

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYONKOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENTEROKOK SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ
PROFİLİNİN SAPTANMASI

Bio.Yusuf AKDEMİR

MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM
DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç.Dr.Orhan Cem AKTEPE

Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kordinasyon
Birimi Tarafından 09.tıp.13 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2010-019


B.A.P.K.No: 09 tıp.13

2010 AFYONKARAHİSAR

KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

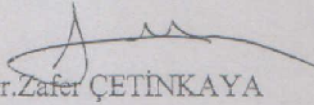
Tez savunma tarihi: 29.12.2010


Doç.Dr. Orhan Cem AKTEPE

Danışman

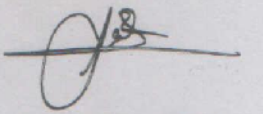

Doç.Dr. Mustafa ALTINDIŞ

Üye


Doç.Dr. Zafer ÇETİNKAYA

Üye

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Öğrencisi Yusuf AKDEMİR'in "**Enterekok Suşlarında Antibiyotik Direnç Profiline Saptanması**" başlıklı tezi 30.12.2010 günü saat 10:00'da lisansüstü eğitim-öğretim ve sınav yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Doç.Dr. Esmâ KOZAN
Enstitü Müdürü

2010 AFYONKARAHİSAR

ÖNSÖZ

Bu çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi Ahmet Necdet Sezer Uygulama ve Araştırma Hastanesinde Şubat-2009 Mayıs 2010 tarihleri arasında yatan hastalardan ve poliklinik hastalarından gönderilen idrar, yara, kan, peritonmayi, örneklerinin kültürlerinden izole edilen 100 enterokok suşu, otomatize vitek2 cihazı ve E-test yöntemiyle çalışılmıştır.

Bu tezin seçiminde ve yürütülmesinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danışman hocam sayın Doç.Dr.Orhan Cem AKTEPE'ye

Tez çalışmam sırasında materyallerin toplanmasından, çalışmanın son şeklini almasına kadar, bütün aşamalarda, unutulmaz yardımları için, mikrobiyoloji laboratuvarı hocalarıma, asistanlarına ve çalışanlarına, kan bankası çalışanlarına ve adlarını yazamadığım değerli arkadaşlarıma,

Bu günlere ulaşıncaya kadar her an yanımda olan, sevgi ve desteğini hiç esirgemeyen biricik eşim Filiz AKDEMİR'e

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bio.Yusuf AKDEMİR

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİL DİZİNİ	vii
TABLolar	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	5
3.ENTEROKOKLAR	7
3.1.Sınıflandırma	8
3.2.Morfoloji ve Kimyasal Özellikleri	9
3.3.Bazı enterokok türlerinin özellikleri:.....	10
3.4.Virulans ve Patojeniteleri.....	12
3.4.1.Epidemiyoloji	14
3.5.Klinik Enfeksiyonlar	15
3.5.1.Üriner Enfeksiyonlar	15
3.5.2.Bakteriyemi ve Endokardit.....	16
3.5.3.İntraabdominal ve Pelvik Enfeksiyonlar.....	16
3.5.4.Yara ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları	17

3.5.5.Menenjit.....	17
3.5.6.Solunum Yolu Enfeksiyonları	17
3.5.7.Neonatal Sepsis.....	18
3.6.Antimikrobiyal Duyarlılık ve Rezistans	18
3.6.1.Van A tipi direnç.....	20
3.6.2.Van B tipi direnç:.....	22
3.6.3.Van C tipi direnç.....	22
3.6.4.Van D tipi direnç	23
3.6.5.Van E tipi direnç	24
3.6.6.Van G tipi direnç	24
3.7.Tanı	26
3.8.Tedavi.....	29
4.ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ	32
4.1.Kalitatif testler :	32
4.1.1Disk Difüzyon Testi (Kirby-Bauer Testi):.....	32
4.2. Kantitatif Testler:	33
4.2.1.Agar Dilüsyon Yöntemi:	33
4.2.2. Sıvı Dilüsyon Yöntemi:.....	33
4.3.Yeni Metodlar:	34
4.3.1.E Test :.....	34
4.4.Enterokoklar İçin Antibiyotik Duyarlılık Testleri	34
5.MATERYAL VE METOD.....	36
5.1.Gelen Klinik Materyallerden örneklerin işlemlenmesi:	36
5.1.2.Cerrahi yara-abse materyalleri	37

5.1.3.İdrar	37
5.1.4.Kan	38
5.1.5.BOS.....	38
5.2.Değerlendirme :	39
5.3.Bile eskulin testi deneyi:	41
5.4.Tuz Tolerans Testi :(%6,5'luk NaCl testi):.....	41
5.5.PYR Testi (L-pyrrolidonyl-B-naphtylamide Hidrolizi Deneyi):	42
5.6.İzole Edilen Enterokokların Tür Tayini:	42
5.6.1.VITEK 2 Compact:.....	43
5.6.2.İdentifikasyon kart işlemleri	44
5.6.3.Antibiyogram kart işlemleri	44
5.7.Duyarlılık Testi:	46
5.7.1.E Test Yöntemi	46
6.BULGULAR.....	49
7.TARTIŞMA	56
8.SONUÇ	66
ÖZET	68
SUMMARY.....	70
KAYNAKLAR.....	72

ŞEKİL DİZİNİ

	sayfa
Şekil 5.7.1.1.1 E- test görüntüsü.....	48

TABLolar

	sayfa
Tablo 2.1. Bazı Gram Pozitif Kokların Özellikleri.....	6
Tablo 3.1. Streptokokların Ayrımı.....	8
Tablo 3.6.1. Enterokoklarda Glikopeptit Direnci.....	25
Tablo 3.7.1. Enterokokların İdentifikasyonu.....	28
Tablo 5.2.1. Enterokok İzolasyon İşlemleri.....	40
Tablo 5.6.3.1. Vitek2 Cihazına Göre Antibiyotiklerin MIC değerleri.....	45
Tablo 5.7.1. Antibiyotiklerin E-test MIC değerle.....	47
Tablo 6.1. Enterokok suşların materyallere göre dağılımı.....	49
Tablo 6.2. Gönderilen materyallerin kliniklere göre dağılımı.....	50
Tablo 6.3. Yatan / Poliklinik Hastası Dağılım.....	51
Tablo 6.4. Enterokok İzolatlarının Öreklere Göre Dağılımı.....	52
Tablo 6.5. Enterokok Türlerinde Vitek2 Cihazına Göre Direnç Oranları.....	53
Tablo 6.6. Enterokok Türlerinde E-Test Direnç Oranları.....	54
Tablo 7.1. Ülkemizde Yapılan Çalışmalar.....	64
Tablo 7.2. Yurtdışında Yapılan Çalışmalar.....	65

SİMGELER ve KISALTMALAR

YDAD	Yüksek düzey aminoglikozid direnci
YDGD	Yüksek düzey gentamisin direnci
YDSD	Yüksek düzey sitroptomisin direnci
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi
MIC	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
VRE	Vankomisin Dirençli Enterokok
GP	Gram pozitif bakteriler
AMP	Ampisilin
CN	Gentamisin
E	Eritromisin
TİG	Tigasiklin
MOX	Moksoflaksasin
P	Penisilin
IPM	İmipenem
CIP	Ciproflaksasin

TEC	Teikoplanin
VA	Vankomisin
LZD	Linezolid

1.GİRİŞ

Enfeksiyon etkeni olan mikroorganizmalara karşı etkin bir mücadele yapılması eski çağlardan beri tıbbın önemli bir amacı olmuştur. Bazı boyaların ve kimyasal maddelerin tedavi amacıyla kullanılması 17'nci yüzyıldan itibaren başlamıştır. Kinin sıtma, emetin ise amebiyaz tedavisinde kullanılmıştır. İlk defa İskoç bakteriyolog Alexander Fleming'in 1929'da gözlediği ve 1940 yılında Chain ve Flarey'in *Penicillium notatum*'un salgılarından elde ettiği ve penisilin(P) adını verdikleri ilacın birçok mikroba öldürücü etkide bulunmasının keşfedilmesi bir devrim olmuştur (Gültekin,2004; Murray,1990; Schleifer,1987; Berzeg, 2005).

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antibiyotikler son 50 yılda son derece faydalı olmuşlar ve eskiden öldürücü olduğu bilinen pek çok hastalığın tedavisi için vazgeçilmez unsurlar haline gelmişlerdir. Ancak bu maddelerin uzun zaman ve bazen gereksiz yere kullanılmaları sonunda hastalık etkenlerinin ilaçlara karşı direnç kazanmaları son yıllarda çağdaş tıbbın en önemli problemi olarak ortaya çıkmıştır. Bugünkü bilgilerimiz, bakteri türlerindeki antibiyotik direncinin kemoterapi başlamadan önce de bulunduğunu göstermektedir. Dolayısıyla direnç ve gelişimi, genellikle yaygın ve gereksiz antibiyotik kullanımına rağmen, olasılıkla toprak ve suda bulunan mikroorganizmalar tarafından doğal antibiyotiklerin sentezlenmesi kadar eskidir (Berzeg, 2005).

Tarihteki ilk direnç mekanizması 1940'lı yılların ortalarında P yaygın biçimde kullanıma girmesi sonucu *S.aureus* suşlarında penisilinazların varlığıyla gösterilmiştir. 1946 yılı öncesi hastanede izole edilen *S.aureus* suşlarının %90'ından fazlası P duyarlıyken, 1952 yılında suşların %75'i dirençli olarak saptanmıştır.

Atmışlı yılların sonunda P dirençli suşların topluma yayılması ve tüm izolatların %90'ından fazlasının P direnç kazanması hayal kırıklığına neden olmuştur(Mollering, 1992). Takip eden yıllarda bulunan her yeni antibiyotiğin kullanıma girmesini takiben, belli bir süre sonra bakterilerin direnç geliştirmesi hemen hemen değişmez bir kural halini almıştır. Nitekim 1980'lerde geniş spektrumlu sefalosporinler ve 1990'larda ise florokinolonlar geliştirilmiş, ancak günümüzde *A.baumannii*, *B. cepacia*, *E. faecium* gibi bakteriler bu antibiyotiklere de direnç geliştirmişlerdir (Mollering,1992).

Çoklu antibiyotik direnci gösteren bakteriler, genellikle hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilirler. Hastaların immünsüpresyon, altta yatan ciddi hastalık, diyabet gibi predispozan faktörleri yanında; hastanede kalma süresi, cerrahi işlem veya instrümantasyon geçirmesi, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, özellikle yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) kalıyor olması direnç gelişimini tetikleyen faktörlerin başında gelmektedir (Mollering, 1992; Herwaldt ve Wenzel, 1995; Handwerger ve ark., 1993; Berzeg, 2005).

Enterokoklar, 1980'li yılların ortalarında, moleküler tanı ve tiplendirme yöntemlerinin bakteri tanımlama alanında da başarı ile kullanılmaları sonucunda ayrı bir cins olarak streptokoklardan ayrılmış, Enterococcus genusu olarak taksonomide yerlerini almışlardır. Gerek doğal olarak taşıdıkları klindamisin(DA),florokinolon, trimetoprim–sülfametoksazol(TPM-SXT), düşük düzey P ve düşük düzey aminoglikozid direnç özellikleri gerekse mutasyon ya da genetik madde aktarımı sonucu kazandıkları eritromisin(E), tetrasiklin(TE), kloramfenikol(C), rifampin(RF), nitrofurantoin(F), fusidik asit(FD), florokinolon, Vankomisin(VA) yüksek düzey aminoglikozid, yüksek düzey P direnç özellikleri ve beta-laktamaz aktiviteleri; her tür ortamda canlılıklarını sürdürebilme yeteneklerinden dolayı bu kommensal bakteriler nozokomiyal patojenler arasında hızla hak ettiği yerini almıştır.

İlk tanımlandıkları yıllarda hemen sadece endokardit olgu örneklerinde etken olarak tartışılan enterokoklar, günümüzde hastane enfeksiyonlarında giderek artan izolasyon oranları ve çoklu antibiyotik direnç özellikleri nedeni ile önemli ve sorunlu Gram-pozitif bakteriler arasında sayılmaya başlanmıştır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

Günümüzde dünyanın pek çok ülkesinde hastanelerde en çok korkulan patojenler olarak VA dirençli enterokoklar (VRE); metisiline dirençli stafilokoklar ve çoklu antibiyotik direnci gösteren Gram negatif basillerden önce gelmektedir. Enterokoklardaki VA direnci klinik olarak ilk kez 1988 yılında İngiltere'de tanımlanmış olup, hemen ardından Fransa ve ABD'den giderek artan sayıda bildirilmeye başlanmıştır (Coque ve Tomayko,1996). Ülkemizde ilk olarak 1997 yılında hasta dışkıları ve kanalizasyon su örnekleri ile yapılan çalışmada VRE saptanamamış, ilk VRE suşu 1998 yılında Akdeniz Üniversitesinden bildirilmiştir (Vural ve ark., 1999).

Bunu 1999 yılı içinde İstanbul Çapa Tıp Fakültesi ve Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nden bildirilen olgular izlemiş, 2003 yılı itibarı ile VRE sorunu ile karşılaşan merkez sayısı 10'u aşmıştır (Başustaoğlu ve ark., 2000).

Dirençli VA yeni patojenler çoğunlukla diğer antibiyotiklere de dirençli olduklarından tedavide sorunlar yaşanmaktadır. Sadece enterokoklar değil, diğer multirezistan Gram pozitif koklar için de geliştirilen quinupristin/dalfopristin, daptomycin(DAP), ramoplanin(RA), everninomicin(EV), linezolid(LZD) gibi yeni ajanlar ise; hastaya verilme güçlükleri veya toksisiteleri nedeniyle herşeyi tekrar gözden geçirip yeniden düşünmemizi gerekli kılmaktadır (Berzeg, 2005).

Biz bu çalışmamızda, çeşitli kliniklerdeki hastalardan izole ettiğimiz enterokok suşlarında antibiyotik duyarlılıklarını araştırdık. Amacımız enterokok suşlarının antibiyotik direnç paternini ortaya koymak, ampirik tedavi yaklaşımına yön vermek, aynı zamanda bu çalışmada bölgemizdeki son durum gözden geçirmektir.

2.GENEL BİLGİLER

Billroth 1874'te yara ve erizipel lezyonlarının cerahatli eksüdarında zincir yaparak üreyen kokları tanımlamış ve “*streptococcus*” olarak isimlendirmiştir. Rebecca Lancefield presipitasyon ve Griffith aglütinasyon yöntemleriyle streptokokların immünolojisini incelemişler ve 1933'te Lancefield, patojen streptokokları hücre duvarındaki karbonhidrat antijenlerine göre serolojik gruplara ayırmıştır. Yine Brown, kanlı agardaki hemoliz özelliklerine göre α , β , γ veya nonhemolitik olarak streptokokları sınıflamıştır. Sherman ise streptokokları; hemoliz, üreme derecesi ve özellikleri, biyokimyasal özellikleri ve antijen yapılarına göre, piyojen, laktik, viridans streptokoklar ve enterokoklar olarak 4 gruba ayırmıştır. Jones ise bu sınıflamayı geliştirerek, piyojen streptokoklar, oral streptokoklar, enterokoklar, laktik streptokoklar, anaerop streptokoklar ve diğer streptokoklar olarak gruplandırmıştır (Eliopoulos, 1990; Holt ve ark., 1994; Koneman ve ark., 2006).

Son yıllarda enterokokların üreme, biyokimyasal, antijenik, hastalandırıcılık ve genetik özelliklerinin gösterdiği ayırım nedeniyle *Enterococcus* olarak ayrı bir cins içinde toplanması uygun görülmüştür (Eliopoulos, 1990; Holt ve ark., 1994).

Son 20 yıldır metisilin direnci nedeniyle popüler bir mikroorganizma olan *S.aureus* yerini; hem doğal dirençli yapısıyla, hem de hospitalizasyon, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve yoğun bakım ünitesi ihtiyacındaki artışın beklenen sonucu olarak enterokoklara bırakmıştır. Bu haliyle enterokoklar, tıp dünyasının ana problemlerinden biri olmaya adaydır (Berzeg, 2005).

Tablo 2. 1. Bazı Gram Pozitif Kokların Özellikleri

GENUS	VAN	GAZ	LAP	ESKÜLİN	KATALAZ	%6.5 NACL ÜREME	10°C ÜREME	45°C ÜREME	HEMOLİZ	MOTİLİTE
<i>Enterococcus</i>	S-R	-	+	+	-	+	+	+	αβn	D
<i>Lactococcus</i>	S	-	+	+	-	D	+	D	α n	-
<i>Vagococcus</i>	S	-	+	+	-	+	+	D	α n	+
<i>Streptococcus</i>	S	-	+	D	-	D	-	D	αβn	-
<i>Abiotrophia</i>	S	-	+	-	-	-	D	-	α n	-
<i>Globicatella</i>	S	-	-	-	-	+	-	-	α	-
<i>Leuconostoc</i>	R	+	D	D	-	D	+	D	αn	-
<i>Pediococcus</i>	R	-	+	D	-	D	-	+	α	-

(Murray, 1998)

VAN:Vankomisin

GAZ:Glikozdan gaz oluşumu

LAP:Lösin amino peptitaz

D: Değişken

+: pozitif reaksiyon - : negatif reaksiyon

3. ENTEROKOKLAR

Enterokoklar *Streptococcaceae* familyası içinde yer alan katalaz negatif, Gram pozitif koklardır. *Streptococcus* cinsinden morfolojik olarak ayrılması güç olduğundan, 1980'li yıllara dek streptokok olarak sınıflandırılmış, taksonomik analizlerle ilgili genetik teknolojide kaydedilen gelişmeler sonucu, daha sonra içinde en az 12 türün bulunduğu ayrı bir cins olarak kabul edilmiştir.

Toprak, su, yiyeceklerde, insan ve hayvanların barsak, safra yolları, ağız ve bazen de derilerinde (özellikle perineal deri) normal florada bulunurlar. Uygun koşullarda insanlarda çeşitli enfeksiyonlara yol açarlar (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

Son yıllarda klinik olarak diğer streptokokların duyarlı olduğu antimikrobilyallere karşı dirençli olmaları nedeniyle, özellikle nozokomiyal patojen olarak klinik önemleri giderek artmaktadır (Unat, 1986; Moellering, 2000; Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Koneman ve ark., 2006; Sayiner, 2008).

Tablo 3.1. Streptokokların Ayrımı

Fakültatif Anaeroplur	Anaeroplur
<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Aerococcus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Pediococcus</i> <i>Gemella</i> <i>Alloiocococcus</i> <i>Vagococcus</i> <i>Tetragenococcus</i> <i>Globicatella</i> <i>Helcococcus</i>	<i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Coprococcus</i> <i>Sarcina</i>

(Bilgehan, 1995)

3.1.Sınıflandırma

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol:2, 1986)'de Gram pozitif koklar adı altında katalaz pozitif Micrococcaceae familyasından, katalaz negatif olmasıyla ayrılan Streptococcaceae familyası; anaerop ve fakültatif anaeroplur olarak (Tablo 3.1.) 2 grupta incelenir (Bilgehan, 1995; Koneman ve ark., 2000).

Gram pozitif kokların DNA-RNA hibridizasyonları, 16S-rRNA sıralarının analizi ve hücre duvar yapılarının incelenmesi yöntemleri ile yapılan sınıflandırma çalışmaları sonucu; 1991'de Bentley ve arkadaşları, daha sonra da Kawamuro ve

arkadaşlarının modifiye ettiği şekliyle Streptococcaceae familyası Gram pozitif; Streptococcus, Enterococcus ve Lactococcus cinsi olarak ayrılmıştır.

Streptococcus cinsi de 7 gruba ayrılmıştır. Piyojen koklar adı altında Lancefield A, B, C grubu streptokoklar da filogenetik olarak birlikte değerlendirilmiş, klasik olarak piyojen bir patojen olan *S.pneumoniae* genetik olarak daha yakın olduğu viridans streptokoklar içinde yer almıştır. *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Gemella*, *Alloiococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, *Globicatella* ve *Helcococcus* gibi türler “**Streptokok Benzeri Mikroorganizmalar**” grubu içine alınmıştır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Saymer, 2008).

Enterococcus cinsi içinde en az 12 tür bulunur. *E.faecalis*, *E.faecium*, *E.durans*, *E.avium*, *E.casseliflavus*, *E.malodoratus*, *E.gallinorum*, *E.hirae*, *E.mundtii*, *E.raffinosis*, *E.solitarius*, *E.pseudoavium* gibi kabul görmüş türlere *E.cecorum*, *E.columbae*, *E.saccharolyticus*, *E.dispar*, *E.sulfureus*, *E.seriolicida*, *E.flavecens* gibi yeni türler de katılmıştır (Moellering, 2000).

3.2.Morfoloji ve Kimyasal Özellikleri

Görünümleri genellikle Gram pozitif boyanan ikişerli ve oval diplokoklar veya kısa zincirler şeklinde olup pnömokokları andırırlar. Sıvı besiyerlerinde dipte çöküntü oluşturup, besiyerinde bulanıklık yapmaksızın ürerler (Berzeg, 2005, Karagöz, 2005; Saymer, 2008).

Enterokoklar dirençli bakterilerdir. Çoğu 60°C de 30 dk. ısıtmaya dayanırlar. Bu bakteriler soğuk ve nemli toprakta 12 hafta kadar canlı kalırlar.

Enterokokları izole etmek için eskulinli safralı azidli agar, kanamisinli eskulinli azidli agar, sitratlı azidli ve Tween-80 li karbonatlı agar, talyum asetatlı agar ve kristal viyoleli azidli agar gibi spesifik (özgül) besiyerleri kullanılır (Unat,1986).

Sitokrom enzimi içermediklerinden katalaz aktiviteleri yoktur. Ancak *E.faecalis* kan içeren besiyerlerinde üretiliğinde bazen zayıf bir yalancı katalaz reaksiyonu gözlenebilir. Enterokoklar fakültatif anaeropturlar. pH 9,6 da 10-45°C %6,5'luk NaCl varlığında üreyebilirler. %40 safralı ortamda iken eskulini hidrolize eder, *E.cecorum*, *E.columbae*, *E.saccharolyticus* hariç L-pyrolidonyl arilamidaz (PYR) yapabilirler. Bu reaksiyon onları grup A dışı streptokoklar, *Leuconostoc* ve *Pediococcus*'dan ayırmada önemlidir (Unat, 1986; Bilgehan, 1995; Korten, 1997; Koneman ve ark., 2000; Moellering, 2000).

3.3.Bazı enterokok türlerinin özellikleri:

***E. faecalis*:** Gastrointestinal flora üyesidir. Ağız, hepatobiliyer sistem ve vajinadan da izole edilmiştir. İnsan kaynaklı enfeksiyonlar dan en sık sorumlu tutulan türdür. Ayrıca çeşitli hayvanlarda da bulunur. Üriner enfeksiyon ayrıca yara, periton sıvısı, derin pelvik apse, endokardit ve kan kültürlerinden izole edilmiştir. Beta hemolitiklidir, % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6 da ürer (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E. faecium: İnsan ve sığırların gastrointestinal sisteminde bulunur. Yiyecek, sebze ve yemlerden de izole edilmiştir. İki biyotipi vardır. *E.faecalis*'e göre antimikrobiyallere daha rezistandır. Alfa hemolitikdir, %6,5'luk NaCl ve pH 9,6 da ürer (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E. durans: Süt ve kuru gıdadan izole edilmiştir. İnsan ve hayvanda nadiren, barsak ve üriner sistemden izole edilmiştir. Alfa hemolitikdir, %6,5'luk NaCl ve pH 9,6 da ürer; ancak 50°C de üremez (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E. avium: Kuşlar, tavuk, köpek gibi hayvanlardan izole edilmiştir. İnsan gastrointestinal sistem florasının da bir parçasıdır. Apendisit, otit ve beyin apselerinden izole edilmiştir. Alfa hemolitikdir, %6,5'luk NaCl'de üremesi zayıftır. H₂S üretir, pigment yapmaz (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E. casseliflavus: Bitki ve toprakta bulunur. VA dirençlidir. Fırsatçı insan enfeksiyonları yapar, %6,5'luk NaCl ve pH 9,6 da ürer. Hareketlidir, sarı pigment yapar (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E.gallinorum: Evcil kuşların gastrointestinal sisteminde bulunur. İnsanda hemodiyalizli bir hastadan izole edilmiştir. VA dirençlidir. Koyun kanlı agarda nonhemolitikdir. At kanlı agarda beta hemoliz yapabilir, %6,5'luk NaCl ve pH 9,6 da ürer. Hareketlidir, pigment yapmaz (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

E. hirae: Domuz ve tavuklarda bulunur. Önceden atipik *E.faecium* sanılırdı. Hemoliz yapmaz. 10-45 °C arasında üreyebilir, %6,5'luk NaCl ve pH 9,6 da ürer (Barrie ve ark., 1990; Chenoweth ve Schaberg,1990; Eliopouls,1990; Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

3.4.Virulans ve Patojeniteleri

Enterokokların insanda patojenitelerine katkıda bulunan faktörler hakkındaki bilgiler kısıtlıdır. Ancak yine de yapılan epidemiyolojik çalışmalarla enterokokal bakteriyemili hastalarda mortalitenin %31–37 arasında olduğu gösterilmiştir. Buna rağmen enterokoklar intrinsik olarak *S.aureus* gibi virulan bakteriler değildir. Orofarinkse kolonize oldukları halde nadiren alt solunum yolu enfeksiyonu yaparlar (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

Çoğu enterokokta da klasik virulans faktörleri yoktur. İntrinsik antimikrobik dirençleri, antibiyotik tedavisi altındaki hastalarda yaşamalarına ve çoğalmalarına izin verir. Bu sebeple geniş spektrumlu antibiyotik kullanan hastalarda süper enfeksiyonlara yol açarlar (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

Enterokoklar kalp kapakçıkları ve renal epitel hücrelerine yapışabilme özelliklerinden dolayı, endokardit ve üriner sistem enfeksiyonları yaparlar. Agregasyon substansı denilen ve plazmidle kodlanan bir protein, mikroorganizmanın kümeleşmesine ve böylece plazmid aktarımının artmasına yol açtığı gibi, deneysel endokardit modellerinde kardiyak vejetasyonlara ve renal-intestinal epitele

adheransta rol oynadığı sanılmaktadır (Murray, 1998; Mollering, 2000; Koneman ve ark., 2006).

Yine birçok araştırmacı özellikle *E.faecalis* ve bazı *E.faecium* suşları tarafından salınan; insan, tavşan, sığır ve at eritrositlerine karşı hemolizi aktive eden plazmid aracılı hemolizinlerin virulansta önemli rolü olduğunu öne sürmüştür. Yine bu hemolizinlerin deneysel enfeksiyon modellerinde letalite ve toksisiteyi arttırdığı ve nozokomiyal bakteriyemi sonrası ani ölüm riskini 5 kat arttırdığı gösterilmiştir (Huycke ve Sahm, 1998; Mollering, 2000; Koneman, ve ark., 2006).

Enterokoklar komplike üriner enfeksiyonlar, bakteriyemi, endokardit, intra abdominal ve pelvik enfeksiyonlar, yara ve yumuşak doku enfeksiyonları, yenidoğan sepsisi, nadiren menenjit yaparlar. Sistit, piyelonefrit, prostatit ve perinefrik apselerle ilişkilidirler (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005). Bu enfeksiyonların çoğu nozokomiyal kaynaklı, yapısal anomali veya üriner instrmentasyon zemininde gelişir. Bakteriyemi gelişiminde immünsüpresyon veya prematürite, malignite ve derin yerleşimli enfeksiyonlar (sekonder infekte dekübit yarası gibi) intestinal, genitoüriner veya respiratuvar sistem girişimleri, uzun süreli hospitalizasyon ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı gibi düşkünlüğe yol açacak durumlar rol oynar (Koneman ve ark., 2006).

Etken genellikle damar yatağına üriner sistemden, intraabdominal veya pelvik sepsis, yaralar, dekübit ülserleri ve İV yollardan ulaşır. Enterokoklar endokarditlerin %5-20'sini oluşturur ve prostetik kapak endokarditinin beşinci sıradaki sorumlusudur (Koneman ve ark., 2006).

İntraabdominal ve pelvik enfeksiyonlarda enterokoklar genellikle diğer aerop ve anaerop etkenlerle karma enfeksiyonlara yol açarlar. Saf spontan enterokokal peritonit ve periton diyalizi ile ilişkili enterokokal peritonit de rapor edilmiştir (Moellering, 2000; Koneman ve ark., 2006).

3.4.1.Epidemiyoloji

İnsanlarda barsak florasının bir parçası olduğundan enterokoklar toplum ve hastane kökenli enfeksiyonlar yapabilirler. Geleneksel olarak enterokoklarla meydana gelen enfeksiyonların çoğunda etkenin hastanın kendi florasından kaynaklandığı düşünülür. Buna rağmen pek çok hospitalize hastada veya örneğin periton ya da hemodiyaliz yapılan tedavi altındaki hastalarda da enfeksiyon gelişir. Bu tip enfeksiyonlarda etkenin sıklıkla eksojen kaynaklı olduğu sanılır. Hastadan hastaya bulaşmada kesin bir yol yoktur. Nozokomiyal enfeksiyon yapan enterokoklar bazen hastane personelinin ellerinden ve sıklıkla da hastane içi çevresel kaynaklardan izole edilmiştir (Moellering, 2000).

Amerika Birleşik Devletleri'nde 1994'te bir VRE salgını sırasında Boyce ve arkadaşları IV pompalar EKG monitörleri, hasta yatağı tabelaları, tansiyon ölçme aletleri, steteskoplar ve banyolardan kültür çalışması yapmışlar ve VRE ile infekte bir hasta odasında kalmış olan turnikedeki mikroorganizmayı hasta çıktıktan dört gün sonraya değin tespit etmişlerdir (Stosor ve ark.,1996; Unal S,1993). Rezistan mikroorganizmalar hastada enfeksiyon oluşturmadan önce hasta veya hastane personelinin intestinal sisteminde nadiren de deri, perinesinde kolonize olur.

Etken bir kez kolonize olduktan sonra aylarca kalabilir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

Son yıllarda ABD’de enterokoklar nozokomiyal üriner sistemle yara enfeksiyonu etkenleri arasında ikinci sırada, nozokomiyal bakteriyemi etkenleri arasında da üçüncü sırada yer almışlardır (Schaberg ve ark., 1991).

3.5.Klinik Enfeksiyonlar

Enterokoklar içinde enfeksiyon etkeni olarak en sık saptanan tür *E.faecalis*’tir. *E.faecium* 2. sıklıkta yer alır ancak, antimikrobiklere daha dirençli bir türdür. Diğer enterokoklar nadiren insanda enfeksiyon yaparlar (Bilgehan,1995; Koneman ve ark., 2000; Moellering, 2000).

3.5.1.Üriner Enfeksiyonlar

Enterokoklarla en sık meydana gelen enfeksiyonlardır. Komplike olmayan sistit, pyelonefrit yanında prostatit ve perinefritik abse yapabilirler. Çoğu üriner enfeksiyon nozokomiyaldir veya üriner kateterizasyon gibi instrümantasyonla ilişkilidir. Sıklığı giderek artmaktadır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner ,2008).

3.5.2.Bakteriyemi ve Endokardit

Çoğu enterokokal bakteriyemi endokarditle beraberdir. Endokardit sıklığı, toplumdan edinilmiş bakteriyemilerde nozokomiyal bakteriyemilerden daha sıktır. Çünkü nozokomiyal bakteriyemiler genellikle polimikrobiyal olup endokardit daha az gelişir. Bakteriyemi giriş yeri üriner yol, intraabdominal veya pelvik sepsis, yara yeri; İV/İA kateterler veya kolanjit olabilir. Enterokokal bakteriyemide metastatik enfeksiyonlar endokardit hariç nadirdir. Genelde bu bakteriyemi, mortalitesi yüksek hastalarda geliştiğinden bakteriyemiye bağlı mortalite riski tahmin edilemez. Ama enterokokal bakteriyemi genellikle geçici ve kendi kendini sınırlayıcıdır. Enterokoklar tüm infektif endokarditlerin %5-15'inden sorumludur. Çoğu *E.faecalis* ile olur. Ancak *E.faecium*, *E.avium*, *E.casseliflavus*, *E.durans*, *E.gallinorum*, *E.raffinorum* da izole edilmiştir. Enterokoklar hasarlı kalp kapaklarına tutunabildiği gibi normal kapakçığı da tutabilirler (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

3.5.3.İntraabdominal ve Pelvik Enfeksiyonlar

Enterokoklar sıklıkla intraabdominal ve pelvik enfeksiyonların aerob ve anaerob florası içindedir. *E.coli* ve *B.fragilis*'ten daha az sıklıkta gastrointestinal kaynaklı bakteriyemi yaparlar. Siroz veya nefrotik sendromlu hastalarda spontan bakteriyel peritonitli ve periton diyalizi yapılanlarda da peritonite neden olurlar. Saf enterokokal peritonit bazen abdominal cerrahi veya travma komplikasyonu olabilir. Enterokoklar ayrıca endometrit, veya akut salpenjit komplikasyonu olarak bakteriyemi ve abse yapabilirler (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

3.5.4.Yara ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Tek başına enterokokal yara ve yumuşak doku enfeksiyonu pek görülmez. Cerrahi yara, dekübit ülseri, diyabetik ayak enfeksiyonlarının etken üyesidirler. Kronik osteomyelitlilerde de görülebilir ancak, burada saptanması genellikle primer enfeksiyonu göstermez, süper enfeksiyonu gösterir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

3.5.5.Menenjit

Enterokoklar nadiren menenjit yapar. Genellikle anatomik SSS defektliler, geçirilmiş nöroşirurjikal cerrahi, kafa travması sonrası gelişir. AIDS, akut lösemi gibi immünsüpresyonu olanlarda bakteriyemi komplikasyonu olabilir. Yenidoğan sepsisinde de enterokokal menenjit görülebilir. Çoğunda BOS lökosit sayısı milimetreküpte iki yüzün altındadır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

3.5.6.Solunum Yolu Enfeksiyonları

Bu tip enfeksiyonların giderek sıklığı artmaktadır. Altta yatan hastalığı, olan ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan, enterik beslenen hastalarda enterokoklar nadiren pnömoni yaparlar (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

3.5.7. Neonatal Sepsis

Enterokokal sepsis ateş, letarji, solunum güçlüğü ve beraberinde bakteriyemi ve/veya menenjit varlığı şeklinde seyreder. Genellikle prematürite veya düşük doğum ağırlıklı, nazogastrik sondalı veya İV kateteri olan yenidoğanda görülür (Unat, 1986; Bilgehan, 1995; Koneman ve ark., 2000; Moellering, 2000).

3.6. Antimikrobiyal Duyarlılık ve Rezistans

Enterokoklar diğer Gram pozitif mikroorganizmaların duyarlı olduğu pek çok antimikrobiyal ajana kısmen veya tamamen dirençlidir. Hiç bir antibiyotik tek başına enterokoklara karşı bakterisid etkiye sahip değildir.

Düşük düzeyli aminoglikozit, beta laktam, düşük düzeyli linkozamid, TMP-SMX'e karşı intrinsik dirençli iken; yüksek düzeyde aminoglikozid, beta laktam, hücre duvarına etkili ajanlar, kinolonlar, yüksek düzeyli linkozamid, makrolid, P ve AMP, RF ,TE ve VA kazanılmış olarak direnç geliştirebilir. Ayrıca çoğu enterokok suşu AMP ve VA dahil hücre duvarına etkili antimikrobiyallerin öldürücü etkilerine karşı tolerans gösterir. Bu intrinsik değil genellikle antibiyotik kullanımı sonrası kazanılmış bir özelliktir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

Dünyanın çeşitli yerlerinde yüksek oranlarda, özellikle *E.faecium*'da AMP, P ve VA direnci mevcuttur. Enterokok popülasyonları dahil çoğu enterokok, beta laktam ajanlara karşı özellikle PBP5'e karşı azalmış affinite sonucu kısmen rezistans

gösterir. Genellikle sefalosporinler enterokoklara penisilinlerden daha az etkilidir. Özellikle *E.faecium*'da *E.faecalis*'e göre intrinsik P direncinde bariz artış gözlenmektedir. *E.faecalis* için P MIC değeri diğer streptokoklardan 10–100 kat daha yüksektir. İntrinsik aminoglikozid direnci ise bu ajanların enterokokal dış hücre zarından penetrasyonlarındaki azalmaya bağlıdır. Bu, hücre duvarına etkili uygun bir ajanın verilmesiyle sinerjistik olarak enterokokun öldürülmesiyle önlenebilir. TMP-SMX invitro duyarlı iken invivo dirençlidir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005).

Enterokoklar arasında kazanılmış direnç genellikle genetik olarak plazmid veya transpozonlar aracılığıyla aktarılır. Bunlar arasında en önemlisi yüksek düzeyde aminoglikozid direnci (YDAD), glikopeptid direnci, beta laktamaz yapımı veya diğer mekanizmalarla gelişen yüksek P direncidir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005).

Günümüzde enterokokların çoğu kazanılmış direnç yoluyla E, DA ve TE dirençlidir. Yüksek düzeyde aminoglikozid direnci plazmid aracılı aminoglikozid modifiye eden enzim üretimiyle veya ribozomal mutasyonla (sadece streptomisin için) olur. YDAD, 2000 mcg/ml.'nin üzerinde MIC değerleri olarak tanımlanır ve hücre duvarına etkili ajanlarla kombinasyonda ortaya çıkan sinerjistik etkinin kaybolmasına yol açar. Streptomisine(S) ve kanamisine(KA) karşı YDAD daha yaygındır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

Gentamisine(CN) karşı YDAD saptandığında bu, S dışında hiçbir aminoglikozidin kullanılamıyacağı anlamına gelir. Bu nedenle gerekli durumlarda sadece bu iki ajanın test edilmesi yeterlidir. 1980'li yılların başında yer yer saptanmış olan beta laktamaz yapımı hala yaygınlık kazanmamıştır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

Diğer mekanizmalarla gelişen yüksek düzeyde P direncinden affinitesi azalmış PBP'ler sorumlu olup, bu tarz direnç özellikle *E.faecium*'da artmaktadır. Bu direnç sinerjistik etkinin kaybolmasına yolaçmaktadır.1980'li yıllardan itibaren ortaya çıkan glikopeptid direncinin ise, 6 fenotipi vardır. (van A, B, C, D, E,G)

3.6.1.Van A tipi direnç:

Tüm glikopeptid direnç tipleri arasında en ayrıntılı olarak incelenmiş olanıdır. VanA izolatları hem VA (MIC64 ug/ml) hem de TEC (MIC16 ug/ml) yüksek düzeyde dirençlidir. Bu dirençten esas olarak Tn1546 transpozonu ve bu transpozonla ilişkili elemanlar Tn5482 üzerinde taşınan VanA gen kümesi sorumludur. VanA gen kümesinin hem transfer edilebilen hem de transfer edilemeyen plazmidler ve bakteriyel kromozomlar üzerinde bulunabildiği bildirilmiştir. VanA geni esas olarak *E. faecium*'da tanımlanmıştır. Ancak basta *E. faecalis* olmak üzere, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. avium*, *E. mundtii*, *E. casseliflavus*, *E. raffinosus* ve enterokok dışı bazı türlerde bulunduğu gösterilmiştir (Çetinkaya, 2000; Rice, 2001; Sayiner, 2008; Toğay ve ark.,2010).

Tn 1546 transpozonu 9 ayrı gen içermektedir. Bu genlerden ikisi tranpozaz ve rezolvaz aktivitesi gösterir (Toğay ve ark.,2010). Bu iki gen Tn1546' nın transpozisyonundan, transpozon üzerindeki diğer genler (VanR, VanS, VanH, VanA, VanX, VanY, VanZ) ise glikopeptid direncinden sorumludur. Bu genler *E. faecium*'da plazmid üzerindedir. VanR ve VanS iki komponentli bir regülatör sistem oluşturur. VanS glikopeptidlerin ortamdaki varlığı veya etkileri ile ilişkili sinyali saptayarak sinyali iletir. Buna bağlı olarak VanR kendi promoter bölgesini ve VanH,

VanA, VanX promoter bölgesini aktive eder. Bu aktivasyon sonucunda VanH, VanA ve VanX genlerinin transkripsiyonu gerçekleşir. VanH bir dehidrogenazdır ve pruvatu D-laktata redükteeder. VanA ligaz D-laktatı D-ala-D-Lac sentezi için kullanır. Ancak VA duyarlı olan normal D-ala-D-ala prekürsörü, ortamda bulunduğu sürece D-ala-D-Lac sentezi yüksek düzeyde VA direnci oluşturmak için yeterli değildir. VanX bir D,D-dipeptidazdır ve ortamda bulunan D-ala-D-ala'nın hidrolizinden sorumludur. VanY ise bir D, Dekarboksipeptidazdır ve görevi pentapeptid prekürsörlerin D-ala terminalini uzaklaştırmaktır (Çetinkaya, 2000; Rice, 2001; Sayiner, 2008; Toğay ve ark., 2010). Geride kalan VA ve TEC tetrapeptid prekürsör için afinitesi düşüktür. Bütün bu basamaklar sayesinde hücre duvarının glikopeptid antibiyotikler varlığında bile devam etmesi sağlanır. VanZ'nin VA direncindeki rolü tam olarak bilinmemekte, TEC direncinde rolü olduğu düşünülmektedir. Ancak mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Çetinkaya, 2000; Rice, 2001; Sayiner, 2008; Toğay ve ark., 2010).

VanZ, VanA fenotipinin ekspresyonu için mutlak gerekli değildir (Çetinkaya, 2000; Rice, 2001). Ündüklenebilir VanA direncinde yalnızca VA varlığında oluşan PBP'lerin artışı sonucunda beta-laktam antibiyotiklere karşı hipersensitivite meydana gelir. VA dirençli enterokokların tedavisinde VA beta-laktam kombinasyonunun başarısını açıklamaktadır (Başustaoğlu, 2004; Sayiner, 2008).

3.6.2. Van B tipi direnç:

Enterokoklarda VanB tipi glikopeptid direnci VanA ligaza yapısal benzerlik gösteren VanB ligaz ile oluşur. VanB proteini yine D-ala-D-ala-Lac pentapeptidinin oluşumuna neden olur. Kromozomal yerleşimlidir. Ancak Tn1547, Tn5382 transpozonu ve plazmidler üzerinde de taşınarak transfer edilebildiği de bildirilmiştir. VanB tipi direnç taşıyan enterokok izolatları VA değişken düzeyde direnç gösterirken (MIC=4->1000 ug/ml), TEC duyarlıdır. VanB tipi direnç esas olarak *E. faecalis* ve *E. faecium* da tanımlanmıştır. Buna ek olarak nadiren *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* ve enterokok dışı bazı türlerin de VanB gen kümesi taşıdığı bildirilmiştir. VanB gen kümesinde bulunan 6 gen VanA kümesindeki genlerle homoloji gösterir. VanA gen kümesinden farklı olarak VanB gen kümesinde VanZ'nin karşılığı yoktur (Toğay ve ark.,2010). VanB gen kümesinde görevi tam olarak anlaşılamayan VanW geni mevcuttur. VanRB - VanSB sistemi VA tarafından indüklenir ancak TEC tarafından indüklenmez. Bu nedenle VanB tipi direnç taşıyan suşlar TEC'e duyarlıdır. VanB izolatlarının VA tarafından indüklenmesi sonucunda TEC'e de direnç geliştiği bildirilmiştir. Ayrıca bu suşlarda glikopeptid tedavisi altında TEC direnci geliştiği de gösterilmiştir (Çetinkaya, 2000; Rice, 2001; Sayner, 2008; Toğay ve ark.,2010).

3.6.3. Van C tipi direnç:

VanC direnç fenotipinin özelliği VAe düşük düzeyde dirençli TEC'e ise duyarlı olmasıdır. VanC tipi direnç, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ve *E. Flavescens* suşlarında görülen intrensek bir direnç türüdür. Bu suşlarda hemen her zaman VanC geni bulunmasına rağmen VA için MIC değeri genellikle 8-16 ug/ml arasındadır.

(intermediate). Bu direnç fenotipinin VanC-1, VanC-2 ve VanC-3 olmak üzere üç alt tipi bulunmaktadır ve genlerin türe spesifik olduğu düşünülmektedir. VanC-1 *E.gallinarum'* da, VanC-2 *E.casseliflavus'ta*, VanC-3 ise *E. flavescens'te* daha sıktır. *E. casseliflavus* ile *E. flavescens'* in yüksek olasılıkla aynı türü temsil ettiği kabul edilmektedir ve VanC-2 ile VanC-3ün %98 oranında benzer olduğu gösterilmiştir. VanC-1, VanC-2 / VanC-3 ile %73, VanA veya VanB ile %37-39 oranında benzerlik gösterir. Kromozom üzerinde lokalize olan VanC operonu beş genden oluşmaktadır. VanH ve VanHB nin homoloğu olan VanT hücre zarına bağlı bir serinrasemaz enziminin kodlanmasından ve D-Ser sentezinden sorumludur. VanC gen kümesinde VanXYC, dipeptidaz ve karboksipeptidaz enzimlerini kodlar. VanRC ve VanSC nin VA dirençli enterokokların tedavisinde VA - beta - laktam kombinasyonunun başarısını açıklamaktadır (Başustaoğlu;2004; Sayiner, 2008; Toğay ve ark.,2010).

3.6.4.Van D tipi direnç:

Az sayıda VanD, *E. faecium* suşunda tanımlanmış yeni bir direnç tipidir. VanD geni kromozomal bir lokalizasyona sahiptir ve konjugasyonla transfer edilemediği bilinmektedir. VanD tipi direnç taşıyan suşlar hem VA (MIC=64-256 ug/ml) hem de TEC (MIC=4-32 ug/ml) dirençlidir. *E. faecium* BM4339 üzerinde yapılan çalışmalar, VanD direnci taşıyan suşlarda majör peptidoglikan prekürsörünün D-lac ile biten bir pentadepsipeptid olduğunu, D-ala ile biten normal pentapeptid sentezinin minimum düzeyde olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalar ışığında direnç mekanizmasının VanA ve VanB ye benzer olduğu düşünülmektedir. Ancak VanD suşlarında D,D-dipeptidaz aktivitesi saptanmamıştır, karboksipeptidaz aktivitesi ise düşük düzeydedir. D,D-dipeptidaz aktivitesi bulunmamasına rağmen VanD gen kümesi VanXD, VanRD, VanSD, VanHD genlerini içermektedir (Başustaoğlu;2004; Sayiner, 2008; Toğay ve ark.,2010).

3.6.5. Van E tipi direnç:

Bu direnç tipi bir ilk olarak *E. faecalis* suşunda tanımlanmıştır. Tipik olarak VA'e düşük düzeyde dirençli (MIC=16 ug/ml), TEC ise duyarlıdır (MIC=0,5 ug/ml). VanE geni kromozom üzerinde lokalizedir ve transfer edilemediği bilinmektedir. VA direnci D-ala-D-ser ile sonlanan peptidoglikan prekürsörlerinin sentezi ile ilişkilidir. VanC tipi dirence benzemekle birlikte VanE tipi direncin genetik belirleyicisi farklıdır ve intrinsek bir direnç tipi değildir (Başustaoğlu,2004; Sayiner, 2008; Toğay ve ark.,2010).

3.6.6. Van G tipi direnç:

VanG tipi direnç ilk olarak *E. faecalis* WCH9 suşunda tanımlanmıştır. Tipik olarak VA düşük düzeyde (MIC=16 ug/ml) direnç gözlenirken, TEC duyarlıdır (MIC=0,5ug/ml). Dirençten VanG geni sorumludur. Nadir görülen bir direnç tipi olup transfer edilemez (Başustaoğlu,2004; Sayiner, 2008; Toğay ve ark.,2010).

Hastanelerin özellikle yoğun bakım ünitelerinde tüm türlerde VRE oranı %20'lere dek artmaktadır. VRE kolonizasyon veya enfeksiyonuna predispozan faktörler; hastane ortamında antimikrobiyal tedavi alma süresi, İV VA kullanımı, altta yatan ciddi hastalık varlığı, immünsüpresyon ve abdominal cerrahi geçirmiş olmak gibi faktörlerdir. Bulgular hastane personelinin elleri vasıtasıyla bulaşmayı düşündürmektedir. Hastanın gastrointestinal sisteminin kolonizasyonu da enfeksiyonda önemli bir faktördür (Unal S,1993; Stosor ve ark., 1996; Korten,

1996; Murray, 1998; Huycke ve ark., 1998; Mollering, 2000, Gültekin ve Günseren, 2000; Scott, 2000; Koneman ve ark., 2006).

Tablo 3.6.1 Enterokoklarda Glikopeptit Direnci

KARAKTER	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE	VanG
Peptidoglikan prekürsörün sonlanması	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Lac	D-Ala-DSer	D-Ala-DSer
VA (MIC Değeri)	64 - >1000	4 - >1000	2--32	16--64	16	16
TEC (MIC Değeri)	16—512	0.5 - >32	0.5 – 1	2--4	0.5	0.5
Ligaz geni	vanA	vanB	vanC-1 ve vanC-2/ vanC3	vanD	vanE	vanG
Direnç genlerinin doğada bulunduğu bakteriler	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. gallium</i> <i>E. durans</i> <i>E. mundtii</i> <i>E. avium</i> <i>E. casseliflavus</i>	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>

(Sayiner,2008; Toğay ve ark., 2010)

3.7.Tanı

Enterokok türlerinin tanısı biyokimyasal ve fizyolojik testlerle konur. Enterokokların sadece %80'i Lancefield Grup D antijenine karşı hazırlanan antiserumla reaksiyon verir. Buna rağmen çoğu enterokok safralı ortamda eskulini hidrolize eder, %6,5'luk NaCl buvyonunda ürer, PYR pozitifdir. Klinik materyallerden en çok izole edilen 2 tür *E.faecalis* ve *E.faecium*'dur.

Facklam ve Collins, enterokok identifikasyonu için bir bapak yöntemi geliştirmişlerdir. Enterokokları mannitol ve sorbitol sıvı besiyerinde asit yapımına ve arginin hidrolizine göre beş gruba ayırmışlardır.

Grup 1: *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. pallens*, *E. gilvus*'dan oluşur. Bu türler mannitol, sorbitol ve sorboz sıvı besiyerinde asit oluşturur, ancak arginini hidrolize etmezler (Koneman ve ark., 2006).

Grup 2: *E.faecalis*, *E. faecium*, *E.casseliflavus*, *E. haemoperoxidus*, *E.mundtii* ve *E.gallinorum*'dan oluşur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize ederler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler ((Koneman ve ark., 2006).

Grup 3: *E. villorum*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. hiraе*, *E. ratti* ve *E. faecalis* ile *E. faecium*'un mannitol negatif varyantları bu grubu oluşturur. Bu gruptaki türler D antijeni içermez, arginini hidrolize ederler, fakat mannitol, sorboz ve sorbitol içeren sıvı besiyerlerinin hiçbirisinde asit oluşturmazlar (Koneman ve ark., 2006).

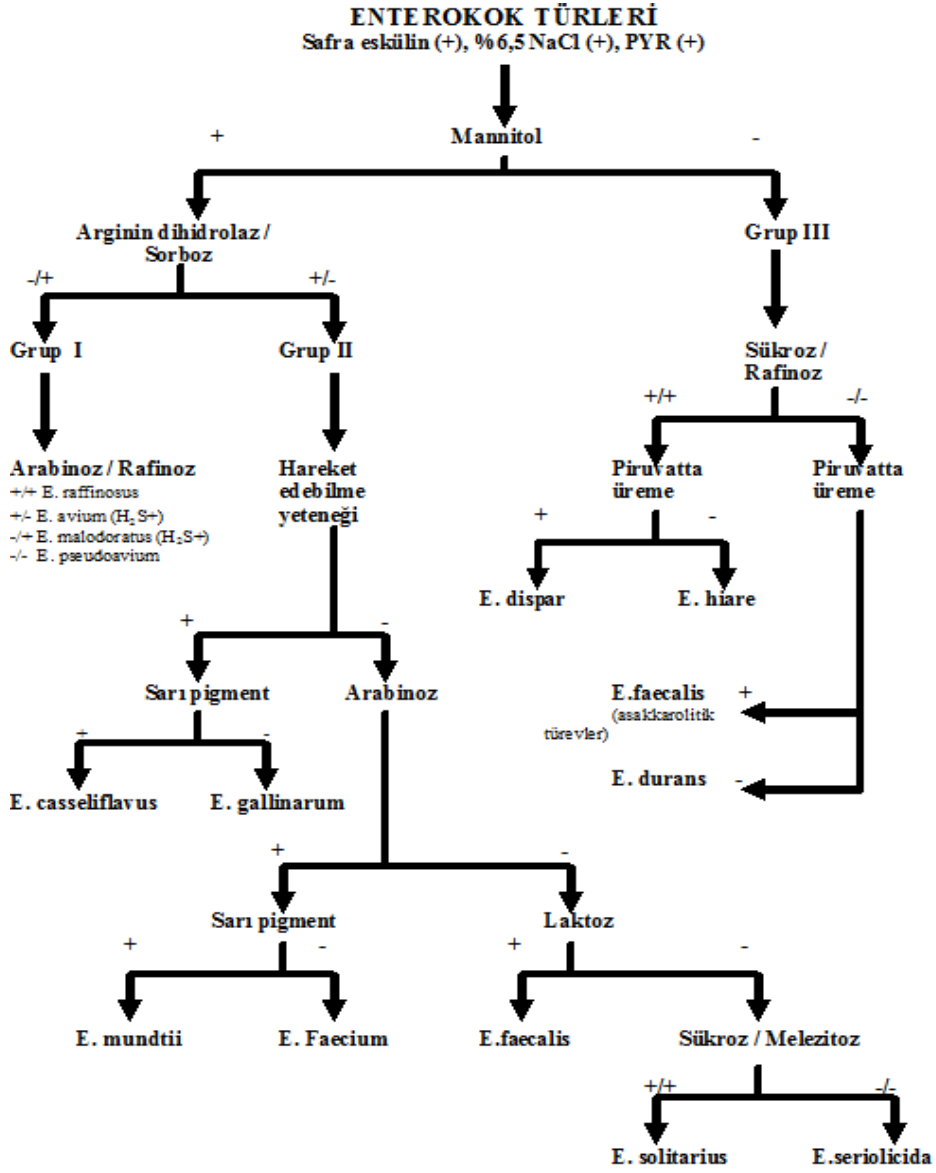
Grup 4: *E. sulfurens*, *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve *E. cecorum* bu grupta bulunmaktadır. Bu gruptaki türler mannitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arginini hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E. cecorum* asit oluştururken, *E. sulfureus* asit oluşturmaz (Koneman ve ark., 2006).

Grup 5: *E. columbae*, *E. canis*, *E. moraviensis* bu grupta bulunur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize etmezler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler (Koneman ve ark., 2006).

Arginin deaminasyonu için Moeller'in dekarboksilaz besiyeri, hareket için ise yarı katı besiyeri kullanılır. Herhangi bir kanlı agar da enterokok üretmek için kullanılabilir.

Ford ve arkadaşları epidemiyolojik çalışmalarda *E. faecium*'un gaitadan izolasyonu için Sefalekssin-Aztreonam-Arabinoz agarı (CCA agar) geliştirmişlerdir. Gram negatif bakteri içeren karışık klinik örneklerden izolasyon için azid içeren Safra-eskulin-azid veya Enterococcosel agar kullanılır. CNA (Columbia kolistin-nalidiksik azid agar) veya PEA (fenil etilalkol agar) da bu amaçla kullanılabilir. VRE tespiti içinse genellikle 6mcg/ml VA içeren Enterococcosel sıvı besiyeri veya BHI agar kullanılır. Çoğu laboratuvar identifikasyon için hızlı kit sistemlerini kullanmaktadır. (API Rapid System, RAPID ID32 System, RAPID STR, VITEK Gram Pozitif İdentifikasyon (GPI) Kartları, Micro Scan G pozitif Breakpoint Combo Panel gibi.) Enterokok türlerinin genetik ve moleküler yöntemlerle identifikasyonunda DNA hibridizasyon, ribotipleme, pulsed field jel elektroforezi (PGFE), PCR gibi yöntemler kullanılır. Bunlar arasında en faydalı ve güvenilir metod PGFE'dir (Facklam ve ark.,1999; Koneman ve ark.,2006; Sayiner, 2008).

Tablo 3.7.1. Enterekokların idenfikasyonu



(Koneman ve ark., 2006)

3.8.Tedavi

Enterokokal enfeksiyonların tedavisi, hem bu mikroorganizmaların klasik antibiyotiklere dirençli olduklarından, hem de laboratuvarlarda gerçek ve doğru duyarlılıklarının saptanması için spesifik yöntemlere ihtiyaç duyulmasından dolayı, karışık ve zordur. Standart duyarlılık testleriyle penisilin-aminoglikozid sinerjisi, betalaktamaz üreten suşların P ve AMP direnci tahmin edilemez. Bu yüzden laboratuvarlar YDAD ve beta laktamaz varlığı açısından etkeni test etmelidir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Saymer, 2008).

Enterokoklara P veya AMP gibi bakteriyostatik etkili antibiyotikler, bakterisid tedavinin gerekmediği üriner enfeksiyon, peritonit, yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçilecek ajanlar olmaya devam etmektedir. Glikopeptidler, P allerjisi varlığında veya *E.faecium* gibi yüksek düzeyde P direnci olan suşlarda tercih edilir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Saymer, 2008).

CİP ve ofloksasin(OF) gibi kinolonlar, enterokoklara invitro etkili olup bazı üriner enfeksiyonlarda kullanılırlarsa da genelde etkilerine güvenilmez ve sistemik enfeksiyonlarda ilk tercih edilecek ajanlar değildir. Zaten CİP direnci de giderek artmaktadır. Sparfloksasin, levofloksasin, grepofloksasin, travofloksasin gibi yeni kinolonların dirençli suşlarda etkinlikleri sınırlıdır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Saymer, 2008).

Enterokoklar sıklıkla karma intraabdominal enfeksiyonlardan izole edilmektedir ancak, antienterokokal etkisi olmayan ilaçlarla yapılan tedaviler başarılı olmaktadır. Bu yüzden başlangıçta spesifik antienterokokal antibiyotikler önerilmez.

Klinik düzelme olmayıp inatçı kültür pozitifliği olan olgularda spesifik tedavi uygulanır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Koneman ve ark., 2006; Sayiner, 2008)

Enterokokal endokardit ve diğer ciddi sistemik enfeksiyonların tedavisi klinikte sorun yaratmaktadır. Enterokokal endokardit ve hatta menenjitte kombinasyon tedavisi en uygun tedavi olduğu halde saf bakteriyemide şart olmayabilir. Enterokal endokarditin standart tedavisi, P, AMP veya VA gibi hücre duvarına etkili bir ajanla S veya CN gibi bir aminoglikozidin kombinasyonudur (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Koneman ve ark., 2006; Sayiner, 2008).

Bu iki grup ajan birlikte sinerjistik etki gösterir. P monoterapisi relaplara yol açar. Bu konuda kontrollü bir klinik çalışma olmasa da enterokoklar, endokardit veya menenjit olgularında P veya VA öldürücü etkisine tolerans gösterirler ve bu yüzden aminoglikozidle kombinasyon tedavisi şarttır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Koneman ve ark., 2006; Sayiner, 2008).

YDAD insidansında ki artışa paralel olarak yeniden relapslar görülmeye başlamıştır. Çünkü YDAD varlığı penisilin-aminoglikozid sinerjisini bozar. Yine P allerjisi olanlarda VA aminoglikozid kombinasyonu kullanılır. Çoğu vakada 4 haftalık tedavi yeterli iken, semptomları 3 hafta ve uzun devam eden olgularda, prostetik kapağı olanlar ve daha önce kısa süreli tedaviye bağlı relaps olgularında tedavi süresi 6 haftaya uzatılmalıdır. Enterokokal menenjitte tedavi 2-3 hafta verilmelidir. Çoğul ilaç direnci bulunan enterokok suşları, günümüzde tedavide sorun oluşturmaktadır. YDAD olan suşlarla gelişen endokarditin optimal tedavisi bilinmemektedir. Bunların bazıısı amikasinle tedavi olabilirse de bazıısı olmayabilir. Tedavi süresinin 8–12 hafta gibi uzun tutulması sonuç vermemektedir.

Bu tip vakalarda cerrahi tedavi denenebilir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Koneman ve ark., 2006; Sayiner, 2008).

Beta laktamaz üreten suşlar VA veya beta laktam-beta laktamaz inhibitörlü antibiyotiklerle tedavi edilebilir. VRE suşlarıyla meydana gelen enfeksiyonların tedavisinde kloramfenikol veya doksisisiklin tek başına veya diğer ilaçlarla kombine denenebilir. Son çalışmalar VRE ve çoklu ilaç direnci bulunan suşlarda, yeni antibiyotiklerin (quinupristindalfopristin, linezolid, ramoplanin, ziracin, LY-333328 gibi) etkili olduğunu göstermektedir (Moellering, 2000; Murray, 2000; Koneman ve ark., 2006)

4.ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarının en önemli işlevlerinden biri klinik örneklerden izole edilen mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara duyarlılıklarını belirlemektir. Duyarlılık testlerinin amacı, hastanın tedavisinde kullanılacak antibiyotiğin invitro şartlarda etkinliğini tahmin etmektir. Bakteriler için antimikrobiyal duyarlılık testleri, ya görülebilir üremeyi önleyen en düşük antimikrobiyal miktarının saptanmasıyla (MIC) kantitatif olarak ya da antimikrobiyal içeren diskler kullanılarak duyarlı, orta duyarlı, dirençli gibi değerlerin verilmesiyle kalitatif olarak uygulanabilir.

Laboratuvarda sıklıkla uygulanan metodlar şunlardır:

4.1.Kalitatif testler :

4.1.1Disk Difüzyon Testi (Kirby-Bauer Testi):

Besiyeri olarak 5 ml Mueller Hinton sıvı besiyerine 3–5 koloni ekilerek 2-8 saat inkübasyon sonrası 1.5×10^8 koloni oluşturan yoğunlukta bir bakteri süspansiyonu (0.5 Mc Farland bulanıklık standartına eşdeğer) hazırlanır. Steril swab ile Mueller Hinton agar (150 mm. çaplı petri plağında 5 mm. kalınlıkta, pH 7,2–7.4) yayılır. 15 dakika içinde antimikrobiyal emdirilmiş diskler yerleştirilir ve 35⁰C’de 18–24 saat inkübasyon sonrası inhibisyon zonları ölçülür.

4.2. Kantitatif Testler:

4.2.1. Agar Dilüsyon Yöntemi:

İki kat artan seri sulandırmaları yapılan antibiyotik 8-10 dilüsyon olacak şekilde agarlı besiyerlerine katılarak plaklara dökülür. Her plağın belirli bir antibiyotik konsantrasyonu içerdiği bu yöntemle 1×10^4 CFU/ml bakteri eklenen plaklar 18–24 saat inkübe edilir ve MIC belirlenir.

4.2.2. Sıvı Dilüsyon Yöntemi:

Antibiyotiğin seri sulandırmaları 8–10 tüpte hazırlanır. Her bir antibiyotik sulandırmayı içeren 2 ml. lik sıvı besiyerlerine 5×10^5 CFU/ml olacak şekilde bakteri eklenir. 18–24 saat inkübasyon sonrası görülebilir bulanıklığın olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu MIC değerini verir. Antibiyotik dilüsyonlarının test tüpleri yerine plastik mikrotitrasyon plaklarında 100 ml.'lik hacimler halinde yapılmasıyla mikro hale getirilen test, çok daha ucuz ve hızlı olarak duyarlılık sınırlarının belirlenmesini sağlar.

4.3.Yeni Metodlar:

4.3.1.E Test :

Giderek azalan konsantrasyonda antibiyotik emdirilmiş plastik şeritlerin 150 mm.'lik agar plağa tek tek veya radyal olarak dizilmesi temeline dayanır. 18–24 saatlik inkübasyondan sonra şeritlerdeki antibiyotik gradyenti, eliptik inhibisyon zonlarının oluşmasına neden olur ve bu eliptik zonun şeritle kesiştiği antibiyotik konsantrasyonu, MIC değerini verir.

4.4.Enterokoklar İçin Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Enterokokların antibiyotiklere duyarlılığı daha önceden kestirilemediğinden, enfeksiyonun yeri veya söz konusu izolatin önemi duyarlılık testine hangi antibiyotiklerin konulacağını belirlemektedir. Enterokokların intrinsik olarak dirençli olduğu ilaçlar, örneğin sefalosporinler, oksasilin(OX), TMP-SMX, CL ve Standard konsantrasyonlar da aminoglikozidler test edilmemelidir. P veya AMP ve VA rutin olarak kullanılmalıdır. İdrar izolatları için florokinolonlar, E, F ve TE ilave edilebilir. Disk kullanıldığında 10 µg AMP etrafında ≤ 16 mm, 10 u P etrafında ≤ 14 mm zon dirençli kabul edilmektedir (CLSI, 2009).

VA için düşük düzeyde direnci ortaya koyabilmek amacı ile ≤ 14 mm altındaki zon dirençli, 15–16 orta duyarlı, ≥ 17 mm ise duyarlı kabul edilmektedir. TEC için bu değerler ≤ 10 , 11–13 ve ≥ 17 mm olarak belirlenmiştir (CLSI, 2009).

Orta duyarlı VA suşların tedavisinde VA kullanılması düşünülüyorsa MIC değerleri çalışılmalıdır. AMP ve P için MIC değeri ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ dirençli kabul edilmesine rağmen, çok yüksek AMP dozları ile MIC değeri ≤ 64 $\mu\text{g/ml}$ olan izolatları tedavi edebilmek mümkün olabilmektedir (Murray,2000; CLSI, 2009).

Enterokoklar da VA MIC değeri ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$ olan enterokoklar dirençli kabul edilmektedir. Endokardit, menenjit ve immun kompromize hastalardaki derin enfeksiyonlarda yüksek düzeyde aminoglikozid direnci bakılmalı ve betalaktamaz testi uygulanmalıdır.

YDGD, S dışındaki tüm aminoglikozidlerle sinerjizme engel olacak direnci gösterir. Yüksek düzeyde direnç agar veya tek tüp sıvı besi yerinde 500 $\mu\text{g/ml}$ gentamisin ve 2000 $\mu\text{g/ml}$ S kullanılarak tespit edilebilir. Bu amaçla E test, yüksek düzeyde CN ve S içeren diskler de kullanılabilir (CLSI, 2009).

5.MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde Şubat-2009 Mayıs 2010 tarihleri arasında hastanede yatan hastalardan veya polikliniklerden gönderilen idrar, yara, kan, peritonmayi örneklerinin kültürlerinden izole edilen 100 enterokok suşu çalışmaya dahil edilmiştir. Kanlı agarda uygun koloni morfolojisine sahip, katalaz testi negatif, eskülinli besiyerinde siyahlık oluşturan, %6,5'lık NaCL içeren besiyerinde üreyen ve PYR testi pozitif olan, izolatlar konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmış ve otomatize sistemle tiplendirilerek antibiyotik direnci araştırılmıştır. Enterokok spp. Olarak tanımlanan suşların Vitek2 Gram Positive idendifikasyon(ID) panel ile tür tayini yapılmış, Vitek2 AST-P592 panel ile antibiyotik duyarlılıkları test(AST) edilmiştir. Antimikrobiyal ajanlardan AMP, IPM, VA, TEC, LZD, MOX, CİP ve E üretici firmanın CLSI kriterleri doğrultusunda belirlediği MIC breakpoint değerlerine göre; duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilmiştir. Yüksek düzey aminoglikozid direnci (YDAD) için CN MIC konsantrasyonu 500 µg/ml olup \leq duyarlı, \geq dirençli olarak, S MIC konsantrasyonu 1000 µg/ml olup \leq duyarlı, \geq dirençli olarak değerlendirilmiştir. İstatiksel analiz spss1,5 uygulanmıştır.

5.1.Gelen Klinik Materyallerden örneklerin işlemlenmesi:

Materyal gönderilen hastalardan;

1-Yaş

2-Cinsiyet

3-Hangi klinik veya poliklinikten geldiği

4-Şikâyetleri

5-Antibiyotik alıp almadıkları

6-Alta yatan bir hastalıklarının olup olmadığı

Gönderilen materyaller çeşitlerine göre izolasyon amaçlı çeşitli besiyerlerine ekildi.

5.1.2.Cerrahi yara-abse materyalleri :

Gelen materyaller öncelikle kanlı agara anaerop kültür için ekildi. Ardından çikolatamsı besiyerine ve tioglikolatlı sıvı besiyerine ekildi. Materyalden Gram boyaması için preparat hazırlandı. Kültürler 18–24 saat 35-37⁰C’de inkübe edildi. Subklavian katater, multilümen ucu gibi materyaller çikolatamsı besiyerine steril bir şekilde değdirilip ardından tioglikolatlı sıvı besiyerine atılarak 18–24 saat 35-37⁰C’de inkübe edildi. Swablarla gelen cerrahi yara, akıntı, sürüntü gibi materyaller çikolatamsı besiyerine değdirilip tioglikolatlı sıvı besiyerinde 5–10 saniye tutulduktan sonra lam üzerine preparat hazırlandı. Steril enjektör, tüp içinde gönderilen apse, drenaj mayi, koleksiyon mayi materyallerinden de Gram boyaması için preparat hazırlandı.

5.1.3.İdrar:

Hastalardan yeterli klinik bilgi alındıktan sonra idrar örneğinin nasıl alınacağı anlatıldı. Hastaya önce ellerini yıkaması, sabunlu pedle ilk temizlikten sonra suyla ıslatılmış iki pedle durularak son pedle de kurulandıktan sonra, 10–15 mililitrelik ilk idrarı dışarı atıp orta akım idrarını steril kaba yapması ve kapağını kapatarak kalan idrarını tuvalete yapması söylendi. İdrar sondalı hastalardansa sondanın üretraya en yakın lastik kateter kısmından alkollü pamukla silinerek kontamine etmeden steril enjektöre ucu yukarı bakacak şekilde 3–5 mililitre kadar sonda idrarı alındı. Gelen idrar örnekleri bekletilmeden Kanlı ve EMB besiyerine 0,01 mililitre hacimli standart öze ile ekildi. 35-37⁰C’de 18–24 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Gram preparatı hazırlandı.

5.1.4.Kan:

Hastalardan kan kültürü örnekleri Bactec sistemi ile alındı. Bu sistemde; uygun besiyeri, lökosit ve antibiyotik bağlayan reçineler bulunan kan kültürü şişelerine hastalardan venöz kan alınır. Kan kültürü şişeleri laboratuvarımızdaki Bactec kan kültürü cihazına kodlanarak yerleştirildi. Pozitif sinyal veren şişelerden çikolatamsı besiyerine pasaj yapılarak besiyerleri %5–10 CO₂'li jar içine konuldu ve 18–24 saat süreyle inkübe edildi.

5.1.5.BOS:

Hastalardan alınan BOS örnekleri laboratuvara gelir gelmez santrifüj edilir ve çökeltisinden Çikolatamsı agara, McConkey agara veya EMB agara, Triptikaz'lı soya buyyona, Tiyoglikolatlı buyyona ekilerek çikolatamsı agar plağı ve Triptikazlı soya buyyonu ekimleri %5-10 CO₂' li ortamda, McConkey ekimi aerop koşullarda ve bir adet kanlı agar plağı ile Tiyoglikolatlı besiyeri ekimleri anaerop koşullarda ve 36-37°C' de enkübe edilir. 18–24 saat içinde üreme olup olmadığı kontrol edildi. Üreme olanlar değerlendirmeye alındı, üremesi olmayanlar 24 saat daha jar içine konularak 48 saatlik sürenin sonunda kontrol edildi.

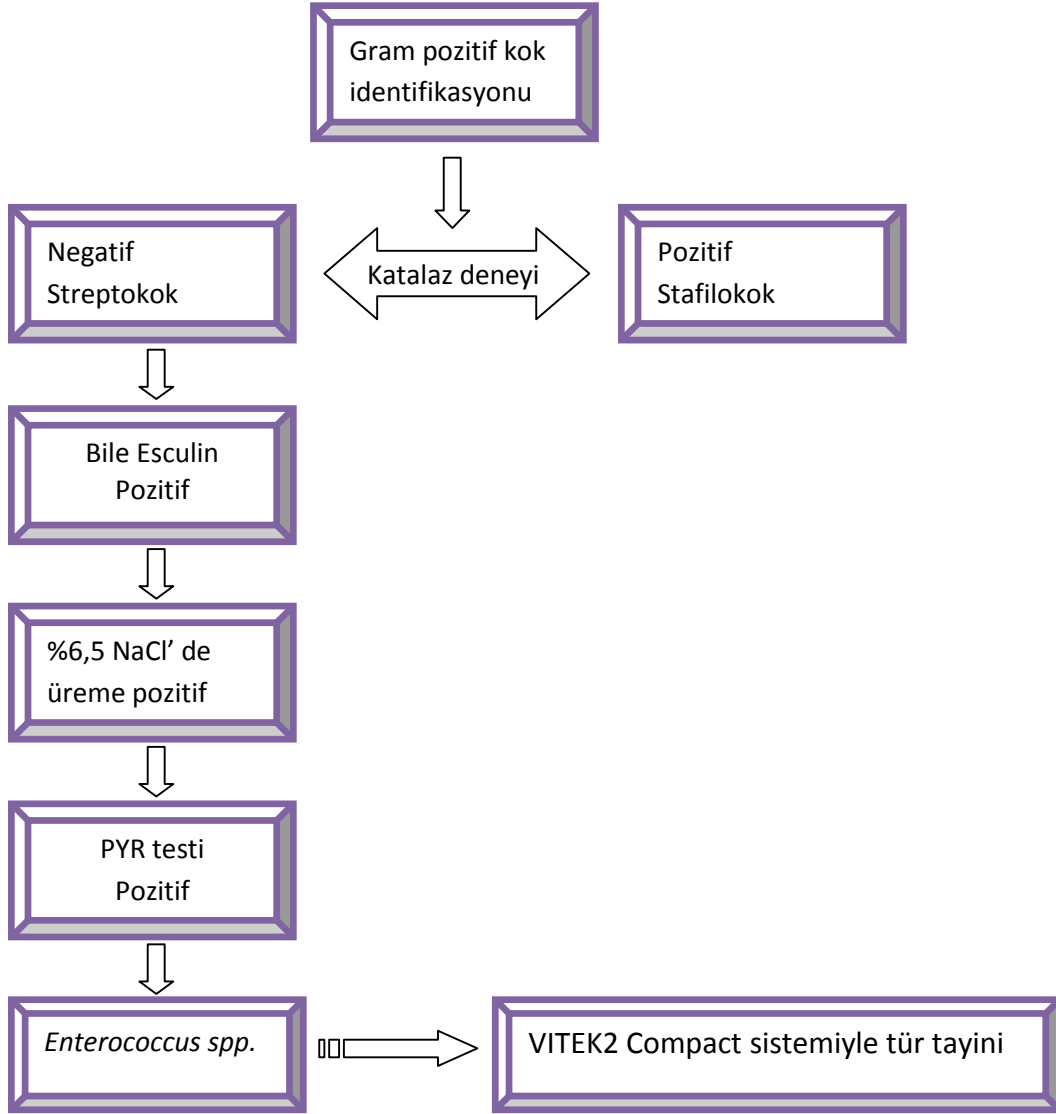
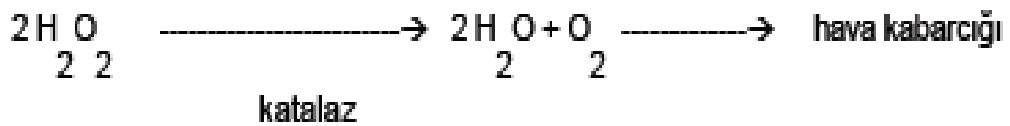
5.2.Değerlendirme :

Ekilen k l rler 18–24 saat sonra Kanlı, EMB,  ikolatamsı besiyerinde üreme olup olmaması yönünden değerlendirildi. Aerop kültürler 18-24 saat sonra, anaerop kültürler 72 saat sonra üreme açısından değerlendirildi. Gram boyalı preparatlar lökosit varlığı, bakteri özellikle gram pozitif kok görülüp görülmemesi yönünden araştırıldı.  ikolatamsı besiyerinde üreyen 0,5–1 mm çaplı gri, düz, kenarları belirgin, beyaz-yeşilimsi kolonilerden Gram boyaması yapıldı. Gram pozitif kok olarak görülen bu bakteriler için Gram pozitif kok ayırıcı tanısı için yaptığımız aşağıdaki işlemler yapıldı.

Gram pozitif kok olan bakterilere katalaz deneyi yapıldı. Hemolizlerinin görülebilmesi için kanlı agara pasaj yapıldı. Alfa hemolitik olanlar ve hemoliz yapmayanlar şüpheli olarak değerlendirildi.

Katalaz negatif bu bakteriler Bile eskulin agara ekilip 35–37  C’de inkübe edildi. %40 safralı ortamda üreyerek eskulini hidrolize eden ve besiyerinde siyah pigmentasyon oluşturan bakteriler Bile eskulin pozitif kabul edilip % 6,5’luk NaCl’de üreyip  remedikleri kontrol edildi. Bunun için %6,5’luk NaCl içine yeni pasaj yapılmış kültürlerden ekim yapılarak 35–37  C’de 3 saat süreyle inkübe edildi. 3 saat sonunda %6,5’luk NaCl’den kanlı agara pasaj yapılarak 35–37  C’de 18–24 saat inkübe edilmek üzere etüve kaldırıldı. Bu pasajlarda Gram pozitif kok üremesi üzerine bakterilerin % 6,5’luk NaCl deneyi pozitif kabul edildi. Tür tayini için VITEK-2 cihaza alındı. Enterokok spp. olan suşlar isimlendirildi.

Tablo 5.2.1: Enterokok İzolasyon İşlemleri

**Katalaz testi-deneyi :**

5.3.Bile eskulin testi deneyi:

Bu test belirli bazı bakterilerin (enterokoklar ve D grubu streptokoklar) eskulini %4 safra tuzlu veya %40 safralı ortamda hidrolize etmesi temeline dayanmaktadır. Eskulinin safralı ortamda hidrolizi glikoz ve eskuletinin açığa çıkmasına yol açar. Eskuletin zamanla besiyerindeki ferrik iyonlarla reaksiyona girerek siyah diffüz bir kompleks oluşturur. Bu testi yapmak için koloniden iğne özeyle inokulum alınıp tüpteki eğik besiyerine ekilir. 35 °C'de 18–24 saat inkübe edilir. Besiyerinde oluşan siyahlık testin pozitif olduğunu gösterir. Enterokoklar, bazı viridans streptokoklar (%3) pozitif iken diğer streptokoklar negatiftir. Bile eskulin Agar (Difco) hazır toz besiyerinden laboratuvarımızda tüplere dökülerek eğik şekilde dondurularak hazırlanır.

5.4.Tuz Tolerans Testi :(%6,5'luk NaCl testi):

Özellikle enterokokların identifikasyonunda kullanılan bir testtir. Bu çalışmada laboratuvarında hazırlanan %6,5'luk NaCl besiyeri kullanılmıştır. Besiyerine 2-3 koloni ekilip 3 saat 35°C'de inkübe edilmiştir. Ardından üreme kontrolü için koyun kanlı agara pasaj yapıldı. Üreme olanlar pozitif kabul edildi.

5.5.PYR Testi (L-pyrrolidonyl-B-naphtylamide Hidrolizi Deneyi):

Enterokoklar ve A grubu beta hemolitik streptokokların identifikasyonunda kullanılan önemli bir testtir. Bu testte kullanılan PYR substratı ‘L-pyrrolidonyl-betanaftilamid’dir. Bu substrat çok özel bakteriyel aminopeptidaz enzimiyle hidrolize edilir. Sonuçta serbest beta naftilamid açığa çıkar ve bu son ürün N,N dimetil aminocinamldehit eklenmesiyle tesbit edilir. Oluşan kırmızı renk pozitif reaksiyonu gösterir. Hızlı testte PYR emdirilmiş filtre kâğıdı üzerine şüpheli koloniden 2–3 adet konularak önce PYR broth damlatılır, 5 dakika beklenir. Ardından PYR reageni bulunan diğer ayıraç damlatılıp 30–60 saniye içerisinde pozitif reaksiyon için kırmızı renk oluşması beklenir. Sarı veya portakal rengi negatif olarak değerlendirilir.

5.6.İzole Edilen Enterokokların Tür Tayini:

Tüm bu testlerle *Enterococcus spp.* olarak belirlediğimiz bu bakterilerin tür tayini tam otomatize Vitek2 Gram Positive ID panel ile yapıldı (Biomérieux, Fr). Sonuçlar cihazın programında yer alan database esas alınarak elde edildi.

5.6.1.VITEK 2 Compact:

Gelişmiş kolorimetrik ID analizi otomatik duyarlılık testi, ID ve AST sonuçları onaylar ve uygunluğunu kontrol eder elde edilmiş MIC değerlerini belirler. Terapötik değerlendirmede bulunan kategori değerini kullanır veya yeni kategori değeri önerir. 100.000 referans yayın içeren literatur taranarak elde edilen veritanında 20.000 MIC dağılımı ve 2.000 fenotip bulunmaktadır.

Vitek2 çalışma prensibi; Kartlara göre değişen prensiplere sahiptir. Tanımlama kartlar kolometrik okunur. AST antibiyogram kartlar ise, turbidometrik (bulanıklık) prensibe göre okunur. Her iki kartlarda kinetik (devamlı takip sisteme sahiptir, veriler 15 dakikada bir okunur).

GN tanımlama kartı, biyokimyasal metotlara ve karbon kaynak kullanım, enzimatik aktiviteleri ve dirençleri yeni geliştirilmiş substratlara dayanır. 47 biyokimyasal test ve bir negatif kontrol kuyusu vardır. Decarboxylase Negatif kontrol kuyusu (52 kuyu), decarboxylase test kuyular için temel referans olarak kullanılır.

GP tanımlama kartı, biyokimyasal metotlara ve yeni geliştirilmiş substratlara dayanır. Karbon kaynak kullanım, enzimatik aktiviteleri ve dirençleri 43 biyokimyasal test mevcuttur. Final identifikasyon sonuçlar yaklaşık sekiz saat veya daha az sürer.

5.6.2.İdentifikasyon kart işlemleri:

İki adet dilüsyon tüpüne 3 ml tuzlu su konulur, aynı cins ve taze 3–4 koloni seçilir süspansiyon homojen hale getirilir 0,50–0,63 McFarland ayarlanır ve hazır olan kasetlere süspanse edilir ve cihaza yerleştirilir.

5.6.3.Antibiyogram kart işlemleri:

İki adet dilüsyon tüpüne 3.0 ml steril tuzlu su alınır taze ve benzer koloniler seçilir süspansiyon homojen edilir 280 µL 0,50–0,63 McFarland bakteri hazırlanır. Kasetlere pipetlenir ve cihaza okunması için yerleştirilir. 8 saat sonunda cihazın yazılım proğramından bakterinin tür ismini antibiyotik direnç ve duyarlılığını ve idendifikasyon panelini yazılı olarak almak söz konusu olmuştur.

Tablo 5.6.3.1. Vitek2 Cihazına Göre Antibiyotiklerin MIC değerleri

Antibiyotik	MIC breakpoint değerleri ($\mu\text{g/ml}$)			Duyarlılık oranları (n)		
	$\leq S$	I	$\geq R$	S	I	R
VA	4	8-16	32	100	-	-
TEC	8	16	32	100	-	-
LZD	2	4	8	100	-	-
TİG	0.25	-	-	100	-	-
AMP	8	-	16	40	-	60
IPM	4	8	16	42	-	58
CİP	1	2	4	42	5	53
MOX	1	2	4	46	3	51
E	0.5	1-4	8	44	-	56
YDGD	500		500	42	-	58
YDSD	1000		1000	40	-	60

5.7.Duyarlılık Testi:

5.7.1.E Test Yöntemi :

Yayılm temeline dayanan ancak diskler yerine plastik stripler üzerinde bulunan antimikrobiyal ajanın MIC değerinin sapanabildiği yeni bir duyarlılık yöntemidir. Stripin bir tarafında ilaç, belirli ve sürekli bir yoğunlaşma değişimi olacak şekilde ve kurutulmuş olarak bulunur. Diğer yüzünde de antimikrobiyal ajanın stripinucundan olan uzaklığa karşılık gelen konsantrasyonları bir cetvel gibi sıralanmıştır. Standart bakteri inokulumu, katı ve test için uygun Mueller- Hinton besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra stripler yerleştirilir. İnkübasyon süresi 35–37 °C normal atmosfer;16–20 saat sonunda elips şeklindeki inhibisyon alanının stripi kestiği konsantrasyon MIC değeri olarak belirlenir. Çalışmamızda E-test stripleri (AB Biodisk, İsveç) kullanılmıştır. E Test stripleri –20°C’de saklanır. Kullanımdan 30 dk. Önce çıkarılıp oda sıcaklığına ulaşması sağlanır.

Tablo 5.7.1.1. Antibiyotiklerin E-test MIC değerleri

Antibiyotik	MIC ($\mu\text{g/ml}$)yorumlama standartları			Duyarlılık oranları (n)		
	\leq S	I	\geq R	S	I	R
AMP	8	-	16	42	-	58
CN	500	-	500	42	-	58
P-G	8	-	16	40	-	60
IPM	4	8	16	45	-	55
CIP	1	2	4	47	-	53
VA	4	8-16	32	100	-	-
TEC	8	16	32	100	-	-
LZD	2	4	8	100	-	-

Şekil 5.7.1.1.1 E-test görüntüsü



6.BULGULAR

Şubat 2009-Mayıs 2010 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik materyalden elde edilen 100 enterokok suşu izole edilmiş ve bunların Vitek2(Biomeriux; Fransa) cihazı ile dirençlilikleri ve E test ile MIC değerleri araştırılmış antibiyotik direnç profilleri oluşturulmuştur. Bu 100 enterokok suşunun gönderilen materyallere göre dağılımı Tablo 6.1’de gösterilmektedir.

Tablo 6.1. Enterokok suşların materyallere göre dağılımı

Materyal cinsi	Sayı
Cerrahi alan (yara, abse, dren mayi)	24
İdrar	43
Kan	26
Vajen	1
Periton mayi	6

Görüldüğü gibi enterokok izole edilen materyallerin çoğunu idrar, kan, cerrahi yara, abse oluşturmaktadır. Periton mayi, vajen gibi materyallerden daha az sıklıkta enterokok saptanmıştır. Enterokokların izolasyonu hastaneler açısından da çok önemlidir.

Tablo 6.2. Gönderilen materyallerin kliniklere göre dağılımı

Klinik	Ayakta	Yatan	Toplam
Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi	0	20	20
Genel Cerrahi ABD	0	19	19
Çocuk Sağlık ve Hastalıkları	9	6	15
Üroloji ABD	4	8	12
Dâhiliye Hastalıkları	6	6	12
Enfeksiyon Hastalıkları	3	7	10
Göğüs Hastalıkları Servisi	0	5	5
Kardiyoloji Servisi	3	0	3
Kalp Damar Cerrahisi Servisi	0	3	3
Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisi	1	0	1

Enterokok suşlarının çoğu anestezi yoğun bakım, genel cerrahi servisi, çocuk hastalıkları, dâhiliye, enfeksiyon gibi bölümlerde idrar, yara-abse, kan materyallerinden izole edilmiştir. Ayrıca dâhiliye servisinde yatan 2 ve genel cerrahi servisinde yatan 3 hastanın periton mayinde kadın doğum servisinde yatan bir hastanın vajen sürüntüsünde yoğun bakım hastalarında kan ve idrarlarında cerrahi hastaların yaralarında poliklinik hastaların idrarlarından izole edilmiştir.

Bu çalışmada izole edilen 100 enterokok suşunun 44 tanesi bayan 46 tanesi erkek hastadan izole edilmiş olup kadın/ erkek oranı açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Hastaların 20'si 18 yaşın altında geri kalan 80'i 18 yaşın üzerindeki hastalardır. Birinci grup hastalarda genellikle üriner anomali gibi predispozan bir faktör saptanmıştır.

Hastalarımızın yatan hasta veya poliklinik hastası oluşlarına göre dağılımı Tablo 6.3.'da göstermektedir. Burada da görüldüğü gibi çalışmamızı oluşturan suşların çoğunluğunu hastanemiz çeşitli servislerinde yatan hastalardan elde ettik. Zaten bu bakteriler genellikle hastanede uzun süre yatan, cerrahi işlem geçirmiş, çeşitli antibiyotikler kullanmış hastalarda kolonize olmakta ve bir süre sonra da hastalık tablosuna yol açmaktadırlar.

Tablo 6.3. Yatan / Poliklinik Hastası Dağılımı

Yatan hasta	77
Poliklinik hastası	23

Daha önce de belirtildiği gibi enterokoklar daha çok nozokomiyal enfeksiyonlarda rol alırlar. Hastanelerin öncelikle cerrahi ve yoğun bakım ünitelerinde sıklıkla rastlanılır. Bizim çalışma grubumuzdaki hastaların çoğunu cerrahi operasyon veya enstrümantasyon geçirmiş, uzun süre hastanede yatan, çeşitli

ve geniş spektrumlu antibiyotik kullanan ya da kullanmış olan ve genellikle altta yatan önemli bir hastalığı veya predispozan faktör bulunan hastalar oluşturmaktadır.

Hastaların yarısında altta yatan hastalık saptandı. Hastalardan 60'inin (%60) materyalin alındığı sırada antibiyotik kullanmadığı, diğer hastaların (%40) genellikle o sırada veya öncesinde geniş spektrumlu antibiyotikleri kullandıkları öğrenilmiştir.

Tablo 6.4. Enterokok İzolatlarının Örneklere Göre Dağılımı

Türler	İdrar	Kan	Yara	Periton	Toplam
<i>E.faecalis</i>	26	12	15	3	56
<i>E.faecium</i>	17	13	7	3	40
<i>E.casseliflavus</i>	-	1	1	-	2
<i>E.avium</i>	-	-	1	-	1
<i>E.gallinorum</i>	-	-	1	-	1
Toplam	43	26	25	6	100

Çalışmamızda biz de 100 enterokokun 56 tanesini (%56) *E.faecalis*, 40 tanesini (%40) *E.faecium*, iki tanesini (%2) *E.casseliflavus*, birtanesini (%1) *E.avium*, birtanesini (%1) *E. gallinorum*, tesbit ettik. *E.faecalis* ve *E.faecium* ikisi de safralı besiyerinde ve %6,5'lük NaCl'de ürerler. *E.faecalis* sorbitol pozitif, mannitol pozitif, laktoz pozitif iken *E.faecium* ise sorbitol negatif, mannitol pozitif, laktoz pozitifdir. İkisi de nişastayı eritmez, hippuratu hidrolize etmez. Her ikisi de PYR pozitifdir.

Tablo 6.5. Enterokok Türlerinde Vitek2 Cihazına Göre Direnç Oranları

TESTLER	S	I	R			
			<i>E.faceum</i>	<i>E.fecalis</i>	Diğerleri	Toplam
AMP	%40	%0	%36	%24	%0	%60
IPM	%55	%0	%27	%18	%0	%45
CN	%42	%0	%30	%27	%1	%58
STSY	%40	%0	%30	%30	%0	%60
CİP	%42	%5	%32	%20	%1	%53
MOX	%46	%3	%33	%19	%0	%51
E	%44	%0	%32	%18	%2	%54
CL	%40	%0	%30	%29	%1	%60
LZD	%100	%0	0%	%0	%0	%0
TEC	%100	0%	0%	%0	%0	%0
VA	%100	0%	0%	%0	%0	%0
TE	%47	0%	%33	%19	%1	%53
SXT	%40	0%	%30	%30	%0	%60

S:Duyarlı I:Orta duyarlı R:Dirençli

Tablo 6.6. Enterokok Türlerinde E-Test Direnç Oranları

TESTLER	S	I	R			
			<i>E.faceum</i>	<i>E.fecalis</i>	Diğerleri	Toplam
AMP	%42	%0	%36	%22	%0	%58
CN	%42	%0	%30	%21	%1	%58
IPM	%55	%0	%27	%18	%0	%45
TEC	%100	%0	%0	%0	%0	%0
VA	%100	%0	%0	%0	%0	%0
CIP	%47	%0	%32	%20	%1	%53
LZD	%100	%0	%0	%0	%0	%0
P-G	%40	%0	%35	%25	%0	%60

S:Duyarlı I:Orta duyarlı R:Dirençli

Bu çalışmada yer alan 100 enterokok suşunun %43 idrar, %26 kan, %25 cerrahi alan (yara, apse, dren) %6 periton mayı, %1 vajinal yaradan izole edilmiştir. Örneklerin %20 anestezi yoğun bakım %19 genel cerrahi, %15 çocuk hastalıkları servis ve poliklinik, %12 üroloji servisi, %12 dâhiliye servisi, %10 enfeksiyon hastalıkları servisi, %5 göğüs hastalıkları servisi, %3 kardiyoloji servisi, %3 kalp damar cerrahisi, %1 kadın hastalıkları ve doğum servisinden gönderilmiştir. Tüm suşlar vitek2 cihazı ile tür ve antibiyotik direnç profilleri saptanmıştır. Buna göre %60 AMP, %58 CN, %45 IPM, %60 STSY, %53 CIP, %51 MOX, %52 E, %60 CL, %40 SXT'ye dirençli bulunmuştur. Aynı zamanda VA, TEC ve LZD direnç

saptanmamıştır. Yüksek düzey antibiyotik dirençlerinin MIC değerlerinin belirlenmesi için E-test ile AMP, CN, IPM, CIP, P-G, TEC, VA, LZD, MIC değerlerine bakıldı ve sırasıyla; %60 P, %58 AMP, %56 CN, %49 IPM, %47 CIP, dirençli bulunmuştur. VA, LZD ve TEC direnç görülmemiştir.

AMP dirençli 60 suştan 45'i IPM dirençli iken, AMP duyarlı olduğu halde iki suшта IPM direnç tesbit edilmiştir. Bu çalışmamızda antibiyotik direnç profili yüksek olan hastaların daha önce cerrahi operasyon geçirmiş olmaları, yoğunbakım hastaları olmaları 60 yaş üzeri olmaları antibiyotik kullanımlarının olması, duyarlı olan hastaların poliklinik ve cerrahi operasyon geçirmemiş hastalar olduğu belirlenmiştir. Poliklinik hastaların çoğunun idrarında enterokok izole edilirken yoğun bakım ve cerrahi operasyon geçiren hastaların yara ve kanlarında enterokok izole edilmiştir.

7.TARTIŞMA

Enterokoklar insan ve hayvan gastrointestinal sisteminin üyesidirler ve bu özelliklerinden dolayı günümüzden yüz yıl önce Fransız araştırmacı Thiercelin tarafından “*enterocoque*” olarak adlandırılmıştır. Enterokokların doğal direnci oldukları sefalosporinlerin yoğun olarak kullanıldığı 1970’li yıllardan bu yana hastane enfeksiyonu etkenleri arasında enterokokların oranı giderek artış göstermiştir (Scott, 2000).

Son on yılda hastanede edinilmiş enfeksiyonların küçük bir bölümünden Gram negatif ajanlar sorumlu olmasına karşılık, günümüzde daha çok Gram pozitif koklar ve mantarlar sorumludur. Nozokomiyal enfeksiyonların başlıca etkenleri arasında yer alan enterokoklar bu tür enfeksiyonların %12’sine neden olmaktadır. 1986-1989 yılları arasında nozokomiyal enfeksiyonlara en çok neden olan ikinci grup bakteri olduğu saptanan enterokokların insidansı sadece *E.coli*’nin gerisinde kalmaktadır (Joshi Ve Milfred,1997).

Enterokoklar nozokomiyal bakteriyemilerin üçüncü, üriner sistem ve yara enfeksiyonlarının ikinci sıklıkta saptanan etkenidirler. Çeşitli nedenlerle immun sistemin baskılanması, hastanede yatış süresinin uzaması, intravasküler kateter veya protezler, hematolojik maligniteli hastalarda uzun süreli tedavi uygulamaları bu riski arttırmaktadır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

Enterokok enfeksiyonlarında ilk sırayı üriner enfeksiyonlar, 2. sırayı intraabdominal ve pelvik enfeksiyonlar, 3. sırayı ise bakteriyemiler alır. Enterokokal bakteriyemiler daha çok yaşlı ve tıbbi problemi olan veya immun yetmezliği olup uzun süredir hastanede yatan, antibiyotik tedavisi alanlarda görülür ve mortalitesi %30'lardadır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Yenişehirli ve ark., 2006; Sayiner, 2008).

Enterokoklar sindirim sistemi ve kadın genital sisteminin normal florasında bulunur ve enterokokal enfeksiyonların çoğu endojen kaynaklıdır. Ancak son zamanlarda yayınlanan birçok araştırma; VRE'lar dahil çoğu enterokok enfeksiyonunun hastadan hastaya direkt ve personelin elleri, kontamine hasta bakım ekipmanları ve çevre ile de indirekt olarak geçişinin mümkün olduğunu vurgulanmaktadır (Scott, 2000; Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Yenişehirli ve ark., 2006; Sayiner, 2008).

Enterokoklar nozokomiyal enfeksiyonlarda artan oranlarda görülmelerinin yanısıra, gerek doğal olarak taşıdıkları CL, SXT, düşük düzey P ve düşük düzey aminoglikozit direnç özellikleri, gerekse de genetik madde aktarımı veya mutasyonla kazandıkları TE, E, RF, F, FD, yüksek düzeyde aminoglikozit direnci(YDAD) ve beta laktam, ve VA dirençleri nedeniyle günümüzün problemlili bakterileri arasında yer almaktadır (Scott, 2000).

Hemen tüm enterokoklar beta laktam ve glikopeptid antibiyotiklerin bakterisidal etkilerine karşı tolerans gösterirler. Bu nedenle endokardit ve menenjit gibi ağır enterokokal enfeksiyonların tedavisinde bakterisidal sinerji sağlamak için

bu antibiyotiklerin aminoglikozitlerle kombinasyonu gereklidir (Yenişehirli ve ark., 2006).

Bu kombinasyonda ki herhangi bir antibiyotiğe direnç olması halinde sinerjistik bakterisidal etki ortadan kalkar. Bazı merkezlerde enterokok suşlarının %50'sinden fazlasında YDAD olduğu bilinmektedir. Ayrıca *E.faecium* izolatlarının çoğu P bağlayıcı proteinlerin afinitesinin düşük olması nedeniyle P yüksek düzeyde dirençlidir (Unsal S, 2000; Yenişehirli ve ark., 2006; Berzeg, 2008).

Diğer bir deyişle enterokokal enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotik seçenekleri oldukça kısıtlıdır. Enterokok türleri arasında da antibiyotik duyarlılığı farklılıklar gösterdiğinden, klinik örneklerden izole edilecek enterokokların hem tür düzeyinde isimlendirilmesi hem de antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi, uygun tedavinin seçilebilmesi için önem taşımaktadır (Yenişehirli ve ark., 2006; Berzeg;2008)

Toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların önde gelen sebepleri arasında olan *E.faecalis* ve *E.faecium*, antimikrobiyal ajanlara karşı yüksek oranda dirence sahiptirler. Enterokoklarda aminoglikozid direncinin saptanmasında, CLSI önerileri doğrultusunda sadece CN araştırma kapsamına alınmıştır. Diğer aminoglikozidlerin ayrıca test edilmesine gerek duyulmamıştır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Yenişehirli ve ark., 2006; Saymer, 2008).

Bu çalışmada CN yüksek düzey direnç *E.fecalis* suşlarında %27 *E.faceum* suşlarında %30, *E.casseliflavus* suşunda %1 olarak belirlendi.

Çalışmamızda kaynak bilgileri ile uyumlu olarak, *E. faecium* suşlarında %30 YDGD bulunmuştur. *E. faecium* suşlarında CN dirençlerini sırasıyla Grayson ve ark., (1999) % 83, Sahm ve ark.(1991) % 56, Watanakunakorn ve ark.(1992) % 62 oranında göstermişlerdir. Ruoff ve ark. (1990) araştırmalarında *E. faecium* suşlarının % 50'sinde, *E. faecalis* suşlarında da % 12,6'sında YDGD bulmuşlardır. ABD'de CN direnci oranları çeşitli merkezlerde % 1-70 arasında bildirilmiştir (Tailor, 1993).

Ülkemizde yapılan araştırmalarda da farklı sonuçlar alınmıştır. Meriç ve ark.(2004) çalışmalarında, *E. faecalis* suşlarında CN yüksek düzey direnci %13, *E. faecium* suşlarında %41 olarak bildirmişlerdir. YDGD sırasıyla Akıncı ve ark.(1999) % 31,4 Çınar ve ark. (1999) % 50,5 ve Haşçelik ve ark. (1999) % 30, Berkem ve ark.(1997) % 30, Ruhi ve ark.(1997) % 19,6, Karabiber ve ark.(1995) % 25, Hoşgör ve ark.(1997) % 23, Akgül ve ark.(1999) % 65, Aktaş ve ark. (2000) % 31 olarak değişik klinik ve yoğun bakım ünitelerinden izole ettikleri suşlarda bu oranları bulmuşlardır. Bu çalışmalar da göz önüne alındığında yurt dışı bildirimlerine göre ülkemizde YDGD daha az oranlarda saptanmış ve hastanemizde bulduğumuz oranlar ise yapılan çalışmalarla benzer oranlarda bulunmuştur.

Aminoglikozidlerin hücre membranından penetrasyon zorluğu düşük düzeyde dirence neden olmaktadır. Bu nedenle, hücre duvarı sentezini inhibe eden bir antibiyotiğe aminoglikozid grubu antibiyotiğin ilave edilmesi, her iki ilacın da etkisini artırıcı rol oynamaktadır. Ancak aminoglikozidlere karşı var olan düşük düzey intrinsik dirence ilaveten, plazmid ve transpozonlar aracılığı ile kazanılmış genler sonucu, aminoglikozidleri modifiye edici enzimlerin salınması YDAD'ne yol açmakta ve bu durumda kombinasyon tedavisi sinerjistik etkisini kaybetmektedir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Yenişehirli ve ark., 2006; Sayiner, 2008). Enterokoklarda en yaygın aminoglikozidleri modifiye eden enzim, *aac6'*-*aph2''* geni tarafından kodlanan, birbirine kaynaşmış iki enzimden oluşan APH(2'')-AAC(6')

enzimidir ve streptomisin dışındaki tüm aminoglikozidlere dirençten sorumludur. YDSD'nden de esas olarak aminoglikozid modifiye edici enzimler sorumlu tutulmaktadır. AAD(6) enzimi S için spesifiktir (Bilgehan, 1995; Koneman, 1997; Mollerin, 2000; Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Yenişehirli ve ark., 2006; Sayiner, 2008).

Enterokoklar genellikle P ve AMP intrensek olarak dirençlidirler. Bu direnç düşük afiniteli penisilin bağlayan proteinin (PBP5) fazla üretimi ve diğer PBP'lerin beta laktamlara olan afinitesindeki azalma sonucu gelişmektedir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Yenişehirli ve ark., 2006; Sayiner, 2008).

Penisilin dirençte, düşük molekül ağırlıklı P bağlayıcı proteinlerin (özellikle PBP5) azalmış afinitesi sorumludur. İntrinsik olarak var olan betalaktam direnci, sinerjistik kombinasyon tedavisini gerekli kılmaktadır. Tüm dünyada olduğu gibi, ülkemizde de enterokoklardaki çoklu antibiyotik direnci önemli bir sorundur. VA, TEC ve LZD enterokoklara karşı en etkili antibiyotikler olarak bilinirken, giderek artan oranda ülkemizden de dirençli suşlar bildirilmektedir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Yenişehirli ve ark., 2006; Sayiner, 2008). Çalışmamızda glikopeptitlere dirençli suş saptanmamıştır.

Enterokokların en önemli özelliği, Gram pozitif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan birçok antimikrobiyal ajana karşı direnç göstermeleridir. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de enterokoklardaki çoklu antibiyotik direnci önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer çalışmalara benzer şekilde izolatların %56,0'ü *E.faecalis*, %40,0'si *E.faecium* %4 diğer türler olarak bulunmuştur. Ülkemizden yapılan bildirimlerde AMP direncinin %16,7–78,0 arasında oldukça

geniş aralıkta dağılım gösterdiği gözlenmektedir (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Yenişehirli ve ark., 2006; Saymer, 2008).

Bu çalışmada AMP direnci % 60, P direnci %58 olarak bulunmuştur ve bu oran bazı merkezlerden bildirilen sonuçlara yakın bulunmuştur. Bu değerler birbirine oldukça yakın olmakla birlikte AMP duyarlı olduğu halde az sayıda suşun P direnci olduğunu göstermektedir. Kapoor ve ark.(2005) pediatrik hastalardan izole edilen *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarında AMP direncinin % 70, P direncinin ise % 100 olduğunu bildirmektedir.

Ülkemizde yapılan araştırmalarda ise birbirinden oldukça farklı sonuçlar tesbit edilmiştir. Bunun nedeni, çalışılan hasta popülasyonunun ya da kullanılan test yöntemlerinin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. P ve AMP direncini; Akıncı ve ark.(1999) % 21.4 ve % 21.4, Ruhi ve ark.(1997) % 60.8 ve % 31.8, Berkem ve ark.(1997) % 16.6 ve % 13.3, Baykan ve ark. (2000) % 61 ve % 74 oranında saptamışlardır. Çınar ve ark. (1999) % 52,3 oranında P direnci tespit etmişlerdir. Kocagöz ve ark.(1999) ise nozokomiyal enfeksiyon etkeni olarak izole ettikleri enterokoklarda % 72 oranında AMP direnci bildirmişlerdir. Ulusoy ve ark.(1995) *E. faecalis* suşlarında P % 18, AMP % 6, *E. faecium* suşlarında ise P % 81, AMP % 64 oranında direnç tespit etmişlerdir. Kaçmaz ve ark.(2004) yaptıkları araştırmada; AMP direnci *E. faecalis* suşlarında %11, *E. Faecium* suşlarında %77 olarak rapor edilmiştir.

Ülkemizde Meriç ve ark.(2004) nın yaptıkları diğer bir çalışmada; *E. faecalis* suşlarında P ve AMP direnç oranları sırasıyla %10 ve %4, *E. faecium* suşlarında ise sırasıyla %74 ve %78 olarak bulunmuştur.

Son yıllarda Batı Pasifik Bölgesi'nde yapılan çok merkezli bir çalışmada AMP direnci *E. faecalis* suşlarında %1,7, *E. faecium* suşlarında %82,6 olarak bildirilmiştir (McDonald ve ark., 2004). Bizim çalışmamızda AMP direnci *E. faecium* da %36 *E. faecalis* te %24 olarak belirlenmiştir. P ise *E. faecium* da %35 *E. faecalis* te %25 olarak tesbit edilmiştir.

Çalışmamızda CİP direnci %53 oranında saptanırken yeni kuşak kinolonlardan MOX için direnç %51 olarak bulunmuştur. Enterokoklarda %47–61 aralığında bildirilen E direnci benzer şekilde %56 olarak saptanmıştır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005; Sayiner, 2008).

Daha önce yapılan bir çalışmada %19,0 olarak bildirilen IPM direnci çalışmamızda %45 olarak tespit edilmiş ve bu oranın *E. faecium* suşlarında %27lere ulaştığı görülmüştür (Ersoy,2005).

Ersoy ve ark. (2005) yaptığı çalışmada sırası ile P % 25.9 AMP % 23.1 CİP % 54.4 ve IPM % 19.0 oranında direnç tespit edilmiştir. Popesku ve ark.,(2001); enterokoklarda IPM direncini %15 olarak bulmuşlardır.

İlk VRE suşları 1988'de İngiltere'de ve hemen ardından Fransa'da bildirilmiştir. ABD'de daha sonra saptanmasına rağmen, bu ülkede VRE enfeksiyonları çok hızlı bir yayılım göstermiştir. Öyle ki, ilk kez 1990'da VA direnci *E. faecium* izole edilen bir merkezde sadece 2 yıl sonra *E. faecium* izolatlarının %53'ü VA dirençli hale gelmişlerdir (Mato ve ark;1993; Yenişehirli ve ark., 2006).

Esen ve ark. (2001) disk difüzyon yöntemiyle, Gökahmetoğlu ve ark. (1999); E Test yöntemiyle, Moaddab ve ark. (1999) agar dilüsyon yöntemiyle, Yüce ve ark. (1999); mikrodilüsyon yöntemiyle, Akıncı ve ark., (1999); agar tarama yöntemiyle, Karaca ve ark., (1999) E Test yöntemiyle, izole ettikleri enterokoklar da VA direncini araştırmış ve direnç bulamamışlardır. Bizde bu çalışmamızda izole ettiğimiz 100 enterokok suşunda Vitek2 cihazıyla ve E test yöntemleriyle çalışılmış ve VA dirençli suşlara rastlanmamıştır. Çalışmamızda otomatize vitek2 sistemi yanında E-test yöntemiyle de sonuçları doğrulanmış olduk. Dombradi ve ark., (2010) çalışmalarında bazı suşlarda otomatize sistemde yanlış pozitif sonuçlar elde edilebileceği, dolayısıyla sonuçların E- test gibi MIC değerlerini tam olarak belirleyen testlerle değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (Dombradi ve ark., 2010).

Sader ve ark., (2010) yaptıkları çalışmada 2003 yılında %1.5 olan glikopeptid direnci 2008 yılında yaptıkları çalışmada %11'e çıkmıştır. Bu oranlar dikkate alındığında; yaptığımız bu çalışmada, yurt içi ve yurt dışı çalışmalarında da görüldüğü üzere (Tablo 7.1. ve Tablo 7.2.). Enterokoklarda glikopeptid direncinin hızla artması düşündürücüdür. Hastanemizde VA, TEC, LZD direncine rastlanmamış olması hastalarımız ve hastanemiz açısından sevindiricidir.

Sonuç itibariyle, potansiyel ve ciddi bir nosokomiyal tehdit haline gelen enterokok enfeksiyonlarında ilaç seçerken antibiyotik duyarlılık testlerinden yararlanmak, hem gereksiz ilaç kullanımını engelleyecek, hem de çoklu antibiyotik direnci gelişimini önleyecektir. Dirençli gram pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanmakta olduğumuz ve ülkemizde halihazırda önemli bir direnç problemi olmayan glikopeptid antibiyotikler de, şayet akılcı antibiyotik kullanım kuralları içerisinde kullanılmazlarsa gelecekte gelişebilecek direnç nedeniyle problemlili antibiyotikler haline geleceklerdir.

Tablo 7.1. Ülkemizde Yapılan Çalışmalar

ÜLKEMİZDEKİ ÇALIŞMALAR	YILI	AMP %	CN %	P %	CİP %	IMP %	VA %	TEC %	LZD %
Uluso ve ark.	1995	70	-	-	79	-	-	-	-
Karabiber ve ark.	1995	-	25	-	-	-	-	-	-
Hoşgör ve ark.	1997	-	23	-	-	-	-	-	-
Berkem ve ark.	1997	13,3	30	16,6	-	-	-	-	-
Akıncı ve ark.	1999	21,4	31,4	21,4	-	-	-	-	-
Çınar ve ark.	1999	-	50,5	52,3	-	-	-	-	-
Hasçelik ve ark.	1999	-	30	-	-	-	-	-	-
Akgül ve ark.	1999	-	65	-	-	-	0	-	-
Kocagöz ve ark.	1999	52,5	-	72	-	-	-	-	-
Gökahmetoğlu ve ark.	1999	-	-	-	-	-	0	-	-
Karaca ve ark.	1999	-	-	-	-	-	0	-	-
Aktaş ve ark.	2000	-	31	-	-	-	-	-	-
Baykan ve ark.	2000	74	52	61	22	-	0	-	-
Kaçmaz ve ark.	2004	88	-	20,9	-	-	0	-	-
Meriç ve ark.	2004	82	44	84	-	-	0	-	-
Berzeg	2005	-	58	34	38	34	-	-	-
Ersoy ve ark.	2005	23,1	31,3	25,9	19,0	54,4	-	-	-
Yenişehirli ve ark.	2006	51	40,3	-	70	69,7	0	0	0
Sayiner	2008	100	92	100	-	45	100	100	0
Bu çalışmada	2010	58	58	60	45	53	0	0	0

Tablo 7.2. Yurtdışında Yapılan Çalışmalar

YURT DIŞI ÇALIŞMALAR	YILI	AMP %	CN %	P %	CİP %	IMP %	VA %	TEC %	LZD %
Ruof ve ark.	1990	-	62,6	-	-	-	-	-	-
Sahm ve ark.	1991	-	54,2	-	-	-	-	-	-
Watenakunakum ve ark.	1992	-	62	-	-	-	-	-	-
Grayson ve ark.	1999	-	83	-	-	-	-	-	-
Popesku ve ark.	2001	-	-	15	-	-	-	-	-
Kapoor ve ark.	2005	70	-	100	-	-	-	-	-

8.SONUÇ

Şubat 2009-Mayıs 2010 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik materyalden elde edilen 100 enterokok suşu izole edilmiş ve bunların Vitek2 cihazı ile türleri, dirençlilikleri ve E test ile MIC değerleri araştırılmış antibiyotik direnç profilleri oluşturulmuştur. İzole edilen 100 enterokok suşunun 56'sı *E.fecalis*, 40'ı *E.faceum*, ikisi *E.casseliflavus*, biri *E.gallinarum*, biri *E.avium* olarak belirlendi.

Enterokok izole edilen hastaların 77(%77) yatan hasta 23(%23) ayaktan poliklinik hastası idi. Suşların 43'ü idrar, 25'i yara, 26'sı kan, 6'sı periton mayi, biri vajinal sürüntü mataryelinden izole edilmiştir. Suşlardan 20'si yoğunbakım 19'u genel cerrahi, 15'i çocuk hastalıkları, 12'si dâhiliye, 10'u enfeksiyon, 5'i göğüs hastalıkları, 3'ü kardiyoloji, 3'ü kalp damar cerrahisi, 1'i kadın hastalıkları ve doğum kliniklerindeki hastalardan izole edilmiştir.

AMP, CN, IPM, SXT, CIP, MOX, E, CL, TEC, LZD, VA, TE direnç profili vitek2 cihazı ile araştırıldı. Ayrıca AMP, CN, IPM, P, CIP, LZD, VA, TEC MIC değerleri E-test ile belirlendi sırasıyla : %58 AMP, %56 CN, %49 IPM, %47 CIP, %60P dirençli bulunmuştur. VA, LZD ve TEC direnç görülmemiştir.

Özellikle yoğun bakım, cerrahi klinikleri gibi invaziv girişimlere maruz kalan, geniş spektrumlu antibiyotik kullanan hastalarda, son yıllarda artan sıklıkta enfeksiyonlara neden olan enterokoklar; glikopeptidlere de direnç geliştirmeleri nedeniyle önemli nozokomiyal patojenler arasına girmiştir. Günümüzde hala

glikopeptidler, enterokoklara karşı en etkili ajanlardır. Ancak bu ajanların uygun olmayan kullanılmaları glikopeptid direnci enterokok sıklığının artmasına ve tedavide çıkmaza yol açacaktır.

ÖZET

Bu çalışmada Şubat 2009-Mayıs 2010 tarihleri arasında Ahmet Necdet Sezer Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 enterokok suşunun antibiyotik direnç profilleri çalışmada incelenmiştir.

Bu suşların türleri Vitek2(Biomeriux, Fr) otomatize cihaz ile belirlenmiş daha sonra E-test metodu ile tekrar çalışılmış direnç profilleri ve antibiyotik duyarlılıkları saptanmıştır. İzole edilen 100 enterokok suşunun 56'sı *E.fecalis*, 40'ı *E.faceum*, ikisi *E.casseliflavus*, biri *E.gallinarum*, biri *E.avium* olarak belirlenmiştir.

Enterokok İzole edilen hastaların 77(%77) yatan hasta 23(%23) ayaktan poliklinik hastası idi. Suşların 43'ü idrar, 25'i yara, 26'sı kan, 6'sı periton mayi, biri vajen mataryelinden izole edilmiştir. Suşlardan yirmisi yoğunbakım, ondokuzu genel cerrahi, onbeşi çocuk hastalıkları, onikisi dâhiliye, onu enfeksiyon, beşi göğüs hastalıkları, üçü kardiyoloji, üçü kalp damar cerrahisi, biri kadın hastalıkları ve doğum kliniklerinde izlenen hastalardan izole edilmiştir.

İncelenen antibiyotiklerden AMP, CN, IPM, CIP, MOX, E, CL, TEC, LZD, VA, TE ait direnç profili ve antibiyotik duyarlılıkları Vitek2 cihazı ile incelendi. Yanısıra AMP, CN, İMP, P, CİP, VA, LZD, TEC, MIC değerleri E -test ile belirlendi; direnç dağılımı ise şöyle sıralanıyordu: %60 P, %58 AMP, %56 CN, %49 IPM, %47 CİP. Buna karşın VA, LZD ve TEC ise direnç görülmemiştir.

Enterokokların önemli nozokomiyal patojenler den biri olduğu göz önüne alındığında tür tayininin, antibiyotik duyarlılığının, araştırılması gerektiği açıktır. Sonuçlardan orta duyarlı veya dirençli suşlar saptandığında MIC değerlerinin belirlenmesinin mutlaka gerekli olduğu belirtilmiştir. Hastanemiz verilerindeki yüksek direnç oranları da bu duruma işaret etmektedir.

Anahtar kelimeler: *E.fecalis*, *E.faceum*, Vitek2, E-test, Glikopeptit direnci.

SUMMARY

In this study, we aim to determinate antibiotics resistance profiles of 100 Enterococcus strain, isolated from several clinical samples which were sent to Ahmet Necdet Sezer Research Hospital Microbiyology Laboratory between February 2009 and May 2010.

The types of these strains were determined with Vitek2(Biomeriux, Fr) automatizel system method and resistance profiles and antibiotics suseptibilities were also obtained from the system of the 56 isolated enterococcus strains were found to be *E.fecalis*, 40 of them *E.fecaum*, two of them *E. casseliflavus*, one of them *E.gallinarum*, and one of them as *E.avium*, of the enterococcus isolated 77 % patients were hospitalized and 23 % of them were outpatients. Distrubitior as folloming, 43 of the strains were isolated from urinary, 25 of them were from wound, 26 of them from blood, six of them from vaginal material. Twenty of the strains were isolated from the patients monitored at intensive care unit, 19 of them from general surgery, 15 of them from pediatrics, 12 of them from internal medicine, 10 of them from infection disease clinics, five of them from breast disease, three of them from cardiology, three of them from cardiovasculer clinics, one of them from gyncoleological diseases clinics.

Resistance profiles and antibiotics suseptibilities to AMP, CN, IPM SXT, CIP, MOX, CL, TEC, LZD, VA and TE were examined with Vitek2 device.according to global database on the instrument. In addition, MIC values of AMP, CN, IPM, P, CIP, VA, LZD and TEC were tested by E-test, and resistance rates were ranking as

follows; 60% P, 58% AMP, 56% CN, 49% IPM, 47% CIP. Any resistance to VA, LZD and TEC were shown. Enterococcus as a nosocomial pathogen, it is essential to perform analyses of strain identification and antibiotics susceptibility must be a one in the case of resistant strains are detected MIC breakpoints should be examined precisely. The results of this study indicates that the resistance profile is quite high among Enterococcus strains in our hospital.

Keywords: *E.fecalis*, *E.faceum*, Vitek2, E-test, Glicopeptide resistant.

KAYNAKLAR

- AKGUL, S.G., SUMERKAN, B.(1999) Enterokok Turlerinde Vankomisin ve Yuksek Duzey Aminoglikozid Direncinin Arastinlmasi. infeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection), 13(1): 67-70.
- AKINCI E, BALIK İ, TEKELİ E.(1999) Klinik Orneklerden İzole Edilen Enterokok Turlerinin Antimikrobiyal Duyarlılığının Belirlenmesi. Flora ; 4(1): 40-45.
- AKTAS, O.H., OZGENC, O., URBARH, A., INAN, N., Sungur, M.A. (2000) Enterokok Turlerinde Yuksek Duzey Aminoglikozid Direncinin Araştınlması (27). ANKEM Dergisi: 14 (No. 2). Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 40 (11): 2605 – 9.
- AYATS J, TUBAU F, CİSNAL MC, DOMİNGUEZ MA, LİNARES J.(1999-2000) “Prevalance of Antimicrobial Resistance of Enterococcus Species İsolated from Blood in Adult Patiens Clin. Microbiol. And Infect. Vol 6, suppl 1: 111.
- BARRİE PS, CHRİSTOU NV, PATCHEN DELLİNGE E, (1990) “Patogenicity of The Enterococcus in Surgical Infections” Annals of Surgery: 212, 155-159.
- BAŞUSTAOĞLU A, OZYURT M, BEYAZ C, ALTUN B, AYDOĞAN H, HAZNEDAROĞLU T, UNAL S, YALCIN A.(2000) “Kan Kulturlerinden İzole Edilen Glikopeptid Direncli E.faecium”. Flora ; 5(2): 142-147.
- BAŞUSTAOĞLU A.(2001) Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve çözüm önerileri: Glikopeptidlere direnç. Hastane infeksiyonları, 5 (3): 202-9.
- BAŞUSTAOĞLU A.(2004) Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu. Ed:Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. Gram Pozitif Bakteri infeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 141-158.
- BAŞUSTAOĞLU A., ÖZYURT M.(2000) Kan kültürlerinden izole edilen
- BAYKAN, M., KAYA, M., ARSLAN, U., BAYSAL, B. (2000) idrar Orneklerinden

izole Edilen Enterokokların in-Vitro Antibiyotik Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi
ANKEM Dergisi: 14 (No. 2).

BERKEM, R., USTUN, C, ACAR, N.S.(1997) Ankara Hastanesi'nde izole edilen enterokok türlerinin in vitro antibiyotik direnci. 8. Turk Klinik Mikrobiyoloji ve enfeksiyon Hastalıkları Kongresi-Antalya, Abstract N-3, 1997

BERZEG D.(2005) Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği çeşitli klinik materyallerden izole edilen enterokok suşlarında antibiyotik direnci, yüksek düzey aminoglikozid direnci ve e test ile vankomisin mik değerlerinin değerlendirilmesi,2-70.

BİLGEHAN H,(1995) “Gram Pozitif Koklar” Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 2. Baskı. İzmir: Şafak Matbaacılık: 493-517.

BİLGEHAN H,(1995) “Streptokoklar” Klinik Mikrobiyoloji. Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 9. Basım. İzmir: Şafak Matbaacılık, 1995:248-286.

ÇETİNKAYA Y,(2000) Vankomisine Dirençli Enterokoklar: Epidemiyoloji ve Kontrol. Flora. 5(1): 24-33.

ÇETİNKAYA Y., FALK P., MAYHALL CG.(2000) Vancomycin-resistant enterococci. Clin. Microbiol. Rev. 13:686-707.

CHENOWETH C, SCHABERG D.(1990) “The Epidemiology of Enterococcus” . Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. : 80-89.

ÇINAR T, LEBLEBİCİOĞLU H, SÜNBÜL M, EROĞLU C, ESEN Ş, GÜLAYDIN M.(1999) Enterokoklarda Yüksek Düzey Gentamisin ve Streptomisin Direncinin Araştırılması. Flora; 4(2): 114-119.

CLSI, (2009);National Committee for Clinical Laboratory Standards

COQUE T. M., TOMAYKO J. F.(1996). Vancomycin resistant enterococci from

DİROSA R, CECCHİNİ R, BERTUCCİNİ L, PENNİ A, GHENARDİ G, DİCUANZO G, VENDİTTİ M, BALDASSARİ L.(2000) “Clinical Significance of Slime Production in Enterococcus spp”. Clin. Microbiol. And Infect. Vol 6, suppl 1, 154.

DOMBRADİ Z,BİHARİ Z,HORVATH K,SZABO J.(2010),Comparison Of The Vitek2 System With The E-Test For The Determination Of Glycopeptide

Susceptibility Of VanA And VanC Positive Enterococci. *Acta Microbiol Immunol Hung.*57(3):157-63

ELİOPOULOS GM, ELİOPOULOS CT.(1990) Therapy of Enterococcal Infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis:* 118-126.

Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnci Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, TOKAT

ERSOY Y, SÖNMEZ E, YOUNG HJ, AĞEL E, DURMAZ B,(2001) Malatya ve komşu illerden izole edilen enterokok izolatlarındaki glikopeptid direnci, *Mikrobiyol Bült,* 35:197.

ESEN Ş, SUNBUL M, BARUT Ş, EROĞLU C, SANIC A, LEBLEBİCİOĞLU H.(2001) “Glikopeptid, Beta Laktam ve Aminoglikozit Grubu Antibiyotiklerin Enterokoklara İn vitro Etkinliği”. *Ankem Derg;* 15(1): 59-63.

FACKLAM RR, SAHM DF, TEIXERIA LM.(1999) “Enterococcus”. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover RH. In *Manual of Clinical Microbiology,* 7th Ed. Washington: American Society for Microbiology.

faecium suşu. *Ankem Derg,* 1999; 13: 1 – 5.

glikopeptid direnci *E. faecium.* *Flora* 5: 142-7.

GOKAHMETOĞLU S, SUMERKAN B, EŞEL D, KARAGOZ S.(1999) Kulturlerinden İzole edilen Enterokok Suşlarının Vankomisin ve Yüksek Düzey Aminoglikozit Dirençlerinin Araştırılması”. *Ankem Derg;* 13(1): 57-62.

GÜLTEKİN M, GÜNSEREN F.(2000) Vankomisine Dirençli Enterokoklar. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi,* 4: 195-204.

GÜLTEKİN M.(2004) Enterokoklar: Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenez.

HALLGREN D, HANBERGER H, HOSSAIN A, NILSSON M, SVENSON E, NILSSON LE.(2000) Activity of Common and New Antimicrobial Agents Against Enterococci at Intensive Care Units in Sweden”. *Clin. Microbiol. And Infect. Vol 6,* suppl 1: 127.

HANDWERGER S., RAUCHER B., ALTARAC D.(1993) Nosocomial outbreak due to *E. faecium* highly resistant to vancomycin, penicilline, and gentamicin. *Clin.*

- HENWOOD C, LİVERMORE D, JOHNSON A, JAMES D, WARNER M.(2000) “Susceptibility of Gram Positive Cocci from 25 UK Hospitals to Linezolid and Other Antibiotics. Clin. Microbiol. And Infect. Vol 6, suppl 1: 86.
- HERWALDT LA, WENZEL RP(1995) Dynamics of hospital acquired infection. Manuel of Clinical Microbiology, 6th edition (Eds: Murray PR, Baron GJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolkan RH)da. Washington, American Society for Microbiology, 169-181.
- HOLT JG, KRİEG NR, SNEATH PHA, STALEY JT, WILLİAMS ST.(1994) “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”. 9th Ed. Baltimore: Williams& Willkins.
- HOLT JG, KRIEG NR, SNEATH PHA, STALEY JT, WILLİAMS ST:(1994) Gram positive cocci. Bergey*s Manuel of Determinative Bacteriology, 9th edition. Baltimore, Williams-Wilkins, 527-528
- HOŞGÖR M, ÇAVUŞOĞLU C, TÜNGERA,ÖZİNEL MA (1997) Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozit direnci, enfeksiyon Derg,11:7.
- HUYCKE MM, SAHM DF, GLİMORE MS.(1998) Multiple Drug Resistant Enterococcus; The Nature of the Problem and Agenda for the Future. Emerging Infectious Diseases. 4(2): 239-249.
Infect. Dis. 16: 750 – 5.
- JONES, R.N., ERWİN, M.E., ANDERSON, S.C.(1995) : Emerging Multiply Resistant Enterococci Among Clinical Isolates II. Validation of the E Test to Recognize Glycopeptide-Resistant Strains. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 21: 95-100,
- JOSHİ N, MİLFRED D, CAPUTO G.(1997) “Vankomisine Dirençli Enterokoklar: Bir Değerlendirme.” IDCP Enfeksiyon Hastalıkları Klinik Uygulamaları: sayı 5:14-21.
- JOSHI, N., MILFRED, D., CAPUTO, G.(1996) : Vancomycin-Resistant Enterococci : An Evaluation. Infectious Diseases in Clinical Practice, 5 : 528-537.
- KAÇMAZ B, AKÇA G, SULTAN N. (2004) Enterokokların antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması. Enfeksiyon Dergisi ,18:287-92.

KAPOOR L, RANDHAWAVS,DEBM (2005)Antimicrobial resistance of enterococcal blood isolates at a pediatric care hospital in India, Jpn J Infect Dis 58:101.

KARABİBER, N., KARAHAN, M.(1995): Cesitli Klinik Orneklerden izole Edilen Enterokok Suslarmda Yuksek Duzeyde Streptomisin Ve Gentamisin Direnci. ANKEM Dergisi, 9(1): 1-7.

KARACA YK, PULLUKCU HD, AYDEMİR SA, TUNGER AT, OZKAN FO, OZİNEL MA.(2001) “Antibiotic Susceptibility and Beta Lactamase Activity of Enterococci İsolates”. Clin. Microbiol. And Infect. Vol 7, suppl 1:1-394.

KARADENİZLİ, A.Y., KOLAYLI, F., BUDAK, F.(1999) : Çesitli klinik örneklerden izole edilen Enterococcus turlerinin saptanmasi ve beta-laktamaz aktivitelerinin araştırılması. KLİNİK 99, 3-8 Ekim 1999-Antalya 9. Turk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi Program ve Özet Kitabı: 216 (P181),

KARAGÖZ G D. (2005)Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği Yoğun Bakım Ünitesinde Vankomisin Dirençli Enterokok Taşıyıcılığının Araştırılması,5-65.

KAWALEC M, KAMİNSKA T, HRYNIEWICZ W.(2000) “Evaluations of Vitek GPS-514 Cards in Detection of Vankomisin and YDAD in Enterococci”. Clin. Microbiol. And Infect. Vol 6, suppl 1, 172.

KAYAALP, S.O.(1998) : Aminoglikozidler. Rasyonel Tedavi Yönünden Tibbi Farmakoloji, Hacettepe-Tas, 1. Cilt, 8. Baski , S : 259-268.

KOCAGÖZ, S.(1999): Türkiyede ilk Defa Glikopeptit Dirençli Enterokok Tanımlanması. ANKEM Dergisi, 13 (1): 5-6.

KOCAGOZ, S., CETINKAYA, Y., UZUN, O., AKOVA, M., HASCELİK, G., UNAL, S.(1997): Hastane enfeksiyonlarından izole Edilmiş Stafilokok ve Enterokok Suşlarının Çesitli Antibiyotiklere In Vitro Duyarlılıkları. Flora, 4: 284-287.

KOHNER, P.C., PATEL, R., UHL, J.R., GARIN, K.M., HOPKINS, M.K., WEGENER, L.T., COCKERILL, F.R.(1997): Comparison of Agar Dilution, Broth Microdilution, E Test, Disk Diffusion and Automated Vitek Methods for Testing

Susceptibilities of *Enterococcus* spp. To Vancomycin. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 35. No. 12 : 3258-3263.

KONEMAN E.(1997)W, Allen S.D, Janda W.M, et al. “The Gram Positive Cocci Part II Streptococci, Enterococci and The Streptococci Like Bacteria”. In *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5th Ed. Philadelphia: Lippincott: 577-629.

KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., JANDA, W.M., SCHRECKENBERGER, P.C.WINN, W.C.(2006): *Identification of Enterococcus Species - Kit Systems For Identifying Enterococci*. *Diagnostic Microbiology*. New York, Lippincott-Raven Publishers, 597-649.

KORTEN V, MURRAY BE, GILLESPIES(1997) “Enterococci in Principles and Practise of Clinical Bacteriology. 1th Ed. Chichester: John Wiley & Sons: 93-108.

KORTEN V,(1996) “Enterokokal Enfeksiyonlar”. İlicin G, Biberoglu K, Unal S, Suleymanlar G. *Temel İç Hastalıkları*. Ankara. Melisa Matbaacılık, cilt 2: 2173-2175.

KORTEN, V., MURRAY, B.E.(1997): *Enterococcus. Principles and Practice of Clinical Bacteriology*, John Wiley & Sons Ltd, 93-107.

LECLERQ, R.(1997): Enterococci Acquire New Kinds of Resistance. *Clinical Infectious Diseases* 24, (Suppl. 1): S80-84.

LECLERQ, R.(1997): In vitro activity of new oxazolidinones, eperozolid and linezolid against enterococci. *Clin. Microbiol. Infect.*, 3 : 288-289.

LECLERQ, R., BINGEN, E., SU Q.H.(1991): Effects of combinations of B-lactams, daptomycin, gentamisin and glycopeptides against glycopeptide resistant enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 35 : 92-98.

MALATHUM K., MURRAY B. E.(1999) Vancomycin-resistant enterococci, drug resistance updates.2:224-43.

MATO R, DE LANCESTE H, TAMA SZA.(1993) Multiplicity of Genetic Backgrounds of 92 Among Vancomycine Resistant *E.faecium* Isolates Recovered from an Outbreak of in a NewYork City Hospital. *Microbiol. Drug. Res.* 1996; 2:

- 309-317. 27-Centers for Diseases Control and Prevention. United States, MMWR 1993; 42: 597-599.
- MCDONALD LC, LAUDERDALE TL, SHIAU YR, (2004) The status of antimicrobial resistance in Taiwan among grampositive pathogens: The Taiwan Surveillance of Antimicrobial Resistance (TSAR) programme, 2000. *Int JAntimicrobAgents*,23:362-70.
- MERİÇ M, RÜZGAR M, GÜNDES S, WİLLKE A.,(2004) Hastanede yatan hastalardan izole edilen enterokok türleri ve antibiyotiklere direnç durumu. *ANKEM Derg*,18:141-4.
- MİROVIĆ V, CİTİĆ J, TOMANOVIĆ B, NONKOVIĆ Z.(2000) “Antimicrobial Resistance of Enterococci from Clinical Specimens”. *Clin. Microbiol. And Infect.* Vol 6, suppl 1:171.
- MOADDAB SR, TORECİ K.(1999) Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnci. *Ankem Derg*; 13(2): 104
- MOELLERİNG J.C,(2000) “Enterococcus Species”. In Mandell G. L, et al. *Principles and Practise of Infectious Diseases*, 5th Ed. NewYork: Churcill Livingstone: 2147-2156.
- MOELLERİNG R. C.(1992) Emergence of Enterococcus as a significant pathogen. *Clin.Infect. Dis.* 14: 1173 - 78.
- MURRAY BE, (2000)Vancomycine Resistant Enterococcal Infections. *N. Eng. J. Med*: 342: 710-721.
- MURRAY BE,(1998) “Diversity Among Multidrug Resistant Enterococcus”. *Emerging Infectious Diseases.* (1): 37-47.
- nosocomial, community, and animal sources in the United States.
- OZGEN B, GURLER N, ESEN F, KARAYAZ S, TORECİ K(1999). Glikopeptidlere ve Denendiği Butun Antibiyotiklere Dirençli E.faecium suşu. *Ankem Derg*; 13(4): 501-505.
- PABERZA R, MAJORE A, LUZBİNSKA L, HROMOVA S.(20009 “Invitro Resistance of Antibiotic Against Gram Positive Cocci in Latvia”. *Clin. Microbiol. And Infect.* Vol 6, suppl 1: 104.

- POPESCU C, POPESCU G, BURDUJA G, MOROTI R, GAVRISU L.(2001) "Infectious with Enterococci Estimation of Change in Drug Susceptibility. Correlations with Clinical Features and Prognosis." ". Clin. Microbiol. And Infect. Vol 7, suppl 1:1-394.
- RICE L. B.(2001) Emergence of vancomycin-resistant enterococci. Emerging Infectious Diseases 7:183-7
- RUHI, M.Z., AYSEV, D, AKSU, G.(1997) AOTF Çocuk Hastalıkları Kliniği'nde izole edilen enterokok türlerine göre dağılımı ve antimikrobiklere direnç durumu. 8. Türk KLİMİK Kongresi-Antalya, Abstr. N-7.
- RUOFF, K.L., MAZA, L, MURTAGH, M.J., SPORGO, J.D., FERRARO, M.J. (1990) Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. Journal of Clinical Microbiology , 28 (3): 435-437.
- SADER H, FARRELL D, JONES R.(2010),Antimicrobial Susceptibility Of Gram-Positive Cocci Isolated From Skin And Skin-Structure Infections In European Medical Centres. Jul;36(1):28-32
- SAHM, D., BOONLAYANGOR, S., SCHULZ, J.E. (1991) Detection of high level aminoglycoside resistance in enterococci other than *Enterococcus faecalis*. Journal of Clinical Microbiology, 29 (11): 2595-2598.
- SAYINER H.S.(2008)Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği surveyansla saptanan VRE'lerin dağılımı, antibiyotik duyarlılıkları ve kolonize hastalarda risk faktörlerinin değerlendirilmesi,1-65
- SCHABERG DR, CULVER DH, GAYNES RP.(1991) Major Trends in the Microbial Etiology of Nosocomial Infections. Am. J. Med ; (suppl 3B):72-75.
- SCOTT G. M. S.(2000) "Enterokoklarda Vankomisin Direnci ile Mücadele".
- ŞEKERCİOĞLU AO, VURAL T, COLAK D, OĞUNC D, ONGUT G.(1998) "Kan Kültürlerinden İzole edilen Enterokok Türlerinin Antibiyotik Duyarlılık ve Yüksek Düzey Gentamisin Dirençliliklerinin Saptanması". Ankem Derg;12(2): 114.

- ŞEKERCİOĞLU AO, VURAL T, OĞUNC D, COLAK D, ONGUT G.(1998) “İdrar Kulturlerinden İzole 93 Edilen E.faecalis Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları ve Yüksek Düzey Gentamisin Direncinin Saptanması. *Ankem Derg*; 12(2): 115.
- STOSOR V, NOSKİN GA, PETERSON LR.(1996) “The Management of VRE” . *Infect. Med.* 91 1996; 13(6): 487-488, 493-498.
- TAILOR, A.N.S., BAILEY, E., RYBAK, M.J.(1993) *Enterococcus*, an emerging pathogen. *Annual Pharmacotherapy*, 27 : 1231-1241.
- TOĞAY S, KESKİN A, AÇIK L, TEMİZ A,(2010),Virulence Genes,Antibiotic Resistance And Plasmid Profiles Of Enterococcus Faecalis And Enterococcus Faecium From Naturally Fermented Turkish Foods.*Appl Microbiol* 109(3):1084-92
- TORUN MM, BAHAR H, ALTINKUM S, YUKSEL P.(1999) Enterokoklarda Yüksek Düzey Aminoglikozit ve Vankomisin Direnci Araştırılması. *Ankem Derg.* 1999; 13(2): 105.
- TOUTOUZA M, SKANDAMİ V, POUJIOUKO-BER M, FAKİRİ H, KARABASSİ V, KOMNİNOU Z.(2001) “Resistance Phenotypes in Enterococci Isolated from Clinical Specimens During 3 year period. *Clin. Microbiol. And Infect.* Vol 6, suppl 1: 1-394.
- UDO E, AL-SWEİSH N, JOHN P, JACOB L, CHUGH T.(2001) “Antibiotic Resistance Patterns of Enterococci Isolated in Kuwait Hospitals” . *Clin. Microbiol. And Infect.* Vol 7, suppl:1-394.
- ULUSOY, S., HOSGOR, M., OZKAN, F., OZINEL, MA, TOKBAS, A. (1995) *Enterococcus faecalis*Ve *Enterococcus faecium*'un Antibiyotik Direncinin Arastinlmasi. *ANKEM Dergisi*, 9(1): 12-16.
- UNAL S, VAHABOĞLU H. (2000) Bakteriyel Direnç Sorunu.
- UNAL S,(1993) “Gram Pozitif Bakterilerde Değişik antibiyotiklere Direnc Mekanizmaları”. Akalın E, Akan O. A, Gur D, Ozkuyumcu C, Akalın S.Direnç Mekanizmaları ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri.
- UNAT E.(1986) K, “Gram Pozitif Koklar” Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, 2. Baskı. İstanbul: Emek Matbaacılık, 1986: 429-480.
- VURAL T, ŞEKERCİOĞLU AO, ÖĞÜNÇ D, (1999) Vankomisine direncii E.

VURAL T, ŞEKERCİOĞLU AO, OĞUNC D, GULTEKİN M, COLAK D, YEŞİLİPEK A, UNAL S, KOCAGOZ S, MUTLU G.(1999) “Vankomisine Dirençli E.faecium Suşu”. Ankem Derg; 13 (1): 1-4.

WATANAKUNAKORN, C.(1992) Rapid increase in the prevalence of high level aminoglycoside resistance among enterococci isolated from blood cultures during 1989-1991. Journal of Antimicrob. Chemother, 30 : 289-293 , 1992.

YAMANE N, MİYAGAMA S, NOKASONE I, SAKAMATO F, TOSAHO M.(1997) “Laboratory 94 Evaluation of Antimicrobial Susceptibility Testings to Detect VRE”. Jpn. J. Clin. Pathol; 45: 381-390.Yayınevi; 121 – 40.

YENİSEHİRLİ G., BULUT Y., (2006)Yogun Bakım Ünitesinden İzole Edilen YILDIRIM M. (2007) Enterokoklar ve Enterokoklarla Gelisen Enfeksiyonlar Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2: 46-52

YUCE A, OZKUTUK A, GULAY Z, YULUĞ N.(1999) “Enterokoklarda Aminoglikozit ve Vankomisin Direncinin Araştırılması. Ankem Derg; 13(2): 105.

ZAREBA T, DUSZYNSKA A, STANKIEWICZ B, TYSKI S.(2000) “Invitro Activity of Antimicrobial Agents Clinical Isolates of Enterococci”. Clin. Microbiol. And Infect. Vol 6, suppl 1, 102.