

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
HAYDARPAŞA NUMUNE HASTANESİ
İNFEKSİYON HASTALIKLARI VE
KLİNİK MİKROBİYOLOJİ KLİNİĞİ
ŞEF: DOÇ. DR. PAŞA GÖKTAŞ

**ENTEROKOKLARDA YÜKSEK DÜZEY
AMİNOGLİKOZİD DİRENCİ**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Gönül ÇİÇEK ŞENTÜRK

İSTANBUL-2002

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

1- Giriş ve Amaç	1
2- Genel Bilgiler	3
3- Materyal ve Metod	32
4- Bulgular	35
5- Tartışma ve Sonuç	38
6- Özet	44
7- Summary	46
8- Kaynaklar	48

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimini aldığım Haydarpaşa Numune Hastanesi Başhekimi Sayın Prof. Dr. Suphi ACAR'a,

Uzmanlık eğitimi süresince, hoşgörü ortamı içerisinde, geniş bilgi ve tecrübesinden yararlandığım Klinik Şefimiz Sayın Doç. Dr. Paşa GÖKTAŞ'a,

Rotasyonlarımı yaptığım Kliniklerin Şeflerine,

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bize yön veren Kliniğimiz Şef Yardımcıları Dr. Seyfi ÖZYÜREK ve Dr. Emin KARAGÜL'e, başta tez çalışmam sırasında yardımcı olan Dr. İlknur ERDEM olmak üzere birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Kliniğimizin uzmanlarına,

Çalışmalarım sırasında gösterdikleri yakın ilgi ve yardımlarından dolayı Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına, asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz hemşire ve diğer çalışanlarına, şu an kliniğimizde bulunmayan ancak daha önce kendisiyle çalışmaktan mutluluk duyduğum Dr. Serpil Akın ERTEM'e içtenlikle teşekkür ederim.

Dr. Gönül Çiçek ŞENTÜRK

2002

GİRİŞ ve AMAÇ

Enterokok terimi ilk kez 1899'da insan barsağındaki Gram pozitif diplokok olarak tanımlanmıştır. Uzun yıllar boyunca nadiren enfeksiyona yol açan ve normal barsak florasının bir üyesi olan kommensal mikroorganizmalar olarak düşünülmüşlerdir. Enterokoklar, diğer bir çok bakteride olan potent virülans faktörlerine sahip değildir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, enterokokların da potansiyel patojenliklerini ortaya çıkarmıştır.

Enterokoklar son on yılda nozokomiyal bakteriyemi, cerrahi yara enfeksiyonları ve üriner sistem enfeksiyonlarında etken olarak daha fazla izole edildikleri için, giderek artan oranda önem kazanmışlardır. Amerika Birleşik Devleti (ABD) verilerine göre, enterokoklar nozokomiyal üriner sistem ve yara enfeksiyonlarında ikinci, nosokomiyal bakteriyemilerde ise üçüncü sıklıkla izole edilmektedir. Yirmiye yakın türü olmasına rağmen, insanlarda en sık izole edilen türler *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur.

Enterokoklar β -laktam antibiyotikler, aminoglikozidler (düşük düzeyde), linkozamidler, trimetoprim-sulfametoksazol gibi bazı antibiyotiklere karşı intrinsek olarak dirençlidirler. Ayrıca plazmidleri ve transpozonları aracılığı ile tetrasiklinlere, makrolidlere, kloramfenikole, aminoglikozidlere (yüksek düzeyde) ve vankomisine direnç kazanabilirler. Nitekim 1970'li yılların başında streptomisine, 1979 yılında ise gentamisine yüksek düzeyde dirence sahip suşlar bildirilmiştir. 1983 yılında enterokoklarda β -laktamaz yapımı tespit edilmiş ve 1988 yılında da vankomisin dirençli enterokok (VRE) suşları tanımlanmıştır.

Uzun süre hastanede yatma, immünsüpresyon, sefalosporinler ve vankomisin başta olmak üzere bazı antibiyotiklerin kullanımı, dirençli enterokok enfeksiyonu için başlıca risk faktörleri olarak kabul edilmektedir.

Bütün dünyada gittikçe artan yüksek düzey aminoglikozid direnci(YDAD), ciddi enfeksiyonlarda kullanılan standart β -laktam –

aminoglikozid kombinasyon tedavisinin sinerjistik bakterisidal etkisini ortadan kaldırmaktadır.

Enterokokkal infeksiyonların tedavisinde YDAD'nin olması ciddi sorunlara yol açabilmektedir. Bu nedenle bu tür infeksiyonların tedavisi planlanırken, YDAD'nin dikkate alınması ve bu direncin araştırılması gerekmektedir.

Çalışmamızda, hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokoklarda YDAD araştırılarak, hastanemizde enterokok infeksiyonlarının ampirik tedavisinde antibiyotik seçimine yardımcı olunması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

TARİHÇE

Enterokok ismi ilk kez 1899 yılında Thiercelin tarafından Fransa'da yayımlanan bir makalede kullanılmıştır (1,2). Enterokok isminin kullanılış amacı bakterinin barsak orijinli olduğunu vurgulamaktı. Lancefield tarafından yapılan sınıflandırmada enterokoklar D grubu streptokoklar arasında yer almış, 1940 ve 1950 yılları arasında yapılan çalışmalarda *Streptococcus faecium* ve *Streptococcus faecalis*'in farklı biyokimyasal özellikleri olduğu gösterilmiştir. 1984 yılında da Schleifer ve Kilpper-Balz DNA-DNA ve DNA-rRNA hibridizasyon deneyleri sonucunda, *S.faecalis* ve *S.faecium*'un streptokoklardan ayrılarak *Enterococcus* cinsine aktarılmasını önermişlerdir. Bu cins içindeki bakteriler daha sonra *E.faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E.casseliflavus*, *E. malodoratus*, *E. hirae*, *E. gallinorum*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. solitarius* ve *E. pseudoavium* gibi çeşitli türlere ayrılmışlardır (1). Ayrıca son on yıl içinde *E. flavescens*, *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E.seriolicida*, *E. saccharolyticus*, *E.columbae* ve *E. cecorum* gibi yeni türler de enterokok cinsi içinde tanımlanmıştır (1,3,4).

Ancak son yıllarda yapılan 16S rRNA sequence çalışmaları, yeni tanımlanan *Tetragenococcus halophilus* türü ile *E. solitarius* arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu sebeple *E. solitarius*'un enterokok cinsi içindeki yeri tartışmalıdır. Benzer çalışmalar sonucunda *E. seriolicida* ile *Lactococcus garvieae*'nin de aynı tür olduğu düşünülmüştür. Sonuç olarak *E. solitarius* ve *E. seriolicida* türleri günümüzde enterokok cinsi içinde değerlendirilmemektedir (3,4).

MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLER

Üreme ve Biyokimyasal Özellikler

Enterokoklar tek, ikili, ya da kısa zincirler halinde bulunan Gram pozitif koklardır. Morfolojik olarak streptokoklardan ayrılmaları zordur. Fakültatif anaerob bakterilerdir. Kanlı jelöz agarda koloniler büyükçe, gri renkli, parlak,

buğulu görünümündedir. Katalaz negatiftirler, fakat bazı kökenlerinde “pseudo catalase” yapımı vardır. 10-45 °C arasında üreyebilir, % 6.5’luk NaCl’lü ortamda üremeyi sürdürebilir, 60°C’de 30 dakika canlı kalabilir ve eskulini hidrolize edebilirler. Ayrıca pH 9.6’ da, % 40 safra tuzu içeren besiyerinde de üreyebilirler. Glikozdan gaz oluşturmazlar. Alfa, beta veya nonhemolitiklerdir (3,5,6,7).

E. flavescens, *E. casseliflavus* ve *E. gallinorum* gibi bazı kökenler hareketlidir. *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* dışında kalan tüm kökenler L-pyrolidonyl beta naphthylamide (PYR) maddesini hidrolize ederler. Tüm kökenlerde lösiaminopeptidaz üretimi vardır (3).

Enterokokların çoğu grup D antiserumu, bazıları grup Q antiserumu ile reaksiyon verir. *E. faecalis*, *E. faecium*’un tersine % 0.04 tellürit içeren ortamda ürer ve tetrazoliumu, formazona indirger. *E. faecium* Lys-D-Asp tipinde bir peptidoglikana sahiptir. *E. faecalis* ise Lys-Ala 2-3 tipinde bir peptidoglikana sahiptir (2).

Gram pozitif, katalaz negatif koklardan olan *Lactococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp. ve *Aerococcus* spp. safralı eskülinli besiyerinde ve % 6.5’luk NaCl’lü besiyerinde üreyebilir, eskülini hidrolize ederler. Grup D antijeninin varlığı bütün enterokoklar için spesifik değildir ve *Pediococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *S. bovis*, *S. equinis* gibi diğer bazı Gram pozitif bakterilerde de bulunabilir. *Lactococcus* spp. ve *Aerococcus* spp. türlerinde PYR pozitifdir, ancak bunların D grup antijeni yoktur. Buna karşılık *Pediococcus* spp. ve *Leuconostoc* spp. türlerinde PYR negatiftir ve 30 µg vankomisin diski etrafında inhibisyon zonu oluşturmazlar, vankomisine dirençlidirler. Ayrıca *Leuconostoc* spp.’ın glikozdan gaz üretmesine karşı enterokoklar glikozdan gaz üretmezler, çoğu vankomisine duyarlıdır, vankomisin diski etrafında inhibisyon zonu oluştururlar (1,2,4). Enterokokları Gram pozitif, katalaz negatif koklardan ayırmaya yarayan özellikler Tablo-1’de yer almaktadır.

Tablo 1. Bazı Gram pozitif, katalaz negatif kokları, enterokoklardan ayırmaya yarayan testler (28)

Test	Enterococcus	Lactococcus	Vagococcus	Streptococcus	Abiotrophia	Globicatella	Leuconostoc	Pediococcus
Vankomisin Duyarlılığı	S,a	S	S	S	S	S	R	R
Glukozdan gaz oluşturma	-	-	-	- ^b	-	-	+	-
PYR	+	+	+	+	+	+	-	-
LAP	+	+	+	+	-	-	v	+
Safra-eskulin %6.5 NaCl'de üreme	+	v	+	- ^d	-	+	v	v
10°C'de üreme	+	+	+	-	v	-	+	-
45°C'de üreme	+	v	v	v	-	-	v	+
Motilité	+	-	-	-	-	-	-	-
Hemoliz	α,β,n	α,n	α,n	α,β,n	α,n	α	α	α

S : duyarlı, R: dirençli, n: non hemolitik

*: Daha önceden beslenme yönünden eksik streptokoklar olarak bilinen mikroorganizmalar

PYR: L-pyrolidonyl-β-naphthylamid

LAP: Leucine aminopeptidase yapımı

+ : > % 95 pozitif reaksiyon

- : < % 5 pozitif reaksiyon

a : vankomisin dirençli suşlar hariç, bazı suşlar dirençli olduğu halde disk çevresinde küçük zon oluştururlar

b : S. pyogenes, S. iniae ve S. porcinus PYR pozitif, diğerleri negatiftir

c : viridans streptokokların % 5-10'u safra eskulin pozitifdir

d : bazı beta-hemolitik streptokoklar % 6.5 NaCl'de ürerler

v : değişken

Enterokoklar mannitol, sorbitol, sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arginini hidrolize etmelerine göre beş gruba ayrılırlar (4).

Grup 1: *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium* ve *E. saccharolyticus*' dan oluşur. Bu türlerin hepsi karbonhidratlı her üç besiyerinde asit oluşturur, fakat arginini hidrolize etmezler.

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

Grup 3: *E. durans*, *E. dispar*, *E. hirae* ve *E. faecalis* ile *E. faecium*'un mannitol negatif varyantları bu grubu oluşturur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize ederler, fakat mannitol, sorboz ve sorbitol içeren sıvı besiyerlerinin hiçbirisinde asit oluşturmazlar.

Grup 4: *E. sulfureus* ve *E. cecorum* bu grupta bulunmaktadır. Her iki tür mannitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arginini hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E. cecorum* asit oluştururken, *E. sulfureus* asit oluşturmaz.

Grup 5: *E. casseliflavus*, *E. gallinorum* ve *E. faecalis*'in arginini hidrolize etmeyen varyantları ile *E. columbae* bu grupta bulunur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize etmezler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişik reaksiyon verirler.

Tablo 2. Enterokok türleri (1,3)

E. faecalis
E. faecium
E. casseliflavus
E. gallinorum
E. flavescens*
E. avium
E. raffinosus
E. mundtii
E. durans
E. hirae
E. dispar
E. malodoratus
E. pseudoavium
E. sulfureus
E. cecorum**
E. columbae**
E. saccharolyticus

* Bazı çalışmalar bu türün E. casseliflavus ile aynı tür olduğunu düşündürmektedir.

** Bu türler diğer enterokok türlerine genetik olarak daha az benzemektedirler.

EPİDEMİYOLOJİ

Enterokoklar, gastrointestinal sistem florasında bulunmaları nedeni ile gerek hastane gerekse hastane dışı ortamda endojen kaynaklı infeksiyonlara yol açmaktadırlar. *E. faecalis* diğer enterokok türlerine göre dışkıda daha sık ve daha yüksek oranda bulunur (sıklıkla 1 gr dışkıda 10^5 - 10^7 koloni oluşturan birim (cfu/gd)) (1).

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalar, enterokokların hastadan hastaya ve hatta hastaneler arası yayılabilmesinde bu bakterilerin normal barsak florasında bulunmasının temel risk faktörü olduğunu göstermiştir (12). Nozokomiyal infeksiyonlara neden olan enterokok türleri sağlık personelinin ellerinden ve hastane ile bakım evlerindeki çevresel kaynaklardan izole edilmiştir (13,14).

Enterokoklar çevre koşullarına dayanıklı olduklarından, hastane ortamında bulunan stetoskop, kapı tokmağı, yatak, komidin gibi cansız maddeler üzerinde uzun süre yaşayabilmektedir. Dirençli enterokokların yayılımına elektronik termometreler yardım edebilir (15). Bu nedenle enterokoklar gerek cansız maddeler aracılığı ile, gerekse sağlık personeli ile hastadan hastaya taşınarak hastane infeksiyonu salgınlarına yol açabilmektedir (16,17).

Son 20 yıl içinde enterokoklara bağlı hastane infeksiyonlarında önemli derecede artış görülmüştür (16,18). 1984 yılı CDC (Hastalık Kontrol Merkezi) verilerine göre, enterokokların hastane infeksiyonlarında % 10.4 oran ile üçüncü sıklıkta sorumlu olduğu görülmektedir (16).

NNIS (Ulusal Nozokomial İnfeksiyonlar Sürveyans Sistem)'in 1986-1989 yılları arasındaki verilerine göre, enterokoklar hastane infeksiyonlarında % 12'lik bir oran ile ikinci sıraya yükselmişlerdir. Aynı bildirim göre enterokoklar, erişkin hastaların idrar yolu ve yara infeksiyonlarında ikinci, bakteriyemilerinde de üçüncü sıklıkta izole edilen bakterilerdir (19).

Enterokoklarla oluşan hastane kaynaklı infeksiyonlarda risk faktörleri şu şekildedir (20):

- Gastrointestinal kolonizasyon,
- Altta yatan bir hastalığın bulunması,
- Uzun süre hastanede kalma,
- Cerrahi girişimler,
- Renal yetmezlik,
- Nötropeni,
- Transplantasyon (özellikle karaciğer, kemik iliği),
- Üriner ve vasküler kateterizasyon,
- Yoğun bakım ünitelerinde bulunma,
- Başta vankomisin, sefalosporin ve aminoglikozid olmak üzere antibiyotik kullanımı.

PATOJENİTE VE VİRÜLANS

Enterokoklar, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes* kadar virulan değildir. Ancak düşük virulanslı olmalarına karşın toplum kaynaklı ve özellikle hastane kaynaklı infeksiyonlarda önemli etkenlerdir (20). Pek çok antibiyotiğe karşı intrensek olarak dirençli olmaları, diğer antibiyotiklere de kolaylıkla direnç geliştirebilmeleri ve çevreye adaptasyonlarının iyi olması nedeni ile diğer patojenlerden daha avantajlı hale gelmektedir (22).

Enterokokların bilinen virulans faktörleri :

Lipoteikoik asit: Enterokokların D grubu antijenini oluşturur. Tümör nekroz faktör ve interferon salınmasına neden olarak, immün cevabın düzenlenmesini sağlar (3).

Feromonlar: *E. faecalis*'de bulunur. Suşlar arasında plazmid DNA'sının konjugatif transferini kolaylaştıran ve organizma tarafından

salınan küçük peptidlerdir. Nötrofiller için kimyasal olarak çekici olduklarından infeksiyonlarda inflamatuvar cevabı artırırlar (3).

AS-48: *E. faecalis* suşlarında bulunan bir bakteriyosindir. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin pek çoğuna karşı litik aktivite gösterir (3).

Agregasyon maddesi: *E. faecalis* ve *E. faecium*'da bulunur. Alıcı ve verici hücreler arasında feromon cevabını kolaylaştırır. Arg-Gly-Asp motifleri üzerinden etki ederek renal tübüler hücrelere bağlanmayı güçlendirir (21).

Sitolizin: *E. faecalis* ve *E. faecium*'un bazı suşları tarafından üretilir. Eritrositler için hemolizin aktivitesi gösterir. Bazı ökaryotik hücreler için toksiktir (21).

Bazı *E. faecalis* suşlarında jelatinöz ve hyaluronidaz gibi hücre dışı enzimler de üretilmektedir (3).

ENTEROKOK İNFEKSİYONLARI

Tüm enterokok infeksiyonlarının % 80-90'ından *E. faecalis*, %5-15'inden ise *E. faecium* sorumludur. *E. avium* ve *E. raffinosus* gibi diğer enterokok türleri klinik örneklerden nadiren izole edilir (Tablo-2) (8). Klinik olarak infeksiyon yaptığı henüz rapor edilmeyen enterokok türleri de mevcuttur (1,3).

Enterokoklar sıklıkla kolon, vajina ve üretral meatusta bulunur (8). Normal bağırsak florasının önemli bir kısmını oluşturur. Zor koşullarda yaşayabilme yeteneklerinden dolayı çevrede bol miktarda bulunurlar (9).

Enterokoklar üriner sistem ve yara infeksiyonlarının yanı sıra endokardit, salpenjit, endometrit, peritonit, safra yolu infeksiyonları, karın içi apseleri, bakteriyemi bazen menenjit gibi ciddi infeksiyonlara neden olabilirler (9).

Üriner Sistem İnfeksiyonları

Enterokoklar klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık idrar kültürlerinden izole edilmektedir. Üriner sistem infeksiyonları(ÜSİ) en sık görülen enterokok infeksiyonudur (21). ABD ve Avrupa verilerine göre ÜSİ'nin en sık ikinci sebebi enterokoklardır (3,23).

Enterokokların neden olduğu ÜSİ'nin çoğu nozokomiyal orijinlidir. Üriner kateterizasyon ve/veya enstrumantasyon önemli bir risk faktörüdür. Özellikle yapı anomalisi veya tekrarlayan üriner sistem infeksiyonu olanlarda meydana gelir (1,24).

Enterokoklar hastanede yatmayan, genç sağlıklı kadınlarda sistit gibi komplike olmamış üriner infeksiyonların % 5'inden azını oluşturur (25). Enterokokların komplike olmamış sistit ve/veya piyelonefritin yanısıra prostatit ve perinefritik apselerin de sebebi olduğu gösterilmiştir (26).

Bazı enterokok suşları özel bir agregasyon maddesi üretir. Bu madde renal tübüler hücrelere yapışmayı sağlayarak üriner sistem infeksiyonlarının oluşmasını kolaylaştırır. Bu madde fibronektine benzer bir madde olup, ökaryotik hücrelere integrin reseptörleri aracılığı ile bağlanmaktadır (21).

Enterokokların genelde zincir halinde bulunması ve her zincirin besiyerinde tek bir koloni meydana getirmesinden dolayı, bu bakterilerin neden olduğu üriner sistem infeksiyonlarının tanısında az sayıda enterokok kolonisinin saptanacağı göz önünde bulundurulmalıdır (27).

Endokardit

Enterokoklar bakteriyel endokarditlerin % 5-15'ini oluşturur (1,2). Olguların çoğunda altta yatan bir kalp kapak hastalığı veya prostatik kapak bulunmakla beraber, enterokoklar normal kapaklarda da infeksiyon etkeni olabilirler. IV ilaç bağımlılarının % 5-10'unda, bir çalışmaya göre de % 53'ünde etkendirler. Enterokokkal endokardit erkeklerde ve 50 yaş üzeri

populasyonda sıktır, süt çocuklarında nadir, çocuklarda bazen endokardit etkeni olabilirler. Olguların çoğunda etken *E. faecalis*'tir. Ancak *E. faecium*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinorum* ve *E. raffinosus* da endokarditli hastalardan izole edilmiştir (1,2,20).

Enterokoklar daha çok subakut bakteriyel endokardite neden olurlar. En sık aort ve mitral kapak tutulur. Sıklıkla gastrointestinal veya genitoüriner sisteme cerrahi girişim uygulanmasından kaynaklanır (20).

Endokardit Olmaksızın Bakteriyemi:

Enterokok bakteriyemisi endokarditinden daha sık görülür ve sıklığı giderek artmaktadır (1,2). Toplum kaynaklı enterokokkal bakteriyemilerin 1/3'ü endokardit kökenlidir. Hastanede gelişenlerde bu oran % 1'den azdır (1,28). Nozokomiyal enterokok bakteriyemileri sıklıkla polimikrobiyaldir ve bu koşullarda endokarditten daha az görülür (20). Enterokok bakteriyemisi çoğunlukla üriner sistem infeksiyonları veya batın içi sepsisten kaynaklanır. Bakterinin diğer giriş yolları pelvik sepsis, yaralar, intravenöz veya inraarteriyel kateterizasyon ve kolanjittir (21).

Solunum yolları ise enterokokkal bakteriyemide çok nadir bir giriş yeridir (28).

Yara ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları

Enterokoklar genellikle cerrahi yara infeksiyonları, dekübit ülserleri ve diyabetik ayak infeksiyonlarına neden olurlar. Nadiren sellülit ve diğer derin yumuşak doku infeksiyonlarına da yol açabilirler (20). Enterokoklar bu infeksiyonlarda sıklıkla anaerob ve Gram negatif basillerle birlikte izole edilirler (20,28). Bu olgularda enterokokların klinik önemini değerlendirmek zordur. Ancak cilt ve yumuşak doku infeksiyonlarından kaynaklanan bakteriyemi insidansının yüksek olması, izole edilen enterokokların patojen olduğunu destekleyen en önemli bulgudur (29).

İntraabdominal ve Pelvik İnfeksiyonlar

Enterokoklar batın içi ve pelvik infeksiyonlarda sıklıkla aerob ve anaerob floranın bir üyesi olarak bulunur. Ancak izole edilen enterokokların patojenik rolü olup olmadığı tartışmalıdır. Bu infeksiyonların enterokoklara etkinliği olmayan antibiyotiklerle tedavi edilebilmesi, enterokokların patojenik rolü olmadığını destekler niteliktedir (20,21,29). Genel görüş, intraabdominal ve pelvik infeksiyonlarda tek başına izole edilmediği sürece, enterokoklara yönelik tedavi verilmemesi yönündedir (29).

Bununla birlikte enterokokların nefrotik sendromlu, sirozlu veya sürekli periton dializi uygulanan hastalarda, peritonit, akut salpenjit, endometrit ve sezeryan sonrası apseye yol açtıkları bilinmektedir (2,20).

Neonatal İnfeksiyonlar

Bakteriyolojik olarak doğrulanmış neonatal sepsis, menenjit olgularının % 13'ünde enterokokların etken olduğu bildirilmiştir (29). Bu infeksiyonların gelişiminde düşük doğum ağırlığı, prematürite ve bu dönemde yapılan invaziv girişimler önemli risk faktörleridir (29, 30). Menenjit çoğunlukla santral sinir sisteminde anatomik bozukluğu ya da nörolojik girişim öyküsü olanlarda gelişir. Ventriküloperitoneal şantlar da enterokokal menenjite predispozisyon yaratır (29).

Diğer İnfeksiyonlar

Enterokoklar, diyabetik ve nondiyabetik hastalarda nadiren kronik osteomyelit etkenidir (28, 29). Bu hasta grubunda infeksiyon genellikle polimikrobiyaldir ve enterokoklarla birlikte *S. aureus* izole edilebilir. Neonatal dönem dışında enterokokal menenjit nadirdir. Genellikle santral sinir sisteminde anatomik bir defekt, geçirilmiş beyin ameliyatı veya kafa travması gibi predispozan faktörlerin varlığında görülür(20,29,30).

Pnömoni, endojen endoftalmi ve otitis media nadir görülen diğer enterokok infeksiyonlarıdır (29).

ENTEROKOKLARDA ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ

Enterokoklar bir çok antibakteriyel ilaca intrensek (kromozomal) olarak dirençlidirler. Bu dirence ek olarak, çok sayıda antibakteriyel ilaca da direnç geliştirme yetenekleri vardır. İntrensek ve ekstrensek (edinsel) antibakteriyel direnç, birçok direnç geninin bir suşta toplanmasına ve böyle suşlar ile gelişen infeksiyonlar için etkili bir tedavi bulunmamasına yol açabilmektedir (31).

Enterokokların çeşitli antibakteriyellere direnç mekanizmaları iki grupta incelenebilir (Tablo3) (32)

1. İntrensek Direnç
2. Ekstrensek (edinsel) Direnç

İNTRENSEK DİRENÇ

İntrensek direnç terimi enterokok türlerinin tümünde bulunan kromozomal direnci ifade eder. Enterokok türleri penisilinlere, linkozamidlere, sefalosporinlere ve aminoglikozidlere (düşük düzeyde) karşı kalıtsal olarak dirençlidirler (29,32).

Beta-Laktam Antibiyotiklere İntrensek Direnç

Bu tip direnç enterokokların penisilin bağlayan proteinlerinin, özellikle PBP 5 olmak üzere, beta-laktam antibiyotiklere kalıtsal olarak düşük affiniteli olmalarından kaynaklanır. Bu direnç hiç bir antibakteriyel ilaçla karşılaşmamış enterokok suşlarında bile tesbit edilmiştir. E. faecium suşları, E. faecalis suşlarına oranla penisiline daha dirençlidir. Yarı sentetik ve penisilinaza dirençli beta-laktam grubu antibakteriyel ilaçlara da direnç oldukça yüksek bulunmuştur.

Enterokoklar beta-laktam antibiyotiklere karşı karakteristik olarak tolerandırlar. Yani tedavi dozunda MBK/MİK (minimal bakterisid konsantrasyon/ minimal inhibitör konsantrasyon) oranı 32'nin üzerindedir.

Dolayısıyla beta-laktam antibiyotikler enterokoklara karşı bakterisidal değil, bakteriyostatik etkilidir (32).

Aminoglikozid Antibiyotiklere İntrensek Direnç

Tüm enterokok türleri aminoglikozidlere düşük düzeyde dirence sahiptirler. Bu tip dirençte 2 mekanizma söz konusudur. Birinci mekanizma tüm enterokok türlerinde bulunur ve bakteri duvarının bu grupta bulunan antibakteriyel ilaçlara karşı geçirgenliğinin az olmasından kaynaklanır. İkinci mekanizma sadece E. faecium'da bulunur. E. faecium aac6'-li geni tarafından kodlanan 6' asetiltransferaz (AAC-6') enzimine sahiptir. Bu enzim kanamisin, amikasin, netilmisin, sisomisin, isepamisin ve tobramisinini modifiye eder. Ancak gentamisine etkisi yoktur (32).

Aminoglikozid grubu antibakteriyel ilaçlar, beta-laktam antibiyotik ya da vankomisin gibi hücre duvarı sentezini engelleyen antibiyotikler ile kombine edilecek olursa, zedelenen hücre duvarından bu gruptaki antibakteriyeller daha kolay geçeceğinden MİK değerleri önemli ölçüde düşecektir. Enterokoklara karşı, beta-laktam veya glikopeptid grubu antibakteriyel ilaçlar ile aminoglikozid grubu antibakteriyel ilaçların kombinasyonunun sinerjistik mekanizması bu şekilde açıklanmaktadır (33).

Diğer Antibiyotikler : Enterokokların eksojen folat kullanma yetenekleri bulunmaktadır. Bu nedenle trimetoprim-sulfametoksazole de intrensek olarak dirençlidirler. Bu antibiyotik in vitro olarak etkin görünmesine rağmen in vivo etkin değildir. Bu nedenle antibiyotik duyarlılık deneylerinde trimetoprim-sulfametoksazol kullanılmamalıdır (20, 30,32). Ayrıca enterokoklar linkozamid grubu antibiyotiklere de düşük düzeyde intrensek olarak dirençlidir(1,2,32).

Tablo 3. Enterokoklarda Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları(32)

Antibiyotik	Direnç mekanizması	Tür	Direnç geni
β-laktam	İntrensek		
	PBP'e düşük affinite	Tüm türler	Kromozomal
Aminoglikozid	Edinsel		
	β-laktamaz	E. faecalis	Plazmid/transpozon
	PBP'e düşük affinite	E. faecium	Kromozomal
	İntrensek		
Glikopeptid	Düşük alım	Tüm türler	Kromozomal
	Enzim(aac6'-li geni)	E. faecium	Kromozomal
	Edinsel	Tüm türler	
	Ribozomal mutasyon		Kromozomal
	Alternatif transport		Kromozomal
	Enzim		Plazmid/transpozon
Trimetoprim- Sulfametoksazol Florokinolonlar	İntrensek		
	Van C geni	E. casseliflavus E. flavescens E. gallinorum	Kromozomal
	Edinsel		
	Van A geni	E. faecium E. faecalis E. avium E. durans E. mundii	Plazmid/transpozon
	Van B geni	E. faecalis E. faecium	Kromozomal/transpozon
	Van D geni	E. faecium	?
	Van E geni	E. faecalis	?
	İntrensek		
	Eksojen folat alımı	E. faecium	Kromozomal
	Edinsel		
Streptogramin A Linkozamid	Giraz mutasyonu	Tüm türler	Kromozomal
	İntrensek	E. faecalis	Kromozomal
Makrolid-linkozamid- Streptogramin B	İntrensek	E. faecalis	Kromozomal
	Edinsel		
Tetrasiklin	23 rRNA metilasyonu	Tüm türler	Transpozon/plazmid
	Edinsel	Tüm türler	Transpozon/plazmid
Kloramfenikol	Kompleks		
	Edinsel	Tüm türler	Plazmid
Rifampin	Asetiltransferaz		
	Edinsel	Tüm türler	Kromozomal
	rpoB geninde mutasyon		

PBP: Penisilin bağlayan protein

KAZANILMIŞ DİRENÇ

Beta-laktam Antibiyotiklere Karşı Kazanılmış Direnç

Enterokokların iki ayrı direnç mekanizması ile beta-laktam antibiyotiklere direnç kazandığı saptanmıştır. Bunlardan biri *E. faecium* suşlarında görülen, kromozomal olan ve penisilin afinitesinin azalması sonucu PBP 5'in miktarının artması ile ortaya çıkan dirençtir. (31).

İkinci direnç mekanizması ise beta-laktamaz üretimidir. Beta-laktamaz oluşturan suş ilk olarak 1981 yılında ABD'de tanımlanmıştır (31,32). Bu 1983 yılında Murray ve arkadaşları tarafından bir makalede yayımlanmıştır (34).

Enterokoklardaki beta-laktamazların çoğu, yüksek düzeyde gentamisin direnç genini de taşıyan bir plazmid üzerinde kodlanmıştır. Enterokoklardaki betalaktamazlar penisilin, ampisilin, piperasilin ve diğer üreidopenisilinleri hidrolize eder; penisilinaza dirençli penisilinleri, sefalosporinleri, imipenemi etkilemez. Beta-laktamaz oluşturan suşlar rutin duyarlılık deneyleri ile güvenli olarak saptanamaz. Bu amaçla nitrosefin deneyleri önerilir. Beta-laktamaz üreten enterokokların saptanamadığı bölgelerde, rutin beta-laktamaz deneylerinin yapılması tartışmalı bir konudur (31).

Aminoglikozid Antibiyotiklere Kazanılmış Yüksek Düzeyde Direnç

Enterokoklarda kazanılmış yüksek düzeyde aminoglikozid direnci (YDAD) yaygındır. YDAD 3 temel mekanizma ile meydana gelir (32).

1. Ribozomal bağlanma bölgesinde değişiklik
2. Aminoglikozid transportunun değişmesi
3. Aminoglikozid modifiye edici enzim üretimi

Bir ribozomal proteinde oluşan tek bir aminoasit değişikliği, o ribozomun antibiyotiğe karşı düşük afinite göstermesine neden olur.

Enterokoklarda bildirilen ve ribozomal bağlanma bölgesinde değişiklikle olan bu direnç, klinik olarak oldukça nadirdir ve diğer aminoglikozidlere karşı çapraz direnç oluşturmamaktadır (36).

Aminoglikozid transportunun değişmesi ile oluşan direnç de nadir görülmekte ve kromozomal genlerle kontrol edilmektedir (32).

Enterokoklarda YDAD'nde en sık görülen mekanizma aminoglikozid modifiye edici enzim üretimidir. Bu enzimleri kodlayan genler plazmid ve transpozon kaynaklıdır (32,35,36).

Aminoglikozid modifiye edici enzimler, sitoplazmaya geçen ilaçları inaktive edecek miktarlarda sitoplazmada bulunurlar. Üç tip aminoglikozid modifiye edici enzim bulunmaktadır; bunlar asetiltransferaz (AAC), adeniltransferaz (ANT), fosfotransferaz (APH)'dir (36).

Asetiltransferazlar, aminoglikozid yapısındaki bir aminogrubunun asetil CoA'ya bağımlı olarak asetilasyonuna yol açar.

Fosfotransferazlar, aminoglikozid yapısındaki bir hidroksil grubunun ATP'ye bağımlı fosforilasyonuna yol açar.

Adeniltransferazlar ise aminoglikozid yapısındaki bir hidroksil grubunun ATP'ye bağımlı adenilasyonuna yol açar. Bunlara nükleotidiltransferaz da denir (ANT veya AAD) (37).

Bu enzimlerin bir çoğu plazmid kontrolünde sentezlenmektedir ve sentezden sorumlu genler çoğu kez transpozonlarla taşınabilmektedir. Bu transpozonlar aynı zamanda farklı grup antibiyotiklere de direnç oluşturabilirler. Plazmidler konjugasyon, transdüksiyon ve transformasyon ile diğer duyarlı bakterilere geçebilmektedirler. Ayrıca bir plazmidde birden çok enzim sentezlenmektedir. Bu sentez nadiren kromozom kontrolünde olabilir. Aminoglikozidlere karşı gelişen direncin büyük oranda bu ilaçların kullanımı sonucu, aminoglikozid modifiye edici enzim üreten izolatların seleksiyonuna bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Bu nedenle, bu

antibiyotiklere karşı gözlenen direnç klinikler, hastaneler ve hatta ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir (36).

Aminoglikozid modifiye edici enzimleri kodlayan başlıca genler Tablo-4'te verilmiştir. Bunlardan en önemlisi, bifonksiyonel enzim olan AAC(6')-Ie-APH(2'')-Ia'yı kodlayan aac(6')-Ie – aph(2'')-Ia genidir. Bu direnç geni gentamisin, tobramisin, amikasin, kanamisin ve netilmisinde bulunur, ancak streptomisinde yoktur (32).

Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci varlığında kombine tedavide sinerjizmden söz edilemez (32,35,36). YDAD saptamak için disk difüzyon, agar dilüsyon, ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır (35).

Tablo-4. Enterokoklarda aminoglikozid antibiyotiklere karşı direnç genleri ve duyarlılık (35)

Dirençgeni	Gentemisin	Tobramisin	Amikasin	Kanamisin	Netilmisin	Dibekasin	Streptomisin	Arbekasin
aac(6')-Ie-								
aph(2'')-Ia	R	R	R	R	R	R	S	S ¹
aph(2'')-Ib	R	R	S	R	R	R	S	S
aph(2'')-Ic	R	R	S	R	S	S	S	S
aph(2'')-Id	R	R	S	R	R	R	S	S
aph(3')-IIIa	S	S	R	R	S	S	S	S
aac(6')-Ii	S	R	S	R	R	NT	S	NT
ant(3'')-Ia	S	S	S	S	S	S	R	S
ant(4')-Ia	S	R	R	R	S	NT	S	S
ant(6')-Ia	S	S	S	S	S	S	R	S

R: Dirençli, S: Duyarlı, NT: Test edilmemiş, 1: İzolatların %40'ı duyarlı

Glikopeptid Antibiyotiklere Karşı Direnç

Glikopeptid antibiyotikler, hücre duvarı sentezinde peptidoglikan polimerlerini oluşturacak öncül maddelerden olan D-ala-D-ala terminal ucuna bağlanır ve hücre duvarı sentezini bozar. Vankomisin dirençli enterokoklar ise ligaz enzimi ile D-ala-D-ala ucunun yapısını değiştirir ve D-ala-D-ala-laktat veya D-ala-D-ala-serin meydana getirir. Böylece bu uca

vankomisinin bağlanma yeteneği çok azalır ve hücre duvarı sentezi devam eder. VanA, VanB ve VanD tipi direnç; D-ala-Dala-laktat, VanC ve VanE tipi direnç ise D-ala-D-ala-serin üretimi ile ilişkilidir (Tablo-5) (32,36).

Enterokoklarda glikopeptid antibiyotiklere direnç, ilk kez 1988 yılında Uttley ve arkadaşları tarafından bildirilmiş ve daha sonra tüm dünyada görülmeye başlamıştır (38).

Ülkemizde ise ilk vankomisin dirençli enterokok suşu 1998 yılında bildirilmiştir (39,40).

Enterokok türleri içinde *E. casseliflavus*, *E. flavescens*, *E. gallinorum* kromozomal VanC geni ile vankomisine karşı intrinsek dirence sahiptir (32,36).

VanA tipi direnç: Vankomisin ve teikoplanine yüksek düzeyde direncin (Vankomisin için $\geq 64\mu\text{g/ml}$, teikoplanin için $\geq 16\mu\text{g/ml}$) olduğu direnç tipidir. VanA tipi direncin oluşması için gerekli genler Tn 1546 transpozonu üzerinde, ilgili elemanlar ise Tn 5482 transpozonu üzerinde yer alır. VanA geni ilk olarak *E. faecium*'da tespit edilmiştir. Ancak *E. faecalis*, *E. durans*, *E. gallinorum*, *E. avium*, *E. mundtii*, *E. casseliflavus*, *E. raffinosus* gibi diğer enterokok türleri ve *Archanobacterium haemolyticum*, *Oerscovia turbata*, *Basillus circulans* ve *Sterptococcus gallolyticus* gibi türlerde de saptanmıştır.

Tablo 5. Enterokoklarda glikopeptid antibiyotiklere direnç (36)

Özellik	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE
Vankomisin					
MIK($\mu\text{g/ml}$)	64 - ≥ 1000	4 - > 1000	2-32	64 -256	16
Teikoplanin					
MIK($\mu\text{g/ml}$)	16-512	0.5 - > 32	0.5 - 1	4 - 32	0.5
Genin kaynağı	Edinsel	Edinsel	İntrensek	Edinsel	Edinsel
Genin yeri	Tn1546 Tn5482	Tn1547 Tn5382	Kromozom	Kromozom	Kromozom
Peptidoglikan					
prekürsör terminusu	D-ala-D-ala-lac	D-ala-D-ala-lac	D-ala-D-ala-ser	D-ala-D-ala-lac	D-ala-D-ala-ser
Transfer edebilme	Evet	Evet	Hayır	Hayır	Hayır
İndüklenebilirlik:					
vankomisin	İndüklenebilir	İndüklenebilir	İndüklenebilir ve konstitif	Konstitif	İndüklenebilir
teikoplanin	İndüklenebilir	İndüklenebilir			
Mikroorganizma	E. faecium E. faecalis E. gallinorum E. casseliflavus E. durans E. raffinosus	E. faecium E. faecalis E. gallinorum E. casseliflavus	E. gallinorum E. casseliflavus	E. faecium	E. faecalis

Vankomisin direncinin oluşumunda rol alan diğer genler (VanR, VanS, VanH, VanX, VanY, ve VanZ) ve VanA geni Tn 1546 transpozonu üzerinde yer almaktadır. E. faecium'da ise bu gen plazmid üzerindedir. Bu genlerin açığa çıkması sonucunda D-ala-D-ala yerine D-ala-D-ala-lac ile sonlanan anormal peptidoglikan öncü maddesi sentez edilir. Normal peptidlerin yerine bu uca vankomisin düşük düzeyde bağlanabilir. VanR, VanS iki komponentli düzenleyici olarak rol oynar. VanH, VanA ve VanX'in transkripsiyonunu VanR ve VanS'nin oluşturduğu sistem düzenler.

VanS vankomisin varlığı veya etkisini algılar, VanH, VanA ve VanX prometerlerini aktive eden VanR'ye aktarır. Bir dehidrojenaz olan VanH, D-lac oluşumunu sağlar. Ligaz olan VanA bunu D-ala-D-ala-lac sentezinde substrat olarak kullanır. VanZ'nin fonksiyonu tam olarak bilinmemekte, ancak teikoplanin direncinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (36,41,43).

VanA tipi direnç en sık karşılaşılan dirençtir. Vankomisin tarafından yüksek, teikoplanin tarafından ise zayıf indüklenebilir özellikte, yüksek düzeyde bir dirençtir. İndüklenebilir VanA direncinde, yalnızca vankomisin varlığında oluşan PBP'lerin artışı sonucunda beta-laktam antibiyotiklere karşı bir duyarlılık meydana gelir. Bu da vankomisin dirençli enterokokların tedavisinde vankomisin beta-laktam kombinasyonunun başarısını açıklamaktadır (36).

VanB tipi direnç: Enterokoklarda VanB tipi glikopeptid direnci VanA ligaza yapısal olarak benzerlik gösteren VanB ligazı ile oluşur. Kromozomal yerleşimlidir, ancak transpozon (Tn 1547, Tn 5382) veya plazmid üzerinde de olabilir ve transfer edilebilir. Bu tip direnç vankomisin dirençli, teikoplanin duyarlıdır. Vankomisin tarafından indüklenebilen bir dirençtir. Teikoplanin ise indükleyemez. Ancak vankomisinle indüklenen kökenler teikoplanine de direnç gösterirler (36, 42,43).

VanC tipi direnç: Bu grupta vankomisine düşük düzeyde direnç sözkonusudur. Bu tip direncin *E. gallinorum* ve *E. casseliflavus* suşlarında varlığı bildirilmiştir. VanC tipi dirence sahip olan suşlar teikoplanine duyarlıdır. Yapısal olarak indüklenemez ve transfer edilemezler (36,43).

VanD tipi direnç: Sadece *E. faecium*'da bildirilmiştir. VanD geni izolatları yapısal olarak vankomisin ve teikoplanine dirençlidir. VanD geni kromozomaldır ve konjugasyon ile transfer edilemez (36,43).

VanE tipi direnç: *E. faecalis* izolatlarında tanımlanmıştır. Düşük düzeyde vankomisin direnci vardır. Teikoplanine duyarlıdır. Bu yeni direnç fenotipi intrensek VanC tipi direnç ile benzerlik gösterir (36,43).

Enterokoklarda glikopeptid direncinin en korkulan yanı laboratuvar veya klinik koşullarda bu dirençten sorumlu genlerin diğer Gram pozitif bakterilere aktarılabilme olasılığıdır (20,28,43).

Vankomisin Bağımlı Enterokoklar (VBE)

Vankomisin tedavisi altındaki hastalardan alınan primer kültürlerde çoğunlukla VanB tipi dirence sahip enterokokların ürediği bildirilmiştir. Bu izolatların subkültürleri yapıldığında bu tür enterokoklar üreyememekte, ancak vankomisin diski çevresinde veya vankomisin içeren besiyerinde üreyebildikleri belirtilmektedir. VBE'lerden *E. faecalis*, *E. faecium* kan, idrar ve dışkıdan izole edilmiştir. İzole edilen hastalarda vankomisin veya geniş spektrumlu bir antibiyotik tedavisi ve daha önceden izole edilmiş bir VRE öyküsü vardır. VBE'ların pulsedfield gel elektroforezi ile VRE'ye benzer DNA paternine sahip olduğu gösterilmiştir. VanA ve VanB tarafından sentezlenen D-ala-D-ala-lac, vankomisin indüksiyonu sonucunda üretilmektedir. Başka bir deyişle, vankomisin eksikliğinde hücre duvarı sentezi için gerekli maddeleri üretememektedir (36,44).

Nozokomiyal VRE Geçişinin Kontrolü ve Önlenmesi

VRE'ların infeksiyon ve kolonizasyonunu tanımlamak, önlemek ve korunmak için infeksiyon kontrol komitesi, antibiyotik kullanımı kontrol komitesi, dezenfeksiyon ve sterilizasyon komitesi, hastane eczanesi, mikrobiyoloji laboratuvarı, klinik bölümler, mutfak, çamaşırhane gibi bir çok noktada kimi zaman ortak, kimi zaman bölüme özel uygulamaları içerecek programlar oluşturulmalıdır. Bu programda, VRE saptansın veya

saptanmasının kontrollü vankomisin kullanımı en önemli koşul olmalıdır (36).

Buna göre:

Vankomisin kullanılması önerilen durumlar (45):

- Beta-laktamlara dirençli bakterilerin neden olduğu infeksiyonlar,
- Gram pozitif bakteri infeksiyonu olan ve penisilin allerjisi bulunan kişiler,
- Hayatı tehdit eden, metranidazol tedavisine cevap vermeyen antibiyotikle ilişkili enterokolitler,
- Yüksek endokardit riski taşıyan hastaların profilaksisi,
- Metisilin dirençli S. aureus (MRSA) oranı yüksek olan hastanelerde uygulanan büyük cerrahi girişimlerde profilaktik uygulamalardır (profilaksi maksimum iki doz uygulanmalıdır).

Vankomisin kullanılmamasının önerilmediği durumlar (45)

- Rutin cerrahi profilaksi,
- MRSA oranı yüksek olmayan hastanelerde, febril nütropenik hastalardaki empirik tedavi,
- Aynı anda alınmış çift kan kültürünün birinde koagülaz-negatif stafilokok üremesi,
- Beta-laktamlara duyarlı Gram pozitif bakterilerin neden olduğu infeksiyonlar,
- Kateter infeksiyonlarına karşı profilaksi,
- Gastrointestinal sistemin selektif dekontaminasyonu,
- MRSA kolonizasyonunun eradikasyonu,
- Antibiyotik kullanımına bağlı kolitlerin başlangıç tedavisi,
- Düşük doğum ağırlıklı yenidoğanların rutin profilaksisi,
- Sürekli ayaktan periton diyalizi kullanan hastaların rutin profilaksisidir.

ENTEROKOK İNFEKSİYONLARINDA TEDAVİ

Enterokok infeksiyonlarının tedavisi bu mikroorganizmaların duyarlılık ve direnç özelliklerinin farklılığı ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarında gerçek duyarlılıklarını göstermek için özel testlere ihtiyaç duyulması nedeni ile karmaşıktır (20).

Enterokokların neden olduğu üriner sistem, peritonit, yumuşak doku infeksiyonu gibi infeksiyonlarda ve immüdüşkün olmayan konak infeksiyonlarında bakterisid etki gerektirmeyen tek antibiyotik ile tedavi yeterlidir. Bu infeksiyonlarda penisilin, ampisilin veya amoksisilin'den herhangi biri kullanılabilir. Önerilen tedavi süresi 7-14 gündür. Üreidopenisilinler ise karışık infeksiyonların tedavisinde daha geniş bir spektrum elde etmek için kullanılabilir. Penisiline allerjik hastalarda veya yüksek düzeyde penisilin direnci içeren türlerde (E. faecium) glikopeptid antibiyotikler kullanılabilir (20,28,32). Nitrofurantoin enterokok suşlarının çoğunda etkili olduğundan (%90-96) üriner sistem infeksiyonlarında kullanılabilir (Tablo 6)(20,32).

Tablo 6. Edinsel direnç olmayan enterokok infeksiyonlarında tedavi (32)

İnfeksiyon tipi	Primer tedavi	Alternatif tedavi
Üriner sistem infeksiyonu	Ampisilin veya amoksisilin ± AG	Vankomisin veya teikoplanin ± AG; nitrofurantoin; florokinolon ± rifampin(prostatit varsa)
Yara infeksiyonu veya İntraabdominal sepsis	Ampisilin veya amoksisilin ± AG	Vankomisin veya teikoplanin ± AG; Üreidopenisilin±AG; İmipenem±AG
Endokardit	Penisilin G veya ampisilin veya amoksisilin + gentamisin veya streptomisin	Vankomisin veya teikoplanin + gentamisin veya streptomisin

AG: aminoglikozid

Florokinolonlar da nitrofurantoin gibi üriner sistem infeksiyonlarında tek başına kullanılabilir. Ancak riner sistem infeksiyonu dışında başka infeksiyon varsa kullanılmamalıdır (20,32). Siprofloksasin, ofloksasin gibi kinolonlar enterokoklara karşı in vitro etkilidirler. Sparfloksasin, levofloksasin, moksifloksasin, grepafloksasin ve travofloksasinin enterokoklar üzerine in vitro etkisi , ofloksasin ve siprofloksasine göre daha iyidir. Ancak kinolonların çoğul dirençli enterokok infeksiyonlarının tedavisinde etkinliği sınırlıdır (20).

Rifampin kullanımında dirençli suşlar gelişeceğinden, tek başına kullanmaktan kaçınılmalıdır(32).

Artan direnç oranları ve bildirilen klinik başarısızlıklar nedeni ile makrolidler, tetrasiklin ve kloramfenikol grubu antibakteriyeller enterokokal infeksiyonların tedavisi için uygun seçenek değildirler (20,36).

Enterokoklarla gelişen endokardit ve menenjit gibi diğer ciddi sistemik infeksiyonların tedavisi sorun yaratmaktadır. Enterokokkal endokarditli hastaların çoğunda tek başına penisilin tedavisi başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Bu tür infeksiyonların tedavisi için bakterisidal bir kombinasyon oluşturulması gerekmektedir (Tablo-7) (20,28,32).

Endokarditin eşlik etmediği enterokok bakteriyemilerinde kombinasyon tedavisinin gerekliliği konusunda fikir birliği yoktur. Böyle olguların çoğu geçicidir ve kendi kendini sınırlar. Ancak enterokok bakteriyemili ciddi hastalarda veya monoterapiye yanıt alınamayanlarda kombine tedavi uygulanabilir (20).

Beta-laktamaz üreten enterokok infeksiyonlarında, vankomisin veya teikoplanin ile ampisilin-sulbaktam veya amoksisilin-klavulanat gibi beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu kullanılabilir (20,32).

Tablo-7. Enterokokal endokardit tedavisi (20)

Antibiyotik	Doz	Veriliş yolu	Süre
Streptomisin veya gentamisine yüksek düzeyde dirençli olmayan organizmalar			
Penisilin G	20-30milyon U/gün	İV	4-6 hafta
veya			
Ampisilin	12-16g/gün	İV	4-6 hafta
+			
Streptomisin	20mg/kg/gün	İM	4-6 hafta
veya			
Gentamisin	3-5mg/kg/gün	İM veya İV	4-6 hafta
Sadece streptomisine yüksek düzeyde dirençli olan organizmalar			
Penisilin G	20-30 milyon U/gün	İV	4-6 hafta
veya			
Ampisilin	12-16g/gün	İV	4-6 hafta
+			
Gentamisin	3-5 mg/kg/gün	İM veya İV	4-6 hafta
Penisiline allerjisi olanlar			
Vankomisin	30mg/kg/gün	İV	4-6 hafta
+			
Streptomisin	20mg/kg/gün	İM	4-6 hafta
veya			
Gentamisin	3-5 gm/kg/gün	İM veya İV	4-6 hafta
Streptomisin ve gentamisine yüksek düzeyde dirençli organizmalar			
Ampisilin	12-16 g/gün	İV	8-12 hafta

Yüksek düzey penisilin direncine ($MIC \geq 16-32 \mu g/ml$) sahip *E. faecium* infeksiyonlarında vankomisin verilmelidir. Çoğu vankomisin dirençli enterokoklar (özellikle *E. faecalis*) penisilin veya ampisiline duyarlıdır ($MIC: 0.5 - 2 \mu g/ml$). Bu tür VRE infeksiyonlarının tedavisinde ampisilin veya penisilin kullanılabilir. Hem penisiline hem de vankomisine yüksek düzeyde dirençli enterokokların (genellikle *E. faecium*) neden olduğu infeksiyonların tedavisi oldukça büyük sorundur. Vankomisin ve penisilin veya ampisilin kombinasyonunun bu mikroorganizmaların bazılarında *in vitro* koşullarda bakteriyostatik etki ettiği bildirilmiştir.

Ampisilin ve vankomisin ve gentamisin kombinasyonunun hayvan modelleri üzerinde bakterisidal etki gösterdiği bilinmektedir. Ancak bu kombinasyonun klinik etkinliği henüz kanıtlanmamıştır. VanB tipi direnç taşıyan VRE suşları in vitro koşullarda teikoplanine duyarlı olsalar da, tek başına teikoplanin tedavisinin başarılı olmadığı bildirilmiştir. Teikoplanin tedavisi sırasında direnç gelişebileceği de bildirilmiştir. VanB tipi VRE'lerin etken olduğu endokarditlerin tedavisinde teikoplanin ve diğer bir aktif ajan (örn: aminoglikozid) kombinasyonu başarılı bulunmuştur.

Yeni geliştirilen antibiyotiklerden bazıları (dalfopristin- quinopristin, linezolid, everninomisin, LY333328 (yeni bir glikopeptid türevi)) çoğul dirençli enterokokların tedavisi için çok olmasa da umut vericidir. En fazla klinik veri dalfopristin – quinopristin (streptogramin B – streptogramin A) için vardır. Bu antibakteriyel, E. faecalis için etkili değil, E. faecium üzerine bakteriyostatik etkilidir. Dalfopristin – quinopristin 350'den fazla vankomisin dirençli E. faecium infeksiyonlarında kullanılmış, % 70 oranında başarılı bulunmuştur (20,32,36).

İndüklenebilir VanA direncinde yalnızca vankomisin varlığında oluşan PBP'lerin artışı sonucunda, beta-laktam antibiyotiklere karşı duyarlılık meydana gelir. Bu durumda vankomisin dirençli enterokokların tedavisinde beta-laktam ve vankomisin kombinasyonu başarılı olabilir. İmipenem, ampisilin ve teikoplanin'in üçlü kombinasyonunun E. faecium endokarditinde bakterisidal olup, sinerji sağladığı gösterilmiştir (32,36). Tüm bu çalışmalara rağmen çoğul dirençli enterokok infeksiyonlarının tedavisinde etkili ve güvenilir bir tedavi henüz bulunamamıştır.

Vankomisin dirençli enterokokların oluşturduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibakteriyel ilaçlar ve kombinasyonları Tablo 8'de gösterilmiştir (32).

Tablo 8. Vankomisin dirençli şiddetli enterokok infeksiyonlarında tedavi seçenekleri (32).

Ampisilin MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Tedavi seçeneği
4-32 $\mu\text{g/ml}$	
Gentamisin duyarlı	Ampisilin veya amoksisilin+gentamisin
Gentamisin dirençli	Ampisilin veya amoksisilin+streptomisin(duyarlı ise)
64 $\mu\text{g/ml}$	
VanE tipi direnç	Vankomisin veya teikoplanin + gentamisin*
VanB tipi direnç	Teikoplanin + gentamisin veya streptomisin
VanA tipi direnç	Vankomisin + beta-laktam+ gentamisin*
	İmipenem + ampisilin + teikoplanin*
	Quinopristin-dalfopristin (E. faecium ise)
	Kloramfenikol
	Yeni glikopeptidler* (LY333328)
	Yeni florokinolonlar*
	Glisiklinler*
	Oksazolidinler* (Linezolid)
	Everninomisin* (Zirasin)

* Bu kombinasyonlar veya terapötik ajanlar ile ilgili yeterli klinik çalışma yoktur.

Glisiklinler : Semisentetik tetrasiklin benzeri, bakteriyostatik antibiyotik

Yeni florokinolonlar: levofloksasin, moksifloksasin, gatifloksasin, grepafloksasin, clinoksasin, sparfloksasin ve trovafloksasin

YDAD Saptama Yöntemleri:

Rutin olarak test edilmesi gereken aminoglikozidler streptomisin ve gentamisindir. Gentamisine dirençli olan enterokoklar streptomisin dışındaki tüm aminoglikozidlere dirençli kabul edilirler. Streptomisin ise tek başına gentamisin direncinden ayrı olarak değerlendirilmelidir (36,46).

Agar Dilüsyon Yöntemi: Streptomisin (2000 µg/mL) veya gentamisin (500 µg/mL)'li Brain-Heart infüzyon agar (BHIA) plakları hazırlanır. Bu agar plaklarına 18-24 saatlik üreme sonrasında alınan kolonilerden hazırlanmış 0.5 Mc Farland standardındaki süspansiyondan 10'ar µL damlatılır. 35°C'de normal atmosferde 24 saat inkübasyon sonrası plaklar değerlendirilir. Üreme oluşması direnç göstergesi olarak kabul edilir. Üreme olmaması durumunda sadece streptomisin içeren plaklar bir 24 saatlik inkübasyona daha bırakılır. BHIA yerine Mueller Hinton agar (MHA), % 5 koyun kanlı MHA veya dekstroz fosfat agar da kullanılabilir (36,46).

E. faecalis'te yüksek düzeyde kanamisin ve amikasin direncinin değerlendirilmesi için kanamisin agar testi (kanamisin: 2000µg/mL) geliştirilmiş, ancak henüz standardize edilip onaylanmamıştır.(36)

Broth Mikrodilüsyon yöntemi: Mikrodilüsyon plaklarında her bir kuyucukta 500 µg gentamisin veya 1000µg streptomisin içeren BHIB (Brain-Heart İnfüzyon Broth) hazırlanır. Bakteri konsantrasyonu 5×10^5 cfu/mL olacak şekilde hazırlanıp inoküle edilir. Plaklar normal atmosferde, 24 saat inkübe edilir. Üreme olmaması durumunda, streptomisin içeren plaklar ayrıca bir 24 saatlik inkübasyona daha bırakılır. Broth mikrodilüsyon yönteminde, agar dilüsyon yönteminin yarısı kadar streptomisin kullanılması önerilirken, agar dilüsyon yönteminde 20 kat daha fazla bakteri kullanılır(36,46).

Disk Difüzyon Yöntemi: Enterokoklar için önerilen difüzyon yönteminde, 120 µg gentamisin ve 300µg streptomisin içeren diskler kullanılır. Zon çapları, 24 saatlik normal atmosferdeki inkübasyondan sonra değerlendirilir. Zon çapı ≥ 10 mm olan izolatlar duyarlı olarak kabul edilir. Zon çapı saptanmaması YDAD olarak yorumlanır. Zon çapı 7-9 mm olan izolatlar genellikle yüksek düzeyde dirençlidir, ancak yine de standart agar dilüsyon veya Broth mikrodilüsyon yöntemlerinin biriyle tekrar test edilmelidir (46,47).

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmaya, Haziran 2001 – Mayıs 2002 tarihleri arasında, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen 49 enterokok suşu alındı. Bakteriler türlerine göre ayrılarak, agar dilüsyon tarama yöntemi ile yüksek düzey aminoglikozid direnci araştırıldı. Ayrıca yüksek düzey gentamisin direncini tesbit etmede rutin olarak kullanılan, yüksek içerikli gentamisin ile disk difüzyon testi uygulandı.

Bakterilerin İdentifikasyonu

Laboratuvara gelen örneklere sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı.

1. Gelen örneklerin tümü önce % 5 koyun kanlı agara ekildi. Koloni morfolojisi değerlendirildi. Küçük, gri, parlak, buğulu görünüme sahip olan koloniler değerlendirmeye alındı.

2. % 5 koyun kanlı agarda üreyen şüpheli kolonilere Gram boyama yapıldı. Yapılan boyamada ikişerli oval diplokoklar ya da kısa zincirli Gram pozitif koklar değerlendirmeye alındı.

3. Katalaz testi: Enterokoklar, sitokrom enzimleri olmadığı için katalaz testinde negatif reaksiyon verirler. Bu amaçla lam üzerine bir miktar bakteri koyularak üzerine 1-2 damla % 3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatıldı. Hava kabarcıkları oluşturmayan suşlar, negatif olarak değerlendirildi ve çalışmaya alındı.

4. Tuz tolerans testi: Enterokok suşları % 6.5'lük NaCl içeren ortamda ürerler. Bu testi gerçekleştirmek için, 2-3 koloni bakteri % 6.5 NaCl içeren Beyin-kalp infüzyon buyyonu içerisine ekildi. 35°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Buyyonda üreme sonucu bulanıklık oluşturan suşlar pozitif olarak değerlendirilip çalışmaya alındı. Bulanıklık oluşturmayanlar ise negatif kabul edilerek çalışma dışı bırakıldı.

5. PYR testi: Enterokokları ayırmaya yarayan testlerden biri de PYR testidir. Bu amaçla Oxoid firmasından hazır olarak temin edilen PYR (L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide) testi kullanıldı. Test prospektüsüne uygun olarak yapıldı. PYR emdirilmiş filtre kağıdı üzerine 1-2 koloni bakteri koyuldu, üzerine buffer solusyonu damlatıldı. 5 dakika beklendi. Daha sonra üzerine %0.015 p-dimethyl-aminocinnamaldehyde içeren ayıraçtan 1-2 damla döküldü. PYR'nin hidrolizi ile oluşan beta-naphthylamine ile ayırıcın reaksiyona girmesi sonucu, filtre kağıdı üzerinde pembe renk oluşturan suşlar pozitif olarak değerlendirildi. Pembe renk oluşturmeyen suşlar ise negatif olarak değerlendirilerek çalışmaya alınmadı.

6. Streptest Grup D antiserumu ile aglütinasyon: Oxoid firmasından hazır olarak temin edilen aglütinasyon kiti kullanıldı. Test prospektüsünde önerildiği şekilde yapıldı. Aglütinasyon veren suşlar pozitif kabul edilerek değerlendirmeye alındı.

7. 45°C'de üreme: Tüm suşlar % 5 koyun kanlı agar pasaj yapılarak 45°C'ye ayarlanmış etüvde 48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreyen suşlar çalışmaya alındı.

8. Buraya kadar yapılan testlerin sonucunda çalışmaya alınan suşlar Enterococcus spp. olarak adlandırıldı. Daha sonra API 20 Strep (bioMerieux) kiti ile bakterilerin tür düzeyinde identifikasyonu yapıldı.

9. Agar dilüsyon yöntemi ile yüksek düzey aminoglikozid direncini araştırmak için 2000 µg/mL streptomisin ve 500 µg/mL gentamisin içeren BHIA (Oxoid) besiyeri içeren plaklar hazırlandı. Gentamisin sülfat tozu Bilim İlaç firmasından, streptomisin sülfat tozu İbrahim Ethem Ulagay ilaç firmasından temin edildi. Firmaların verdiği antibiyotik potensleri dikkate alınarak aşağıdaki formüle göre antibiyotik tozlarının ağırlığı hesaplandı.

$$\text{Ağırlık(mg)} = \frac{\text{Hacim (mL)} \times \text{Konsantrasyon (}\mu\text{g/mL)}}{\text{Potens (}\mu\text{g/mg)}}$$

Tartılan antibiyotik tozlarından NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) standart alınarak distile su ile stok çözelti hazırlandı.

Hazırlanan agar plaklarına, 18-24 saatlik üreme sonrasında alınan kolonilerden hazırlanmış 0.5 Mc Farland standardındaki bakteri süspansiyonlarından 10'ar μ L damlatıldı. Sonuçlar 35°C'de normal atmosferde 24 saatlik inkübasyon sonrası değerlendirildi. Birden fazla koloni dirençli olarak kabul edildi. Yüksek düzey streptomisin direnci için plaklar bir 24 saatlik inkübasyona daha bırakıldı. Kontrol suşu olarak E. faecalis ATCC 29212 kullanıldı.

10. Disk difüzyon yöntemi için Mueller Hinton Agar (Oxoid) plakları hazırlandı. Plaklara, standart Kirby-Bauer Disk Difüzyon yönteminde olduğu gibi bakterilerin 0.5 Mc Farland ayarındaki süspansiyonundan yüzey ekimi yapıldı. 120 μ g gentamisin (Oxoid) içeren disk konuldu. 18-24 saat, 35°C'de inkübe edildi. 10 mm'den daha küçük zon çapı oluşturan kökenler yüksek düzey dirençli olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 49 enterokok suşunun 19'u yara, 11'i idrar, 9'u kan, 3'ü apse, 3'ü periton sıvısı, 1'i trakeal aspirasyon sıvısı, 1'i de vajen kültüründen üretildi. Suşların izole edildiği yerler Tablo 9'da yer almaktadır.

Tablo 9. Suşların izole edildiği yerler

Örnek	Sayı	Oran (%)
Kan	9	18.3
İdrar	11	22.4
Periton sıvısı	3	6.1
Safra sıvısı	2	4
Yara	19	38.7
Trakeal aspirasyon	1	2
Apse	3	6.1
Vajen	1	2
Toplam	49	100

İncelenen enterokokların 32'si *E. faecalis*, 15'i *E. faecium*, 2'si *E. durans*, 1'i de *E. avium* olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan enterokok türleri Tablo 10'da yer almaktadır.

Tablo-10. Tanımlanan enterokok türleri ve oranları

Enterokok türü	Sayı	Oran (%)
E. faecalis	31	63.3
E. faecium	15	30.6
E. durans	2	4
E. avium	1	2
Toplam	49	100

Agar dilüsyon tarama yöntemi ile bakılan yüksek düzey gentamisin direnci(YDGD) ve yüksek düzey streptomisin direnci (YDSD) sonuçlarına göre, 49 enterokok suşunun 21'inde YDGD, 27'sinde YDSD tesbit edildi. Enterokok suşlarındaki YDGD ve YDSD oranları Tablo 11'de yer almaktadır. Ayrıca yüksek içerikli disk difüzyon yöntem (YIDD) ile YDGD araştırıldı. YIDD yöntemi ile agar dilüsyon tarama yöntemi karşılaştırıldı, sonuçlar Tablo 12'de yer almaktadır.

Tablo 11. YDGD ve YDSD oranları

	n=49	%
YDGD	21	42.8
YDSD	27	55.1

Tablo 12. YIDD yöntemi ile agar tarama yönteminin karşılaştırmalı sonuçları

Suş (n)	YDGD oranları			
	Agar dilüsyon yöntemi		YIDD yöntemi	
	Sayı	%	Sayı	%
E. faecalis (31)	10	32.2	10	32.2
E. faecium (15)	10	66	10	66
E. durans (2)	1	50	1	50
E. avium (1)	-	-	-	-

YDAD araştırılan 31 E. faecalis suşunun 10'unda YDGD, 15'inde YDSD; 15 E. faecium suşunun 10'unda YDGD, 10'unda da YDSD saptandı. E. Faecalis ve E. faecium suşlarındaki YDGD ve YDSD oranları Tablo 13'de verilmiştir.

Tablo 13. E. faecalis ve E. faecium suşlarında YDGD ve YDSD oranları

	E. faecalis		E. faecium	
	(n=31)	(%)	(n=15)	(%)
YDGD	10	32.2	10	66
YDSD	15	48.3	10	66

Tanımlanan 49 enterokok suşunun 18'inde (%36.7) hem YDGD hem de YDSD direnci saptandı. 31 E. faecalis suşunun 9'unda (% 29), 15 E. faecium suşunun da 8'inde (%53) her iki direnç birlikte bulundu. 2 E. durans suşundan birinde YDGD ve YDSD birarada bulunurken, diğerinde YDAD tespit edilmedi. E. avium suşunda YDAD saptanmadı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

İlk tanımlandığında insan bağırsağının zararsız mikroorganizmaları olarak düşünülen ve uzun yıllar boyunca enfeksiyon etkeni olarak nadiren karşımıza çıkan enterokoklar, son on yılda nozokomiyal bakteriyemi, ÜSİ, ve yara enfeksiyonlarında etken olarak daha sık izole edilmektedir. Günümüzde enterokoklar ABD verilerine göre nozokomiyal enfeksiyon etkenleri arasında 2. sırada, nozokomiyal bakteriyemide ise 3. sırada gösterilmektedir. Enterokok enfeksiyonlarındaki bu artışın yanısıra, bu bakterilerde var olan çoklu antibiyotik direnci de önemli bir sorun oluşturmaktadır. Klinik örneklerden izole edilen enterokokların in vitro direnç durumlarının saptanması, bu tür enfeksiyonların tedavisinde, uygun antibiyotiğin seçilmesinde önem taşımaktadır.

Çalışmamızda kullanılan 49 enterokok suşunun 19(% 38.7)'u yara, 12(% 22.4)'si idrar, 9(% 18.3)'u kan, 3(% 6.1)'ü periton sıvısı, 3(% 6.1)'ü apse 2(% 4)'si safra sıvısı, 1(% 2)'i vajen kültürlerinden elde edildi. Üç yıl boyunca enterokok üretilen örnekleri takip eden Atay ve ark.(48) izole ettikleri 160 enterokok suşunun 43(% 26.8)'ünü yara, 41(% 25.6)'ini kan, 16(% 10)'sını idrar kültürlerinden izole ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca idrar izolatlarının sayısında belirgin azalma saptarken, yara ve kan izolatlarının sayısında artma saptamışlardır. Ancak genel olarak gerek yurt içi gerek yurt dışı çalışmalarda ve yayınlarda, enterokokların en fazla izole edildiği klinik örneğin idrar olduğu belirtilmektedir (49,52,53).

API 20 Strep kiti kullanılarak yapılan tür tayininde 49 enterokok suşunun 31(% 63.3)'i *E. faecalis*, 15(% 30.6)'i *E. faecium*, 2(% 4)'si *E. durans*, 1(% 2)'i *E. avium* olarak tanımlanmıştır. Elde edilen bu oranlar ülkemizde benzer çalışmalarda elde edilen oranlarla uyumlu, ancak yurt dışında yapılan çalışmalarda saptanan oranlardan farklıdır. Yurt dışında

yapılan çalışmalarda *E. faecalis* daha yüksek (%80-90) oranlarda, *E. faecium* daha düşük (% 5-15) oranlarda bildirilmektedir (52,53,54). Ülkemizde yapılan çalışmalarda Atay ve ark.(48) Vitek GPI kartları kullanarak enterokokların % 67'sini *E. faecalis*, % 29'unu *E. faecium* olarak tanımlamışlardır. Kuzucu ve ark.(49)'nın çalışmasında laktoz, mannitol, sorbitol, arabinozdan asit üretimi ve arginin dihidrolaz testi kullanarak 138 enterokok suşundan % 69'unu *E. faecalis*, % 27'sini *E. faecium* olarak bildirmiştir. Yaşar ve ark.(50) API ID 32 strep kitini kullanarak 30 enterokok suşundan 14(% 46.6)'ünü *E. faecalis*, 11 (% 36.6)'ini *E. faecium* olarak izole etmişlerdir. Ulusoy ve ark.(51)'nin API 20 strep kitini kullanarak yaptıkları çalışmada 103 enterokok suşunun % 70'inin *E. faecalis*, % 30'unun *E. faecium* olarak tanımlamışlardır. Bununla birlikte ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda *E. faecalis* % 80-90 oranında, *E. faecium* ise % 5-15 oranında bildirilmektedir (60, 63,64).

Enterokoklarda en yaygın aminoglikozid modifiye edici enzim birbirine kaynaşmış iki enzimden oluşan 6'-acetyltransferase-2'-phosphotransferase [APH(2'')-AAC(6'')] enzimidir. Bu enzim streptomisin dışındaki tüm aminoglikozidlerin oluşturduğu sinerjizme direnç gelişmesine yol açmaktadır. Gentamisine karşı yüksek düzey direnç saptandığında streptomisin dışında hiç bir aminoglikozid kombinasyonun kullanılmasının anlamı olmamaktadır. Bu nedenle NCCLS enterokoklarda YDAD araştırılmasında YDGD ve YDSD'nin yeterli olduğunu bildirmiştir.

YDAD direnci araştırdığımız 49 enterokok suşunun 21(% 42.8)'inde YDGD, 27(% 55.1)'sinde YDSD, 18(% 36.7)'inde hem YDGD hem de YDSD'nin her ikisi birlikte saptandı. Hem gentamisin hem de streptomisine dirençli suşlarda streptomisin ANT(3'') ve gentamisin AAC(6')-APH(2'') aminoglikozid modifiye edici (AME) enzimlerin sentez edildiği düşünülebilir. YDGD olan, buna karşılık YDSD'i olmayan 3 suşda ise bu direnç tipinden sorumlu enzimler AAC(6')-APH(2'') ve APH(2'') olabilir.

ANT(3") ve ANT(6') enzimleri varlığında sadece YDSD ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda YDGD olmayan ancak YDSD olan 9 enterokok suşunda bu enzimlerin varlığı düşünülmektedir. Her iki antibiyotiğe duyarlılığın saptandığı 18 enterokok suşunda AME sentezi yapılmadığı düşünülebilir. E. faecum suşlarının tamamında kromozomal kaynaklı bir asetiltransferaz [AAC(6')] olmakla birlikte, bu enzim kanamisin, amikasin, netilmisin, sisomisin, isepamisin, ve tobramisinini modifiye etmektedir. Ancak YDAD oluşturulamamakta, bu enzim için gentamisin ve streptomisin de substrat olmadığından, bu antibiyotiklere yüksek düzeyde direnç gelişmemektedir (35).

Enterokoklarda aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı gelişen direncin, daha çok bu ilaçların kullanımı sonucunda gelişen, AME enzim üreten izolatların seleksiyonuna bağlı olduğu ileri sürülmektedir. Bu nedenle bu antibiyotiklere karşı gözlenen direnç, ülkeler, hastaneler hatta klinikler arasında farklılıklar göstermektedir (36).

YDAD'nin prevalansı her geçen gün artmaktadır. Enterokoklarda YDAD'nin ülkelere ve yıllara göre dağılımı incelendiğinde, 1990 yılında ABD'nden Yagupsky ve ark.(55) YDGD'ni % 27, YDSD'ni % 32 olarak saptamışlar; 1997 yılında Hindistan'dan Bhat ve ark.(54) YDGD'ni % 10, YDSD'ni % 12 oranında bildirmişlerdir. Aynı şekilde Chiew ve ark.(58) tarafından 1992 yılında Japonya'dan yapılan bir çalışmada YDGD % 43, YDSD % 38 olarak bildirilmiş; Udo ve ark.(52) tarafından 2002 yılında Kuveyt'te yapılan bir çalışmada enterokoklarda YDGD % 15.9, YDSD % 33 olarak bildirmişlerdir. Ülkelere ve yıllara göre enterokoklarda YDAD sonuçları Tablo 14'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 14. Ülkelere ve yıllara göre enterokoklarda YDAD

Araştırmacılar(kaynak)	Ülke	Yıl	N	YDGD (%)	YDSD (%)
Yagupsky ve ark. (55)	ABD	1990	62	27	32
Bryce ve ark. (56)	Kanada	1991	140	12	*
Nicostri ve ark. (57)	İtalya	1992	75	28	57
Chiew ve ark.(58)	Japonya	1992	250	43	38
Chiew ve ark.(59)	Singapur	1992	225	22	38
Töreci ve ark. (60)	Türkiye	1993	100	11	15
Karabiber ve ark. (61)	Türkiye	1995	100	25	41
Bhat ve ark. (54)	Hindistan	1997	421	10	12
Hsieh ve ark.(53)	Taiwan	2000	96	52	50
Akalın NA. (69)	Türkiye	2000	200	32	*
Miskeen ve ark. (54)	Yunanistan	2002	147	36.9	33
Udo ve ark. (52)	Kuveyt	2002	195	15.9	21
Şentürk GÇ [●]	Türkiye	2002	49	42	55

* : Çalışılmamış, ● : Bu çalışma

Ülkemizde enterokoklarda YDAD yıllar geçtikçe artmaktadır. Bizim çalışmamızın sonuçları da bu artış ile aynı paralelliktedir. Nitekim 2000 yılında, Akalın NA (69) hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarından izole edilen 200 enterokok suşunda YDGD'ni % 32 oranında saptamıştır. Bizim çalışmamızda ise YDGD % 42 oranında saptanmıştır.

Enterokoklarda YDAD ilk defa 1979 yılında bildirilmiş, bu direncin prevalansı da giderek artmıştır. Bu artış özellikle E. faecium suşlarında gözlenmiştir

Çalışma sonuçlarımıza göre 31 E. faecalis suşundan 10(% 32.2)'unda YDGD, 15(% 48.3)'inde YDSD, 9(% 29)'unda da her iki direnç birlikte idi. 15 E. faecium suşunun 10(% 66)'unda YDGD, 10(% 66)'unda YDSD,

8(% 53.3)'inde hem YDGD hem de YDSD saptandı. Farklı çalışmalarda saptanan E. faecalis ve E. faecium suşlarının YDAD sonuçları Tablo-15'de verilmiştir.

Tablo 15. E. faecalis ve E. Faecium suşlarında YDAD

Araştırmacılar (kaynak)	E. faecalis		E. faecium	
	YDGD(%)	YDSD(%)	YDGD(%)	YDSD(%)
Kaufold ve ark. (66)	11	21.1	0	31
Bhat ve ark. (62)	8.2	8.7	33	42
Papaparaskavos ve ark.(65)	22	40	0	33
Barisic ve ark. (67)	37	52	76.2	76.2
Akgül ve ark. (63)	62	20	63	0
Kuzucu ve ark. (49)	8.3	*	63	*
Şentürk GÇ [●]	32.2	48.3	66	66

* : Çalışılmamış ● : Bu çalışma

YDAD E. faecium suşlarında daha fazla oranda görülmektedir. Fakat bazı çalışmalarda E. faecium türlerinde YDGD veya YDSD saptanmamıştır. YDSD saptanamayan E. faecium suşlarında streptomisin ANT(3") ve ANT(6") AME enzimlerinin olmaması; YDGD saptanamayan E. faecium suşlarında ise gentamisin AAC(6')-APH(2") bifonksiyonel enziminin ve APH(2") enziminin olmayışı ile açıklanabilir.

YDAD'ne hastanede yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokoklarda daha fazla oranda rastlanmaktadır. Çünkü hastanede yatan hastalarda bir veya daha fazla antibiyotik kombine edilmekte, bu da enterokokların yatan hastaların gastrointestinal sisteminde kolonize olmalarına yol açabilmektedir (20). Barisic ve ark.(67)'nin yaptıkları bir çalışmada, hastanede yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilen enterokoklarda YDGD % 37 olarak saptanırken, ayaktan takip edilen hastaların

klirik 6rneklerinden izole edilen enterokoklarda ise bu oran % 11 olarak saptanmıştır. Ülkemizde 6zkuyumcu ve ark. (68), 372 yatan hastanın 264'ünün rektal sürüntü 6rneklerinde enterokok kolonizasyonu saptamışlar, % 11 oranında da YDAD tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda tüm suşlarda YDGD yüksek içerikli disk difüzyon y6ntemi ile de araştırıldı. Standart agar tarama y6ntemi ile yüksek içerikli disk difüzyon y6ntemi arasında % 100 uyumluluk saptandı. Kuzucu ve ark. (49)'nın 138 enterokok suşunda YDAD saptamak için yüksek içerikli disk difüzyon y6ntemi ile broth mikrodilüsyon tarama y6ntemini kullandıkları bir çalışmada, her iki y6ntem arasında % 100 uyumluluk saptanmıştır. Chiew ve ark. (59) yüksek içerikli disk difüzyon, agar dilüsyon tarama ve broth mikrodilüsyon tarama y6ntemlerinin n kullanarak enterokoklarda YDAD araştırmışlar, sonuçta agar dilüsyon tarama y6ntemi ile yüksek içerikli disk difüzyon y6ntemi arasında % 100 bir uyumluluk tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak, enterokoklar ile oluşan nozokomiyal infeksiyonların sıklığı giderek artmakta ve bu bakteriler aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı giderek artan oranda direnç geliştirmektedirler. Ciddi enterokok infeksiyonlarında antibiyotik tedavisinin başarısı, hücre duvarını etkileyen bir antibiyotik ile aminoglikozid kombinasyonunun sinerjistik bakterisidal etkisine bağlıdır. Enterokoklarla oluşan infeksiyonların tedavisinde başarısızlığa yol amamak için, YDAD rutin olarak laboratuvarlarda bakılmalıdır. Gerek bizim çalışmamızda gerek diğer çalışmalarda yüksek içerikli disk difüzyon testi ile agar dilüsyon tarama testi arasında tam bir uyumluluk saptanmıştır. Bu nedenle YDAD saptamak için pratik ve ucuz olması, aynı plakta diğer antibiyotiklerin de değerlendirilebilmesi nedeniyle 120 µg gentamisin içeren diskler ile yapılan yüksek içerikli disk difüzyon testi rutin olarak laboratuvarında kullanılmalıdır.

ÖZET

Enterokoklar diğ er birçok bakteri türünde var olan virülans faktörlerine sahip olmamalarına rağmen, çevre şartlarına dayanıklı olmaları, çeşitli antibiyotiklere intrinsik dirençli olmaları ve yeni direnç geliştirme yeteneklerinden dolayı son on yılda hastane infeksiyonlarının ve süperinfeksiyonların önemli nedeni arasında yer almaktadır. Enterokoklar insanlarda başta üriner sistem infeksiyonları olmak üzere, yara ve yumuşak doku infeksiyonları, endokardit, bakteriyemi, intraabdominal infeksiyonlar, neonatal sepsis ve menenjit gibi birçok infeksiyona neden olmaktadır. Son yıllarda enterokoklarda, antibiyotiklere karşı giderek artan oranda kazanılmış tipte direnç gelişimi gözlenmektedir. Bu bakterilerde özellikle YDAD varlığı tedavide önemli bir sorun olmaktadır.

Bu çalışmada yatan hastaların klinik örneklerinde izole edilen 49 enterokok suşu kullanılmıştır. Bu enterokok suşlarının 19'u yara, 11'i idrar, 9'u kan, 3'ü apse, 3'ü periton sıvısı, 1'i trakeal aspirasyon sıvısı, 1'i de vajen kültürlerinden izole edilmiştir. Bu suşlara API 20 strep kiti kullanılarak tür tanımlaması yapılmıştır. Tüm suşlarda standart agar dilüsyon tarama yöntemi kullanılarak YDAD, yüksek içerikli disk difüzyon yöntemi kullanılarak da YDGD araştırılmıştır. Bu iki yöntem uyumluluk açısından karşılaştırılmıştır. Kontrol suşu olarak *E. faecalis* ATCC 29212 kullanılmıştır.

Enterokokların 31 (% 63.3)'i *E. faecalis*, 15 (% 30.6)'i *E. faecium*, 2 (% 4)'si *E. durans*, 1(% 2)'i *E. avium* olarak tanımlanmıştır.

E. faecalis türlerinin 10 (% 32.2)'unda YDGD, 15 (% 48.3)'inde YDSD, *E. faecium* türlerinin 10 (% 66)'unda YDGD, 10 (% 66)'unda da YDSD saptanmıştır. Tüm suşların 18 (%36.7)'inde, *E. faecalis* suşlarının 6 (% 29)'unda, *E. faecium* suşlarının 8 (% 53)'inde hem YDGD hem de YDSD tespit edilmiştir. 2 *E. durans* suşunun birinde YDGD ve YDSD birlikte bulunurken, diğ erinde YDAD saptanmamıştır. *E. avium* suşunda da YDAD

tespit edilmemiştir. Aynı sonuçlar yüksek içerikli disk difüzyon yönteminde de saptanmıştır. Yüksek içerikli disk difüzyon testi ile standart agar tarama yöntemi karşılaştırılmış, tam bir uyumluluk saptanmıştır.

SUMMARY

Enterococci haven't many virulence factors as most of the other bacteria. They are able to grow and survive under harsh conditions. They have intrinsic resistant to various antibiotics and able to acquire new mechanisms of resistance. For these reasons, enterococci are important cause of superinfections and nosocomial infections in recent years. Urinary tract infections are the most common clinical disease produced by enterococci. Wound and tissue infections, bacteremia, endocarditis, intraabdominal infections, neonatal sepsis and meningitis are the other clinical diseases produced by enterococci. In recent years, acquired type resistance to various antibiotics are being increased among enterococci. In the treatment of enterococcal infections, especially high level aminoglycoside resistance (HLAR) is an important problem.

In this study, 49 enterococci strains isolated from clinical materials of hospitalised patients were included. 19 of 49 enterococci strains were isolated from wound, 11 were from urine, 9 were from blood, 3 were from abscesses' materials, 3 were from peritoneal lavage, one was from tracheal aspirate, one was from vaginal culture. API 20 Strep kit was used to identify the enterococcus species. HLAR was investigated by using standart agar dilution screen method and high level gentamicine resistance (HLGR) was investigated by using high content disc diffusion method. These two methods were compared. *E. faecalis* ATCC 29212 was used as control strain.

31(63.3 %) of 49 enterococci were determined as *E. faecalis*, 15(30.6 %) as *E. faecium*, 2 (4%) as *E. Durans*, 1(2 %) as *E. avium*.

21 of 49 Enterococci strains have both HLGR and high level streptomycine resistance (HLSR). 10 (32.2%) *E. faecalis* strains have HLGR, 15(48.3) have HLSR. 10 (66 %) *E. faecium* strains have HLGR, 10 (66 %) have HLSR.

In 18 (36.7%) of all enterococci strains both HLGR and HLSR was detected. Both HLGR and HLSR was detected in 6 (29%) of *E. faecalis* strains, in 8 (53%) of *E. faecium* strains, in one of 2 *E. durans* strains. The same results were detected with the high content disc diffusion method. When the two methods were compared, these results were completely correlated.

KAYNAKLAR

- 1- Murray BE. Enterococci. In: Gorbach SK, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). Infectious Disease. 2th edition, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1998: 1723-1730.
- 2- Murray BE. The life and times of the enterococcus. Clin Microbiol Rev 1990; 3:46-65.
- 3- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fifth edition. Philadelphia: Lippincott Co. 1997: 597-621, 837-839.
- 4- Facklam RR, Teixeria LM. Enterococcus. In: Collier L, Bolows A, SussmanM (eds). Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Vol 2 (Systematic Bacteriology). 9th edition, London: Edward Arnold, 1998: 669-682.
- 5- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. Onuncu baskı. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 2000: 271-297.
- 6- Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tam. Üçüncü baskı, İzmir: Barış yayınları Fakülteler Kitabevi, 2002: 495-523.
- 7- Korten V, Murray BE. Enterococci. In " Principles and Practice of Clinical Bacteriology" Gillespie S, et al. Eds. 1st Ed. John Wiley & Sons, Chichester, 1997 ;93-107
- 8- Zervos MJ, Lewis CM. Clinical Manifestations of Enterococcal Infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1990 ; 9:111-117.
- 9- Facklam RR, Sahm DF. Enterococcus. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). Manuel of Clinical Microbiology. Sixth edition, Waschingon: ASM Press. 1995: 308-315.
- 10- Low DE: The Enterococcus. International Congress for Infectious Diseases, Montreal, 1990.
- 11- Matlow A: The Pathogenic Potential of the Enterococcus. International Congress for Infectious Diseases, Montreal, 1990.

- 12- Patterson JE, Zervos MJ. High- level gentamicin resistance in enterococcus: Microbiology, genetic basis and epidemioloji. Rev Infect Dis 1990 ; 12: 644-652.
13. Zervos MJ, Terpenning MS, Schaberg DR, Therasse PM, Medenderp SV, Kauffman CA. High – level aminoglycoside resistant enterococci: Colonization of nursing home and acut care hospital patients. Arch Intern Med 1987;147:1591-1594.
14. Zervos MJ, Dembinski S, Mikesell T, Schaberg DR. High- level resistance to gentamicin in Streptococcus faecalis: Risk factors and evidence for exogenous acquasition of infection. J Infect Dis 1986 ;153: 1073-1083.
15. Livornese LL, Dias S, Samel C, Romanowski B, Taylor S, May P, Pitsakis P, Woods G, Kaye D, Levison ME, Johnson CC. Hospital acquired infection with vancomycin- resistant E. faecium transmitted by electronic thermometers. Ann Intern Med 1992; 30: 40-45.
16. Chenoweth C, Schaberg D. The epidemiology of enterococci. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990; 9:80-89.
17. Edlund C, Barrkholt L, Olsson-Liljequist B, Nord CE. Effect of vancomycin on intestinal flora of patients who previously received antimicrobial therapy. Clin Infect Dis 1997;25:729-732.
18. Korten V, Murray BE. The nosocomial transmission of enterococci. Curr Opin Infect Dis 1993; 6:498-505.
19. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infecftion. Am J Med 1991; 91:72-75.
20. Moellering RC. Enterococcus species, Streptococcus bovis, and Leuconostoc species. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. Vol 2. 5th edition 2000:2147-2156.
21. Moellering RC Jr. Emergence of enterococcus as a significant pathogen. Clin Infect Dis 1992; 14:1173-1178.

22. Dever LL, Smith SM, Handwerger S, Eng RHK. Vancomycin-dependent *E. faecium* isolated from stool following oral vancomycin therapy. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2770-2773.

23. Bouza E, Son Juan R, Voss A, Kluytmans J, on behalf of the Co-operative Group of the European Study Group on Nosocomial Infections (ESGNI). A European perspective on nosocomial urinary tract infections 1. report on the microbiology workload, etiology and antimicrobial susceptibility (ESGNI-003 study) *Clin Microbiol Infect* 2001;7:523-531.

24. Felmingham D, Wilsson APR, Quintana AI, Grüneberg RN. Enterococcus species in urinary tract infection. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 295-301.

25. Söyletir G, Çerikçioğlu N. Streptokok infeksiyonları. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M(eds). *İnfeksiyon Hastalıkları. Birinci baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 1996:329-339.*

26. Edelstein H, Mc Cabe RE. Perinephric abscess: Modern diagnosis and treatment in 47 cases. *Medicine* 1988;67:118-131.

27. O'Connell CJ. Streptococcus. In: Milgram F, Flanagan TD (eds). *Medical Microbiology. 1st edition. New York : Churchill Livingstone, 1982: 263-286.*

28. Korten V. Enterokoklar. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2. baskı. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2002: 1497-1506.*

29. Şardan YÇ. Enterokoklarla gelişen infeksiyonlar. *İnfeksiyon Hastalıkları* 2002;2:61-67.

30. Korten V. Enterokok İnfeksiyonları. In: İliçin G, Ünal S, Biberoglu K, Akalın S, Süleymanlar G(eds). *Temel İç Hastalıkları. Birinci baskı. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti: 1996:2173-2175.*

31. Derbentli Ş. Nozokomiyal enterokok infeksiyonları. Galenos. 1998; 23:14-17.
32. Lefort A, Mainandi JL, Tod M, Lortholory O. Antienterococcal antibiotics. Med Clin North Ame 2000; 6: 1471-1495.
33. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Altıncı baskı. Ankara: Hacettepe Taş Kitapçılık Ltd. Şti. 1991:734-752.
34. Murray BE, Mederski-Samoraj B. Transferable beta-laktamase, a new mechanism for in vitro penicillin resistance in streptococcus faecalis. J Clin Invest 1983;72:1168-1171.
35. Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. Clin Infect Dis 2000; 31: 586-589.
36. Başustaoglu A, Aydoğan H. Enterokoklar. İnfeksiyon Hastalıkları Serisi 2002; 5: 45-59.
37. Topçu AW. Aminoglikozidler. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 1. cilt. 2. baskı İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2002: 214-223.
38. Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. Lancet 1988;1: 57-58.
39. Vural T, Şekercioğlu AO, Ögünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A, Ünal S, Kocagöz S, Mutlu G. Vankomisin dirençli E. casseliflavus suşu. ANKEM Derg 1998;12:113.
40. Vural T, Şekercioğlu AO, Ögünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A, Ünal S, Kocagöz S, Mutlu G. Vankomisine dirençli E. faecium suşu. ANKEM Derg 1998;13:1-4.
41. Arthur M, Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in Enterococci. Antimicrob Agents Chemother 1993;37:8: 1563-1571.
42. Moellering RC Jr. Vancomycin resistant enterococci. Clin Infect Dis 1998; 26:1196-1199.

43. Gold HS. Vancomycin resistant Enterococci: Mechanisms and Clinical Observations. Clin Infect Dis 2001; 33:210-219.
44. Wilks M. Vancomycin - dependent enterococcus. The Lancet 1997; 349 : 429.
45. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistanse: recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR. 1995; 44 (RR12):1-13.
46. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Fourth edition. NCCLS document M7-A4. Pennsylvania. 1997.
47. NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Infomational supplement. Document M100-S11, Pennsylvania ;2001
48. Atay T, Biçmen M, Gülay Z. Klinik örneklerden izole edilen enterokoklar ve antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg. 2002; 16:104.
49. Kuzucu Ç, Uncu H, Berkem R, Acar N. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılmasında kullanılan tarama yöntemlerinin karşılaştırılması. Mikrobiol Bült. 2000; 34 : 239-243.
50. Yaşar KK, Alıcı Ö, Şengöz G, Nazlıcan Ö. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokokların antibiyotiklere duyarlılığı ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılması. ANKEM Derg. 2002;16: 103.
51. Ulusoy S, Hoşgör M, Özkan F, Özinel MA, Tokbaş A. E. faecalis ve E. Faecium'un antibiyotik direncinin araştırılması. ANKEM Derg. 1995 ; 9: 12-16.
52. Udo EE, Al-Sweih N, John P, Chugh TD. Antibiotic resistance of enterococci isolated at a teaching hospital in Kuwait. Diagn Microbiol Infect Dis. 2002; 43:233-238.

53. Hsieh SR. Antimicrobial susceptibility and species identification for clinical isolates of enterococci. *J Microbiol Immunol Infect* 2000; 33:253-257.
54. Miskeen PA, Deodhar L. Antimicrobial susceptibility pattern of enterococcus species from urinary tract infections. *J Assc Physicians India*. 2002; 50: 378-381.
55. Yagupsky P, Petry S, Menegus MA. Comparison of four methods for testing high-level aminoglycoside resistance in enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1990; 9:133-135.
56. Bryce EA, Zemcov SJV, Clarke AM. Species identification and antibiotic resistance patterns of the enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1991; 10: 745-747.
57. Nicostrì E, Tarasi A, Visco Camandini U, Gelfusa U, Di Rosa R, Di Rosa E, Venditti N, Serra P. High-level aminoglycoside resistance among enterococci: evaluation of an agar screen susceptibility test. *J Chemother*. 1992; 4: 9-11.
58. Chiew YF, Tosaka M, Yamane N. Prevalence of enterococcal high-level aminoglycoside resistance in Japan. Comparative detection by three methods. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1993; 16: 145-148.
59. Chiew YF, Lim SW, Kuah BG, Liew HY. Prevalence in Singapore of enterococci with high level aminoglycoside and comparison of three methods for their detection. *J Infect*. 1993; 27: 125-131.
60. Töreci K, Öngen B. İdrardan izole edilen enterokoklarda antibiyotik direnci: beta- laktamlara ve aminoglikozidlere yüksek düzeyde direnç. *ANKEM Derg*. 1993; 7: 217-223.
61. Karabiber N, Karahan M. Çeşitli örneklerden izole edilen enterokoklarda yüksek düzey streptomisin ve gentamisin direnci. *ANKEM Derg*. 1995; 9:1-7.

62. Bhat KG, Chitra P, Bhat MG. High level aminoglycoside resistance in enterococci isolated from hospitalized patients. *Indian J Med.* 1997; 105: 198-199.
63. Akgül SG, Sümerkan B. Enterokok türlerinde vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid direncinin araştırılması. *İnfeksiyon Derg.* 1999; 13: 67-70.
64. Çaylan M, Üstünakın M, Kadımov V, Aydın K, Köksal İ. Klinik örneklerden izole edilen enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *ANKEM Derg.* 2002; 16:105.
65. Papaparaskevos J, Vatopovlos A, Tassios PT, Avlami A, Legokis NJ, Kalapothaki V. Diversity among high level aminoglycoside resistance enterococci. *J Antimicrob Chemother.* 2000; 45: 277-283.
66. Kaufhold A, Klein R. Species identification and antibiotic susceptibility of enterococci isolated from clinical specimens of hospitalized patients. *Zentrabl Bacteriol.* 1995; 282: 507-518.
67. Barisic Z, Punda-Polic V. Antibiotic resistance among enterococcal strains isolated from clinical specimens. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;16:65-68.
68. Özkuyumcu C, Köseoğlu Ö, Günalp A. Hastanede yatan hastalarda vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid dirençli enterokok kolonizasyonunun araştırılması. *Mikrobiyol Bült.* 1998; 32:185-194.
69. Akalın NA. Enterokoklarda antibiyotik direnci ve antibiyotik dışı ilaçların bu dirence etkisi. T.C. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi İstanbul-2000.