

**BAŞAK SİLA EYÜP**

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İSTANBUL-2023**



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

( YÜKSEK LİSANS TEZİ )

LİNEZOLİDİN VANKOMİSİNE DİRENÇLİ ENTEROKOK  
SUŞLARINA ETKİSİNİN ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE  
ARAŞTIRILMASI

BAŞAK SİLA EYÜP

DANIŞMAN  
PROF. DR. GÜLSEREN AKTAŞ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2023

## İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde her konuda yardımcı olan bilgi, birikim ve tecrübelerini her zaman benimle paylaşan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Gülseren AKTAŞ'a,

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Ali AĞAÇFİDAN'a ve yüksek lisans eğitimim boyunca bana katkıda bulunan, güler yüzünü eksik etmeyen hocalarıma,

Bu süreçte bana destek olan yüksek lisans arkadaşlarıma ve laboratuvar çalışanlarına,

Her daim maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39355

## İÇİNDEKİLER

|                                                         |      |
|---------------------------------------------------------|------|
| İTHAF.....                                              | İİ   |
| TEŞEKKÜR.....                                           | İİİ  |
| İÇİNDEKİLER .....                                       | İV   |
| TABLolar LİSTESİ.....                                   | Vİİ  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                  | Vİİİ |
| SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....                   | İX   |
| ÖZET .....                                              | Xİ   |
| ABSTRACT.....                                           | Xİİ  |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ.....                                   | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                 | 3    |
| 2.1. Enterokoklar.....                                  | 3    |
| 2.1.1. Tarihçe .....                                    | 3    |
| 2.1.2. Genel Özellikleri .....                          | 3    |
| 2.1.3. Sınıflandırma.....                               | 5    |
| 2.1.4. Fizyoloji Ve Yapı.....                           | 6    |
| 2.1.5. PatogeneZ .....                                  | 6    |
| 2.1.6. Klinik Tablo .....                               | 7    |
| 2.1.7. Laboratuvar Tanısı/İdentifikasyon .....          | 8    |
| 2.1.8. Tedavi.....                                      | 9    |
| 2.2. Vankomisin Dirençli Enterokoklar .....             | 10   |
| 2.2.1. Vankomisin .....                                 | 10   |
| 2.2.2. Vankomisin Direnci .....                         | 11   |
| 2.2.3. VRE Enfeksiyonlarından Tedavi .....              | 11   |
| 2.3. Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci.....            | 12   |
| 2.4. Linezolid .....                                    | 12   |
| 2.4.1. Linezolid Etki Mekanizması .....                 | 13   |
| 2.4.2. Linezolid Direnci .....                          | 14   |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                 | 16   |
| 3.1. Gereç .....                                        | 16   |
| 3.2. Kullanılan Antibiyotikler Ve Standart Suşlar ..... | 16   |
| 3.2.1. Antibiyotik Diskleri .....                       | 16   |

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.2. Antibiyotik Tozu .....                                         | 16 |
| 3.2.3. E-test .....                                                   | 17 |
| 3.2.4. Standart Suşlar .....                                          | 17 |
| 3.3. Suşların İzolasyonu Ve Tanımlanması .....                        | 17 |
| 3.3.1. Safra-Eskülin Besiyerinde Üreme/Hidroliz Testi .....           | 19 |
| 3.3.2. Gram Boyama .....                                              | 19 |
| 3.3.3. Katalaz Testi (Hidrojen Peroksit Redüksiyonu) .....            | 20 |
| 3.3.4. Tuz Tolerans Testi (%6,5 NaCl) .....                           | 21 |
| 3.3.5. L-pyrolidonyl-β-naphthylamide (PYR) Testi .....                | 22 |
| 3.3.6. Disk Difüzyon Testi .....                                      | 23 |
| 3.4. Enterokok Suşlarının Diğer Özelliklerinin Araştırılması .....    | 24 |
| 3.4.1. Hemoliz Özelliği .....                                         | 24 |
| 3.4.2. β-Laktamaz Enzim Varlığının Araştırılması .....                | 24 |
| 3.4.3. Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci (HLAR) Araştırılması .....  | 25 |
| 3.5. Linezolid Disk Difüzyon Testi .....                              | 25 |
| 3.6. Mikrodilüsyon .....                                              | 25 |
| 3.6.1. Linezolid İçin Stok Çözeltinin Hazırlanması .....              | 26 |
| 3.6.2. Deneyin Yapılışı .....                                         | 26 |
| 3.7. E-Test .....                                                     | 28 |
| 3.8. Enterokok Tür Tanımlaması .....                                  | 29 |
| 4. BULGULAR .....                                                     | 30 |
| 4.1. Konvensiyonel Yöntemlerin Sonuçları .....                        | 31 |
| 4.2. Disk Difüzyon Testi Sonuçları .....                              | 33 |
| 4.3. Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci Tarama Deneyi Sonuçları ..... | 35 |
| 4.4. Mikrodilüsyon Test Sonuçları .....                               | 35 |
| 4.5. E-test Sonuçları .....                                           | 37 |
| 4.5.1. Linezolid .....                                                | 37 |
| 4.5.2. Vankomisin .....                                               | 38 |
| 4.6. Enterokokların Tür Tanımlaması Sonuçları .....                   | 40 |
| 5. TARTIŞMA .....                                                     | 43 |
| KAYNAKLAR .....                                                       | 49 |
| HAM VERİLER .....                                                     | 56 |
| FORMLAR .....                                                         | 57 |

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI..... | 58 |
|---------------------------------|----|



## TABLOLAR LİSTESİ

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 3-1: Suşların kliniklere göre dağılımı.....                                                                                             | 16 |
| Tablo 3-2: Kullanılan besiyerleri.....                                                                                                        | 17 |
| Tablo 4-1: 50 VRE suşunun tanımlanmasında gerçekleştirilen testlerin sonuçları .....                                                          | 32 |
| Tablo 4-2: CLSI'a göre Enterokok cinsi için linezolid, vankomisin, teikoplanin, streptomisin ve gentamisin zon çapı yorumlama değerleri ..... | 34 |
| Tablo 4-3: 50 VRE suşunun Vankomisin, Teikoplanin ve Linezolid antibiyotik diskleri ile elde edilen disk difüzyon test sonuçları .....        | 34 |
| Tablo 4-4: CLSI'a göre enterokok suşları için linezolid MİK sınır değerleri .....                                                             | 35 |
| Tablo 4-5: Mikrodilüsyon testi sonucunda linezolidin 50 VRE suşuna karşı MİK <sub>50</sub> , MİK <sub>90</sub> ve duyarlılık sonuçları .....  | 36 |
| Tablo 4-6: E-test sonucunda 50 VRE suşuna karşı MİK <sub>50</sub> , MİK <sub>90</sub> ve duyarlılık sonuçları .....                           | 37 |
| Tablo 4-7: Her bir VRE suşunun mikrodilüsyon ile linezolid, E-test ile linezolid ve vankomisin MİK değerleri.....                             | 38 |
| Tablo 4-8: GP24 diagnostics enterokok tanımlama kitinin 50 enterokok suşu için doğruluk oranları.....                                         | 41 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2-1: Vankomisin kimyasal formülü .....                                                                            | 10 |
| Şekil 2-2: Linezolid kimyasal formülü .....                                                                             | 12 |
| Şekil 2-3: Linezolidin in vitro aktivitesi .....                                                                        | 13 |
| Şekil 3-1: Azaltma yöntemi ile ekilen bir suş .....                                                                     | 18 |
| Şekil 3-2: Vankomisinli BEA besiyerinde üremiş enterokok .....                                                          | 19 |
| Şekil 3-3: Gram boyama mikroskop görüntüsü (100× büyütme) .....                                                         | 20 |
| Şekil 3-4: Pozitif kontrol (sol) ve enterokokta katalaz negatif test sonucu (sağ) .....                                 | 20 |
| Şekil 3-5: Pozitif tüp (Sağ) ve negatif tüp (Sol) .....                                                                 | 22 |
| Şekil 3-6: PYR pozitif test sonucu .....                                                                                | 23 |
| Şekil 3-7: Vankomisin ve teikoplanin disk difüzyon testi .....                                                          | 23 |
| Şekil 3-8: Suşların hemoliz özelliğinin KKCA besiyerinde incelenmesi .....                                              | 24 |
| Şekil 3-9: Solda HLAR pozitif, sağda HLGR pozitif bir VRE suşu .....                                                    | 25 |
| Şekil 3-10: Sıvı mikrodilüsyon deneyi için örnek mikropalak görüntüsü (MİK değerleri kırmızı ile işaretlenmiştir) ..... | 27 |
| Şekil 3-11: Linezolide duyarlı bir suşun E-test görünümü .....                                                          | 28 |
| Şekil 3-12: Vankomisine dirençli bir suşun E-test görünümü .....                                                        | 29 |
| Şekil 4-1: 50 VRE suşunun izole edildiği klinik birimlere ve cinsiyete göre dağılımı ..                                 | 30 |
| Şekil 4-2: 50 VRE suşunun izole edildiği hastaların yaşa göre dağılımı .....                                            | 31 |
| Şekil 4-3: 50 VRE suşunun Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci tarama sonuçları ..                                        | 35 |
| Şekil 4-4: Mikrodilüsyon testi sonucunda elde edilen linezolid MİK değerlerinin dağılımı .....                          | 36 |
| Şekil 4-5: 50 VRE suşunun linezolid E-test sonucunda elde edilen MİK değerlerinin dağılımı .....                        | 38 |
| Şekil 4-6: GP24 Diagnostics kiti kullanılarak tür tanımlaması yapılmış suşlar .....                                     | 41 |

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ****Semboller**

%: Yüzde

µg: Mikrogram

µl: Mikrolitre

°C: Santrigrat derece

β: Beta

mm: Milimetre

ml: Mililitre

mg: Miligram

Da: Dalton

gr: Gram

cc: Santimetre küp

**Kısaltmalar**

AMR: Antimikrobiyal Direnç

AS: Agregasyon Maddesi

ATCC: American Type Culture Collection

BEA: Bile Esculin Agar

BSI: Kan Dolaşımı Enfeksiyonu

CAMHB: Katyon Ayarlı Muller-Hinton Buyyon

CDC: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri

CLSI: Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü

cps: Kapsüler Polisakkarit

Esp: Ekstraselüler Yüzey Proteini

Epa: Enterokokal Polisakkarit Antijeni

GelE: Gelatinase

G: Guanin

HCAIs: Sağlık Hizmeti ile İlişkili Enfeksiyonlar

HLAR: Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci

HLGR: Yüksek Düzey Gentamisin Direnci  
HLSR: Yüksek Düzey Streptomisin Direnci  
KKCA: Koyun Kanlı Colombia Agar  
LAB: Laktik Asit Bakterileri  
LTA: Lipoteikoik Asit  
LRE: Linezolid Dirençli Enterokok  
LVER: Linezolid ve Vankomisine Dirençli Enterokok  
MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu  
MRSA: Metisiline dirençli Staphylococcus aureus  
MDR: Çoklu İlaça Direnç  
NaCl: Sodyum Klorür  
NAM: N-asetilmuramik Asit  
NAG: N-asetilglukosamin  
PYR: Pyrolidonil Arilamidaz  
PYRase: Pyrolidonil Arilamidaz Enzimi  
RMM:Rezasurin Microplate Metodu  
SprE: Hücre Dışı Serin Proteaz  
T: Timin  
TSA: Triptik Soy Agar  
tRNA<sup>fmet</sup>: Formilmetionil-tRNA  
VRE: Vankomisine Dirençli Enterokok  
WHO: Dünya Sağlık Örgütü

## ÖZET

Eyüp, BS. (2023) Linezolidin Vankomisine Dirençli Enterokok Suşlarına Etkisinin Çeşitli Yöntemlerle Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Antibiyotikler, tedavide kullanılmaya başlanmasından itibaren, hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde, önemli rol oynamışlardır. Bununla birlikte, bakterilerde direnç sorununun ortaya çıkması ve giderek artması tedaviyi zorlaştırmıştır. Enterokoklar, özellikle sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlar olmak üzere, çeşitli enfeksiyonların etkenidirler. Enfeksiyonların tedavisinde sık kullanılan birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençli olan enterokoklarda, son yıllarda artan glikopeptit direncinden dolayı, tedavi seçenekleri kısıtlanmaktadır. Oksazolidinon grubu antibiyotiklerin ilk üyesi olan linezolid, özellikle vankomisine dirençli enterokokların sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde önemli bir antibiyotiktir. Fakat son yıllarda klinik enterokok suşlarında giderek artan oranlarda linezolid direnci rapor edilmektedir.

Bu çalışmada, 2022-2023 yılları arasında İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinde yatan hastaların rektal sürüntü örneklerinden izole edilen 50 VRE suşunda linezolidin etkinliği disk difüzyon, E-test ve mikrodilüsyon metodları ile araştırılmıştır. Enterokok suşlarının tür tanımlaması GP24 Diagnostics kiti ile yapılmıştır.

Çalışmamızda, suşların 48'i (%96) *Enterococcus casseliflavus* ve 2 (%4) suş *Enterococcus faecium* olarak tanımlanmıştır. Linezolid MİK<sub>50,90</sub> değerleri sırasıyla mikrodilüsyon metodu 2, 2 µg/ml ve E-test metodu ile 2, 3 µg/ml olarak saptanmıştır. Disk difüzyon, E-test ve mikrodilüsyon metodları ile tüm suşlar (%100) linezolide duyarlı olarak tespit edilmiştir. Linezolid VRE enfeksiyonları tedavisinde önemli bir antimikrobiyal ajandır. Direnç gelişmemesi için gereksiz kullanımın önlenmesi ve yeterli tedavi sürelerinde kullanılması önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** Vankomisine dirençli enterokoklar, Linezolid, Disk difüzyon, Mikrodilüsyon, E-test

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 39355

## ABSTRACT

Eyüp, BS. (2023). Investigation of The Effect of Linezolid Against Vancomycin-Resistant Enterococci by Various Methods. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Microbiology. Master Thesis. İstanbul.

Antibiotics have played an important role in the prevention and treatment of diseases since they began to be used in treatment. However, the emergence and gradual increase of resistance in bacteria have made treatment difficult. Enterococci are the causative agents of various infections, primarily healthcare-associated infections. In enterococci, which are naturally resistant to many antibiotics commonly used in the treatment of infections, treatment options are limited due to the increasing glycopeptide resistance in recent years.

Linezolid, the first member of the oxazolidinone group of antibiotics, is an important antibiotic, especially in the treatment of infections caused by vancomycin-resistant enterococci. However, in recent years, increasing rates of linezolid resistance have been reported in clinical enterococci strains.

In this study, the efficacy of linezolid in 50 VRE strains isolated from rectal swab samples of patients hospitalized in various clinics of Istanbul Medical Faculty Hospital's between 2022 and 2023 was investigated by disc diffusion, E-test, microdilution methods. Species identification of *Enterococcus* was made with the GP24 Diagnostics kit.

In our study, 48 (96%) strains were identified as *Enterococcus casseliflavus* and 2 (4%) as *Enterococcus faecium*. The MIC<sub>50,90</sub> of linezolid were determined as 2, 2 µg/ml by microdilution and 2, 3 µg/ml by E-test method, respectively. All strains (100%) were determined to be susceptible to linezolid by disc diffusion, E-test, microdilution method. Linezolid is an important antimicrobial agent in the treatment of VRE infections. It is important to prevent unnecessary use and to use it for adequate treatment periods so that resistance does not develop.

**Key Words:** Vancomycin-resistant enterococci, Linezolid, Disc diffusion, Microdilution, E-test

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 39355

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlar (Healthcare-associated infections, HCAIs) olarak bilinen nozokomiyal enfeksiyonlar, ilk kez hastaneye yatıştan 48 saat veya daha uzun süre sonra ve sağlık hizmeti aldıktan sonraki 30 gün içinde ortaya çıkan, hastane veya sağlık hizmeti biriminde edinilmiş enfeksiyonlardır (1).

Enterokoklar, insanların ve diğer birçok hayvanın bağırsaklarında yaşayan önemli komensal bakterilerdir (2). Enterokoklar, sağlık hizmeti ortamlarında hastalarda kan dolaşımı, cerrahi bölge ve idrar yolu enfeksiyonları dahil olmak üzere ciddi enfeksiyonlara neden olabilir (3). Enterokoklar, çeşitli antimikrobiyallere (örn., penisilin, ampisilin ve çoğu sefalosporinler) karşı doğal-işsel dirençleri ve hızla virülans ve çoklu ilaç direnci belirleyicileri kazanma kapasiteleri nedeniyle önemli nozokomiyal patojenler olarak kabul edilirler (4).

Çoklu ilaca dirençli enterokoklar, özellikle ciddi hasta ve bağışıklığı baskılanmış hastalar arasında, sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonların nedensel bir ajanı olarak artan bir prevalansta ortaya çıkmaktadır (5). Birçok antibiyotiğe karşı işsel dirençleri ve vankomisine direnç kazanmaları, bu organizmaların neden olduğu enfeksiyonlar için mevcut terapötik seçeneklerin hızla azalmasında önemli bir rol oynar (6).

Standart antibiyotiklere direncin giderek yaygınlaştığı mevcut ortamda, linezolid, çoklu ilaca dirençli stafilokoklar ve enterokoklar da dahil olmak üzere, klinik olarak önemli bir dizi gram-pozitif koka karşı etkinliği nedeniyle önemli bir ilaçtır (7).

Sentetik bir oksazolidinon antibiyotik olan linezolid, gram pozitif koklara karşı yeni bir tedavi seçeneği olarak ilk kez 2000 yılı başlarında piyasaya sürülmüştür (6). Linezolid, oksazolidinonların klinik kullanım için mevcut olan tek üyesidir. Organizma ve linezolid konsantrasyonuna bağlı olarak protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik veya bakterisidal etki gösteren sentetik bir antibiyotiktir. Linezolid, stafilokoklar, streptokoklar (*Streptococcus pneumoniae* dahil) ve enterokokların neden olduğu nozokomiyal pnömoni, toplum kökenli pnömoni ve komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisi için uygundur, özellikle bu organizmalar diğer uygun antimikrobiyal ajanlara dirençliyse (8).

Linezolidin klinik kullanımının başlamasından sonra enterokokların klinik izolatlarında düşük oranda da olsa direnç oluşmaya başlamış ve bu direncin daha önceki linezolid kullanımına ve tedavi süresine bağlı olduğu bulunmuştur (6).

Linezolide karşı klinik izolatlarda direnç gelişimi, bu ajan için duyarlılık testlerine daha fazla dikkat gösterilmesini sağlamalı ve bu ilacın terapötik kullanımı göz önünde bulundurularak dikkate alınmalıdır (7).

Bu çalışmada, 2022-2023 yılları arasında İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesinde hastaların rektal sürüntü örneklerinden izole edilen VRE suşlarında linezolidin in vitro etkinliğinin disk difüzyon, E-test ve mikrodilüsyon yöntemleri ile araştırılması ve böylece linezolidin VRE suşlarına etkinliğinin kalitatif ve kantitatif yöntemler ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Enterokoklar

#### 2.1.1. Tarihçe

Enterokoklar çok öncelerden var olan eski bir cinstir. *Enterococcus* cinsi, önceleri *Streptococcus* cinsi içinde gruplandırılmıştır. 1984 yılında 16S rRNA'nın dizi farklılığından dolayı *Enterococcus* cinsi olarak adlandırılmıştır. Enterokoklar, insanların, hayvanların ve böceklerin bağırsağında ve bu organizmaların yaşadığı bitkide, toprak ve suda yaşarlar (9). *Streptococcus faecalis* ismi ilk olarak Andrewes ve Horder tarafından, endokarditli bir hastadan izole edilmiş organizma için kullanılmıştır (10). Birinci Dünya Savaşı'nda, bu organizmanın kolonize olup olmadığı veya gerçekten enfeksiyona neden olup olmadığı tam olarak belirlenmemiş olsada, bazı yazarlar enterokoklar tarafından meydana gelen yara enfeksiyonları bildirmiştir. Bu yıllarda bildirilen diğer enterokok enfeksiyonları osteomyelit, kolesistit ve diş enfeksiyonunu içerir (10).

Antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesi, muhtemelen 20. yüzyılın en büyük tıbbi gelişmesi olmuştur. Bununla birlikte, bu değerli bileşiklerin yanlış kullanımı, antimikrobiyal direncin (AMR) hızlı bir şekilde artmasına ve bazı enfeksiyonların tedavi edilememesine neden olmuştur (11).

#### 2.1.2. Genel Özellikleri

Enterokoklar, insanların ve omurgasızlar dahil diğer birçok hayvanın bağırsağında kommensal olarak yaşayan önemli bakterilerdir. Yenidoğanlarda ilk kolonize olan bakterilerdir ve erişkin sağlıklı bağırsak mikrobiyotasının önemli bir bölümünü oluştururlar (2).

*Streptococcus* ve *Enterococcus* cinsi, tipik olarak çiftler veya zincirler halinde düzenlenmiş çeşitli gram pozitif koklardır. Çoğu fakültatif anaerobtur, bazıları yalnızca karbondioksitle zenginleştirilmiş bir atmosferde ürer (kapnofilik üreme). Besin gereksinimleri karmaşıktır ve izolasyon için kan veya serumla zenginleştirilmiş ortamların kullanılmasını gerektirir. Karbonhidratlar fermente edilir, laktik asit üretimi ile sonuçlanır ve *Staphylococcus* türlerinden farklı olarak streptokoklar ve enterokoklar katalaz negatiftir. *Streptococcus* ve *Enterococcus* cinsi en sık izole edilen ve insan hastalığından en yaygın olarak sorumlu olan bakterilerdir (12).

En sık izole edilen ve klinik olarak önemli türler *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur. *Enterococcus gallinarum* ve *Enterococcus casseliflavus* ayrıca insan bağırsak florasında yaygın olarak bulunur ve bu türler intrinsik olarak vankomisine dirençli oldukları için önemlidir (12). *Enterococcus gallinarum* ve *Enterococcus casseliflavus/flavescens*, *E. gallinarum* grubuna ait, vankomisine intrinsik olarak dirençli enterokoklardır. Esas olarak sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonlardan, özellikle kan, idrar yolu ve cerrahi yara enfeksiyonlarından sorumludurlar. Plazmidlerin neden olduğu *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un vankomisin direncinden farklı olarak, intrinsik vankomisin direnci vardır ve farklı enfeksiyon kontrol sorunları ortaya çıkarır. *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus/flavescens* enfeksiyonu veya kolonizasyonu vakalarında enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanması, özellikle salgınlar veya potansiyel bir bulaşıcı vankomisine direnç fenotipi barındırdığı varsayılan izolatlar için vaka bazında değerlendirilmelidir (13). *Enterococcus* cinsinin üyeleri, zorlu koşullar altında hayatta kalabilen ve değişen her ortama hızla uyum sağlayabilen çok yönlü mikroorganizmalar olarak bilinir. Biyolojik yapıları, mutasyonlara ve yüksek oranda DNA rekombinasyonuna izin verir. Bu da değişen şartlarda hayatta kalmayı kolaylaştırır. 1980'lerin ortalarından, yani vankomisin direnci ilk kez klinik *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarında ortaya çıktığından bu yana, enterokokların önemi giderek artmıştır. Hastane ortamından izole edilen vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşlarının çoğu, yüksek MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyonu) değerlerine sahiptir. *E. faecium* ve *E. faecalis* genellikle aminoglikozitlere karşı yüksek düzeyde dirençlidir (HLAR). Bu nedenle, oksazolidinonlar (Linezolid, tedizolid), yeni tetrasiklinler (tigesiklin) ve lipopeptidler (daptomisin) dahil olmak üzere sadece birkaç terapötik seçenek, çoklu ilaca dirençli VRE enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilir. Birçok ülkede ve sağlık bakımı ortamlarında VRE'nin artan prevalansı, bu tür son çare antibiyotiklerin yoğun kullanımı ve enterokokların direnç kodlayan yeni DNA fragmanlarını kolayca elde etme yeteneği, bu bileşiklere direnç geliştirmek için seçici baskıyı arttırmaktadır. Enterokokların yüksek rekombinasyon hızına sahip genetik yapısı ve genom içinde mobil genetik elementlerin sıklıkla ortaya çıkması, yeni direnç fenotiplerinin oluşmasına sebep olur ve doğal yaşam alanlarına kolay uyum göstermelerini sağlar (2).

### 2.1.3. Sınıflandırma

1937'de Sherman, streptokokları dört kategoriye ayırmıştır. Sherman'ın dört kategorisi şunlardı; piyojenik streptokoklar, viridans streptokoklar, laktik streptokoklar ve enterokoklar. Piyojenik streptokoklar, tanımlanmış grup antijenleri (A, B, C, E, F ve G) ile beta-hemolitik suşları içermektedir. Streptokokların bu bölümü, günümüzün serogruplamaya dayalı tanımlama sistemleri ile tanımlanabilmektedir. Sherman'ın viridans bölümü, beta-hemolitik olmayan, yüksek pH büyüme koşullarına, tuza toleransı olmayan ve 10°C'de üremeyen streptokok türlerini içerir. Laktik streptokoklar, öncelikle süt ve süt ürünleri üretimi ile ilişkili suşları içeriyordu. İnsan enfeksiyonları ile ilişkili değildiler. Laktik streptokoklar, 1980'lerin ortalarında *Lactococcus* cinsi olarak yeniden sınıflandırıldı. Sherman'ın dördüncü bölümü enterokok olarak adlandırılmıştır. Enterokokların bazıları beta-hemolitik olmasına rağmen, yüksek pH, yüksek tuz konsantrasyonları ve geniş bir sıcaklık aralığında (10 ila 45 °C) üreme kapasitesi gibi özellikleri ile diğer üç bölümden ayırmıştır (14). Enterococcus cinsi, kimyasal ve fiziksel ajanlara karşı daha yüksek dirençleri ile ayırt edilen ve serolojik grup D streptokokların çoğunu barındıran *Streptococcus* cinsi içinde ayrı bir kategori olarak kabul edildiler (15). Enterococcus türlerinin taksonomisi, 1980'lerin ortalarından bu yana önemli bir değişime uğramıştır. Taksonomik analizler için genetik tekniklerin yaygın olarak kullanılmasından önce enterokoklar, 10°C ve 45°C'de üreme, %6.5 sodyum klorür (NaCl) varlığında üreme, pH 9.6'da üreme, %40 safra varlığında eskulini hidroliz etme yeteneği ve pyrolidinil arilamidaz üretmesi ile streptokoklardan ve ilgili taxonlardan ayırt edilmiştir (16). Moleküler yöntemlerin tanıtılmasından sonra, enterokoklar, 1984 yılında *Streptococcus* cinsinin bölünmesi ve *Enterococcus*'un ayrı bir cins olarak tanınmasıyla başlayan önemli taksonomik değişikliklere uğramıştır. *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium*, sırasıyla *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* olarak yeni cinse aktarılan ilk türler olmuştur. Daha sonra, daha önceki diğer streptokok türleri ve alt türleri transfer edilmiş ve *Enterococcus* cinsinin üyeleri olarak yeni isimler almışlardır. Moleküler tekniklerin kullanımı, enterokokların sınıflandırılmasında önemli gelişmelere yol açmıştır. 16S rRNA geninin kısmen veya neredeyse tamamının dizilenmesi, enterokok türlerinin tanımlanmasını gerçekleştirmiştir (15).

#### 2.1.4. Fizyoloji Ve Yapı

Enterokoklar, tipik olarak çiftler ve kısa zincirler halinde düzenlenmiş gram pozitif koklardır. Koklar hem aerobik hem de anaerobik olarak geniş bir sıcaklık aralığında (10°C ila 45°), geniş bir pH aralığında ve yüksek konsantrasyonlarda NaCl ve safra tuzlarının varlığında ürer. Glikoz fermentasyonu sonunda laktik asit oluşur. Bundan dolayı, enterokoklara laktik asit bakterileri denir. Zenginleştirilmiş koyun kanlı agarda, 24 saatlik inkübasyondan sonra, hemolitik olmayan,  $\alpha$ -hemolitik veya nadiren  $\beta$ -hemolitik görünen büyük koloniler şeklinde ürerler (12).

#### 2.1.5. Patogenez

Enterokoklar, stafilokoklar veya streptokoklar gibi geniş virülans faktörleri yelpazesine sahip olmamasına rağmen, antibiyotiklere dirençli suşlarla hayatı tehdit eden hastalıklara sebep olması nedeniyle önemli bakterilerdir. Hastanede yatan hastalarda ciddi enfeksiyonlara sebep olabilirler. Virülansa iki genel özellik aracılık eder; bunlar dokulara tutunma ve biyofilm oluşturma yeteneği ile antibiyotik direncidir. Yüzey proteinleri, membran glikolipidleri, jelatinaz ve pili dahil olmak üzere yapışma ve biyofilm oluşumuna aracılık eden bir dizi faktör tanımlanmıştır. Ek olarak, enterokoklar ya yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe (örn., oksasilin, sefalosporinler) doğal olarak dirençlidir ya da edinilmiş direnç genlerine (örn., aminoglikozitlere, vankomisin) sahiptir (12). Çoklu ilaca dirençli enterokok enfeksiyonu sorununun büyük bir kısmına *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'un farklı suşları neden olur. Hastaneye adapte olmuş, çoğul ilaç direncine sahip *E. faecalis* suşları (kökenleri) CC2, CC9, CC28 ve CC40 multilokus klonal kümelerini kapsar/içerir. Bu durumda, bu kökenleri (suşları) kommensal *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarından ayıran özellik nedir? Her iki türde de çeşitli/farklı özellikler hareketli elementler üzerinde kodlanmıştır ve bundan dolayı da genomlar kommensal suşların genomlarından önemli ölçüde uzundur. Hastane şartlarına uyum sağlamış klonal kökenlerin (suşların) aynı zamanda hastadan hastaya üstün bulaşma yetenekleri vardır ve diğerlerinden daha kolay bulaşırlar. *E. faecalis* suşunda agregasyon maddesi (AS) olarak adlandırılan bir protein, antibiyotik dirençli plazmitler tarafından kodlanır. AS, çeşitli enfeksiyonları şiddetlendirmesi bakımından önemli bir enterokokal virülans faktörüdür. AS, *E. faecalis*'in yüzey proteini. Dokularda ve tıbbi cihazlarda bakteriyel tutunma ve kalıcılık ile sonuçlanan biyofilm oluşumuna katkıda bulunur (9). *E. faecalis* suşlarının %30'u insana ve tavşana etki eden hücre dışı bir

sitolizin/hemolizin üretir. Bu sitolizin/hemolizin, makrofajlar ve polimorfonükleer nötrofiller dahil olmak üzere bir dizi ökaryotik hücre tipi için öldürücüdür (16). Sitolizin, hemen hemen tüm Gram pozitif bakteri türlerine karşı etkili olan geniş ölçüde aktif bir bakteriyosindir. AS gibi sitolizin de hem klinik hem de diğer *E. faecalis* suşlarında bulunur. Enterokoklarda diğer bir virülans faktörü çoklu ilaca dirençli, hastaneye uyum sağlamış enterokok suşlarında muhtemelen diğer seçici baskılara yanıt olarak gelişen bir faktör, yüzey proteini Esp (Ekstraselüler yüzey proteini)'dir. Esp, hem *E. faecalis* hem de *E. faecium*'un önde gelen hastane suşlarında yer alır. *S. aureus* ve enterokoklarda Esp, dokularda tutunmasını ve biyofilm oluşumunu destekler. Bu bağlanma bakterinin enfeksiyon bölgelerinde kalıcılığına ve hayatta kalmasına katkıda bulunur (9). *E. faecalis* ve *E. faecium*, Espfs ve Espfm olarak adlandırılan ve organizmaların hücre yüzeyinden geri çekilebilme yetenekleriyle antikorlardan kaçmalarını sağlayan benzersiz bir yüzey proteini üretir. Bu moleküller, biyofilm oluşumunda yer alır ve hayvan modellerinde endokardit ve idrar yolu enfeksiyonlarının patogeneğinde rol oynar. Salgılanan diğer enterokokal virülans faktörleri arasında iki proteaz bulunur: gelatinase (GelE) ve hücre dışı serin proteaz (SprE). GelE proteaz, konak doku proteinlerini bozar ve ayrıca enterokokal otolizin aktivasyonunda ve biyofilmin oluşmasında katkı sağlar. Enterokok hücre yüzeyinde ayrıca pili bulunur, bağlanma ve biyofilm oluşumunda rol oynar. *E. faecalis*'te, cps (kapsüler polisakkarit) lotus, Lipoteikoik asitler (LTA) ve Epa (enterokokal polisakkarit antijeni) tarafından kodlanan hücre yüzeyi ile ilişkili polisakkaritler, bu organizmaların kompleman aracılı opsonizasyona ve fagositoza direnci sağlar, organizmanın konakta yayılmasını kolaylaştırır, hücre zarları boyunca yer değiştirmesini kolaylaştırır, enterokokal üriner sistem ve peritoneal enfeksiyonların patogeneğinde rol oynar (16).

#### 2.1.6. Klinik Tablo

Enterokoklar, özellikle hastanede yatan hastalarda önemli patojenlerdir ve nozokomiyal enfeksiyonların en yaygın nedenlerinden biridirler. Sıklıkla üriner sistem enfeksiyonlarına yol açarlar ve enfeksiyonlar sıklıkla üriner kateterizasyon veya enstrümantasyon ile ilişkilidir. Bu enfeksiyonlar asemptomatik, karmaşık olmayan sistit veya piyelonefritle ilişkili sistit şeklinde görülürler. Enterokoklar, idrar yolundan, peritondan veya lokalize bir yara enfeksiyonundan kana geçebilirler. Ayrıca, enterokokal bakteriyemi, enterokokal endokarditten çok daha yaygındır. Endokardit olmaksızın

enterokokal bakteriyemi nedeni genellikle üriner sistemdir. Karın içi, safra, pelvik ve yaradan kaynaklanan enfeksiyonlarda yaygındır (10). Enterokok türleri komplike idrar yolu enfeksiyonuna, bakteriyemiye, endokardite, karın içi ve pelvik enfeksiyonlara, yara ve yumuşak doku enfeksiyonlarına, yenidoğan sepsisine ve nadiren meningite neden olur (16). Endokardit özellikle ciddi bir enfeksiyondur çünkü birçok enterokok en sık kullanılan antibiyotiklere dirençlidir (12). Enterokoklar ayrıca tüm endokardit vakalarının %5 ila %20'sine neden olur ve incelenen hasta popülasyonuna bağlı olarak bu enfeksiyonun ikinci veya üçüncü en yaygın nedenidir (16). Nozokomiyal enterokok enfeksiyonlarının çoğunda, organizmanın hastanın florasından mı kaynaklandığı yoksa hastaneye yatıştan sonra mı edinildiği bilinmemektedir. Enterokoklar, hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli nedenlerinden biridir (10).

### 2.1.7. Laboratuvar Tanısı/İdentifikasyon

Enterokoklar, kanlı agar ve çikolata agar gibi seçici olmayan besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. Gram boyalı örneklerde *S. pneumoniae*'ye benzesede, organizmalar basit biyokimyasal reaksiyonlar temelinde kolayca ayırt edilebilir. Örneğin enterokoklar optokine dirençlidir (*S. pneumoniae* duyarlıdır), safraya maruz kaldıklarında erimezler (*S. pneumoniae* erir) ve L-pyrolidonil arilamidaz (PYR) enzimi üretirler. PYR testi, yaygın olarak gerçekleştirilen bir “5 dakikalık nokta” testidir. Çiftler ve kısa zincirler halinde düzenlenmiş katalaz negatif, PYR pozitif koklar enterokok olarak tahmin edilebilir. *E. faecalis*, *E. faecium* ve diğer *Enterococcus* türleri arasında ayırım yapmak için fenotipik özellikler (örn. pigment üretimi, hareketlilik), biyokimyasal testler ve nükleik asit diziliminin belirlenmesi gereklidir (12).

*Enterococcus* cinsinin üyeleri, tek tek veya çiftler halinde veya kısa zincirler halinde düzenlenen Gram pozitif, katalaz negatif koklardır. Gram boyalar katı ortamdaki büyümeden hazırlandığında hücreler bazen kokobasildir. 24 saat boyunca kanlı agar besiyerinde üremeden sonra, bazı varyantlar daha küçük görünebilse de kolonilerin çapı genellikle 1 ila 2 mm arasındadır. *E. faecalis* izolatlarının bazıları (yaklaşık üçte biri) tavşan, at veya insan kanı içeren agarda beta-hemolitik olabilirken koyun kanı içeren agarda hemolitik olmayabilir. Diğer tüm türler genellikle alfa hemolitikdir veya hemolitik değildir. Enterokoklar, glukoz fermantasyonunun son ürünü olarak laktik asit üretimi ile sonuçlanan fermentatif metabolizmaya sahip fakültatif anaeroblardır. Çok çeşitli karbonhidratları laktik aside fermente etme yetenekleri nedeniyle enterokoklar tipik

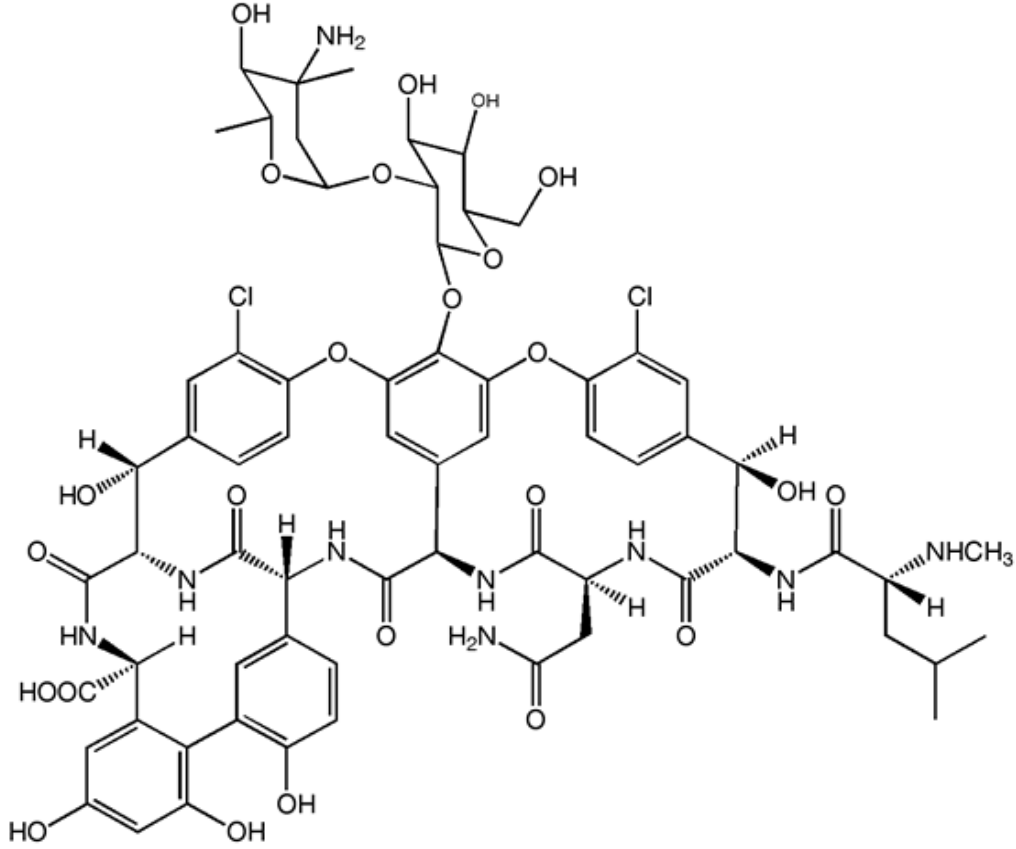
laktik asit bakterileri (LAB) olarak adlandırılır. Bu mikroorganizmalar genellikle 10 ila 45°C arasında değişen sıcaklıklarda ve 35 ila 37°C'de optimum büyüme gösterirler. Türlerin çoğu %6.5 NaCl içeren et suyunda ürer ve safra tuzlarının varlığında eskülini hidrolize eder. Çoğu enterokok, pyrolidonil arilamidaz enzimi (PYRase) üreterek L-pirolidonil-b-naftilamidi hidrolize eder. Çoğu enterokokal suş, Lancefield'in serolojik grup D antijeni olarak tanımlanan hücre duvarı ile ilişkili bir gliserol teikoik asit üretir (15). PYRase aktivitesi, Grup A streptokokları ve enterokokları, Grup D streptokoklar dahil olmak üzere diğer streptokok gruplarından ayırır (17,18).

### 2.1.8. Tedavi

Enterokok enfeksiyonlarını önlemek ve kontrol etmek zordur. Antibiyotik kullanımının dikkatli bir şekilde kısıtlanması ve uygun enfeksiyon kontrol uygulamalarının uygulanması bu bakterilerle kolonizasyon riskini azaltabilir, ancak enfeksiyonların tamamen ortadan kaldırılması olası değildir. Ancak, bir hasta kolonize olduktan sonra vankomisine dirençli *E. faecium* veya *E. faecalis* suşunu yok etmek son derece zordur. Ampisilin, vankomisin veya aminoglikozitlere dirençli enterokokları tedavi edebilen daha yeni antibiyotikler geliştirilmiştir. Bunlar Linezolid, daptomisin, tigesiklin ve kinopristin/dalfopristindir (12). Son zamanlarda, ampisiline dirençli enterokok suşları için en çok kullanılan antibiyotik olan vankomisine direnç ortaya çıkmıştır. Hastaneler farklılık gösterse de yoğun bakım ünitelerinden izole edilen enterokoklarda ortalama vankomisin direnç oranı %20 civarındadır. Enterokoklar intrinsek olarak sülfonamidlere dirençlidir ve sıklıkla tetrasiklinlere ve eritromisinede dirençlidir. Suş vankomisine dirençli ise linezolid tedavide önemli bir alternatiftir (19).

## 2.2. Vankomisin Dirençli Enterokoklar

### 2.2.1. Vankomisin



Şekil 2-1: Vankomisin kimyasal formülü

Klinik kullanım için geliştirilen ilk glikopeptid antibiyotik olan vankomisin, 1950'lerin ortalarında Borneo'dan bir toprak örneğinde bulunan *Amycolatopsis orientalis*'ten (önceden *Streptomyces orientalis* olarak biliniyordu) izole edilmiştir. Vankomisin, trisiklik yapıyı oluşturan yedi üyeli bir peptit zincirinden, amino şeker vankozamin ve glukozdan oluşan bağlı bir disakkarit içeren kompleks bir trisiklik glikopeptiddir. Molekül ağırlığı 1485.73 Da'dır (20). Vankomisin, bakteri hücre duvarındaki peptidoglikanların polimerizasyonunu inhibe ederek bakterisidal etkisini gösteren bir glikopeptid antibiyotiktir. Bakteriyel hücre duvarı, uzun N-asetilmuramik asit (NAM) ve N-asetilglukosamin (NAG) polimerlerinden oluşan oldukça çapraz bağlı bir yapıya sahip sert bir peptidoglikan tabakası içerir. Vankomisin, D-alanil D-alanin'e bağlanır, böylece peptidoglikan tabakası içinde NAM ve NAG'ın sentezini ve

polimerizasyonunu önler. Bu inhibisyon bakteri hücre duvarlarını zayıflatır ve sonuçta hücre içi bileşenlerin sızmasına neden olarak bakteriyel hücre ölümüyle sonuçlanır. Vankomisin sadece gram-pozitif bakterilere karşı etkilidir (21). Vankomisin, hücre duvarı öncülerinin D-alanil-D-alanin terminaline bağlanarak enterokokları inhibe eder ve bakteri hücre duvarı sentezini engeller. Bu terminalin amino asit bileşimi değişirse, vankomisin çok daha düşük afinite ile bağlanır ve direnç gelişir (22).

### 2.2.2. Vankomisin Direnci

Enterokoklarda yüksek ve düşük düzeyde vankomisin direnci oluşabilir (22). Yüksek düzeyde vankomisin direnci (MIC 64 ila 1.000 mg/L) ilk olarak 1988'de, vankomisinin ilk klinik kullanımından 30 yıl sonra, vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) izole edildiğinde keşfedildi (23). Düşük seviyeli vankomisin direnci (*VanC*), nispeten virülan olmayan 2 türle sınırlıdır: *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus*. Yüksek seviyeli direnç (*VanA* ve *vanB* genleri tarafından kodlanan) daha problemlidir, sıklıkla birden fazla antibiyotik sınıfına dirençle ilişkilendirilir. Vankomisine dirençli gen kümelerinin plazmidler veya transpozonlar biçiminde transferi, farklı enterokok suşları arasında hatta enterokoklar ve diğer bakteri türleri arasında gerçekleşebilir (22).

Enterokoklar arasında, dokuz tip glikopeptid direnci tanımlanmıştır (*VanA*, *VanB*, *VanC*, *VanD*, *VanE*, *VanG*, *VanL*, *VanM* ve *VanN*) (20).

*VanA* ve *VanB* direnç genotipleri, dünya çapında klinik *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatlarında açık ara en sık bulunan varyantlardır. *VanA* gen kümesi (Tn1546 transpozon tarafından taşınır) esas olarak plazmit yerleşimlidir, oysa *vanB* gen kümesi (bütünleştirici konjugatif elementler Tn1549-Tn5382'nin üyeleri tarafından taşınır) genellikle bakteri kromozomunda bulunur (2).

### 2.2.3. VRE Enfeksiyonlarından Tedavi

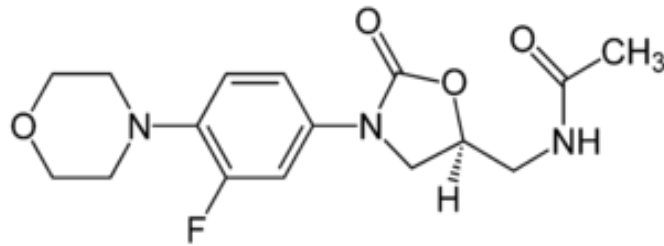
İdrar kültürlerinde VRE üremesi genellikle kolonizasyondur veya asemptomatik bakteriüriyi temsil eder. Bu gibi durumlarda antibiyotik tedavisi gerekli değildir. Antimikrobiyal tedavi, VRE'nin neden olduğu endokardit, menenjit ve bakteriyemi için gereklidir. VRE'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için birkaç antibiyotik mevcuttur. VRE enfeksiyonlarının tedavisi, vankomisine duyarlı enterokokların (VSE) neden olduğu enfeksiyonlardan daha zordur. VRE'ye karşı aktif olan antibiyotikler daha

pahalıdır ve linezolid dışında sadece intravenöz olarak uygulanabilirler. VRE enfeksiyonu için onaylanan ilk antibiyotik kinapristin/dalfopristin (Synercid) olmuştur. Dar spektrum (yalnızca *E. faecium*'a karşı etkili, *E. faecalis*'e karşı etkili değil) ve sık görülen yan etkileri, özellikle miyalji, artralji ve infüzyon yerinde enflamasyon nedeniyle kullanımı büyük ölçüde bırakılmıştır. Linezolid, çeşitli dokulara (BOS dahil) iyi nüfuz eder ve oral formda bulunur. Öte yandan, linezolid pahalıdır ve uzun süreli kullanımdan sonra kemik iliği baskılanmasına neden olabilir. Anti-VRE aktivitesine sahip diğer antibiyotikler arasında daptomisin ve tigesiklin bulunur (22).

### 2.3. Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci

Enterokokların çeşitli antimikrobiyal ajanlara direnci, patojenitelerine önemli ölçüde katkıda bulunur. Direnç genleri, çoklu antibiyotik direnç genleri taşıyan plazmitleri ve transpozonları içeren konjugatif transfer mekanizmalarıyla kazanılır. Enterokoklar, aminoglikozidlere karşı intrinsik, düşük seviyeli direnç gösterirler. Yüksek seviyeli aminoglikozit modifiye edici enzimi kodlayan bir transpozondan kaynaklanır. Bu enzimler, aminoglikozid molekülünün yapısını değiştirerek ilacın ribozomal hedefine bağlanmasının azalmasına neden olur. Aminoglikozidlere karşı yüksek düzeyde dirençli enterokok suşları bakteriyemi, endokardit ve diğer ciddi enfeksiyonlara sahip hastaların terapötik yaklaşımını ve klinik yanıtını önemli ölçüde değiştirir (16).

### 2.4. Linezolid



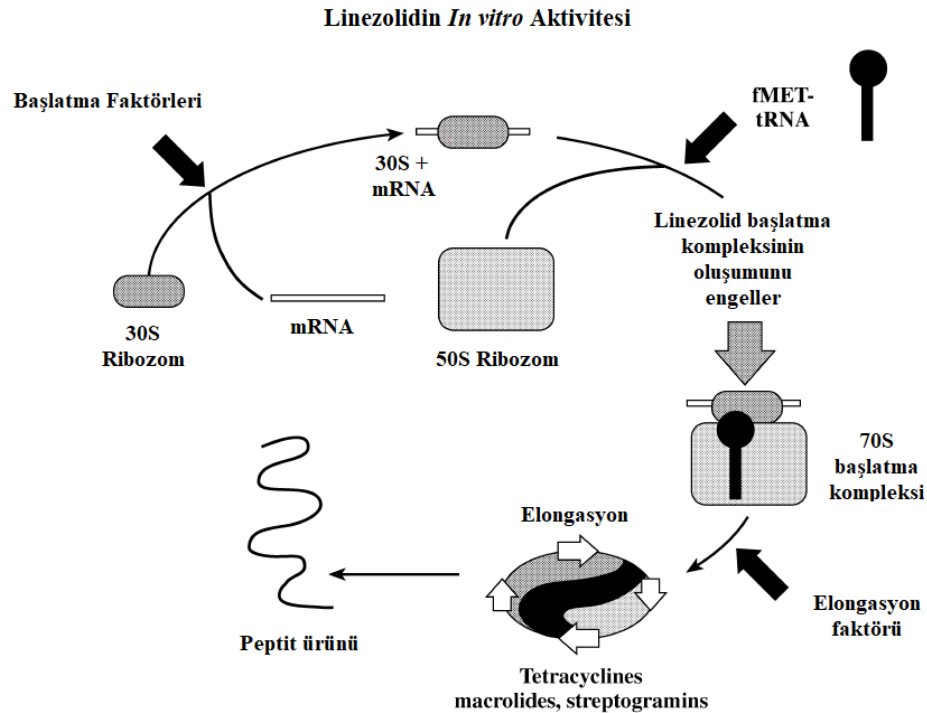
Şekil 2-2: Linezolid kimyasal formülü

Oksazolidinonlar, sülfanamid ve florokinolonların ardından yeni bir sentetik antimikrobiyal ilaç sınıfını içerir. Linezolid geliştirilen ilk farmakolojik olarak aktif bileşik ve klinik kullanım için onaylanan ilk sentetik oksazolidinondur. 2007 yılında klinik uygulamada kullanılmaya başlanmıştır. Linezolid esas olarak metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), VRE ve *Streptococcus pneumoniae*'ye bağlı ciddi enfeksiyonlar için kullanılmıştır (24).

### 2.4.1. Linezolid Etki Mekanizması

Linezolid esas olarak bakteride protein sentezinin başlangıç fazını hedefler, ancak protein sentezi sırasında peptit zincirinin uzamasını veya sonlandırılmasını etkilemez. Linezolid, *Staphylococcus* ve *Streptococcus* türlerinde bakterisidal etki gösterir, ancak *Enterococcus* türlerine bakteriyostatik etkilidir. Ek olarak, zaman-sterilizasyon eğrisinin sonuçlarına göre linezolidin etkinliğinin zamanla ilişkili olduğu bildirilmiştir; yani, ilacın sürekli kullanımı etkinliğin iyileştirilmesine yardımcı olabilir. Linezolidin bazı stafilokokları ve enterokokları %100 inhibe ettiği bildirilmiştir (24).

Oksazolidinonlar, prokaryotik ribozomun 50S alt ünitesinde peptidiltransferaz enzimine bağlanarak, ribozomun 30S alt birimi, mRNA, başlatma faktörleri ve formilmetionil-tRNA (tRNA<sup>fmet</sup>) ile kompleks oluşturmasını engeller. Böylece, protein sentezi için fonksiyonel bir başlatma kompleksi oluşamaz ve protein sentezi inhibe olur (25).



**Şekil 2-3: Linezolidin in vitro aktivitesi**

### 2.4.2. Linezolid Direnci

Enterokoklarda linezolid direncinin en yaygın mekanizması 23S rRNA'da G'nin (Guanin) 2576 pozisyonunda T'ye (timin) dönüşümüdür. L3, L4 ve L22 ribozomal proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar, amino asit değişikliklerine ve ardından translasyonun bozulmasına yol açar. *Cfr* geni, 23S rRNA'daki A2503 nükleotidinin transkripsiyon sonrası metilasyonunu katalize eden bir metiltransferazı kodlar. *optrA* ve *poxtA* yakın zamanda ortaya çıkmış efluks pompası genlerine ait yeni mekanizmalardır (26).

Antibiyotikler, klinikte uygulanmaya başlanmasından itibaren hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde önemli rol oynamışlardır. Bununla birlikte, bakteriyel direnç sorunu yavaş yavaş ortaya çıkmış ve giderek artarak klinik tedaviyi zorlaştırmaktadır. Uzun süre ve kötüye kullanım gibi uygunsuz antibiyotik kullanımı nedeniyle, bakteriyel direncin gelişimi hızlanmış ve çoklu ilaca dirençli (MDR) suşların hızla yayılmasına neden olarak, hastalık tedavisinin zorluğunu daha da arttırmış ve halk sağlığı için potansiyel bir tehdit oluşturmuştur. Oksazolidinonlar, esas olarak bakteriyel proteinlerin sentezini inhibe ederek antibakteriyel etki sağlar. Oksazolidinon genellikle Gram pozitif bakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyonlar için, özellikle MRSA, VRE ve *Streptococcus pneumoniae* gibi MDR bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavilerinde kullanılır. İlaç direncinin temel nedeninin ilacın aşırı kullanımı olduğu öne sürülmüştür (24). 2015 yılında Çinli araştırmacılar ilaca direnç geni *optrA*'yı keşfetmişlerdir (27). 2000 yılında, ilacın piyasaya girmesinden sadece bir yıl sonra, linezolide dirençli suşlar ortaya çıkmıştır. Böylece, linezolide dirençli MRSA'nın ilk klinik suşu 2001 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde rapor edilmiştir. Bu suş 23S rRNA alan V bölgesinde bir G2576T nokta mutasyonuna sahipti. Günümüzde linezolid direncinin nedeninin ilacın klinik olarak aşırı kullanımı ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır. 23S ribozomal RNA genindeki mutasyonlar 23S rRNA geninin V bölgesi, linezolidin etki bölgesinin bulunduğu yer olduğundan, bölgedeki nokta mutasyonları esas olarak bakteriyel dirençle sonuçlanır. Bunlar arasında, 23S rRNA genindeki 2576 pozisyonu, bulunan ilk mutasyondur. Ayrıca 23S rRNA genlerinde T2500A, G2603T, G2215A gibi bazı nokta mutasyonları, C2534T, G2766T, T2504C ve G2247T mutasyonları klinik suşlarda dirençle ilişkili olduğu bildirilmiştir (24).

Linezolidde karşı tanımlanmış ilk aktarılabilir direnç geni *cfr*'dir. *Cfr* genini taşıyan ilk linezolidde dirençli klinik izolat 2005'te rapor edilmiştir. Linezolidde direnç, transfer edilebilir *optrA* ve *poxA* genlerinin kazanılması yoluyla da ortaya çıkar. *Optra*'nın varlığı daha sonra küresel olarak hayvan izolatlarından hem vankomisine dirençli hem de vankomisine duyarlı *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarında gözlemlenmiştir. *PoxA* linezolid direnç geni ilk olarak 2016 yılında bir MRSA klinik suşunda tespit edilmiştir. İlk keşiflerinden bu yana klinik çoğul antibiyotiklere dirençli enterokok ve stafilokok izolatlarında *cfr*, *optrA* ve *poxA* genlerinin prevalansı artmıştır (28).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Bu tez çalışmasında, 2022-2023 yılları arasında İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi'nin çeşitli servislerinde yatan hastalardan alınan rektal sürüntü örneklerinden izole edilmiş 50 farklı VRE suşu kullanılmıştır.

Suşlar çalışma zamanına kadar %20 gliserollü buyyonda -20°C de muhafaza edilmişlerdir.

**Tablo 3-1: Suşların kliniklere göre dağılımı**

| Klinik Adı           | Hasta Sayısı | Kadın | Erkek |
|----------------------|--------------|-------|-------|
| İç Hastalıkları*     | 20           | 9     | 11    |
| Çocuk Hastalıkları*  | 22           | 12    | 10    |
| Anestezi Reanimasyon | 4            | 2     | 2     |
| Genel Cerrahi        | 3            | 0     | 3     |
| Nöroloji Yoğun Bakım | 1            | 0     | 1     |

\*Tüm birimleri dahil

#### 3.2. Kullanılan Antibiyotikler Ve Standart Suşlar

##### 3.2.1. Antibiyotik Diskleri

- Linezolid 30 µg (Bioanalyse, Ankara, Türkiye)
- Vankomisin 30 µg (Bioanalyse, Ankara, Türkiye)
- Teikoplanin 30 µg (Bioanalyse, Ankara, Türkiye)
- Gentamisin 120 µg (BD, BBLTM, USA)
- Streptomisin 300 µg (BD, BBLTM, USA)

##### 3.2.2. Antibiyotik Tozu

Buyyon mikrodilüsyon deneylerinde linezolid antibiyotik toz maddesi (Biosynth Carbosynth, Birleşik Krallık) kullanılmıştır (Potens: %99).

### 3.2.3. E-test

- Linezolid E-test (Bioanalyse, Türkiye)
- Vankomisin E-test (Liofilchem, Italy)

### 3.2.4. Standart Suşlar

- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

### 3.3. Suşların İzolasyonu Ve Tanımlanması

Periyodik olarak yatan hastalardan alınan rektal sürüntü örnekleri transport besiyeri (Stuart Taşıma Ortamı, LETSSWAB, Toprak Sağlık Ürünleri, Türkiye) ile Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hastane Enfeksiyonları Araştırma Laboratuvarı'na gönderilmiş ve vankomisin dirençli enterokok yönünden araştırılmıştır.

VRE suşlarının izolasyonu ve tanımlanması için kullanılan tüm besiyerleri toz madde halinde ticari olarak sağlanmıştır.

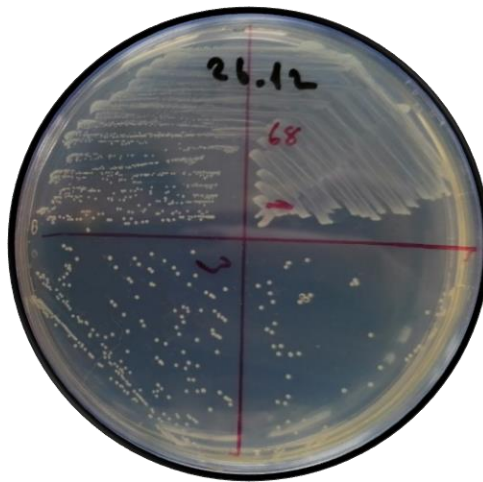
**Tablo 3-2: Kullanılan besiyerleri**

| Besiyerleri                | Firma                 | Toz (gr)                    | Çözücü      | pH        |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------------|-------------|-----------|
| Tryptone Soy Agar (TSA)    | Oxoid, United Kingdom | 40                          | Distille su | 7.3 ± 0.2 |
| Mueller-Hinton II Broth    | Biolab, Hungary       | 21                          | Distille su | 7.4       |
| Mueller-Hinton II Agar     | Biolab, Hungary       | 38                          | Distille su | 7.3       |
| Bile Esculin Agar (BEA)    | Becton Dickonson, USA | 43.5                        | Distille su | 6.8 ± 0.2 |
| Brain Heart Infusion Broth | Becton Dickonson, USA | 37                          | Distille su | 7.4       |
| Stuart Taşıma Ortamı       | LETSSWAB, Türkiye     | Ticari olarak sağlanmıştır. |             |           |

Kullanılan tüm besiyerlerinin, üretici firmanın önerilerine uyularak tartımları yapılmıştır. Besiyerinin distile su içinde manyetik karıştırıcı ile erimesi sağlanmış, pH kontrolü yapılmış ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Bile-Esculin agar (BD, BBLTM Bile Esculin Agar, USA) (BEA) besiyerine 50-55 °C de vankomisin toz maddesi 6 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde ilave edilmiştir.

Rektal sürüntü örnekleri rutin olarak vankomisin ilaveli BEA besiyerine ekilmiş ve 35°C'deki etüvde 24-48 saat inkübe edilmiştir. Eskülini hidrolize etmiş üremenin görüldüğü kültürler konvensiyonel yöntemlerle enterokok cins düzeyinde tanımlanmış ve %20 gliserollü brain-hearth infusion broth saklama besiyerine alınarak çalışma zamanına kadar -20 °C de muhafaza edilmişlerdir.

Tez çalışmasına başlanması ile saklanmış her suş, TSA besiyerine azaltma yöntemi ile ekilmiş, elde edilen saf kültürler konvensiyonel yöntemlerle enterokok cinsi olarak tanımlanmışlardır. Bunun için suşlarda, safrada üreme-eskülini hidrolize etme, Gram boyama, katalaz testi, tuz tolerans testi ve enterokok doğrulaması için de PYR testi araştırmaları yapılmıştır. Bile-eskülin agar besiyerinde üremenin ve kararmanın varlığı, mikroskop incelemesinde Gram pozitif kok morfolojisinin görülmesi, katalaz testi negatif, tuz tolerans testinde üreme saptanmış ve besiyeri rengini mor-mavi den sarıya çevirmiş, PYR testi pozitif olan suşlar, enterokok cinsi olarak tanımlanmışlardır. Tüm çalışmalarda suşların 24 saatlik saf kültürleri kullanılmıştır.



Şekil 3-1: Azaltma yöntemi ile ekilen bir suş

### 3.3.1. Safra-Eskülin Besiyerinde Üreme/Hidroliz Testi

Enterokoklar, %40 safra varlığında üreyebilir ve eskülini hidrolize ederler ve besiyerini kahverengine dönüştürürler (24). Safra-Eskülin besiyeri (BD, BBLTM Bile Esculin Agar, USA) üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır.

Çalışmada VRE taraması için kullanılan BEA besiyeri içine ilave edilen vankomisin tozu, 6 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde hesaplanıp tartılmıştır. Tartılan toz vankomisin 3-5 ml steril distile su içeren tüp içinde çözündürüldükten sonra, 50-55°C'ye soğutulmuş, BEA besiyerine ilave edilmiş, karıştırılmış ve petrilere dökülmüştür. Kurutulmuş besiyerleri 4°C'de saklanmıştır (29).

37°C de 24 saat inkübasyondan sonra üreyen ve besiyeri rengini karartan suşlar çalışmaya dahil edilmiştir.

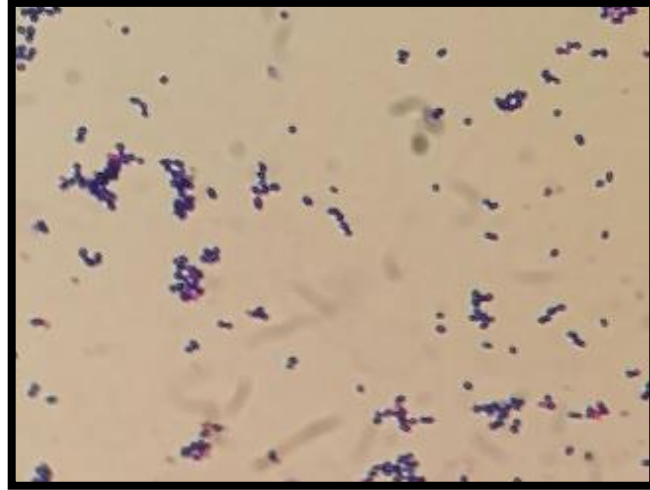
Kalite kontrol için *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 standart suşu kullanılmıştır (30).



Şekil 3-2: Vankomisinli BEA besiyerinde üremiş enterokok

### 3.3.2. Gram Boyama

Çalışmaya dahil edilen tüm enterokok suşları Gram yöntemi ile boyanarak mikroskop morfolojileri incelenmiştir.



Şekil 3-3: Gram boyama mikroskop görüntüsü (100× büyütme)

### 3.3.3. Katalaz Testi (Hidrojen Peroksit Redüksiyonu)

Katalaz testi, bakterilerde katalaz enziminin varlığını gösterir. Katalaz enzimi hidrojen peroksitin su ve oksijene parçalanmasını sağlar ( $2\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Katalaz} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ ). Bunun için %3 lük hidrojen peroksit kullanılır (31).

Lam üzerine bir damla hidrojen peroksit çözeltisi damlatılmış ve tek kullanımlık steril öze ile alınan 3-5 koloni, çözelti içerisinde süspanse edilmiştir. Katalaz negatif test sonucunda kabarcık oluşumu gözlenmezken, pozitif test sonucunda gaz kabarcık oluşumu gözlemlenir (31).

Kalite kontrol için *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 standart suşu kullanılmıştır (30).



Şekil 3-4: Pozitif kontrol (sol) ve enterokokta katalaz negatif test sonucu (sağ)

### 3.3.4. Tuz Tolerans Testi (%6,5 NaCl)

Tuz tolerans testi, enterokok cinsi bakteriler %6,5 tuz içeren ortamlarda üreyebilirler (16).

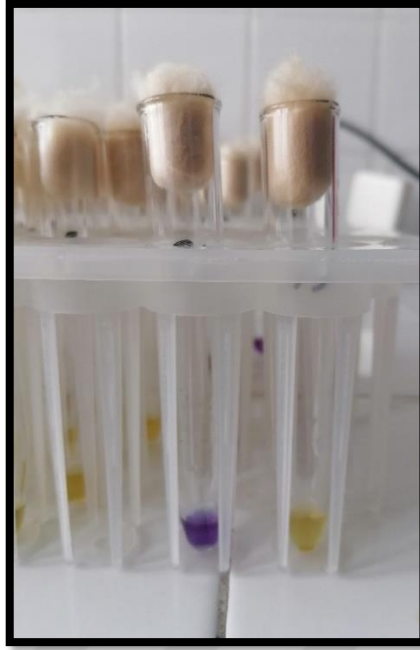
Modifiye %6,5 NaCl'li Buyyon (100 cc):

- Brain Heart Infusion Broth (3.7 gr)
- 6 gr NaCl
- Glukoz 0,1 gr
- Bromkrozol moru 0,1 cc (100 cc etenol içinde 1,6 gr bromkrezol eritilmiştir)

Hazırlanan çözelti pH 7,27-7,3 olarak ayarlanmış, otoklavda 121°C'de steril edilmiş, steril koşullarda otomatik pipet ile tüplere dağıtılmıştır.

Suşların 24 saatlik kültürleri hazırlanmış tüplere inoküle edilerek, 37°C'de bir gece inkübe edilmiştir. Bulanıklık ve rengin mordan sarıya dönüşmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Kalite kontrol suşu olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 standart suşu kullanılmıştır (30).



Şekil 3-5: Pozitif tüp (Sağ) ve negatif tüp (Sol)

### 3.3.5. L-pyrolidonyl- $\beta$ -naphthylamide (PYR) Testi

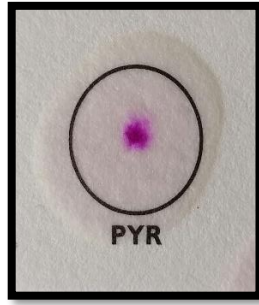
Enterokoklar, L-pyrolidonil arilamidaz enzimini üretirler. Bu enzim, L-pyrolidonil- $\beta$ -naftilamidi (PYR) enzimatik olarak hidrolize eder. Böylece enterokoklar hızla tanımlanabilirler (12).

PYR testi (Oxoid Biochemical Identification System – PYR), üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulanmıştır. Tek kullanımlık steril öze ile birkaç koloni alınmış ve test alanına sürülmüştür. Alan üzerine bir damla buffer eklenerek oda sıcaklığında 5 dakika beklenmiştir.

Test alanına reaktif solüsyondan 1 damla ilave edilmiştir. Birkaç saniye içerisinde mor rengin oluşması pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Böylece, suşların enterokok cinsi düzeyinde tanımlanmaları doğrulanmıştır.

Kalite kontrol için *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 standart suşu kullanılmıştır (30).



**Şekil 3-6: PYR pozitif test sonucu**

### 3.3.6. Disk Difüzyon Testi

Vankomisin (30 µg) (Bioanalyse, Ankara, Türkiye) ve Teikoplanin (30 µg) (Bioanalyse, Ankara, Türkiye) antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Besiyeri olarak Mueller – Hinton II Agar (Biolab, Hungary) kullanılmıştır. Suşların 24 saatlik kültürlerinden steril eküvyon ile alınıp, buyyon (Mueller – Hinton II Broth, Biolab, Hungary) içinde süspanse edilmiş, vortekslenmiş ve densitometre (Biosan, Latvia) ile 0.5 McFarland bulanıklık ayarlaması yapılmıştır. Hazırlanan bu süspansiyondan steril eküvyon ile homojen bir şekilde tüm besiyeri yüzeyine yayılmıştır. Alev kenarında petrilerin 3 ila 5 dakika kuruması beklenmiştir. Daha sonra antibiyotik diskleri standartlara uygun aralıklarla plağa yerleştirilmiştir. Petriler etüvde 37°C de 24 saat inkübe edildikten sonra, inhibisyon zonlarının çapları cetvel ile ölçülmüş ve CLSI önerileri doğrultusunda sonuçlar duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilmiştir (30,32).

Kalite kontrol suşu olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 standart suşu kullanılmıştır (30).

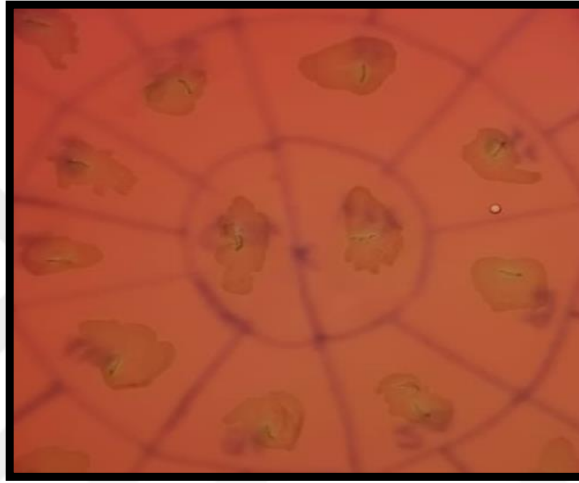


**Şekil 3-7: Vankomisin ve teikoplanin disk difüzyon testi**

### 3.4. Enterokok Suşlarının Diğer Özelliklerinin Araştırılması

#### 3.4.1. Hemoliz Özelliği

Koyun Kanlı Columbia Agar (KKCA) (Becton Dickinson, ABD) besiyerinde suşların hemoliz özelliği incelenmiştir. Suşların saf kültürlerinden KKCA besiyerine ekim yapılarak 37°C de 1 gece inkübe edilmiş ve tüm suşların alfa hemoliz oluşturdıkları belirlenmiştir.



Şekil 3-8: Suşların hemoliz özelliğinin KKCA besiyerinde incelenmesi

#### 3.4.2. $\beta$ -Laktamaz Enzim Varlığının Araştırılması

Suşların  $\beta$ -laktamaz üretiminin hızlı tespiti için Nitrocefın diski (Bioanalyse, Ankara, Türkiye) üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanılmıştır. Nitrocefın diski boş bir petriye konulmuş, bir damla distille su ile ıslatılmıştır. Steril bir öze ile saf kültürden birkaç koloni alınarak ve disk yüzeyine sürülmüştür. Beş dakika beklenmiş ve renk değişimi olup olmadığı gözlenmiştir. Renk değişimi olmayan tüm suşlar negatif olarak değerlendirilmiştir.

Kalite kontrolü *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ile yapılarak pembe-kırmızı rengin oluşması ile pozitif sonuç gözlenmiştir (30).

### 3.4.3. Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci (HLAR) Araştırılması

Suşlarda yüksek düzey aminoglikozid direncinin (HLAR) belirlenmesi CLSI'nin önerileri doğrultusunda yapılmıştır. İşlemde, gentamisin (120 µg) (BD, BBLTM, USA) ve streptomisin (300 µg) (BD, BBLTM, USA) diskleri kullanılmıştır (30).

Deneyde kalite kontrol suşu olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 standart suşu kullanılmıştır (30).



Şekil 3-9: Solda HLAR pozitif, sağda HLGR pozitif bir VRE suşu

### 3.5. Linezolid Disk Difüzyon Testi

Linezolid (30 µg) (Bioanalyse, Ankara, Türkiye) disk difüzyon testi daha önce açıklandığı şekilde yapılmıştır. Sonuçları CLSI önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir (30).

Kalite kontrol suşu olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 standart suşu kullanılmıştır (30).

### 3.6. Mikrodilüsyon

Çalışmada, linezolid, katyon ayarlı Mueller-Hinton buyyon (CAMHB) besiyeri içeren mikropalak çukurlarında bir seri halinde sulandırılmış ve daha sonra sulandırım kuyucuklarına duyarlılığı araştırılan her enterokok suşu için belirli sayıda hücrelerini içeren süspansiyonundan ilave edilmiştir.

### 3.6.1. Linezolid İçin Stok Çözeltinin Hazırlanması

Kullanılacak toz Linezolid antibiyotik miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Denklem 3-1) (29).

#### Denklem 3-1

$$\text{Antibiyotik miktarı (mg)} = \frac{\text{Çözücünün hacmi (ml)} \times \text{Antibiyotik konsantrasyonu (\mu\text{g/ml})}{\text{Antibiyotik aktivitesi (\mu\text{g/mg})}}$$

Linezolid antibiyotiği stok çözeltisi hazırlanırken; linezolid toz maddesi (Biosynth Carbosynth, Birleşik Krallık) miktarı hesaplanmış ve hassas terazi (SHIMADZU, Japan) ile tartılmıştır. Linezolid toz maddesi falkon tüpü içerisine konmuş ve çözücü olarak 250 µl Acetonitril su (%75) kullanılmıştır. Kalan hacim steril distille su eklenerek 10 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan stok antibiyotik çözeltisi bir hafta içinde kullanılmıştır. Bu süre zarfında buzdolabında muhafaza edilmiştir.

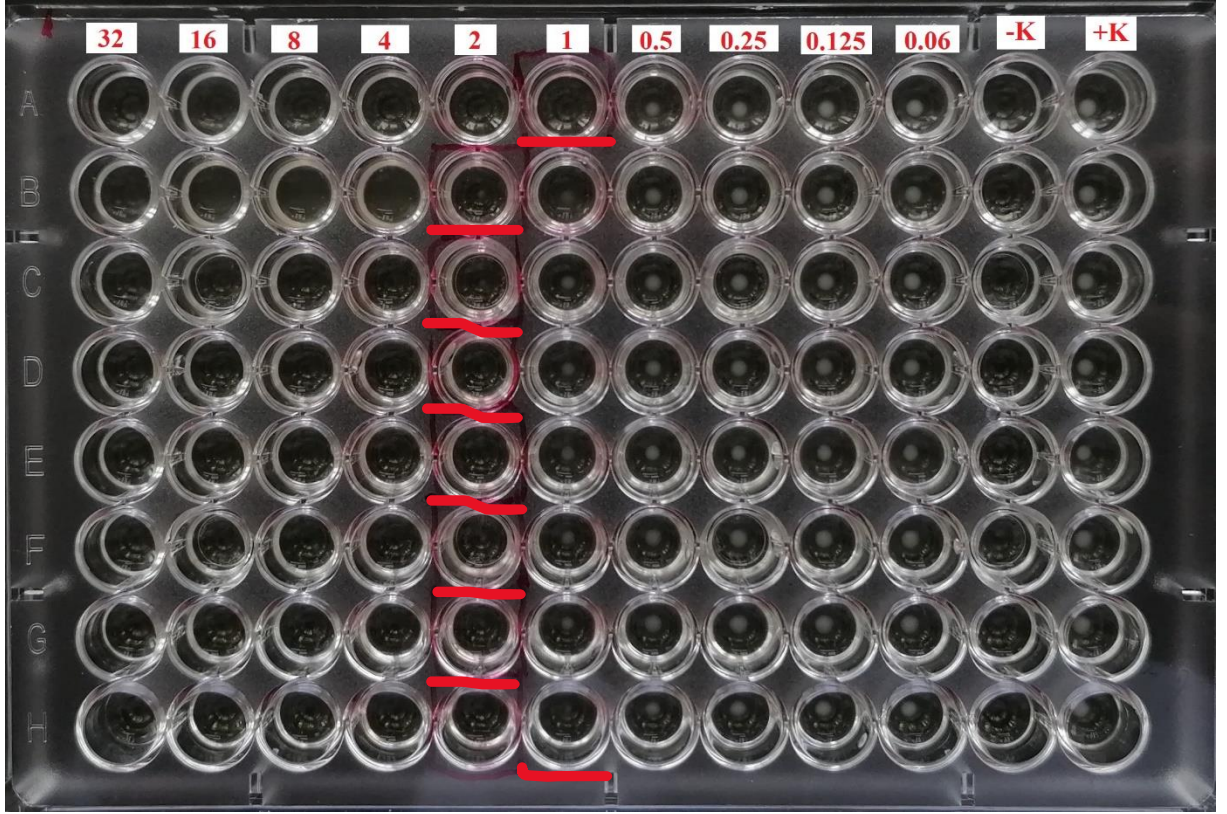
### 3.6.2. Deneyin Yapılışı

Deneylerde U tabanlı, 96 kuyucuklu steril kapaklı mikrolaklar kullanılmıştır. Çalışılacak linezolid konsantrasyon aralığı 32 – 0.06 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Mikrolakların her bir kuyucuğuna 100 µl steril pipet ucu ile katyon ayarlı Mueller-Hinton buyyon (CAMHB) konmuştur. Negatif ve pozitif kontrol olarak belirlenen 11. Ve 12. Kuyucuklar hariç diğer kuyucuklara hazırlanan antibiyotik solüsyonunun seri dilüsyonu yapılmıştır. Bunun için, konsantrasyonu 64 µg/ml olan linezolid antibiyotik solüsyonundan 100 µl birinci kuyucuğa konmuştur. Böylece kuyucuktaki antibiyotik konsantrasyonu 32 µg/ml, toplam hacim de 200 µl olmuştur. Yaklaşık üç-dört defa pipetaj/pipetleme işlemi yapılarak homojen olarak karışması sağlanmıştır. Pipete tekrar çekilen 100 µl ikinci kuyucuğa aktarılmış, aynı işlem ilk 10 kuyucukta da tekrarlanmış ve 10. Kuyucuktan sonra pipette kalan 100 µl dışarı atılmıştır.

Suşlar her biri, 24 saatlik kültürlerden steril öze ile alınarak, Muller-Hinton II Broth (Biolab, Hungary) içerisinde süspanse edilmiş, densitometre (Biosan, Latvia) ile

0.5 McFarland bulanıklık ayarlaması yapılmış ve vortekslenerek 1:10 oranında bakteri süspansiyonunun sulandırılması sağlanmıştır. Negatif kontrol çukuru (sterilite kontrol kuyucuğu) hariç, pozitif kontrol çukuru (üreme kontrol kuyucuğu) da dahil, her kuyucuğa hazırlanan bakteri süspansiyonundan 5 µl ilave edilmiştir. Mikroplaklar, kapakları kapatılarak, 37°C de 18-24 saat inkübe edilmişlerdir.



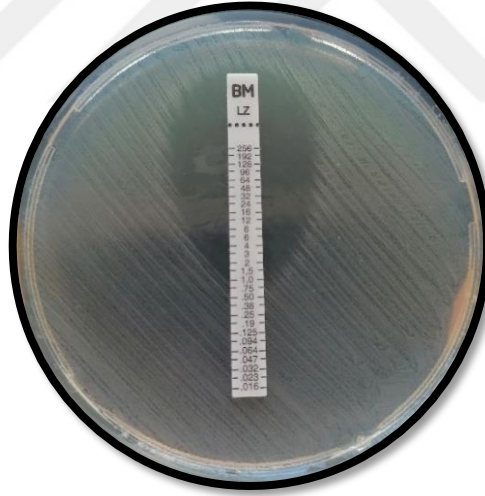
**Şekil 3-10: Sıvı mikrodilüsyon deneyi için örnek mikropalak görüntüsü (MİK değerleri kırmızı ile işaretlenmiştir)**

Her suş için üremenin görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu, o suş için MİK değeri olarak belirlenmiştir.

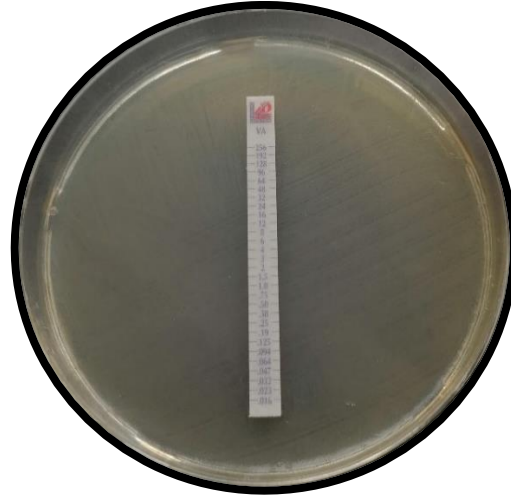
Kalite kontrol suşları olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 standart suşları kullanılmıştır (30).

### 3.7. E-Test

Linezolid ve vankomisin antibiyotikleri araştırması için ayrıca E-test (Epsilometer) ile çalışılmıştır. Bunun için suşların 24 saatlik kültürleri kullanılmıştır. Her suş için MHB buyyonunda 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyon hazırlanmıştır. Daha sonra katyon ayarlı MHA besiyerine homojen şekilde yayılmış ve antibiyotik test şeridi petriye dikkatli şekilde yerleştirilmiştir. Penset yardımı ile antibiyotik şeridinin tüm yüzeyinin besiyerinin yüzeyine yerleşmesi sağlanmıştır. Petriler 37°C de inkübe edilmişlerdir. Linezolid E-test için, 16-20 saat ve vankomisin E-test için 24 saat inkübasyondan sonra inhibisyon zonunun test şeridini kestiği noktadaki antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir (33). Sonuçlar CLSI'nın belirlediği sınır değerlerine göre değerlendirilmiştir. Kalite kontrol suşları olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 standart suşları kullanılmıştır (30).



Şekil 3-11: Linezolide duyarlı bir suşun E-test görünümü



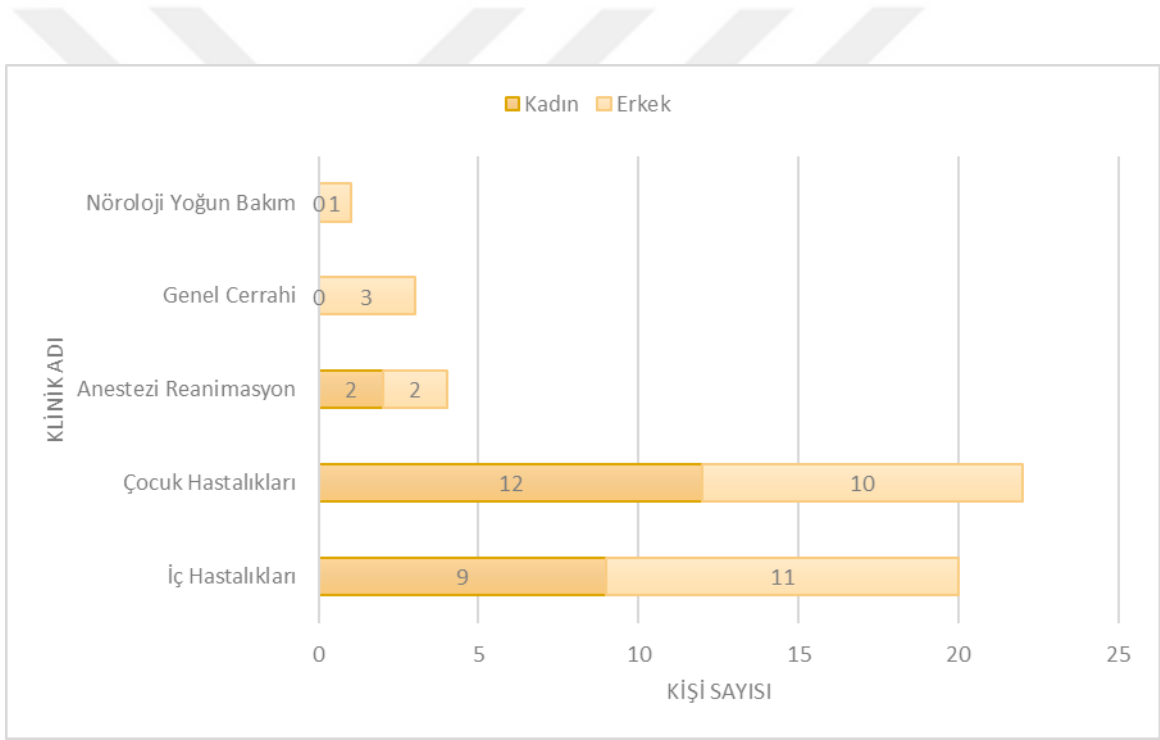
**Şekil 3-12: Vankomisine dirençli bir suşun E-test görünümü**

### 3.8. Enterokok Tür Tanımlaması

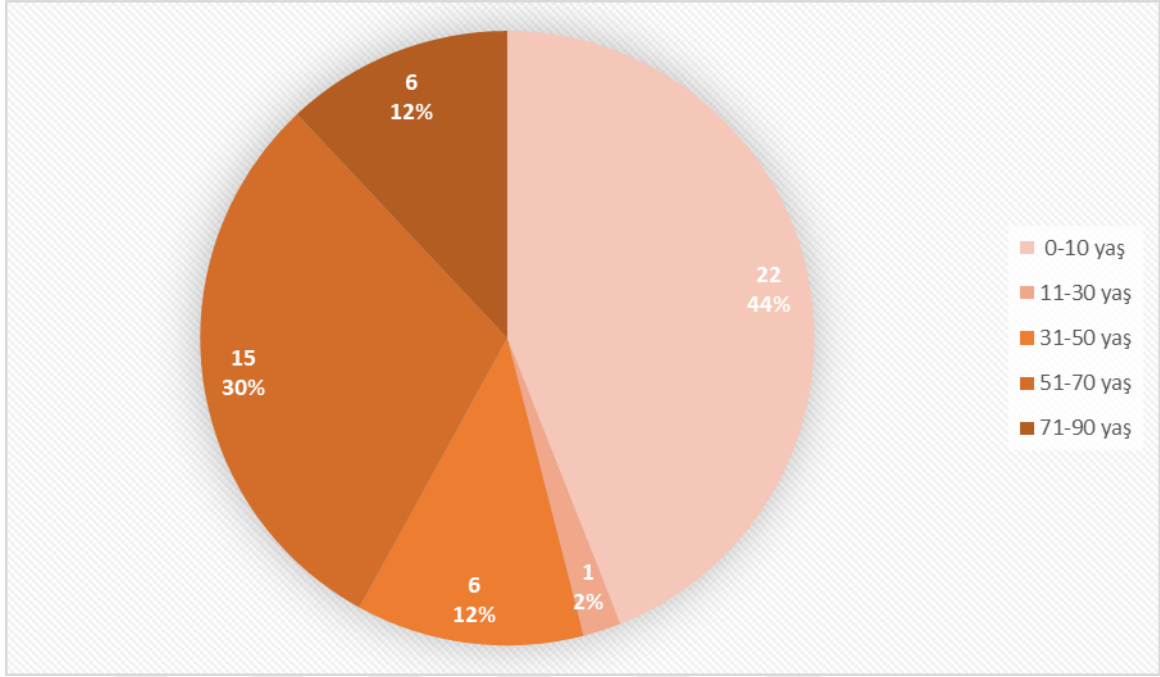
VRE suşlarının tür tanımlaması ticari olarak temin edilen GP24 kiti (Diagnostics, Slovak Republic) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapılmıştır. GP24 kitinde her bir suş için 24 kuyucukta 26 biyokimyasal özellik incelenmiştir. Çalışılacak her suş için steril cam tüplere 3-3,5 ml serum fizyolojik dağıtılmıştır. Her suşun McFarland 3 yoğunluğunda süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyondan 100 µl 24 kuyucuğun her birine inoküle edilmiştir. URE ve ARG test kuyucuklarına bakteri süspansiyonu eklendikten sonra 3 damla parafin yağı damlatılarak kapatılmıştır. Daha sonra plak kilitli poşet içerisine konularak 36°C de, içerisinde bir kap su bulunan etüvde, 24 saat inkübe edilmiştir. Renk değerlendirme şeması ile değerlendirilen sonuçlar, sonuç formuna +/- olarak kaydedilmiştir. İlk sonuçlar kaydedildikten sonra bifonksiyonel testler yapılmıştır. GLR (A2 kuyucuğu) test kuyucuğuna 2 damla PHS reaktifi eklenerek, renk değişimine göre değerlendirme yapılmış ve sonuç forma kaydedilmiştir. bGL (A3 kuyucuğu) test kuyucuğuna 3 damla HIP reaktifi damlatılmış ve sonuç 10 dk içinde değerlendirilerek kaydedilmiştir. NIT (H3 kuyucuğuna) test kuyucuğuna 2 damla NIT reaktifi eklenmiş ve reaksiyonun negatif sonuçlanması durumunda kuyucuğa özenin ucu ile az miktarda çinko tozu eklenerek 10 dk içinde kırmızı rengin oluşması durumunda negatif sonuç doğrulanmıştır. IDmicro yazılım programı ile sonuçlar sisteme girilerek yüzde doğrulukta tür tanımlaması yapılmıştır. Diagnostics kitlerin kalite kontrolü *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 kontrol suşu ile yapılarak, IDmicro yazılım programı ile değerlendirilmiş ve %100 *Enterococcus faecalis* sonucu elde edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Hastaların klinik birimlere ve cinsiyete göre dağılımları şekil 4-1’de gösterilmiştir. Buna göre hastaların bulunduğu klinikler en yüksek orandan başlayarak sırasıyla; çocuk hastalıklarında 22 (%44), iç hastalıklarında 20 (%40), anestezi reanimasyonda 4 (%8), genel cerrahide 3 (%6) ve nöroloji yoğun bakımdan 1 (%2) hasta olarak saptanmıştır. Hastaların 27’si (%54) erkek ve 23’ü (%46) kadın olarak belirlenmiştir. Yaşlara göre hasta sayısı; 0-10 yaş arası 22 (%44), 11-30 yaş arası 1 (%2), 31-50 yaş arası 6 (%12), 51-70 yaş arası 15 (%30) ve 71-90 yaş arası 6 (%12) hasta saptanmıştır (Şekil 4-2).



**Şekil 4-1: 50 VRE suşunun izole edildiği klinik birimlere ve cinsiyete göre dağılımı**



**Şekil 4-2: 50 VRE suşunun izole edildiği hastaların yaşa göre dağılımı**

#### **4.1. Konvensiyonel Yöntemlerin Sonuçları**

50 enterokok suşunun konvensiyonel yöntemlerle tanımlanmasında: Gram boyama, katalaz, eskülin hidrolizi, safrada üreme, %6,5 NaCl'de üreme ve PYR testi uygulanmıştır. Buna göre suşların tümünde katalaz negatif, Gram pozitif kok mikroskop görüntüsünde, eskülin hidrolizi pozitif, safrada üreme pozitif ve PYR testi pozitif olarak saptanmıştır. Tüm suşlar enterokok cinsi olarak tanımlanmıştır. Tüm suşlarda ayrıca beta-laktamaz enzim varlığı araştırılmıştır ve hiçbir suшта saptanmamıştır (Tablo 4-1).

**Tablo 4-1: 50 VRE suşunun tanımlanmasında gerçekleştirilen testlerin sonuçları**

| Örnek No | Gram Boyama | Katalaz | Eskülin Hidrolizi | Safrada Üreme | %6,5 NaCl | PYR Test | Nitrocefin |
|----------|-------------|---------|-------------------|---------------|-----------|----------|------------|
| 1        | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 2        | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 3        | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 4        | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 5        | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 6        | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 7        | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 8        | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 9        | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 10       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 11       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 12       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 13       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 14       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 15       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 16       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 17       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 18       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 19       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 20       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 21       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 22       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 23       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 24       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 25       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 26       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 27       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 28       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 29       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 30       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 31       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 32       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 33       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 34       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 35       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 36       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 37       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 38       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 39       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 40       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |
| 41       | +           | -       | +                 | +             | +         | +        | -          |

|                                        |   |   |   |   |   |   |   |
|----------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|
| 42                                     | + | - | + | + | + | + | - |
| 43                                     | + | - | + | + | + | + | - |
| 44                                     | + | - | + | + | + | + | - |
| 45                                     | + | - | + | + | + | + | - |
| 46                                     | + | - | + | + | + | + | - |
| 47                                     | + | - | + | + | + | + | - |
| 48                                     | + | - | + | + | + | + | - |
| 49                                     | + | - | + | + | + | + | - |
| 50                                     | + | - | + | + | + | + | - |
| ATCC<br>25923<br>S.<br><i>aureus</i>   | + | + |   |   |   |   | - |
| ATCC<br>29212<br>E.<br><i>faecalis</i> | + | - | + | + | + | + |   |
| ATCC<br>29213<br>S.<br><i>aureus</i>   |   |   |   |   |   |   | + |

#### 4.2. Disk Difüzyon Testi Sonuçları

Tüm deneylerde kullanılan kalite kontrol suşlarının sonuçları CLSI'nın önerdiği değerler arasında saptanmıştır.

Tüm değerlendirmeler CLSI verilerine göre yapılmıştır (30) (Tablo 4-2).

**Tablo 4-2: CLSI'a göre Enterokok cinsi için linezolid, vankomisin, teikoplanin, streptomisin ve gentamisin zon çapı yorumlama değerleri**

| Antimikrobiyal Ajan | Disk İçeriği | Zon Çapları (mm) |              |          |
|---------------------|--------------|------------------|--------------|----------|
|                     |              | Duyarlı          | Orta Duyarlı | Dirençli |
| Vankomisin          | 30 µg        | ≥17              | 15-16        | ≤14      |
| Teikoplanin         | 30 µg        | ≥14              | 11-13        | ≤10      |
| Linezolid           | 30 µg        | ≥23              | 21-22        | ≤20      |
| Streptomisin        | 300 µg       | ≥10              | 7-9          | 6        |
| Gentamisin          | 120 µg       | ≥10              | 7-9          | 6        |

Tablo 4-3'de vankomisin, teikoplanin ve linezolid disk difüzyon sonuçları açıklanmıştır. Buna göre, vankomisin ve teikoplanin antibiyotiklerinin disk difüzyon testinde tüm suşların (%100) dirençli olduğu saptanmıştır. Linezolid disk difüzyon testinde disk etrafında oluşan zon çapları ölçülmüş ve CLSI'nı belirlediği verilere göre değerlendirilmiştir (30). Suşların tümü (%100), linezolide duyarlı olarak saptanmıştır. İlave olarak 119 VRE suşunda (2023 Nisan-Mayıs) disk difüzyon testi ile linezolid etkinliği araştırılmış ve tüm suşlar duyarlı bulunmuştur.

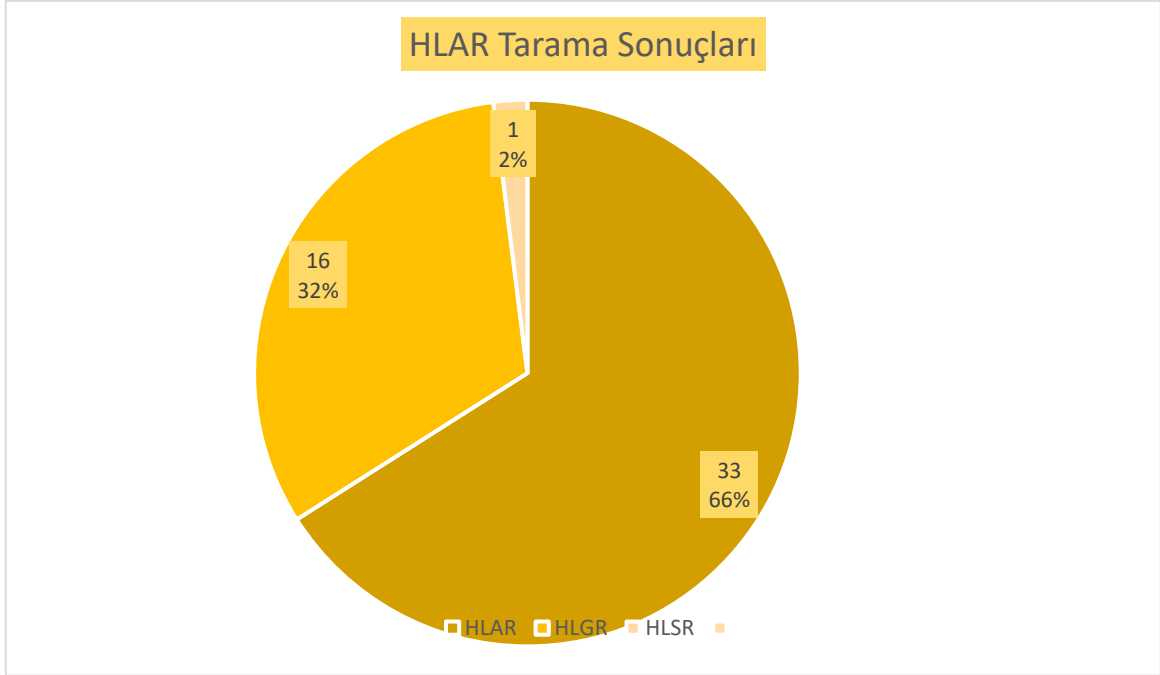
**Tablo 4-3: 50 VRE suşunun Vankomisin, Teikoplanin ve Linezolid antibiyotik diskleri ile elde edilen disk difüzyon test sonuçları**

| Antimikrobiyal Ajan | Duyarlı n (%) | Dirençli n (%) |
|---------------------|---------------|----------------|
| Vankomisin          | 0             | 50 (100)       |
| Teikoplanin         | 0             | 50 (100)       |
| Linezolid           | 50 (100)      | 0              |

n: suş sayısı

#### 4.3. Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci Tarama Deneyi Sonuçları

Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci (HLAR) taraması yapılan 50 VRE suşunun 33'ünde (%66) HLAR, 16 (%32) suшта yüksek düzey gentamisin direnci (HLGR) ve 1 (%2) suшта ise yüksek düzey streptomisin direnci (HLSR) saptanmıştır (Şekil 4-3). HLAR suşlarının ikisi *Enterococcus faecium* olarak tespit edilmiştir. Diğer tüm suşlar *Enterococcus casseliflavus* olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4-3: 50 VRE suşunun Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci tarama sonuçları

#### 4.4. Mikrodilüsyon Test Sonuçları

Mikrodilüsyon testinde linezolid MİK değerleri CLSI MİK sınır değerlerine göre değerlendirilmiştir (30) (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: CLSI'a göre enterokok suşları için linezolid MİK sınır değerleri

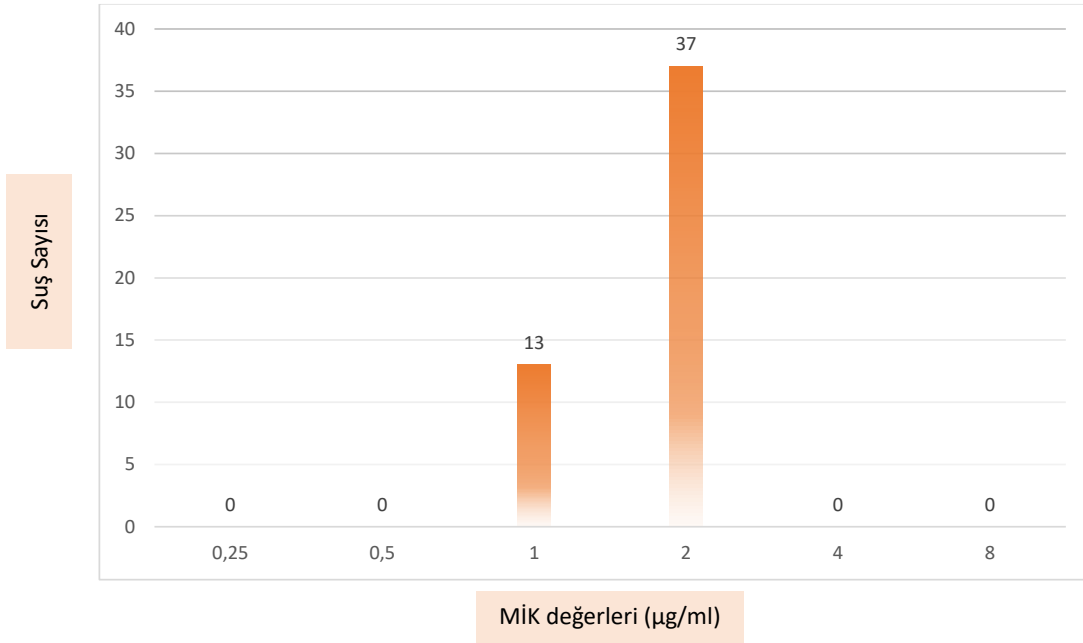
| Antimikrobiyal Ajan | MİK Değerleri (µg/ml) |                      |              |          |
|---------------------|-----------------------|----------------------|--------------|----------|
|                     | Duyarlı               | Doza Bağımlı Duyarlı | Orta Duyarlı | Dirençli |
| Linezolid           | ≤2                    | -                    | 4            | ≥8       |

Mikrodilüsyon test çalışmasında linezolid için duyarlılık,  $MİK_{50}$  ve  $MİK_{90}$  değerleri Tablo 4-5'te bildirilmiştir. Buna göre, tüm suşlar linezolide duyarlı (%100) bulunmuştur. Linezolid  $MİK_{50,90}$  değerleri sırasıyla 2, 2  $\mu\text{g/ml}$  olarak saptanmıştır.

**Tablo 4-5: Mikrodilüsyon testi sonucunda linezolidin 50 VRE suşuna karşı  $MİK_{50}$ ,  $MİK_{90}$  ve duyarlılık sonuçları**

| Antimikrobiyal Ajan | MİK ( $\mu\text{g/ml}$ ) |            | Duyarlı (%) | Dirençli (%) |
|---------------------|--------------------------|------------|-------------|--------------|
|                     | $MİK_{50}$               | $MİK_{90}$ |             |              |
| Linezolid           | 2                        | 2          | 100         | 0            |

Çalışılan 50 VRE suşunun MİK konsantrasyonu değerleri şekil 4-4'te gösterilmiştir. Buna göre suşların 13'ünde MİK: 1  $\mu\text{g/ml}$ , 37'sinde MİK: 2  $\mu\text{g/ml}$  olarak saptanmıştır.



**Şekil 4-4: Mikrodilüsyon testi sonucunda elde edilen linezolid MİK değerlerinin dağılımı**

#### 4.5. E-test Sonuçları

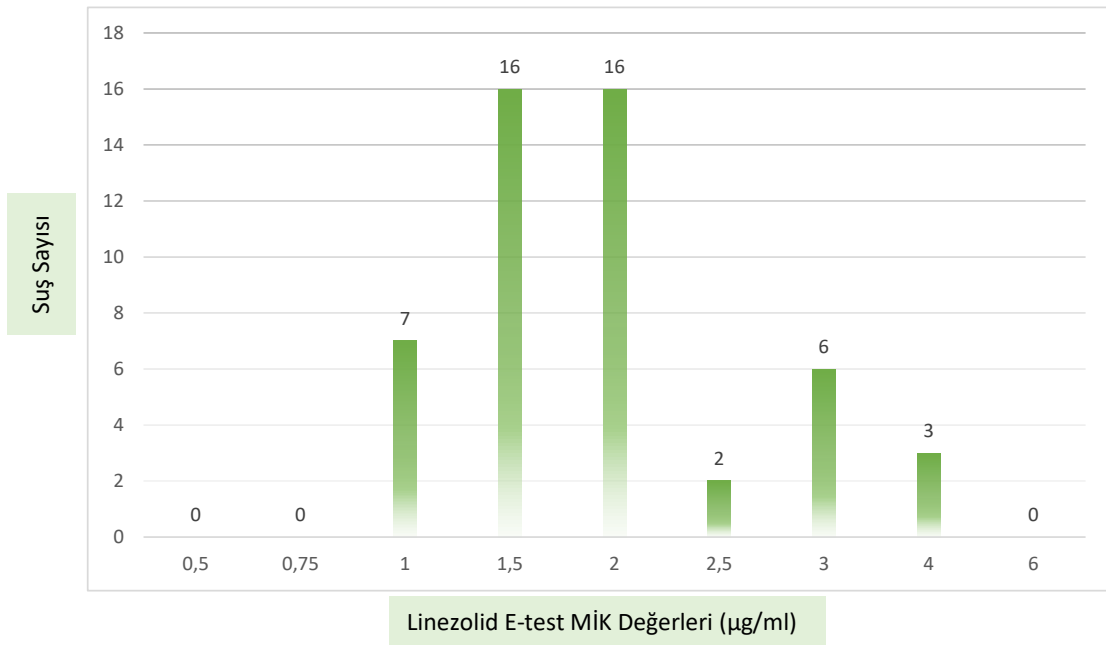
##### 4.5.1. Linezolid

Linezolidin etkinliğinin E-test yöntemiyle yapılan MİK araştırması sonucunda MİK dağılımı, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 1-4 µg/ml, 2 µg/ml ve 3 µg/ml olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre tüm suşlar duyarlı bulunmuştur (Tablo 4-6).

**Tablo 4-6: E-test sonucunda 50 VRE suşuna karşı MİK<sub>50</sub>, MİK<sub>90</sub> ve duyarlılık sonuçları**

| Antimikrobiyal Ajan | MİK (µg/ml)       |                   | Duyarlı (%) | Dirençli (%) |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------|--------------|
|                     | MİK <sub>50</sub> | MİK <sub>90</sub> |             |              |
| Linezolid           | 2                 | 3                 | 100         | 0            |

50 VRE suşuna karşı saptanmış olan linezolid MİK değerleri şekil 4-5’de gösterilmiştir.



**Şekil 4-5: 50 VRE suşunun linezolid E-test sonucunda elde edilen MİK değerlerinin dağılımı**

#### 4.5.2. Vankomisin

Suşların vankomisin duyarlılıkları E-test yöntemi ile çalışılmış ve MİK değerleri belirlenmiştir. Suşlarda vankomisin MİK dağılımı, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 128 µg/ml - >256 µg/ml, >256 µg/ml olarak bulunmuştur (Tablo 4-7). Bu sonuçlara göre tüm suşlar dirençli olarak saptanmıştır.



**Tablo 4-7: Her bir VRE suşunun mikrodilüsyon ile linezolid, E-test ile linezolid ve vankomisin MİK değerleri**

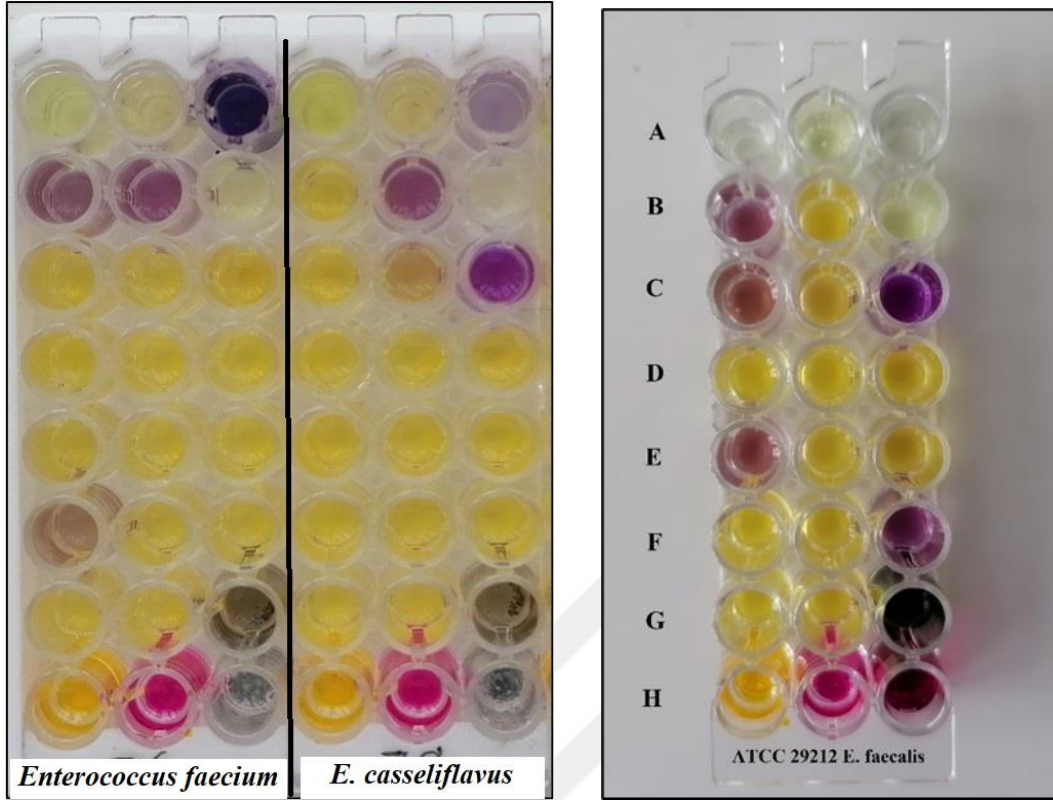
|          | MİK değerleri (µg/ml) |           |            |
|----------|-----------------------|-----------|------------|
| Örnek No | Mikrodilüsyon         | E-Test    |            |
|          | Linezolid             | Linezolid | Vankomisin |
| 1        | 1                     | 1.5       | > 256      |
| 2        | 1                     | 1.5       | > 256      |
| 3        | 2                     | 1.5       | > 256      |
| 4        | 2                     | 1.5       | > 256      |
| 5        | 2                     | 2         | > 256      |
| 6        | 1                     | 1.5       | > 256      |
| 7        | 2                     | 2         | > 256      |

|    |   |     |       |
|----|---|-----|-------|
| 8  | 1 | 3   | > 256 |
| 9  | 2 | 2   | > 256 |
| 10 | 2 | 4   | > 256 |
| 11 | 2 | 1.5 | > 256 |
| 12 | 2 | 2   | > 256 |
| 13 | 2 | 2.5 | > 256 |
| 14 | 2 | 3   | > 256 |
| 15 | 2 | 2   | > 256 |
| 16 | 2 | 1.5 | > 256 |
| 17 | 2 | 1.5 | > 256 |
| 18 | 2 | 3   | > 256 |
| 19 | 1 | 1   | > 256 |
| 20 | 1 | 1   | > 256 |
| 21 | 1 | 2   | > 256 |
| 22 | 2 | 2   | > 256 |
| 23 | 2 | 1.5 | > 256 |
| 24 | 2 | 2   | > 256 |
| 25 | 2 | 3   | > 256 |
| 26 | 2 | 1.5 | > 256 |
| 27 | 2 | 1   | > 256 |
| 28 | 2 | 2.5 | > 256 |
| 29 | 2 | 2   | > 256 |
| 30 | 2 | 2   | > 256 |
| 31 | 1 | 2   | > 256 |
| 32 | 1 | 1.5 | > 256 |
| 33 | 2 | 1.5 | > 256 |
| 34 | 2 | 1.5 | 128   |
| 35 | 2 | 1.5 | > 256 |
| 36 | 2 | 4   | > 256 |
| 37 | 2 | 1.5 | > 256 |
| 38 | 2 | 3   | > 256 |
| 39 | 1 | 2   | > 256 |
| 40 | 1 | 4   | > 256 |
| 41 | 2 | 2   | > 256 |
| 42 | 2 | 1   | > 256 |
| 43 | 2 | 2   | > 256 |
| 44 | 2 | 1   | > 256 |
| 45 | 1 | 2   | > 256 |
| 46 | 1 | 2   | > 256 |

|                                     |   |     |       |
|-------------------------------------|---|-----|-------|
| 47                                  | 2 | 3   | > 256 |
| 48                                  | 2 | 1   | > 256 |
| 49                                  | 2 | 1.5 | > 256 |
| 50                                  | 2 | 1   | > 256 |
| ATCC<br>29212<br><i>E. faecalis</i> | 1 | 1   | 2     |
| ATCC<br>29213<br><i>S. aureus</i>   | 1 |     | 0.5   |

#### 4.6. Enterokokların Tür Tanımlaması Sonuçları

GP24 Diagnostics kiti ile 50 Enterokok suşunun tanımlaması yapılmıştır. Çalışma sonucunda 50 suştan 48'i (%96) *Enterococcus casseliflavus* ve 2 suş (%4) *Enterococcus faecium* olarak tanımlanmıştır. Çalışmada *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşu kullanılmış ve %100 doğruluk oranı ile tanımlanmıştır. Şekil 4-6'da *Enterococcus faecium*, *Enterococcus casseliflavus* ve *Enterococcus faecalis* türlerinin kit ile tanımlaması yapılmış görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4-6: GP24 Diagnostics kiti kullanılarak tür tanımlaması yapılmış suşlar

Tüm Enterococcus tür tanımlaması sonuçlarının doğruluk oranları Tablo 4-8’de gösterilmiştir.

Tablo 4-8: GP24 diagnostics enterokok tanımlama kitinin 50 enterokok suşu için doğruluk oranları

| <i>Enterococcus casseliflavus</i> |         | <i>Enterococcus faecium</i> |       |
|-----------------------------------|---------|-----------------------------|-------|
| Doğruluk Oranı %                  | n (%)   | Doğruluk Oranı %            | n (%) |
| 92,36 – 94,99                     | 39 (78) | 91.29                       | 1 (2) |
| 86,77 – 88,59                     | 2 (4)   | 81.63                       | 1 (2) |
| 67,47 – 69,30                     | 7 (14)  |                             |       |

n: suş sayısı

Tablo 4-8'e göre 48 *E. casseliflavus* suşundan 39'u (%78) 92,36-94,99 doğruluk oranı ile, 2'si (%4) 86,77-88,59, 7'si (%14) 67,47-69,30 doğruluk oranı ile saptanırken 2 *E. faecium* suşundan biri 91.29 diğeri ise 81,63 doğruluk oranı ile saptanmıştır.



## 5. TARTIŞMA

Sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonlar (Healthcare-associated infections-HCAIs), hastaların tıbbi veya cerrahi durumlar için tedavi ve bakım alırken edindiği enfeksiyonlardır. HCAIs hasta güvenliği açısından önemlidir. HCAIs mortalitenin, hastanede yatış süresinin, hasta ve sağlık sistemleri için mali yükün artmasına neden olur (34). Sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonların birincil kaynağı sağlık çalışanlarının kontamine elleri ile yayılımın gerçekleşmesidir. Hastalık kontrol ve Önleme Merkezlerine (CDC) göre, sağlık bakım ortamlarında enfeksiyon bulaşmasını azaltmada en önemli uygulama el hijyenidir (35).

VRE enfeksiyonu için risk faktörleri, uzun süreli sağlık hizmeti görmek (yoğun bakım üniteleri) ve zayıflamış bağışıklık sistemine sahip olmaktır (organ nakli yapılan veya belirli kanser tedavisi gören hastalar). Vankomisine dirençli enterokokların oluşturdukları enfeksiyonlara karşı tedavide kullanılan antibiyotiklere giderek daha dirençli hale gelmesi ve antibiyotiklerin daha az etkili olabileceği endişesi artmaktadır (3).

Egan S.A., ve ark. tarafından İrlanda’da Haziran 2016 ve Ağustos 2019 tarihleri arasında 14 hastaneden izole edilen 154 linezolid dirençli suşda direnç geni varlığı (*optrA* ve *poxA*) araştırılmıştır. Suşların 35/154 (%22.7) tanesi *optrA* ve *poxA* genlerinden en az birini barındırdığı tespit edilmiştir. 35 suşun 23’ü *E. faecalis* ve 12’si *E. faecium* olarak belirlenmiştir. Tüm *E. faecalis* suşları ve 6 *E. faecium* suşu vankomisine duyarlı (VSE) olarak, diğer 6 *E. faecium* suşuda VRE olarak tespit edilmiştir. Tüm VRE suşlarının *vanA* geni içerdiği bulunmuştur. Çalışma sonucunda, bölgede enterokoklar arasında *optrA* ve *poxA* direnç genlerinin yüksek prevalansı ve yayılımı ortaya konulmuştur. *PoxA* direnç genini barındıran izolatların %26,3’ünün (5/19) aynı zamanda *vanA*’yı da barındırmasının hastalar için önemli bir risk oluşturduğu belirtilmiştir (36).

İspanya’da 24 ayrı hastaneden 2015 ve 2018 yılları arasında izole edilen, linezolid MİK konsantrasyon değerleri E-test ve broth mikrodilüsyon yöntemi ile saptanmış 97 linezolid dirençli enterokok (LRE) suşunda 61 (%62.9) *E. faecalis* ve 36 (%37.1) *E. faecium* tespit edilmiştir (37).

Çin'in Şanghai şehrinde (2017) bir hastaneden izole edilen 573 *Enterococcus spp.* suşun BioMerieux Vitek-2 Compact ile enterokok tür tanımlaması yapılmıştır. Suşların tümü vankomisine duyarlıdır. PCR ile *optrA* direnç geni tespit edilen 20 suş, broth ve agar mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak araştırılmış ve 2 linezolid direnci tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, *optrA* geni varlığının çeşitli aminoasitlerin yerdeğişimleri sonucu linezolide dirençli olmayan enterokoklardada bulunabileceği belirtilmiştir (38).

Olearo F. ve ark. (2021) tarafından Almanya'da (2012-2018) yapılan çalışma sonucunda linezolid ve vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* (LVRE) insidansının antibiyotik tüketimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Linezolidin VRE enfeksiyonlarında tedavi alternatifi olarak kalabilmesi için linezolid kullanımının sınırlandırılabilirliği bildirilmiştir (39).

Almanya'da (2015) yapılan bir başka çalışmaya göre, VRE suşları arasında linezolid direncindeki artan prevalans 2008 yılında %1'den küçük olarak bildirilirken, 2014'te bu oranın %9'dan daha büyük saptandığı bildirilmiştir (5).

Çalışmamızda Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci (HLAR) taraması yapılmış 48 *E. casseliflavus* suşunun, 31'inde yüksek düzey aminoglikozid direnci (HLAR), 16'sında yüksek düzey gentamisin direnci (HLGR) ve 1 suшта yüksek düzey streptomisin direnci saptanmıştır. 2 *E. faecium* suşu ise HLAR olarak tespit edilmiştir. Aminoglikozitlere (HLAR) karşı elde edilen yüksek seviyeli direnç, sinerjistik tedavileri ortadan kaldırdığı için HLAR suşlarının alternatif antibiyotik kombinasyonları ile tedavi edilmesi gerekir (13). Schouten MA ve ark. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada 50 *E. gallinarum* ve 21 *E. casseliflavus* suşunun gentamisin direnci araştırılmış ve *E. gallinarum* suşlarının %18'inin ve *E. casseliflavus/flavescens* suşlarının %18,2'sinin gentamisine yüksek düzeyde dirençli olduğunu bildirmişlerdir (40).

Enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması ile dirençli enterokok suşlarının hızla yayılımı önlenir.

Çin'de yapılan bir çalışmada (2022), 142 *E. faecalis* (71 linezolide dirençli 71 duyarlı) ve 70 *E. faecium* (23 vankomisin dirençli, 23 duyarlı, 12 linezolide dirençli ve 12 duyarlı) suşunu, Resazurin Microplate Metodu (RMM) ile çalışarak test etmişlerdir. RMM ile suşların antibiyotik duyarlılık ve direnç durumları çok kısa sürede test edilmiştir. Suşlarda linezolid ve vankomisin dirençlerinin hızlı bir yöntem kullanılarak

tanımlanmasının direnç yayılımını önleyecek izolasyon önlemlerinin ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin hızla alınmasına imkân sağlanacağı ve böylece yayılımın engelleneceği bildirilmiştir (41).

2021 yılında İstanbul'da Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yapılan bir çalışmada, tüm birimlerde yatan hastalardan toplanan rektal sürüntü örnekleri VRE taraması yapılarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, 771 hastadan 1710 örnek alınmış, tüm örneklerin %8,1'inde (137/1710) VRE saptanmıştır. En yüksek pozitiflik oranının yoğun bakım hastalarında olduğu tespit edilmiştir (42).

Çalışmamızda 50 VRE suşunun, mikrodilüsyon metodu ile MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 2, 2 µg/ml olarak bulunurken, E-test metodu ile 2, 3 µg/ml olarak bulunmuştur. Kantitatif iki farklı yöntem (mikrodilüsyon ve E-test) sonuçları değerlendirildiğinde, MİK<sub>50,90</sub> değerleri açısından önemli bir fark görülmemiş ve tüm yöntemlerin (disk difüzyonda dahil) yüksek oranda paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

2004 yılında Türkiye'de yapılan bir çalışmada 55 VRE suşunun E-test metodu ile linezolid MİK değerleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 55 suşun MİK değerleri 0,38-2,0 µg/ml aralığında tespit edilmiştir (43). Başka bir çalışmada, Aktaş G. ve ark. (2012) tarafından 2006-2007 yılları arasında hastaların rektal sürüntü örneklerinden izole edilen 100 VRE suşunun mikrodilüsyon yöntemi ile linezolid MİK değerleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, linezolid MİK<sub>50</sub>, MİK<sub>90</sub> ve MİK aralıkları 4, 4 ve 1-16 µg/ml olarak saptanmış ve 2 VRE suşu linezolide dirençli olarak bulunmuştur. Dirençli suşların MİK değerleri E-test yöntemi ile de araştırılmış 8 ve 12 µg/ml olarak saptanmıştır. Bu iki suş *E.faecium* olarak tanımlanmıştır (44).

Parlak M. ve ark. tarafından Türkiye'de (2014) yapılan bir çalışmada, VRE suşlarının linezolid duyarlılıkları araştırılmıştır. 58 VRE suşunun E-test metodu ile linezolid MİK<sub>50</sub>, MİK<sub>90</sub> ve MİK aralığı sırasıyla 0,75 µg/ml, 1,5 µg/ml ve 0,047-2 olarak tespit edilmiştir. VRE suşlarının linezolide duyarlı olduğu bildirilmiştir. VRE suşlarının 53'ü (%91,4) *E. faecium*, 5'i (%8,6) ise *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır (45).

2017 yılında yapılan başka bir çalışmada ise 79 *Enterococcus spp.* izolatu linezolide karşı duyarlı saptanmıştır. *E. faecalis* (%69,6) suşları için linezolid MİK aralığı 0,25-2 µg/ml, MİK<sub>50</sub> 0,75 µg/ml ve MİK<sub>90</sub> 1,5 µg/ml olarak saptanmıştır. *E. faecium* (%30,4) suşları için linezolid MİK aralığı 0,125-2 µg/ml, MİK<sub>50</sub> 0,5 µg/ml ve MİK<sub>90</sub> 1 µg/ml olarak saptanmıştır. Çalışma sonucunda, linezolidin MİK değerlerinin izlenerek,

MİK değerlerindeki değişimlerin yakından takip edilmesi, yeterli doz ve sürelerde kullanılmasının önemine dikkat çekilmiştir (46).

Çomoğlu Ş. ve ark. tarafından Türkiye’de (2019) yapılan bir çalışmada 20 VRE suşunun linezolid duyarlılığı disk difüzyon ve E-test yöntemleri ile araştırılmıştır. Suşların MİK değerleri dağılımını 0,38-2 µg/ml olarak saptamışlardır. Çalışma sonucunda, linezolid direnci tespit edilememiş ve linezolidin VRE tedavisinde önemli bir alternatif olduğu belirtilmiştir (47).

Çalışmamızda, farklı klinik birimlerden izole edilen 50 VRE suşunun GP24 diagnostics tür tanımlama kiti kullanılarak tür tanımlaması yapılmıştır. 50 suştan 48’i (%96) *Enterococcus casseliflavus* ve 2 suş (%4) *Enterococcus faecium* olarak tanımlanmıştır. Kontrol suşu olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 atandart suşu kullanılmış ve %100 doğruluk oranı ile tanımlanmıştır.

1999’da Amerika’da yapılan bir çalışmada 486 enterokokal bakteriyemi vakasında 5 *Enterococcus casseliflavus* tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, hareketli *Enterococcus* türlerinin, bağışıklığı baskılanmış hastalarda klinik olarak önemli bir bakteriyemi nedeni olabileceği belirtilmiştir (48).

Brezilya’da (2004) bir üniversite hastanesinde 67 hastadan izole edilen toplam 97 enterokok suşu tür tanımlaması yapılarak incelenmiş. Çalışma sonucunda %34 oranında *E. faecium*, %33 *E. faecalis*, %23,7 *E. gallinarum* ve %5,2 oranında *E. casseliflavus* tespit edilmiştir (49).

2006 yılında yayımlanan bir çalışmada Amerika’da bir hastanede 33 non-faecalis ve non-faecium enterokokal bakteriyemili vaka incelenmiş, vakaların 10’u *E. casseliflavus*, 8’i *E. mundtii*, 7’si *E. avium*, 5’i *E. durans* ve 3’ü *E. gallinarum* ile enfekte olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda non-faecalis ve non-faecium enterokoklara bağlı bakteriyeminin sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyon olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, özellikle hematoloji/onkoloji birimlerinde uygun enfeksiyon kontrol önlemlerini başlatmak için tüm enterokokların tür düzeyinde tanımlanmasının önemi vurgulanmıştır (50).

2009 yılında İran’da, Tahran hastanelerinde izole edilen enterokoklar arasındaki tür prevalansı ve antibakteriyel direnç araştırılmıştır. 200 enterokok izolatin vankomisin, teikoplanin ve linezolid antibiyotikleri duyarlılıkları disk difüzyon ve agar dilüsyon

yöntemi ile test edilmiştir. Çalışma sonucunda, 200 izolatin %80'i *E. faecalis*, %11'i *E. faecium*, %6,5'i *E. casseliflavus*, %2'si *E. gallinarum* ve %0,5'i *E. avium* olarak tanımlanmıştır. 2 *E. faecium*, 1 *E. gallinarum* ve 1 *E. casseliflavus* suşu linezolide dirençli olarak saptanmıştır. Linezolid vankomisin dirençli enterokok (LVER) suşları için linezolid MİK değerleri 16 ve 32 µg/ml arasında bulunmuştur (51).

Japonya'da 2005-2014 yılları arasında yapılan retrospektif bir çalışmada enterokokal kan dolaşımı enfeksiyonu olan 410 vaka ile çalışılmış. 410 vakanın 37'sinde (%9) *Enterococcus casseliflavus* tespit edilmiştir. Çalışmada enterokokal kan dolaşımı enfeksiyonunda *E. faecalis* ve *E. faecium*'dan sonra *E. casseliflavus*'un üçüncü etken olduğu belirtilmiştir (52).

2010 yılında Tayvan'da bir tıp merkezinde, non-faecalis ve non-faecium enterokokların neden olduğu enfeksiyonlara ilişkin yapılan bir araştırmada kan kültürlerinden izole edilen 3017 enterokok suşu incelenmiş ve en yaygın türler sırasıyla *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. avium* ve *E. hirae* olarak tespit edilmiştir (53).

Non-faecium non-faecalis Enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar ciddi invaziv hastalığı olan ve bağışıklığı baskılanmış hastalar ile ilişkilendirilmiştir.

2015'de Amerika'da bir hastanede yapılan retrospektif çalışmada, hastaneye non-faecium non-faecalis VRE kan dolaşımı enfeksiyonu (Blood Stream Infection-BSI) tanısı ile yatan 48 hastanın 29'unda (%60,4) *E. gallinarum* ve 19'unda (%39,6) *E. casseliflavus* tespit edilmiş. Genel olarak, vankomisine dirençli *E. gallinarum* veya *E. casseliflavus* BSI için linezolid veya daptomisin ile tedavinin, anti-enterokokal beta-laktam tedavisine kıyasla daha iyi klinik sonuçlar verdiği belirtilmiştir (54).

Koganemaru H. Ve Hitomi S. 2008 yılında Japonya'da bir üniversite hastanesinde yaptıkları çalışmada, intrinsik olarak vankomisine dirençli (*VanC* tipi) enterokokların neden olduğu bakteriyeminin klinik ve mikrobiyolojik özellikleri retrospektif olarak incelemiştir. Çalışma sonucunda *VanC* tipi enterokoklar (*Enterococcus gallinarum* ve *Enterococcus casseliflavus*), tüm enterokokal bakteriyemilerin %12'si ile ilişkilendirilmiştir. Bu türlerin Japonya'da daha sık bakteriyemiye neden olduğu belirtilmiştir (55).

2023 yılında yayımlanan Hindistan'da yapılan prospektif bir çalışmada 371 *Enterococcus spp.* izolata konvensiyonel biokimyasal testler ve VITEK 2 Compact

tanımlama sistemi ile tür tanımlaması yapılmış ve PCR ile vankomisin direnci araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, 239 *Enterococcus faecalis*, 114 *Enterococcus faecium*, 8 *E. avium*, 4 *E. durans*, 4 *E. casseliflavus* ve 2 *E. gallinarum* tespit edilmiştir. Vankomisin direnci 14 *E. faecalis*, 4 *E. faecium*, 4 *E. casseliflavus* ve 2 *E. gallinarum* suşunda, 2 linezolid dirençli Enterokok ve 252 çoklu ilaca dirençli Enterokok tespit edilmiştir (56).

Sağlık hizmetleri ile ilişkili enfeksiyonları önlemek ve hasta, çalışan ve çevre için oluşturduğu riski azaltmak için sürveyans takibi yapılmalıdır. Çalışan sağlığı, izolasyon, sağlık personelinin eğitimi, enfeksiyon önleme politikaları ve yönetimi gibi enfeksiyon kontrol programları oluşturulmalı ve uygulanmalıdır. Linezolid VRE enfeksiyonları tedavisinde önemli bir antimikrobiyal ajandır. Direnç gelişmemesi için gereksiz kullanımından kaçınılmalıdır. Çalışmamızda linezolidin VRE suşları üzerindeki etkinliği araştırılmış ve linezolid direnci saptanmamıştır. Bu da linezolidin VRE kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde güvenle kullanılabileceği fikrini vermektedir. Bu konuda devamlı ve kapsamlı çalışmaların yapılması ve linezolid direnç sürveyansının izlenmesi önemli olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Revelas A. (2012). Healthcare-associated infections: A public health problem. Nigerian medical journal, 53(2), 59–64. <https://doi.org/10.4103/0300-1652.103543>
2. Bender, J. K., Cattoir, V., Hegstad, K., Sadowy, E., Coque, T. M., Westh, H. ve ark. (2018). Update on prevalence and mechanisms of resistance to linezolid, tigecycline and daptomycin in enterococci in Europe: Towards a common nomenclature. Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy, 40, 25–39. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2018.10.002>
3. CDC 2019, <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>
4. Ahmed, M. O., & Baptiste, K. E. (2018). Vancomycin-Resistant Enterococci: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Perspectives of Human and Animal Health. Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.), 24(5), 590–606. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0147>
5. Klare, I., Fleige, C., Geringer, U., Thürmer, A., Bender, J., Mutters, N.T. ve ark. 2015. Increased frequency of linezolid resistance among clinical Enterococcus faecium isolates from German hospital patients. J. Glob. Antimicrob. Resist. 3, 128–131. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2015.02.007>.
6. Bonora, M.G., Ligozzi, M., Luzzani A. ve ark. Emergence of linezolid resistance in Enterococcus faecium not dependent on linezolid treatment. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 25, 197–198 (2006). <https://doi.org/10.1007/s10096-006-0100-8>
7. George M. Eliopoulos and others, Antimicrobial Resistance to Linezolid, Clinical Infectious Diseases, Volume 39, Issue 7, 1 October 2004, Pages 1010–1015. <https://doi.org/10.1086/423841>
8. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Steering Committee (2006). EUCAST Technical Note on linezolid. Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 12(12), 1243–1245. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01577.x>

9. Van Tyne, D., & Gilmore, M. S. (2014). Friend turned foe: evolution of enterococcal virulence and antibiotic resistance. *Annual review of microbiology*, 68, 337–356.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091213-113003>
10. Murray B. E. (1990). The life and times of the *Enterococcus*. *Clinical microbiology reviews*, 3(1), 46–65. <https://doi.org/10.1128/CMR.3.1.46>
11. Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current opinion in microbiology*, 51, 72–80.  
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
12. Murray PR, Rosental KS, Phaller MA. *Medical Microbiology*. 8th ed. Philadelphia (PA): Elsevier Inc: 2016:183-201
13. Monticelli, J., Knezevich, A., et al. (2018). Clinical management of non-faecium non-faecalis vancomycin-resistant enterococci infection. Focus on *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus/flavescens*. *Journal of infection and chemotherapy: official journal of the Japan Society of Chemotherapy*, 24(4), 237–246.  
<https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.01.001>
14. Facklam R. (2002). What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clinical microbiology reviews*, 15(4), 613–630.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.15.4.613-630.2002>
15. Jorgensen JH, Phaller MA. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th edition. Washington DC: Asm Press:2015:403-15. DOI:10.1128/9781555817381
16. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Woods GL. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 17th edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health:2017:768-818.
17. Ellener, P.D., Williams, D. A. ve ark. (1985). Preliminary evaluation of rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. *J.Clin. Microbiol.* 22. 880-881.
18. Facklam, R. R., Padula, J. F., et al. (1974). Presumptive identification of Group A, B and D streptococci. *Appl. Microbiol.* 27. 107-109.
19. Ryan KJ, Ahmad N, Alspaugh JA, Drew WL, Lagunoff M, et al. *Sherris Medical Microbiology*. 7th edition. McGraw-Hill Education: 2018:473-498.
20. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease*. 8th edition. Elsevier Saunders: 2015:378-388

21. Patel, S., Preuss, C. V., & Bernice, F. (2022). Vancomycin. In StatPearls. StatPearls Publishing.
22. Chlebicki, M. P., & Kurup, A. (2008). Vancomycin-resistant enterococcus: a review from a Singapore perspective. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, 37(10), 861–869.
23. Stogios, P. J., & Savchenko, A. (2020). Molecular mechanisms of vancomycin resistance. *Protein science : a publication of the Protein Society*, 29(3), 654–669.  
<https://doi.org/10.1002/pro.3819>
24. Liu, B.G., Yuan, X.L., He, D.D., Hu, G.Z. ve ark. Research progress on the oxazolidinone drug linezolid resistance. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020;24:9274-81
25. Livermore D. M. (2003). Linezolid in vitro: mechanism and antibacterial spectrum. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 51 Suppl 2, ii9–ii16.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkg249>
26. Mališová, L., Jakubů, V., Pomorská, K., Musílek, M., & Žemličková, H. (2021). Spread of Linezolid-Resistant Enterococcus spp. in Human Clinical Isolates in the Czech Republic. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(2), 219.  
<https://doi.org/10.3390/antibiotics10020219>
27. Huang, L., Zhang, R et al. (2019). Epidemiology and risk factors of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant enterococci infections in Zhejiang China from 2015 to 2017. *Antimicrobial resistance and infection control*, 8, 90.  
<https://doi.org/10.1186/s13756-019-0539-x>
28. Turner AM, Lee JYH, Gorrie CL, Howden BP and Carter GP. Genomic insights into last-line antimicrobial resistance in multidrug-resistant Staphylococcus and Vancomycin-resistant Enterococcus. *Front microbiol* 2021;12:637656.  
DOI: 103389/fmicb.2021.637656
29. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Sixth Edition. CLSI document M7-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute;2003.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: A CLSI supplement for global application. M100,30th ed., CLSI, Wayne, PA, USA, 2020.

31. Çetin ET. Genel Ve Pratik Mikrobiyoloji. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji, Tropikal Hastalıklar ve Parazitoloji Kürsüsü. 3. Baskı. (1973): 372.
32. Hudzicki J. Kirby – Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society For Microbiology. December 8, 2009.
33. Turnidge JD, Bell JM. Antimicrobial Susceptibility On Solid Media in Antibiotics in Laboratory Medicine. Ed: Lorian V. Chapter 2, p: 8-60. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA. 2005.
34. WHO (2011) Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated Infection Worldwide (WHO, Geneva).
35. Toney-Butler, T. J., Gasner, A., & Carver, N. (2022). Hand Hygiene. In StatPearls. StatPearls Publishing.
36. Egan, SA., Shore, AC. ve ark. Linezolid resistance in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* from hospitalized patients in Ireland: high prevalence of the MDR genes *optrA* and *poxA* in isolates with diverse genetic backgrounds. J Antimicrob Chemother 2020; 75: 1704–11
37. Moure, Z., Lara, N. ve ark. Interregional spread in Spain of linezolid resistant *Enterococcus* spp. isolates carrying the *optrA* and *poxA* genes. Int J Antimicrob Agents 2020; 55: 105977.
38. Li, P., Yang, Y. ve ark. (2020). Molecular Investigations of Linezolid Resistance in *Enterococci* *Optra* Variants from a Hospital in Shanghai. Infection and drug resistance, 13, 2711–2716.  
<https://doi.org/10.2147/IDR.S251490>
39. Olearo, F., Both, A. ve ark. (2021). Emergence of linezolid-resistance in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* ST117 associated with increased linezolid-consumption. International journal of medical microbiology : IJMM, 311(2), 151477.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2021.151477>
40. Schouten, M. A., Voss, A. ve ark. (1999). Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. The European VRE Study Group. Antimicrobial agents and chemotherapy, 43(10), 2542–2546.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.43.10.2542>

41. Zeng, W., Han, Y. ve ark. (2023). Evaluation of resazurin microplate method for rapid detection of vancomycin and linezolid resistance in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* clinical isolates. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 78(2), 466–477.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkac415>
42. Alçi, G., Güneşer, D., Karahasan A. Hastanede Yatan Hastalardan Alınan Rektal Sürüntü Örneklerinde Vankomisine Dirençli Enterokok Taranması: Stratejik Değerlendirme. *ANKEM Dergisi*. 2021; 35(3): 70-76.  
<https://doi.org/10.54962/ankemderg.1048456>
43. Baysallar, M., Kilic, A., Aydogan, H., Cilli, F., & Doganci, L. (2004). Linezolid and quinupristin/dalfopristin resistance in vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prior to clinical use in Turkey. *International journal of antimicrobial agents*, 23(5), 510–512.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2003.09.029>
44. Aktaş G., Bozdoğan B., et al. Linezolid ve Dalbavansinin vankomisine dirençli enterokok suşlarına karşı in vitro aktivitesi. *Mikrobiyol Bul* 2012;46:359-365
45. Parlak, M., Binici, İ. ve ark. Vankomisine dirençli Enterokoklarda linezolid, tigesiklin ve daptomisin duyarlılığının E-test yöntemiyle araştırılması. *Dicle med J* 2014;41(3):534-7  
<https://doi.org/10.5798/diclemedj.0921.2014.03.0469>
46. Öcal, D., Gürbüz, O.A., Dansuk Z., Kuzucu, E.A., Altunay, E. ve ark. (2017). Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* Suşlarının In-vitro Daptomisin ve Linezolid Duyarlılık Profilleri. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 47(3):125-130.  
doi:10.5222/TMCD.2017.125
47. Çomoğlu, Ş., Kaya, Ş. ve ark. (2018). Determination of In Vitro Activity of Linezolid in Resistance Gram-positive Bacteria by E-Test Method. *Haydarpasa Numune Med J* 2019;59(1):25-30.  
<http://dx.doi.org/10.14744/hnhj.2018.30085>
48. Winai Ratanasuwan and others, Bacteremia Due to Motile *Enterococcus* Species: Clinical Features and Outcomes, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 28, Issue 5, May 1999, Pages 1175–1177

<https://doi.org/10.1086/517774>

49. Maschieto A, Martinez R, Palazzo ICV, Darini ALDC. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* sp. isolated from the intestinal tract of patients from a university hospital in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004;99:763e7  
<https://doi.org/10.1590/s0074-02762004000700018>
50. Perio, M., Yarnold, P. ve ark. (2006). Risk Factors and Outcomes Associated With Non-*Enterococcus faecalis*, Non-*Enterococcus faecium* Enterococcal Bacteremia. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 27(1), 28-33  
<https://doi.org/10.1086/500000>
51. Yasliani, S., Mohabati Mobarez, A. Hosseini Doust, R., Satari, M., & Teymornejad, O. (2009). Linezolid vancomycin resistant *Enterococcus* isolated from clinical samples in Tehran hospitals. *Indian journal of medical sciences*, 63(7), 297–302.
52. Suzuki, H., Hase, R., Otsuka, Y., Hosokawa, NA. 10-year profile of enterococcal bloodstream infections at a tertiary-care hospital in Japan. *J Infect Chemother* 2017;23:390e3.  
<https://doi.org/10.1016/j.jiac.2017.03.009>
53. Tan, C. K., Lai, C. C. ve ark. (2010). Bacteremia caused by non-*faecalis* and non-*faecium* *enterococcus* species at a Medical center in Taiwan, 2000 to 2008. *The Journal of infection*, 61(1), 34–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2010.04.007>
54. Britt, N. S., & Potter, E. M. (2016). Clinical epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus* bloodstream infections. *Journal of global antimicrobial resistance*, 5, 57–61  
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2015.12.002>
55. Koganemaru, H., & Hitomi, S. (2008). Bacteremia caused by VanC-type enterococci in a university hospital in Japan: a 6-year survey. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy*, 14(6), 413–417  
<https://doi.org/10.1007/s10156-008-0644-x>
56. Sengupta, M., Sarkar, R. ve ark. (2023). Vancomycin and Linezolid-Resistant *Enterococcus* Isolates from a Tertiary Care Center in India. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 13(5), 945.  
<https://doi.org/10.3390/diagnostics13050945>



## HAM VERİLER



**FORMLAR**

## İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

### LİNEZOLİDİN VANKOMİSİNE DİRENÇLİ ENTEROKOK SUŞLARINA ETKİSİNİN ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

#### ORJİNALLİK RAPORU

|                   |                     |            |                  |
|-------------------|---------------------|------------|------------------|
| % <b>12</b>       | % <b>11</b>         | % <b>6</b> | % <b>4</b>       |
| BENZERLİK ENDEKSİ | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR   | ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ |

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

|          |                                                                                    |             |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>1</b> | <b>acikbilim.yok.gov.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                    | % <b>3</b>  |
| <b>2</b> | <b>nek.istanbul.edu.tr:4444</b><br>İnternet Kaynağı                                | % <b>2</b>  |
| <b>3</b> | <b>docplayer.biz.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                        | % <b>1</b>  |
| <b>4</b> | <b>www.mikrobiyolbul.org</b><br>İnternet Kaynağı                                   | <% <b>1</b> |
| <b>5</b> | <b>openaccess.bezmialem.edu.tr</b><br>İnternet Kaynağı                             | <% <b>1</b> |
| <b>6</b> | <b>www.klimud.org</b><br>İnternet Kaynağı                                          | <% <b>1</b> |
| <b>7</b> | <b>books.akademisyen.net</b><br>İnternet Kaynağı                                   | <% <b>1</b> |
| <b>8</b> | <b>dergipark.org.tr</b><br>İnternet Kaynağı                                        | <% <b>1</b> |
| <b>9</b> | <b>PARLAK, Mehmet, BİNİCİ, İrfan, ÇIKMAN, Aytekin, KARAHOCAGİL, Mustafa Kasım,</b> | <% <b>1</b> |