

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

İSHALLİ ÇOCUKLARIN DIŞKILARINDAN İZOLE EDİLEN
ENTEROKOKLARDA VANKOMİSİN DİRENCİ VE YÜKSEK DÜZEYDE
AMİNOGLİKOZİT DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Figen KOÇ

UZMANLIK TEZİ

KIRIKKALE

2009

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**İSHALLİ ÇOCUKLARIN DIŞKILARINDAN İZOLE EDİLEN
ENTEROKOKLARDA VANKOMİSİN DİRENCİ VE YÜKSEK DÜZEYDE
AMİNOGLİKOZİT DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Figen KOÇ
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Latife İŞERİ**

KIRIKKALE

2009

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan “İSHALLİ ÇOCUKLARIN DIŞKILARINDAN İZOLE EDİLEN ENTEROKOKLARDA VANKOMİSİN DİRENCİ VE YÜKSEK DÜZEYDE AMİNOGLİKOZİT DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI” isimli çalışma aşağıdaki jüri tarafından Dr. Figen KOÇ’un UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:12.08.2009

Prof. Dr. J. Sedef GÖÇMEN
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Başkanı
Jüri Başkanı

Yrd. Doç. Dr. Teoman Zafer APAN
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Latife İŞERİ
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitim süresince bizlerle yakından ilgilenen, her türlü konuda bana destek olan ve tez çalışmam sırasında sonsuz katkılarından dolayı başta değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Latife İŞERİ olmak üzere, sevgili hocalarım Prof. Dr. J. Sedef GÖÇMEN, Yrd. Doç. Dr. Teoman Zafer APAN ve Yrd. Doç. Dr. Altan AKSOY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamdaki katkılarından dolayı Diba NURİSTANİ İSMAİLOğLU ve Doç. Dr. İŐtar DOLAPÇI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan manevi desteklerini esirgemeyen değerli aileme, sevgili eşim Abdullah KOÇ' a teşekkür ederim.

Dr. Figen KOÇ

ÖZET

KOÇ F, ishali çocukların dışkılarından izole edilen enterokoklarda vankomisin direnci ve yüksek seviyede aminoglikozit direncinin araştırılması, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2009.

Amaç: Bu çalışmada amacımız; ishali çocukların feçeşlerinden izole edilen enterokokların vankomisine ve yüksek seviyede aminoglikozitlere direncini incelemektir. **Gereç ve yöntem:** Enterokoklar geleneksel yöntemlerle tanımlandı. Suşların vankomisine direnci (VD) ve yüksek seviyede aminoglikozitlere direnci (YSAD) agar tarama metodu ile test edildi. VD ve YSAD suşlar, ticari identifikasyon kiti ile tiplendirildi. Bunların ampisilin (A), eritromisin (E), tetrasiklin (T), rifampin (R),e kloramfenikol (C)'e dirençleri standart disk düffüzyon yöntemi ile araştırıldı. **Sonuçlar:** Toplam 379 enterokok izole edildi. Kırk üç enterokok (%11), vankomisin ve/veya yüksek seviyede aminoglikozitlere dirençliydi. Vankomisine dirençli enterokokların (VRE) %4,4'ü ishali dışkılarından, %2,3'ü sağlıklı dışkılarından saptandı. Streptomisine yüksek seviyede direnç (%8) ve gentamisinde yüksek seviyede direnç (%4) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. (P=0.008). Tüm YSAD'li suşlar A, R, C, E, T'ye yüksek oranlarda dirence sahipti. VR ve/veya HLRA *E. faecalis*'lar ishali feçeşlerde sağlıklı feçeşlerden daha sıklıkla izole edildi. İshali hastalarda ciddi bir patojen olan *E. faecalis* türü nadiren patojenite gösteren *E. casseliflavus*'lara göre daha sık gözlendi. Sonuç olarak ishali dışkıları, vankomisin ve/veya YSA'lere dirençli *E. faecalis*'lerin toplumda kontrolsüzce yayılımında önemli bir risk faktörüdür.

Anahtar Sözcükler: Vankomisin dirençli enterokok, yüksek seviyede aminoglikozit direnci, ishali çocuk, VRE, YSAD

Destekleyen kurum: Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (proje no: 2006/49)

ABSTRACT

KOÇ F, “Investigation of high level resistance to aminoglycosides and resistance to vancomycin of enterococci isolated from feces of diarrheal children.” University of Kırıkkale, Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Specialization Thesis, Kırıkkale 2009.

Aim: In this study, our aim was to investigate the resistance to vancomycin (VR) and high-level resistance to aminoglycosides (HLRA) of enterococci isolated from feces of diarrheal children. **Material(s) and Method(s):** The enterococci were described by traditional methods. The VR and HLRA of strains were tested by agar scanning method. VR and HLRA strains were typed by commercial identification kit and they were tested for their sensitivity to ampicillin (A), erythromycin (E), rifampin (R), chloramphenicol (C), tetracycline (T) using the Standard disk-diffusion method.

Results: Totally 379 enterococci were isolated. Fourty three (%11) enterococci were resistant to vancomycin and/or highly resistant to aminoglycosides. 4.4% of vancomycin-resistant-enterococci (VRE) was from diarrheal feces, and %2.3 was from healthy feces. There was a statistically significant difference between high level resistance to streptomycin (%8) and gentamicin (%4) (P= 0.008). All HLRA strains had high resistance to A, R, C,E and T. The VRE and HLRA *E. faecalis* were more frequently isolated in diarrheal feces than in healthy feces. *E. faecalis*, which is a pathogenic strain, was found more frequent than seldom pathogenic *E. casseliflavus* in diarrheal samples. In conclusion, diarrheal feces is an important risk factor on uncontrolled spread of VR and/or HLRA, *E. faecalis* in the community.

Key words: Vancomycin resistant enterococci, high level aminoglycoside resistance, diarrheal child. VRE, HLRA

Supported by: Kırıkkale University Scientific Research Projects Coordination Unit (proje number: 2006/49)

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA NO</u>
ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
TABLolar	ix
GİRİŞ	1
ENTEROKOKLAR	3
2.1. Tarihçe	3
2.2 Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri	3
2.3. Enterokok Tanımlamasında Kullanılan Testler	6
2.3.1. Katalaz testi	6
2.3.2. Safra-eskulin testi	6
2.3.3. % 6,5' luk NaCl üreme testi	6
2.3.4. PYR (pirolidonil-β-naftilamidi) testi	7
2.3.5. Hareket testi	7
2.4. Enterokokların Sınıflandırılması	7
2.5. Direnç	10
2.6 Patojenite ve Virülans Faktörleri	10
2.7 Epidemiyoloji	11
2.8 Yaptıkları Hastalıklar	12
2.8.1. Hastane enfeksiyonları	13
2.8.2. Üriner sistem enfeksiyonları	13
2.8.3. Endokardit	13
2.8.4. Bakteriyemi	14

2.8.5. Karın içi ve pelvik enfeksiyonları	14
2.8.6. Yara ve yumuşak doku enfeksiyonları	15
2.8.7. Menenjit	15
2.8.8. Pediatrik enfeksiyonlar	15
2.8.9. Kateter ilişkili bakteriyemi	16
2.8.10. İmmun sistemi baskılanmış hastalar	16
2.9. Antimikrobiyal Direnç	16
2.9.1. Doğal direnç	17
2.9.2. Kazanılmış direnç	17
2.10. Enterokok ve Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları	18
2.10.1. Kloramfenikol, eritromisin ve klindamisin direnci	18
2.10.2. Tetrasiklin direnci	18
2.10.3. Aminoglikozit direnci	18
2.10.3.1. Permeabiliteye bağlı direnç	19
2.10.3.2. Aminoglikozit modifiye edici enzimlere bağlı direnç	19
2.10.3.3. Ribozomal direnç	20
2.10.4. Vankomisin direnci	20
2.10.4.1 Türkiyede VRE bildirim	23
2.11. Enterokok Enfeksiyonlarında Tedavi	25
2.12. VRE Tedavisi	27
2.13. Korunma ve Kontrol Önlemleri	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM	31
3.1. Suşların Toplanması	31
3.2. Suşların Tanımlanması	31
3.3. Bakterilerin Antibiyotiklere Dirençlerinin İncelenmesi	32
3.3.1. Antibiyotikli agar tarama besiyerleri	32
3.3.2. Birinci aşama	32
3.3.3. İkinci aşama	32
3.3.4. Bakterilerin tiplendirilmesi	33
3.3.5. Üçüncü aşama	33
3.3.5.1 Disk difüzyon testinin yapılışı	33

3.3.6. Moleküler tiplendirme	34
4. SONUÇLAR	35
4.1. Vankomisin Dirençli Suşlar	35
4.2. Vankomisin Dirençli Enterokokların Diğer Antibiyotiklere Dirençleri	37
4.3. Yüksek Seviyede Aminoglikozit Dirençli Enterokoklar	38
4.4. YSAD Olan Suşların Diğer Antibiyotiklere Direnci	39
5.TARTIŞMA	43
5.1. Yüksek Seviyede Aminoglikozit Dirençli Enterokoklar	45
5.2. YSAD Enterokokların Diğer Antibiyotiklere Direnci	46
KAYNAKLAR	48

SİMGELER ve KISALTMALAR

- VRE: Vankomisin dirençli enterokok
YDAD:Yüksek düzey aminoglikozit direnci
PYR: Pirolidonil- β - naftilamidi
MIK: Minimal inhibisyon konsantrasyonunda
PBP5: Penisilin bağlayıcı proteinlerin
NNIS: National Nosocomial Infections Study System
YDSD:Yüksek düzey streptomisin direnci
BHI: Kalp beyin infüzyon .
LAP: Lösün- β - naftilamidi
CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

TABLULAR

Tablo	Sayfa
2.1. Fakultatif anaerobik, katalaz negatif, gram pozitif kokların fenotipik Özellikleri	5
2.2. Enterokok Türlerinin Gruplara Ayrılması ve Fenotipik Özellikleri	9
2.3. Glikopeptidlere Dirençli Enterokoklarda Genotipik ve Fenotipik Özellikler	22
2. 4. Türkiyede VRE Bildirimi	24
4. 1. Vankomisin Dirençli Enterokokların Özellikleri	36
4. 2. Vankomisin Dirençli Enterokokların Antibiyotiklere Direnç Oranları	38
4.3. Enterokoklar Arasında Yüksek Seviyede Aminoglikozit Direncinin Dağılımı	38
4.4. YSAD Suşların Diğer Antibiyotiklere Dirençleri	40
4.5. Enterokokların Türlerine Göre Direnç Durumları	42

1.GİRİŞ

Enterokoklar insan ve hayvanların bağırsaklarında, normal flora üyesi olarak bulunmaktadır (1). Yenidoğanların yaklaşık yarısı doğumdan sonraki ilk haftada enterokok ile kolonize olur (2, 3). Dış ortam koşullarına dayanıklı, virülansı düşük bir bakteri olarak tanınan enterokokların adı son zamanlarda önemli hastane enfeksiyonu etkenleri arasında sıklıkla yer almaktadır. Bu mikroorganizma; duyarlı popülasyon hızında ve damar içi katater kullanımında artış, hastanede yatış süresinde uzama, antibiyotiklerin yoğun kullanımı sonucu direnç gelişimi gibi birçok etken nedeniyle önemli bir patojen haline gelmiştir (2,4).

Önceleri hastanede yatan olgulardan izole edilen, enterokokların tamamının endojen barsak florasından kaynaklandığı düşünülmekteydi. Fakat çoklu ilaç direnci gösteren enterokokların artışı sonucu yapılan epidemiyolojik çalışmalar bu mikroorganizmaların hastane ortamında yayıldığını göstermiştir (2,3). Bu bakterilerin barsak florasında bulunması hastanede yayılımında temel risk faktörüdür (4).Enterokoklar hastane ortamında bulunan, tanı ve tedavi amacıyla kullanılan aletler, kapı tokmağı, yatak, komidin gibi cansız eşyaların üzerinde uzun süre canlı kalabilirler. Ortamda bulaşlı halde bulunan bu maddelerin ortak kullanımı ile ya da hasta-hasta, hasta-sağlık personeli temasıyla kolaylıkla yayılarak hastane enfeksiyonlarına yol açabilirler (2, 3, 5–7).

Bu bakterinin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisi direnç gelişimi nedeniyle gittikçe zorlaşmaktadır. Bakteri duvarının aminoglikozitlere karşı geçirgenliğinin düşük olması nedeniyle enterokoklar, aminoglikozit antibiyotiklere düşük düzeyde doğal dirence sahiptirler (7). Bu antibiyotikler, beta-laktam antibiyotik ya da vankomisin gibi hücre duvar sentezini engelleyen bir antibiyotikle kombine edilirse, aminoglikozitlerin minimal inhibisyon konsantrasyonunda (MİK) önemli düşüşler olur (7–10). Enterokokların tedavisinde penisilin aminoglikozit kombinasyonu en etkili tedavi uygulamalarından biridir. Penisilinler hücre duvar sentezini bozarak aminoglikozitlerin geçişini kolaylaştırırlar. Sinerjistik etki oluşur ve tedavide bu kombinasyon sıklıkla kullanılır (7,11). Fakat söz konusu kombinasyondaki antibiyotiklerden birine direnç geliştiğinde, sinerjistik bakterisidal etki doğal olarak

ortadan kalkar (12,13). Bu ise önemli bir tedavi avantajının ortadan kalkması demektir. Yüksek seviye aminoglikozit direncinden (YSAD) genellikle aminoglikozit modifiye edici enzim sorumludur (13). Son yıllarda; enterokoklar mobil genetik elementler (plasmid ve transpozonlar) aracılığıyla belirgin bir şekilde yüksek seviyede aminoglikozit direnci kazanmıştır (14).

Vankomisin, çoklu ilaç direnci gösteren enterokok suşlarının tedavisinde önemli bir seçenektir. Enterokok direncinde en önemli sorun 1988 yılında İngiltere ve Fransa'dan vankomisine dirençli *E. faecalis* suşları rapor edilmesi ile başlamış ve 1990'lı yıllardan itibaren de bu bildirimlerin sayısı gittikçe artmıştır (2, 15–18). Türkiye'de ise ilk vankomisin dirençli enterokok (VRE) 1998 yılında Vural ve arkadaşları tarafından Akdeniz Üniversitesi'nden rapor edilmiştir (13,19–21). Vankomisin direnci bir enterokoktan diğerine aktarılabilirliği gibi streptokok ve stafilokoklara da aktarılabilir (2,3,22). Böylece VRE'ler vankomisin direncinin bakteriler arasında yayılmasına da neden olmaktadır.

Avrupa'da erişkinlerin %28'inde VRE kolonizasyonu bildirilmektedir. VRE'lerin %98'ini *E. faecium* oluşturmaktadır. Kolonizasyonu olan kişilerin %10'unda VRE enfeksiyonu gelişebilmektedir. Bu oran hematolojik malignitesi olan olgularda %32–71 kadar artış gösterebilmektedir (23).

Enterokokların en önemli etkileri, immun direnci henüz tam olgunlaşmamış olan yenidoğan, çocuk yoğun bakım üniteleri, hematoloji ve onkoloji ünitelerinde görülmektedir. 1999'da bu etkenin yeni doğan ünitelerinde üçüncü sıklıkta enfeksiyon etkeni olduğu bildirilmiştir (2).

Bu çalışmada amacımız; hastane enfeksiyonlarının önemli bir etkeni olarak görülen enterokokların, çocuklar arasındaki durumunu incelemekti. Çocukların dışkılarından izole edilen ile enterokokların başta vankomisine ve yüksek seviyede aminoglikozidlere olmak üzere çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarını araştırdık. Ayrıca ishali ve sağlıklı çocuk dışkılarını ayrı ayrı değerlendirerek ishalin, dışkı ile enterokok atılımını ne şekilde etkilediğini gözlemledik.

2. ENTEROKOKLAR

2.1. Tarihçe

1906 Andrews ve Holder dışkıdan izole ettikleri, mannitol ve laktozu asit oluşturarak fermente eden, rafinozu kullanmayan gram pozitif koklara *Streptococcus faecalis* adını verir. 1919' da karbonhidrat fermantasyon reaksiyonları farklı olan ikinci bir fekal bakteri cinsi, Orla Jensen tarafından tanımlanarak *Streptococcus faecium* olarak adlandırılır (24,25). Enterokoklar 1984 yılına kadar Lancefield sınıflamasında D grubu streptokoklara dahil ediliyorken, Kilpper - Balz tarafından yapılan genetik çalışmalar sonucunda *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium* suşlarının bu genusun diğer üyelerinden ayrı bir genus olarak ele alınması gerektiği anlaşılmış ve sonraları bu genusa *Enterococcus* denilmiştir (14,25,26). Bu genus içindeki bakteriler; *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. casseliflavus*, *E. malodoratus*, *E. hirae*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. flavescens*, *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E. saccharolyticus*, *E. columbae* ve *E. cecorum* gibi türlere ayrılır.

2.2. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

Enterokoklar tek, ikili ya da kısa zincirler halinde bulunan Gram pozitif koklardır. Gram boyama, agardaki kolonilerinden yapıldığında, kokobasil şeklinde görülürler. Fakültatif anaerop olup en uygun üreme sıcaklığı 35 °C 'dir (26). Birçok köken +10 °C ile +45°C arasında üreyebilir. Bütün kökenler %6,5 NaCl eklenmiş buyyon besiyerinde ürer ve %40 safra tuzlu besiyerinde eskülünü hidrolize eder. Ayrıca pH 9,6'da da üreyebilirler. Kanlı jelozda kolonileri büyükçe, gri, parlak, buğulu görünümde olup alfa veya beta hemolitik ya da non-hemoliktir. *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* dışındaki türler pirolidonil-β naftilamidi (PYR), tüm kökenler lösin-β- naftilamidi (LAP) hidrolize eder. Enterokoklar katalaz

enzimleri içermediklerinden bu reaksiyon negatiftirler. Ancak *E. faecalis*, kan içeren besiyerlerinde üretildiğinde bazen zayıf bir psödokatalaz reaksiyonu gözlenebilir. Glukozdan gaz yapmazlar (2,25–27). *E. flavescen*, *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum* gibi bazı kökenler hareketlidir. *E. faecalis*, *E. faecium*'un tersine %0.04 tellürit içeren ortamda ve agarda siyah koloniler yaparlar. Bu özellikleri enterokokları tanımlamada yeterli ise de daha az rastlanan *Lactococcus*, *Aerococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* türleri gibi Gram pozitif, katalaz negatif koklarda da benzer özellikler bulunur. Bu türlerle enterokokların ayrımı tablo 2.1. de verilmiştir. *Lactococcus* ve *Aerococcus* türleri grup D antiserumu ile reaksiyon vermemeleri, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* türleri de PYR negatif olmaları ile enterokoklardan ayrılırlar (25,27).

Tablo 2.1. Fakültatif anaerobik, katalaz negatif, gram pozitif kokların fenotipik özellikleri (27).

Test	VAN	GAZ	PYR	LAP	%6.5 NaCl	10°C'de Üreme	45°C'de Üreme	Safra-Eskülin	Motilite	Hemo-liz
<i>Vagococcus</i>	S	-	+	+	+	+	v	+	+	α, n
<i>Enterococcus</i>	Sa	-	+	+	+	+	+	+	v	A, β, n
<i>Streptococcus</i>	S	-	-b	+	-d	-	v	-c	-	α, β, n
<i>Lactococcus</i>	S	-	+	+	V	+	V	+	-	α, n
<i>Abiotrophia*</i>	S	-	+	+	+	v	-	-	-	α
<i>Leuconostoc</i>	R	+	-	-	V	+	v	v	-	α, n
<i>Pediococcus</i>	R	-	-	+	V	-	+	v	-	α
<i>Globicatella</i>	S	-	+	-	+	-	-	-	-	α

*: Daha önceden beslenme yönünden eksik (nutritionally- deficient) streptokoklar olarak bilinen mikroorganizmalar. VAN: Vankomisin duyarlılığı, GAZ: Glikozdan gaz oluşumu, LAP: Leucine aminopeptidase yapımı, PYR: L-pyrrolidonyl-B-naphthylamide, +:>%95 pozitif reaksiyon, -:<%5 pozitif reaksiyon, a: vankomisin dirençli suşlar hariç, bazı suşlar dirençli olduğu halde disk çevresinde küçük bir zon oluşturabilir. b: *S. pyogenes*, *S. iniae* ve *S. porcinus* PYR pozitif, diğerleri negatiftir. c: viridans streptokokların %5-10'u safra-eskülin pozitifdir. d: bazı beta-hemolitik streptokoklar %6,5 NaCl'de ürerler. v: değişken.

2.3. Enterokok Tanımlamasında Kullanılan Testler

Hastalardan alınan klinik örnekler; tercihen Columbia koyun kanlı besi yerlerine ekilir. Bu bakteriler 45°C sıcaklıkta üreme özelliğine sahiptir. Etüvde 35 °C da 24–48 saat inkübe edilir. Ertesi gün üreyen koloniler Gram boyanır. Gram pozitif kok olanlara aşağıdaki işlemler uygulanarak enterokok tanımlaması yapılır (28).

2.3.1. Katalaz testi

Katalaz enzimi hidrojen peroksiti parçalayarak su ve oksijene dönüştürür. Enterokoklar katalaz enzimi içermediği için hidrojen poeroksiti parçalayamaz. Katalaz testinden test edilecek koloni lama konularak üzerine %3'lük hidrojen peroksitten damlatılır. Kabarcıklar oluşmaması katalaz negatif reaksiyon olarak değerlendirilir (28).

2.3.2. Safra-eskulin testi

Enterokoklar %40 sığır safrası içeren besiyerinde üreyebilme ve eskulini hidrolize edebilme özelliğine sahiptir. Bu test enterokokları diğer katalaz negatif, gram pozitif koklardan ayırmada kullanılır. Yüzde kırk sığır safrası ve %0,1 gram eskulin içeren bile esculin besiyerine enterokok olduğu düşünülen koloniler ekilerek 37°C' de 24 saat inkübe edilir. İçerisindeki demir sitrat ayıracı, eskulinin hidrolizasyonu ile siyah renk oluşturur. Bu koloniler enterokok açısından değerlendirilmek üzere işleme alınır (28).

2.3.3. % 6,5' luk NaCl üreme testi

Enterokoklar %6,5 NaCl (sodyum klorür) içeren ortamlarda üreyebilir. Beyin infüzyon agara %6,5 NaCl (sodyum klorür) ilave edilerek hazırlanan besiyerine şüpheli koloni ekilir ve 37°C'de 24–48 saat inkübe edilir. Besiyerinde üreme pozitif sonuç olarak değerlendirilir (28).

2.3.4. PYR (pirolidonil- β -naftilamidi) testi

PYR testi PYR' (pirolidonil- β -naftilamidi) az enziminin aktivitesini tespit etmek için hazırlanmış kolorimetrik bir testtir. PYR testi ticaretten hazır olarak temin edilir. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerekli işlemler yapıldıktan sonra menekşe renk pozitif olarak değerlendirilir (28).

2.3.5. Hareket testi

Bazı enterokok türlerinin hareketli olup olmadığını test etmek için kullanılır. Test edilecek mikroorganizma iğne özeye alınarak hareket besiyerinin sonuna kadar çizgi şeklinde inoküle edilir. 37 °C de 24–48 saat inkübe edilip, günlük olarak inokülasyon çizgisi etrafındaki bakteriyel üreme alanları gözlenir. İnokülasyon çizgisi etrafında dallanan üreme olması durumunda hareket testi pozitif olarak yorumlanır (28).

2.4. Enterokokların Sınıflandırılması

Enterokoklar mannitol, sorbitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arjinini hidrolize etmelerine göre beş gruba ayrılırlar (Tablo 2.2.) (29).

Grup I: Mannitol, sorbitol, sorboz sıvı besiyerinde asit oluşturur, arjinini hidrolize etmez.

Grup II: Mannitol sıvı besiyerinde asit oluşturur, arjinini hidrolize eder, ancak sorbozda asit yapmaz, sorbitolde ise değişken reaksiyon verirler.

Grup III: Arjinini hidroliz eder, ancak üç karbonhidrattan da asit yapmaz.

Grup IV: Grup D antijeni içermez. Mannitol, inülin, arabinoz, arjinin testlerinde reaksiyon vermez.

Grup V: Sorbitol besiyerinde asit oluşturmaz, arjinini hidroliz etmez. Mannitol'den asit oluşturur (29).

Bazı enterokokların özellikleri ise şöyledir:

E. faecalis: Gastrointestinal flora üyesidir. Ağız, hepatobiliyer sistem ve vajinadan da izole edilmiştir. İnsan kaynaklı enfeksiyonlardan en sık sorumlu tutulan türdür. Ayrıca çeşitli hayvanlarda da bulunur. Üriner enfeksiyon, yara, periton sıvısı, derin pelvik apse, endokardit ve kan kültürlerinden saptanmaktadır.

E. faecium: İnsan ve sığırların gastrointestinal sisteminde bulunur. Yiyecek, sebze ve yemlerden de izole edilmiştir. İki biyotipi vardır. *E. faecalis*'e göre antimikrobiyallere daha dirençlidir.

E. durans: Süt ve kuru gıdadan izole edilmiştir. İnsan ve hayvanda nadiren, bağırsak ve üriner sistemden izole edilmiştir.

E. avium: Kuş, tavuk, köpek gibi hayvanlardan izole edilmiştir. İnsan gastrointestinal sistem florasının üyesidir. Apandisit, otit ve beyin apselerinden izole edilmiştir. %6,5'luk NaCl'de üremesi zayıftır. H₂S üretir, pigment yapmaz.

E. casseliflavus: Bitki ve toprakta bulunur. Vankomisine dirençlidir. Fırsatçı insan enfeksiyonları yapar. Hareketlidir, sarı pigment yapar.

E. gallinarum: Evcil kuşların gastrointestinal sisteminde bulunur. İnsanda hemodiyalizli bir hastadan izole edilmiştir. Vankomisine dirençlidir. Hareketlidir, pigment yapmaz.

E. hirae: Domuz ve tavuklarda bulunur. Önceden atipik *E. faecium* olarak adlandırılırdı (30–33).

Tablo 2. 2. Enterokok Türlerinin Gruplara Ayrılması ve Fenotipik Özellikleri (29).

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

MAN: mannitol, SOR: sorboz, ARG: arjinin, ARA: arabinoz, SBL: sorbitol, RAF: rafinoz, TEL: 0.04% tellürit, MOT: hareketlilik, PIG: pigment, SUC: sukroz, PYU: piruvat. +: >%90 pozitif. -: <%10 pozitif, v: değişken -* veya +* : nadir istisnalar (reaksinyonlarda <%3 oranında sapma görülebilir.)

2.5. Direnç

Enterokoklar, çevre şartlarına son derece dayanıklıdır. 60 °C'ye 30 dakika dayanırlar (26). *E. faecalis* safra tuzları ile deterjanların letal düzeylerine adapte olabilir. Uygun olmayan temizlik (dekontaminasyon ve dezenfeksiyon) rejimlerinde canlılıklarını sürdürebilirler. Bu da özellikle hastane ortamında kalıcı olmalarını sağlar (2,26).

2.6. Patojenite ve Virülans Faktörleri

Enterokokların, virulansına katkıda bulunan faktörler hakkındaki bilgilerimiz sınırlıdır, ancak *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes* gibi organizmalar kadar virulan olmadıkları kesindir (2,26). Bu mikroorganizmanın; pek çok antibiyotiğe karşı doğal dirence sahip olması, antibiyotik tedavisi altında yaşama ve çoğalma olanağı sağlar. Bu nedenle sıklıkla süperenfeksiyon etkeni olarak ortaya çıkar (27). Enterokokların, bilinen virülans faktörleri şunlardır:

Sitolizin: *E. faecalis* ve *E. faecium* tarafından üretilir. İnsan ve hayvan eritrositleri için hemolizin aktivitesi gösterir (24,25).

Agregasyon: *E. faecalis*, *E. faecium* türleri tarafından üretilen agregasyon maddesi enterokokların kalp kapakları ve renal hücrelere bağlanmasını kolaylaştırır (24,25).

Biyofilm: *E. faecalis*'te görülen biyofilm oluşumu bu bakterinin üriner sisteme, vasküler kataterlere ve kalp kapaklarına kolonize olmasını kolaylaştırır (25).

Feromonlar: Enterokoklar tarafından sentezlenen küçük peptitlerdir. Suşlar arası plazmid DNA'sının konjugasyonunu denetler. Nötrofiller için kemotaktik olduklarından enfeksiyonlarda inflamatuvar cevabı artırır (24).

Lipoteikoik asit: Enterokokların D grubu antijenlerini oluşturur. Tümör nekroz faktör ve interferon salınmasına yol açarak immun cevabın düzenlenmesini sağlar (24).

Jelatinaz: Jelatinaz üreten enterokok şuşlarının toksik etkilerinin üretmeyenlere kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır (24).

Ekstraselluler superoksit: *E. faecalis* şuşlarının büyük bir çoğunluğu ve bazı *E. faecium* türleri tarafından sentezlenmektedir. Bakterinin yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir (24).

Ekstrasellüler yüzey proteini (Esp): İlk kez *E. faecalis* şuşlarında tanımlanan yüzey proteindir. Bakterinin immun yanıtı kaçışını kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Ayrıca, serin proteaz, hyaluronidazın da patojenitede rol oynadığı düşünülmektedir (24).

Cocolysin: Ekstrasellüler metalloendopeptidazdır ve virülansta rol oynadığı düşünülmektedir. *E. faecalis* şuşları tarafından üretilmektedir (30).

2.7. Epidemiyoloji

Yakın zamanlara kadar enterokok enfeksiyonlarının, insanların kendi floralarından endojen olarak kaynaklandığı düşünülmekteydi. Ancak son zamanlarda, enterokoklar hastane enfeksiyonlarında 2. ya da 3. sıklıkta etken patojen olarak izole edilmeye başlandı (25,34). Bunun sebebi olarak mikroorganizmanın hastane ortamında bulunan stetoskop, kapı tokmağı, yatak, komidin gibi cansız maddeler üzerinde uzun süre yaşayabilmesi örnek verilebilir.. Ayrıca vankomisin, sefalosporin ve aminoglikozit gibi antibiyotiklerin, sık kullanımı hastana kaynaklı enterokok enfeksiyonlarının artışında rol oynayan faktörlerdendir. (2,25). Enterokoklar hastanede kullanılan araçlar ve sağlık personeli aracılığıyla hastadan hastaya taşınarak hastane enfeksiyonlarına yol açabilmektedir (2,3,5-7).

Enterokok enfeksiyonlarının, insidansındaki artış, yalnız erişkin hastalarla sınırlı olmayıp yenidoğan, çocuk yoğun bakım ve hematoloji-onkoloji ünitelerinde de görülmektedir (2). 1999'da bu etkenin yeni doğan ünitelerinde üçüncü sıklıkta enfeksiyon etkeni olduğu bildirilmiştir (2).

Enterokokal enfeksiyonlar içerisinde *E. faecalis* ile oluşan enfeksiyonların oranı 10 kat fazladır. Ancak son yıllarda, VRE'lerin ortaya çıkması ile bu oran gittikçe düşmüş ve *E. faecium* izolatları ön plana çıkmaya başlamıştır. Bugün

“National Nosocomial Infections Study System (NNIS)” sonuçlarına bakıldığında, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde enfeksiyon etkeni olarak izole edilen enterokoklar içerisinde VRE’lerin oranının %20’leri bulunduğu görülmektedir (2,24). Enterokokal bakteriyemide yüksek mortalite gözlenmesine rağmen bu tabloda nedensel ilişki oldukça şüphelidir. Bu hastaların çoğu ileri dercede düşük, ağır hastalardır ve enterokokal bakteriyeminin bu durumun bir göstergesi olma olasılığı vardır. Birçok hastada enterokoklar polimikrobiyal enfeksiyonun bir parçasıdır ve tek başlarına morbidite ve mortaliteye etkilerini kestirmek oldukça zordur (27).

VRE suşlarının yaygınlaşması, Avrupa’da hayvanların beslenmesinde kullanılan glikopeptit olan avoparsin, ABD’de hospitalize hastaların gastrointestinal sistem kolonizasyonu ile ilişkilendirilmektedir (13,24,35–37). VRE ile kolonize ve/veya enfekte hastaların odalarındaki yüzeyler ve tıbbi aletler sıklıkla kontamine olur ve önemli bir VRE rezervuarı oluşturur. Hastada ishal varlığı sözkonusu ise odasındaki kontaminasyonun daha yoğun olduğu belirtilmektedir (13). VRE sıcağa, soğuğa ve diğer ortam koşullarına dirençli olduğu için, kolaylıkla cansız yüzeyler üzerinde günler, hatta haftalar boyu yaşamını sürdürebilir. VRE kolonizasyonu, taburcu olduktan sonra da haftalar/aylar boyunca devam edebilir. (1,13).

2.8. Yaptıkları Hastalıklar

Son yıllarda enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar belirgin şekilde artmış olup, özellikle hastane enfeksiyonlarına neden olan etkenler arasında ön sırada yer almaya başlamıştır.

Tüm enterokok enfeksiyonlarının %80-90’ından *E. faecalis*, %5-15’inden ise *E. faecium* sorumludur. *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. avium* ve *E. raffinosus* gibi diğer enterokok türleri klinik örneklerin %5’inden izole edilmiştir (38).

Yapmış olduğu hastalıklar ve özellikleri aşağıda sıralanmıştır:

2.8.1. Hastane enfeksiyonları

Son yıllarda enterokoklara bağı hastane enfeksiyonları belirgin bir şekilde artmıştır. Bu durum; immun yetmezliği olan hasta sayısının artmasından, mikroorganizmanın dirençli olduğu antibiyotiklerin ve invaziv cihazların kullanımındaki artıştan kaynaklanabilir (27).

Erişkinlerde en sık hastane enfeksiyonu odağı üriner sistem enfeksiyonları iken, çocuklarda üriner sistem enfeksiyonları ve primer kan akımı enfeksiyonları eşit sıklıkta görülmektedir (2).

2.8.2. Üriner sistem enfeksiyonları

Üriner sistem enfeksiyonları, enterokokların yol açtığı klinik hastalıkların en sık görülen tipidir ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilen enterokokların en sık kaynağı idrar kültürleridir. Enterokokların etken olduğu üriner sistem enfeksiyonlarının çoğu hastane enfeksiyonudur ve çoğunlukla üriner kateterizasyon ile birlikte bulunur. Özellikle yapısal bozukluğu ve tekrarlayan üriner sistem enfeksiyonu olan hastalarda sıktır (2,3,25,27). Ülkemizden yapılan bir çalışmada, hastane kaynaklı üriner sistem enfeksiyonları arasında enterokoklar 3. etken olarak izole edilmiştir (39). Hastanede yatmayan genç, sağlıklı kadınlarda komplike olmamış sistit gibi üriner enfeksiyonların %5'inden azını oluşturur (2,3,25,27). Ayrıca enterokoklar prostatit ve perinefrik apseye de yol açabilirler (27).

2.8.3. Endokardit

Enterokoklar üçüncü en sık rastlanan enfektif endokardit etkenidir (2,3,25,27). Endokarditlerin %5–15'ini oluştururlar. Enterokok endokarditi çocuklarda nadirdir (2,40). Erkeklerde ve 50 yaş üstü popülasyonda daha sıktır. Sıklıkla etken *E. faecalis* 'dir. Vakaların çoğunda altta yatan bir kalp kapak hastalığı

ve prostetik kapak bulunmakla beraber, normal kapaklarda da enfeksiyona yol açabilirler. Damar içi ilaç bağımlılarında %5–53 oranında etken olabildikleri gösterilmiştir. Hastalık cerrahi yolla ya da manüplasyonlarla gastrointestinal sistemden veya çoğunlukla da genitoüriner enfeksiyon ve bu bölgeye tıbbi girişim uygulanmasından kaynaklanır. En sık aort ve mitral kapak tutulur. Enterokoklar genellikle subakut bakteriyel endokardite neden olurlar (25,27).

2.8.4. Bakteriyemi

Enterokok bakteriyemisinin sıklığı giderek artmaktadır. Endokardit hastane dışı kaynaklı enterokok bakteriyemilerinin 1/3'ünde görülürken hastane kaynaklı bakteriyemilerde endokardit oranı %1'in altındadır. Hastane kaynaklı enterokok bakteriyemileri genellikle polimikrobiyaldir ve sıklıkla üriner sistem enfeksiyonlarından ve karın içi enfeksiyonlardan kaynaklanır. Pelvik sepsis, yaralar (özellikle termal yanıklar, dekübitus ülserleri veya diyabetik ayak enfeksiyonları), intravenöz veya intraarteriyel kateterizasyon veya kolanjit diğer giriş yollarını oluşturmaktadır (2,3,25,27).

2.8.5. Karın içi ve pelvik enfeksiyonları

Enterokoklar, karın içi ve pelvik enfeksiyonlardan sıklıkla aerob ve anaerobik bakterilerle birlikte izole edilmiştir. Floranın bir parçası oldukları ve enterokoklara etkisi olmayan antimikrobik ilaçlarla yapılan tedavi ile başarılı sonuçlar alınması, enterokokların bu enfeksiyonlardaki rolünü tartışmalı hale getirmektedir. Bununla birlikte enterokokların nefrotik sendrom ya da sirozlu hastalar ile ayaktan sürekli periton diyalizi gören hastalarda peritonit yaptığı bilinmektedir. Akut salpenjit, peripartum maternal enfeksiyonlar (endometrit gibi) ile sezeryan sonrası apsenin de nedenleri arasında yer alırlar (2,3,25).

2.8.6. Yara ve yumuşak doku enfeksiyonları

Enterokoklar nadiren selülit veya diğer derin doku enfeksiyonlarına yol açarlar. Sıklıkla cerrahi yara enfeksiyonları, dekübitus ülserleri ve diyabetik ayak enfeksiyonlarında alınan klinik örneklerden Gram negatif basil ve anaerob bakteriler ile birlikte izole edilebilirler (25). Ancak yanık veya kronik ülserlerde bulunan enterokokların varlığı her zaman enfeksiyon olarak yorumlanmamalıdır (2).

2.8.7. Menenjit

Enterokok menenjiti, genellikle santral sinir sisteminde anatomik bir defekt, önceden geçirilmiş beyin ameliyatı ya da kafa travması gibi predispozan faktörlerin varlığında görülür. Bakteriyemi düzeyi yüksek olan, endokardit ve neonatal sepsisli hastalarla, AIDS ve akut lösemi gibi immünsüprese hastalarda bazen enterokoklara bağlı menenjitler görülebilmektedir. Çocuklarda, neonatal dönem, dışında enterokokal menenjit, çok nadir görülür ve bu dönemde olgular genellikle epidemiler şeklinde ortaya çıkar (2,3,25). Mortalite oranı, toplumsal kökenli menenjitten daha yüksektir (2). Bu bakteriye bağlı menenjit olgularında, serebrospinal sıvıda her zaman hücre artışı bulunmayabilir (çoğunlukla $<200/mm^3$) (25,27).

2.8.8. Pediatrik enfeksiyonlar

Bakteriyolojik olarak konfirme edilmiş, neonatal sepsis ve menenjit olgularının %13'ünde enterokoklar etkindir. Düşük doğum ağırlığı, erken doğum, uzun süreli nonumbilikal santral venöz kateterizasyonu, bağırsak rezeksiyonu, abdominal cerrahi girişimler, uzun süreli hospitalizasyon ve sefalosporin grubu antibiyotik tedavileri, yenidoğan yaş grubunda enterokokal sepsis gelişimi için önemli risk faktörleridir (2,25,41).

2.8.9. Kateter ilişkili bakteriyemi

Yoğun bakım ünitelerinde, izlenen çocuklarda daha sık görülmektedir. Bu üniteler, kateterlerin en sık kullanıldığı yerlerdir. Ayrıca tünelli alet yerleştirilen onkoloji hastalarında ve total parenteral nütrisyon ihtiyacı olan infantlarda da enterokoklar görülmektedir (2).

2.8.10. İmmun sistemi baskılanmış hastalar

Böbrek transplant hastalarında, enterokoklar sıklıkla rastlanılan mikroorganizmalar olup bakteriyemi, üriner sistem ve cerrahi alan enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Ayrıca son dönem böbrek yetmezliğinin kendisi de VRE gelişmesi açısından bir risk faktörüdür (42). Yapılan bir çalışmada, böbrek transplant hastalarında VRE'nin fekal kolonizasyon prevalansı %13,6 olarak raporlanırken, bu oranın diğer hemodiyaliz hastaları ve yoğun bakım hastalarında gözlenenden daha yüksek olduğu bildirilmiş ve bunun da transplant öncesi ve sonrası vankomisin kullanımına bağlanmıştır (2).

2.9. Antimikrobiyal Direnç

Enterokoklar, klinik kullanımda olan birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir. Bu nedenle hiçbir antibiyotik, tek başına enterokoklara karşı bakterisidal etki gösterememektedir. Ayrıca kullanımda bulunan tüm antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilme (mutasyon veya plazmid/transpozon aracılığıyla genetik materyalin transfer edilmesi) özelliğine sahiptir. Bu nedenle, özellikle ciddi enterokokal enfeksiyonların tedavisi oldukça güçtür. Bakterisidal etki sağlayabilmek için kombinasyon tedavileri gerekmektedir (27,43).

Enterokoklar invitro olarak trimethoprim-sulfometheksozola duyarlı görünseler de dış ortamdaki folat kaynaklarını kullanma yeteneğinde olduklarından bu antibiyotiğe de dirençlidir (44). Beta laktamaz üretimi ise oldukça nadir görülür, indüklenebilir direnç değildir, edinsel ve inokulumu bağımlı bir dirençtir (25).

E. faecium beta-laktam grubu antibiyotiklere, doğal olarak daha dirençli, olmasının yanında aminoglikozit direncinde de türe özgü farklılık gösterir. *E. faecium* suşlarının, tobramisin ve kanamisin için MİK değerleri, *E. faecalis* suşlarına oranla daha yüksektir. Bunun nedeni *E. faecium* suşlarının düşük düzeyde aminoglikozit 6'asetiltransferaz (6'AAC) enzimi salgılamasıdır. Bu enzimin yapımı kromozomaldır ve transfer edilemez (43).

Enterokokların çeşitli antimikrobiklere direnç mekanizmaları 2 grupta incelenir (27,42):

1. İntrensek (doğal) direnç
2. Ekstresek (kazanılmış) direnç

2.9.1. Doğal direnç

İntrinsik direnç genleri türlerin tümünde bulunur, kromozomal geçişlidir. Tüm enterokoklar, düşük molekül ağırlıklı penisilin bağlayan proteinlerinin (özellikle PBP 5); penisilin, ampisilin ve sefalosporinler dahil diğer beta -laktam grubu antibiyotiklere karşı, düşük afiniteye sahip olmasından dolayı beta -laktam grubu antibiyotiklere karşı göreceli olarak dirençlidir (44). *E. faecalis* için penisilin MİK değeri streptokoklara göre 10–1000 misli yüksektir. Bundan başlıca düşük molekül ağırlıklı penisilin bağlayıcı proteinlerin (PBP5) azalmış afinitesi sorumludur (27).

Aminoglikozitler hücre duvarından yeterince geçemedikleri için enterokoklar aminoglikozitlere karşı düşük düzeyde direnç gösterirler (44).

2.9.2. Kazanılmış direnç

Genellikle bir DNA mutasyonu ya da yeni bir DNA segmentinin transferine bağlı olarak gelişir. Bu transferden en sık sorumlu mekanizma konjugasyondur. Tetrasiklin direnci enterokoklarda konjugasyon yoluyla kazanılmış direncin en tipik örneğidir (43).

2.10. Enterokok ve Enfeksiyonlarının Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler ve Direnç Mekanizmaları

2.10.1. Kloramfenikol, eritromisin ve klindamisin direnci

Kloramfenikol direnç genlerinin, bir enterokoktan diğerine transferi ilk kez 1964 yılında gösterilmiştir. Enterokokların %20-42'sinin kloramfenikole karşı dirençli ve bu dirençten sorumlu mekanizma kloramfenikol asetil transferaz üretimidir (43).

Eritromisin direnci, enterokoklarda çok sık görülen bir dirençtir ve ermB geni ile ilişkilidir. Bu gen ribozomal RNA'nın metilasyonundan sorumludur. Metilasyon nedeniyle eritromisin ribozomlara bağlanamaz. Aynı mekanizma klindamisine yüksek düzeyde dirençten de sorumludur (43).

2.10.2. Tetrasiklin direnci

Enterokoklarda, tetrasiklin grubu antibiyotiklere, dirençten sorumlu çok sayıda gen tanımlanmıştır. Bunlardan tetM, tetO, tetE genleri tetrasiklinlerin ribozomlar üzerindeki etkisini inhibe eder, tetL ise tetrasiklinlerin hücre dışına pompalanmasını sağlayan bir aktif transport sistemini kodlar (43).

2.10.3. Aminoglikozit direnci

Aminoglikozitlerin etkili olabilmeleri için, bakteri hücresi içine yeterli miktarda girebilmeleri gerekir. Bu antibiyotik iki yoldan bakterisidal etki gösterir.

1. Bakterinin 30S ribozomal alt ünitesine, geri dönüşümsüz bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Aminoglikozitlerin bağlandığı ribozomlarda protein sentezi sırasında mRNA'nın translasyonu gerçekleşmez ve durum bakteri ölümüne yol açar.
2. Genetik kodun yanlış okunmasına neden olur (45).

Enterokoklarda aminoglikozit direnci üç farklı mekanizma ile meydana gelir (25). Bu mekanizmalar aşağıda sıralanmıştır.

2.10.3.1. Permeabiliteye bağlı direnç

Aminoglikozitlere karşı, kromozomal mutasyon sonucunda, membrandaki permeabilitenin azalması ile oluşan direnç, yüksek düzeyde olmamakla birlikte, tüm aminoglikozitlere karşı çapraz direnç şeklindedir. Bu tip direnç beta-laktam antibiyotikler ile birlikte kullanılarak bertaraf edilebilir (25).

2.10.3.2. Aminoglikozit modifiye edici enzimlere bağlı direnç

Aminoglikozitlerdeki en sık gözlenen, yüksek düzeydeki (≥ 2000 µg/mL) edinsel direnç, plazmid veya transpozon kaynaklı asetiltransferaz (AAC), adeniltransferaz (ANT), fosfattransferaz (APH) gibi modifiye edici enzimlerle antibiyotiğin inaktive edilmesidir.

Yüksek düzey gentamisin direncine neden olan enzim, 6'asetiltransferaz-2'' fosfo-transferaz enzim kompleksi olup streptomisin hariç klinik kullanımda olan tüm aminoglikozidlere (gentamisin, tobramisin, amikasin ve netilmisin) yüksek düzeyli direncin ortaya çıkmasında etkilidir.

Streptomisine enzimatik yoldan kazanılan yüksek düzey direnç ise 6 adeniltransferaz (AAD 6) enzimi ile olmaktadır. Bu enzim varlığında, sadece streptomisine karşı yüksek düzeyde direnç gelişmektedir. *E. faecalis* kökenlerinde yüksek düzeyde aminoglikozit direnci yoksa penisilin ile aminoglikozit antibiyotikleri arasında sinerjizm görülür. *E. faecium* kökenlerinde ise yüksek düzey aminoglikozit direnci bulunmasa da penisilin ile sadece gentamisin ve streptomisin sinerjistik etkili olabilir. Çünkü *E. faecium* kökenleri intrinsik olarak tobramisin, netilmisin, kanamisin ve sisomisini modifiye eden 6 asetiltransferaz (AAC-6) enzimini oluştururlar. AAC 6 enzimi *aac(6)* geni tarafından kodlanır. Bu durumda yüksek düzey aminoglikozit direnci olmamakla beraber (MIK < 2000 mg/L) hücre duvarına etkili antibiyotikler ile sayılan bu 4 aminoglikozit arasındaki sinerji bozulmaktadır (25).

2.10.3.3. Ribozomal direnç

Bir ribozomal proteinde oluşan tek bir aminoasit değişikliği, o ribozomun antibiyotiğe karşı, düşük afinite göstermesine neden olur. Bu direnç tipi klinik olarak oldukça nadir görülmekte ve diğer aminoglikozidlere karşı çapraz direnç oluşmamaktadır (25).

2.10.4. Vankomisin direnci

Glikopeptit antibiyotikler: Gram pozitif bakterilerde hücre duvarı sentezini inhibe ederler. Bunun için peptidoglikan prekürserlerinin D-alanyl-D-alanine rezidülerine bağlanırlar. Çoğalmakta olan peptidoglikan zincirleriyle bu prekürserlerin birleşmesi engellenir ve hücre duvarı sentezi yapılamaz (26,46).

Enterokoklarda glikopeptid antibiyotiklere direnç dünyada ilk kez 1988 yılında Uttley ve arkadaşları (20), Türkiye’de ise 1998 yılında Vural ve arkadaşları (47) tarafından tanımlanmıştır.

Vankomisin direncinde farklı genler rol oynamaktadır. Direnç sınıflandırması, önceleri izolatların MİK değerlerine göre yapılmakta iken günümüzde ligaz genlerinin varlığına göre yapılmaktadır. Vankomisin direncinde tanımlanmış 6 fenotip vardır. Bunlar VanA, VanB, VanC, VanD, VanE, VanG’dir. VanD, VanE, VanG fenotiplerinin epidemiyolojik önemi tam olarak anlaşılamamıştır. Bilinen fenotipler arasında sadece VanC intrensek olma özelliğine sahiptir. VanA ve VanB tipi direnç *E. faecium* ve *E. faecalis*’te tanımlanmış olup kazanılmış dirençlerdir. VanA, VanB, VanD tipi direnç D-ala-Dala-laktat ve VanC, VanE tipi direnç D-ala-D-ala-serin üretimiyle ilişkilidir (26,43). Vankomisin dirençli enterokoklardaki fenotipik direnç en sık Van A ve Van B tipindedir. Van A tipi yüksek düzey direnç disk difüzyon, E test ve otomatize buyyon mikrodilüsyon yöntemleriyle kolaylıkla belirlenir. Ancak Van B fenotipi düşük düzey vankomisin direnci bu yöntemlerle bakıldığında duyarlı olarak rapor edilebilir. Bu durumun önlenmesi için 6 µg/mL vankomisin içeren beyin-kalp infüzyon agar tarama testi ile vankomisin direncine bakılmalıdır (48).

Enterokoklardaki vankomisin direnç tipleri ve özellikleri aşağıda sıralanmıştır:

VanA tipi: vankomisine ve teikoplanine yüksek düzeyde direnç gösteren (vankomisin için ≥ 64 $\mu\text{g/mL}$, teikoplanin için ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$) ve enterokoklarda en sık görülen direnç tipidir. Transfer edilebilir. Dirence neden olan membran proteini ancak vankomisin varlığında bakteri üretilirse sentezlenir (3,25).

VanB tipi: direnç ise vankomisin ile indüklenirken, teikoplaninden etkilenmez. Ancak vankomisin ile indüklenme teikoplanin direncine de neden olabilmektedir (25). Transfer edilebilir.

VanC tipi: direnç özelliğine sahip suşlar, sadece vankomisine düşük düzeyde konstitütif direnç gösterir, teikoplanine duyarlıdır (3,25). Kromozama lokalizedir ve transfer edilemez.

VanD tipi: izolatlar ise konstitütif olarak vankomisin (64–256 $\mu\text{g/mL}$) ve teikoplanine (4–32 $\mu\text{g/mL}$) dirençlidirler (3,25).

VanE tipi: ilk olarak *E. faecalis* suşunda tanımlanmış. Vankomisine yüksek düzeyde (MIK ≥ 64 $\mu\text{g/MI}$), teikoplanine (MIK0.5 $\mu\text{g/MI}$) duyarlıdır. Van E kromozom üzerinde lokalizedir ve transfer edilemediği bilinmektedir (3).

VanG tipi: ilk olarak *E. faecalis* suşunda tanımlanmış vankomisine düşük düzeyde direnç (16 $\mu\text{g/mL}$) mevcut olup bu suşlar teikoplanine duyarlıdır (0,5 $\mu\text{g/mL}$) (25).

Enterokoklardaki glikopeptit direnci ile ilgili özellikler tablo 2.3. verilmiştir. Vankomisin dirençli enterokokların çoğu *E. faecium*'dur. Vankomisin dirençli *E. faecium*'un ise çok önemli bir kısmı aynı zamanda penisiline de yüksek direnç göstermektedir (27).

Tablo 2. 3. Glikopeptidlere dirençli enterokoklarda genotipik ve fenotipik özellikler (26).

Direnç Genotipi	vanA	vanB	vanC1 vanC2 vanC3	vanD	vanE
Predominant Fenotip	Vanko \geq 256 Teiko \geq 32	Vanko 4 -1000 Teiko \leq 1	Vanko2–32 Teiko \leq 1	Vanko64–256 Teiko4–32	Vanko=16 Teiko=0,5
Ekpresyon Şekli	İndüklenebilir	İndüklenebilir	Yapısal veya İndüklenebilir	Yapısal veya İndüklenebilir	?
Predominant Lokasyon	Plazmid (kromozom)	Kromozom (plazmid)	Kromozom	Kromozom	Kromozom
Transferabi Elemanlar	Tn1546	Tn1547 Tn5382	?	?	?
Alternatif Prekürsör	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser
Bulunduğu Türler	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i> (<i>vanC1</i>) <i>E. casseliflavus</i> (<i>vanC2</i>) <i>E. flavescens</i> (<i>vanC3</i>)	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>

2.10.4.1. Türkiyede VRE bildirimini

Enterokoklarda glikopeptit antibiyotiklere direnç ilk kez 1988 yılında Uttley ve arkadaşları tarafından bildirilmiş ve daha sonra tüm dünyada hızla yayılmıştır. Türkiye’de ise ilk VRE suşu Antalya’da saptanmış olup 1998 yılında Vural ve arkadaşları tarafından ANKEM kongresinde sunulmuştur. Bu suş, malign histiyositozis tanısı almış bronkopulmoner enfeksiyonu olan 11 aylık bir erkek çocuktan, 15 gün arayla alınmış iki ayrı plevra sıvısından izole edilmiştir. Bu sušta, aynı zamanda yüksek düzeyde gentamisin direnci de saptanmıştır (2). Ülkemizden yapılan diğerk VRE bildirimleri tablo 2.4. de verilmiştir.

Tablo 2. 4. Türkiyede VRE Bildirimi.

Araştırmacılar	Tür	Fenotip	Özellikler	Yayın Yılı
Çırak ve ark.	<i>E. faecium</i> (n=4) <i>E. faecalis</i> (n=2)		Klinik örnekler (n= 60)	1998(49)
Öngen ve ark.	<i>E. faecium</i>	VanA	Santral venöz- katater	1999 (50)
Torun ve ark	<i>E. faecium</i>		Klinik örnekler (n= 111)	1999 (51)
Başustaoğlu ve ark.	<i>E. faecium</i>	VanA	Kan kültürü	2000 (52)
Başustaoğlu ve ark.	<i>E. faecium</i>	VanA	Pü	2000(53)
Ceryan ve ark.	<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> (n=5)		Sürveyans(n= 244)	2000(54)
Ertek ve ark.	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>			2001(55)
Karadenizli A ve ark.	<i>E. faecalis</i>			2001(56)
Yavuz ve ark.	<i>E. faecalis</i>	VanA		2001(57)
Yüce ve ark.	<i>E. faecalis</i> (n=5) <i>E. faecium</i> (n=2) <i>E. gallinarum</i> (n=1)		Yenidoğanlarda Sürveyans(n= 110)	2001(58)
Midilli K Ve ark.	<i>E. faecium</i>			2003(59)
Baysallar ark.	<i>E. faecium</i>	VanA	BOS	2006 (60)

2.11. Enterokok Enfeksiyonlarında Tedavi

Sefalosporinler, aminoglikozitler (yüksek düzey dışında), klindamisin ve ko-trimoksazol invitro olarak etkili, klinik olarak etkisizdirler ve enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmamalıdır. Florokinolonlar, eritromisin, tetrasiklin ve kloramfenikol için de klinik başarısızlıklar bildirilmiştir (25).

Komplike olmamış üriner sistem ve yumuşak doku enfeksiyonlarında monoterapi yeterlidir. Ampisilin ve penisilin bu tür enfeksiyonların tedavisinde seçenek olabilir. Nitrofrontoin idrar yolu enfeksiyonu için iyi bir alternatiftir.

Beta laktamaz üreten suşlarda amoksisilin-klavulonat ve nitrofurantoin, ampisilin veya penisiline tercih edilebilir. Yüksek düzeyde penisilin direnci veya nitrofurantoin direnci varsa, tedavi seçenekleri glikopeptitler veya linezolid olabilir. Üriner sistem enfeksiyonlarında glikopeptit direnç sıklığı nadirdir. Nitrofurantoin direncide varsa veya komplike enfeksiyonlarsa linezolid önerilebilir. İmmun sistemi normal kişide oluşan üriner sistem, peritonit, yumuşak doku enfeksiyonu gibi derin yerleşimli ve intravasküler olmayan enfeksiyonlarda bakterisid etki gerektirmeyen tek antibiyotik ile tedavi yeterlidir. Bu enfeksiyonlarda penisilin, ampisilin veya amoksisilinden herhangi biri kullanılabilir. Önerilen tedavi süresi 7-14 gündür (2,25).

Enterokok endokarditi ve menenjit için kombinasyon tedavisi gereklidir. Bu enfeksiyonlarda standart tedavi bakterisidal etkili olmalıdır. Kombinasyon tedavisi hücre duvarına etkili ajanla, aminoglikozitin beraber verilmesi şeklinde uygulanır. Penisilin allerjisi olan hastalarda veya yüksek düzey penisilin direnci olduğu zaman penisilin G veya ampisilin yerine vankomisin kullanılabilir (25). Ancak izolatın duyarlılık paterni çok önemlidir. Duyarlı izolatlar için ampisillin veya penisilinle birlikte bir aminoglikozit kombinasyonu (gentamisin) tercih edilmektedir. Son yıllarda yapılan bir çalışmada monoterapi ile tedavi edilen hastaların daha ağır komplikasyonlarla seyrettiği gösterilmiştir (61). Bazı yazarlar ampisilinin penisiline daha üstün olduğunu bildirmektedir. Penisilin allerjik hastalarda vankomisin önerilmektedir. Eğer yüksek düzeyde penisilin direnci varsa vankomisin veya teikoplaninle yer değiştirilebilir. Vankomisin alan hastalarda, vankomisin düzeyi rutin olarak monitörize edilmelidir. Yüksek düzeyde gentamisin direnci olmadıkça kombinasyon tedavisi tedavi süresince uygulanmalıdır (62).

Yüksek düzey gentamisin dirençli enterokoklarla oluşan menenjit veya endokarditli hastalarda yüksek düzey streptomisin direnci aranmalıdır. Streptomisine karşı yüksek düzey direnç yoksa kombinasyon tedavisinde gentamisinin yerine kullanılır.

Streptomisine yüksek düzey dirençli endokardit veya menenjit durumunda gentamisine direnç saptanmadıysa kombinasyon tedavisinde streptomisin yerine gentamisin kullanılır. Gentamisin ve streptomisinin her ikisine karşı da yüksek düzeyde direnç içeren suşların oluşturduğu endokardit gibi bakterisidal tedavi amaçlanan durumlarda damar içi ampisilin ile uzun süre (8–12 hafta) devamlı infüzyon tedavileri önerilmektedir. Ancak sadece damar içi ampisilin tedavisinin yeterli olduğu olguların yanısıra kapak replasmanı gerektiren olgular ve relapslar da bildirilmiştir.

Beta-laktamaz üreten enterokok enfeksiyonlarında vankomisin, ampisilin-sulbaktam ve amoksisilin-klavulanat gibi betalaktam+beta-laktamaz inhibitörleri kullanılabilir (25).

VRE'lerin bir kısmı (özellikle *E. faecalis*) penisilin G veya ampisiline duyarlı olabilir. Bu nedenle, VRE enfeksiyonlarının tedavisinde penisilin G ya da ampisilin denenebilir. Hem penisilin G'ye hem de vankomisine yüksek düzeyde dirençli enterokokların (genellikle *E. faecium*) neden olduğu enfeksiyonların tedavisi büyük bir sorundur. Vankomisin + penisilin G veya ampisilin kombinasyonunun bu mikroorganizmaların bazıları üzerinde invitro koşullarda bakteriyostatik etki gösterdiği; ampisilin + vankomisin + gentamisin kombinasyonunun hayvan modellerinde bakterisidal etki gösterdiği bilinmektedir.

Van B fenotipli VRE'ler in vitro olarak teikoplanine duyarlı olsalar da, bu tür mikroorganizma enfeksiyonlarının tek başına bu antibiyotikle tedavisi sırasında genellikle direnç gelişir. Teikoplanin + aminoglikozit kombinasyonu bu tür olgularda daha başarılı bulunmuştur.

Günümüzde VRE'lerin neden olduğu enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde quinupristin-dalfopristin ve linezolid yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Quinupristin -dalfopristin kombinasyonu *E. faecalis* intrinsek olarak dirençli olduğu için yalnızca *E. faecium* enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Linezolid hem *E. faecium* hem de *E. faecalis*'e karşı in vitro aktivite göstermektedir. Her iki

antibiyotik te enterokoklara karşı bakteriyostatik etkili olması nedeniyle endokardit gibi ciddi enfeksiyonların tedavisinde dikkatli kullanılmalıdır. Son zamanlarda daptomycin ve oritavancin (LY333328) gibi enterokoklara karşı bakterisidal etkili ajanlar geliştirilmiş olup bu ilaçlarla ilgili deneysel çalışmalar devam etmektedir (25).

2.12. VRE Tedavisi

Tedaviye başlamadan önce, kolonizasyon-enfeksiyon ayırımı yapılmalıdır. Lokal veya sistemik enfeksiyon bulgusu gelişmeyen bir hastada; yüzeysel alanlardan, değiştirilen intravasküler kateterlerden, intraperitoneal ve safra drenajlarından ve piyüri olmadan idrardan VRE izole edildiğinde, kolonizasyon olarak değerlendirilmelidir ve antibakteriyel tedaviye gerek yoktur. Tedavide seçilecek ajan, antimikrobiyal duyarlılık verilerine, suşların fenotiplerine (VanA, VanB) ve diğer antimikrobiyallere direnç varlığına bağlıdır (29). Bazı VanA suşları, vankomisine dirençli *E. faecalis* enfeksiyonları, beta laktam antibiyotiklere ve gentamisine hassasiyet gösterebilirler. Vankomisine dirençli *E. faecium* ise penisilin ve ampisiline daha dirençlidir (2,25). Teikoplanin, VanB tipi direnç taşıyan VRE suşlarının çoğuna etkilidir. Eğer yüksek düzey aminoglikozit direnci yoksa bir aminoglikozit ile birlikte kullanılarak bakterisidal etki elde edilebilir. Ancak teikoplanin tedavisi sırasında direnç gelişebileceği de bildirilmiştir. VanB tipi VRE'lerin etken olduğu endokarditlerin tedavisinde teikoplanin ve diğer bir aktif ajan kombinasyonu başarılı bulunmuştur.

Glikopeptit-dirençli *E. faecium* suşları tipik olarak ampisiline de rezistandır ve yüksek düzeyde gentamisin direnci gösterebilir (2).

Ramoplanin, glikopeptit dirençli enterokokların gastrointestinal dekolonizasyonunda kullanılan Actinoplanes türlerinden elde edilen glikolipodepsipeptitdir. Ramoplanin vankomisinden farklı olarak bakteri duvar sentezini D-Ala-D-Ala kısmına bağlanmadan engellemektedir. Bu etkisini N-asetilglikozamil transferaz enzimini inhibe ederek göstermektedir. Ramoplanin *E. faecium*, *E. faecalis*, *S. aureus*, koagülaz negatif stafilkoklar ve *Clostridium*

türlerine karşı bakterisidal etkiye sahiptir. İlaç oral alındığında gastrointestinal sistemden emilmez ve dışkıda yüksek oranda konsantre olur (63).

Oritavansin, yeni bir semisentetik glikopeptid olup, tüm gram pozitif patojenlere karşın (streptokok, stafilokok, VRE) bakterisid etkili olup faz III çalışmaları devam etmektedir (64).

2.13. Korunma ve Kontrol Önlemleri

Enterokoklar, gastrointestinal sistem ve kadın genital sistem florasının üyeleri arasında yer aldığı için, enterokokal enfeksiyonların çoğunun endojen olduğu düşünülmektedir. Ancak VRE dahil tüm enterokokların hastadan hastaya direk olarak ve/veya kontamine eller, kontamine yüzeyler veya tıbbi aletler yoluyla indirek olarak transferinin mümkün olduğu da ortaya konulmuştur(65-70). “Centers for Disease Control and Prevention (CDC)”a bağlı “Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC)” 1995 yılında nozokomiyal VRE yayılımını kontrol altına alabilmek amacıyla aşağıdaki öneriler yayınlanmıştır(71):

a) Uygun vankomisin kullanımı

Vankomisin, üçüncü kuşak sefalosporinler ve antianaerobik etkinliği olan antibiyotiklerin kullanımının VRE kolonizasyonu ve/veya enfeksiyonu için, bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (71–73).

b) Hastane personelinin eğitimi

Devamlı eğitim programlarıyla VRE epidemiyolojisi, kontrol yöntemleri ve kontrolün niçin önemli olduğu konusunda, tüm sağlık kurumu çalışanlarına bilgi verilmelidir (71).

c) Mikrobiyoloji laboratuvarının etkin kullanımı

Mikrobiyoloji laboratuvarı, VRE yayılımına karşı verilen savaşta oldukça önemli bir basamaktır. Mikroorganizmanın tanımlanması ve duyarlılık sonuçlarının doğru ve hızlı bir şekilde bildirilmesi, kontrol önlemlerinin erken dönemde uygulanabilmesini ve yayılımın sınırlanmasını sağlar. VRE'nin bir kez izole edildiği her hastanede tüm enterokok izolatlarının, vankomisin duyarlılığı açısından test edilmesi gereklidir (71, 74). Klinik bir örnekten VRE izole edildiğinde duyarlılık testinin önerilen kılavuzlar doğrultusunda tekrarlanması ve tekrarlanan testin sonucu beklenmeksizin enfeksiyon kontrol komitesine ve hastanın izlenmekte olduğu servise haber verilmesi gereklidir (75).

Hastanede saptanan VRE suşları arasındaki klonal ilişkinin ortaya konulması enfeksiyon kontrol önlemleri açısından önem taşımaktadır. VRE suşları arasındaki klonal ilişkinin saptanmasında çeşitli moleküler tiplendirme yöntemlerinden yararlanılmaktadır (76, 77).

d) Kontrol önlemleri

Hastadan hastaya VRE geçişini engellemek amacıyla HICPAC tarafından önerilen izolasyon önlemleri şunlardır (71).

d.a. VRE ile enfekte veya kolonize hastaların tek kişilik odaya veya VRE pozitif başka hastalarla birlikte aynı odaya yerleştirilmesi (70),

d.b. VRE pozitif hastaların odasına girerken steril olmayan temiz eldiven giyilmesi (65, 68, 70),

d.c. VRE pozitif hastayla veya hasta odasındaki yüzeylerle temas edilecekse hastada idrar veya dışkı inkontinansı, ileostomi, kolostomi veya açık yara drenajı varsa odaya girerken steril olmayan temiz bir önlük giyilmesi (bazı merkezlerde, bu maddede belirtilen koşullar olmaksızın VRE pozitif her hastanın odasına girerken önlük giyilmesi) (70),

d.d. Önlük ve eldivenin hasta odasından ayrılmadan önce çıkarılması ve ellerin antiseptik içeren bir sabunla veya su içermeyen antiseptik ajanlarla yıkanması (78,79),

d.e. Önlük ve eldiven çıkarılıp, eller yıkandıktan sonra hasta odasındaki yüzeylerle tekrar temas edilmemesi (79),

önerilmektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Suşların Toplanması

Çalışma Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda 2006–2008 yılları arasında yapılmıştır. Hastanemize başvuran ishalleri hasta sayısının az olması nedeniyle T.C. Sağlık Bakanlığı Kırıkkale Hacı Hidayet Doğruer Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi mikrobiyoloji bölümünden yardım istendi. Bu hastaneye ishal şikâyeti ile başvuran hastalardan alınan örneklerden bir miktar alınarak taşıma besiyerleri (STUART taşıma ortamı) içerisinde aynı gün bize gönderilmesi sağlandı. Bu numunelerden, VRE kolonizasyonu yüksek seviyede gentamisin (YSGD) ve yüksek seviyede streptomisine dirençli (YSSD) enterokoklar araştırıldı. Çalışma iki hastaneden alınan 458 dışkı örneği ile yapıldı. Bu numunelerden 379 farklı enterokok suşu izole edildi. Bunların 158' i ishalleri dışkı, 221' i normal görünümülü dışkı örneği idi.

3.2. Suşların Tanımlanması

İshalleri 0–16 yaş grubu çocuklardan alınan 458 dışkı örneğinin her biri, bir azide blood agar base'e (DİFCO) ekildi. 37 °C da bir gece inkübe edildi. Üreyen kolonilerden enterokoka benzeyenlerin tümü eküvyon çubukla alınarak bile esculin (BBL) besiyerine pasajlandı. Gram boyaması yapıldı gram pozitif kok olarak saptanan kolonilere katalaz testi yapıldı. Katalaz negatif olanlar bile esculin besiyerine ekildi. Bu besiyerinde üreyerek esculini hidrolize eden siyah koloniler, %6,5 lık NaCl içeren kalp beyin infüzyon (BHI) (MERCK) besiyerine aktarıldı. Burada üreyen tüm koloniler enterokok olarak kabul edilerek pamuklu çubuk yardımıyla antibiyotikli agar tarama besiyerlerine tek koloni ekim yapıldı.

3.3. Bakterilerin Antibiyotiklere Dirençlerinin İncelenmesi

Üç aşamada incelendi. Tüm aşamalarda kontrol suşu olarak; ATCC *E. fecalis* 51299 (vankomisin dirençli) ve ATCC *E. fecalis* 29212 (vankomisin duyarlı) standart suşları kullanıldı.

3.3.1. Antibiyotikli agar tarama besiyerleri

Kalp beyin infüzyon (BHI) (MERCK) agar üretici firma önerilerine göre hazırlandı. Vankomisin ve yüksek seviyede aminoglikozit direncini araştırmak için, bu besiyerlerine vankomisin (V; vankomisin flokon 1g: Abbot) 6 µg/ml, Streptomisin (S; streptomisin flokon: İ.E.Ulagay) 2000 µg /ml, gentamisin (G; gentamisin ampul 80 mg: DEVA): 500 µg/ml olacak şekilde eklendi (75).

3.3.2. Birinci aşama

Bu aşamada dirençli suşları kaçırma ihtimalini en aza indirmek için kolonilerden 0,5 MC Farland ayarı yapılmadı. Her örneğin %6,5 lik NaCl besi yerinde üreyen tüm kolonileri pamuklu çubuk yardımıyla alındı. Vankomisin, streptomisin ve gentamisin içeren her üç antibiyotik için ayrı ayrı agar tarama besiyerlerine tek koloni ekimi yapılarak 37°C da 24 saat inkübe edildi.

3.3.3. İkinci aşama

Bu aşamada birinci aşamada ektiğimiz besiyerlerinde üreyen kolonilere Gram boyama ve katalaz testleri tekrar edildi. Gram pozitif, katalaz negatif olan koloniler, bile esculine ve % 6,5 NaCl de üreme testleri daha önce yapıldığı için, *Enterococcus spp.* olarak kabul edildi. Her bir agar taramadan sadece tek koloni ikinci aşamaya alındı. Böylece her dışkıdan üreyen enterokoklardan vankomisine, streptomisine ve gentamisine dirençli olan sadece birer suş çalışmaya alınmış oldu. Bu saf kültürlerden Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre 0,5 MC Farland bulanıklığında suspansiyon hazırlanarak antibiyotikli besiyerlerine

tekrar ekildi (75). 37 °C de 24 saat inkübe edildi. Üreyen koloniler CLSI standartlarına göre değerlendirilerek vankomisine, yüksek seviyede streptomisine ve yüksek seviyede gentamisine dirençli kabul edildi. Skim-milk (OXOID) besiyerine stoklandı, -80 °C saklandı.

3.3.4. Bakterilerin tiplendirilmesi

Dondurulmuş tüm suşlar çözülerek canlandırıldı. PYR testi ile doğrulandı. Daha sonra RapID STR (Remel) sistemi ile tiplendirildi.

3.3.5. Üçüncü aşama

Tiplendirilmesi yapılan tüm suşların ampisilin (A)(10µg; BBL), eritromisin (E)(15µg, HİMEDİA) tetrasiklin (T) (30µg, BBL), rifampin (R)(5µg, BİOANALYSE) ve kloramfenikole (C)(30µg, BBL) karşı dirençleri Bauer-Kirby disk difüzyon yöntemi ile CLSI standartlarına göre araştırıldı.

3.3.5.1 Disk difüzyon testinin yapılışı

- Agar kültüründen 4–5 koloni alındı ve 4–5 ml serum fizyolojik içerisine aktarıldı.
- Serum fizyolojik, 37°C’de 4–6 saat inkübe edildi.
- Bulanıklığı Mc Farland 0,5 standardına eşdeğer olacak şekilde ayarlandıktan sonra ilk 15 dakika içerisinde süspansiyon içine eküvyon batırılıp tüpün kenarında eküvyonun sıkılması ile fazla sıvı bırakıldı.
- Eküvyon 4mm kalınlığında dökülmüş Mueller-Hinton Agar(BBL)’ın tüm yüzeyine sürülerek inokulum yayıldı. Diskler konmadan önce nemin absorbe olması için 3–5 dakika beklendi (75).

Antibiyotik diskleri merkezleri birbirinden 2–2.5cm ve petri kenarından 1.5cm uzaklıkta olacak şekilde (Kirby-Bauer Yöntemi) yerleştirildi. 37°C’de 18–24 saat inkübasyondan sonra, disklerin etrafında oluşan inhibisyon zon çapları CSLI’ın önerilerine göre yorumlandı (75).

3.3.6. Moleküler tiplendirme

Agar tarama testine göre vankomisin dirençli bulunan tüm enterokok suşları literatürde (80) belirtilen şekilde polimeraz zincir reaksiyonu metodu ile Nucleospin DNA extraction kit (Macherey-Nagel, Duren, Germany)'i kullanılarak Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

4. SONUÇLAR

Toplam 2 hastaneden 458 dışkı örneğinde enterokok taraması yapıldı. 379 enterokok izole edildi. Bunların 158'i ishali dışkı, 221'i normal görünümlü dışkı kökenliydi. Toplam 379 enterokoktan 43 (%11) vankomisin ve / veya YSAD'li dirençli suş saptandı. Bunların 19'u (%4,8) *E. faecalis*, 20'si (%5,3) *E. casseliflavus*, 2'si (%0,5) *E. avium* olarak tanımlandı. İki suş enterokok türü açısından tiplendirilemedi. Vankomisine dirençli suş sayısı 12 (%3,2), YSAD'li suş sayısı 38 (%10), hem vankomisine hemde YSA'lere dirençli suş sayısı 7 (%2) olarak bulundu.

İshali dışkı izolatlarının %12'si (19 suş), sağlıklı dışkı izolatlarının %9'u (19 suş) aminoglikozitlere yüksek seviyede dirence sahipti. İshali dışkıları arasında gentamisin ve streptomisin direnci görülme oranı %3 (5 suş) iken sağlıklı dışkılarda bu oran %1(2 suş) olarak bulundu (P= 0.13). İzole edilen 379 suşun 31'i (%8) streptomisin direncine, 14'ü (%4) gentamisin direncine sahipti. 7(%2) suş sadece gentamisine, 24 (%6) suş sadece streptomisine, 7(%2) suş her ikisine de dirençli bulundu (Tablo 4.3. Aminoglikozit direncinin dağılımı).

4.1. Vankomisin Dirençli Suşlar

Vankomisine dirençli 12 enterokok suşu bulundu. Bunların 6'sı *E. faecalis*, 6'sı *E. casseliflavus* olarak tiplendirildi. İzole edilen *E. faecalis* suşlarından ikisi (4,7 nolu suşlar) vanA, biri (5 nolu suş) vanC1 geni taşıyordu. *E. faecalis* suşlarının üçünde (3,6,12 nolu suşlar) araştırdığımız van A, B, C1, C2, C3 genlerinden herhangi biri saptanmadı. Fakat bu çalışmada van D, E ve F genleri araştırılmadı.

3, 6, 12 nolu suşlar disk diffüzyon testi ile (75) teikoplanine duyarlıydı. Vankomisine dirençli *E. casseliflavus* suşlarının ikisi van C2 ve van C3 genleri taşıırken, dördü van C1 geni taşıyordu. Tablo 4.1. de vankomisin dirençli suşların tüm özellikleri birlikte verilmiştir.

Tablo. 4. 1. Vankomisin dirençli enterokokların özellikleri

Dışkı Örneği	Suş no	Tür	A	R	C	E	T	S	G	Gen
İshal	1	<i>E. casseliflavus</i>	H	H	H	H	D	H	H	C1
	2	<i>E. casseliflavus</i>	D	H	D	D	D	D	H	C2,3
	3	<i>E. faecalis</i>	H	D	H	D	D	H	D	NEG
	4	<i>E. faecalis</i>	H	H	D	D	D	D	H	A
	5	<i>E. faecalis</i>	D	D	D	D	D	D	D	C1
	6	<i>E. faecalis</i>	H	D	D	D	D	D	D	NEG
	7	<i>E. faecalis</i>	H	D	D	D	D	D	D	A
Normal görünümlü	8	<i>E. casseliflavus</i>	H	D	H	D	D	H	H	C2,3
	9	<i>E. casseliflavus</i>	D	D	D	D	D	H	H	C1
	10	<i>E. casseliflavus</i>	D	D	D	D	D	H	H	C1
	11	<i>E. casseliflavus</i>	D	D	D	D	D	H	H	C1
	12	<i>E. faecalis</i>	D	H	D	D	D	D	H	NEG

H: hassas, D: dirençli

A: ampisilin, R: rifampisin, C: kloromfenikol, E: eritromisin, T: tetrasiklin,

S: streptomisin, G: gentamisin

Vankomisine dirençli enterokok suşlarının %4,4'ü (7 suş) ishalleri dışkılarından %2,3'ü (5 suş) sağlıklı dışkılarından izole edildi (P=0,23). İshalleri dışkılarından izole edilen vankomisin dirençli enterokoklar arasında; patojenitesi yüksek olan *E. faecalis* suşu daha sık gözlenirken %3,2 (5 suş)(P=0,44), normal flora elemanı olan *E. casseliflavus* suşu daha düşük oranda izole edildi %1,3 (2 suş). Sağlıklı dışkılarından izole edilen vankomisin dirençli enterokok suşlarının %1,8'nin (4 suş) *E. casseliflavus*, %0,4'ünün (1 suş) *E. faecalis* olduğu gözlemlendi (P=0,37).

İshalleri dışkılarından izole edilen iki *E. faecalis* suşu (4 ve 7 nolu suşlar) van A geni, biri van C1 geni (suş no 5) taşıyordu. İki suşun (suş no 3 ve 6) taşıdığı gen tipi saptanamadı. (van E veya F olabilir). Normal dışkılarından izole edilen *E. casseliflavus*'lardan biri van C1 ve 3, üçü van C1 geni taşıyordu (bak tablo 4.1.).

Normal görünümlü dışkılarından izole edilen tek *E. faecalis* suşunun (suş no 12) ise taşıdığı gen türü saptanamadı (Van E veya F olabilir).

4.2. Vankomisin Dirençli Enterokokların Diğer Antibiyotiklere Dirençleri

Vankomisine dirençli suşların tümü tetrasikline dirençliydi ve (bir *E. casseliflavus* suşu hariç) tümü eritromisine dirençli bulundu (%92). %75'i kloramfenikole, %67'si rifampisine, %50'si ampisiline dirençli olarak saptandı.

E. faecalis suşlarının %33 ampisiline dirençli iken, *E. casseliflavus* suşların ampisilin direnci çok yüksekti (%83). Rifampisine direnç her iki türde de eşitti (%67). Klindamisine direnç ise *E. faecalis*'te %83 iken *E. casseliflavus* da %67 olarak bulundu.(Tablo.4.1'de vankomisin dirençli enterokokların özellikleri hakkında genel bilgiler verilmiştir).

E. faecalis'lerin en duyarlı olduğu antibiyotik ampisilindi. Bir suş hariç (tablo 4.1., suş no 1) tüm suşlar çoklu antibiyotik direncine sahipti.

Vankomisin dirençli enterokoklarda streptomisin ve gentamisin direnci de oldukça sık gözlenmiştir. 12 suşun 6'sı (%50) streptomisine, 4'ü (%33) gentamisine dirençliydi. *E. casseliflavus* suşlarının sadece biri (%17) YSAD'ine sahipken, *E. faecalis*'lerin tümü YSAD'ine sahipti. (Vankomisin dirençli enterokokların diğer antibiyotiklere direnç durumları tablo 4.1. ve tablo 4.2.'de verilmiştir.) Vankomisin dirençli enterokokların ishalleri dışkı izolatlarında YSAD (%86)'i normal dışkı izolatlarından (%20) belirgin derecede daha yüksek olmasına rağmen bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. (p=0,072) (tablo 4.2.).

Tablo 4. 2. Vankomisin dirençli enterokokların antibiyotiklere direnç oranları.

Dışkı örneği	S(%)	G(%)	S ve G (%)	S ve/veya G(%)	A(%)	R(%)	C(%)	E(%)	T(%)
İshal									
Suş sayısı: 7	5 (71)	4(57)	3(43)	6(86)	2(29)	4(57)	5 (71)	6(86)	7(100)
Normal									
Suş sayısı: 5	1(20)	0(0)	0(0)	1(20)	4(80)	4(80)	4(80)	5(100)	5(100)
Toplam									
Suş sayısı: 12	6(50)	4(33)	3(25)	7(58)	6(50)	8(67)	9(75)	11(92)	12(100)

S: streptomisin, G: gentamisin, A: ampicilin, R: rifampisin, C: klofomfenikol, E: eritromisin, T: tetrasiklin

4.3. Yüksek Seviyede Aminoglikozit Dirençli Enterokoklar

İzole edilen toplam 379 enterokok suşunun %10'u (38 suş) yüksek seviyede aminoglikozit direncine sahiptir. Streptomisine direnç (%6) gentamisine dirençten (%2) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (P=0.008). Suşların %2 (7suş)'si ise her iki antibiyotiğe karşı yüksek seviyede dirence sahiptir (tablo 4.3.).

Tablo 4.3. Enterokoklar arasında yüksek seviyede aminoglikozit direncinin dağılımı

Örnek n	Aminoglikozitlere dirençli suş Toplam n(%)	Toplam S ve G S+G n(%)	Toplam G ve S G+S n(%)	Yalnız S S n(%)	Yalnız G G n(%)	Her ikisi birlikte n(%)
	İshal					
158	19 (12)	16(10)	8(5)	11(7)	3 (2)	5 (3)
Normal						
221	19 (9)	15(7)	6(3)	13 (6)	4 (2)	2 (1)
Toplam						
379	38 (10)	31(8)	14 (4)	24 (6)	7 (2)	7 (2)

İshalli dışkılarda YSAD (19 suş, %12), sağlıklı dışkıdan (19 suş, %9) daha fazla oranda idi. Ancak fark istatistikî açıdan anlamlı değildi ($P>0.27$). İzole edilen suşlar arasında aminoglikozitlere yüksek seviyede direnç durumu, enterokoklarda aminoglikozit direncinin dağılımı başlıklı tabloda verilmiştir (bak tablo 4.3.).

4.4. YSAD Olan Suşların Diğer Antibiyotiklere Direnci

İshalli dışkılarından izole edilen YSAD'ine sahip suşların vankomisine direnç oranları (%32) normal dışkılarından izole edilenlere göre belirgin derecede daha yüksekti (%5). Ancak istatistikî açıdan suş sayısı az olması nedeni ile anlamlı bulunmadı ($P= 0,09$).

İshalli dışkılarından izole edilen YSAD'li suşların ampisilin ve rifampisine (ishalli dışkı izolatlarında sırasıyla %42, %68) direnç oranları normal dışkı izolatlarına (normal dışkı izolatlarında sırasıyla %68, %74) göre daha düşüktü. Buna karşın ishali dışkıdan izole edilen suşlarda kloromfenikole direnç oranı (%84), normal dışkı izolatlarından (%63) daha yüksek bulundu. Tüm suşlar eritromisine (%100) dirençliydi ve her iki grupta da tetrasiklin (%95) direnci aynıydı. YSAD suşların diğer antibiyotiklere dirençleri tablo. 4.4.'de verilmiştir.

Tablo. 4.4. YSAD suşların diğer antibiyotiklere dirençleri

	Antibiyotikler	A	R	C	E	T	V
		n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)
İshalli dışkı izolatları	G (3)	1(33)	2(67)	1(33)	3(100)	2(67)	1(33)
	S (11)	5(45)	6(55)	10(91)	11(100)	11(100)	2(18)
	G+S (5)	2(40)	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)	3(60)
	Toplam (19)	8(42)	13(68)	16(84)	19(100)	18(95)	6(32)
Normal dışkı izolatları	G (4)	3(75)	3(75)	3(75)	4(100)	3(75)	0(0)
	S (13)	9(69)	10(77)	8(62)	13(100)	13(100)	1(8)
	S+G (2)	1(50)	1(50)	1(50)	2(100)	2(100)	0(0)
	Toplam (19)	13(68)	14(74)	12(63)	19(100)	18(95)	1(5)
Aminoglikozit dirençli tüm izolatlar	G (7)	4(57)	5(71)	4(57)	7(100)	5(71)	1(14)
	S (24)	14(58)	16(67)	18(75)	24(100)	24(100)	3(13)
	S+G (7)	3(43)	6(86)	6(86)	7(100)	7(100)	3(43)
	Toplam (38)	21(55)	27(71)	28(74)	38(100)	36(95)	7(18)

V: vankomisin, S: streptomisin, G: gentamisin.

Yüksek seviyede aminoglikozit direncine sahip suşların tümü çoklu antibiyotik direncine sahipti. Tüm YSAD’li suşların A, R, C, E, T’ye direnç oranları oldukça yüksekti. Sadece gentamisin veya sadece streptomisin direncine sahip suşların vankomisine direnç oranları hemen hemen aynıydı (sırasıyla %14,%13). Bu

oran hem gentamisine hemde streptomisine dirençli (%43) olan suşlara göre çok düşüktü. Vankomisinden (%18) sonra en az direncin görüldüğü antibiyotik ampisilindi (%55). Şuşların tümü eritromisine dirençli bulundu. Bunu %95 direnç oranı ile tetrasiklin takip etti. En dirençli suş grubu her iki aminoglikozite karşı dirence sahip suşlardı.

38 YSAD'li suşun 19 (%50)'u *E. faecalis*, 15(%39,4)'u *E.casseliflavus*, 2(%5,3)'si *E. avium*'du. 2 (%5,3) suşun tür düzeyinde tiplendirmesi yapılamadı. İshalli dışkılarından izole edilen YSAD'li enterokoklar arasında *E.faecalis* (%63), *E. casseliflavus*'lardan (%10,5) istatistikî açıdan anlamlı derecede daha yüksekti (P=0,02). İstatistiksel açıdan anlamlı görülmesede normal dışkı izolatlarında *E. casseliflavus* (%53) türü *E. faecalis*'lerden (%37) belirgin derecede daha yüksekti. YSAD'ine sahip suşlar arasında *E. casseliflavus*'larda ampisiline direnç görülme oranı (%87) *E. faecalis* suşlarından (%26) daha yüksekti (P= 0,001). Buna rağmen, *E. faecalis*'lerin, ampisilin hariç diğer tüm antibiyotiklere, hem de vankomisine direnç oranları *E. casseliflavus*'lardan belirgin derecede yüksekti (Tablo. 4.5.). (sırasıyla %32, %7).

Tablo 4.5. Enterokokların türlere göre direnç durumları

Örnek N (%)	Bakteri türü n(%)		Suş Sayısı	A n(%)	R n(%)	C n(%)	E n(%)	T n(%)	V n(%)
	İshal 19	<i>E. casseliflavus</i> 5 (26)	S	5 (100)	5(100)	3(60)	4(80)	5(100)	5(100)
S			6 (50)	0	3(50)	6(100)	6(100)	6(100)	1(17)
<i>E. faecalis</i> 12(63)		G	1(8)	1(100)	0	0	1(100)	1(100)	1(100)
		S+G	5(42)	2(40)	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)	3(60)
		T	12	3 (25)	8(67)	11 (92)	12 (100)	12 (100)	5 (42)
Tiplendirilemeyen 2(10,5)		G	2(100)	1(50)	1(50)	1(50)	2(100)	1(50)	0(0)
Normal 19	<i>E. avium</i> 2(10,5)	S	2(100)	2(100)	2(100)	1(50)	2(100)	2(100)	0(0)
		S	6(60)	4(67)	4(67)	3(50)	6(100)	6(100)	0(0)
	<i>E. casseliflavus</i> 10(53)	G	2 (20)	2(100)	1(50)	1(50)	2(100)	1(50)	0(0)
		S+G	2(20)	2(100)	2(100)	1(50)	2(100)	2(100)	0(0)
		T	10	8(80)	7(70)	5 (50)	10(100)	9 (90)	0(0)
	<i>E. faecalis</i> 7(37)	S	4(57)	2(50)	3(75)	4(100)	4(100)	4(100)	1(25)
		G	2 (29)	1(50)	2(100)	2(100)	2(100)	2(100)	0(0)
		S+G	1(14)	0(0)	0(0)	0(0)	1(100)	1(100)	0(0)
		T	7	4 (43)	5 (71)	6(86)	7 (100)	7 (100)	1(14)
<i>E. casseliflavus</i> ve <i>E. faecalis</i> Toplam	<i>E. casseliflavus</i> 15(39)	S	12(80)	10(83)	8(67)	7(58)	12(100)	12(100)	1(8)
		G	2(13)	2(100)	1(50)	1(50)	2(100)	1(50)	0(0)
		s+g	1(7)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	0(0)
	<i>E. faecalis</i> 19(50)	T	15	13(87)	10(67)	9(60)	15((100)	14(93)	1(7)
		S	10(53)	2(20)	6(60)	10(100)	10(100)	10(100)	2(20)
		G	3(16)	1(33)	3(100)	2(67)	3(100)	3(100)	1(33)
		S+G	6(31)	2(33)	5(83)	5(83)	6(100)	6(100)	3(50)
		T	19	5(26)	14(74)	17(89)	19(100)	19(100)	6(32)

S+G: hem S hem de G'e dirençli olanlar

5.TARTIŞMA

221 sağlıklı dışkılarından izole edilen enterokok suşu arasında potojenitesi düşük bir tür olan *E. casseliflavus* %6 (14 suş) potojen bir enterokok türü olan *E. faecalis*'ten %3 (7 suş) daha sık gözlemlendi. *E. casseliflavus* normal dışkı florasının elemanı olması nedeni ile bu sonuç normaldir. *E. casseliflavus* van C tipi doğal vankomisin direncine sahiptir (81). Sağlıklı dışkılarından izole ettiğimiz *E. casseliflavus* suşlarında sadece van C geni taşıyorlardı. Van C geni; düşük düzeyde vankomisin direncinden sorumludur, indüklenemez ve bakteriler arası geçiş göstermez.

Bu grupta izole edilen tek *E. faecalis* suşu vardı ve araştırdığımız van A, B, C genlerinden hiç birini taşııyordu. Teikoplanine duyarlıydı. Van D geni hem teikoplanine hem de vankomisine dirençten sorumludur. Van E ve F genlerinde düşük düzey vankomisin direnci varken teikoplanine direnç yoktur (2). Bu suş van E ve/veya van F geni taşıyor olabilir ancak biz bu genlerin varlığını araştırmadık.

İshalli dışkılarında vankomisin dirençli enterokok görülme sıklığı (%4,4) normal dışkılara göre (%2,2) daha yüksekti. Ayrıca ishalli dışkılarında yüksek derecede patojen olan vankomisin dirençli *E. faecalis* (%3,2) suşu, normal flora elemanı olan vankomisine doğal dirence sahip *E. casseliflavus* (%1,3) suşlarından daha sık izole edildi. Üstelik vankomisin dirençli 5 *E. faecalis* suşlarından ikisi (4 ve 7 nolu suşlar) vankomisin ve teikoplanine yüksek seviyede dirence neden olan van A geni içeriyordu. Van A enterokoklar arasında konjugasyon yoluyla yayılabildiği gibi enterokoklardan stafilokok ve streptokok türlerine de yine konjugasyonla geçebilir. Ayrıca bu tür vankomisin direnci; vankomisin, teikoplanin, avoparsin, ristosetin gibi glikopeptit ilaçlarla ve basitrasin, polimiksin B gibi glikopeptit olmayan ilaçlarla indüklenebilir (1).

Görüldüğü gibi ishalli dışkılarında vankomisin dirençli enterokok görülme sıklığı hem daha yüksekti, hem de bu suşlar hastane enfeksiyonlarından % 80-90'sıklıkla sorumlu tutulan (25) ve önemli bir patojen olan *E. faecalis* suşlarıydı. Bunlar arasında vankomisine ve teikoplanine dirençten sorumlu olan, diğer bakteriler arasında bu direncin yayılmasına neden olabilecek özelliklere sahip, van A geni görülme sıklığı oldukça yüksekti (%40).

Biz ne yurt içi nede yurt dışında ishalleri insan dışkılarında yapılmış vankomisin dirençli enterokok çalışması bulamadık. Bulduğumuz çalışmalar ise; genellikle hastanede yatan hastalarda vankomisin dirençli enterokok kolonizasyonu, ya da bu bakterilerin antibiyotiklere dirençleri ile ilgili çalışmaları içeriyordu.

Miranda G. (82) Mexico’da bir çocuk hastanesinde çocuk hastalardan toplanan enterokok suşlarının %3’ün de vankomisin direnci bulduklarını bildirmiştir. Ülkemizden Çelebi S ve ark 2003’de yeni doğan ünitesinde rektal sürüntü örneğinde %17,7 VRE kolonizasyonu, 2007 de çocuk yoğun bakım ünitesi ve çocuk kliniğinde %9 VRE rektal kolonizasyonu saptadıklarını bildirmişlerdir (83).

Bizim çalışmamızda hastanede yatan hastalardaki oranlar araştırılmamış, hastane dışından gelen ishalleri hastaların vankomisin dirençli enterokok açısından ne kadar risk taşıdığı araştırılmıştır. Bulduğumuz sonuç neredeyse hastanede yatan hastalar kadar yüksekti (%4,4). Klinik açıdan değerlendirdiğimizde bu dışkılar sağlıklı dışkıya göre çok daha ciddi enfeksiyonlardan sorumlu olan ve oldukça zor tedavi edilen *E. faecalis* için önemli bir rezervuardı. Ayrıca ishalleri dışkıları vankomisin direncinin diğer bakteri türlerine yayılması açısından da önemli bir risk faktörüdür.

Normal görünümlü dışkılarda *E. casseliflavus* (4 suş), *E. faecalis* (1 suş)’lerden daha sık izole edildi. Bunlar van C geni taşıyorlardı. Van C geninin bakteriler arası aktarımı olmadığı için normal dışkıları vankomisine direnç genlerinin toplumda yayılması açısından bir risk faktörü oluşturmazlar.

E. casseliflavus türü non patojen kabul edilir. Fakat nadiren de olsa enfeksiyon etkeni olarak gözlenmektedir. Bu çalışmada izole edilen vankomisin dirençli enterokoklarda bir *E. casseliflavus* suşu hariç çoklu direnç profili hakimdi. Ancak ilginç olarak ishalleri hastalardan izole edilen suşların ampisilin, kloromfenikol, rifampisin ve eritromisine direnç oranları sağlıklı dışkı izolatlarından daha düşüktü. Bunun nedeni normal flora elemanı olan *E. casseliflavusun* bu antibiyotiklere *E. faecalis*’lerden daha fazla dirençli olmasıydı.

Sonuçlarda sağlıklı dışkılarından izole edilen 4 *E. casseliflavus* suşundan üçünün (9, 10, 11 nolu suşlar) test ettiğimiz antibiyotiklerle eradikasyonun mümkün olmadığı görülmektedir (tablo 4.1.). Bu ise normal görünümlü dışkılarıdaki normal

flora elemanı olarak görülen *E. casseliflavus* suşlarının da tedavisi zor enfeksiyonlar oluşturabileceğini gösterir.

Yüksek seviyede aminoglikozitlere direnç, altı vankomisin dirençli *E. casseliflavus* suşundan sadece birinde streptomisin için mevcuttu (suş no 2). Fakat *E. faecalis* suşlarının tümü en az bir aminoglikozite karşı yüksek seviyede dirence sahipti. Bu suşlar ishalleri hastalarda daha sık izole edildiği için, ishalleri dışkılarıda yüksek seviyede aminoglikozitlere direnç oranı (%86), sağlıklı dışkılarıdan daha yüksekti (%20). Yani ishalleri dışkıları YSAD'ine sahip enterokokların toplumda yayılması açısından da risk faktörüdür.

5.1. Yüksek Seviyede Aminoglikozit Dirençli Enterokoklar

YSAD'i, aminoglikozit ampisilin kombinasyonu şansını yok ederek, enterokokların oluşturduğu hastalıkların tedavisinde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Enterokoklarda aminoglikozitlere karşı direnç dünyada yaygın olarak görülmektedir. Polonya'da Rudy ve ark çocuk hastanesinden izole edilen suşlarda %53 oranında YSAD gözleendiğini bildirmiştir (84). Hindistanda bir hastanede çeşitli numunelerden izole edilen suşlarda YSAD'i %46 olarak gözlenmiştir (85).

Biz bu çalışmada YSAD direncini %10 olarak bulduk. Bu değerin yukarıda bahsedilen diğer çalışmalara göre çok daha düşük olması, suşların tamamen hastane dışı kökenli olmasından kaynaklanıyor olmalıdır. Diğer çalışmalarla kıyaslandığında YSAD oranı düşük gibi görünse de, hastane dışı suşların kontrol altına alınması, hastane kökenli suşlara göre çok daha zordur. Ayrıca bu çalışmada ishalleri dışkılarıdan izole edilen suşlarda hem YSAD'i (ishal: %12, sağlıklı: %9) hem de her iki aminoglikozite direnç (YSSveGD) sağlıklı dışkı izolatlarına göre daha yüksek bulundu (ishal: %3,2, sağlıklı: %0,9). İshalleri hastalarda enterokoklarla ilgili antibiyotik direnci hakkında herhangi bir inceleme ya da eradikasyon tedavisi yapılmamaktadır.

Sonuçta hiç farkına varılmadan dirençli birçok suş topluma yayılmaya devam etmektedir. Aslında vankomisin direnci ile kıyasladığımızda da ishalleri hastalar,

YSAD'li enterokokların (%10) yayılması vankomisin dirençli enterokokların (%3,4) yayılmasından daha fazla risk oluşturmaktadır.

Enterokoklarla yapılan çeşitli çalışmalarda YSSD ve YSGD direnci farklı oranlarda bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda YSGD'i YSSD'inden daha sık bulunduğu bildirilirken (85–87) diğerlerinde YSSD'inin YSGD'inden daha yüksek olduğu bildirilmektedir.(14,88,89)

Biz bu çalışmada izole edilen tüm YSAD'li suşlar arasında YSSD'i (%6) YSGD'inden (%2) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulduk (P=0.008). Aminoglikozitlere direnç enterokoklarda iki şekilde oluşur. Birincisi ribozomlarda bağlanma yerinde değişiklik olmasıdır. Bu durum bakteriler arasında transfer edilemez ve yayılım azdır. Diğeri ise aminoglikozit modifiye eden enzimlerin sentezidir. Bu bakteriler arasında transfer edilebilir ve hızla yayılır. Bu durumda beta laktam antibiyotikler ile aminoglikozitler arasında sinerji yok olur. Aminoglikozit modifiye eden enzimlerden 2'' fosfo-transferaz- 6'asetiltransferaz enzim kompleksi streptomisin hariç klinik kullanımda olan tüm aminoglikozitlere (gentamisin, tobramisin, amikasin ve netilmisin) direncin ortaya çıkmasında etkilidir. Streptomisine enzimatik yoldan kazanılan yüksek düzey direnç ise adeniltransferaz enzimi ile olmaktadır. Bu enzim varlığında sadece streptomisine karşı yüksek düzeyde direnç gelişir (1,89). Çalışmada streptomisin dirençli enterokok oranının gentamisine dirençten daha yüksek bulunması, en azından diğer aminoglikozitlere direnç gelişimine neden olmadığı için tedavi açısından olumlu bir sonuçtur.

5.2. YSAD Enterokokların Diğer Antibiyotiklere Direnci

Çocuklar enfeksiyona daha açık ve dirençsizdir. Bu nedenle antibiyotiklere dirençli suşların etken olduğu enfeksiyonların tedavisi çok daha zordur. Enterokoklarda antibiyotiklere direnç değişik zamanlarda ve değişik ülkelerden farklı olarak bildirilmektedir.(90) 1997 de Trinidad'da çoğu pediatrik hastalardan topladıkları enterokok suşlarının tetrasiklin duyarlılığını %60 olarak bildirmişlerdir. Miranda ve ark'nın 2001 yılında, Mexico city'de bir çocuk hastanesinde yaptığı çalışmada, enterokokların ampisiline direncini %29, (91) olarak saptamışlardır. Kapoor ve ark'ları ise 2005'de bakteriyemili çocuklardan izole ettikleri

enterokokların %72'sinin ampisiline, %74'ünün eritromisine dirençli olduğunu gözlemlemiştirlerdir (87). Ülkemizden Kaya ve ark'ları 2007'de çocukların kan kültürlerinden üreyen enterokoklarda eritromisine direnç oranını %33,3 olarak bildirmiştir (92). Tüm çalışmalarda ortak olan nokta enterokokların antibiyotiklere giderek direnç kazandığıdır. Biz bu çalışmada YSAD'li enterokok suşlarının A, R, E, C, T'e direnç durumlarını da araştırdık. İzole ettiğimiz YSAD'li suşlarda Ampisiline %55, R'e %71, C'e %74, E'e %100, T'e %95, V'e %18 direnç mevcuttu. Bu oranlar enterokoklarda direncin ciddi boyutlarda olduğunu bir göstergesidir.

Bizim asıl amacımız ishali hastaların dirençli enterokoklar açısından bir risk faktörü olup olmadığını incelemektir. Yüksek seviyede aminoglikozit direncine sahip ishali dışkı kökenli enterokok suşlarının ampisilin ve rifampisine karşı direnç oranları normal dışkı izolatlarına göre daha düşüktü. Bu tedavi açısından ishali dışkı izolatları ile enfekte olabilecek hastaların lehine bir sonuçtur. Eritromisin ve tetrasiklin için ise her iki grup eşit oranda direnç gösterdi. Bu en azından ishali dışkı aleyhine bir sonuç değildir. Ancak kloromfenikol direnci ishali dışkı izolatlarında %84, normal izolatlarda %63 olarak gözlemlendi ki bu sonuç yine ishali dışkı izolatlarının eradikasyonunda bir başka negatif faktördür. Enfeksiyonların tedavisi açısından çok önemli bir antibiyotik olan vankomisine direnç ise YSAD'li suşlarda ishali ve normal görünümlü dışkı izolatları arasında istatistiksel olarak farklıydı. İshali dışkı izolatlarında, YSAD'li suşların vankomisin direnci %32 iken normal dışkı izolatlarında %5 olarak gözlemlendi.

Sonuç olarak biz bu çalışmamızda hem vankomisine hemde YSA'lere dirençli enterokokları ishali hasta dışkılarında normal görünümlü dışkılarından daha sık oranda saptadık. Yine ishali hastalarda ciddi bir patojen olan *E. faecalis* türü nadiren patojenite gösteren *E. casseliflavus*'lara göre daha sık gözlemlendi. Sonuç olarak ishali dışkı vankomisin ve/veya YSA'lere dirençli *E. faecalis*'lerin toplumda kontrolsüzce yayılımında önemli bir risk faktörü oluşturmaktadırlar.

Çalışmamızın sonuçlarına göre ishali çocuk hastalar yalnızca ishal açısından değil aynı zamanda enterokok enfeksiyonlarının yayılımı açısından da değerlendirilip, kontrol altına alınmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1-Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Microbiol Rev. 2000;13: 686–707.
- 2-Çelik Ü, Alhan E. Pediatrik Enfeksiyonlarda Zorlu Patojen: Enterokoklar Derleme. Çocuk Enfeksiyon Dergisi 2008; 2: 58–66.
- 3-Çelebi S.Vankomisin Dirençli Enterokoklar(VRE) ve Tedavisi. 2008; (6):182–186.
- 4-Butler KM. Enterococcal Infection in Children Seminars in Pediatric Infectious Dis. 2006; 17(3): 128–139.
- 5-Frossley K. Vancomycin-resistant enterococci in long-term care facilities. Infect Control Hosp Epidemiol 1998; 19(7): 521–5.
- 6-Bantar CE, Relloso S, Castell FR, Smayevsky J, Bianchini HM. Abscess caused by vancomycin-resistant *Lactobacillus confusus*, J Clin Microbiol 1991; 29(9): 2063–4.
- 7-Ünal S. İnfektif endokardit: sorun bakteriler, stafilokok ve enterokok. Ankem Dergisi 1993; 7: 167–73.
- 8-Megran DW. Enterococcal endocarditis. Clin Infect Dis. 1992; 15: 63–71.
- 9-Green M, Barbadora K, Michaels M. Recovery of vancomycin-resistant Gram-positive cocci from pediatric liver transplant recipients. J Clin Microbiol 1991; 29(11): 2503–6.
- 10-Moellering RC: Enterococcus species, Streptococcus bovis and Leuconostoc species, “Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds): Mandell, Douglas and Bennett’s

Principles and Practice of Infectious Diseases, 5. baskı” Churchill Livingstone, Philadelphia 2000; 2147–56.

11-Moaddab SR, Töreci K. Enterokok Suşlarında Tür Tayini, Vankomisin ve Diğer Bazı Antibiyotiklere Direnç Aranması. Türk Mikrobiyol Cem Dergisi 2000; 30(3–4): 77–84.

12-Ersoy Y, Bayraktar M, Fırat M, Yağmur M, Durmaz R. Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. Ankem Dergisi 2005; 19(2): 92–96.

13-Şehnaz A, Şardan YÇ. Vankomisine Dirençli Enterokokların Epidemiyolojisi ve Kontrolü. Hacettepe Tıp Dergisi. 2008; 39: 89–95.

14-Murray BE. The life and times of the enterococcus. Clin Microbiol Rev. 1990; 3(1): 46–65.

15-Boyce JM, Kelliher S, Vallande N. Skin-irritation and dryness associated with two hand-hygiene regimens: Soap-and-water hand washing versus hand antisepsis with an alcoholic hand gel. Infect Control Hosp Epidemiol 2000; 21(7): 442–8.

16-Centers for Disease Control and Prevention: Guideline for hand hygiene in health-care settings: Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and HIPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. MMWR RecommRep 2002; 51(RR–16): 1–48.

17-Davenport M, Doig CM. Wound infection in pediatric surgery: A study in 1,094 neonates. J Pediatr Surg 1993; 28(1): 26–30.

18-Gülây Z. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Yorumu. Toraks Dergisi 2002; 3(1): 75–88.

19-LeClerq R, Derlot I, Duval J, et al. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. N Engl J Med. 1988; 319: 157–61.

20-Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. Lancet 1988; 1: 57–58.

21-Vural T, Şekerci AO, Ögünç D, ve ark. Vankomisine Dirençli *E. faecium* Suşu. Ankem Dergisi 1999; 13: 1–4.

22-Maniatis AN, Pournaras S, Kanellopoulou M, et al. Kon. Dissemination of clonally unrelated erythromycin and glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* isolates in a tertiary Greek hospital. J Clin Microbiol 2001; 39(12): 4571–4.

23-Sakka V, Tsiodras S, Galani L, et al. Risk-factors and predictors of mortality in patients colonised with vancomycin-resistant enterococci. Clin Microbiol Infect 2008; 14(1): 14–21.

24-Gültekin M. Enterokoklar: Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji ve Patogenez. Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004: 121–40.

25-Yıldırım M. Enterokoklar ve Enterokoklarla Gelişen İnfeksiyonlar. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2007; 2: 46–52.

26-Sümerkan B. Vankomisine Dirençli Enterokoklar. (Elektronik yayın). Erişim: <http://www.das.org.tr/dosya/kongre/kong2002/035>.

27-Korten V: Enterokoklar. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. (ed'ler) İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitapevi, 2002; 1497–1506.

- 28-**Bilgehan H: Gram olumlu koklar. Klinik Mikrobiyolojik Tanı Kitabı. 4. baskı. İzmir, Barış Yayınları, 2004; 496–523.
- 29-** Facklam RR, Sahm DF, Teixeira ML: Enterococcus. Murray PR. (Editor Chief), Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, Tenover FC, Yolken RH. Manuel of Clinical Microbiology. 7. Edition. Washington, ASM Pres, 2005; 297–302.
- 30-**Sommers M.H, Dowell VR: The gram positive cocci. In: Winn W, Allen S, Janda W, Konemann E, Procop P(eds). Koneman’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. (Sixth Ed.). Philadelphia. W&W Lippincott company, 2006; 700–704.
- 31-**Eliopoulos GM, Eliopoulos CT. Therapy of Enterococcal Infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1990; 9(2): 118–26.
- 32-**Barrie PS, Christou NV, Patchen Dellinger E, et al. “Patogenicity of The Enterococcus in Surgical Infections” Annals of Surgery, 1990; 212: 155–159.
- 33-**Chenoweth C, Schaberg D. “The Epidemiology of Enterococcus”. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis. 1990; 9: 80–89.
- 34-**English BK, Shenep JL: Enterococcal and Viridans Streptococcal infections. In:Feigin RD, Cherry JD (eds). Textbook of Pediatric Infectious Dis. 5th edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 2004; 1175–92.
- 35-** Murray BE. Editorial response: What can we do about vancomycin-resistant enterococci. Clin Infect Dis. 1995; 20: 1134–6.
- 36-**Murray BE. Vancomycin-resistant enterococcal infections. N Engl J Med. 2000; 342: 710–21.

37-Murray BE. Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis.* 1998; 4: 37–47.

38-Basustaoglu A, Aydogan H. Enterokoklar. Ed: Uzun Ö. İnfeksiyon Hastalıkları Serisi. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2002; 5(2): 45–60.

39-Savas L, Guvel S, Onlen Y, Savas N, Duran N. Nosocomial urinary tract infections: micro-organisms, antibiotic sensitivities and risk factors. *West Indian Med J.* 2006; 55(3): 188–93.

40- Carceller A, Lebel MH, Larose G, Boutin C. New trends in pediatric endocarditis. *An Pediatr(Barc)* 2005; 63: 396–402

41-Çetinkaya Sardan Y. Enterokoklarla Gelisen İnfeksiyonlar. İnfeksiyon Hastalıkları Serisi. 2002; 5: 61–67.

42- Freitas MCS, Pacheco-Silva A, Barbosa D, Silbert S, Sader H, Sesso R, Camargo LFA. Prevalence of vancomycin-resistant *Enterococcus* fecal colonization among kidney transplant patients. *BMC Infectious Dis.* 2006; 133: 1–7.

43-Çetinkaya Y. Enterokolarda direnç sorunu. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar. Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004; 10–16.

44-Ulusoy S. Yoğun Bakım Ünitesinde Gram–Pozitif Mikroorganizmalar ve Direnç Sorunu *Yoğun Bakım Dergisi* 2003; 3(2): 118–128.

45-Çolak D. Antimikrobiyal İlaçlar ve Etki Mekanizmaları. Ed: Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitapevi, 1999; 85–86.

46-English BK, Shenep JL. Enterococcal and Viridans Streptococcal infections. In: Feigin RD, Cherry JD (eds). *Textbook of Pediatric Infectious Diseases.* 5th edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 2004; 1175–92.

- 47-Vural T, Şekercioğlu AO, Ögünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A, Kocagöz S, Ünal S, Mutlu G. Vankomisine dirençli *Enterococcus casseliflavus* suşu. *Ankem Dergisi* 1998; 12: 113.
- 48- Sümerkan B. Vankomisine duyarlı enterokoklar. 2. Sterilizasyon Dezenfeksiyon Hastane İnfeksiyonları Kongresi (25–28 Nisan 2001, Samsun) Kongre Özet Kitabı'nda. 2001: 187–91.
- 49- Çırak MY, Sultan N. Prevalence of high level aminoglycoside and vancomycin resistance among enterococci in Turkey. *Ata Microbiol Pol.* 1998; 4: 267–73.
- 50- Öngen B, Gürler N, Esen F, Karakay S, Töreci K. Glikopeptidlerde ve denendiği bütün antibiyotiklere dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *Ankem Dergisi* 1999; 13: 501–5.
- 51- Torun MM, Bahar H, Altınkum SM, Yüksel P. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid ve vankomisin direncinin araştırılması. *Ankem Dergisi* 1999; 13: 105.
- 52- Başustaoğlu A, Özyurt M, Beyan C, et al. Kan kültüründen izole edilen glikopeptid dirençli *Enterococcus faecium*. *Flora Dergisi* 2000; 5:142–7.
- 53- Başustaoğlu A, Aydoğan H, Beşirbellioğlu B, Alaca R, Özyurt M. GATA'da izole edilen ikinci glikopeptid dirençli *Enterococcus faecium*. XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 8–13 Ekim 2000, Antalya; Program ve Özet Kitabı: 14–06.
- 54- Ceryan N, Ülkar GB, Gürbüz AO, Apaydın N, Oskovi H, Mert A. Enterokoklarda glikopeptid direnci. XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 8–13 Ekim 2000, Antalya; Program ve Özet Kitabı: 12–25.
- 55- Ertek M, Yazgı H, Aktaş AE, Erol S, Taşyaran MS. Vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonu araştırılması ve diğer antimikrobiyallere duyarlılık. X. Türk

Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 15–19 Ekim 2001, Adana; Program Kitabı: 273.

56- Karadenizli A, Willke A, Mutlu B, Kolaylı F. Glikopeptid antibiyotiklere yüksek düzeyde dirençli *Enterococcus* olgusu. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 15–19 Ekim 2001, Adana; Program Kitabı:275.

57- Yavuz SŞ, Sohtorik Ü. Enterokok suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 15-19 Ekim 2001, Adana; Program Kitabı:286.

58- Yüce A, Karaman M, Gülay Z, Yuluğ N. Vancomycin-resistant enterococci in neonates. Scand J Infect Dis. 2001; 33: 803–5.

59- Midilli K, Aygün G, Kuşkucu M ve ark. Yoğun bakım birimindeki hastalardan izole edilen *E. faecalis* ve *E. faecium* kökenlerinde VanB direnç elemanlarının moleküler analizi. XI. KLİMİK Dergisi, Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 30Mart- 3 Nisan 2003, İstanbul; Kongre Kitabı: 275.

60-Baysallar M, Izci Y, Kilic A, Avci IY, Senses Z, Doganci L. A case of ventricular drainage infection with a rare pathogen in cerebrospinal fluid: vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. Microb Drug Resist. 2006;12(1):59–62.

61- Martínez Odriozola P, Muñoz Sánchez J, Arriola Martínez P, et al. Enterococcal infective endocarditis: Description of 12 cases. An Med Interna. 2007; 24(11): 539–42.

62- Linden PK. Optimizing therapy for vancomycin-resistant enterococci (VRE). Semin Respir Crit Care Med. 2007; 28: 632–45.

63- Macsini EM, Bonten MJ. Vancomycin-resistant enterococci: consequences for therapy and infection control. Clin Microbiol Infect. 2005;11(4): 43–56.

64-Poulakou G, Giamarellou H. Oritavancin: a new promising agent in the treatment of infections due to Gram-positive pathogens. *Expert Opin Investig Drugs*. 2008; 17(2): 225–43.

65- Livornese LL Jr, Dias S, Samel C, et al. Hospital-acquired infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* transmitted by electronic thermometers. *Ann Intern Med*. 1992; 117(2): 112–6.

66-Morris JG Jr, Shay DK, Hebden JN, et al. Enterococci resistant to multiple antimicrobial agents, including vancomycin. Establishment of endemicity in a university medicalcenter. *Ann Intern Med*. 1995; 123(4): 250–9.

67-Slaughter S, Hayden MK, Nathan C, et al. A comparison of the effect of universal use of gloves and gowns with that of glove use alone on acquisition of vancomycin-resistant enterococci in a medical intensive care unit. *Ann Intern Med*. 1996; 125: 448–56.

68-Karanfil LV, Murphy M, Josephson A, et al. A cluster of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in an intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1992; 13(4): 195–200.

69-Gould FK, Freeman R. Nosocomial infection with microsphere beds. *Lancet*. 1993; 342(8865): 241–2.

- 70-**Boyce JM, Opal SM, Chow JW, et al. Outbreak of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with transferable vanB class vancomycin resistance. J Clin Microbiol. 1994; 32(5): 1148–53.
- 71-**Centers for Disease Control and Prevention: Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Infect Control Hosp Epidemiol. 1995; 16: 105–13.
- 72-** Edmond MB, Ober JF, Weinbaum DL, et al. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: risk factors for infection. Clin Infect Dis. 1995; 20(5): 1126–33.
- 73-**Rice LB, Hutton-Thomas R, Lakticova V, Helfand MS, Donskey CJ. Beta-lactam antibiotics and gastrointestinal colonization with vancomycin-resistant enterococci. J Infect Dis. 2004; 189(6): 1113–8.
- 74-**Fines M, Perichon B, Reynolds P, Sahm DF, Courvalin P. Van E, a new type of acquired glycopeptide resistance in *Enterococcus faecalis* BM4405. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43(9): 2161–4.
- 75-**Clinical and Laboratory Standards Institute: Antimikrobik Duyarlılık Testleri için Uygulama Standartları; Onsekizinci Bilgi Eki. M100 S18.M2A9 ve ekD. CLSI Wayne. PA.(2008).
- 76-**Turabelidze D, Kotetishvili M, Kreger A, Morris JG Jr, Sulakvelidze A. Improved pulsed-field gel electrophoresis for typing vancomycin-resistant enterococci. J Clin Microbiol 2000; 38(11): 4242–5.
- 77-**Werner G, Klare I, Witte W. The current MLVA typing scheme for *Enterococcus faecium* is less discriminatory than MLST and PFGE for epidemic-virulent, hospital-adapted clonal types. BMC Microbiol 2007; 10: 7–28.
- 78-**Nicoletti G, Boghossian V, Borland R. Hygienic hand disinfection: a comparative study with chlorhexidine detergents and soap. J Hosp Infect. 1990; 15(4): 323–37.

79-Doebbeling BN, Stanley GL, Sheetz CT, et al. Comparative efficacy of alternative hand-washing agents in reducing nosocomial infections in intensive care units. *N Engl J Med.* 1992; 327(2): 88–93.

80- Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33(1): 24–7.

81- Reynolds P.E and Courvalin P. Vancomycin Resistance in Enterococci Due to Synthesis of Precursors Terminating in D-Alanyl-D-Serine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005; 49(1): 21–5.

82-Miranda G, Lee L, Kelly C, Solórzano F, Leños B, Muñoz O, Patterson JE. Antimicrobial resistance from enterococci in a pediatric hospital. Plasmids in *Enterococcus faecalis* isolates with high-level gentamicin and streptomycin resistance. *Arch Med Res.* 2001; 32(2): 159–63.

83-Solmaz Ç, Hacımustafaoğlu M, Demiral M, Sınırtaş M, Beyazıt A, Gedikoğlu S. Çocukluk çağında vankomisin dirençli enterokok kolonizasyonu: sekiz yıllık çalışma sonuçları. *Ankem Dergisi* 2008; 22(ek1).

84- Rudy M, Zientara M, Bek T, Martirosian G. Occurrence of antibiotic resistant enterococci in clinical specimens from a pediatric hospital. 2005; 54(1):77–80.

85- Mendiratta DK, Kaur H, Deotale V, Thamke DC, Narang R, Narang P. Status of high level aminoglycoside resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* in a rural hospital of central India. *Indian Journal of Medical Microbiolog.* 2008; 26(4): 369–71.

86-Randhawa V.S, Kapoor L, Singh V & Mehta G. Aminoglycoside resistance in enterococci isolated from paediatric septicaemia in a tertiary care hospital in north India. *Indian J Med Res* 119 (Suppl) May 2004; 119: 77–9.

87-Kapoor L, V.S. Randhawa and Monorama Deb. Antimicrobial Resistance of Enterococcal Blood Isolates at a Pediatric Care Hospital in India. *Jpn. J.Infect Dis.* 2005; 58: 101–3.

88-Oncu S, Punar M and Eraksoy H.Susceptibility Patterns of Enterococci Causing Infections. *Tohoku J.Exp. Med.* 2004; 202: 23–9.

89- Yazgı H, Ertek M, Uslu H, Kanadalı A. Enterokoklarda Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci ile Beta Laktamaz Üretimi Türk Mikrobiyol Cem Dergisi 2003; 33: 333–6.

90- Orrett FA and Ehlich Connors. Enterococcal Urinary Tract Infections eight years experience at a regional hospital in Trinidad West Indies. *Chinese Medical Journal.* 2001;114(1) : 90–2.

91- Miranda G, Lee L, Kelly C, Solórzano F, Leños B, Muñoz O, Patterson JE. Antimicrobial resistance from enterococci in a pediatric hospital. Plasmids in *Enterococcus faecalis* isolates with high-level gentamicin and streptomycin resistance, *Arch Med Res.* 2001; 32(2):159–63.

92-Kaya S, Ciciođlu Arıdoğan B, Çetin H, Demirci M. Çocuk Hastalardan Alman Kan Kùltürlerinde Üreyen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Dirençleri. *Fırat Tıp Dergisi* 2007;12(1): 34–36.