

T1182



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

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK  
TÜRLERİNİN İDENTİFİKASYONU,  
ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI, YÜKSEK DÜZEY  
GENTAMİSİN DİRENÇ ÖZELLİKLERİNİN VE BETA LAKTAMAZ  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

T1182 / 1-1

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Ali Osman ŞEKERCİOĞLU**

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Tümer VURAL

"Tezimden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir"

**Antalya, 1998**

## TEŞEKKÜR

*Uzmanlık eğitiminde ve tezimin hazırlanmasında değerli katkılarından dolayı başta tez danışmanım Sayın Doç Dr Tümer VURAL ve Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gönül MUTLU olmak üzere, sayın hocalarım Doç. Dr. Meral GÜLTEKİN, Yrd. Doç. Dr. Dilek ÇOLAK, Yrd. Doç. Dr. Dilara ÖĞÜNÇ, Uzm. Dr. Gözde ÖNGÜT ve asistan arkadaşlarıma, ayrıca gösterdikleri özveriden dolayı eşim Dr. Duygu ŞEKERCİOĞLU ve ailemin diğer fertlerine sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım*

**Dr. Ali Osman ŞEKERCİOĞLU**

*Antalya, 1998*

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa :</u>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	2
2.1. Taksonomi.....	2
2.2. Morfolojik ve fizyolojik özellikleri.....	4
2.3. Enfeksiyon kaynakları .....	6
2.4. Virülans ve patogenezi .....	6
2.5. Epidemiyoloji .....	7
2.6. Laboratuvar tanısı .....	8
2.6.1. Örneklerin toplanması, transportu ve saklanması.....	8
2.6.2. Bakteri izolasyonu.....	8
2.6.3. Kültürlerin identifikasyonu .....	9
2.6.4. Moleküler yöntemler .....	12
2.7. Antibiyotiklere direnç durumu.....	12
2.7.1. Yüksek düzey aminoglikozid direnci .....	14
2.7.2. Vankomisin direnci .....	16
2.7.3. Penisilin ve ampisilin direnci .....	17
2.7.4. Beta-laktamaz enzimi .....	18
2.7.5. Direnç geninin transferi .....	18
2.8. Klinik .....	19
2.9. Tedavi .....	21
<b>3. MATERYAL VE METOD</b> .....	23
3.1. Enterokok türlerinin izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri için kullanılan besiyerleri .....	24
3.2. İdentifikasyon yöntemleri .....	28
3.2.1. Katalaz deneyi .....	28
3.2.2. Safra-ı-eskülinli besiyeri ve %6.5 NaCl içeren besiyerinde üremenin değerlendirilmesi .....	28

3.2.3 Hemoliz özelliğinin incelenmesi .....	: 28
3.2.4 Enterokok türlerinin identifikasyonu (Sceptor otomatize sistemi) ..	: 28
3.2.4.1. Biyokimyasal maddeler ve verdikleri reaksiyonlar .....	: 29
3.2.4.2. Sceptor otomatize sisteminin çalışma prensipleri .....	: 31
3.2.4.3. Diğer yöntemler ile antibiyotik direncinin araştırılması .....	: 32
3.2.4.3.1. Disk difüzyon yöntemi .....	: 32
3.2.4.3.2. Mikrodilüsyon yöntemi .....	: 33
3.2.4.3.3. E test yöntemi .....	: 34
3.2.4.3.4. Yüksek düzey gentamisin direncinin araştırılması .....	: 34
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>: 36</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>: 54</b>
5.1. Enterokok türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu .....	: 54
5.2. Enterokok türlerinin izolasyon yerlerine göre dağılımı .....	: 57
5.3. Enterokok türlerinin antibiyotiklere dirençlilikleri .....	: 58
5.4. Enterokok türlerinde yüksek düzey gentamisin direnci .....	: 61
5.5. Enterokok türlerinde vankomisin direnci .....	: 64
5.6. Enterokok türlerinde beta laktamaz enzimi .....	: 66
<b>6. SONUÇ .....</b>	<b>: 68</b>
<b>7. ÖZET .....</b>	<b>: 69</b>
<b>8. KAYNAKLAR .....</b>	<b>: 71</b>

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlk kez XX. yüzyılın başlarında tanımlanan Enterococcus cinsi bakteriler, insanların barsak florasının bir üyesidir. Enterokok türlerinin oluşturdukları infeksiyonların çoğunda etken, hastanın normal barsak florasında bulunur. Özellikle son yıllarda, enterokok türleri nozokomiyal infeksiyonlardan sıklıkla izole edilmektedirler.

Uzun yıllardan beri komplike enterokok infeksiyonlarının tedavisinde, hücre duvarına etkili bir antibiyotik ile, aminoglikozid grubu bir antibiyotiğin kombinasyonu, standart tedavi olarak uygulanmıştır. Mikroorganizmanın, vankomisin dahil birçok antibiyotiğe direnç kazanması ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin görülme sıklığının artması, gelecek yıllarda enterokok infeksiyonlarının tedavisinde problemler yaşanacağını bir göstergesidir.

Sunulan çalışmada, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Birimi'ne gönderilen klinik örneklerden;

- Enterokok türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu,
- Enterokok türlerinin antibiyotik direnç özelliklerinin araştırılması,
- Enterokok türlerinin, disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile saptanan antibiyotik direnç özelliklerinin karşılaştırılması,
- Yüksek düzey gentamisin direnci gösteren enterokok türlerinin belirlenmesi,
- Enterokok türlerinin beta-laktamaz aktiviteleri ile, hemoliz yapma özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Taksonomi

Andrewes ve Holder 1906 yılında, mikroskopik olarak kısa zincir morfolojisinde, mannitol ve laktozu asit yaparak fermente eden ve rafinoza etki etmeyen, gaitadan sıklıkla izole ettikleri mikroorganizmaya *Streptococcus faecalis* (*S. faecalis*) adını vermişlerdir. Orla-Jensen, 1943 yılında karbonhidrat fermantasyon reaksiyonları *S. faecalis*'ten farklı olan ve *S. faecium* adı verilen ikinci bir fekal mikroorganizma tanımlamıştır. Sherman ve Wing 1935 ve 1937 yıllarında *S. durans*'ı, Nowlan ve Deibel 1967 yılında *S. avium*'u izole ederek gruba dahil etmişlerdir (1).

Kalina 1970 yılında, *S. faecalis*, *S. faecium* ve diğer enterokokal streptokokların alt gruplarının hücresel düzenlemeleri ve fenotipik karakterleri göz önüne alınarak, Enterococcus olarak yeni bir genus altında toplanmasını önermiştir (2). Daha sonra bu öneri kabul edilmeyerek, genusun ismi, Streptococcus olarak devam etmiştir. Schleifer ve Kilpper-Balz 1984 yılında, *S. faecalis*, ve *S. faecium*'un genetik yapılarının, Streptococcus genusunun diğer üyelerinden farklı olması nedeni ile, enterokokların bu genustan ayrı olması gerektiğini söylemişlerdir (2,3). 1984 yılından sonra yapılan DNA-DNA ve DNA-RNA hibridizasyon çalışmaları ile, enterokokların diğer streptokoklardan farklılıkları açıkça gösterilmiştir. Bu çalışmalar sonucu, *E. faecium* ile *E. faecalis* suşlarına ek olarak 17 tür daha genusa dahil edilmiştir (Tablo 2.1) (4-6)

**Tablo 2.1:** Enterococcus genusu

Tür Adı	Genusa Dahil Edildiği Yıl
E. faecalis	1984
E. faecium	1984
E. avium	1984
E. casseliflavus	1984
E. durans	1984
E. gallinarum	1984
E. malodoratus	1984
E. hirae	1985
E. mundtii	1986
E. raffinosus	1989
E. solitarius <sup>a</sup>	1989
E. pseudoavium	1989
E. cecorum	1989
E. columbae	1990
E. saccharolyticus	1990
E. dispar	1991
E. sulfureus	1991
E. seriolicida <sup>a</sup>	1991
E. flavescens	1992

a: enterococcus genusuna dahil olmadığı düşünülmektedir.

Yapılan son çalışmalar, tablo 2.1'deki iki türün, enterokok genusuna dahil edilmemesi gerektiğini göstermektedir. 16S rRNA taşıyan *E. solitarius*, genusun diğer üyelerinden farklı olarak, *Tetragenococcus halophilus*'la benzer özellikler gösterir. DNA homolojisi çalışmaları sonucu, *E. solitarius*'un; Enterococcus ve Tetragenococcus genusu üyeleri ile benzer özellikler taşıdığı belirlenmiştir. Bu neden ile, bu türün gerçek taksonomik yapısı tam olarak tespit edilememiştir. *E. seriolicida*'nın RNA yapısı, *Lactococcus garvieae*'nin (*L. garvieae*) RNA yapısı ile aynıdır. Hücre protein analiz yöntemleri ile yapılan çalışmalarla, *E. seriolicida* ile *L. garvieae*'nin protein profillerinin aynı olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar dikkate alındığında, *E. solitarius* ve *E. seriolicida*'nın, Enterococcus genusuna ait olmadıkları düşünülmektedir. Ayrıca bu iki türün, AccuProbe (Gen Probe) Enterococcus reaksiyonları da olumsuzdur. Bu test, DNA oligomerinin yapısını tamamlayıcı enterokokal rRNA segmentini içerir (2).

## 2.2. Morfolojik ve fizyolojik özellikleri

Enterokoklar genellikle tek veya diplokok şeklinde bulunan, bazen kısa zincir yapan gram pozitif koklardır. Kültürde yeni üreyen mikroorganizmalar boyama yöntemleri ile bazen kokobasil formunda görülebilirler. Sıvı besiyerlerinde üreyen mikroorganizmalar daha uzun zincir teşkil ederler (2,7-9)

Enterokoklar fakültatif anaerob olup, 35°C'de ürerler. Bazı türler 10-45°C arasında üreyebilme özelliği gösterirler. Bütün türler, %40 oranında safra tuzu içeren safralı-eskülünlü besiyerinde eskülünü hidrolize ederler ve %6.5 oranında NaCl içeren besiyerinde ürerler (1-3,6-11,12). Türlerden bazıları hareketli olup, *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* hariç



diğer enterokok türlerinin hepsi, pyrrolidonyl- $\beta$ -naphthylamide'i (PYR) hidrolize ederler. Tüm enterokoklar, leucine aminopeptidase (LAP) enzimi üretirler ve sitokrom enzimi içermezler (6,10,13,14). Katalaz olumsuz reaksiyon vermelerine karşın, bazı psödokatalaz üreten enterokok türleri, zayıf olumlu katalaz reaksiyonu verebilirler. Suşların çoğu karbonhidratları fermente eder fakat gaz üretmezler. Glikoz fermentasyonunda son ürün laktik asittir. Türlerin çoğu, hücre duvarlarında gliserol teikoik asit antijeni içermeleri nedeni ile, streptokokal D grubu antiserumu ile, olumlu reaksiyon verirler (1,2,8,11,15). Enterokoklar kanlı agar besiyerinde  $\alpha$ ,  $\beta$  hemoliz yapabilirler veya nonhemolitik olabilirler (2,6). DNA'daki Guanin+Sitozin oranı %37-45 mol'dür (2,11).

İnsan infeksiyonlarından izole edilen, Lactococcus, Leuconostoc ve Pediococcus cinsleri, safralı-eskülinli besiyerinde eskülini hidrolize etmeleri ve %6.5 NaCl içeren besiyerinde üremeleri nedeni ile, enterokok olarak tanımlanabilirler (6,10). Tetragenococcus ve Vagococcus cinsleri, enterokoklarla benzer fenotipik özellik göstermelerine karşın, insanlardan izole edilmezler (2).

Katalaz negatif, gram pozitif diğer kokların enterokok türlerinden ayırımında, PYR ve LAP testlerinin sonuçları, %6.5 NaCl içeren besiyerlerinde üremeleri, 45°C'de üreme ve eskülini hidrolize etme özelliklerine bakılır (1-3,6,10,12-14). Enterokok türleri D antiserumu ile olumlu reaksiyon vermelerine karşın bu reaksiyon dikkatle yorumlanmalıdır (6,10,16,17). İnsanlardan izole edilen pediokok ve lökonostok türlerinin çoğu, grup D antijeni içermeleri nedeni ile, yanlışlıkla enterokok olarak tanımlanabilirler (16,17). Bu neden ile, enterokok türlerinin tanımlanmasında, diğer doğrulama yöntemleri de kullanılmalıdır (2).

### 2.3. İnfeksiyon kaynakları

Enterokok türleri, çevresel koşullara dirençli olmaları nedeni ile doğada bol miktarda bulunurlar. Birçok hayvanın normal florasında, toprakta, suda ve çeşitli besin maddelerinde yaşamlarını sürdürürler. En çok buldukları yerler; insan ve hayvanların gastrointestinal sistem florasıdır. Bazı enterokok türleri, nadiren orofaringeal sekresyon, vajinal sekresyon, deri ve özellikle perineal bölgede bulunmaktadır (1-3,8).

### 2.4. Virülans ve patogenezi

Yapılan çalışmalar ile, enterokok türlerinin oluşturdukları bakteremilerde yüksek mortalite hızı (%42-68) tespit edilmesine karşın, patojenitenin sebebi tam olarak açıklanamamıştır (8,10,18,19). Bu çalışmaların çoğunda enterokoklar, polimikrobiyal baktereminin bir parçası olup, morbidite ve mortalitede önemli rol oynarlar. Bununla birlikte enterokoklar, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*) kadar virülan bakteriler değildir (8,19). Enterokok türleri orofarinkse kolonize olurlarsa da, nadiren solunum yolu infeksiyonlarından izole edilirler. Klasik virülans faktörleri bulunmasa da, birçok antimikrobiyal ajana direnç göstererek, antibiyotik tedavisi alan hastalarda ikincil infeksiyonlarda ajan patojen olabilirler (1,3,8). Bu durum, özellikle dar spektrumlu antibiyotikler ile tedavi gören hastalarda gelişen süperinfeksiyonları da açıklamaktadır. Enterokok türleri kalp kapakları ve renal epiteliyal hücrelere yapışarak, endokardit ve üriner sistem infeksiyonuna sebep olurlar. Birçok araştırmacı, plazma hemolizinlerini

salgılayan bazı *E.faecalis* suşlarının, insanlarda ve hayvanlarda oluşan infeksiyonlarda virülansı artırdıklarını göstermişlerdir (8,20).

Enterokok türleri sıklıkla intraabdominal ve pelvik infeksiyonlardan izole edilirler (3,8,21). Yapılan kapsamlı çalışmalara rağmen, bu infeksiyonlardaki enterokokların rolü tam olarak açıklanamamıştır. Bununla birlikte, polimikrobiyal infeksiyonlarda *Bacterioides fragilis* gibi diğer mikroorganizmaların ve bunların ürünlerinin ortamda bulunmasının, enterokokların üremesini artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, morbidite ve mortalitenin yüksek olduğu intraabdominal infeksiyonlarda, diğer bakteriler ve enterokoklar arasında sinerjistik etkileşim vardır (8,21).

## 2.5. Epidemiyoloji

İnsanların yaklaşık tamamının normal barsak florasının bir üyesi olan enterokok türleri, kazanılmış veya nozokomiyal birçok infeksiyonda ajan patojen olabilirler (8,21). İnfeksiyonların çoğunda etken, hastanın normal barsak florasında bulunur. Hospitalize edilmiş veya periton diyalizi, hemodiyaliz tedavisi altında olan hastalarda gelişen enterokok infeksiyonlarında ise kaynak genellikle ekzojendir. Nozokomiyal infeksiyonlara neden olan enterokok türleri, ayrıca sağlık personelinin ve hastanelerdeki çevresel kaynaklardan da izole edilirler (8). Bu durum değerlendirmelerde güçlük yaratır, çünkü çevre, infekte hastaların dışkı ve idrarlarından dolayı olarak kontamine olmaktadır (8,19).

Enterokok türleri nozokomiyal infeksiyonlardan ikinci veya üçüncü sıklıkta izole edilirler (8,10,19). Altta yatan başka bir hastalığın olması, uzun süre hastanede yatış, cerrahi girişimler, böbrek yetmezliği, üriner veya vasküler kateterizasyon ve yoğun bakım ünitelerinde tedavi, nozokomiyal

enterokok infeksiyonları için risk faktörlerini oluşturmaktadır (8,12,21-25). Özellikle sefalosporin ve aminoglikozid grubu antibiyotikler ile tedavi, enterokoklara direnç gelişmesine neden olabilir. Ayrıca aztreonam, imipenem, siprofloksasin ve vankomisine de direnç gözlenebilir. Enterokok bakteremisi, nadiren hematolojik malignansilerde bir komplikasyon olarak ortaya çıkar. Bunun nedeni, kullanılan sitotoksik ilaçların gastrointestinal sistem mukozasında oluşturduğu harabiyettir (8)

## **2.6. Laboratuvar tanısı**

### **2.6.1 Örneklerin toplanması, transportu ve saklanması**

Standart metodlar kullanılarak toplanan klinik örneklerin taşınmasında, transport besiyerleri kullanılır. Klinik örneklerin, alındıktan sonra mümkün olan en kısa sürede (en geç bir saat içinde) kültürleri yapılmalıdır (2).

Enterokok türleri liyofilize edilerek veya  $-70^{\circ}\text{C}$ 'de, uzun süre saklanabilir. Birçok enterokok türü eğik dökülmüş basit agarda birkaç ay süre ile canlılığını korur (2,12).

### **2.6.2 Bakteri izolasyonu**

Enterokok türleri, %5 koyun kanı içeren triptik soy agar, %5 koyun kanı içeren beyin kalp infüzyon agar veya %5 koyun kanı içeren agarda üreyebilirler (2,10,12). Bazı enterokok türleri tavşan veya at kanı içeren agarda  $\beta$  hemoliz yapmalarına karşın, koyun kanlı agarda nonhemolitiklerdir. Enterokok türlerinin izolasyonunda, azid içeren selektif besiyerleri kullanılır. Azid, gram negatif bakterilerin üremesini inhibe eder ve enterokok türleri, safralı-eskülünlü azid besiyerinde eskülünü hidrolize ederek siyah renk

oluştururlar. Columbia Colistine-Nalidicsic Acid Agar (CNA) veya Phenylethyl Alcohol Agar (PEA) gibi diğer besiyerleri de enterokok izolasyonunda kullanılırlar (2,26). CNA, PEA'ya göre, hemoliz özelliğinin değerlendirilmesi açısından daha avantajlıdır (2).

Enterokok türleri, 35-37°C'de ürerler. Bazı türler haricinde, üreme ortamlarında yüksek düzey karbondioksit ihtiyacı göstermezler (2,8,10,15).

### 2.6.3. Kültürlerin identifikasyonu

Enterokok türleri mannitol, sorbitol ve sorbozdan asit oluştururlar ve arjinini hidrolize ederler (2,6,10). Enterokok türlerinin identifikasyonunda kullanılan testler, tablo 2.2'de gösterilmiştir. Bu özelliklere göre enterokoklar, dört ana gruba ayrılırlar (2,6). Grup I; *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus* ve *E. pseudoavium*'u içerir. Bu dört tür mannitol, sorbitol ve sorbozdan asit oluştururken, arjinini hidrolize etmez. Grup II; *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. mundtii*, *E. flavescens* ve *E. gallinarum*'u içerir. Bu altı tür, mannitolden asit oluşturur, arjinini hidrolize eder, sorbozdan asit oluşturmaz ve sorbitole etkisi değişkendir. Grup III; *E. durans*, *E. hirae*, *E. dispar* ve *E. faecalis* varyantını içerir. Bu dört tür ise, arjinini hidrolize eder, mannitol, sorbitol ve sorbozdan asit oluşturmaz (2,6).

Her bir grupta yer alan türler, daha sonra spesifik reaksiyonlarla tanımlanırlar. Grup I'de bulunan türlerin arabinoz ve rafinoz reaksiyonlarına göre identifikasyonu olasıdır. *E. avium*, arabinozdan asit oluştururken rafinozu fermente etmez. *E. malodoratus*, rafinozdan asit oluşturmasına karşın, arabinozdan oluşturmaz. *E. raffinosus* her iki şekeri fermente eder iken, *E. pseudoavium* bu şekerlere etkisizdir (2,6).

Grup II'nin bir üyesi olan *E. faecalis*, tellürit içeren ortamda ürer ve pirüvati ütilize eder. *E. faecium* ve *E. gallinarum* için her iki özellik de olumsuzdur. *E. gallinarum* hareketli iken, *E. faecium* hareketsizdir. *E. casseliflavus*, *E. mundtii* ve *E. flavescens*, besiyerinde sarı pigment oluştururlar ve diğer karakteristik özellikleri birbirine benzer. Bunun yanı sıra, *E. casseliflavus* ile *E. flavescens* hareketli olmalarına karşın, *E. mundtii* hareketsizdir. *E. casseliflavus* ribozdan asit oluştururken, *E. flavescens* oluşturmaz (2,6).

Grup III üyelerinin identifikasyonunda pirüvat, rafinoz ve sükroz reaksiyonları kullanılmaktadır. *E. durans* için bu testlerin hepsi olumsuz iken, *E. hirae*'nin sükroz reaksiyonu olumlu, rafinoz reaksiyonu ve pirüvat testi olumsuzdur. *E. dispar* için, her üç reaksiyon da olumludur. *E. faecalis*'in varyant formu pirüvati ütilize eder, rafinoz ve sükrozdan asit oluşturmaz.

Grup IV'ün tek üyesi olan *E. sulfureus*, mannitol, sorbitol ve sorbozdan asit oluşturmaz ve arjinini hidrolize etmez. Bu karakteristik özellikler diğer enterokok türlerinde bulunmaz (2,6).

**Tablo 2.2:** Enterokok türlerinin identifikasyonu.

Tür adı	man	sbl	sor	arg	ara	raf	tel	har	pig	sük	pir	rib
<b>Grup I</b>												
<i>E. avium</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
<i>E. malodoratus</i>	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+
<i>E. raffinosus</i>	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>E. pseudoavium</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
<b>Grup II</b>												
<i>E. faecalis</i>	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+
<i>E. faecium</i>	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+
<i>E. casseliflavus</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+
<i>E. mundtii</i>	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+
<i>E. flavescens</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-
<i>E. gallinarum</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+
<b>Grup III</b>												
<i>E. durans</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	?
<i>E. hirae</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	?
<i>E. dispar</i>	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	?
<i>E. faecalis (varyant)</i>	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	?
<b>Grup IV</b>												
<i>E. sulfureus</i>	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+

man; mannitol, sbl; sorbitol, sor; sorboz, arg; arginin, ara; arabinoz, raf; rafinoz, tel; % 0 04 tellürit, har; hareket, pig; pigment yapma, sük; süktroz, pir, pirtuvat, rib; riboz, +; >% 90 pozitif, -; <%10 pozitif, - veya +; değişken etki (%3'un altında reaksiyon), ?; test edilmemiş, bu nedenle sonucu bilinmiyor.

Klinik örneklerden en sık *E. faecalis* (%80-90 ), ikinci sıklıkta *E. faecium* (%5-10) izole edilmesine karşın, diğer türlerin izolasyon oranları daha düşüktür (6,10,11,12,19,25-27). Bununla birlikte, *E. raffinosus* ve *E. casseliflavus* 'un bazı bölgelerde sık olarak izole edildikleri bildirilmiştir. Bu neden ile, enterokok türlerinin dağılımı, bölgesel farklılıklar gösterir (2). *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. flavescens*, *E. durans*, *E. hirae* ve *E. faecalis* varyantı insanlardan nadiren izole edilirler (2,8).

#### 2.6.4. Moleküler yöntemler

DNA hibridizasyonunun jel elektroforezi ile kombine analizi, PCR amplifikasyon yöntemi ve sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi ile hücre protein profil analizi, enterokok türlerinin laboratuvar tanısında kullanılan moleküler yöntemlerdir (28-30). Tanımlanamayan enterokok türleri, bu yöntemler ile identifiye edilmiş, ayrıca konvansiyonel yöntemler ve otomatize sistemlerden kaynaklanan hatalar da ortadan kaldırılmıştır (21).

PCR amplifikasyon sistemi ile, yüksek düzey aminoglikozid direnci ve ayrıca vankomisin direnci genotip tayininin yapılması da mümkün olmuştur (30-32).

#### 2.7. Antibiyotiklere direnç durumu

Enterokok türleri ile oluşan sistemik infeksiyonlarda, bir beta-laktam veya vankomisin gibi hücre duvarına etkili antibiyotik ile, aminoglikozid grubu bir antibiyotiğin (gentamisin veya streptomisin) kombine tedavisi kullanılır (21,33-36). Bu ajanlar, sinerjistik etkiye sahiptirler. Hücre duvarına etkili antibiyotiğe karşı bir direnç gelişmiş ise veya yüksek düzey



aminoqlikozid direnci mevcut ise, bu etki oluşmaz ve kombine tedavi başarisızlıkla sonuçlanır. Bu neden ile, aminoqlikozidler ve hücre duvarına etkili antibiyotiklere karşı direnç durumunun araştırılması önemlidir (34-39).

Enterokok türleri ile oluşan infeksiyonlarda kullanılan antibiyotiklerin minimal inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri, tablo 2.3'de verilmiştir. Enterokok türlerinin antibiyotiklere karşı intrensek ve kazanılmış direnç durumları tablo 2.4'de gösterilmiştir (2,19,35).

**Tablo 2.3:** Enterokok türlerinin çeşitli antibiyotiklere karşı MIC değerleri ( $\mu\text{g/ml}$ ).

Antibiyotikler	Enterococcus faecalis		Enterococcus faecium	
	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
Ampisilin	1	1	8	32
Penisilin	2	4	16	64
Piperasilin	2	4	16	64
İmipenem	2	2	16	64
Vankomisin	2	2	1	2
Teikoplanin	0.5	1	0.5	1
Tetrasiklin	$\geq 16$	$\geq 16$	$\geq 16$	$\geq 16$
Kloramfenikol	8	$\geq 16$	4	16
Eritromisin	$\geq 256$	$\geq 256$	$\geq 256$	$\geq 256$
Siprofloksasin	1	2	4	16

**Tablo 2.4:** Enterokok türlerinin antibiyotiklere karşı direnç özellikleri.

### İNTRENSEK DİRENC

Aminoglikozidler (düşük düzey)

Beta-laktam antibiyotikler (genellikle yüksek MIC değeri )

Linkozamidler (düşük düzey)

Trimetoprim-sulfametoksazol (sadece in vivo olarak)

### KAZANILMIŞ DİRENC

Aminoglikozidler (yüksek düzey)

Beta-laktam antibiyotikler (PBP'lerdeki değişiklikler)

Hücre duvarına etkili ajanlar (tolerans gelişir)

Florokinolonlar

Linkozamidler (yüksek düzey)

Makrolidler

Penisilin ve ampisilin (beta-laktamaz )

Rifampin

Tetrasiklin

Vankomisin

PBP: Penisilin bağlayan protein

#### **2.7.1. Yüksek düzey aminoglikozid direnci**

Enterokok türleri, intrinsek olarak düşük düzey aminoglikozid direncine sahiptirler. Bu direnç, bakterinin hücre duvarı aminoglikozid geçirgenliğinin zayıf olmasına bağlıdır. İntrinsek dirence bağlı olarak

enterokok türleri için aminoglikozid grubu antibiyotiklerin MIC değerleri 8-250 µg/ml arasındadır. Bu neden ile, enterokok infeksiyonlarının tedavisinde aminoglikozid grubu antibiyotiklerin tek başına kullanılmaları önerilmemektedir. Penisilin ve vankomisin gibi hücre duvarı sentez inhibitörlerinin varlığında aminoglikozidlerin hücre içine geçişi belirgin olarak artmaktadır (19,40).

Yüksek düzey gentamisin direnci ilk kez 1979 yılında Fransa'da, klinik bir örnekten izole edilen *E. faecalis* suşunda, Horodniceanu ve arkadaşları tarafından saptanmıştır (41). Bu dirençte adeniltransferaz, fosfotransferaz ve asetiltransferaz enzimleri rol oynamaktadır. Transfer edilebilme nedeni ile, türler arasında hızlı yayılım özelliği gösterir. Yüksek düzey gentamisin direncine sahip enterokok türleri, genellikle aminoglikozid grubu antibiyotiklerin diğer üyelerine de dirençlidirler. Farklı bir enzim ile (aminoglikozid nükleotidil transferaz) inaktive olan streptomisin bu genellemenin dışında kalır. Bu enzim enterokok türlerinde bulunmaz (8,40).

Enterokok türlerinin, yüksek düzey streptomisin direnç mekanizması farklıdır. Diğer aminoglikozid grubu antibiyotikler gibi, streptomisin de hücredeki hedefi ribozomlardır. Ribozomlardaki antibiyotiğin bağlandığı molekül değişikliğe uğrarsa, streptomisin etkisiz kalır (ribozomal direnç). Yalnız streptomisine karşı gelişen bu direnç transfer edilemez (8,40).

1992 yılında, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), enterokok türlerindeki yüksek düzey aminoglikozid direncinin saptanmasında karışıklıkları ortadan kaldırmak için bazı yöntemler önermiştir. Geliştirilen agar dilüsyon, mikrodilüsyon, ve disk difüzyon metodları ile daha sağlıklı sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 2.5) (40,42,43)

**Tablo 2.5:** Enterokok türlerinde yüksek düzey aminoglikozid direncinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler.

Parametre	Agar dilüsyon	Buyyonda dilüsyon	Disk difüzyon
Besiyeri	BKİA*	BKİB**	MHA***
İnokulum	10 <sup>6</sup> CFU/ nokta	5 X 10 <sup>5</sup> CFU/ml	0.5 McFarland
İnkübasyon	24 <sup>a</sup> saat	24 <sup>a</sup> saat	18-24 saat
Konsantrasyon			
Gentamisin	500µg/ml	500µg /ml	120µg /disk
Streptomisin	2000µg /ml	1000µg /ml	300µg /disk
Sonuç	Üreme yok: Duyarlı	Üreme yok: Duyarlı	6mm zon: Dirençli 7-9 mm zon <sup>b</sup> ≥10mm zon: Duyarlı

\*Beyin kalp infüzyon agar

\*\*Beyin kalp infüzyon buyyon

\*\*\*Mueller-Hinton agar

a.Streptomisin direncinin araştırılmasında inkübasyon 24 saat daha uzatılabilir.

b.Sonuç yorumlanamaz Ek olarak agar dilüsyon veya mikrodilüsyon yapılmalıdır.

Gentamisin ve streptomisine karşı duyarlılığın kontrolünde, *E. faecalis* ATCC 29212, direncin kontrolünde ise, *E. faecalis* ATCC 51299 standart suşları kullanılmaktadır. Disk difüzyon ile direnç durumu saptanıyorsa sadece *E. faecalis* ATCC 29212 kullanılır (40,44,45).

### 2.7.2. Vankomisin direnci

Vankomisine dirençli enterokok suşu ilk kez 1980'li yılların sonunda bildirilmiştir (8,21).

Esas olarak üç tip direnç mevcuttur 1997 yılının sonlarına doğru dördüncü tip direnç, ABD'de izole edilen bir *E. faecium* suşunda tespit edilmiştir (46).

i) Teikoplanin direncinin eşlik ettiği yüksek düzey vankomisin direnci: Van A tipi direnç.

ii) Teikoplanine direnç olmadan, düşük veya yüksek düzey vankomisin direnci: Van B tipi direnç.

iii) *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus*'da görülen, intrinsek düşük düzey vankomisin direnci: Van C tipi direnç (21,47-52).

iv) Teikoplanine düşük düzey direncin eşlik ettiği, vankomisin direnci: Van D tipi direnç (46).

Van A ve Van B direnç tipleri, sıklıkla *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinde görülmekle birlikte, diğer türlerde de saptanabilir. Her iki direnç tipi için genler transfer olma özelliğine sahip olmasına karşın, Van C geni transfer edilemez (21,46,50-52).

NCCLS, vankomisine duyarlılık ve direnç değerlerini MIC olarak 4µg/ml ve altı duyarlı, 32µg/ml ve üzeri dirençli şeklinde açıklamıştır (53). Bununla birlikte, klinik laboratuvarlar sıklıkla disk difüzyon ve otomatize sistemleri kullandıklarından, enterokoklardaki düşük düzey vankomisin direnci tespit edilememektedir (Van B ve Van C tipi dirençler). Disk difüzyon yöntemi ile, 24 saatlik inkübasyon sonucu değerlendirme yapıldığında, daha anlamlı sonuçlar alınmıştır. Bazı sistemlerdeki başarısızlık nedeni ile, enterokok türlerindeki vankomisin direncini saptamak amacı ile ilk olarak Willey ve arkadaşları tarafından açıklanan agar dilüsyon testi, NCCLS tarafından da benimsenmiştir (50,52).

### 2.7.3. Penisilin ve ampisilin direnci

NCCLS kriterlerine göre, penisilin ve ampisiline karşı direnç MIC değerleri 16µg/ml ve üzeri olarak tanımlanmıştır. Penisilin ve ampisiline karşı direnci belirleyecek özel bir test yoktur. Rutin olarak kullanılan antibiyotik duyarlılık testleri, penisilin bağlayan proteinlerdeki değişikliklere bağlı olarak gelişen direnci gösterir. Bu direnç durumu, yüksek MIC

değerleri veya küçük inhibisyon zon çapları ile kolayca tespit edilebilmektedir (19,21,53).

#### 2.7.4. Beta-laktamaz enzimi

Beta-laktamaz üreten *E. faecium* suşu, ilk olarak 1980'li yılların başında izole edilmiştir. Enterokok türlerindeki beta-laktamaz enzimi, yapı olarak plazmid aracılı beta-laktamaz içeren *S. aureus* suşlarının enzimi ile aynı olmasına karşın, *S. aureus*'da bulunan beta-laktamaz enzimi genleri, enterokoklara transfer edilemez. Beta-laktamaz üretimi, nitrosefin gibi etkin bir test kullanılarak tespit edilebilir (2,8).

#### 2.7.5. Direnç geninin transferi

Direnç geninin enterokok türleri arasındaki transferi, plazmidlerin veya transpozonların konjugasyonu ile kolaylıkla gerçekleştirilebilir. Enterokok türlerinde iki farklı konjugatif transfer sistemi vardır. Bunlardan birincisi, dar alanlı plazmidleri içerir. Transfer genleri yüksek sıklıkta ve sadece enterokok türleri arasında bulunur. Konjugatif transfer sisteminin ikincisinde rol oynayan geniş alanlı plazmidler; enterokok türleri, streptokok türleri, *S. aureus*, laktobasiller, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes* ve diğer mikroorganizmalar arasında transfer edilebilirler (8,54).

Yüksek düzey gentamisin, penisilin direnci görülen ve ayrıca vankomisine de dirençli olan enterokok türleri, plazmidler aracılığı ile direnç genini diğer streptokoklara ve stafilokoklara aktarabilirler. Bu neden ile, penisiline ve vankomisine dirençli gram pozitif suşların sayısında hızlı bir artış olabileceği ve infeksiyonların tedavisinde önemli problemlere yol açabileceği düşünülmektedir (21).

## 2.8. Klinik

Enterokok türlerinin en sık izole edildikleri klinik örnek idrardır (10,19,55). Komplike olmayan sistit ve/veya pyelonefrit, prostatit ve perinefrik absede de etken olabilirler. Enterokok türlerinin neden oldukları üriner sistem infeksiyonları sıklıkla sonda takılmış hastalarda gözlenir ve çoğu nozokomiyal infeksiyonlardır. Son yıllarda enterokok türlerinin oluşturduğu nozokomiyal infeksiyonlarda bir artış olduğu tespit edilmiştir (8,19). Bakteremi, enterokokal üriner sistem infeksiyonlarında nadir olarak gözlenen bir komplikasyondur (56).

Enterokok türlerinin neden olduğu bakteremilerin çoğunda, endokardit gelişmemesine karşın, nozokomiyal bakteremi sonrası endokardit ortaya çıkmaktadır (8).

Enterokok türleri, infektif endokarditlerin yaklaşık %5-15'inden sorumludurlar (57,58). En sık izole edilen etken, *E. faecalis* olmasına karşın, *E. faecium*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinarum* ve *E. raffinosus* da endokardit etkeni olabilir (6). Vakaların çoğunluğunu valvuler kapak hastalığı olan veya protatik kapak replasmanı yapılanlar oluşturmakla birlikte, infeksiyon normal kalp kapaklarında da gelişebilir. Yapılan çalışmalarda, yaşlı insanlarda ve düşük veya yeni doğum yapan genç kadınlarda gelişen üriner sistem infeksiyonu ile birlikte endokarditlerin de görüldüğü bildirilmiştir (8,59).

Enterokok türleri intraabdominal ve pelvik bölgelerin mikst aerobik ve anaerobik infeksiyonlarına da sıklıkla neden olurlar (8,19,60). Nefrotik sendrom veya sirozda spontan peritonit sebebi olabilir, kronik periton diyalizi yapılan hastalarda gelişen peritonitlerden de izole edilebilirler. Bazen abdominal cerrahi veya travma sonrası gelişen peritonitlerde

enterokok türleri tek etken olabilirler. Ayrıca abse formasyonu oluşumuna da yol açabilirler. Endometrit, sezeryan veya akut salpenjit sonucu komplikasyon olarak bakteremi gelişebilir (8,19).

Enterokok türlerinin neden olduğu yara ve doku infeksiyonları, son derece nadir olup, sellülit veya diğer derin doku infeksiyonları oluşturabilirler. Genellikle cerrahi yara infeksiyonları, dekübitüs ülserleri ve diyabetik ayak infeksiyonlarında, diğer bakteriler ile birlikte mikst infeksiyon yaparlar (8).

Menenjitlerde enterokok türleri nadir olarak etkindir ve yetişkinlerde daha sık gözlenir. Vakaların çoğunda merkezi sinir sistemi anatomik defekti, nöroşirürjik girişim veya kafa travması öyküsü vardır. Çok nadir olarak, ileri dönem bakteremilerde endokardit komplikasyonu sonucu menenjit gelişebilir. AIDS gibi immün sistem defisiti olan hastalarda da, bakteremi sonucu menenjit görülebilir. Neonatal sepsis nedeni ile menenjit gelişen vakalar da bildirilmiştir (19).

Enterokok türlerine bağlı solunum sistemi infeksiyonu son derece nadir görülür. Pnömoni ve akciğer absesi vakaları, altta yatan başka bir hastalığı olan, genel durumu bozuk hastalardır (61). Sefalosporinler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerle tedavi gören hastalarda da, nadir olarak pnömoni gelişebileceği bildirilmiştir (8).

Bakteremi ve/veya menenjit sonrası enterokok türlerinin etken olduğu neonatal sepsisler de görülebilmektedir. Nazogastrik tüp veya intravenöz kateter uygulanan prematüre veya düşük doğum ağırlıklı bebeklerde, *E. faecium* ve *E. faecalis*'in etken olduğu nozokomiyal bakteremi ve/veya menenjit vakaları bildirilmiştir. Genel olarak, yenidoğanda gözlenen enterokok sepsisi, uygun antibiyotik tedavisine iyi cevap verir (8,19).



## 2.9. Tedavi

Uriner sistem infeksiyonu, peritonit ve yara infeksiyonlarının tedavisinde penisilin veya ampisilin kullanılır. Özellikle üriner sistem infeksiyonlarında etken olan enterokok türleri, penisilin ve ampisiline yüksek oranda duyarlıdır. Penisilin direnci olduğu durumlarda, tedavide ilk seçenek glikopeptid grubu antibiyotiklerdir (62).

Enterokok türleri; nitrofurantoin %90-96 oranında duyarlı olduklarından, üriner sistem infeksiyonlarında kullanılabilir (62). Florokinolon grubundan siprofloksasin ve ofloksasin, üriner sistem infeksiyonlarının tedavisinde etkili olmalarına karşın, bu antibiyotiklere karşı giderek artan bir direnç söz konusudur. Ayrıca, özellikle siprofloksasin ile yapılan tedavi sonucu, enterokok türlerinin neden olduğu süperinfeksiyonlar da görülebilmektedir (63-68). Eritromisin, enterokok infeksiyonlarının tedavisinde kullanılmasına karşın yapılan çalışmalarda, makrolid grubu antibiyotiklere %80-90 oranında direnç geliştiği tespit edilmiştir (8).

Uzun yıllardan beri enterokokoksik endokarditlerde, hücre duvarına etkili bir antibiyotik ile (penisilin, ampisilin veya vankomisin), aminoglikozid grubu bir antibiyotik (streptomisin veya gentamisin) kombinasyonu, standart tedavi olarak başarı ile uygulanmaktadır (37,57,69,70). Endokardit tedavisinde tek başına penisilin kullanılması durumunda, %30-60 oranında relapslar görülmektedir. Penisiline direnç varsa, kombinasyonda penisilin veya ampisilin yerine vankomisin kullanılır (8).

Yüksek düzey gentamisin direnci olan enterokokların etken olduğu endokardit veya menenjitlerde, suşun yüksek düzey streptomisin direncine de bakılmalıdır. Streptomisin direnci bulunmayan suşlar ile oluşan infeksiyonlar, hücre duvarına etkili bir antibiyotik ve streptomisin

kombinasyonu ile tedavi edilebilirler. Her iki aminoglikozide de yüksek düzey direnç gösteren enterokok endokarditi vakalarında, ampisilin 8-12 hafta boyunca yüksek dozda ve IV infüzyon şeklinde uygulanması önerilmektedir. Yüksek düzey penisilin direnci görülen infeksiyonların tedavisinde ise vankomisin kullanılır (8)

Beta-laktamaz üreten suşların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde, glikopeptid grubu antibiyotikler ve ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörü içeren antibiyotikler ile, aminoglikozid grubu antibiyotiklerin kombinasyonları kullanılabilir (69).

### 3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, Haziran 1996-Mart 1998 tarihleri arasında, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Birimi'ne gönderilen klinik örneklerden izole edilen 182 adet Enterococcus cinsi bakterinin identifikasyonu, antibiyotiklere duyarlılıkları ve yüksek düzey gentamisin direnç özelliklerinin araştırılması ile, beta-laktamaz aktiviteleri ve hemoliz özelliklerinin incelenmesi amaçlandı.

Tüm örnekler %5 koyun kanlı agar besiyerine ekildi. Besiyerleri 37°C'de 18-24 saat inkübe edilerek, üreyen koloniler gram yöntemi ile boyandı. Mikroskopik muayenede gram pozitif kok morfolojisinde olan ve yer yer zincir yapmış, bakteri kolonilerine katalaz testi uygulandı. Katalaz olumsuz reaksiyon veren bakteriler, streptokok türü olarak değerlendirildi. Elde edilen 24 saatlik saf kültürlerden, safralı-eskülinli agar besiyeri ile, %6.5 NaCl içeren besiyerine ekim yapıldı. Her iki besiyerinde de üreyen bakteriler, enterokok türleri' olarak değerlendirildi. %5 koyun kanlı agara pasajı yapılmış 24 saatlik saf kültürlerin identifikasyonu için, Sceptor otomatize sisteminin (Becton Dickinson) Gram Positive Breakpoint/ ID paneli kullanıldı.

İzole edilen enterokok türlerinin Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile penisilin, ampisilin, ampisilin-sulbaktam, imipenem, meropenem, siprofloksasin, vankomisin ve teikoplanine duyarlılıkları araştırıldı. Ayrıca identifiye edilen suşların, Sceptor otomatize sistemi ile, Gram Positive Breakpoint / ID paneli kullanılarak penisilin, ampisilin ve vankomisine duyarlılıkları MIC yönünden de değerlendirildi.

Enterokok türlerinin, beta-laktamaz aktiviteleri, otomatize sistemin panelinde bulunan kromojenik sefalosporin (nitrosefin) testi ile araştırıldı.

Türlerin hemoliz tiplerinin belirlenmesi için, %5 koyun kanlı agar besiyeri kullanıldı.

### **3.1. Enterokok türlerinin izolasyonu, identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri için kullanılan besiyerleri**

i. Kanlı agar: %5 koyun kanı içeren besiyeri hazırlandı. Bunun için Blood Agar Base (Biolife) hazır besiyeri kullanıldı.

#### Besiyeri içeriği:

Et özeti	15 0g
Karaciğer ekstresi	2 5g
Maya ekstresi	5.0g
NaCl	5.0g
Agar	13.0g
Koyun kanı	50 ml

Besiyeri, 1000 ml distile su içinde eritildikten sonra, 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. 50°C'ye kadar soğutulduktan sonra 50 ml koyun kanı eklenerek, petri kutularına dağıtıldı.

ii. Safralı-eskülinli besiyeri: Bile Aesculin Agar (Oxoid) hazır besiyeri kullanıldı.

#### Besiyeri içeriği:

Pepton	8.0g
Safra tuzu	20 0g
Ferrik sitrit	0.5g
Eskülin	1 0g
Agar	15.0g

Besiyerinin 44.5 gramı, 1000ml distile su içerisinde eritildikten sonra, 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Yatık olarak tüplere dağıtıldı.

iii %6.5 NaCl içeren agar besiyeri: Hazırlanmasında Brain Heart Infusion Agar (Difco) hazır besiyeri ile, tuz (NaCl) kullanıldı.

Besiyeri içeriği:

Dana beyni ekstresi	200 0g
Sığır kalbi ekstresi	250.0g
Pepton	10.0g
Dekstroz	2.0g
NaCl	5.0g
Sodyum fosfat	2.5g
Agar	15.0g

Besiyerinin 52 gramına 6 gram NaCl eklenerek, 1000ml distile suda eritildikten sonra, 121°C'de 15 dakika sterilize edildi ve tüplere yatık olarak dağıtıldı.

iv Beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri: Brain Heart Infusion Broth (Gibco) hazır besiyeri kullanıldı.

Besiyeri içeriği:

Dana beyni ekstresi	200g
Sığır kalbi ekstresi	250g
Pepton	10g
NaCl	5g
Sodyum karbonat	6g

Besiyerinin 38 gramı, 1000 ml distile suda eritilerek, 121°C'de 15 dakika sterilize edildi ve tüplere dağıtıldı.

vi Mueller-Hinton broth besiyeri: Mueller Hinton Broth (Biolife) hazır besiyeri kullanıldı

Besiyeri içeriği:

Et özeti 300.0g

Kazein hidrolizat 17.5g

Nişasta 1.5g

Besiyerinin 23 gramı, 1000 ml distile suda eritilerek, 121°C'de 15 dakika sterilize edildi. Soğumuş besiyerine, 25 mg/L  $Mg^{++}$  ve 50 mg/L  $Ca^{++}$  olacak şekilde hazırlanan iyon konsantrasyonları ilave edildi.

$Mg^{++}$  stok solüsyonunun hazırlanması: 836 mg  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 10 ml distile suda eritilerek filtrasyon ile sterilize edildi. Bu solüsyon 10 mg/ml  $Mg^{++}$  içermektedir.

$Ca^{++}$  stok solüsyonunun hazırlanması: 367.5 mg  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 10 ml distile suda eritilerek filtrasyon ile sterilize edildi. Bu solüsyon 10 mg/ml  $Ca^{++}$  içermektedir.

vii Triptik soy broth besiyeri: Trypticase Soy Broth (Becton Dickinson) hazır besiyeri kullanıldı.

Besiyeri içeriği:

Kazein 17.0g

Soya ekstresi 3.0g

NaCl 5.0g

Potasyum fosfat 2.5g

Dekstoz 2.5g

Besiyerinin 30 gramı, 1000 ml distile suda eritildikten sonra, 121°C'de 15 dakika sterilize edilerek tüplere dağıtıldı.

viii Mueller-Hinton agar besiyeri: Mueller-Hinton Medium (Difco)

hazır besiyeri kullanıldı.

Besiyeri içeriği:

Et özeti	300.0g
Kasamino asit	17.5g
Nişasta	1.5g
Agar	17.0g

Besiyerinin 38 gramı, 1000 ml distile suda eritilerek, 121°C'de 15 dakika sterilize edildi ve petri kutularına dağıtıldı.

ix Sceptor Gram Positive Broth: Her bakteri için bir tüp kullanılır.

Her tüp 10ml besiyeri içerir

Besiyeri içeriği (1000 ml için):

Kazein asit hidrolizat	7.5g
Sığır ekstresi	0.1g
L-triptofan	0.3g
Gliserol	0.1g
Pepton	1.0g
Potasyum klorür	8.0g
Sodyum karbonat	0.2g
Maya ekstresi	5.0g
HEPES Buffer	0.6g
Distile su	1000ml

## **3.2. İdentifikasyon yöntemleri**

### **3.2.1. Katalaz deneyi**

Bir lamın üzerine bakteri kolonisinden bir miktar alındı. Uzerine %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklendi ve gaz kabarcıklarının varlığı araştırıldı.

### **3.2.2. Safralı-eskülinli besiyeri ve %6.5 NaCl içeren besiyerinde üremenin değerlendirilmesi**

Bakterilerin 24 saatlik saf kültürlerinden her iki besiyerine de ekim yapılarak, 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Safralı-eskülinli besiyerinde üreyen mikroorganizmanın eskülini hidrolize etmesi ile besiyerinin siyahlaşması ve %6.5 NaCl içeren besiyerinin yüzeyinde üremenin olması durumunda, izole edilen bakteri, enterokok türü olarak tanımlandı.

### **3.2.3. Hemoliz özelliğinin incelenmesi**

Hemoliz özelliklerini incelemek için, %5 koyun kanlı agar besiyeri kullanıldı. 37°C'de 18-24 saat inkübasyon sonucu oluşan hemoliz tiplerine göre bakteriler, α, β hemolitik ve nonhemolitik olarak değerlendirildi.

### **3.2.4. Enterokok türlerinin identifikasyonu (Sceptor otomatize sistemi)**

Toplam 82 kuyucuk bulunan panelin 27 tanesinde, bakteri identifikasyonu için kullanılan biyokimyasal maddeler mevcuttur. 54 tanesi ise, 19 antibiyotığın farklı konsantrasyonlarını içerir. Değerlendirmede bu antibiyotiklerin MIC'ları saptanır. Her panelde bir tane de, üreme kontrol kuyucuğu bulunur. Panelin krokisi şekil 3.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 3.1:** Sceptor Gram Positive Beakpoint / ID Paneli.

1	2	Antibiyotik	4	5	6	7	8
Dekstroz	PYR	Nitrosefin	X				
		Norfloksasin		4	8	16	UK
Mannitol	Hipurat	Penisilin	0 06	0 12	1	2	8
Trehaloz	Basitrasin	Ampisilin	0 12	0 25	2	4	8
Arabinoz	Laktoz	Amp/Sulb	8/4	16/8	32/16		
		Siprofloksasin				1	2
Sorbitol	Rafinoz	Sefazolin	8	16	32		
		Sefalotin				8	16
Eskülin	Sükroz	Seftriakson	8	32	64		
		Amoks/Klav				4/2	8/4
Safrahi-eskülin	Sellobiyoz	Vankomisin	4	16	32		
		İmipenem				4	8
Asetoin	Ksiloz	Eritromisin	0 5	4	8		
Nitrat	İnulin	Klindamisin	0 5	2	4		
		Tetrasiklin				4	8
Fosfataz	Mannoz	NaCl	X				
		Gentamisin		4	8	16	
		Oksasilin					2
Tellürit	Novobiyosin	Mikrokok Üreme	X				
		Sefüroksim		2	4	8	16
Arjinin	Ure	Optokin	X				
		Kloramfenikol		8	16	32	
		Trim/Sulfam					2/38

Amp Sulb: Ampisilin Sulbaktam Amoks/Klav: Amokasilin Klavulanik asit. UK: Üreme Kontrolü. Trim. Sulfam: Trimetoprim Sulfametoksazol

### 3.2.4.1. Biyokimyasal maddeler ve verdikleri reaksiyonlar

Karbonhidrat fermentasyonu: Fermentasyon sonucu oluşan asidik maddeler, pH'yı düşürür ve fenol kırmızısı indikatörü kırmızı renkten sarıya döner

Üreaz testi: Ürenin hidrolizi sonucu amonyak oluşur ve amonyak, indikatörü mor renge çevirir.

Safra-ı-ıskülin testi: Eıskülini hidrolize eden enzim, demir iyonları ile siyah bir kompleks meydana getirir.

Nitrat redüksiyon testi: Nitrat nitrite indirgenir. Nitrit de, sulfanilik asit ve N,N dimetil-1 naftilamin ile kırmızı renk verir (Griess reaksiyonu). İnkübasyondan sonra, değerlendirmeden önce bu kuyucuğa bir damla sulfanilik asit ve bir damla N,N dimetil-1 naftilamin ilave edilir. Kırmızı renk oluşursa test olumlu olarak değerlendirilir.

Fosfataz testi: Fenolftalein difosfat, fosfataz enzimi ile fenolftaleine çevrilir. Bu madde alkali ortamda pembe-kırmızı renk verir. Alkali ortamı sağlamak için, değerlendirmeden önce kuyucuğa bir damla, %40'lık potasyum hidroksit (KOH) damlatılır. Test 30 saniye içinde okunmalıdır. Oluşan kırmızı renk, bir dakikadan sonra kaybolur.

Voges-proskauer (VP) testi: Asetoin üretimini ölçer. Bu madde, glikoz metabolizmasında nötral bir son üründür. Asetoin, alfa naftol ve potasyum hidroksit ile, pembe-kırmızı renk verir. Değerlendirmeden önce, kuyucuğa bir damla %5 naftol (absolü alkolde) ve bir damla %40'lık KOH ilave edilir. Pembe-kırmızı renk oluşumu durumunda test olumlu olarak değerlendirilir. Renk oluşumu 20 saniyeyi bulabilir.

Tellürit testi: Potasyum tellüritli ortamda üreyen mikroorganizmalar, bu maddeyi siyah metalik presipitata indirgerler.

PYR testi: Piroglutamik asit arilamidaz enziminin varlığını gösterir. Bu enzim, L-piranidonil- $\beta$  naftilamidi hidrolize eder ve  $\beta$  naftilamid serbestleşir. Değerlendirmeden önce, kuyucuğa bir damla cinnamaldehyd eklenir. İki dakika içerisinde pembe-kırmızı rengin oluşması test sonucunun olumlu olduğunu gösterir.

Beta-laktamaz aktivitesi: Kromojenik sefalosporin (nitrosefin) içeren kuyucuğa, inkübasyona konmadan önce, öze ile birkaç koloni ilave edilir.

Değerlendirmede sarı rengin kırmızıya dönmesi, mikroorganizmanın beta-laktamaz aktivitesinin olduğunu gösterir.

Hipurat hidrolizi: Değerlendirmede, temiz kuru cam tübe, hipurat kuyusundan iki damla konur. Üzerine beş damla rodamin B ve iki damla uranil asetat solüsyonları ilave edilip, bir dakika beklenir. Bu süre içinde pembe-kırmızı renk oluşursa, test olumlu olarak değerlendirilir.

### **3.2.4.2. Sceptor otomatize sisteminin çalışma prensipleri**

#### İdentifikasyon sistemi

İdentifikasyonu yapılacak enterokok türünün 24 saatlik kültüründen birkaç koloni alınarak, 0.5 McFarland bulanıklık standardına eşit olacak şekilde triptik soy broth içerisine ilave edildi. Tek kullanımlık 0.01 ml kalibrasyonlu plastik öze ile, triptik soy broth besiyerinden bir öze dolusu, Sceptor Gram Positive Broth'u ile karıştırıldı. Otomatik dağıtım aleti ile, panelin her kuyucuğuna 100µl sıvı besiyeri dağıtıldı. Beta-laktamaz aktivitesinin değerlendirilmesi için, nitrosefin içeren kuyucuğa öze ile birkaç koloni daha ilave edildi. Panelin kapağı kapatılarak, 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi.

İnkübasyondan sonra, 'büyüme kuyucuğunda üremenin görüldüğü paneller, bilgisayar sistemi ile değerlendirmeye alındı. Enterokok türleri arasında, olasılık yüzdesine göre ilk üçü, geçerlilik katsayısı ile birlikte otomatik olarak tespit edildi. Olasılık yüzdesi %95'den büyük ve geçerlilik katsayısı 10'un altında olan identifikasyon sonuçları değerlendirmeye alındı. Bu standardın dışında kalan türler için test tekrarlandı. İkinci tekrarda da sonuç alınamayan enterokok türleri, değerlendirme dışı bırakıldı.

Sceptor otomatize sistemine göre geçerlilik katsayısı, 1-100000 arasında verilir. İdentifikasyonda olasılık yüzdesi, %100'e ne kadar yakın ve

geçerlilik katsayısı da ne kadar küçük ise, değerlendirmenin başarısı o derece yüksektir.

### Antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi

Mikroorganizmaların ampisilin, penisilin, ve vankomisin MIC'ları otomatik olarak değerlendirildi ve  $\mu\text{g/ml}$  cinsinden tanımlandı. İdrar kültürlerinden izole edilen enterokok türleri için bu üç antibiyotiğe ek olarak, siprofloksasin, norfloksasin ve tetrasiklinin de, MIC'ları bilgisayar tarafından tespit edildi

### **3.2.4.3. Diğer yöntemler ile antibiyotik direncinin araştırılması**

#### **3.2.4.3.1. Disk difüzyon yöntemi**

İzole edilen enterokok türlerinin antibiyotik duyarlılıkları, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile, NCCLS standartlarına uygun olarak araştırıldı. Bakteri süspansiyonları, 0.5 McFarland bulanıklık standardına eşit olacak şekilde, triptik soy broth içinde hazırlanarak, %5 koyun kanı içeren besiyeri yüzeyine yayıldı ve steril koşullarda antibiyotik diskleri yerleştirildi. Kültürler,  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 18-24 saat inkübe edilerek, inhibisyon zon çapları, NCCLS standartlarına göre değerlendirildi (Tablo 3.1)

Antibiyotikler	Disk içeriği	Dirençli	Zon çapları (mm)	
			Az duyarlı	Duyarlı
Ampisilin	10 $\mu\text{g}$	$\leq 16$	-	$\geq 17$
Ampisilin-sulbaktam	10/10 $\mu\text{g}$	$\leq 11$	12-14	$\geq 15$
Penisilin	10IU	$\leq 14$	-	$\geq 15$
Vankomisin	30 $\mu\text{g}$	$\leq 14$	15-16	$\geq 17$
Teikoplanin	30 $\mu\text{g}$	$\leq 10$	11-13	$\geq 14$
Siprofloksasin	5 $\mu\text{g}$	$\leq 15$	16-20	$\geq 21$
İmipenem	30 $\mu\text{g}$	$\leq 14$	14-15	$\geq 16$
Meropenem	30 $\mu\text{g}$	$\leq 14$	14-15	$\geq 16$

### 3.2.4.3.2. Mikrodilüsyon yöntemi

Bu yöntem sadece, disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistem ile, vankomisine dirençli olarak değerlendirilen iki adet *E. casseliflavus* suşuna, vankomisin, ampisilin, gentamisin, streptomisin ve teikoplanin için uygulandı Besiyeri olarak,  $Mg^{++}$  ve  $Ca^{++}$  ile tamponlanmış Mueller-Hinton sıvı besiyeri kullanıldı Aktivitesi belli olan antibiyotiklerin sulandırım miktarları formüle göre hazırlandı

Tartılacak miktar(mg):	$\frac{\text{İstenilen konsantrasyon } (\mu\text{g/ml}) \times \text{Hacim}}{\text{Antibiyotiğin aktivitesi}}$
Antibiyotik aktiviteleri:	Vankomisin: 959 $\mu\text{g/ml}$
	Teikoplanin: 885 $\mu\text{g/ml}$
	Gentamisin: 659 $\mu\text{g/ml}$
	Ampisilin: 800 $\mu\text{g/ml}$
	Streptomisin: 760 $\mu\text{g/ml}$

Vankomisine dirençli enterokok türlerinin 24 saatlik saf kültürlerinden, Mueller-Hinton sıvı besiyerine ekilerek, yoğunluklar 0.5 McFarland bulanıklık eşeline göre ayarlandı. Bu süspansiyonların, serum fizyolojik ile 1/100 oranında dilüsyonları hazırlandı.

MIC için, yatay sırasında 12 kuyucuk bulunan, 8 sıralı mikrotitrasyon plakları kullanıldı. Her kuyucuğa hazırlanan besiyerinden 50 $\mu\text{l}$  konuldu. Antibiyotikli solüsyondan ise, her sıranın ilk kuyucuğuna 50 $\mu\text{l}$  ilave edildi. Her sırada ilk kuyucuktan 50 $\mu\text{l}$  alınarak, yatay hizada yanındaki kuyucuğa aktarımlar yapılarak, 11. kuyucuktan sonra 50 $\mu\text{l}$  dışarı atıldı. Ayrıca dilüe edilmiş bakteri süspansiyonundan, her kuyucuğa 50 $\mu\text{l}$  ilave edildi.

Antibiyotik içermeyen 12. kuyucuk üreme kontrolünde kullanıldı. Vankomisin, teikoplanin, ampisilin ve gentamisin için konsantrasyonlar 512 µg/ml'den başlatılıp, 0.5µg/ml'ye kadar dilüe edildi Streptomisin için ise, ilk konsantrasyon 1000 µg/ml, son konsantrasyon 0.97µg/ml olarak ayarlandı.

Mikrotitrasyon plakları 37°C'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra büyüteç ve yandan ışık veren aydınlatma ile değerlendirildi. Üremenin olmadığı ilk kuyucuğun içerdiği antibiyotik konsantrasyon miktarı, MIC değeri olarak kaydedildi.

#### **3.2.4.3.3. E test yöntemi**

Triptik soy broth besiyerinde yoğunlukları 0.5 McFarland bulanıklık eşeline göre ayarlanmış bakteri süspansiyonları, Mueller-Hinton agar besiyerine yayılarak, vankomisin E test (AB Biodisk) stripi yerleştirildi. Plaklar 37°C'de 18-24 saat inkübe edilerek, değerlendirmeye alındı

#### **3.2.4.3.4. Yüksek düzey gentamisin direncinin araştırılması**

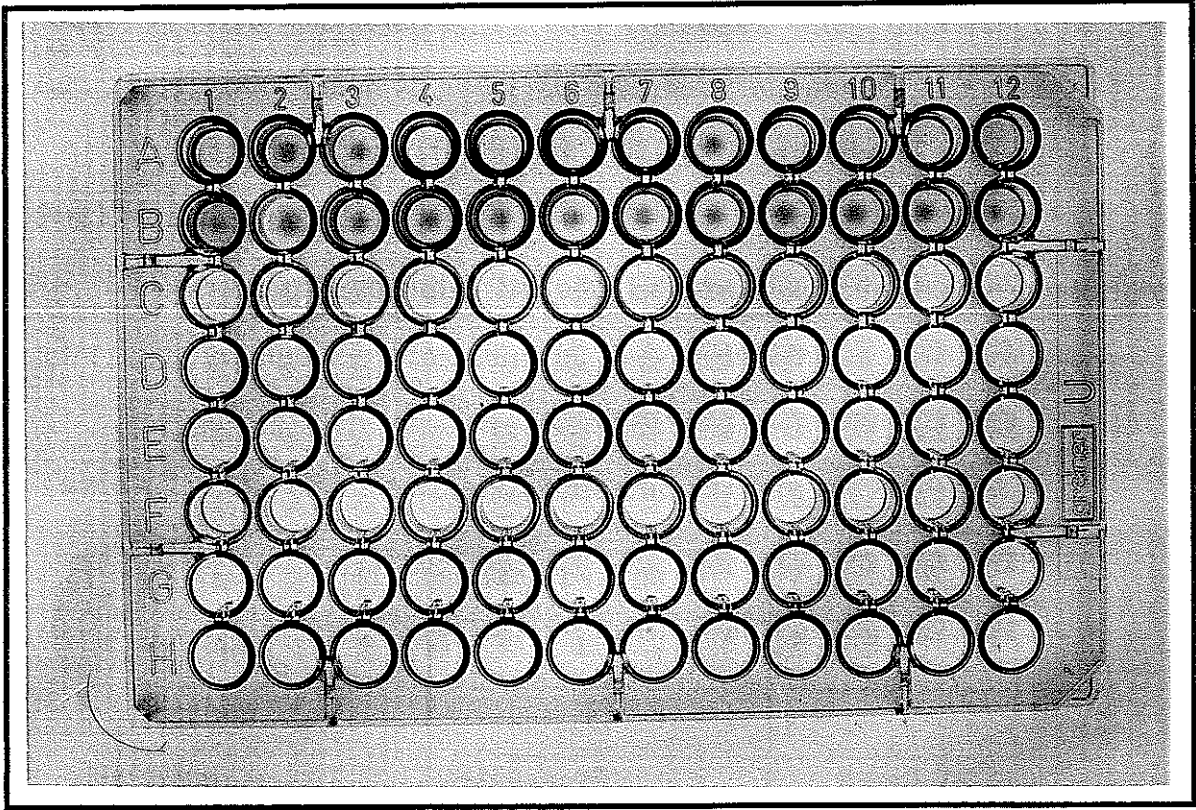
Mikrotitrasyon plaklarında, her enterokok türü için biri yüksek düzey gentamisin içeren, diğeri de üreme kontrolü olmak üzere toplam iki kuyucuk ile çalışıldı.

Bakteri suşlarının 24 saatlik saf kültürlerinden, beyin kalp infüzyon sıvı besiyerine ekilerek, yoğunlukları 0.5 McFarland bulanıklık eşeline göre ayarlandı. Bu süspansiyonlar serum fizyolojik ile, 1/100 oranında dilüe edildi.

Aktivitesi 659 µg/ml olan gentamisinden daha önce belirtilen formüle göre, tartılacak miktar tespit edilerek, antibiyotik solüsyonunun

konsantrasyonu 512 µg/ml olacak şekilde beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri içinde hazırlandı.

Her suş için, mikrotitrasyon plağındaki birinci kuyucuğa 50µl antibiyotik solüsyonu, ikinci kuyucuğa 50µl beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri konuldu. Her iki kuyucuğa da, dilüe edilmiş bakteri süspansiyonundan 50'şer µl ilave edilerek 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Her iki kuyucukta da üremenin görülmesi test edilen suşun, yüksek düzey gentamisin direncine sahip olduğu şeklinde değerlendirildi (Fotoğraf 1).



Fotoğraf 1.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamızda, 248 adet Enterococcus cinsi bakteri izole edilmiştir. Bir hastanın birden fazla klinik örneğinden aynı enterokok türü izole edilmiş ise, bir adetinin değerlendirmeye alınması nedeni ile, toplam 201 adet Enterococcus cinsi bakteriye otomatize identifikasyon işlemi uygulanmıştır. İdentifikasyonu yapılamayan 19 adet enterokok türü değerlendirme dışı bırakılmış, geriye kalan 182 adet suş çalışmaya alınmıştır.

Standart suş olarak, tüm antibiyotiklere duyarlı olan *E. faecalis* ATCC 29212 kullanılmıştır.

Değerlendirmeye alınan 182 adet Enterococcus cinsi bakterinin türlere göre dağılımı tablo 4.1'de verilmiştir.

**Tablo 4.1:** İzole edilen enterokok türlerinin dağılımı.

	İzolat sayısı (n)	%
<i>E. faecalis</i>	116	63.73
<i>E. faecium</i>	53	29.12
<i>E. avium</i>	5	2.75
<i>E. durans</i>	4	2.20
<i>E. casseliflavus</i>	3	1.65
<i>E. gallinarum</i>	1	0.55
TOPLAM	182	100.00



Çalışmaya alınan toplam 182 adet enterokok türünün, izole edildikleri klinik örneklere göre dağılımı tablo 4.2'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.2:** Enterococcus cinsi bakterilerin, izole edildikleri klinik örnekler

<b>Klinik örnek</b>	<b>Örnek sayısı (n)</b>	<b>%</b>
İdrar	100	54.94
Pü	36	19.78
Kan	36	19.78
Balgam	3	1.65
BOS	2	1.10
Periton sıvısı	2	1.10
Genital akıntı	2	1.10
Plevra sıvısı	1	0.55
TOPLAM	182	100.00

İdentifikasyonu yapılan enterokok türlerinin izole edildikleri klinik örneklerle göre dağılımı tablo 4.3'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.3:** Enterokok türlerinin izole edildikleri klinik örneklerle göre dağılımı

ÖRNEK	Enterococcus faecalis	Enterococcus faecium	Enterococcus avium	Enterococcus durans	Enterococcus casseliflavus	Enterococcus gallinarum	TOPLAM	%
İdrar	76	18	2	3	1	-	100	54.94
Pü	18	16	2	-	-	-	36	19.78
Kan	17	16	1	-	1	1	36	19.78
Balgam	1	2	-	-	-	-	3	1.65
BOS	1	-	-	1	-	-	2	1.10
Genital	2	-	-	-	-	-	2	1.10
Periton	1	1	-	-	-	-	2	1.10
Plevra	-	-	-	-	1	-	1	0.55
TOPLAM	116	53	5	4	3	1	182	100.0

Enterokok türlerinin izole edildikleri örneklerin gönderildikleri klinikler, tablo 4.4'de gösterilmiştir. Bu tabloda Cerrahi Birimler; Genel Cerrahi, Göğüs Cerrahisi, Kalp Damar Cerrahisi, Çocuk Cerrahisi, Ortopedi ve Kulak Burun Boğaz Klinikleri'ni, Dahili Birimler; Genel Dahiliye, Göğüs Hastalıkları, İntaniye, Endokrinoloji, Hematoloji, Nefroloji, Nöroloji ve Onkoloji Klinikleri'ni, Yoğun Bakım Ünitesi ise; Dahiliye Yoğun Bakım ve Nöroşirürji Yoğun Bakım Üniteleri'ni kapsamaktadır.

**Tablo 4.4:** Örneklerin gönderildikleri klinik birimler

Klinik	İzolot sayısı (n)	%
Çocuk Hastalıkları	47	25.82
Cerrahi Birimler	30	16.48
Üroloji	23	12.64
Dahili Birimler	20	10.99
Nöroşirürji	15	8.25
Acil	14	7.70
Yoğun Bakım Ünitesi	12	6.59
Reanimasyon	11	6.04
Kadın Doğum	10	5.49
TOPLAM	182	100.00

Enterokok türlerinin, örneklerin gönderildikleri kliniklere göre dağılımı, tablo 4.5'de gösterilmiştir

**Tablo 4.5:** Enterokok türlerinin, örneklerin gönderildikleri kliniklere göre dağılımı

	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus avium</i>	<i>Enterococcus durans</i>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i>	TOPLAM	%
Çocuk Hastalıkları	30	14	-	-	2	1	47	25.82
Cerrahi Birimler	17	11	2	-	-	-	30	16.48
Üroloji	19	1	1	2	-	-	23	12.64
Dahili Birimler	14	4	1	1	-	-	20	10.99
Nöroşirürji	5	8	1	1	-	-	15	8.25
Acil	11	3	-	-	-	-	14	7.70
Yoğun Bakım Ünitesi	8	4	-	-	-	-	12	6.59
Reanimasyon	3	8	-	-	-	-	11	6.04
Kadın Doğum	9	-	-	-	1	-	10	5.49
TOPLAM	116	53	5	4	3	1	182	100.00

İzole edilen 182 adet enterokok türünün, disk difüzyon yöntemi ile, antibiyotiklere duyarlılıkları tablo 4.6'da gösterilmiştir.

**Tablo 4.6:** Enterokok türlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları (disk difüzyon).

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Dirençli (n)	Duyarlılık (%)
Penisilin	121	61	66.48
Vankomisin	180	2	98.90
Teikoplanin	180	2	98.90
Siprofloksasin	78	104	42.86
Ampisilin	126	56	69.23
Ampisilin- sulbaktam	142	40	78.02
İmipenem	123	59	67.58
Meropenem	124	58	68.13

Elde edilen sonuçlara ki-kare testi uygulandığında siprofloksasin duyarlılık sonuçlarının, diğer antibiyotiklerin duyarlılık sonuçlarına göre düşük olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Enterokok türlerinin en duyarlı oldukları vankomisin ve teikoplanin ile, en az duyarlı oldukları siprofloksasin değerlendirme dışı bırakıldığında ise, diğer antibiyotiklerin duyarlılık sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p > 0.05$ ).

İzole edilen 182 adet enterokok türünün, mikrodilüsyon yöntemi ile antibiyotiklere duyarlılıkları, Sceptor otomatize sistemi ile değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar tablo 4.7'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.7:** Enterokok türlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları (MIC)

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Dirençli (n)	Duyarlılık (%)
Penisilin	133	49	73.08
Vankomisin	180	2	98.90
Ampisilin	134	48	73.63

Enterokok türlerinin en duyarlı oldukları vankomisin hariç, ampisilin ve penisilin duyarlılık sonuçlarına ki-kare testi uygulandığında, bu sonuçların arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ )

İzole edilen 116 adet *E. faecalis* suşunun, disk difüzyon yöntemi ile, antibiyotiklere duyarlılıkları, tablo 4.8'de gösterilmiştir. Az duyarlı suşlar, dirençli olarak değerlendirmeye alınmıştır. Suşların duyarlı olduğu ilk üç antibiyotik, vankomisin (116/%100), teikoplanin (116/%100), ampisilin sulbaktam (108/%93.1) olarak tespit edilmiştir

**Tablo 4.8:** *E. faecalis* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları (disk difüzyon)

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Dirençli (n)	Duyarlılık (%)
Penisilin	97	19	83.62
Vankomisin	116	-	100.00
Teikoplanin	116	-	100.00
Siprofloksasin	62	54	53.45
Ampisilin	101	15	87.07
Ampisilin-sulbaktam	108	8	93.10
İmipenem	106	10	91.38
Meropenem	105	11	90.51

Vankomisin ve teikoplanine direnç saptanmadığı için bu antibiyotikler değerlendirme dışı bırakılmış, diğer antibiyotiklerin duyarlılık sonuçları arasında, ki-kare testi yapılmıştır. Siprofloksasinin duyarlılık sonucunun, diğer antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre düşük olması, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ).

İzole edilen 53 adet *E. faecium* suşu, disk difüzyon yöntemi ile, vankomisin ve teikoplanine %100 oranında duyarlı bulunmasına karşın, denenen diğer antibiyotiklere duyarlılık oranları düşüktür. Az duyarlı suşlar, dirençli olarak değerlendirmeye alınmıştır (tablo 4.9).

**Tablo 4.9:** *E. faecium* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları (disk difüzyon)

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Dirençli (n)	Duyarlılık (%)
Penisilin	14	39	26.41
Vankomisin	53	-	100.00
Teikoplanin	53	-	100.00
Siprofloksasin	10	43	18.87
Ampisilin	15	38	28.30
Ampisilin-sulbaktam	21	32	39.62
İmipenem	17	36	32.07
Meropenem	15	38	28.30

Vankomisin ve teikoplanine direnç saptanmadığı için bu antibiyotikler değerlendirme dışı bırakılmış, diğer antibiyotiklerin duyarlılık sonuçları arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

İzole edilen beş adet *E. avium* suşunun hepsi, vankomisin ve teikoplanine duyarlı olmasına karşın, denenen diğer antibiyotiklere, dört suş duyarlı, bir suş dirençli bulunmuştur.

İzole edilen dört adet *E. durans* suşunun üçü, denenen antibiyotiklere duyarlı olmasına karşın, bir adeti siprofloksasine dirençli, diğer antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur.

İzole edilen üç adet *E. casseliflavus* suşunun ikisi, vankomisin ve teikoplanin dahil olmak üzere tüm antibiyotiklere dirençli iken, üçüncü suş, siprofloksasine dirençli, diğer antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur.

Kan örneğinden izole edilen bir adet *E. gallinarum* suşu, siprofloksasine dirençli, diğer antibiyotiklere duyarlı olarak tespit edilmiştir.

İzole edilen enterokok türlerinin; penisilin, ampisilin ve vankomisine duyarlılıkları mikrodilüsyon yöntemi ile, Sceptor otomatize sistemi ile değerlendirilmiştir. *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının duyarlılık yüzdeleri tablo 4.10 ve tablo 4.11'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.10:** *E. faecalis* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları (MIC).

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Dirençli (n)	Duyarlılık (%)
Penisilin	104	12	89.66
Ampisilin	107	9	92.24
Vankomisin	116	-	100.00

Vankomisine direnç saptanmadığı için bu antibiyotik değerlendirme dışı bırakılmış, ampisilin ve penisilin duyarlılık sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 4.11:** *E. faecium* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları (MIC)

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Dirençli (n)	Duyarlılık (%)
Penisilin	16	37	30.18
Ampisilin	17	36	32.07
Vankomisin	53	-	100.00

Vankomisine direnç saptanmadığı için, bu antibiyotik değerlendirme dışı bırakılmış, ampisilin ve penisilin duyarlılık sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0.05$ )

İzole edilen beş adet *E. avium* suşunun Sceptor otomatize sistemi ile tümü vankomisine duyarlı iken, dört suş penisilin ve ampisiline duyarlı, bir suş ise, her iki antibiyotiğe dirençli bulunmuştur.

İzole edilen dört adet *E. durans* suşunun Sceptor otomatize sistemi ile tümü vankomisine duyarlı iken, üç suş penisilin ve ampisiline duyarlı, bir suş her iki antibiyotiğe de dirençli bulunmuştur.

İzole edilen üç adet *E. casseliflavus* suşunun ikisi (bir plevra sıvısı, bir kan izolatu), Sceptor otomatize sistemi ile ampisilin, penisilin ve vankomisine dirençli, bir adeti ise, her üç antibiyotiğe de duyarlı bulunmuştur.

Bir adet *E. gallinarum* suşu, Sceptor otomatize sistemi ile, üç antibiyotiğe de duyarlı olarak değerlendirilmiştir.

İzole edilen 182 adet enterokok türünün, disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile saptanan antibiyotik duyarlılık yüzdelerinin karşılaştırılması, tablo 4.12'de gösterilmiştir.



**Tablo 4.12:** Enterokok türlerinin antibiyotik duyarlılıklarının karşılaştırılması

Antibiyotikler	<u>Disk difüzyon</u>		<u>Mikrodilüsyon</u>	
	Duyarlı (n)	%	Duyarlı (n)	%
Penisilin	121	66.48	133	73.08
Ampisilin	126	69.23	134	73.63
Vankomisin	180	98.90	180	98.90

Mikrodilüsyon yöntemi ile, penisiline duyarlı oldukları saptanan enterokok türlerinin, disk difüzyon yöntemi ile duyarlılıklarının karşılaştırılması tablo 4.13'de gösterilmiştir

**Tablo 4.13:** Penisilin için, disk difüzyon ve MIC değerlerinin karşılaştırılması

	<u>Disk difüzyon</u>	
	Duyarlı (n)	Dirençli (n)
MIC Duyarlı(n:133)	119	14
MIC Dirençli(n:49)	2	47
TOPLAM (n:182)	121	61

Penisilin için disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemlerinin sonuçları, Mc Nemar ki-kare testi ile karşılaştırıldığında, iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Mikrodilüsyon yöntemi ile, ampisiline duyarlı oldukları saptanan enterokok türlerinin, disk difüzyon yöntemi ile duyarlılıklarının karşılaştırması tablo 4.14'de gösterilmiştir

**Tablo 4.14:** Ampisilin için, disk difüzyon ve MIC değerlerinin karşılaştırması.

	<u>Disk difüzyon</u>	
	Duyarlı(n)	Dirençli(n)
MIC Duyarlı(n:134)	124	10
MIC Dirençli(n:48)	2	46
TOPLAM (n:182)	126	56

Ampisilin için disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemlerinin sonuçları, Mc Nemar ki-kare testi ile karşılaştırıldığında, iki yöntem ile elde edilen sonuçlar arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ )

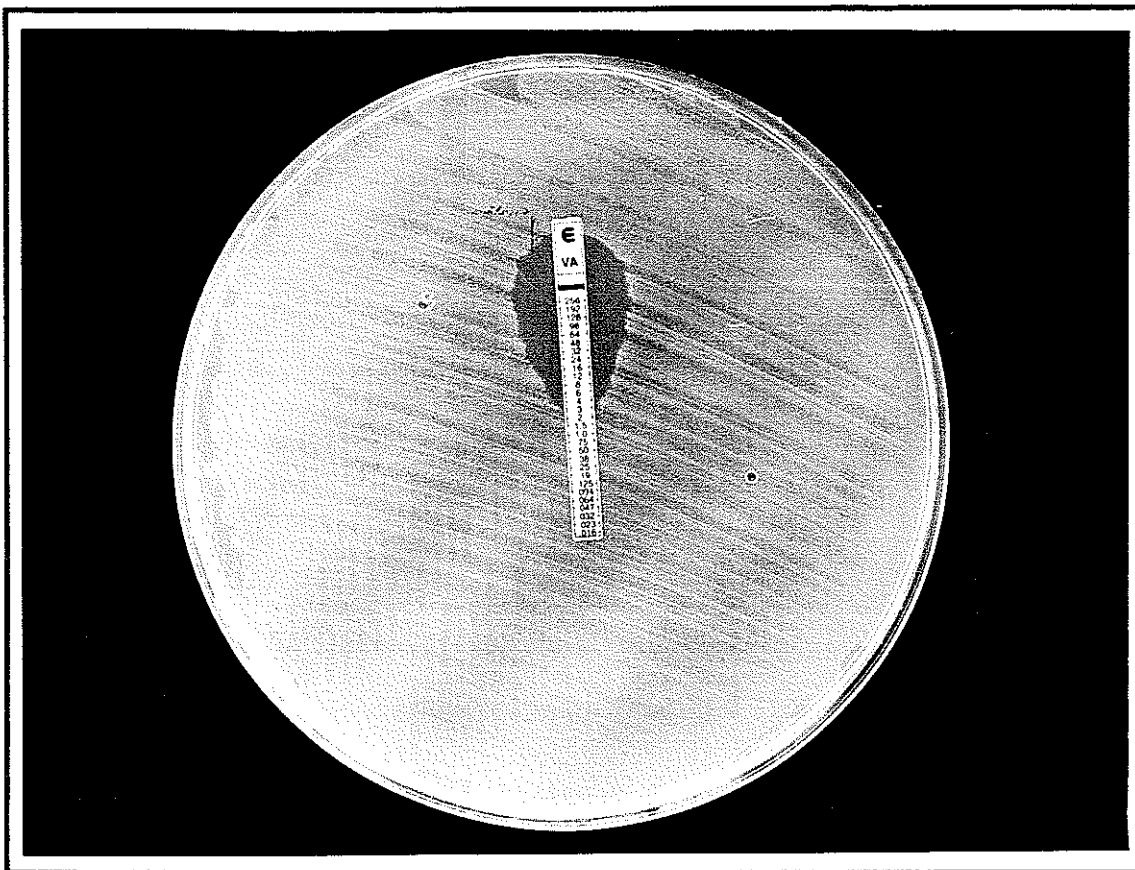
Plevra sıvısı ve kan kültürü örneklerinden izole edilen, disk difüzyon ve Sceptor otomatize sistemi ile çoklu direnç özelliği gösteren, iki farklı hastaya ait *E. casseliflavus* suşunun, antibiyotik dirençlerini doğrulamak amacı ile, vankomisin, teikoplanin, ampisilin, gentamisin ve streptomisin MIC değerleri araştırılmıştır. Bu değerlendirmeye göre her iki *E. casseliflavus* suşunun da, vankomisine, teikoplanine ve ampisiline dirençli oldukları, ayrıca yüksek düzey gentamisin direnci gösterdikleri tespit edilmiştir. Her iki suşta da, yüksek düzey streptomisin direncine rastlanmamıştır (Tablo 4.15)

**Tablo 4.15:** *E. casseliflavus* izolatlarının denenmiş antibiyotikler için saptanan MIC değerleri ( $\mu\text{g/ml}$ ).

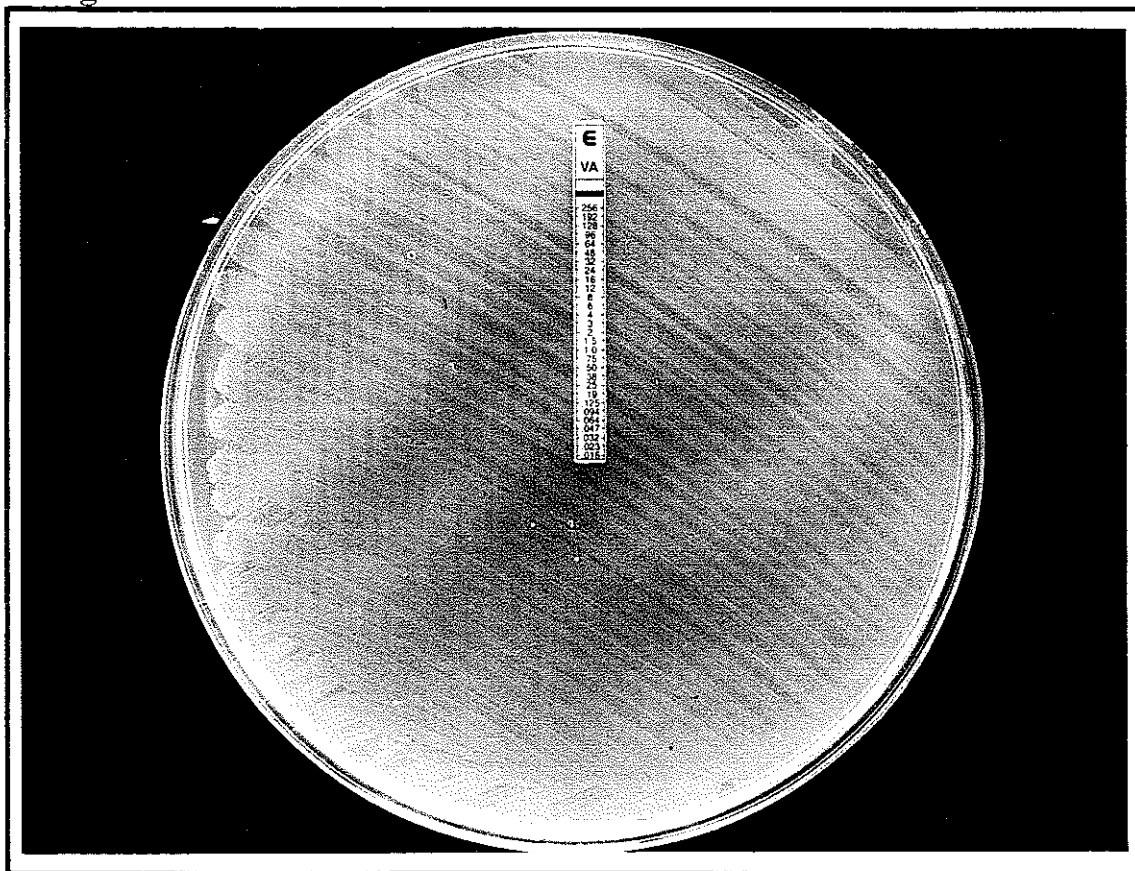
	Vankomisin	Teikoplanin	Gentamisin	Streptomisin	Ampisilin
Plevra izolatı	128	64	>512	250	128
Kan izolatı	128	128	>512	250	128

Direnç MIC değerleri: vankomisin:  $\geq 32\mu\text{g/ml}$ , teikoplanin:  $\geq 32\mu\text{g/ml}$ , yüksek düzey gentamisin:  $\geq 512\mu\text{g/ml}$ , yüksek düzey streptomisin:  $\geq 1000\mu\text{g/ml}$ , ampisilin:  $\geq 16\mu\text{g/ml}$

Disk difüzyon, Sceptor otomatize sistemi ve mikrodilüsyon yöntemleri ile vankomisine dirençli olarak değerlendirilen iki adet *E. casseliflavus* suşuna, vankomisin E testi de uygulanmış ve her iki suşun da **vankomisine dirençli** oldukları saptanmıştır. Fotoğraf 2’de, vankomisine duyarlı *E. faecalis* ATCC 29212 standart suşunun, fotoğraf 3’de ise, plevradan izole edilen vankomisine dirençli *E. casseliflavus* suşunun E test uygulama sonuçları görülmektedir.



Fotoğraf 2.



Fotoğraf 3.

Plevradan izole edilen, antibiyotiklere çoklu direnç gösteren *E. casseliflavus* suşunun spesifik primerler kullanılarak PCR yöntemi ile amplifikasyonu yapılmıştır. Burada kullanılan 1. ve 2. dejenere primerler, vankomisin direncine neden olan tüm genleri içermektedir. 2. dejenere primer, Van A fenotipine daha yakın olan primerdir (61).

İdrar örneklerinin kültürlerinde, 10000-100000 CFU/mlt arasında üreyen enterokok türleri değerlendirmeye alınmıştır. İzole edilen 76 adet *E. faecalis* ve 18 adet *E. faecium* suşunun ampisilin, penisilin, vankomisin, siprofloksasin, norfloksasin ve tetrasikline MIC duyarlılıkları Sceptor otomatize sistemi ile değerlendirilmiştir (Tablo 4.16 ve tablo 4.17).

**Tablo 4.16:** İdrar kültürlerinden -izole edilen *E. faecalis* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları (MIC).

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Dirençli (n)	Duyarlılık (%)
Penisilin	68	8	89.47
Ampisilin	70	6	92.10
Vankomisin	76	-	100.00
Siprofloksasin	53	23	69.74
Norfloksasin	54	22	71.05
Tetrasiklin	26	50	34.21

Vankomisine direnç saptanmadığı için bu antibiyotik değerlendirme dışı bırakıldığında; tetrasiklin duyarlılık sonucunun diğer antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre düşük ( $p < 0.001$ ), ampisilin ve penisilin duyarlılık sonuçlarının ise yüksek ( $p < 0.01$ ) olması, istatistiksel olarak anlamlı

bulunmuştur. Siprofloksasin ve norfloksasin duyarlılık sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.17:** İdrar kültürlerinden izole edilen *E. faecium* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları (MIC)

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Dirençli (n)	Duyarlılık (%)
Penisilin	2	16	11.11
Ampisilin	2	16	11.11
Vankomisin	18	-	100.00
Siprofloksasin	-	18	0
Norfloksasin	5	13	27.78
Tetrasiklin	12	6	66.67

Vankomisine direnç, siprofloksasine ise duyarlılık saptanmadığı için, bu antibiyotikler değerlendirme dışı bırakıldığında; tetrasiklin duyarlılık sonucunun diğer antibiyotik duyarlılık sonuçlarından yüksek olması, istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ), penisilin, ampisilin ve norfloksasin duyarlılık sonuçları arasındaki fark ise anlamlı değildir ( $p>0.05$ ).

İdrar kültürlerinden izole edilen *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının penisilin, vankomisin, teikoplanin, siprofloksasin, ampisilin, ampisilin-sulbaktam, imipenem ve meropeneme duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir (tablo 4.18 ve tablo 4.19).

**Tablo 4.18:** İdrar kültürlerinden izole edilen *E faecalis* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları (disk difüzyon)

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Dirençli (n)	Duyarlılık (%)
Penisilin	64	12	84.21
Vankomisin	76	-	100.00
Teikoplanin	76	-	100.00
Siprofloksasin	38	38	50.00
Ampisilin	67	9	88.16
Ampisilin-sulbaktam	72	4	94.74
İmipenem	71	5	93.42
Meropenem	71	5	93.42

Vankomisin ve teikoplanine direnç saptanmadığı için bu antibiyotikler değerlendirme dışı bırakıldığında, siprofloksasin duyarlılık sonucunun diğer antibiyotik sonuçlarına göre düşük olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.01$ )

**Tablo 4.19:** İdrar kültürlerinden izole edilen *E faecium* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları (disk difüzyon).

Antibiyotikler	Duyarlı (n)	Dirençli (n)	Duyarlılık (%)
Penisilin	1	17	5.55
Vankomisin	18	-	100.00
Teikoplanin	18	-	100.00
Siprofloksasin	1	17	5.55
Ampisilin	2	16	11.11
Ampisilin-sulbaktam	6	12	33.33
İmipenem	2	16	11.11
Meropenem	2	16	11.11

Vankomisin ve teikoplanine direnç saptanmadığı için bu antibiyotikler değerlendirme dışı bırakıldığında, diğer antibiyotik sonuçları arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0.05$ ).

Toplam 182 adet enterokok türünün 68'inde (%37.36), yüksek düzey gentamisin direnci saptanmıştır. İzole edilen toplam 116 adet *E. faecalis* suşunun 29'unda (%25) yüksek düzey gentamisin direnci bulunmasına karşın, 53 adet *E. faecium* suşunun 35'inde (%66.03) yüksek düzey gentamisin direnci tespit edilmiştir. Beş adet *E. avium* ve üç adet *E. casseliflavus* izolatının ikişer tanesinde yüksek düzey gentamisin direnci bulunurken, dört adet *E. durans* ve bir adet *E. gallinarum* izolatlarında bu dirence rastlanmamıştır.

Yüksek düzey gentamisin direnci gösteren enterokok türlerinin, diğer antibiyotiklere duyarlılıkları tablo 4.20'de gösterilmiştir.

**Tablo 4.20:** Yüksek düzey gentamisin direnci gösteren enterokok türlerinin diğer antibiyotiklere duyarlılıkları

Antibiyotik		<i>E.faecalis</i>	<i>E.faecium</i>	<i>E.avium</i>	<i>E.casseliflavus</i>
	Adet(n:68)	29	35	2	2
Penisilin	Duyarlı (%)	17 (58.62)	5 (14.28)	1	0
Vankomisin	Duyarlı (%)	29 (100.00)	35 (100.00)	2	0
Teikoplanin	Duyarlı (%)	29 (100.00)	35 (100.00)	2	0
Siprofloksasin	Duyarlı (%)	10 (34.48)	4 (11.42)	1	0
Ampisilin	Duyarlı (%)	21 (72.41)	5 (14.28)	1	0
Ampisilin sulbaktam	Duyarlı (%)	22 (75.86)	9 (25.71)	1	0
İmipenem	Duyarlı (%)	22 (75.86)	6 (17.14)	1	0
Meropenem	Duyarlı (%)	22 (75.86)	6 (17.14)	1	0



Yüksek düzey gentamisin direnci gösteren *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının, diğer antibiyotiklere duyarlılık oranları, ki-kare testi ile istatistiksel olarak araştırılmıştır. Vankomisine ve teikoplanine direnç saptanmadığı için bu antibiyotikler değerlendirme dışı bırakılmış, siprofloksasin duyarlılık sonuçları ile, diğer antibiyotik sonuçları arasındaki fark, anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ )

İzolatların hemoliz özellikleri incelendiğinde, 182 adet enterokok türünün 77 tanesi (% 42.31)  $\alpha$  hemolitik, 41 tanesi (% 22.53)  $\beta$  hemolitik, 64 tanesi (%35.16) ise nonhemolitik olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda, izole edilen 182 adet enterokok türünün hiç birinde beta-laktamaz aktivitesine rastlanmamıştır.

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Enterokok türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu

İnsan barsak florasında bulunan Enterococcus cinsi bakteriler, artan bir sıklıkla nozokomiyal infeksiyon etkeni olarak izole edilmektedirler (21). CDC (Centers for Disease Control) verilerine göre 1983 yılında ABD'ndeki nozokomiyal infeksiyonlarda enterokok infeksiyonlarının sıklığı *E. coli* ve *S. aureus*'tan sonra üçüncü sırada, 1986-1989 yılları arasında *E. coli*'den sonra ikinci sırada gösterilmiştir. Bu verilere göre, 1989-1993 yılları arasında nozokomiyal enterokok infeksiyonlarında yirmi kat artış tespit edilmiştir (71). Son yıllarda bu organizmalarla meydana gelen infeksiyonların tedavisi oldukça güçleşmiştir. Bu güçlüğü en önemli nedenleri; beta-laktamaz üretimi ile, enterokoklarda gelişen ve vankomisini de içine alan çoklu antibiyotik direncinin ortaya çıkmasıdır (21,71,72).

Tedavi güçlüğü ve nozokomiyal infeksiyonlardaki artışa bağlı olarak, mortalite hızında da bir yükselme olmuştur. Patterson ve ark., yaptıkları bir çalışmada, mortalite oranını %23 olarak bulmuşlardır (24). Gray ve ark.'nın enterokok türlerinin oluşturdukları bakteremiler ile ilgili yaptıkları çalışmada, mortalite oranı %17.6 olup, en fazla izole ettikleri enterokok türü (%59.8) *E. faecium*'dur (73). Kodaya ve ark. enterokok türlerinin oluşturdukları septisemilerde mortalite oranını %44.1 olarak bildirmişler ve *E. faecium* ve *E. avium* suşlarının, *E. faecalis* suşlarına göre antibiyotiklere daha dirençli olduklarını saptamışlardır (74).

Noskin ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, yüksek düzey gentamisin direnci gösteren enterokok türleri ile oluşan infeksiyonlardaki mortalite oranının (%47), bu direnci göstermeyen türlerin yaptıkları infeksiyonlarda görülen mortalite oranından (%37) daha yüksek olduğu bildirilmiştir (75). Antalek ve ark.'nın saptadıkları mortalite oranı yüksek olmasına karşın (%65), yüksek düzey gentamisin direnci gösteren türler ile, bu direnci göstermeyen türler arasında mortalite oranı açısından bir fark tespit edilmemiştir (76).

Enterokok türlerinin izolasyonunda rutin laboratuvar düzeyinde, %6.5 NaCl içeren besiyerinde üremelerinin ve safralı-eskülünlü besiyerinde eskülünü hidrolize ederek, siyah renk oluşumunun gözlenmesi, kolay uygulanabilir bir yöntemdir (10). Facklam ve ark., lökonostok ve pediokok türlerinin de, her iki besiyerinde üremeleri nedeni ile, vankomisine dirençli enterokok türlerinin, lökonostok ve pediokok türlerinden ayırımında üç disk testini önermişlerdir. Bu diskler, 30µg vankomisin, LAP ve PYR içerir. Vankomisine dirençli enterokok türleri için; LAP ve PYR de olumlu iken; lökonostok türleri vankomisine dirençli, LAP ve PYR testleri olumsuz, pediokok türleri ise, vankomisine dirençli, LAP testi olumlu, PYR testi olumsuzdur (13).

Facklam ve Collins, enterokok türlerinin identifikasyonunda 20 fenotipik karakter ile çalışmalarına karşın (6), Ruoff ve ark., bu identifikasyon ile laktoz olumsuz *E. faecalis* suşlarının, yanlış olarak *E. solitarius* şeklinde identifiye edildiklerini göstermişlerdir (77).

Bakterilerin identifikasyonunda Vitek, API, Sceptor ve MicroScan otomatize sistemleri kullanılmaktadır. Enterokok türlerinin identifikasyonunda bu sistemlerin, konvansiyonel yöntemlere göre avantaj ve dezavantajlarını gösteren çalışmalar yapılmıştır. Sader ve ark., enterokok

türlerinin identifikasyonunda konvansiyonel yöntemler ile, Vitek ve API otomatize sistem sonuçlarının karşılaştırmalı çalışmasını yapmışlardır. Konvansiyonel yöntemin kriter alındığı bu çalışmada, otomatize sistemlerin doğru identifikasyon oranı (Vitek/API); *E. faecalis* için %97.6/ %79.2, *E. faecium* için %95.3/ %91.2, diğer enterokok türleri için ise %86/ %20.7 olarak bildirilmiştir (78).

Devriese ve ark., *E. faecalis* ile *E. faecium* suşlarının tanımlanmasında konvansiyonel yöntemle göre API sisteminin doğru identifikasyon oranını %77 olarak saptamışlardır. Bu oranın, tetrazolyum redüksiyonu ve mannitol ile rafinozdan asit üretimi araştırılarak %90'lara çıkarılabileceğini tespit etmişlerdir (79).

Willey ve ark. Vitek sisteminin, konvansiyonel yöntemle göre doğru identifikasyon oranını; *E. faecalis* için %99, *E. faecium* için %98 olarak bildirmişlerdir (80).

Buschelman ve ark. yaptıkları çalışmada, identifikasyon hata oranlarını; Vitek için %6.7, API için %5.8 olarak saptamışlardır (81).

Bryce ve ark.'nın 100 adet enterokok türü ile yaptıkları bir çalışmada, konvansiyonel yöntemle, Vitek otomatize sistemi karşılaştırılmıştır. 76 adet *E. faecalis* suşunun hepsi, otomatize sistemle doğru olarak tanımlanmış, 24 adet diğer enterokok türünün 7 tanesi (%29.1), Vitek ile yanlış tanımlanmıştır (82).

Singer ve ark. Vitek sistemi ile 31 adet vankomisine dirençli *E. durans* suşu tanımlanmış, suşların hepsi alternatif yöntemlerle yeniden tanımlanmış ve suşların yedisinin *E. faecium* olduğu saptanmıştır (83).

Iwen ve ark., 398 adet enterokok türünün konvansiyonel yöntemle ve MicroScan otomatize sistemi ile identifikasyonunu yapmışlardır. MicroScan

sistemi ile, 181 adet *E. faecalis* suşu ile 157 *E. faecium* suşunun identifikasyonu doğru olarak yapılırken, 60 adet diğer enterokok türünün 56 tanesi yanlış identifiye edilmiştir. Bu 56 türe pigment oluşumu, motilite ve sükröz fermentasyon yöntemleri de uygulandığında identifikasyonları doğru olarak yapılmıştır (84).

*E. faecalis*, Enterococcus cinsi bakteriler arasında en sık izole edilen tür iken, ikinci sıklıkta *E. faecium* izole edilir. Yurtdışında yapılan çalışmalarda, Enterococcus cinsi bakteriler içinde *E. faecalis* bulunma sıklığı %80-90, *E. faecium* bulunma sıklığı ise %5-10 arasında bildirilmiştir (25-27,71,85-89). Acar ve ark. yaptıkları çalışmada izolasyon sıklığını *E. faecalis* için %68.3, *E. faecium* için %26.6 bulmuşlardır (10). Hoşgör ve ark.'nın yaptıkları çalışmada ise bu oranlar sırası ile, %68.5 ve %31.5'tir (44). Eroğlu ve ark., izole ettikleri 124 enterokok türünün %87.90'ını *E. faecalis*, %7.25'ini *E. faecium* olarak identifiye etmişlerdir (90). Eskitürk ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, hastanede yatan hastalardan ve kanalizasyon örneklerinden izole edilen toplam 460 Enterococcus cinsi bakteri identifiye edilmiş ve 322 adeti *E. faecalis* (%70), 99 adeti *E. faecium* (%21.5) olarak tanımlanmıştır (71). Çalışmamızda elde edilen sonuçlar (sırası ile %63.73 ve %29.12), ülkemizde yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

## 5.2. Enterokok türlerinin izolasyon yerlerine göre dağılımı

Enterokok türleri en sık idrardan izole edilirler (2,19,55). Gorbon ve ark., toplam 705 enterokok türünün, 402'sini idrar (%57), 94'ünü pü (%13), 74'ünü (%10) kan kültürlerinden (25), McNamara ve ark. ise, enterokok türlerinin %66'sını idrar, %23'ünü pü, %3'ünü kan kültürlerinden izole

etmişlerdir (27) Ulkemizde yapılan çalışmalarda; Acar ve ark enterokok türlerinin %68.3'ünü idrar, %28.3'ünü pü, %3.3'ünü kan kültürlerinden (10), Öztürk ve ark., %95.9'unu idrar kültürlerinden (55), Kocabeyoğlu ve ark., %75.5'ini idrar kültürlerinden (91), Eroğlu ve ark., %96'sını idrar kültürlerinden (90), Sütçü ve ark. ise, %68'ini idrar kültürlerinden (92) izole etmişlerdir.

Bu çalışmada, enterokok türlerinin 100'ü (%54.94) idrar, 36'sı (%19.78) pü, 36'sı (%19.78) kan kültürlerinden izole edilmiştir. Diğer kültürlerden izolasyon oranları düşüktür (tablo 4.4).

İdrar kültürleri içinde en sık izole edilen enterokok türü *E. faecalis*'tir (8). Mathai ve ark. yaptıkları bir çalışmada, idrar kültürlerinden, *E. faecalis* izolasyon oranını %85, *E. faecium* izolasyon oranını ise %13 bulmuşlardır (9). Yaptığımız çalışmada, idrar kültürlerinden izole edilen 100 adet enterokok türünün 76'sı *E. faecalis*, 18'i ise *E. faecium* olarak identifiye edilmiştir.

### 5.3. Enterokok türlerinin antibiyotiklere dirençlilikleri

Enterokok türlerinin birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençli olmaları ve plazmid ve transpozon aracılığı ile kazanılmış direncin diğer suşlara aktarılması nedeni ile, vankomisin de dahil olmak üzere antibiyotiklere çoklu direnç gösteren suşların hızla yayılması söz konusudur (21).

Özellikle idrar yolu infeksiyonlarından izole edilen enterokok türleri, penisilin ve ampiciline duyarlı olduklarından, bu antibiyotikler tedavide kullanılabilirler (60) Kinolon grubu antibiyotikler de, enterokok infeksiyonlarının tedavisinde etkili olmalarına karşın, bu tür antibiyotiklere de direnç gelişmektedir (61).

Son yıllarda penisilin ve ampisilin direnci gösteren enterokok türlerinde bir artış olmuştur. Dorabat ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, 96 adet enterokok türünün %7.4'ünde penisilin ve ampisiline direnç saptanmıştır (85). Tsaur ve ark., izole ettikleri 102 adet enterokok türünün 11'inde (%10.7) (72), Lin ve ark. ise, 898 adet enterokok türünün 52'sinde (%5.8), penisilin direnci saptamışlardır (93)

Lavery ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada, Ocak 1991-Ocak 1994 tarihleri arasında izole edilen enterokok türlerinde üç yıllık süre içinde ampisilin direncinin %22'den %51'e yükseldiği bildirilmiştir (94).

Sifuentes ve ark., izole ettikleri 407 adet enterokok türünde, *E. faecium* suşlarının ampisilin ve imipenem direncini %59, *E. faecalis* suşlarının ampisilin direncini %0.3, imipenem direncini ise %0.2 olarak saptamışlardır (95).

Öztürk ve ark. yaptıkları çalışmada, 109 adet *E. faecalis* suşunda penisilin, ampisilin ve ampisilin-sulbaktam direnç saptamamalarına karşın, dokuz adet *E. faecium* suşunun dördünü bu antibiyotiklerin tümüne dirençli bulmuşlardır (55).

Sütçü ve ark., izole edilen 100 adet enterokok türünde, penisilin direncini %14, ampisilin direncini ise, %13 olarak tespit etmişlerdir (92).

Çalışmamızda, izole edilen enterokok türlerinin penisilin ve ampisilin direnci, disk difüzyon yöntemi ile %33.52 ve %30.77, mikrodilüsyon yöntemi ile %26.92 ve %26.37 olarak bulunmuştur. *E. faecalis* suşlarının penisilin ve ampisilin direnci, disk difüzyon yöntemi ile %16.38 ve %12.93, mikrodilüsyon yöntemi ile %10.34 ve %7.76 olarak tespit edilmiştir. *E. faecium* suşlarının disk difüzyon yöntemi ile penisilin ve ampisiline direnci %73.59 ve %71.7, mikrodilüsyon yöntemi ile, %69.82 ve %67.93 olarak saptanmıştır.

Kocabeyoğlu ve ark., idrar kültürlerinden izole ettikleri *E. faecalis* suşlarının imipeneme direncini %5, ampisilin-sulbaktama direncini ise %6 olarak saptamışlardır (96) Çalışmamızda, idrar kültürlerinden izole edilen *E. faecalis* suşlarının bu antibiyotiklere direnç oranları sırası ile, %6.6 ve %5.3 olarak bulunmuştur

Enterokok türleri arasında siprofloksasine de, giderek artan bir direnç söz konusudur (63-68). Tancovic ve ark., yaptıkları bir çalışmada siprofloksasine direnci 1987 yılında %1, 1990 yılında %6, 1991 yılında %16, 1992 yılında ise %24 olarak saptamışlardır. Aynı çalışmada, siprofloksasine dirençli enterokok türlerinde %83 oranında yüksek düzey gentamisin direnci tespit edilmiştir (66).

Schaberg ve ark., yaptıkları bir çalışmada 1985-1986 yıllarında yüksek düzey gentamisin direnci gösteren enterokok türlerinin hepsinin siprofloksasine duyarlı olmalarına karşın, 1989-1990 yıllarında izole edilen suşların %24'ünün siprofloksasine dirençli olduklarını saptamışlardır (63).

Sti ve ark., enterokok türlerinin siprofloksasin direncini, %63 olarak bildirmişlerdir (92) Çalışmamızda, izole edilen 182 adet enterokok türünün 104'nde (%57.14) siprofloksasin direnci tespit edilmiştir. Bunlardan 54'nde (%51.92), aynı zamanda yüksek düzey gentamisin direnci de bulunmuştur.

İzole edilen *E. faecalis* suşlarında siprofloksasin direncini; Eroğlu ve ark. %6 (90), Kocabeyoğlu ve ark. %18.2 (91), ztrk ve ark. ise, %7 (55) olarak saptamışlardır. Çalışmamızda izole edilen *E. faecalis* suşlarının siprofloksasin direnci %46.55, *E. faecium* suşlarının siprofloksasin direnci ise %81.13 olarak bulunmuştur.

İzole edilen *E. faecalis* suşlarında tetrasiklin direncini; Eroğlu ve ark. %71 (90), ztrk ve ark. ise, %77 olarak bildirmişlerdir (58).



Çalışmamızda, idrar kültürlerinden izole edilen *E. faecalis* suşlarının tetrasiklin direnci, otomatize sistem ile, %65,8 olarak saptanmıştır.

#### 5.4. Enterokok türlerinde yüksek düzey gentamisin direnci

Yüksek düzey gentamisin direnci, transfer edilebilme özelliği ve bu direnci içeren enterokok türlerinin streptomisin dışında kalan aminoglikozidlere de dirençli olmaları nedeni ile infeksiyonların tedavisinde sorun teşkil eder (8,40).

İzole edilen enterokok türlerinin, yüksek düzey gentamisin dirençlilikleri, çeşitli çalışmalarda farklı oranlarda bildirilmiştir. Dorabat ve ark., yaptıkları çalışmada yüksek düzey gentamisin direncini %21,8 (85), Sifuentes ve ark., %12 (95), Patterson ve ark., %26 (24), Tsaur ve ark., %62 (72), Venditti ve ark., %59,4 (97), Ismaeel ve ark., %18 (98), Stevens ve ark., %44 (99), Watanakunakorn ve ark., %35 (100), Gordon ve ark., %38 (25), Nicastri ve ark., %28 (101), Bryce ve ark., %12,1 (82), Kadoya ve ark., %35 (74), Haglund ve ark., %59 (102), Vargas ve ark. ise, %5,86 (103) olarak bildirmişlerdir.

Yurdumuzda yapılan çeşitli çalışmalarda enterokok türlerinde yüksek düzey gentamisin direnci araştırılmış; Töreci ve ark., %11 (104), Öztürk ve ark., %11,2 (55), Karabiber ve ark., %25 (105), Bakır ve ark., %56,7 (106), Hasçelik ve ark., %30 (107) oranlarında yüksek düzey gentamisin direnci saptamışlardır. Çalışmamızda ise, izole edilen 182 enterokok türünün 68'inde (%37,36) yüksek düzey gentamisin direnci tespit edilmiştir.

*E. faecalis* suşları ile, *E. faecium* suşlarının yüksek düzey gentamisin direnç oranları, çeşitli çalışmalarda farklılıklar göstermektedir. Buschelman ve ark., yaptıkları çalışmada *E. faecalis* ve *E. faecium* suşları için yüksek düzey gentamisin direncini; %13,5 ve %7,3 (81), Keddy ve ark., %26,5 ve

%20 (108) olarak bildirmişlerdir. Guiney ve ark., izole ettikleri 737 adet *E. faecalis* suşunda, %15.2 oranında yüksek düzey gentamisin direnci saptamalarına karşın, 129 adet *E. faecium* suşunda bu dirence rastlamamışlardır (86). Vandamme ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, *E. faecalis* suşları arasında %87 oranında yüksek düzey gentamisin direnci saptanmıştır (89).

Yurdumuzda yapılan çeşitli çalışmalarda; Hoşgör ve ark., izole ettikleri *E. faecalis* suşlarının %20'sinde, *E. faecium* suşlarının %30'unda (44), Aydın ve ark. ise, sırası ile %39.4'ünde ve %27.3'ünde yüksek düzey gentamisin direnci tespit etmişlerdir (109). Haşçelik ve ark., izole ettikleri *E. faecalis* suşlarında, yüksek düzey gentamisin direncini %23.8 olarak bildirmişlerdir (107).

Bu çalışmada izole edilen toplam 116 adet *E. faecalis* suşunun 29'unda (%25), yüksek düzey gentamisin direnci bulunmasına karşın, 53 adet *E. faecium* suşunun 35'inde (%66.03) yüksek düzey gentamisin direnci saptanmıştır.

Sanchez ve ark., yüksek düzey aminoglikozid direnci gösteren *E. faecalis* suşlarının, ampisilin, vankomisin, penisilin ve imipeneme duyarlılık oranlarının, *E. faecium* suşlarının bu antibiyotiklere duyarlılık oranlarından daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (110). Nicoletti ve ark., yüksek düzey gentamisin direnci gösteren enterokok türlerinin, diğer aminoglikozidler ve kombine tedavide kullanılan diğer antibiyotiklere de dirençli olabileceğini saptamışlardır (18). Hoşgör ve ark., yüksek düzey aminoglikozid direnci gösteren *E. faecalis* suşlarının, diğer antibiyotiklere duyarlılıklarını araştırmışlar; vankomisin ve teikoplanine dirençli suş saptanmamasına karşın, suşların çoğunun penisilin, ampisilin ve

nitrofurantoine duyarlı, klindamisin, tetrasiklin, rifampin ve norfloksasine ise, dirençli olduğunu bildirmişlerdir (111)

Bu çalışmada, yüksek düzey gentamisin direnci gösteren *E. faecalis* suşlarının tümünün, vankomisin ve teikoplanine duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Bu suşlar, ampisilin-sulbaktam, imipenem ve meropeneme %75.86, ampisiline %72.41 oranında duyarlı bulunmalarına karşın, penisiline (%58.62) ve siprofloksasine (%34.48) duyarlılık oranları düşüktür. Yüksek düzey gentamisin direnci gösteren *E. faecium* suşlarında da, vankomisin ile teikoplanine direnç saptanmamıştır. Bu suşların değerlendirmeye alınan diğer antibiyotiklere duyarlılıkları düşüktür (tablo 4.18).

Yüksek düzey gentamisin direncinin disk difüzyon yöntemi ile saptanmasında, 120µg gentamisin içeren diskler kullanılır (53). Cherian ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, 10µg gentamisin içeren disk kullanılarak enterokok türlerinin bu antibiyotiğe direnci araştırılmış ve gentamisine dirençli bulunan 210 adet enterokok türünün %67'sinin, 120µg'lık gentamisin diski kullanılarak, aynı zamanda yüksek düzey gentamisin direncine de sahip olduğu saptanmıştır (112).

Couge ve ark., yaptıkları bir çalışmada, yüksek düzey gentamisin direnci gösteren enterokok türlerinin fekal taşıyıcılık oranını araştırmışlar, sağlıklı kişilerde taşıyıcılık saptamamalarına karşın, hastanede yatan hastaların %15'inin taşıyıcı olduğunu bildirmişlerdir (113). Patterson ve ark. ise, hastanede yatan hastaların yüksek düzey gentamisin direnci gösteren enterokok türü taşıyıcılık oranını %29 olarak tespit etmişlerdir (114). Eski Türk ve ark.'nın, 20 adet sağlıklı kişi ve 80 adet hospitalize hasta ile yaptıkları bir çalışmada; sağlıklı kişilerde yüksek düzey gentamisin direnci gösteren enterokok fekal taşıyıcılığı bulunmaz iken, hastanede yatanların

%10'unda saptanmıştır Aynı çalışmada iki farklı bölgenin kanalizasyon örneklerinde, yüksek düzey gentamisin direnci gösteren enterokok türü tespit edilmemiştir (71).

### 5.5. Enterokok türlerinde vankomisin direnci

Son yıllarda, Ulusal Nozokomiyal İnfeksiyon Tarama Sistemi'ne bildirilen verilere göre, 1989'dan (%0.3) 1993 ortalarına kadar (%7.9) vankomisine dirençli enterokok türlerinin neden oldukları nozokomiyal infeksiyonlarda 20 kat artış olduğu saptanmıştır. Bu suşların pek çoğu, mevcut antibiyotiklere direnç göstermektedir (115). Hospitalize edilmiş ve uzun süre vankomisin tedavisi almış kişiler, vankomisine dirençli enterokok infeksiyonu gelişmesi açısından risk altındadırlar (116-118). Ayrıca, *Clostridium difficile* infeksiyonu (119), hastanın yaşı, alta yatan bir hastalığın varlığı, immün sistemin baskılanması ve cerrahi operasyonlar, diğer risk faktörlerini oluşturmaktadır (115,120)

Dorabat ve ark. yaptıkları çalışmada, enterokok türlerinin %8.33'ünde (85), Vandamme ve ark , %1.5'unda (89), Iwen ve ark. %16'sında (84), Willey ve ark , %65'inde (80), Patterson ve ark. , %8'inde (24), vankomisine direnç tespit etmişlerdir. Bryce ve ark (82) ile, Guiney ve ark 'nın (86) yaptıkları çalışmalarda, vankomisine dirençli enterokok türü saptanmamıştır. Atkinson ve ark'nın 1997 yılında yaptıkları çalışmada, 1953-1954 yılları arasında izole edilen enterokok türlerinde vankomisine direnç tespit edilmemiştir (121).

Bu çalışmada, izole edilen 182 adet enterokok türü arasında, iki adet vankomisine dirençli *E. casseliflavus* suşu saptanmıştır.

Gordts ve ark., hospitalize hastaların %3.5'unda (122), Moulin ve ark. ise, %3.6'sında (123), vankomisine dirençli enterokok türü fekal taşıyıcılığı saptamışlardır. Chiew ve ark., Singapur'da vankomisine dirençli enterokok türlerinin fekal taşıyıcılık oranını %10 olarak bildirmişlerdir (124).

Lam ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada, *E. faecium* suşlarının, *E. faecalis* suşlarına göre vankomisin de dahil olmak üzere antibiyotiklere daha dirençli oldukları tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, vankomisine dirençli enterokok türlerinin neden oldukları bakteremi vakalarının hepsinin mortalite ile sonuçlandığı bildirilmiştir (125).

Saraiva ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, vankomisine dirençli enterokok türlerinin %86'sı ampisilin ve penisiline dirençli iken, %26'sının teikoplanine duyarlı, %82'sinin ise, yüksek düzey gentamisin direncine sahip olduğu tespit edilmiştir (126).

Bu çalışmada izole edilen vankomisine dirençli iki adet *E. casseliflavus* suşunun, denenilen antibiyotiklere dirençli ve yüksek düzey gentamisin direncine sahip oldukları saptanmıştır.

Werner ve ark., yaptıkları bir araştırmada, Van A direnç tipi gösteren 20 adet *E. faecium* ve bir adet *E. hirae* suşunun PCR ile özelliklerini incelemişler, 20 adet suşun genotipik olarak aynı özellikte olduklarını saptamışlardır (127). Pattel ve ark., izole ettikleri 100 adet enterokok türünde PCR yöntemi ile fenotipik araştırma yapmışlar; türlerin %10'unun Van A, %30'unun Van B, %18'inin ise Van C fenotipinde olduklarını tespit etmişlerdir (128). Satake ve ark., dışkı kültürlerinden izole ettikleri 333 adet vankomisine dirençli enterokok türünde PCR yöntemi ile fenotip tayini yapmışlar, %67.8'inin Van A fenotipinde olduğunu saptamışlardır (50). Allerberger ve ark., PCR yöntemi ile yaptıkları çalışmada vankomisine dirençli *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının

çoğunlukla Van A direnç tipi gösterdiklerini bildirmişlerdir (129). Biavasco ve ark., vankomisin dahil çoklu direnç gösteren 21 adet enterokok türünün, tümünün Van A fenotipinde olduklarını hibridizasyon yöntemi ile saptamışlardır (130) Kjerulf ve ark. ise, dışkı florasından izole edilen 61 adet vankomisine dirençli enterokok türünün PCR yöntemi ile tümünün, Van A direnç tipi gösterdiklerini bildirmişlerdir (131) Miele ve ark., vankomisine direnç gösteren enterokok türlerinde PCR yöntemi ile fenotip tayini yapmışlar; %56.7'sinde Van A, %23.3'ünde Van B, %20'sinde ise, Van C direnç tipi saptamışlardır (132) Clark ve ark. ise, izole ettikleri türlerin aynı yöntem ile %69.3'ünün Van A, %25.7'sinin Van B, %5'inin ise, Van C fenotipinde olduğunu bildirmişlerdir (133).

Yamane ve ark. yaptıkları bir çalışmada, mikrodilüsyon yöntemi ile vankomisine dirençli olarak saptanan enterokok türlerinin, agar dilüsyon veya E test ile vankomisine direnç özelliklerinin araştırılmasını ve PCR yöntemi ile direnç fenotipinin saptanmasını önermişlerdir (134). Çalışmamızda, disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile vankomisine dirençli oldukları saptanan iki adet *E. casseliflavus* suşunun, E test yöntemi ile de, vankomisine dirençli oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca, plevradan izole edilen *E. casseliflavus* suşunun, 1. ve 2. dejenere primerler kullanılarak PCR yöntemi ile amplifikasyonu yapılmış, suşun Van A fenotipine daha yakın olduğu saptanmıştır.

## 5.6. Enterokok türlerinde beta laktamaz enzimi

Beta-laktamaz üretiminin saptanması, tedavi protokolünün hazırlanmasında önemli olup, bu enzim kromojenik sefalosporin (nitrosefin) testi ile araştırılmalıdır (2).

Gordon ve ark. yaptıkları çalışmada, izole ettikleri enterokok türlerinin %1.6'sında (25), Malathum ve ark., izole ettikleri *E. faecalis* suşlarının %17'sinde (135), beta-laktamaz üretimi saptamalarına karşın, McNamara ve ark (27) Tsaur ve ark (72), Bryce ve ark. (82), Sifuentes ve ark (95), Louie ve ark. (136), izole ettikleri enterokok türlerinin hiç birinde beta-laktamaz üretimi tespit etmemişlerdir. Bu çalışmada da, izole edilen 182 adet enterokok türünün hiç birinde, beta-laktamaz aktivitesi saptanmamıştır.

## 6. SONUÇ

Çalışmamızda, izole edilen 182 adet *Enterococcus* cinsi bakterinin 116'sı (%63.73), *Enterococcus faecalis* suşudur. Enterokok türleri en sık, idrar örneklerinden (n:100, %54.94) izole edilmiştir.

Enterokok türlerinin antibiyotiklere direnç durumu araştırılmış, en etkili antibiyotiklerin, vankomisin (%98.90) ve teikoplanin (%98.90) olduğu belirlenmiştir.

İzole edilen enterokok türleri arasında iki adet *E. casseliflavus* suşunun, disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile vankomisine dirençli olduğu tespit edilmiş, bu direnç E test ile de doğrulanmıştır. Plevradan izole edilen *E. casseliflavus* suşunun PCR yöntemi ile, Van A fenotipine yakın olduğu saptanmıştır.

Enterokok türlerinin, disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile elde edilen penisilin ve ampisilin duyarlılık sonuçları karşılaştırıldığında, her iki yöntem arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

İzole edilen 182 adet enterokok türünün 68'inde (%37.36), yüksek düzey gentamisin direnci saptanmıştır. Yüksek düzey gentamisin direnci belirlenen *E. faecium* suşlarının, *E. faecalis* suşlarına göre diğer antibiyotiklere de daha dirençli oldukları tespit edilmiştir.

İzolatların hemoliz özellikleri incelendiğinde, %42.31'inin  $\alpha$  hemolitik, %22.53'ünün  $\beta$  hemolitik, %35.16'sının ise, nonhemolitik oldukları saptanmıştır.

Çalışmamızda izole edilen enterokok türlerinin hiç birinde, beta-laktamaz aktivitesine rastlanmamıştır.



## 7. ÖZET

Çalışmamızda, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Birimi'ne gönderilen klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus* cinsi bakterilerin identifikasyonu yapılmış, enterokok türlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları, yüksek düzey gentamisin direnç özellikleri, beta-laktamaz aktiviteleri ve hemoliz yapma özellikleri araştırılmıştır.

İzole edilen 182 adet *Enterococcus* cinsi bakterinin 116'sı (%63.73) *E. faecalis* suşu olup, enterokok türleri en sık idrar örneklerinden (n:100, %54.94) izole edilmiştir.

Enterokok türlerinin disk difüzyon yöntemi ile antibiyotiklere duyarlılıkları araştırıldığında, en fazla siprofloksasine direnç belirlenmiş olup (direnç oranı %57.14), en etkin antibiyotiklerin ise, vankomisin (direnç oranı %1.1) ve teikoplanin (direnç oranı %1.1) olduğu tespit edilmiştir.

İki adet *E. casseliflavus* suşunun, disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile vankomisine dirençli olduğu tespit edilmiş, bu direnç E test ile de doğrulanmıştır. Plevradan izole edilen *E. casseliflavus* suşunun PCR yöntemi ile, Van A fenotipine yakın olduğu saptanmıştır.

İzole edilen 182 adet enterokok türünün 68'inde (%37.36), yüksek düzey gentamisin direnci saptanmıştır. Yüksek düzey gentamisin direnci belirlenen *E. faecium* suşlarının, *E. faecalis* suşlarına göre diğer antibiyotiklere de daha dirençli oldukları tespit edilmiştir.

Enterokok türlerinin, disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile elde edilen penisilin ve ampisilin duyarlılık sonuçları karşılaştırıldığında, her iki yöntem arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

İzolatların hemoliz özellikleri incelendiğinde, %42.31'inin  $\alpha$  hemolitik, %22.53'ünün  $\beta$  hemolitik, %35.16'sının ise, nonhemolitik oldukları saptanmıştır.

Çalışmamızda izole edilen enterokok türlerinin hiç birinde, beta-laktamaz aktivitesine rastlanmamıştır.

## 8. KAYNAKLAR

1. Parker T: Streptococcus and Lactobacillus. In: Topley and Wilson's Principles of bacteriology, virology and immunity Vol. 2 Systematic bacteriology 8. Edition, London 1984, 198-204.
2. Richard R, Facklam and Daniel F. Sahn: Enterococcus. In: Manual of Clinical Microbiology, 6. Edition, Washington. American Society for Clinical Microbiology, 1995, 308-313, 1356-1365.
3. Kaufhold A, Ferrieri P: The microbiologic aspects, including diagnosis, of beta hemolytic streptococcal and enterococcal infections Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases 7(2): 235-256, 1993.
4. Knudtson LM, Hartman PA: Routine procedures for isolation and identification of enterococci and fecal streptococci. Appl Environ Microbiol 58 (9): 3027-3031, 1992.
5. Coque TM, Murray BE: Identification of Enterococcus faecalis strains by DNA hybridization and pulsed-field gel electrophoresis. J Clin Microbiol 33(12): 3368-3369, 1995.
6. Facklam RR, Collins MD: Identification of Enterococcus species isolated from human infections by a conventional test scheme. J Clin Microbiol 27(4): 731-734, 1989.
7. Henning K, Brown AE: Vancomycin resistant enterococci. Infections In Medicine 12(1): 17-25, 1997.
8. Robert C, Moellering Jr: Enterococcus species, Streptococcus bovis and Leuconostoc species. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases 4. Edition, New York, Churchill Livingstone Inc 1995, 1826-1835

- 9 Mathai E, Margaret A, George V, Brahmadathan KN: Identification of gram positive cocci isolated from urine. *Indian J Med Res* 100: 10-14, 1994.
- 10 Acar N, Berkem R, Kurt Ö, Akan Ö: Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında enterokok identifikasyon modelleri. *Flora* 1: 36-39, 1996.
- 11 Bilgehan H: Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları, 7. Baskı. İzmir, Doğruculuk Matbaacılık, 1992, 211-243.
- 12 Christie C, Hammond J, Reising S, Patterson PE: Clinical and molecular epidemiology of enterococcal bacteremia in a pediatric teaching hospital. *The J Ped* 125(3): 392-399, 1994
- 13 Facklam R, Pigot N, Franklin R, Elliot J: Evaluation of three disks for identification of enterococci, leuconostocs, and pediococci. *J Clin Microbiol* 33 (4):885-887, 1995.
- 14 Zareba T, Hryniewicz W: Evaluation of usefulness of the PYR-Wellcome test for identifying microorganisms from the genus enterococcus. *Med Dosw Microbiol* 44(1-2): 1-4, 1992.
- 15 Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC Jr: The gram positive cocci. Part II: Streptococci, enterococci and the 'Streptococcus-like' bacteria. In: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5 Edition, Philadelphia. Lippincott-Raven Publishers, 1997, 577-649.
- 16 Petts DN: Evaluation of a modified nitrous acid extraction latex agglutination kit for grouping beta-hemolytic streptococci and enterococci. *J Clin Microbiol* 33(4): 1016-1018, 1995.
- 17 Reuter G: Culture media for enterococci and group D-streptococci. *Int J Food Microbiol* 17(2): 101-111, 1992.
- 18 Nicoletti G, Stefani S: Enterococci: susceptibility patterns and therapeutic options. *Eur J Clin Microbiol* 14(1): 33-37, 1995.

- 19 Robert C, Moellering Jr: Emergence of Enterococcus as a significant pathogen. *Clin Infect Dis* 14:1173-1178, 1992.
- 20 Ike Y, Hashimoto H, Clewell DB: High incidence of hemolysin production by Enterococcus (Streptococcus) faecalis strains associated with human parenteral infections. *J Clin Microbiol* 25(8): 1524-1528, 1987.
- 21 Murray BE: Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerging Infectious Diseases* 4(1): 37-46, 1998.
- 22 Hall LMC, Duke B, Urwin G, Guiney M: Epidemiology of Enterococcus faecalis urinary tract infection in a Teaching Hospital in London, United Kingdom. *J Clin Microbiol* 30(8): 1953-1957, 1992.
- 23 Handwerger S, Raucher B, Altarac D, et al: Nosocomial outbreak due to Enterococcus faecium highly resistant to vancomycin, penicillin, and gentamicin. *Clin Infect Dis* 16: 750-755, 1993.
- 24 Patterson JE, Sween AH, Simms M, et al: An analysis of 110 serious enterococcal infections. Epidemiology, antibiotic susceptibility, and outcome. *Medicine Baltimore* 74(4): 191-200, 1995.
- 25 Gordon S, Swensin JM, Hill BC, et al: Antimicrobial susceptibility of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States. Enterococcal Study Group. *J Clin Microbiol* 30(9): 2373-2378, 1992.
- 26 Efthymiou CJ, Saadi S, Young SL, Helfand EA: Iron-deficient medium for selective isolation and presumptive identification of enterococci. *Ann Clin Lab Sci* 17(4): 226-231, 1987.
- 27 McNamara EB, King EM, Smyth EG: A survey of antimicrobial susceptibility of clinical isolates of Enterococcus sp. from Irish hospitals. *J Antimicrob Chemother* 35(1): 185-189, 1995.
- 28 Malen DS, Evers S, Courvalin P: Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol* 33(1): 24-27, 1995.

29. Elliot JA, Facklam RR, Richter CB: Whole-cell protein patterns of nonhemolytic group B, type Ib, streptococci isolated from humans, mice, cattle, frogs and fish. *J Clin Microbiol* 28(3): 628-630, 1990.
30. Cheng S, Ferne K, McCleskey, et al: A PCR for identification of *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol* 35(5): 1248-1250, 1997.
31. Cartwright PC, Stock F, Fahle GA, Gill JV: Comparison of pigment production and motility tests with PCR for reliable identification of intrinsically vancomycin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 33(7): 1931-1933, 1995.
32. Tyrrell JG, Bethune N, Willey B, et al: Species identification of enterococci intergenic ribosomal PCR. *J Clin Microbiol* 35(5): 1054-1060, 1997.
33. Malinverni R: Aminoglycosides in the treatment of infectious endocarditis. *Schweiz Med Wochenschr* 76: 14-20, 1996.
34. Alomo I, Gonzalez A: Detection of antibiotic resistance in *Enterococcus* sp. comparison of GPS-TA (BioMerieux-Vitek), Unisept MIC-3 (BioMerieux-Vitek) and conventional methods. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 13(9): 516-521, 1995.
35. Hayden MK, Koenig GI, Trenholm GM: Bactericidal activities of antibiotics against vancomycin resistant *Enterococcus faecium* blood isolates and synergistic activities of combinations. *Antimicrob Agents Chemother* 38(6): 1225-1229, 1994.
36. Baran EJ, Peterson LR, Finegold SM: Streptococci and related genera. In: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 9. Edition, Missouri Mosby-Year Book, Inc 1994, 333-352.
37. Torres C, Tenorio C, Lantero M, et al: High-level resistance and penicillin-gentamicin synergy in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 37(11): 2427-2431, 1993.
38. Patterson JE, Zervos MJ: High-level gentamicin resistance in *Enterococcus*: microbiology, genetic basis, and epidemiology. *Rev Infect Dis* 12(4): 644-652, 1990.

39. Auge B, Avril JL: Streptococcus faecalis: sensitivity to quinolones, penicillins and aminoglycosides alone or in combination. *Pathol Biol Paris* 34(9): 993-996, 1986.
40. Derbentli Ş: Stafilokok ve enterokoklarda antibiyotik duyarlılık deneylerinin özellikleri. *Ankem Dergisi* 10(2): 215-219, 1996.
41. Woodford N, McNamara E, Smyth E, George RC: High-level resistance to gentamicin in *Enterococcus faecium*. *J Antimicrob Chemother* 29: 395-403, 1992.
42. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disks susceptibility tests, Approved Standard M2-A5, 5<sup>th</sup> ed, Vol.13, No.24, NCCLS, Villanova (1993).
43. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, Approved Standard M7-A3, 3<sup>th</sup> ed, Vol.13, No.25, NCCLS, Villanova (1993).
44. Hoşgör M, Çavuşoğlu C, Tünger A, Özinel MA: Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci. *İnfeksiyon Dergisi* 11(1): 7-9, 1997.
45. Lopardo H, Bantar C, Venuta M, et al: Detection of high-and moderately high-level resistance to gentamicin and streptomycin in *Enterococcus faecium* by a disc diffusion method. *J Antimicrob Chemother* 36: 237-240, 1995.
46. Perichon B, Reynolds P, Courvalin P: Van D-Type glikopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. *Antimicrob Agents Chemother* 41(9): 2016-2018, 1997.
47. Coque MT, Tomayko JF, Rieke SC, et al: Vancomycin-resistant *Enterococci* from nosocomial, community, and animal sources in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 40 (11): 2605-2609, 1996.
48. Baptista M, Depardieu F, Courvalin P, Arthur M: Specificity of induction glycopeptide resistance genes in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 40(10): 2291-2295, 1996.

49. Handwerger S, Perlman DC, Altarac D, McAuliffe V: Concomitant high-level vancomycin and penicillin resistance in clinical isolates of enterococci. *Clin Infect Dis* 14: 655-661, 1992.
50. Satake S, Clark N, Rimland D, Nolte FS, Tenover FC: Detection of vancomycin-resistant Enterococci in fecal samples by PCR. *J Clin Microbiol* 35(9): 2325-2330, 1997
51. Boyce JM, Opal SM, Chow JW, et al: Outbreak of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with transferable Van B class vancomycin resistance. *J Clin Microbiol* 32(5): 1148-1153, 1994.
52. Endtz HP, Braak VD, Belkum AV, et al: Comparison of eight methods to detect vancomycin resistance in enterococci. *J Clin Microbiol* 36(2): 592-594, 1998
53. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Zone diameter interpretive standards and equivalent minimum inhibitory concentration (MIC). Approved Standard M2-A6, 6<sup>th</sup> ed, Vol 17, No.1, NCCLS, Pennsylvania (1997).
54. Simjee S, Gill MJ: Gene transfer, gentamicin resistance and enterococci. *J Hosp Infect* 36(4): 249-259, 1997
55. Öztürk R, Eroğlu C, Köksal F, Mert A, Aygün G: Enterokoklarda antibiyotiklere direnç ve yüksek düzeyde gentamisin direnci. *Ankem Dergisi* 9(4): 351-354, 1995
56. Krieger JN, Kaiser DL, Wenzel RP: Urinary tract etiology of bloodstream infections in hospitalized patients. *J Infect Dis* 148: 57-62, 1983
57. Farins MC, Hernandez JL, Hernando JP, et al: Enterococcal endocarditis in a patient with a renal oncocytoma. *Clin Microbiol Infect* 3: 580-582, 1997
58. Venditti M, Brandimarte C, Capone A, et al: Endocarditis caused by *Enterococcus faecalis* with high-level resistance to aminoglycosides; failure of ampicillin and ceftriaxone combined therapy. *Clin Microbiol Infect* 3: 577-580, 1997.



59. Murrey BE: The life and times of the enterococcus. *Clin Microbiol Rev* 3(1): 46-65, 1990
60. Nichol RL, Muzik AC: Enterococcal infections in surgical patients: The mystery continures. *Clin Infect Dis* 15: 72-76, 1992
61. Vural T, Şekercioğlu AO, Ögünç D ve ark: Vankomisine dirençli bir *Enterococcus casseliflavus* suşu. *Ankem Dergisi* 12(2): 113, 1998.
62. Ulusay S, Hoşgör M, Tünger A, Özinel MA, Tokbaş A: Üriner sistem infeksiyonlarından soyutlanan *Enterococcus faecalis* kökenlerinin antibiyotik duyarlılıkları. *İnfeksiyon Dergisi* 8(3-4): 119-120, 1994.
63. Schaberg DR, Dillon VI, Terpenning MS, et al: Increasing resistance of enterococci to ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 36(11): 2533-2535, 1992
64. Zervos MJ, Bacon AE, Patterson JE, et al: Enterococcal superinfection in patients treated with ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother* 21: 113-115, 1988.
65. Noskin GA, Mehl P, Warren JR: Bactericidal activity of the fluoroquinolone WIN 57273 against high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 37(11): 2470-2473, 1993.
66. Tancovic J, Mahjoubi F, Courvalin P, et al: Development of fluoroquinolone resistance in *Enterococcus faecalis* and a role of mutations in the DNA gyrase *gyrA* gene. *Antimicrob Agents Chemother* 40(11): 2558-2561, 1996
67. Tripodi MF, Utili R, Rambaldi A, et al: Unorthodox antibiotic combinations including ciprofloxacin against high-level gentamicin resistant enterococci. *J Antimicrob Chemother* 37: 727-736, 1996.
68. Martinez LM, Joyanez P, Pascual A, Terrano E, Perea JE: Activity of eight fluoroquinolones against enterococci. *Clin Microbiol Infect* 3: 497-499, 1997

69. Eliopoulos GM: Aminoglycoside resistant enterococcal endocarditis. *Infect Dis Clin North America* 7(1): 117-133, 1993
70. Bartoloni A, Stefani S, Mantella A, et al: High-level aminoglycoside resistance and glycopeptide resistance among enterococci isolated from blood cultures. *Clin Microbiol Infect* 3: 385-387, 1997.
71. Eskitürk A, Ekti M, Çulha G, Korten V: Hastanede yatan hastalarda ve kanalizasyon örneklerinde vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid dirençli enterokok suşlarının araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 31: 219-229, 1997.
72. Tsaur SM, Chang SC, Luh KT, Hsieh WC: Antimicrobial susceptibility of enterococci in vitro. *J Formos Med Assoc* 92(6): 547-552, 1993.
73. Gray J, Marsh PJ, Stewart D, Pedler SJ: Enterococcal bacteremia: a prospective study of 125 episodes. *J Hosp Infect* 27(3): 179-186, 1994
74. Kadoya M, Ichiyama S, Nada T, Iida E, Takeuchi J: Clinical features of enterococcal septicemia and antimicrobial susceptibilities for clinical isolates of enterococci in Nagoya University Hospital. *Kansenshogaku Zasshi* 65(9): 1111-1115, 1991
75. Noskin GA, Till M, Patterson BK, Clarke JT, Warren JR: High-level gentamicin resistance in *Enterococcus faecalis* bacteremia. *J Infect Dis* 164(6): 1212-1215, 1991.
76. Antalek MD, Mylotte JM, Lesse AJ, Sellick JA: Clinical and molecular epidemiology of *Enterococcus faecalis* bacteremia, with special reference to strains with high-level resistance to gentamicin. *Clin Infect Dis* 20(1): 103-109, 1995
77. Ruoff KL, de la Maza L, Murtagh MJ, Spargo JD, Ferraro MJ: Species identities of enterococci isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 28(3): 435-437, 1990.
78. Sader HS, Biendenbach D, Jones RN: Evaluation of Vitek and API 20S for species identification of enterococci. *Diagn Microbiol Infect Dis* 22(4): 315-319, 1995

79. Devriese LA, Pot B, Van Damme L, Kersters K, Haesebruck F: Identification of *Enterococcus* species isolated from foods of animal origin. *Int J Food Microbiol* 26(2): 187-197, 1995.
80. Willey BM, Kreiswirth BN, Simor AE, et al: Identification and characterization of multiple species of vancomycin-resistant enterococci, including an evaluation of Vitek software version 7.1. *J Clin Microbiol* 31(10): 2777-2779, 1993.
81. Buschelman BJ, Bale MJ, Jones RN: Species identification and determination of high-level aminoglycoside resistance among enterococci. Comparison study of sterile body fluid isolates 1985-1991. *Diagn Microbiol Infect Dis* 16(2): 119-122, 1993.
82. Bryce EA, Zemcov SJ, Clarke AM: Species identification and antibiotic resistance patterns of the enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 745-747, 1991.
83. Singer DA, Jochimsen EM, Gielerak P, Jarvis WR: Pseudo-outbreak of *Enterococcus durans* infections and colonization associated with introduction of an automated identification system software update. *J Clin Microbiol* 34(11): 2685-2687, 1996.
84. Iwen PC, Kelly DM, Linder J, Hinrichs SH: Revised approach for identification and detection of ampicillin and vancomycin resistance in *Enterococcus* species by using MicroScan panels. *J Clin Microbiol* 34(7): 1779-1783, 1996.
85. Dorabat O, Biolan T: Characteristics of *Enterococcus* strains isolated in 1991-1992. *Roum Arch Microbiol Immunol* 52(4): 239-246, 1993.
86. Guiney M, Urwin G: Frequency and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 12(5): 362-366, 1993.
87. Gray JW, Stewart D, Pedler SJ: Species identification and antibiotic susceptibility testing of enterococci isolated from hospitalized patients. *Antimicrob Agents Chemother* 35(9): 1943-1945, 1991.

88. Kechrid A, Ben Redjeb S, Gargouri J, et al: Group D streptococci and enterococci: identification, sensitivity to antibiotics and a study of the high-level resistance to aminoglycosides (Charles Nicole Hospital in Tunis). *Med Trop Mars* 51(2): 177-180, 1991.
89. Vandamme P, Vercauteren E, Lammens C, Pensart N, Ieven M: Survey of enterococcal susceptibility patterns in Belgium. *J Clin Microbiol* 34(10): 2572-2576, 1996
90. Eroğlu C, Öztürk R, Köksal F, Mert A, Aygün G: Klinik örneklerden üretilen enterokok cinsi bakterilerde antimikrobik maddelere duyarlılık ve yüksek düzeyli aminoglikozid direncinin araştırılması. *Ankem Dergisi* 9(2): 112, 1995.
91. Kocabeyoğlu Ö, Koşan E, Tülbek MY ve ark: Klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus faecalis* suşlarında çeşitli antibiyotiklere direnç. *Ankem Dergisi* 8(2): 95, 1994
92. Sütçü A, Keklikoğlu F, Kaloğlu G, Baysal B: Klinik materyallerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Ankem Dergisi* 9(2): 113, 1995.
93. Lin RV: Enterococci highly resistant to penicillin: characterizing isolates from Singapore hospitals. *Singapore Med J* 32(4):252-253, 1991.
94. Lavery A, Rossney AS, Morrison D, Power A, Keane CT: Incidence and detection of multidrug-resistant enterococci in Dublin hospitals. *J Med Microbiol* 46(2): 150-156, 1997.
95. Sifuentes OJ, Ponce-de-Leon A, Munoz TT, et al: Antimicrobial susceptibility patterns and high-level gentamicin resistance among enterococci isolated in a Mexican tertiary care center. *Rev Invest Clin* 48(2): 91-96, 1996
96. Kocabeyoğlu Ö, Koşan E, Kanmaz M ve ark: İmipenem ve diğer bazı antibiyotiklerin idrardan izole edilen *Enterococcus faecalis* suşlarına etkinliği. *Ankem Dergisi* 9(1): 8-11, 1995.

97. Venditti M, Tarasi A, Gelfusa V, et al: Antimicrobial susceptibilities of enterococci isolated from hospitalized patients. *Antimicrob Agents Chemother* 37(5): 1190-1192, 1993.
98. Ismael NA: Clinical isolates of enterococci with high-level resistance to currently available aminoglycosides. *J Hosp Infect* 20(1): 35-42, 1992.
99. Stevens PJ, Hutchinson NA, Holliman RE: High level gentamicin resistance in enterococcal and streptococcal isolates from blood culture. *Med Lab Sci* 49(1): 16-19, 1992.
100. Watanakunakorn C: Rapid increase in the prevalence of high-level aminoglycoside resistance among enterococci isolated from blood cultures during 1989-1991. *J Antimicrob Chemother* 31(4): 608-609, 1993.
101. Nicastri E, Tarasi A, Comandini VU, et al: High-level aminoglycoside resistance among enterococci: evaluation of an agar screen susceptibility tests. *J Chemother* 4(1): 9-11, 1992.
102. Haglund LA, Flourney DJ, Gilmore MS, Huycke MM: Enterococcus: an old pathogen with new tricks. *J Okla State Med Assoc* 84(7): 305-309, 1991.
103. Vargas J, Lozano MC, Parras P, Martin E: Comparison of ATB STREP, AMS-VITEK GPS-TA, and disk diffusion for the detection of a high level of aminoglycoside resistance in *Enterococcus* spp. *Enferm Infect Microbiol Clin* 11(4): 182-186, 1993.
104. Töreci K, Öngen B: İdrardan izole edilen enterokok suşlarında antibiyotik direnci. *Ankem Dergisi* 7(2): 92, 1993.
105. Karabiber N, Karahan M: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarında yüksek düzey streptomisin ve gentamisin direnci. *Ankem Dergisi* 9(1): 1-7, 1995.
106. Bakır M, Yalçın AN: Nozokomiyal enterokok infeksiyonları. *İnfeksiyon Dergisi* 10(2): 139-141, 1996.

107. Hasçelik G, Gür D, Özkuyumcu C, Akalın HE: Enterokoklarda aminoglikozid, glikopeptid ve beta-laktam direncinin araştırılması. *Ankem Dergisi* 7(2): 51, 1993.
108. Keddy KH, Klugman KP, Liebowitz LD: Incidence of high-level gentamicin resistance in enterococci at Johannesburg Hospital. *S Afr Med J* 86(10): 1273-1276, 1996.
109. Aydın N, Koç N, Sümerkan B, Fazlı ŞA, Doğanay M: Klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'lerin antibiyotik duyarlılıkları. 16. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı 14, 1994.
110. Sanchez ML, Barret MS, Jones RN: Use of the E test to predict high-level resistance to aminoglycosides among enterococci. *J Clin Microbiol* 30(11): 3030-3032, 1992.
111. Hoşgör M, Ulusoy S, Özinel MA, Tünger A, Tokbaş A: Aminoglikozidlere yüksek düzeyde direnç gösteren enterokokların değişik antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 8(3-4): 115-117, 1994.
112. Cherian BP, Mathai E, Chandy S: Determination of high level resistance to aminoglycosides among enterococci. *Indian J Med Res* 102: 255-257, 1995.
113. Coque TM, Arduino RC, Murrey BE: High-level resistance to aminoglycosides: comparison of community and nosocomial fecal isolates of enterococci. *Clin Infect Dis* 20(4): 1048-1051, 1995.
114. Patterson JE, Barry M, Gallant J, et al: Epidemiology of high-level gentamicin resistant enterococcal isolates from Zimbabwe. *Am J Trop Med Hyg* 43(4): 397-399, 1990.
115. Joshi N, Milfred D, Caputo G: Vankomisine dirençli enterokoklar: bir derleme. *İnfeksiyon Hastalıkları Klinik Uygulamaları Dergisi* 5: 14-21, 1997.
116. Mainous MR, Lipsett PA, O'Brien M: Enterococcal bacteremia in the surgical intensive care unit. Does vancomycin resistance affect

- mortality? The Johns Hopkins SICU study group. *Arch Surg* 132(1): 76-81, 1997.
117. Walirauch C, Elsner E, Milatovic D, Cremer J, Braveny A: Antibiotic resistance of enterococci in Germany. *Med Klin* 92(8): 464-468, 1997.
  118. Palmer SM, Rybak MJ: Vancomycin resistant enterococci. *Pharmacotherapy* 16(5): 819-829, 1996.
  119. Roghmann MC, McCarter RJ, Brewrink J, Cross AS, Morris JG: Clostridium difficile infection is a risk factor for bacteremia due to vancomycin resistant enterococci (VRE) in VRE-colonized patients with acute leukemia. *Clin Infect Dis* 25(5): 1056-1059, 1997.
  120. Gerding DN: Is there a relationship between vancomycin-resistant enterococcal infection and Clostridium difficile infection? *Clin Infect Dis* 25 (2): 206-210, 1997.
  121. Atkinson BA, Abu Al Jaibat A, LeBlanc DJ: Antibiotic resistance among enterococci isolated from clinical specimen between 1953-1954. *Antimicrob Agents Chemother* 41(7): 1598-1600, 1997.
  122. Gordts B, Van Landuyt H, Ieven M, et al: Vancomycin resistant enterococci colonizing the intestinal tracts of hospitalized patients. *J Clin Microbiol* 33 (11): 2842-2846, 1995.
  123. Moulin F, Dumontier S, Saulnier P, et al: Surveillance of intestinal colonization and of infection by vancomycin-resistant enterococci in hospitalized cancer patients. *Clin Microbiol Infect* 2(3): 192-201, 1996.
  124. Chiew YF: Vancomycin-resistant enterococci. *Ann Acad Med Singapore* 26(6): 808-814, 1997.
  125. Lam S, Singer C, Tucci V, et al: The challenge of vancomycin-resistant enterococci: A clinical and epidemiologic study. *Am J Infect Control* 23(3): 170-180, 1995.
  126. Saraiva H, Jones RN, Erwin M, Sader HS: Evaluation of antimicrobial sensitivity of 87 clinical isolates of vancomycin-resistant enterococci. *Rev Assoc Med Bras* 43(3): 217-222, 1997.

127. Werner G, Klare I, Witte W: Arrangement of the Van A gene cluster in enterococci of different ecological origin. *FEMS Microbiol Lett* 155(1): 55-61, 1997.
128. Pattel R, Uhi JR, Kohner P, Hopkins MK, Cockerill FR: Multiplex PCR detection of Van A, Van B, Van C-1 and Van C-2/3 genes in enterococci. *J Clin Microbiol* 35(3): 703-707, 1997
129. Allerberger W, Lass-Flörl C, Dierich MP, et al: Vancomycin resistant enterococci. *Wien Klin Wochenschr* 109(9): 312-320, 1997.
130. Biavasco F, Miele A, Vignaroli C, et al: Genotypic characterization of a nosocomial outbreak of Van A *Enterococcus faecalis*. *Microb Drug Resist* 2(2): 231-237, 1996
131. Kjerulf A, Pallesen L, Westh H: Vancomycin resistant enterococci at a large university hospital in Denmark. *APMIS* 104(6): 475-479, 1996.
132. Miele A, Bandera M, Goldstein BP: Use of primers selective for vancomycin resistance genes to determine Van genotype in enterococci and to study gene organization in Van A isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 39(8): 1772-1778, 1995.
133. Clark N, Cooksey NC, Hill BC, Swenson JM, Tenover FC: Characterization of glycopeptide-resistant enterococci from U.S. hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 37(11): 2311-2317, 1993.
134. Yamane N, Miyagawa S, Nakasone I, Sakamoto F, Tosaka M: Laboratory-evaluation of antimicrobial susceptibility testing to detect vancomycin-resistant enterococci. *Rinsho Byori* 45(4): 381-390, 1997.
135. Malathum K, Singh KV, Weinstock GM, Murrey BE: Repetitive sequence-based PCR versus pulsed-field gel electrophoresis for typing of *Enterococcus faecalis* at the subspecies level. *J Clin Microbiol* 36(1): 211-215, 1998
136. Louie M, Simor AE, Szeto S, et al: Susceptibility testing of isolates of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *J Clin Microbiol* 30(1): 41-45, 1992.