4. EKMUD Kongresi, 9-12 Mayıs 2012, İstanbul. Kongre Kitabı, s: 189, PS-078.
169. Bourdon N, Berenger R, Lepoutier R, et al. Rapid detection of vancomycin-resistant enterococci from rectal swabs by the Cepheid Xpert vanA/vanB assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 67(3): 291-3.
170. Paule SM, Trick WE, Tenover FC, et al. Comparison of PCR assay to culture for surveillance detection of vancomycin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 2003; 41(10): 4805-7.
171. Sloan LM, Uhl JR, Vetter EA, et al. Comparison of the Roche LightCycler vanA/vanB detection assay and culture for detection of vancomycin resistant enterococci from perianal swabs. *J Clin Microbiol* 2004; 42(6): 2636-43.
172. Koh TH, Deepak RN, Se-Thoe SY, Lin RV, Koay ES. Experience with the Roche LightCycler VRE detection kit during a large outbreak of vanB2/B3 vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(1): 182-3.

173. Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR, Grayson ML. Comparison of three PCR primer sets for identification of vanB gene carriage in feces and correlation with carriage of vancomycin-resistant enterococci: interference by vanB-containing anaerobic bacilli. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(1): 77-81.
174. Al-Mohri HA, Tadros MA, Louie L, Vearncombe M, Simor AE. Utility of direct, real-time PCR in the management of a nosocomial outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (vanB genotype). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27(4): 321-2.
175. Altun D, Erdem G, Çöplü N, Çağatay M. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının tür düzeyinde tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının çeşitli yöntemlerle araştırılması. *ANKEM* 2013; 27(3): 130-4.
176. Mak A, Miller MA, Chong G, Monczak Y. Comparison of PCR and culture for screening of vancomycin-resistant enterococci: highly disparate results for vanA and vanB. *J Clin Microbiol* 2009; 47(12): 4136-7.

8. EKLER

8.1. EK-1: Etik Kurul Onay Formu

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU DICLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES					
23					
KARAR					
Prof. Dr. Saim DAYAN, Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT, Uzm. Dr. Nida ÖZCAN, Arş. Gör. Dr. Ersin ÇİÇEK isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Vankomisin Dirençli Enterokok (VRE) saptanmasında klasik kültür ile Polimeraz Zincir Reaksiyonun (PZR) karşılaştırılması" başlıklı araştırmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.					
DECISION					
The project titled as "Comparison of Classical Culture and Polymerase Chain Reaction (PCR) in the Detection of Vancomycin Resistant Enterococcus (VRE)" planned by Saim DAYAN, Nezahat AKPOLAT, Nida ÖZCAN, Ersin ÇİÇEK has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.					
Oturum No (Meeting number) :		Tarih (Date): 24.11.2017	Saat (Hour): 14:00-15:00		
KURUL BAŞKANI (CHIEF)		Prof. Dr. Hüseyin BÜYÜKBAYRAM			
KURUL ÜYELERİ / MEMBERS					
	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Hüseyin BÜYÜKBAYRAM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Patoloji	
2	Prof. Dr.	Levent ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
3	Doç. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
4	Doç. Dr.	İlker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
5	Doç. Dr.	Haktan KARAMAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
6	Doç. Dr.	Zulfikar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
7	Doç. Dr.	M. Veyis BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
8	Doç. Dr.	Ezeli AZARKAN	Dicle Üniversitesi Hukuk Fakültesi	Öğretim Üyesi	
9	Yrd. Doç. Dr.	İsmail YILDEZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyostatistik	
10	Yrd. Doç. Dr.	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	