KUTAY SARSAR

← Adınızı soyadınızı giriniz

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya (sol yandaki gibi) olacak .

↓

DOKTORA TEZİ

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ; Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

İSTANBUL-2018

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

VANKOMİSİNE DİRENÇLİ ENTEROKOKLARDA DEĞİŞKEN ALANLI (PULSED FİELD) JEL ELEKTROFOREZİ (PFGE) YÖNTEMİ İLE KLONAL İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

KUTAY SARSAR

DANIŞMAN
PROF. DR. MUSTAFA DERYA AYDIN

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI

İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji Programında Doktora öğrencisi Kutay Sarsar tarafından Prof. Dr. Mustafa Derya Aydın'nın danışmanlığında hazırlanan "Vankomisine Dirençli Enterokoklarda Değişken Alanlı (Pulsed Field) Jel Elektroforezi (PFGE) Yöntemi İle Klonal İlişkinin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 08/01/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Zeynep Çiğdem Kayacan
İstanbul Aydın Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.

Jüri-Danışman
Prof. Dr. Mustafa Derya Aydın
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.

Jüri
Prof. Dr. Mustafa Özyurt
İstanbul Bilim Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji A.D.

Jüri
Prof. Dr. Atahan Çağatay
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D.

Jüri
Prof.Dr. Zerrin Aktaş
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji A.D.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Kutay Sarsar

İTHAF

Aileme…

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesi de dahil olmak üzere, eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, ilgi ve hoşgörüsünü esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. M. Derya Aydın'a,

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam, Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ali Ağaçfidan'a,

Her zaman bilgi ve deneyimlerini memnuniyetle paylaşan değerli hocam, Bakteriyoloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nezahat Gürler'e,

Tez çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Zerrin Aktaş'a,

Dendogram oluşturma aşamasında yardım ve bilgilerine başvurduğum değerli hocam Prof. Dr. Kaya Köksalan'a,

Bilgi ve deneyimlerinden faydalanma olanağı bulduğum değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Şengül Derbentli, Sayın Prof. Dr. Betigül Öngen, Sayın Prof. Dr. Meltem Uzun, Sayın Prof. Dr. Zayre Erturan, Sayın Prof. Dr. Özden Büyükbaba Boral, Sayın Doç. Dr. Yaşar Nakipoğlu, Sayın Doç. Dr. Dilek Şatana, Sayın Doç. Dr. Gülseren Aktaş, Sayın Doç. Dr. Lütfiye Öksüz, Sayın Uzm. Dr. Bahar Akgün Karapınar ve emekli olan ya da başka kurumlarında çalışmalarına devam eden sayın Prof. Dr. Bülent Gürler, Sayın Prof. Dr. Selim Badur, Sayın Prof. Dr. O. Şadi Yenen, Sayın Prof. Dr. Yıldız Yeğenoğlu, Sayın Prof. Dr. Çiğdem Kayacan ve Sayın Prof. Dr. Ali Öner'e,

Suşların toplanması ve identifikasyonunda yardımları bulunan arkadaşlarım Biyo. Kenan Akbulut ve Biyo. Öner Kipritçi'ye,

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda eğitimime başladığım ilk günden beri dostluklarını esirgemeyen, her konuda her zaman yardıma hazır olan Dr. Osman Köksal, MSc. Biyo. Ilgın Kara, Biyo. Ayşegül Şahin Aydın ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

Hayatta her zaman bana her konuda destek olan, yetişmemde büyük özveri göstererek bugünlere gelmemi sağlayan, sevgi ve desteklerini hep hissettiğim annem, babam ve ağabeyime,

Her zaman yanımda olan, beni destekleyen eşime ve canım kızım İpek'e varlıklarından dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 32301

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Xİ
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... Xİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİİİ
ÖZET XV
ABSTRACT ..... XVİ
1 GİRİŞ VE AMAÇ 1
2 GENEL BİLGİLER 3
2.1 Tarihçe 3
2.2 Cins Özellikleri ve Sınıflandırma 4
2.3 Üreme Gereksinimleri ve Metabolizma 6
2.4 Hücre Duvarı Yapısı ve Antijenik Özellikler 7
2.4.1 Peptidoglikan 7
2.4.2 Hücre Duvarı İlişkili Proteinler 8
2.4.3 Hücre Duvarı Dinamikleri 8
2.4.3.1 Lipoproteinler 8
2.4.3.2 Lipoteikoik Asit 8
2.4.3.3 Hücre Duvarı Teikoik Asitleri 9
2.4.3.4 Enterokokal Polisakkarit Antijeni (Epa) 9
2.4.3.5 Kapsüler Polisakkarit (Cps) 9
2.4.3.6 Hücre Duvarı Proteinleri (Cell wall anchored proteins) 10
2.4.3.7 Adeziv Makromolekülleri Tanıyan Mikrobiyal Yüzey Komponentleri (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Macromolecules-MSCRAMM) 10
2.5 Genom Özellikleri ve Önemli Genetik Mekanizmalar 12
2.6 Virulans Faktörleri 13
2.6.1 Agregasyon Maddesi (AS) 13

2.6.2 Enterokokal Yüzey Proteini (Esp) 14
2.6.3 Jelatinaz ve *fsr* 14
2.6.4 Sitolizin/Hemolizin 15
2.6.5 Pili 16
2.6.6 MSCRAMM 16
2.6.7 Hiyaluronidaz 17
2.6.8 Enterokokal Hücre Duvarı ve Kapsüler Polisakkaritler 17
2.6.9 Ekstraselüler Süperoksit 18
2.6.10 AS-48 18
2.6.11 Antibiyotik Direnci 18
2.7 Antibiyotik Direnci ve Mekanizmaları 18
2.7.1 Doğal (İnterensek) Direnç 19
2.7.1.1 Beta Laktam Direnci 19
2.7.1.2 Aminoglikozid Direnci 19
2.7.1.3 Trimetoprim-Sulfametoksazol Direnci 20
2.7.1.4 Daptomisin Direnci 20
2.7.1.5 Diğer 20
2.7.2 Kazanılmış Direnç 21
2.7.2.1 Beta Laktamlar 22
2.7.2.2 Aminoglikozidler 22
2.7.2.3 Glikopeptitler 23
2.7.2.4 Streptograminler 27
2.7.2.5 Linezolid 28
2.7.2.6 Daptomisin 29
2.7.2.7 Kloramfenikol 29
2.7.2.8 Tetrasiklinler 29
2.7.2.9 Kinolonlar 29
2.8 Konak İmmün Yanıtı 29
2.9 Habitat 30
2.9.1 İnsanlarda Enterokoklar 30
2.9.2 Hayvanlarda Enterokoklar 30
2.9.3 Çevrede Enterokoklar 31
2.10 VRE Epidemiyolojisi, Kolonizasyon ve Risk Faktörleri 31

2.11 Enterokok Enfeksiyonları 34
2.11.1 Ürogenital Sistem Enfeksiyonları 34
2.11.2 Karın İçi, Pelvik ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları 34
2.11.3 Bakteriyemi 34
2.11.4 Endokardit 35
2.11.5 Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları 35
2.11.6 Deri Enfeksiyonları 35
2.11.7 Yaygın Olmayan Enfeksiyonlar 36
2.12 Tedavi 36
2.12.1 Ampisilin ve Vankomisin Duyarlı, Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci Olmayan *E. faecalis* Tedavisi 36
2.12.2 Ampisilin ve Vankomisin Duyarlı, Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci Olan *E. faecalis* Tedavisi 36
2.12.3 Çoklu İlaç Direnci Olan *E. faecium* Tedavisi 37
2.12.4 Vankomisine Dirençli Enterokok Tedavisi 38
2.13 Epidemiyolojik Tiplendirme Yöntemleri 39
2.13.1 Fenotipik Tiplendirme Yöntemleri 39
2.13.1.1 Biyotipleme 39
2.13.1.2 Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) Yöntemi ile Protein Temelli Tipleme 40
2.13.1.3 Multilokus Enzim Elektroforezi (MLEE) 40
2.13.1.4 Antibiyogram Temelli Tipleme 40
2.13.1.5 Serotipleme 41
2.13.1.6 Kütle Spektrometresi 41
2.13.2 Genotipik Tiplendirme Yöntemleri 42
2.13.2.1 DNA Bantları Oluşturma Temelli Yöntemler 42
2.13.2.2 DNA Dizileme Temelli Yöntemler 47
2.13.2.3 DNA Hibridizasyonu 47
2.14 Korunma ve Kontrol Önlemleri 48
2.14.1 Uygun Vankomisin Kullanımı 48
2.14.1.1 Vankomisin Kullanımının Uygun Olduğu Durumlar 48
2.14.1.2 Vankomisin Kullanımının Uygun Olmadığı Durumlar 48
2.14.2 Eğitim Programı 49
2.14.3 Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü 49

2.14.4 Kontrol Önlemleri 50
3 GEREÇ VE YÖNTEM 52
3.1 Kullanılan Besiyerleri 53
3.1.1 Safra-Eskülin Agar 53
3.1.2 Koyun Kanlı Agar 53
3.1.3 Mueller Hinton Agar 53
3.1.4 Enterococcosel Agar 53
3.1.5 Mueller Hinton Buyyon 53
3.1.6 Sodyum Azitli Buyyon 54
3.1.7 %6,5 NaCl'lü Sıvı Besiyeri 54
3.1.8 Saklama Besiyeri 54
3.2 Rektal Sürüntü Kültürü ve Değerlendirilmesi 54
3.2.1 Katalaz Testi 54
3.2.2 Safra-Eskülin Testi 54
3.2.3 %6,5 NaCl'de Üreme (Tuz Tolerans) Testi 55
3.2.4 PYR Testi 55
3.3 Tür Tayini 55
3.4 Minimum İnhibitör Konsantrasyon Gradient Testi 55
3.5 Suşların Saklanması 56
3.6 Multipleks PCR Yöntemi İle Direnç Genotipinin Belirlenmesi 56
3.6.1 Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları 56
3.6.1.1 10X TBE 56
3.6.1.2 Etidyum Bromür 56
3.6.1.3 % 1,8'lik Agaroz Jel 56
3.6.1.4 Primerler 57
3.6.2 DNA Ekstraksiyonu 57
3.6.3 Amplifikasyon ve Elektroforez 58
3.7 Pulse Field Jel Elektroforez Yöntemi İle Klonal İlişkinin Saptanması 58
3.7.1 Kullanılan Çözeltiler Ve Hazırlanışları 59
3.7.1.1 PIV 59
3.7.1.2 %1,5'lik Düşük Erime Sıcaklıklı Agaroz (Low Melting Agaroz-LMA) 59
3.7.1.3 EC-Lizis 59
3.7.1.4 ESP 59

3.7.1.5 TE Buffer 59
3.7.1.6 SmaI Tamponu 60
3.7.2 İzolatların Hazırlanması 60
3.7.3 İzolatların Agaroza Gömülmesi 60
3.7.4 Agaroz İçindeki Hücrelerin Parçalanması 60
3.7.5 Agaroz Kalıpların Yıkanması 61
3.7.6 Agaroz Kalıplar İçerisindeki DNA'nın RE İle Kesimi 61
3.7.7 Elektroforez Jelinin Hazırlanması, Kalıpların Jele Yüklenmesi Ve Elektroforez 61
4 BULGULAR 63
5 TARTIŞMA 72
KAYNAKLAR 81
HAM VERİLER 95
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 96
ETİK KURUL KARARI 97
PATENT HAKKI İZNİ 98
TELİF HAKKI İZNİ 99
ÖZGEÇMİŞ 100

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2. 1 Enterokok türlerinin tanısı için kullanılan fenotipik özellikler.....5
Tablo 2. 2 Van gen kümelerine göre enterokoklarda glikopeptit direnci 24
Tablo 2. 3 Genetik olayların PFGE profilleri üzerine etkisi 43
Tablo 3. 1 Multiplex PCR yönteminde kullanılan primer dizileri 57
Tablo 4. 1 Yaş gruplarına ve cinsiyete göre hasta dağılımı 64
Tablo 4. 2 VRE üremesi olan hastaların merkezlere göre dağılımı (n:110) 64
Tablo 4. 3 01.04.2013 – 30.11.2013 tarihleri arası VRE pozitifliği saptanan örneklere ait bilgi tablosu.....65
Tablo 4. 4 Aralık 2014-Mart 2016 tarihleri arasında tarihleri arası VRE pozitifliği saptanan örneklere ait bilgi tablosu.....67
Tablo 4. 5 VRE suşlarının Vankomisin direnç fenotipi, Vankomisin direnç geni, Vankomisin-Teikoplanin E-test değerleri, çeşitli antibiyotiklere direnç durumu ve klonal tipleri. 68

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1 Enterokok yayılımı 33
Şekil 2. 2 Nozokomiyal VRE bulaşının önemli yolları 33
Şekil 2. 3 Değişik genetik olayların PFGE profilindeki görüntüsü.. 44
Şekil 4. 1 Vankomisin-Teikoplanin gradient testi..... 67
Şekil 4. 2 vanA-vanB genleri multiplex PCR agaroz jel örneği 70
Şekil 4. 3 PFGE agaroz jel örneği..... 70
Şekil 4. 4 PFGE sonucu oluşturulan dendogram 71

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AAC:	Antibiyotik İlişkili Kolit
Ace:	E. faecalis Kollajen Adezini
Acm:	E. faecium Kollajen Adezini
AFLP:	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi
APACHE:	Akut Fizyolojik ve Kronik Sağlık Değerlendirmesi
AS:	Agregasyon Maddesi
CANWARD	Kanada Sürveyans Gözlem Çalıştayı
CDC:	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi
Cps:	Kapsüler Polisakkarit
DTA:	Duvar Teikoik Asiti
EARSS:	Avrupa Antimikrobiyal Sürveyans Sistemi
EcbA:	E. faecium Kollajen Bağlayan Protein A
Epa:	Enterokokal Polisakkarit Antijeni
ERIC:	Tekrarlayan İntergenik Konsensus
Esp:	Enterokokal Yüzey Proteini
FDA :	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
Fss:	E. faecalis Yüzey Proteini
GBAP:	Jelatinaz Biyosentezini Aktive Edici Feromon
GİS:	Gastrointestinal Sistem
HICPAC:	Hastane Enfeksiyon Kontrolü Uygulamaları Danışma Kurulu
HLR:	Yüksek Düzey Direnç
IS:	Araya Girebilen Elementler
İYE:	İdrar Yolu Enfeksiyonu
LAPaz:	Lösin Aminopeptidaz
LPSN:	Dizinde Yer Alan Prokaryot İsimleri Listesi
LTA:	Lipoteikoik Asit
MALDI-TOF MS:	Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi
MDR:	Çoklu İlaç Direnci
MİK:	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MLST:	Multilokus Dizi Tiplendirme
MRSA:	Metisiline Dirençli Staphylococcus aureus
MSCRAMM:	Adeziv Makromoleküllerini Tanıyan Mikrobiyal Yüzey Komponentleri
MSS:	Merkezi Sinir Sistemi
NAG:	N-asetilglukozamin (GIcNAc)
NAM:	N-asetilmuramikasit (MurNAc)
NHSN:	Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı
ORF:	Açık Okuma Çerçevesi
PAI:	Patojenite Adası
PBP:	Penisilin Bağlayan Proteinler
PCR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PFGE:	Değişken Alanlı Jel Elektroforezi
PNL:	Polimorf Nüveli Lökosit

PYR:	L-pirolidonil-b-naftilamid
Q/D:	Kunipristin-Dalfopristin
RAPD:	Polimorfik DNA'nın Rastgele Çoğaltılması
RCR:	Yuvarlanan Çember Replikasyon
REP:	Tekrarlayan Ekstranel Palindromik Sekans
REP-PCR:	Tekrarlayan Elementli Polimeraz Zincir Tepkimesi
RFLP:	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
Scm:	E. faecium İkinci Kollajen Adezini
SDS-PAGE:	Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi
SgrA:	Protein A İçeren Serin-Glutamat Tekrarları
TLR:	Toll Benzeri Reseptör
UHESA:	Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı
UPGMA:	Ağırlıksız Çift Gruplu Aritmetik Ortalama Yöntemi
ÜGS:	Ürogenital Sistem
VNTR:	Değişken Sayıda Tandem Tekrarlar
VRE:	Vankomisine Dirençli Enterokok
VSE:	Vankomisine Duyarlı Enterokok

ÖZET

Sarsar, K. Vankomisine dirençli enterokoklarda değişken alanlı (Pulse Field) jel elektroforezi (PFGE) yöntemi ile klonal ilişkinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2017

Bu çalışmada İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi yoğun bakım üniteleri ve diğer servislerde yatan hastaların, rektal sürüntü örneklerinden izole edilen vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşlarının glikopeptid direnç genotipinin ve izolatlar arasındaki klonal ilişkinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Çalışma süresince çeşitli klinik örneklerden ve çevre sürüntü örneklerinden izole edilen VRE suşları da çalışmaya dahil edilmiştir. Suşların identifikasyonu VITEK 2 GP kartları ile, antibiyotik duyarlılıkları ise VITEK 2 AST kartları ve E-test yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Glikopeptid direnç genotipi araştırılmasında multiplex PCR, klonal ilişkinin araştırılmasında ise PFGE yöntemleri kullanılmıştır. İzole edilen tüm suşlar (125) vanA direnç genine sahip Enterococcus faecium olarak tanımlanmıştır. Antibiyotiklere direnç oranları gradient testi ile vankomisine %100, teikoplanine %93,6 oranında bulunmuştur. PFGE yöntemi ile %65 benzerlikte altı makrorestruksiyon grubunun olduğu (ana tip A, minör tipler B-F), bu grupların %90-100 benzerlikte 50 alt tip içerdiği, en büyük grubun 37 alt tipte 108 suşu barındıran A ana tipi olduğu ve özdeş ya da yakın ilişkili, 22 suş içeren A7, 12 suş içeren A18 ve 9 suş içeren A20 olmak üzere üç predominant alt tip varlığı tespit edilmiştir. VRE suşlarının poliklonal olduğu ve her birimde bir çok farklı alt tip olduğu görülmektedir. Bu sonuç, hastanemizde VRE varlığının zaman zaman yeni suşlar eklenerek devam ettiğini düşündürmekte ve hastane kaynaklı VRE enfeksiyonları açısından risk varlığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler : Enterokok, VRE, PFGE, klonal ilişki, hastane enfeksiyonu

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 32301

ABSTRACT

Sarsar K. Investigation of the clonal relationship with Pulse Field Gel Electrophoresis method in vancomycin resistant enterococci. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Microbiology. Thesis of Doctoral. İstanbul. 2017

This study aimed to investigate the glycopeptide resistance genotype and clonal relationship of VRE strains isolated from rectal swab specimens of patients hospitalized in the intensive care units and other services of İstanbul Medical Faculty Hospital. VRE strains isolated from various clinical specimens and environmental swab specimens during the study period were also included in the study. Identification of the strains was determined using VITEK 2 GP cards and antibiotic susceptibilities using VITEK 2 AST cards and E-test method. Multiplex PCR was used to investigate the glycopeptide resistance genotype and PFGE methods were used to investigate the clonal relationship. All strains isolated (125) were identified as Enterococcus faecium with vanA resistance gene. Resistance rates were found, 100% and 93.6%, respectively for vancomycin and teicoplanin, with antibiotic gradient test. PFGE method detected six macrorestriction (65% similarity) groups (main type A, minor types B-F) and 50 subtypes (100%-90% similarity). The main type A, consisted of 108 strains in 37 subtypes, being identical or close to each other. There were three predominant subtypes; A7, A18 and A20, respectively containing 12, 12 and 9 strains. It is seen that VRE strains are polyclonal and there are many different subtypes in each unit. This result suggests that the presence of VRE in our hospital continues with addition of new strains and shows risk for hospital-acquired VRE infections.

Key Words: Enterococcus, VRE, PFGE, clonal relationship, nosocomial infection

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 32301

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Hastane enfeksiyonlarının önemli ajanlarından olan enterokokların çoğu, insanların ve hayvanların gastrointestinal sistem (GİS) floralarında, ürogenital sistemlerinde (ÜGS) ve ağız boşluklarında da bulunabilirler. Enterokoklar, antibiyotik direnç determinantlarını kazanma yeteneklerine ek olarak doğal antibiyotik direncine de sahiptirler. Antibiyotik direnç genine sahip suşlar, antibiyotik kullanımı sonucu duyarlı suşların kaybolması ile birlikte sayıca artmakta ve intestinal florada baskın hale gelmektedirler. Hastane gibi fazla antibiyotik kullanılan ortamlarda dirençli suşların seçilimi sözkonusudur ve bu suşlar daha sonra doku invazyonuna neden olabilmekte, çevreye yayılmak sureti ile de duyarlı hastalarda ekzojen kökenli enfeksiyonlara yol açabilmektedirler (3, 199).

GİS, vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) ile kolonize olduğunda bu kolonizasyon uzun süre devam edebilir. Dekolonizasyon çabaları etkili görünse de günler, haftalar sonra VRE kolonizasyonu tekrarlanabilir. Yayılmada en etkili kaynak sağlık çalışanlarının elleridir. VRE ellerde 60 dakikaya, yüzeylerde ise 4 aya kadar canlı kalabilir. Hastane kaynaklı VRE yayılımı kişiden kişiye temasla ya da kontamine materyale maruziyetle başlar. Baskılanmış immün sistem, hematolojik maligniteler, organ transplantasyonları, artan yoğun bakım ya da hastanede kalış süreleri, evde uzun süre bakım, başka kolonize ya da infekte hastaya yakınlık, VRE prevalansı yüksek ünitede yatış, diabet, böbrek yetmezliği gibi ciddi durumların varlığında VRE kolonizasyon riski artar (146).

Metisiline dirençli stafilokoklar gibi VRE de hastalık ve ölüm oranlarını arttırdığından hastanede yatan hastalar için büyük bir tehdit oluşturmakta ve EARRS 2016 verilerine göre VRE sıklığında her geçen yıl artış görülmektedir (184). Bu yüzden VRE kolonizasyonunun yayılmasını engellemek ve kolonize hastalarda enfeksiyonu önlemek için erken tespit büyük önem arz etmektedir (65, 76, 138, 152).

Aynı türün farklı bakteri izolatlarını ayırt etmek için tiplendirme yöntemleri, enfeksiyon önleme ve kontrolünde temel epidemiyolojik araçlardır. Serotip, biyotip veya antibiogram gibi fenotipe dayalı geleneksel tiplendirme yöntemleri yıllardır kullanılmaktadır. Bununla birlikte, izolatların moleküler düzeyde ilişkisini inceleyen genotipe dayalı yöntemler, bakteriyel tipler ve alt tipler arasında ayrım yapabilmemizi

ve sürveyans/salgın verilerinde artışı sağlamıştır. Enterokoklar nozokomiyal enfeksiyonlara yol açtıkları ve sıklıkla çoklu ilaç direnci gösterdikleri için enfeksiyon kontrolünde bunların tip-alttiplerinin belirlenmesi ve yayılımlarının izlenmesi amacıyla epidemiyolojik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır (164, 200).

PFGE, klinik olarak önemli çeşitli bakterilerin moleküler tipleme yöntemleri arasında, salgınlarda ve hastane kaynaklı VRE enfeksiyonlarının klonal ilişkilerinin tespitinde sıkça kullanılmaktadır (41, 108, 200, 210). PFGE yönteminin kısa süreli sürveyans çalışmalarında olduğu kadar, uzun süreli sürveyans çalışmaları için de önemli olduğu vurgulanmıştır (30, 35).

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi yoğun bakım üniteleri ve çeşitli servislerinde yatan hastalardan alınan rektal sürüntü örneklerinden, klinik örneklerden ve çevre sürüntü örneklerinden izole edilen VRE suşlarının arasındaki klonal ilişkinin, hastane enfeksiyonları epidemiyolojisi açısından, PFGE yöntemi kullanılarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Tarihçe

Enterokoklar, milyonlarca yıldan bu yana böcek, sürüngen, kuş ve memelilerin bağırsak florasının üyesi olduğu düşünülen mikroorganizmalardır. Enterokok terimini ilk kez Thiercelin 1899 yılında insan gastrointestinal sisteminde (GİS) bulunan saprofit Gram pozitif diplokoklar için kullanmış ve bundan iki ay sonra diyareli bir hastanın GİS'inde baskın olduğunu ve bağırsaktan kana geçip septisemiye neden olduğunu bildirmiştir. Bu tarihten kısa süre sonra da MacCallum ve Hastings 37 yaşında endokarditli bir hastanın kanından, kalp yetmezliğinden ölene kadar sürekli etken olarak, günümüzde *Enterococcus faecalis* olarak bilinen, *Micrococcus zymogenes* adını verdikleri bakteriyi izole ettiklerini bildirmişlerdir. Birkaç yıl sonra Gordon, hayvan dışkısıyla havadan kontamine olmuş olabileceği düşünülen sıvı besiyerinde fekal streptokok izole ettiğini, Houston ise lağım suyunda çok miktarda streptokok izole ettiğini ve bunları sularda dışkı bulaşını göstermede kullanılabileceğini bildirmiştir. 1906'da ise Andrews ve Horder endokarditli bir hastanın kanında izole ettikleri bakteriye *Streptococcus faecalis* adını vermişlerdir. Daha sonra aynı araştırmacılar üriner sistem enfeksiyonlarından benzer izolatlar tanımladıklarını rapor etmişlerdir. 1.Dünya Savaşı sırasında da çeşitli yazarlar tarafından enterokok kaynaklı yara enfeksiyonları rapor edilmiştir (37, 62, 98).

Sonraki on yılda çeşitli araştırmacılar *S. faecalis* izolatlarıyla çalışmalar yapmışlardır. 1919'da Orla-Jensen fermentasyon özellikleri *S. faecalis*'ten farklı olan *Streptococcus faecium*'u tanımlamıştır. 1935'te Sherman ve Wing tarafından fermentasyon özellikleri *S. faecium*'a benzer ama daha kısıtlı fermentasyon özelliklerine sahip *Streptococcus durans* tanımlanmıştır. Sherman 1937'de streptokokları piyojenik, laktik, viridans ve enterokok olarak 4 gruba ayırarak sınıflandırmıştır. Buna göre pH 9,6'da, 10-45^{o}C arasındaki sıcaklıklarda ve %6,5 NaCl içeren sıvı besiyerinde üreyebilen, 60^{o}C'de yarım saat canlılığını sürdürebilen streptokokları "Enterococcal grup" içinde sınıflandırılmışlardır. 1957'de Graudal tarafından hareketli ve sarı pigmentli *S. faecium* var. *casseliflavus* tanımlanmıştır. 10 yıl sonra Nowlan ve Deibel bu gruba *S. avium'u* eklemiştir. 1970'te Kalina enterokokal streptokoklar için bir cins oluşturulmasını ve hücresel dizilim ve fenotipik özelliklerine göre *S. faecalis* ve *S.*

faecium'un Enterococcus olarak isimlendirilmesini önermiş ancak bu öneri uzun süre dikkate alınmamıştır (98, 134). Schleifer ve Klipper-Baltz 1984'te DNA–DNA, DNA–rRNA hibridizasyon ve 16S rRNA sekans çalışmalarıyla *S. faecalis* ve *S. faecium* türlerinin diğer streptokoklardan farklı olduklarını ileri sürerek bunların Streptococcus cinsinden ayrılıp Enterococcus cinsi olarak tanımlanmaları gerektiğini söylemişlerdir (171). Bugün "List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN)"ye göre 20.02.2017'de 55 enterokok türü mevcuttur (61).

2.2 Cins Özellikleri ve Sınıflandırma

Enterokok türleri tek başına ya da kısa zincirler halinde Gram pozitif koklardır. Katı besiyerinde üremiş bakterilerden hazırlanan Gram boyamada bazen kokobasiller şeklinde, sıvı besiyerinden hazırlanan preparatlarda ise ovoid ve zincir şeklinde görülebilirler. Fakültatif anaeropturlar, optimum üreme derecesi 35 ºC olmakla birlikte 10-45 ºC arasında ve %6,5 NaCl besiyerinde üreyebilir, %40 safra tuzu varlığında eskülüni hidrolize edebilirler. *E. sulfureus, E. casseliflavus* ve *E. mundtii* gibi türler sarı pigment oluştururlar. *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* gibi bazı türler haraketlidir. *Enterococcus cecorum, Enterococcus columbae, Enterococcus pallens* ve *Enterococcus saccharolyticus* hariç çoğu enterekok türü L-pirolidonil-b-naftilamid (PYR)'i pirolidonil arilamidaz (pirolidonaz-PYRaz) enzimiyle hidrolize eder. Tüm suşlar lösin-b-naftilamid'i lösin aminopeptidaz (LAPaz) üreterek parçalarlar. Porfirin prekürsörleri sentezleyemediklerinden sitokrom enzimleri sentezlenemez. Katalaz reaksiyonu negatiftir ama bazı türler bu enzimi üreterek zayıf pozitiflik gösterebilir. Glukozu fermente ederek son ürün laktik asit oluştururlar, gaz oluşturmazlar. Çoğu suşta hücre duvarı ilişkili teikoik asit antijeni olduğundan Lancfield grup D seropozitifliği vardır. Guanin ve sitozinin DNA'ya oranı %37-45 mol kadardır (98, 189).

Katalaz negatif, Gram pozitif kokların 16S rRNA geninin yaklaşık 1400 bazına dayanan filogenetik analiz, Enterococcus cinsinin Vagococcus, Tetragenococcus ve Carnobacterium cinslerine Streptococcus ve Lactococcus cinslerinden daha yakın ilişkili olduklarını göstermiştir. Katalaz negatif, Gram pozitif koklardan safra-eskülin (BileEsculin-BE) ve % 6,5 NaCl besiyerlerinde üreyebilen, PYR ve LAP reaksiyonu pozitif olan ve 45ºC'de üreyebilen suşlar enterokok olarak tanımlanmıştır. Enterokoklar bu sınıflandırma ile kendilerine çok benzerlik gösteren Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus ve Vagococcus'dan sadece BE reaksiyonu ve % 6,5 NaCl içeren

besiyerinde üreme yetenekleri ile ayırt edilebilmiş, ancak sıklıkla hatalı sonuçlar alınarak sınıflandırmada yanlışlıklar yapılmıştır. Diğer taraftan enterokokların %80'inde tespit edilebilen Grup-D antijeninin Pediococcus, Leuconostoc ve bazı Vagococcus türlerinde de mevcut olduğundan taksonomi için yetersiz olduğu görülmüştür (53, 98, 134, 189). Enterokok türlerinin tanısı için kullanılan fenotipik özellikler Tablo2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2. 1 Enterokok türlerinin tanısı için kullanılan fenotipik özellikler (98, 189)

		Man	Sor	Arg	Ara	Sbl	Raf	Mot	Pig	Suc	Mgp
Grup1											
	E. avium	+	+	-	+	+	-	-	-	+	V
	E. gilvus	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-
	E. malodoratus	+	+	-	-	+	+	-	-	+	V
	E. pallens	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+
	E. pseudoavium	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+
	E. raffinosus	+	+	-	+	+	+	-	-	+	V
	E. saccharolyticus [b]	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
	E. phoeniculicola	+	+	-	+	+	-	-	-	+	nd
	E. devriesei	+	+	-	V	V	V	-	-	+	-
	E. canis	+	+	-	+	+	-	-	-	V	+
Grup2											
	E. faecalis	+*	-	+*	-	+	-	-	-	+*	-
	E. haemoperoxidus [b,c]	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+
	E. faecium	+*	-	+	+	V	V	-	-	+*	-
	E. casseliflavus	+	-	+*	+	V	+	+*	+*	+	+
	E. gallinarum	+	-	+*	+	-	+	+*	-	+	+
	E. mundtii	+	-	+	+	V	+	-	+	+	-
	E. canintestini	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+
	E. lactis	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	E. thailandicus	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
	E. sanguinicola	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-
Grup3											
	E. dispar	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+
	E. durans	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	E. hirae	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
	E. ratti	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	E. villorum [d]	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	E. silesiacus	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	E. rotai	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
Grup4											
	E. asini	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	E. cecorum	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
	E. phoeniculicola	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+
	E. sulfureus	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
	E. aquimarinus	-		-	+	-	+	-	-	+	-
	E. caccae	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	E. plantarum	-	-	-	-	-	-	-	V	+	-
	E. termitis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Grup5											
	E. columbae	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-
	E. moraviensis	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+
	E. rivorum	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
	E. hermaniensis	+	-	-	-	-	-	-	-	-	nd
	E. camelliae	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	E. viikkiensis	+	-	-	-	-	-	-	-	nd	-

a)MAN, mannitol; SOR, sorboz; ARG, arjinin; ARA, arabinoz; SBL, sorbitol; RAF, raffinoz; TEL, %0.04 tellürit; MOT, hareket; PIG, pigment; SUC, sükroz; PYU, püruvat; MGP, methyl-a-D-glucopyranoside; +, %80'den fazla suş pozitifliği; - , %20'den az suş pozitifliği ; V, değişken; *, nadiren istisnalar ortaya çıkar (suşların yüzde 3'ünden azı anormal reaksiyonlar gösterir), nd; veri yok. b)Tip soylarından elde edilen verilere dayanan fenotipik özellikler. c)Geç mannitol pozitifliği (5 günlük inkübasyon)

Enterokoklar mannitol, sorbitol ve sorboz içeren besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arginini hidrolize etmelerine göre beş gruba ayrılırlar. Fenotipik karakterli bu gruplama 16S rRNA dizileme ya da başka moleküler teknik gerektirmez.

Grup 1: *E. avium*, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. pallens*, *E. gilvus*, *E. phoeniculicoa*, *E. devriesei* ve *E. canis*'ten oluşur. Bu türler mannitol, sorbitol ve sorboz sıvı besiyerinde asit oluşturur ancak arginini hidrolize etmezler.

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

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

Grup 4: *E. sulfurens*, *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve *E. cecorum* bu grupta bulunmaktadır. *E. aquamarinus*, *E. plantarum*, *E. caccae* ve *E. termitis*'ten oluşur. Bu gruptaki türler mannitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arginini hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E. cecorum* asit oluştururken, *E. sulfureus* asit oluşturmaz.

Grup 5: *E. columbae*, *E. moraviensis* bu grupta bulunur. *E. columbae*, *E. rivorum*, *E. hermaniensis*, *E. camelliae*, *E. viikiensis'*in yanı sıra, *E. casseliflavus* ve *E. gallinarum*'un varyantları ve *E. faecalis*'in arjinini hidrolize edemeyen varyantları bu grubu oluşturur. Bu gruptaki türler arginini hidrolize etmezler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler (53, 98, 189).

2.3 Üreme Gereksinimleri ve Metabolizma

Enterokokların beslenme gereksinimleri karmaşıktır ve metabolik aktiviteleri kommensal ya da patojen olmalarına göre değişiklik gösterir. Üremek için B vitaminleri, nükleik asitler ve genellikle glukoz olmak üzere karbon kaynaklarına ihtiyaç duyarlar. Çok sayıda karbonhidratı kullanabilme yetenekleri GİS gibi rekabet

ortamlarını kolonize etmede enterokoklara güçlü bir avantaj sağlar (100). Murray *E. faecalis*'in 23 suşu ile yaptığı çalışmada histidin, izolösin, metionin ve triptofanın üreme için gerekli olduğunu, bazı suşların arjinin, glutamat, glisin, lösin ve valine de ihtiyaç duyduğunu bildirmiştir. Bu durum vankomisine bağımlı suşlarda olduğu gibi enterokok türlerinin metabolik ihtiyaçlarının suştan suşa farklı olabileceğini gösterir (189). *E. faecalis* üremek için tek enerji kaynağı olarak arjinin ya da agmatinin olduğu ortamda yine de %0,05 oranında karbonhidrata gereksinim duyar (36).

Enterokoklar hem respiratuvar tip hem de fermentatif tipte metabolizmaya sahiptir. Enterokoklar porfirin prekürsörleri sentezleyemediklerinden sitokrom enzimleri eksprese olmaz ve katalaz negatiftirler. Bazı *E. faecalis*'ler kanlı besiyerinde üretildiğinde sitokrom aktivitesi gösterebilir ve bu zayıf olarak katalaz pozitifliğine yol açabilir. Ayrıca *E. haemoperoxidus* türlerinde de katalaz pozitifliği bildirilmiştir. Gaz oluşturmazlar ve glukoz fermentasyonun son ürünü laktik asittir (57, 187).

Enterokoklar çok yüksek alkali pH ve tuz konsantrasyonlarını tolere edebilir. Bu özellikler sabit sitosolik iyon seviyesini korumak için katyon transportu gerektirir ve bu homeostaz için esastır (54, 55).

2.4 Hücre Duvarı Yapısı ve Antijenik Özellikler

Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı üç ana bileşenden oluşur; peptidoglikan omurga, anyonik polimerler (teikoik asitler, hücre duvarı polisakkaritleri) ve hücre duvar ilişkili ve gömülü proteinler. Peptidoglikan tabakası ve anyonik polimerler toplam hücre duvarı ağırlığının %90'ına yakınını oluştururken, %10 kadarını da protein içerikler oluşturur (17).

2.4.1 Peptidoglikan

Enterokokal hücre duvarının ana bileşeni olan peptidoglikan, tekrarlanan N-asetilmuramikasit- (β1-4) N-asetilglukozamin (MurNAc-GIcNAc) disakkaritlerinden oluşur. Bu tekrarlanan şekerler, genellikle 5-30 arası alt üniteden oluşurlar ve peptitlerin varlığında MurNAc (NAM)'ler çapraz bağlanırlar. Peptidoglikan polimerleri glikan zincirler ve bunlara bağlanmış kısa peptitler L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala–D-Ala'dan oluşur. Beta-laktam antibiyotiklerin hedefi olan penisilin bağlayan proteinlerin (PBP) kataliziyle 3. pozisyondaki L-Lys ile komşu diğer peptidin 4. pozisyonundaki D-Ala pentapeptid yan zincirlerle çapraz bağlanır ve 5. pozisyondaki D-Ala kopar (139).

2.4.2 Hücre Duvarı İlişkili Proteinler

Hücre duvarı sentez ve yıkımı otolitik enzimler tarafından düzenlenir. Lizozim analoğu olan muramidazlar en sık kullanılan otolitik enzimlerdendir ve NAG-NAM'ı hedef alarak ayrıştırırlar. *E. faecalis*'te 3 muramidaz (AtlA, AtlB, AtlC) keşfedilmiştir (46, 124).

AtlA (N-asetilglukozaminidaz) ilk kez 1991'de *E. faecalis* genomunun klonlandığı *E. coli*'nin *Micrococcus lysodeiticus* hücre duvarına litik aktivitesi ile tarif edilmiştir (16). Mikrokok hücre duvarına etkisine ek olarak *E. faecalis* hücre duvarına da etkisi gösterilmiştir. *E. hirae*'nin otolitik enziminin proteolitik aktivitesine benzer olrak *E. faecalis*'in AtlA enzimi de proteoliz yapabilir. Thomas ve arkadaşları(194) jelatinaz (GelE) ve serin proteaz (SprE)'ın AtlA aktivasyonuna katkıda bulunduklarını göstermiştir. GelE salgılanması AtlA aktivasyonunu arttırır ve hücredışı DNA bağımlı biyofilm oluşumuna katkıda bulunur (156, 157). Kalan AtlB ve AtlC profajda kodlanan enzimlerdir tüm *E. faecalis* suşlarında bulunmaz (22, 153).

2.4.3 Hücre Duvarı Dinamikleri

Peptidoglikan ve hücre membranı, çeşitli polisakkarit ve proteinlerle ilişkilidir. Polisakkarit, teikoik asit ve yüzey bağlı proteinler, lipoteikoik asit ve lipoproteinlerse hücre membran lipitlerine bağlıdırlar.

2.4.3.1 Lipoproteinler

Gram pozitif bakterilerde lipoproteinler, demir ve manganez gibi küçük molekülleri yakalar ve hücre içindeki transportu kolaylaştırır. Lipoproteinleri kodlayan genler genetik olarak demir, manganez, çinko gibi metallerin alımını sağlayan ABC-taşıyıcılarını kodlayan genlerle düzenlenir (79).

2.4.3.2 Lipoteikoik Asit

1930'ların başında Rebecca Lancefield insanda enfeksiyon nedeni streptokok türlerini tanımlama ve tiplemede serolojik şema geliştirmiştir (92). Lancefield'e göre enterokoklar lipoteikoik asit (LTA) yapılarına göre grup D streptokoklar olarak sınıflandırılmışlardır (208). *E. faecalis* 12030 suşunun LTA çalışmalarında yapının gliserolfosfat teikoik asit polimerlerinden ve gliserol omurgası boyunca serpitirilmiş D-alanilasyonlardan meydana geldiği gösterilmiştir (193). D-alanilasyonlar, magnezyum başta olmak üzere katyonik homeostaziste önemli rol oynar. *E. faecalis*'te D-alanin

aktive edici enzimi kodlayan *dltA*'nın delesyonunun polimiksin B ve nisin gibi katyonik peptitlere hassasiyeti arttırdığının, biyofilm üretimini azalttığının ve ökaryotik hücrelere adezyonda kusurlara neden olduğunun gösterilmesiyle alanilasyonun önemi vurgulanmıştır (51).

2.4.3.3 Hücre Duvarı Teikoik Asitleri

Duvar teikoik asit (DTA) polimerleri gliserolfosfat ya da ribitolfosfat tekrarlayan ünitelerinden meydana gelir. LTA ve DTA zincirleri genellikle ayrı enzim sistemlerinde sentezlenir. LTA biyosentezinde lipid substratlarından oluşan fosfatidil gliserol kullanılır ve sentez sitoplazmik membran tabakasının dışında meydana gelir. DTA biyosentezinde ise gliserolfosfat ya da ribitolfosfat kullanılır ve olay sitoplazmada meydana gelir. DTA, membran transportuyla duvara taşınır ve peptidoglikanın NAM birimine kovalent bağlanır (17). DTA biyosentezinin genetik faktörleri henüz bilinmemektedir, enterokokal DTA sentezinin keşfi potansiyel ilaç hedeflerini ortaya çıkarabilir ve dirençli suşların tedavisinde kullanılabilir (188).

2.4.3.4 Enterokokal Polisakkarit Antijeni (Epa)

Enterokokal polisakkarit antijeninin (epa) kodlandığı gen lokusunun *epaA*'dan *epaR*'ye uzanan 18 gen kümesinden oluştuğu gösterilmiştir. Epa kümesinin içerdiği genlerin, nükleotid şeker öncülerinin sentezi, formasyonu, tekrarlayan birimlerin polimerizasyonu ve bunların hücre duvarına taşınmasıyla ilişkili proteinleri kodladığı düşünülür. *E. faecalis* OG1RF suşundan elde edilen Epa polisakkaritinin analizi glukoz, ramnoz, N-asetil glukozamin, N-asetil galaktozamin ve galaktozdan oluştuğunu gösterir ve *epa* genlerinde mutasyon sonucu hücre şeklinin oval şekilli wild-tip OG1RF' ye göre daha yuvarlak olduğu görülmüştür (191).

2.4.3.5 Kapsüler Polisakkarit (Cps)

Maekawa'nın serolojik çalışmaları; serotiplendirilebilir *E. faecalis* izolatlarının %72'sini oluşturan 4 baskın serotip olduğunu (serotip 1, 2, 4 ve 7), en fazla görülen serotipin ise tiplendirilebilir izolatların %30'unu oluşturan tip 2 olduğunu göstermiştir (114).

E. faecalis'in genetik analizleri en patojenik enterokokların kapsül ile birlikte çoklu virulans ve antibiyotik direnç generine sahip olanlar olduklarını göstermiştir (121). Ayrıca kapsülsüz suşların fagositoza daha yatkın oldukları gösterilmiştir (195).

2.4.3.6 Hücre Duvarı Proteinleri (Cell wall anchored proteins)

Hücre duvarına oturmuş proteinler C-terminal ucundan lösin-prolin-herhangi bir aminoasit-treonin-glisin (LPXTG) ya da benzeri motiflerden oluşur. Bu motifler sortazlar denilen membran bağlı transpeptidaz enzimlerince tanınır. Sortazlar bu proteinlerin hücre duvarına kovalent bağlanmasından ve pilus altbirim proteinlerinin polimerizasyonundan sorumludur (120, 196). *Staphylococcus aureus*, *E. faecalis* ve *E. faecium*'un çeşitli hücre duvarına oturmuş proteinleri ve adeziv makromoleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey komponentleri (microbial surface components recognizing adhesive macromolecules-MSCRAMM) adezyon, biyofilm oluşumu ve invazyon ilişkili önemli virulans faktörleridir (74).

2.4.3.7 Adeziv Makromolekülleri Tanıyan Mikrobiyal Yüzey Komponentleri (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Macromolecules-MSCRAMM)

E. faecalis V583 ve *E. faecium* TX0016 suşlarının genomlarında sırasıyla 17 ve 15 MSCRAMM proteinlerinin varlığı tanımlanmıştır. Enterokokal MSCRAMM proteinlerinden yedisi detaylı olarak karakterize edilmiştir. Bunlar; Ace (*E. faecalis* kollojen bağlayıcı adhezin), Fss1, Fss2, Fss3 (*E. faecalis* yüzey proteinleri), Acm (*E. faecium* kollojen bağlayıcı adhezin), Scm (*E. faecium* ikinci kollojen bağlayıcı adhesin) ve EcbA (*E. faecium* kollojen bağlayıcı protein A)' dır (169).

Kollajen bağlayan adezin (Ace: adhesin to collagen of *E. faecalis*) enterokoklarda tanımlanmış ilk MSCRAMM adezinidir (160). Ace, N-terminal sinyal peptitli LPXTG motiflerinden oluşur. N-terminal sinyal peptitleri, A-domain denilen tekrarlamayan segmentlerden ve değişik sayılarda tekrarlayan segmentlerden oluşan B-tekrarlar'dan oluşur (136). Çeşitli çalışmalar Ace A-domain'inin tip I kollajenlerin çeşitli bölgelerine bağlandığını göstermiştir (136, 160). Ace A-domain aynı zamanda konsantrasyona bağlı olarak tip IV kollajenlere ve laminine bağlanabilir (136). A-domainlerin analizleri N1 ve N2 olmak üzere iki alt birimden oluştuklarını gösterir ve ligand bağlama mekanizmaları "kollajen kucaklama" olarak adlandırılmıştır. Dokunun zarar görmesiyle hasar alan kollajen fibrillerden üçlü sarmal kollajenler ortaya çıkar ve N2 biriminin ligand bağlayan oyuğu ile ilişkiye girdiklerinde N1N2 altbirimlerinde yapısal düzenleme olur, kucaklama işlemi ile adezin ligand kompleksi oluşur. B-repeat'lerin fonksiyonu henüz bulunamamıştır (109, 214).

Moleküler modellemeler Acm (adhesin of collagen from *E. faecium* – *E. faecium* kollajen adezini) A-domain'inin N1N2 altbirimlerden oluştuğunu göstermiştir. Acm A-domain'i Ace A-domain'inden 166 aminoasit daha uzundur ve içe kıvrılmış N3 alt domainine sahiptir. Rekombinant Acm A-domain çalışmalarıyla Ace'den farklı olarak kollajen tip1 ve tip 4'e yüksek afinite gösterdiği ve laminine bağlanmadığı gösterilmiştir (137).

E. faecalis'in MSCRAMM benzeri üç proteini vardır; Fss1 (*E. faecalis* surface protein), Fss2 ve Fss3. Çeşitli afinitelerde fibrinojene bağlanmada görevleri vardır. Fss2 insersiyon mutantı ve türevleriyle yapılan bir çalışma Fss2'nin fibrinojene adezinde görevli olduğunu, Fss1'in bozulması durumunda ise fibrinojen adherensinin düştüğünü göstermiştir. Çalışılan suşta Fss3 bulunamamıştır (175).

Büyük olasılıkla bu adezinler farklı dokularda ya da enfeksiyon aşamalarında sentezlenirler ve fibrinojen molekülünde farklı bölgelere bağlanma potansiyeli, doku tropizmini etkiler. Acm'ye ek olarak *E. faecium*'un iki MSCRAMM proteini daha tanımlanmıştır; Scm (Fms10) ve EcbA (Fms18-Fss3 homologu). Scm ve EcbA rekombinant proteinler gibi kollajene bağlanırlar ve rekombinant EcbA aynı zamanda fibrinojenlere de bağlanır. Her iki protein de Acm'den farklı olarak kollajen tipV'e bağlanır ve bu özellik kollajen aderens esnekliği sağlar. Ligand bağlama mekanizmaları ise bilinmemektedir (73, 176)

Agregasyon maddesi (AS-Aggregation substance) *E. faecalis*'in agregasyon yüzey proteinlerindendir. AS; feromonla uyarılan konjugativ plazmitlerde kodlanan yüzey proteinleridir, alıcı verici hücreler arası agregatların eşleşmesi ile seks feromonlarının konjugativ transferini sağlar (89, 186).

Enterokokal yüzey proteini (Esp) ilk defa 1999'da *E. faecalis*'te (Esp_{fs}) tanımlanmış ve hayvan modellerinde virulans, biyofilm oluşumu ve patogenezle ilişkili diğer fenotiplerle ilişkili olduğu belirtilmiştir (173). *E. faecium*'da (Esp_{fm}) da patojenite adalarında homolog gen bulunmuştur (97). Esp_{fs} ve Esp_{fm} benzer yapıya sahiptirler ve benzer fonksiyonlara sahip olabilirler (45).

Diğer bir yüzey proteini olan SgrA (serine-glutamate repeat containing protein A-protein A içeren serin-glutamat tekrarları; Fms2) *E. faecium* TX16 ve klinik suşlarda gösterilmiştir (176). Bu protein fibrinojen ve nidojenlere (bazal membran proteini)

bağlanmada görevlidir ve SgrA mutant suşlarının fibrinojen ve nidojenlere zayıf aderens ve biyofilm oluşumu gösterdikleri belirtilmiştir (73).

2.5 Genom Özellikleri ve Önemli Genetik Mekanizmalar

E. faecalis ve *E. faecium* suşlarının tam genom dizi analizi çalışmaları enterokokların G+C içeriğinin %37-45 arasında olduğunu göstermiştir. *E. faecalis* V583 genomu, 3.218.031 bp uzunluğunda olup 3.182 açık okuma penceresi (open reading frame-ORF)'ne sahiptir. Genlerin çoğu, türler veya özellikle Streptococcus ve Staphylococcus cinsleri arasında gen transferi ile kazanılmıştır. VanB fenotipi gösteren ilk VRE suşu olan *E. faecalis* V583 suşunun, genomunun yaklaşık olarak %25'i eksojen gen olarak kazanılmış DNA dizilerinden oluşur. Bu mobil elementler konjugatif ve kompozit transpozonlar, patojenite adaları, integre plazmit genleri, faj bölgeleri ve çok sayıda insersiyon dizilerinden oluşur. Mobil gen elementlerinin kazanımı, ilaç direncinin kazanımı ve yayılımına katkıda bulunmaktadır ve enterokokların ilaç direncinde bir rezervuar olduklarını göstermektedir. *E. faecium* genomu 2.928.706 bp büyüklüğünde olup, 3.309 ORF içerir ve G+C oranı %37,8'dir (190, 199).

Enterokoklar, plazmit ve transpozon edinimiyle genetik bilginin iletimi yeteneğine sahiptirler. Bu plazmit ve transpozonlarda ilaç direnç determinantları ve virulans genleri olabilir. Çeşitli plazmit ve transpozonlar enterokoklarda özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinde tanımlanmıştır. Enterokoklarda replikasyon yeteneğine sahip üç sınıf plazmit bilinir; yuvarlanan çember replikasyon (RCR-Rolling circle replicating) plazmitleri, Inc18 plazmitleri ve feromon-duyarlı plazmitler. RCR ve Inc18 plazmitleri çoğu bakteride mevcutken, feromon-duyarlı plazmitler enterokoklarla özellikle *E. faecalis* ile sınırlıdır. *E. faecalis*'te plazmit değişimi seks feromonlarının üretimiyle olur. Plazmitsiz alıcı suşlar ekstraselüler feromon sentezleyerek, verici hücre dış yüzeyinde agregasyon madde (AS) oluşumunu sağlar. AS alıcı hücrenin yüzeyine bağlanır ve alıcı ile verici hücrenin yakınlaşması sonucu plazmit değişimi gerçekleşir. Feromon ile indüklenmiş transfer, plazmit geçişini 10^5- 10^6 kat arttır (189, 190).

Enterokoklar ayrıca konjugatif transpozonlarla da genetik bilgi değişiminde bulunabilirler. Bunun için hücrelerin teması gereklidir. Kesilen DNA, plazmit benzeri bir işlemle alıcı hücreye transfer edilir ve hedef kromozoma girer. Transpozonlar sıklıkla tetrasiklin, eritromisin, gentamisin, kanamisin ve diğer aminoglikozidler gibi antimikrobiyal ilaçlara direnç genleri taşırlar. Konjugatif transpozon Tn916, *E.*

faecalis'lerde tetrasiklin/minosiklin [Tet(M)] direncini kodlarken; Tn1546 vankomisin direncini kodlayan *VanA* gen kümesini, Tn1547, Tn1549 ve Tn 5382 VanB operonunu, Tn5281 yüksek düzey gentamisin direncinden sorumlu *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* genini taşır. Tn5405 aminoglikozit ve sreptomisin direncini kodlar. Transpozonlar geniş konak yelpazesine sahiptirler ve enterokokların yanı sıra streptokoklar, laktokoklar ve diğer Gram pozitif bakterilerde de bulunurlar (29, 189, 190).

2.6 Virulans Faktörleri

Hastane enfeksiyonlarının önemli ajanlarını da içeren enterokokların çoğu insanlar, hayvanlar ve böceklerin GİS'lerinde flora elemanı olarak bulunurlar. Fakat çeşitli durumlarda önemli hastalık etkeni olabilirler. Tıbbın gelişmesi bu mikropların patojenik davranışını kolaylaştıran koşullar yaratmıştır. Antibiyotiklerin uygunsuz kullanılması sebebiyle bu ilaçlara dirençli bakteriler ortaya çıkmıştır. Enterokoklar, antibiyotik direnç determinantlarının kazanılmasına ek olarak doğal antibiyotik direncine de sahiptirler. Hastane gibi fazla antibiyotik kullanılan ortamlarda dirençli suşların seçilimi ve diğer türlerle rekabet ederek ortamda baskınlaşması sözkonusudur. Bir diğer faktör ise yaşlı hastalar, organ ve kemik iliği transplantasyon hastaları ve kanser hastaları gibi bağışıklık sistemi baskılanmış birey populasyonun artışıdır. Başka bir faktör de enterokokların hayatta kalmasına ve konakta enfeksiyon oluşturmasına olanak sağlayan genetik faktörlerdir ve virülans faktörleri olarak tanımlanırlar. Hemolizin, jelatinaz, enterokokal yüzey proteini (Esp), agregasyon maddesi (AS), MSCRAMM Ace, kapsül, hücre duvarı polisakkaritleri ve süperokisit önemli virulans faktörlerindendir (199).

2.6.1 Agregasyon Maddesi (AS)

AS, feromonla uyarılan konjigatif plazmitlerin kodladığı yüzey proteinleridirler ve alıcı-verici hücreler arası temasla bakteriyel birleşme sonucu konjugasyonu sağlar. Peptit feromonla uyarılan plazmitsiz alıcı hücre AS proteinlerini sentezler. Ancak aynı zamanda in vivo üreme boyunca konak tarafından da indüklenebilir. Asa1, Asp1 ve Asc10 en fazla çalışılmış AS proteinleridir ve amino asit sekansının %90'ınından fazlası tanımlanmıştır. Asa1 renal tubuler hücrelere aderansı, makrofaj hücrelerine giriş ve hayatta kalmayı sağlar. Asc10 polimorf nüveli lökositler (PNL) içinde hayatta kalmayı sağlar. Asc10 ve Asa1'in ikisi birden çeşitli hücre dışı matriks proteinlerine aderans ile ilişkilidirler ve ikisi de tavşan endokardit modelinde *E. faecalis*'in virulansını arttırırlar.

Asp1'in de tavşan endokarditinde hücre dışı matrikse bağlandığı gösterilmiştir. Agregasyon maddesi, *E. faecalis*'in insan nötrofil hücrelerine, nötrofil yüzeyindeki komplemen reseptör tip 3 ve diğer reseptörlere opsonin bağımsız bağlanmasını ve nötrofil içinde hayatta kalmalarını sağlar (129, 169).

2.6.2 Enterokokal Yüzey Proteini (Esp)

Esp ilk kez vankomisine dirençli *E. faecalis* suşunda elde edilmiştir. Patojenite adasında yer alan *esp* geni ile kodlanır ve konjugasyonla aktarılabilir. Esp; N-terminal domaini, bunu takiben tekrar sayıları suşa göre değişen A, B, ve C tekrarlayan domainleri ve hücre duvarına gömülmesinde sorumlu olduğu düşünülen, tirozin/fenilalanin, prolin, herhangi bir aminoasit, treonin, glisin [(Y/F)PxTG] motifli C-terminal domaininden oluşur (129, 169).

Esp, *E. faecalis*'in üriner sistem kolonizasyonu ile ilişkili virulans faktörü olarak tanımlanmıştır. 1999'da yapılan bir çalışmada *esp* geni dışkı örneklerinden izole edilen *E. faecalis*'lerin %3'ünde, kan örneklerinden izole edilen *E. faecalis*'lerin %41'inde ve endokardit izolatlarının %42'sinde tanımlanmıştır. Esp kayıplı mutant *E. faecalis*'in biyofilm oluşturma yeteneğini kaybetmesi Esp'nin biyofilm oluşumunda rolü olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda farklı çalışmalar *esp* geninin varlığı ya da yokluğu ile biyofilm oluşumu arasında ilişki saptayamamışlardır (169, 199)

E. faecalis'in *esp* geninden farklı olarak, *E. faecium* suşları arasında *esp* geni daha yaygındır ve hastane kaynaklı izolatlar arasında baskın olarak bulunmaktadır. *Esp* gen ifadesinde çevresel etkenlerin önemli olduğu, 37 °C'de 21 °C'ye göre ve anaerob ortamda aerob ortama göre daha fazla Esp proteinin bulunduğu gösterilmiştir. *Esp* gen kayıplı mutantlar ve farklı hayvan modellerinin kullanıldığı çalışmalarda *E. faecium*'da Esp proteininin biyofilm oluşumuyla ilgili olduğu, deneysel endokardit patogenezinde ve üriner sistem enfeksiyonunda katkısının olduğu ancak peritonit ve GİS kolonizasyonunda rolünün bulunmadığı bildirilmiştir (129, 169).

2.6.3 Jelatinaz ve *fsr*

E. faecalis'in jelatin, kollajen, kazein, hemoglobin ve diğer peptitleri hidrolize eden, jelatinaz olarak adlandırılan proteazının sekresyonu *fsrA*, *fsrB*, *fsrD* ve *fsrC* olmak üzere dört genin oluşturduğu sistem tarafından kontrol edilir. Jelatinaz biyosentezini aktive edici feromon (GBAP) oto-uyarıcı peptittir ve *fsrD* tarafından kodlanan

propeptit, GBAP'ın FsrB proteolitik aktivitesi ile meydana gelir. *FsrD* geni *fsrB* geninin 3' ucunun sonunda bulunur ve *fsrB*'den bağımsız olarak okunur. Hücre dışı GBAP, FsrC ile etkileşir ve regülatör cevap FsrA'nın fosforilasyonunu uyarır. Aktive olan FsrA, *fsr* operonunu ve devamındaki jelatinaz (GelE)'i kodlayan *gelE* ve serin proteaz (SprE)'i kodlayan *sprE* genlerinin ifadesini aktive eder. SprE, GelE aracılı otolizde görevlidir (53, 169).

Bir çalışmada *E. faecalis* klinik izolatlarında jelatinaz üretim prevalansı %72 olarak bildirilmiştir. Başka bir çalışmada hastane ve toplum izolatlarında *E. faecalis* jelatinaz sıklığı araştırılmış ve hastane izolatlarında toplum izolatlarından daha fazla oranda pozitiflik saptanmıştır. Jelatinazın aynı zamanda biyofilm oluşumunda gerekli olduğu gösterilmiştir. Mutasyonla *gelE* geninin bozulduğu durumlarda *sprE* ifadesinin kaybolduğu, *sprE* geninin bozulduğu durumlarda ise GelE üretimi mevcutken SprE üretiminin olmadığı gösterilmiştir (60).

2.6.4 Sitolizin/Hemolizin

Sitolizin ilk kez 1930'larda grup D streptokok izolatlarında hemolitik aktivite çalışmasında tarif edilmiştir. Daha sonra hemolitik *S. faecalis* (*E. faecalis*) izolatlarının çoğunun Gram-pozitif organizmaları inhibe ettiği görülmüştür. 1949'da yapılan bir çalışmada 61 hemolitik streptokokun 17'sinin diğer streptokoklara karşı antibiyotik madde ürettiği gösterilmiştir. Hastane koğuşlarında çoklu enfeksiyon kaynaklı *E. faecalis* izolatlarının sitolizince zengin oldukları gösterilmiştir. Bir çalışmada sitolizinin hastane kaynaklı dışkı izolatlarında toplum kaynaklı dışkı izolatlarına göre daha yaygın görüldüğü bildirilmiştir. Sitolizinin rolü tavşan modellerindeki *E. faecalis* endokarditlerinde gösterilmiştir. Sadece agregasyon maddesini ifade eden suşlarla infekte edilen tavşanlarda mortalite oranı %15 iken, agregasyon maddesi ve sitolizini birlikte ifade eden suşlarda mortalite oranı %55'e çıkmaktadır. Agregasyon maddesinin yokluğunda ise sitolizinin ölümcül etkisinin bulunmadığı gösterilmiştir. GİS'deki enterokokların intestinal epitelin diğer tarafına geçişinin sitolizin üreten ve üretmeyen suşlarla araştırıldığı bir çalışmada sitolizin üreten *E. faecalis*'lerin yüksek düzeyde translokasyon gösterdikleri saptanmıştır. Sitolitik ve sitolitik olmayan suşların periton enfeksiyonunda 48 saatte kan dolaşımına geçiş durumlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada sitolitik suşların sitolitik olmayanlara göre 4 kat daha yüksek oranda kan dolaşımında bulunduklar gösterilmiştir (60).

Sitolizin üretiminde görevli operon kromozomda kodlanan 150 kilobazlık patojenite adası (Pathogenity island-PAI) ya da pAD1 gibi feromon duyarlı konjugatif plazmitlerde kodlanırlar. Sitolizin operonu, ikisi regülatör proteinleri kodlayan altı genden meydana gelir. İnaktif durumda sitolizin baskılayıcı protein CylR2, P_{Lys} (P_L) promotörüne bağlanmış durumdadır. Hedef hücrelerin varlığında quorum sensing ile otoindüksiyon oluşur, CylR2 proteini promotörden ayrılır ve yüksek düzey sitolizin ifadesi meydana gelir. Sitolizin üreten hücreler kendilerini sitolizinden korumak için *cylI* geninin fonksiyonu henüz bilinmeyen CylI transmembran proteinini salgılarlar (203).

2.6.5 Pili

Gram pozitif bakterilerin pilileri biyofilm oluşumunda ve birçok tip insan hücresine adezyonda görev aldıklarından enfeksiyon oluşumunda kritik öneme sahiptirler. *E. faecalis* ve *E. faecium* pili gen kümeleri LPxTG benzeri motifli yüzey protinlerini ve sortazları kodlayan, pilus oluşumu için gerekli genleri içerir. *E. faecalis* iki pilus gen kümesi içerir, bunlar *ebp* (endokardit ve biyofilm ilişkili pili) lokusu ve *bee* (enterokoklarda biyofilm zenginleştirici) lokusudur. Ebp pili, adherens ve biyofilm oluşumu başlangıcında gereklidir ve deneysel endokardit ve üriner sistem enfeksiyonu patogenezinde rolü vardır. *Bee* lokusu konjugatif plazmit üzerindedir ve *E. faecalis* izolatlarının %5'inde tanımlanmışken *ebp* operonu neredeyse tüm izolatlarda bulunmuştur (169).

2.6.6 MSCRAMM

Özel proteinler ve MSCRAMM'lar olarak adlandırılan hücre dışı matriks protenlerinin etkileşimleriyle insan dokularının kolonizasyonu sağlanır. *E. faecalis* V583 ve *E. faecium* TX0016 suşlarının genom dizileme çalışmalarında sırasıyla 17 ve 15 MSCRAMM bulunduğu gösterilmiştir. Yedi enterokokal MSCRAMM detaylı olarak karakterize edilmiştir; Ace (adhesion of collagen of *E. faecalis*), Fss1, Fss2, Fss3 (*E. faecalis* surface protein), Acm (adhesin of collagen of *E. faecium*), Scm (second collagen adhesin of *E. faecium*), EcbA (*E. faecium* collagen binding protein A). Ace'nin kollajen tip I, tip IV, laminin ve dentine bağlandığı ve deneysel olarak endokardit etkeni olduğu gösterilmiştir. Fss1, 2 ve 3'ün fibrinojene bağlandığı ancak farklı fibrinojen polipeptit zincirlerini hedef aldıkları gösterilmiştir. Acm, kollajen tipI'e, az olarak da tipIV'e bağlanır ve deneysel endokardite katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Scm ve

EcbA kollajen tipV'e bağlanırken EcbA fibrinojene de bağlanır. Diğer MSCRAMM'ler klinik ve klinik olmayan izolatlarda yaygın olarak bulunurlar (169, 199).

2.6.7 Hiyaluronidaz

Bağ dokusu elemanı hiyaluronik asiti parçalayarak doku hasarına sebep olan hiyaluronidaz, enterokok yayılımını kolaylaştırır. Transkonjugat *E. faecium*'un konjugatif megaplazmitlerle artan virulansı fare peritonitinde ve kolonizasyon modellerinde gösterilmiştir. Her iki modelde de bu plazmitlerin hiyaluronidaz *hyl* geni içerdiği gösterilmiş ve klinik suşlarda toplum suşlarına göre yüksek sıklıkta görüldüğü belirtilmiştir. Ancak *hyl* delesyon durumunun peritonite etkisinin olmadığını göstermiştir (60, 84).

2.6.8 Enterokokal Hücre Duvarı ve Kapsüler Polisakkaritler

Enterokokal hücre duvarı peptidoglikan, proteinler, polisakkaritler, lipidler, lipoproteinler ve çeşitli glikokonjugatlar içerir. En çok bulunan glikopolimerler duvar teikoik asitleri (DTA; Epa) ve lipotikoik asitlerdir (LTA) (169).

Hufnagel, *E. faecalis* suşlarını kapsüler serotiplerine göre A'dan D'ye 4 gruba ayırmıştır. Serotip A'yı sınıflandırmak için kullanılan antikorların aslında LTA'yı tanıdığı gösterilmiştir. Enterokok patojenitesinin LTA kayıplı mutantlarda önlendiği gösterilmiştir. LTA alanizasyon kayıplı mutant suşlardan elde edilen bilgi LTA'nın D-alanin esterlenmesinin polimerin yükünü değiştirdiğini göstermiştir. D-alaninleşme kusuru *E. faecalis*'te biyofilm oluşturma ve ökaryotik hücrelere aderans kabiliyetinde azalma ile antimikrobiyal peptitlere yüksek hassasiyet durumuyla ilişkilidir (169).

Çeşitli çalışmalarda enterokokal posisakkarit antijen (Epa) sistemik enterokokal enfeksiyonlu hastaların serumunda gösterilmiştir. Ancak Epa, hücre duvarının derininde konumludur ve in vitro olarak antikorlarla saptanması zordur. Epa polisakkarit kaybına uğramış suşlarla yapılan çalışmalar bu polisakkaritin *E. faecalis* patojenitesine katkıda bulunduğunu göstermiştir. *EpaE* ve *epaB* insersiyon mutantlarıyla yapılan çalışmada fare peritonit modelinde LD_{50}'nin 2-3 kat artmasıyla öldürme yeteneğinin azaldığı gösterilmiştir. Bu iki mutantın aynı zamanda nötrofil fagositozuna ve öldürmesine daha hassas oldukları gösterilmiş ve hücre duvarı polisakkaritinin immün sistemden kaçışta rol oynadığının düşünüldüğü belirtilmiştir. Bu polisakkaritin aynı zamanda kolonizasyon ve invazyona da katkıda bulunduğu, *epa* mutantlarının polisteren yüzeyde

biyofilm oluşturma yeteneklerinin sekteye uğradığını gösteren çalışmayla desteklenmiştir (60).

Bakteriyel kapsüller çoğu patojen için önemli virülans faktörüdür. Kapsül LTA'ları maskeleyerek sunumunu engelleyerek kompleman aktivasyonunu ve fagositlerce öldürülmeyi önler ve immün sistemden kaçışa katkıda bulunur (169).

2.6.9 Ekstraselüler Süperoksit

Ekstraselüler süperoksit üretimi bakteriyemide enterokok virülansıyla ilişikilidir. Çoğu *E. faecalis* ve bazı *E. faecium* suşları ekstraselüler süperoksit üretirler ve invaziv suşlarda üretim komensal suşlara göre daha fazladır. *E. faecalis* intestinal epitel üzerine oksidatif stresin güçlü kaynağıdır. Translokasyonda, intestinal polip ve kolorektal kanser ile ilişkili kromozomal değişiklikte rolü olduğu düşünülmektedir (190).

2.6.10 AS-48

İlk olarak *E. faecalis* S-48 suşundan izole edilmiştir. Plazmitte kodlanan peptit yapılı bir bakteriyosindir ve birçok bakteriye karşı sitolitik aktivite gösterir. Pozitif yüklüdür ve iyon geçişini indükler. Bu yüzden hedef hücrede sitoplazmik membran potansiyelinin bozulmasına yol açtığı düşünülmektedir. Bakteriyosin üreten *E. faecalis* suşları ile yapılan polimeraz zincir reaksiyonu çalışmaları bakteriyosin üretiminin peptit AS-48 ile yakın ilişkili olduğunu göstermiştir (84).

2.6.11 Antibiyotik Direnci

İntestinal florada bulunan antibiyotik direnç genine sahip suşlar, antibiyotik kullanımı sonucu duyarlı suşların kaybolması ile birlikte sayıca artmakta ve intestinal florada baskın hale gelmektedirler. Bu suşlar daha sonra doku invazyonuna neden olabilmekte ve çevreye yayılmak sureti ile de duyarlı hastalarda ekzojen kökenli enfeksiyonlara yol açabilmektedirler. Virülans faktörleri arasında sayılan antibiyotik direnci, suşların intestinal florada seçilip çoğalmasını kolaylaştırırken, sitolitik toksin ve jelatinaz gibi faktörler ise doku invazyonunu kolaylaştırmaktadır (3).

2.7 Antibiyotik Direnci ve Mekanizmaları

Enterokok türlerinin çoğu yaygın kullanılan çeşitli antibiyotiklere direnç gösterebilir. Ancak bilgilerin çoğu *E. faecalis* ve *E. faecium* kaynaklı çalışmalardan elde edilmiştir ve insan enfeksiyonlarında sıklıkla bu iki ajan görülmektedir. Antimikrobiyal direnç doğal ve kazanılmış olarak sınıflandırılabilir. Doğal direnç kromozomda

kodlanmıştır. Bazı antimikrobiyallere özgül doğal direnç belirli türlere ya da gruplara özgüdür. Kazanılmış direnç ise çeşitlilik gösterir ve DNA'da mutasyon, plazmit kazanımı ya da transpozonlarda bulunan yeni genetik parçaların kazanımıyla olur (133, 134).

2.7.1 Doğal (İnterensek) Direnç

Enterokok türleri penisilinlere, sefalosporinlere, linkozamidlere, trimetoprim-sulfametoksazole, aminoglikozidlere (düşük düzeyde), polimiksinlere, monobaktamlara ve kinopristin/dalfopristine karşı kalıtsal olarak dirençlidir (26, 88).

2.7.1.1 Beta Laktam Direnci

Beta laktamlara tam ya da kısmi direnç Enterococcus genusunun karakteristik özelliğidir. *E. faecalis* penisiline diğer streptokoklardan 10-100 kat daha az duyarlı iken, *E. faecium E. faecalis*'den 4-16 kat daha az duyarlıdır. *E. faecalis*'in çoğu izolatları ampisilin ya da penisilinin 1-8 µg/ml konsantrasyonlarında inhibe olurken, *E. faecium*'da bu değer 16-64 µg/ml'dir ve bazı izolatları daha da dirençlidir. Beta laktam tedavi dozunda MBK/MİK (minimal bakterisidal konsantrasyon/minimal inhibitör konsantrasyon) oranı 1/32'nin üzerinde olduğundan betalaktam antibiyotikler enterokoklara karşı bakteriyostatik etkilidir. Bu direncin ana kaynağı düşük afiniteli PBP (penisilin bağlayan protein) üretimidir. Penisilin direnci PBP5 miktarı ile orantılıdır ve PBP5 üretim yeteneğini kaybetmiş penisilin dirençli suşların duyarlı hale gelmesiyle gösterilmiştir (26, 134).

Beta laktam direncinin bir diğer nedeni de betalaktamaz üretimidir. Enterokoklarda bu enzimin üretimi yapısaldır, düşük seviyededir ve beta laktam miktarına bağlıdır (26, 134).

2.7.1.2 Aminoglikozid Direnci

Bakteri içerisine girişinin az olması dolayısıyla enterokoklar tüm aminoglikozidlere düşük düzeyde direnç gösterirler. Aminoglikozidler bakteri hücre duvarından enerji bağımlı mekanizma ile geçmektedirler ve enterokokların sitokrom enzimleri olmadığından geçirgenlik azdır. Ancak aminoglikozid grubu ilaçlar, hücre duvarı sentezini engelleyen β-laktam'lar gibi antibiyotikler ile kombine edilirse zedelenen hücre duvarından daha kolay geçeceklerinden sinerjist etki oluşacak ve MİK değerleri önemli ölçüde düşecektir. Diğer bir kromozomal aminoglikozid direnci de

sadece *E. faecium* türünde görülür. *E. faecium aac6'-li* geni tarafından kodlanan 6' asetiltransferaz (AAC-6') enzimine sahiptir. AAC-6', aminoglikozid yapısındaki bir amino grubunu asetil CoA'ya bağımlı olarak asetilasyona uğratır ve böylece sitoplazmaya geçen ilaç inaktive edilir. Enzim kanamisin, netilmisin, sisomisin, isepamisin ve tobramisini modifiye ederek direnç gelişimini sağlar ancak gentamisine etkili değildir (106, 117).

2.7.1.3 Trimetoprim-Sulfametoksazol Direnci

Trimetprim-sulfametoksazol, folat sentez yolağında ilgili bakteriyel enzimleri inhibe eder. Nükleik asit sentezini de içeren önemli hücresel fonksiyonlar için folik asit gereklidir. Çoğu bakteri folatı sentez etmek yerine çevreden eksojen olarak aldıklarından in vitro olarak trimetoprim-sülfametoksazole duyarlı bulunsalar da in vivo olarak etkisizdir (26, 106).

2.7.1.4 Daptomisin Direnci

Daptomisin, Gram pozitif bakterilerin duvarında bol miktarda bulunan lipoteikoik asidin içinde transmembran kanallar oluşturarak hücre içi iyonların (K, Mg) ve ATP'nin sızmasına, makromoleküllerin sentezinin engellenmesine ve bakteri membranı sentezinin bloke olmasına neden olur. Daptomisin hücre membranının içine girdiğinde oligomerize olur ve transmembran kanal oluşturur. Oligomerizasyon fosfolipid fosfotidilgliserol, diğer fosfolipidler ve kardiyolipin bulunmasına bağlıdır. Daptomisin dirençli suşlarda yapılan çalışmalar dirençten 3 genin sorumlu olduğunu göstermişlerdir. *liaF* geni üç komponentli regülator sistem LiaFSR'yi kodlar. LiaF'in 177. pozisyonundaki izolösin delesyonu MİK'i 1 µg/ml'den 4 µg/ml'e çıkartır ve bakterisidal etki ortadan kalkar. Dirençle ilgili diğer iki gen fosfolipid metabolizmasıyla alakalıdır. *gpdD* gliserolfosfodiester fosfodiesterazı ve *cls* ise kardiyolipinsentetazı kodlar (126).

2.7.1.5 Diğer

Enterokoklar linkomisin ve klindamisine karşı düşük düzeyde interensek direnç gösterirler, çoğu suş için MİK değeri 12,5-100 µg/ml arasındadır (134). *E. gallinarum*, *E. casseiflavus* ve *E. flavescens*'un kromozomal glikopeptid direnci vardır. *VanC* geni sayesinde vankomisine düşük düzey yapısal direnç (MİK, 2 - 32 µg/ml) mevcuttur. Ancak teikoplanin bu türlere karşı etkilidir (106).

Streptogramin A (dalfopristin) ve B (kinupristin) karışımı olan Kunipristin-dalfopristin (Q/D), *E. faecium*'a etkili ancak *E. faecalis*'e etkisizdir. *E. faecalis* streptogramin A ve linkozamid direncinden sorumlu *lsa* adlı kromozomal gene sahiptir. Bu gen ATP bağlayan transport proteinleri kodlar, moleküler mekanizması ve dirence nasıl aracılık ettiği tam olarak bilinmemektedir. Ancak enterekoklarda, MLSB fenotipi olarak da bilinen, makrolidlere, linkozamidlere ve streptogramin B'ye direnç yaygındır (75).

Dalfopristin ribozoma bağlanıp yapısal değişiklik meydana getirerek kunipristin bağlanması için yüksek afiniteli bağlanma alanı oluşturur ve ribozomda geridönüşümsüz inhibisyona neden olur. *E. faecium*' da Q/D direnci birkaç mekanizmayla olur. İlki, asetiltransferazlar VatD ve VatE ile dalfopristin değiştirilerek etkisiz hale getirilir ve kinupristin ile sinerji bozulur. Diğer mekanizma laktonaz VgbA ve VgbB tarafından kinupristinin halka yapısı bozularak etkisiz hale getirilişidir. MLSB fenotipinde kunipristinin hedefi *erm* genleriyle modifiye edilir ancak dalfopristin hala aktiftir. Diğer mekanizma ise msrC gibi efflux pompalarıyla Q/D'hücreden atılmasıdır (75).

2.7.2 Kazanılmış Direnç

Kazanılmış direnç sporadik mutasyonlar ya da yabancı genetik materyal kazanımıyla olur. Enterokoklar arası gen değişimi feromon duyarlı ya da geniş konakçı aralığına sahip plazmitlerin aktarımı ya da transpozon hareketi yoluyla gerçekleşir. Birden fazla plazmit ve transpozon klinik suşlarda tanımlanabilir. Bu elemanlar birbirleriyle ve bakteri kromozomuyla etkileşime girebilir ve birleşik mobil elemanlar oluşturabilirler (72, 151).

Enterokoklarda gen hareketliliğinden; Tn3 ailesi transpozonlar, kompozit transpozonlar ve konjugatif transpozonlar olmak üzere 3 tip transpozon sorumludur. Tn3 ailesi transpozonları makrolid, linkozamid ve streptogramin b (MLSB) direnci kazandıran Tn917, glikopeptid direnci kazandıran Tn1546 ve konjugatif transpozon olan ve minosiklin-tetrasiklin direnci kazandıran Tn916'dır. Kompozit transpozonlar IS elementleri ile etkileşim sonucu form değişikliğine hazır transpozonlardır ve çoğu klinik enterokok suş genomu boyunca dağılmış haldedir. IS elementleri, direnç genlerini taşımakla birlikte bakteriyel kromozom ve diğer plazmitlerle birleşmeyi teşvik eder (72, 159).

2.7.2.1 Beta Laktamlar

Enterokoklar β-laktamaz kazanımı ya da PBP4/5 mutasyonuyla penisiline karşı direnç geliştirebilir. Plazmit aracılı β-laktamaz kodlayan *bla* genleri ilk olarak *E. faecalis*'te 1983'te keşfedilmiştir (130). Enterokoklardaki *bla* geni *S. aureus* ile özdeştir ve stafilokokkal β-laktamaz transpozonu Tn552 tarafından kodlanır (132).

Yüksek düzey penisilin direnci çoğunlukla PBP5'in nokta mutasyonuyla ilişkilidir ve *E. faecium* ve *E. faecalis*'te gösterilmişlerdir (213). Beşinci kuşak sefalosporinler seftarolin ve seftabiprolün enterokoklara etkili olduğu ancak yaygın klinik kullanımında direnç gelişimi olacağı *E. faecalis* suşlarının bu antibiyotiklerle seri pasajlarının yapılmasıyla gösterilmiştir (28).

2.7.2.2 Aminoglikozidler

Doğal direnç mekanizmaları yoluyla aminoglikozidlere karşı düşük düzey direnç görülürken, kazanılmış hareketli genetik elemanlar sayesinde *E. faecium* ve *E. faecalis*'te yüksek düzey aminoglikozid direnci görülür. Bu direnç sıklıkla APH(2'')-Ia-AAC(6')-Ie enzimini kodlayan genin kazanımıyla görülür. Bu gene sahip suşlar streptomisin hariç bütün aminoglikozidlere dirençlidirler. Bu enzim gentamisini 2'hidroksil pozisyonunda fosforilleyerek ve diğer aminoglikozidleri 6'hidroksil pozisyonunda asetilleyerek inaktive eder. Değişikliğe uğramış antibiyotik hedef olan ribozom 30S altünitesine bağlanma yeteneğini ve aktivitesini kaybeder. *Aph(2'')-Ia-aac(6'')-Ie* geni yaygın olarak *S. aureus*'ta Tn4001, *E. faecalis*'te ise Tn5281 transpozonunda IS256'da görülür. *Aph(2'')-Ic, aph(2'')-Ib* gibi diğer genler de gentamisin direnci kazandırır (27).

Yüksek düzey streptomisin direnci yaygın olarak antibiyotiğin enzimatik yolla modifikasyonu ya da ribozomda tek nokta mutasyonu yoluyla görülür. Ant(6)-Ia ve Ant(3'')-Ia adeniltransferazlar streptomisini etkisiz hale getirirler (27).

Diğer aminoglikozid modifiye eden enzimlerden aminoglikozid fosfotransferaz olan Aph(3')-IIIa ile kanamisine, nükleotidiltransferaz Ant(4'')-Ia ile tobramisin, amikasin, neomisin ve kanamisine direnç gelişir ancak bu enzimler gentamisin ya da streptomisin direnci kazandırmaz (27).

2.7.2.3 Glikopeptitler

Vankomisin hücre duvarı sentezinde pentapeptit öncülerinini D-Ala-D-Ala ucuna bağlanarak sentezi inhibe eder. Glikopeptit dirençli olan mikroorganizmalar bu pentapeptit öncülerinin D-Ala ucunu D-Ser ya da D-Lak ile değiştirerek 1000 kat daha düşük bağlanma özelliği elde ederler. VanA ve VanB tipi vankomisin direnci hastanelerde baskın hale gelirken yeni *Van* direnç gen kümeleri tarif edilmiş ve sayıları dokuza çıkmıştır. D-Ala-D-Lak ile direnç geliştirenler *VanA*, *VanB*, *VanD* ve *VanM*, D-Ala-D-Ser ile direnç geliştirenler ise *VanC*, *VanE*, *VanG*, *VanL* ve *VanN*'dir. D-Ala-D-Lak tipi operonlar plazmitler ya da kromozomda bulunurlarken, D-Ala-D-Ser grubu operonlar ise plazmitte bulunan *VanN* hariç, kromozomda bulunurlar. *VanG* ve *VanN* transfer edilebilen D-Ala-D-Ser direnç türüdür (91, 144).

Tablo 2. 2 Van gen kümelerine göre enterokoklarda glikopeptit direnci (72 ve 143'ten derlenen bilgilerle.)

	Kazanılmış								Doğal
Tip	VanA	VanB	VanD	VanE	VanG	VanL	VanM	VanN	VanC
MİK (mg/L) Vankomisin Teikoplanin	 ≥64 ≥16	 ≥4 0,5-1	 ≥64 4-64	 6-32 0,5	 12-16 0,5	 8 <8	 >128 64->256	 8 0,5	 2-32 0,5-1
Gen İfadesi	İndüklenir	İndüklenir	Yapısal ya da İndüklenir	İndüklenir	İndüklenir	İndüklenir	İndüklenir	Yapısal	Yapısal ya da İndüklenir
van ligaz geni	vanA	vanB1-B3	vanD1-5	vanE	vanG1-2	vanL	vanM	vanN	vanC1-C3
Değişmiş hedef	D-alanin-D-laktat	D-alanin-D-laktat	D-alanin-D-laktat	D-alanin-D-serin	D-alanin-D-serin	D-alanin-D-serin	D-alanin-D-laktat	D-alanin-D-serin?	D-alanin-D-serin
Transfer edilebilirlik	Evet	Evet	Hayır	Hayır	Evet	Hayır	Evet	Evet	Hayır
Bulunduğu yer	Plazmit ya da Kromozom	Plazmit ya da Kromozom	Kromozom	Kromozom	Kromozom	Kromozom	Bilinmiyor	Plazmit	Kromozom

2.7.2.3.1. VanA

Hem vankomisine (MİK≥64 μg/ml) hem de teikoplanine (MİK≥16 μg/ml) yüksek düzeyde direnç sözkonusudur. *VanA* geni ve onun regülasyon ve ekspresyonundan sorumlu genler (*vanR*, *vanS*, *vanH*, *vanX*, *vanZ*) 10.581-bp transpozon Tn1546 üzerinde kodlanmıştır. D-Ala-D-Ala yerine D-Ala-D-Lak öncülerini kodlar ve vankomisinin bağlanma afinitesi düşer. Bu genlerden *Tnp* ve *Res*, Tn1546'nın transpozisyonundan, diğer genler olan *VanR*, *VanS*, *VanH*, *VanA*, *VanX*, *VanY* ve *VanZ* ise glikopeptit direncinden sorumludur. VanR ve VanS proteinleri iki komponentli bir regülatör sistem oluşturur. Bu sistem *VanH*, *VanA* ve *VanX* gen kümesinin transkripsiyonunu düzenler. Bu düzenlemede *VanS*, sensör gendir. Glikopeptitlerin ortamdaki varlığını algılayarak VanS proteinini kodlar ve sinyal iletimini sağlar. *VanR* ise regulatör gendir ve diğer direnç genlerinin transkripsiyonel aktivasyonunda görev alan VanR proteini kodlar. VanS, VanR'ye sinyal verir. Buna bağlı olarak VanR hem kendi promoter bölgesini hem de *VanH*, *VanA*, *VanX* gibi dirençte yer alan genlerin promoter bölgesini aktive eder. VanA'nın kodladığı bir ligaz proteini D-Ala-D-Lak oluşumunu sağlar. VanA tek başına vankomisin direncini sağlayamaz. Enterokokların, D-Lak sentezleyebilmesi, VanA için substrat üretiminde gerekli olan vanA operonu içindeki genleri kazanımına bağlıdır. *VanH*, piruvattan D-Lak sentezini sağlayan bir dehidrogenaz enzimini kodlayarak D-Lak havuzunun oluşumunu sağlar. *VanX*, bir D,D-dipeptidaz enzimi olan VanX proteinini kodlar, D-Ala-D-Ala'nın doğal bir ligaz yardımıyla hidrolizinden sorumludur ve D-Ala-D-Lak'a karşı aktivite göstermez. *VanY*, D,D-karboksipeptidaz olan VanY proteinini kodlar. Peptidin sonundaki D-Ala'yı ayırarak pentapeptit sentezini azaltır ve ılımlı seviyede direnç sağlar. *VanZ*, teikoplanin MİK değerini ılımlı düzeyde arttırır ama vankomisin MİK değerini arttırmaz. *VanY* ve *VanZ* dirence katkıda bulunabilir ama direnç için zorunlu değildir (26, 31, 181).

2.7.2.3.2. VanB

VanB geni çoğunlukla Tn5382/1549'da ya da ilişkili konjugatif transpozonlarda taşınır. VanB direnci VanA ligaza yapısal olarak benzeyen VanB ligaz ile D-Ala-D-Lak ile sonlanan pentadepsipeptit üretimi ile sağlanır. *VanA* direnç genleri ile analog genlere sahiptir ve bunlar *vanHB*, *vanXB*, *vanYB*, *vanRB* ve *vanSB* olarak adlandırılırlar. Ancak farklı olarak *VanZ* geni bulunmaz. Teikoplanin, VanA ilişkili proteinlerin sentezini indükler ancak VanB ilişkili proteinlerin sentezini indüklemez. Diğer yandan

vankomisin her iki sistemde de direnç proteinlerinin sentezini indükler. *VanB* genine sahip, teikoplanin hassas enterokok önceden vankomisine maruz bırakılırsa teikoplanin dirençli görülür (26, 75).

2.7.2.3.3. VanC

VanC geni tarafından kodlanan VanC ligaz ile D-Ala yerine D-Ser girişi olur ve vankomisine afinite azalır. VanC tipi direnci bulunan suşlar teikoplanine duyarlıdır. VanC tipi direnç yapısaldır, indüklenemez ve transfer edilemez. VanC-1, VanC-2 ve VanC-3 olmak üzere üç alt tipi bulunmaktadır. VanC-1 *E. gallinorum*'da, VanC-2 *E. casseliflavus*'ta, VanC-3 ise *E. flavascens*'te daha sık görülür. *E. gallinorum*, *E. casseliflavus* ve *E. flavescens*'te vankomisine düşük düzeyde direnç tipiktir (26, 34).

2.7.2.3.4 VanD

E. faecium'da tespit edilmiştir. Orta düzeyde vankomisin direnci (MİK: 16-64 µg/ml) ve düşük düzeyde teikoplanin direnci (MİK: 2-4 µg/ml) görülür. İndüklenebilir dirençtir ve sorumlusu Van D membran proteinidir (26, 181).

2.7.2.3.5 VanE

İlk kez *E. faecalis* BM4405 suşunda tanımlanmıştır. Vankomisine düşük düzey direnç (MİK: 16 µg/ml) gösterirken teikoplanine duyarlıdır (MİK: 0.5 µg/ml). Kromozomda bulunur ve transfer edilemez. VanC tipi dirence benzemesine rağmen intrensek bir direnç tipi değildir (26, 88, 181).

2.7.2.3.6. VanG

VanG geninin sorumlu olduğu bu direnç tipi ilk olarak *E. faecalis* WCH9 suşunda tanımlanmıştır. Tipik olarak vankomisine düşük düzeyde dirençli (MİK: 12-16 µg/ml), teikoplanine ise duyarlıdır (MİK: 0.5 µg/ml). *VanB* ve *vanE* direnciyle benzer fenotiptedir (123).

2.7.2.3.7. VanL

D-Ala-D-Ser ile sonlanan pentapeptit oluşumu ile vankomisine düşük düzey direnç gelişimine sebep olur. Diğer D-Ala-D-Ser pentapeptit üretimi yapan genler gibi kromozom üzerinde konuşlandığı düşünülmektedir (24).

2.7.2.3.8. VanM

2006'da izole edilmiş, Efm-HS0661 olarak adlandırılmış vankomisin MİK'i >256 µg/ml, teikoplanin MİK'i 96 µg/ml olan bir *E. faecium* suşunda tanımlanmıştır. *VanM* geni D-Ala-D-Lak ligaz enzimini kodlar. IS1216-benzer elementiyle konjugasyonla transfer edilebilir. DNA dizilimi *vanA* ile benzerlik göstermektedir (209).

2.7.2.3.9. VanN

Kan kültüründen izole edilen UCN71 adı verilen düşük düzey vankomisin direnci (MİK:16 µg/ml) gösteren ancak teikoplanine hassas olan (MİK: 0,5 µg/ml) *E. faecium* suşunda bulunmuştur. D-Ala-D-Ser tipinde dirence sahiptir ve transfer edilebilir (144) .

2.7.2.3.10. Vankomisin Bağımlı Enterokoklar (VBE)

Bu enterokoklar üremeleri için vankomisine ihtiyaç duyarlar ve Campylobacter veya gonokokların izolasyonunda kullanılan vankomisin içeren agara ekilen klinik örneklerden elde edilmiştirlerdir. Bu izolatlar doğal ligaz (*ddl*) genlerinde mutasyon sebebiyle D-Ala-D-Ala'nın üretimi sonlanır ve sonra yedek bir dipeptit benzeri yapı varsa üreyebilir. VanA ve VanB tipi enterokokların çoğunda, yalnızca vankomisin varlığında ortaya çıkar. Vankomisin, D-Ala-D-Lak oluşumunda rol alan dehidrogenaz (VanH) ve ligaz (VanA veya VanB) sentezini indükler ve oluşan D-Ala-D-Lak hücre duvarı sentezinde kullanılır. Vankomisin uzaklaştırıldığında D-Ala-D-Lak daha fazla sentezlenmez ve D-Ala-D-Lak olmadan hücre çoğalmaya devam edemez. Vankomisin bağımsızlığına geri dönüşün D-Ala-D-Lak konstititüf üretimine yol açan bir mutasyon veya D-Ala-D-Ala sentezini eski haline getiren bir mutasyon ile ortaya çıktığı düşünülmektedir (26, 181).

2.7.2.4 Streptograminler

Streptogramin B/A kombinasyonu olan kinupristin-dalfopristin, vankomisin dirençli *E. faecium* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde Amerikan Gıda ve İlaç Yönetimi (Food and Drug Administration-FDA) onaylı iki antibiyotikten biridir. *E. faecalis* streptograminlere doğal dirençli oldukları için aktarılabilir direnç genlerinin

çoğu *E. faecium*'dan izole edilmiştir. Veteriner streptogramin A olan virginamisinin yaygın kullanımı çiftlik hayvanlarından, gübrelerden ve çevreden izole edilen enterokoklardaki kinupristin-dalfropristin direncinin kaynağıdır (122). Streptogramin direncinden sorumlu genlerin kazanımında 3 mekanizma vardır; antibiyotiğin asetilasyonu, antibiyotiğin dışarı atımı ve 23rRNA hedef bölgesinin dimetilasyonu (9, 75, 127).

Streptogramin direnç mekanizmalarından biri virginamisin asetiltransferaz genleri *vatD*, *vatE* ve *vatH* ile Streptogramin A'nın asetilasyonudur. *vatD* ve *vatE* plazmitlerden izole edilmişlerdir ve streptogramin B hassasiyetini inhibe eder ve Q/D direnci gelişimini sağlar. *VatH* baska bir streptogramin asetiltransferaz olan VgbA ile birlikte görülebilir (9, 75, 127).

E. faecium'da *msrC* geni ve *E. faecalis*'in *lsa* geninin kodladığı intreksek effluks kanallarından bağımsız olarak VgaD ABC-effluks kanalı kazanılmıs streptogramin direncinde rol oynar. *vgaD* geni *vatH* geni ile birlikte bir plazmit üzerinde bulunmuştur. İkisi de sreptograminA direncinden sorumludur (9, 75, 127).

Bir diğer mekanizma 23S rRNA'nın dimetilasyonudur. Bu direnç, pAMβ1 gibi geniş konak yelpazesine sahip plazmitlerin üzerinde bulunan *ermA* ya da *ermB* geni kazanımı ile MLSA ya da MLSB fenotipi gelişimi ile gerçekleşir (9, 75, 127).

2.7.2.5 Linezolid

Gram pozitif bakterilere karşı geniş etkinliği bulunan ve sentetik bir antibiyotik olan linezolid, 23S rRNA'ya bağlanır ve ribozomum A bölgesindeki aminoaçil-tRNA'nın yerleşimini engelleyerek protein sentezini inhibe eder. Enterokoklar da dahil bir çok bakteri 23S rRNA'yı kodlayan birden fazla diziye sahiptir ve teoride, etkilenmemiş gen dizileri mutasyona uğramış genlerin etkisini maskeler (118).

2006'da *S. aureus*'ta linezolid, linkozamid ve streptogramin A ya direnç gelişimini sağlayan, transfer edilebilir *cfr* geni tanımlanmıştır. *Cfr*, 23S rRNA'da linezolid bağlanan bölgede bir adenozini modifiye eden rRNA metiltransferaz enzimini kodlar ve antibiyotik bağlanmasını engeller (111). 2011'de sığırdan *cfr* genine sahip *E. faecalis* suşu izole edilmiş ve EF-01 olarak adlandırılmıştır. Bu suşta gen plazmit üzerinde (pEF-01) bulunmaktadır ve IS1216 üzerinde taşınmaktadır. 2015'te ise *cfr* geni

E. faecium'un mobil genetik elementleri üzerinde gösterilmiş ve *cfr(B)* olarak adlandırılmış yeni *cfr* çeşidi olduğu bildirilmiştir (38).

2.7.2.6 Daptomisin

Daptomisin fizyolojik kalsiyum konsantrasyonu varlığında Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı içerisine geçer ve hücre içi potasyumun hücre dışına sızmasını sağlayarak hücre ölümüne sebep olur (178). Normal hücre membran polaritesi daptomisinin hücre içine girişi için gereklidir. Stafilokoklarda hücre membran yükünün değişimi ile azalmış daptomisin hassasiyeti görülür (177). Enterokoklarda daptomisin direnç mekanizması tam olarak çözümlenmemesine rağmen dirençle alakalı mutasyonlar rapor edilmiştir (11, 62).

2.7.2.7 Kloramfenikol

Kloramfenikol direnci streptokokkal ya da stafilokokkal kaynaklı, plazmitle taşınan *cat* geninin kodladığı O-asetiltransferaz enzimince ya da effluks mekanizması kaynaklı olarak meydana gelir (88). Çeşitli çalışmalarda besin kaynaklı enterokok izolatlarında *cat* geni varlığı gösterilmiştir (78, 82) .

2.7.2.8 Tetrasiklinler

Tetrasiklin direnci effluks mekanizmasından sorumlu *tetK*, *tetL* ve ribozomal korumadan sorumlu *tetM*, *tetO*, *tetS* gibi çeşitli genlerce kodlanır. *TetM* geni geniş konak çeşitliliğine sahip konjugatif transpozonlardan olan Tn916/1545 ile ilişkilidir. *TetL* hem kromozomda hem konjugatif plazmitte bulunabilirken, *tetO* ve *tetS* konjugatif plazmitte bulunurken tetK sıklıkla stafilokoklarda bulunmaktadır (207).

2.7.2.9 Kinolonlar

Kinolon direnci DNA giraz ve topoizomeraz alt ünitelerini kodlayan bölgelerde (*gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*) meydana gelen mutasyon sonucu gelişir. Ek olarak *E. faecalis*'in de dahil olduğu çeşitli patojen Gram pozitif bakterilerde, Gram negatiflerde kinolon direncinden sorumlu *qnr* geninin homologlarının kromozomal kopyasının bulunduğu gösterilmiştir (12, 161).

2.8 Konak İmmün Yanıtı

Konak bağışıklığının tepkisi özellikle *E. faecium*'a karşı araştırılmış, ölümcül olmayan fare peritonit modelinin kullanıldığı çalışmalarda periton boşluğuna hızlı bir

nötrofil girişi ile periton ve sistemik enterokok yükünde hızlı düşüş gösterilmiştir. TLR2 (Toll like reseptör 2) tarafından tanınmanın ardından MyD88 (105) aracılığıyla sinyal gönderilmesinin, peritoneal makrofaj (104) ve nötrofil akını (103) ve koplementler tarafından bakterilerin opsonizasyonu (102) ile *E. faecium* peritonitinin erken önlemesindeki önemi gösterilmiştir. Sıçan mast hücreleriyle (MC) yapılan bir çalışmada TLR2, *E. faecalis*'in MC'ler tarafından tanınmasında rol oynayan en belirgin TLR olarak tanımlanmış ve MC'ler tarafından salınan katelidin LL-37'nin, *E. faecalis*'e karşı güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (170). 2016'da yapılan bir çalışmada ise bağırsakta doğuştan gelen antiviral bağışıklık yollarını uyaran bir TLR-7 ligandı olan Resiquimod (R848)'un VRE'ların bağırsakta kolonizasyonuna karşı direnç sağladığı gösterilmiştir (1).

2.9 Habitat

1960'lar ve 1970'lerde memeliler, sürüngenler, kuşlar ve böceklerin GİS ve feçeslerinde enterokokların varlığı gösterilmişlerdir. Enterokok kolonizasyonun geniş yelpazede yaygın olması bu hayvanların 412 milyon yıl önce Devonyen devirde gelişen atalarının bağırsak üyeleri olduğunu önermektedir (62, 202).

2.9.1 İnsanlarda Enterokoklar

İnsan GİS ve feçes çalışmaları enterokokların bağırsak kolonizasyonunu göstermiştir. Enterokoklar insan ince ve kalın bağırsağında jejunum, ileum, çekum ve rekto-sigmoidal bölgede kolonize olarak mikrofloranın %1'i kadar oranda bulunurlar (71, 172). Ağız boşluğunda yaygındırlar ancak midede nadir olarak bulunurlar (180, 18). İnsan dışkısında en sık rastlanan enterokok türleri *E. faecium* ve *E. faecalis*'tir. İnsan fekal örneklerindeki enterokok türlerini araştıran bir çalışmada görülen enterokok türleri *E. faecium* (%100), *E. faecalis* (%78), *E. durans* (%33), *E. gallinarum*(%33), *E. avium* (%11) ve *E. hirae* (%11) olarak verilmiştir (96). *E. caccae* de nadiren izole insan fekal örneklerinden izole edilmiştir (115).

2.9.2 Hayvanlarda Enterokoklar

Çoğu yarasa türü, tilki, ayı, rakun, kokarca, domuz, kedi, fare, guinea pig, tavşan, köpek, sıçan, maymun gibi memelilerin, çeşitli sürüngen ve kuşların feçesinde enterokok izole edilmiştir (128, 149).

Kümes hayvanları ile yapılan çeşitli çalışmalar, intestinal floralarında bulunan *E. faecium* ve *E. faecalis*'in çeşitli antibiyotiklere direnç ve virülans genleri bulundurdukları ve bu hayvanların reservuar olabileceklerini göstermiştir (145,182). Bir çalışmada ise hindilerden ve hindi yetiştiricilerinden izole edilen *E. faecium* suşlarının yüksek derecede benzer PFGE profillerine sahip oldukları gösterilmiştir (201).

Deniz kestaneleri (116), çipura balıkları (14) gibi deniz canlılarında çeşitli antibiyotiklere direçli enterokok suşları, kurt ve vaşak gibi yırtıcılarda da VRE suşları izole edilmiştir (63).

Kın kanatlılar, sinekler, arılar, termitler, solucanlar gibi çeşitli böceklerin baskın olarak *E. faecalis* ve *E. faecium* olmak üzere enterokoklar barındırdıkları gösterilmiştir (119).

Enterokoklar hastane hamamböcekleri ve sineklerinden de izole edilmiş, enfeksiyonlar için olası rezervuarlar oldukları düşünülmüştür (52, 56).

2.9.3 Çevrede Enterokoklar

Enterokoklar çevrede insan ya da hayvan dışkı kontaminasyonu indikatörü olarak kullanılablirler. Enterik ortamlar dışında değişken sıcaklık, UV, tuzluluk, açlık gibi çevresel stres etkenlerine maruz kalarak toprakta, su ve toprak bitkilerinde bulunabilirler (25).

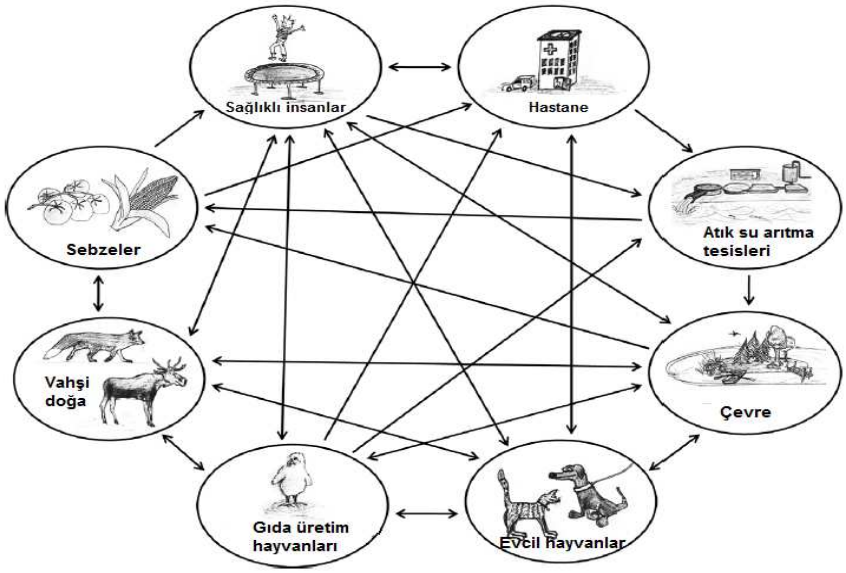
Antimikrobiyaller, insan enfeksiyonlarının tedavisinin yanısıra besin korunmasında ve hayvan üremelerinin teşvik edilmesinde de kullanılmıştır. Glikopeptitler (avoparsin), makrolidler (tilosin) ve oligosakkaritler (avilamisin) gibi antibiyotiklerin, sıklıkla da avoparsinin, bu amaçlarla kullanımı VRE gibi dirençli suşların seçilimine neden olmuştur ve kediler, köpekler, atlar, kuşlar, kurbağalar, devekuşları, domuzlar, kümes hayvanları gibi bir çok insan dışı rezervuarda, çevre örneklerinde, kanalizasyon sularında, çiftçilerin ve hastaneye yatmamış kişilerin dışkı örneklerinde gösterilmiştir (68).

2.10 VRE Epidemiyolojisi, Kolonizasyon ve Risk Faktörleri

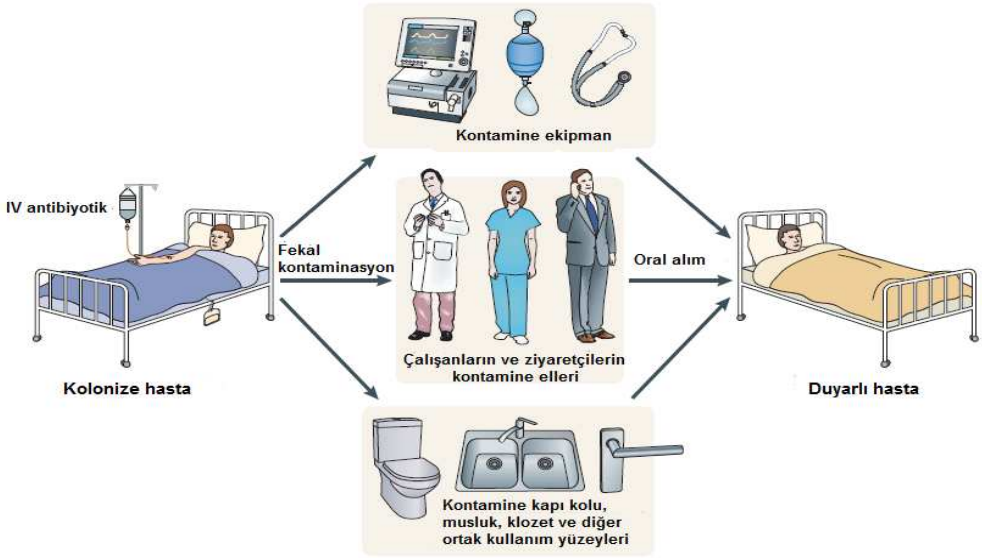
National Healthcare Safety Network (NHSN) verilerine göre 2009-2010 arasında hastane kaynaklı enterokok enfeksiyonlarının %35'i vankomisine dirençlidir ve Birleşik Devletler'de hastane kaynaklı enfeksiyonlarda ikinci sıradadır. Kanada sürveyans çalışma grubu CANWARD'a göre 2007-2011 yılları arasında VRE oranı %6 olarak

belirtilmiştir. Avrupa'da ise oran daha düşüktür ancak yükselme göstermektedir. 2013'te European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) raporuna göre VRE prevalansı %4'tür. Ancak bu oran ülkelere göre değişiklik göstermektedir. VRE oranı Fransa, İspanya ve İsveç'te %1'in altındayken, Yunanistan, İrlanda, Portekiz ve Birleşik Krallık'ta %20'den fazladır (146). Ülkemizde ise Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı (UHESA) 2015 verilerine göre VRE prevalansı %14,03'tür (198).

VRE en sık GİS'de kolonize olur ancak deri, genitoüriner sistem ve ağız boşluğunda da kolonize olabilir. Kolonizasyonlarda en sık rastlanan enterokok *E. faecalis'*tir. GİS, VRE ile kolonize olduğunda bu kolonizasyon aylar, yıllar sürebilir. Dekolonizasyon çabaları etkili görünse de günler, haftalar sonra VRE kolonizasyonu tekrarlanabilir. Yayılmada en etkili kaynak sağlık çalışanlarının elleridir. VRE ellerde 60 dakikaya, yüzeylerde ise 4 aya kadar canlı kalabilir. Hastane kaynaklı VRE yayılımı kişiden kişiye temasla ya da kontamine materyale maruziyetle başlar. Bağırsak mikrobiyotası antimikrobiyal baskısı ile seçilime uğrar. Kolonizasyon riski konak özelliklerine ve antimikrobiyallere maruziyete bağlıdır. Baskılanmış immün sistem, hematolojik maligniteler, organ transplantasyonları, artan yoğun bakım ya da hastanede kalış süreleri, evde uzun süre bakım, başka kolonize ya da infekte hastaya yakınlık, VRE prevalansı yüksek ünitede yatış, diabet, böbrek yetmezliği, gibi ciddi durumların mevcudiyeti ve yüksek APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) skoru gibi durumlarda VRE kolonizasyon riski artar. Oral ya da intravenöz olarak, vankomisin, aminoglikozidler, sefalosporinler, klindamisin, metronidazol ve karbapenemler gibi antimikrobiyallere maruziyet VRE kolonizasyonuna olanak sağlar (146). Şekil 2.1'de enterokok yayılımı, Şekil 2.2'de nozokomiyal VRE bulaşının önemli yolları gösterilmiştir.



Şekil 2. 1 Enterokok yayılımı (143).



Şekil 2. 2 Nozokomiyal VRE bulaşının önemli yolları (10).

VRE ile kolonizasyon ve nozokomiyal enfeksiyon için enfekte hastaya ya da odalarına yakın temas, uzun süreli hastanede yatış, üriner kateter varlığı, birden çok antibiyotik tedavisi ana risk faktörleri olarak gösterilebilir. Birçok antibiyotik,

gastrointestinal sistemdeki VRE organizmalarının yoğunluğunu arttırır, bu da eşyalar, sağlık çalışanlarının ve ziyaretçilerin elleri de dahil olmak üzere hastane ortamının dışkı kontaminasyonu ile bu organizmaların yayılmasını kolaylaştırır. Enterokoklar tıbbi ekipman, tuvalet, yatak rayları ve kapı tokmakları gibi çevresel yüzeylerde uzun süre hayatta kalabilir ve ısı, klor ve bazı alkol preparatlarına dayanıklıdır (10).

2.11 Enterokok Enfeksiyonları

2.11.1 Ürogenital Sistem Enfeksiyonları

Enterokoklar en sık ürogenital sistem (ÜGS) enfeksiyonlarına yol açarlar. Sistit, prostatit, epididimit gibi ÜGS enfeksiyonları sıklıkla yaşlı erkeklerde gözlenir. Nadir olarak genç kadınlarda komplike olmayan sistit etkeni olarak rastlanırlar. Bakteriyemiye neden olabilen üst üriner sistem enfeksiyonları çoğunlukla yaşlı erkeklerde ortaya çıkar. Enterokokkal üriner sistem enfeksiyonlarının hastaneden veya uzun süreli bakım birimlerinden edinilmesi ve çoklu antibiyotik dirençi gösterme olasılığı yüksektir. VRE hızlı bir şekilde sağlıkla ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarının ana nedeni haline gelmektedir ve kateterle ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarının % 15'inden sorumludur (2, 146).

2.11.2 Karın İçi, Pelvik ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Enterokoklar sıklıkla karın içi, pelvik ve yumuşak doku enfeksiyonu etkeni olabilirler. Neredeyse herzaman karışık mikrobik floranın bir parçası olarak izole edilirler ve bu bölgelerde nadiren monomikrobiyal enfeksiyona neden olurlar. Yaralar ve apselerdeki enterokokların önemi tartışmalıdır. Bununla birlikte enterokok bakteriyemisi yaygın olarak karın içi/pelvik apseler ve yaralar ile ilişkilidir ve bu yüzden çoğu klinisyen bu bölgelerdeki enfeksiyonlar için enterokoklara da etkili antibiyotik rejimleri kullanmaktadır. Kronik peritoneal diyaliz geçiren veya karaciğer sirozu olan hastalarda enterokoklar monomikrobiyal peritonit enfeksiyonlarına neden olabilirler. Enterokoklar, dekubit ve ayak ülserleri kültürlerinde ve diyabetiklerin osteomiyelit kültürlerinde sıklıkla görülebilirler ancak bu bölge enfeksiyonlarındaki rolü açıkça tanımlanmamıştır (2, 146).

2.11.3 Bakteriyemi

Enterokoklara bağlı enfeksiyonlarda bakteriyemi ve endokardit yaygın olarak görülmektedir. Endokarditsiz bakteriyemi özellikle antibiyotik alan ağır hastalardaki

enterokok enfeksiyonlarında sıkça görülür. Toplum kaynaklı bakteriyeminin yaygın kaynağı ÜGS ve GİS'dir. Nozokomiyal enterokok bakteriyemileri ise sıklıkla intravasküler veya üriner kateterlerden kaynaklansa da karın içi, yanık yaraları, pelvik, biliyer ve kemik enfeksiyonları ile de ilişkilendirilmiştir. Enterokoklar, polimikrobiyal bakteriyemilerde diğer organizmalara göre daha sık bulunurlar. VRE bakteriyemisi, vankomisine duyarlı Enterococcus (VSE) bakteriyemisi ile karşılaştırıldığında 2,5 kat daha fazla mortaliteye sahiptir (2, 146).

2.11.4 Endokardit

Endokardit, en ciddi enterokok enfeksiyonlarından biridir ve tedavisi zordur. Enterokoklar, enfektif endokardit vakalarında *Staphylococcus aureus*'tan sonra en sık görülen etkendir. VR *E. faecalis*'in neden olduğu endokardit, santral venöz kateter, karaciğer transplantasyonu ve mitral kapak enfeksiyonları ile ilişkili iken, VR *E. faecium* endokarditi daha çok triküspit kapak enfeksiyonu ile ilişkilidir. *E. faecalis* endokarditi *E. faecium*'dan daha sık görülmektedir (2,146).

Endokardite yol açan bakteriyeminin ilk kaynağı genellikle ÜGS veya GİS'tir. Enterokoksik endokardit tipik olarak subakut bir seyir gösterir; en sık rastlanan klinik bulgular üfürüm, ateş, kilo kaybı, halsizlik ve yaygın ağrıdır. Protez kapak enterokok endokarditi, doğal olarak daha yüksek risk altında olan yaşlı erişkinlerde bu protezlerin artan kullanımı ile ilişkili olarak artmaktadır (2,146).

2.11.5 Merkezi Sinir Sistemi Enfeksiyonları

VRE kaynaklı merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonları nadir görülür. Genellikle hematolojik maligniteler, solid tümörler, akciğer ve kalp hastalıkları gibi altta yatan ciddi hastalıkları olan yaşlı hastalarda görülürler. VR *E. faecium*, VRE kaynaklı MSS enfeksiyonların en sık rastlanan etkenidir. Klinik bulgular akut ateş artışı, zihinsel durum değişimi ve nadiren koma, şok ve peteşi içerir (146).

2.11.6 Deri Enfeksiyonları

Enterokoklar deride kolonizedirler ve cilt enfeksiyonları ile ilişkilidir. Genellikle polimikrobiyal enfeksiyonların bir parçasıdır ve patojen rolleri sorgulanabilir. Enterokoklar tipik olarak dekubit ve diyabetik ayak ülserlerinden izole edilir ve nadiren osteomyelit, septik artrit ve yumuşak doku abselerine neden olduğu bilinmektedir (146).

2.11.7 Yaygın Olmayan Enfeksiyonlar

Enterokoklara bağlı nadiren görülen enfeksiyonlar hematojen osteomyelit, septik artrit ve pnömonidir. Pnömoni, ventilatör kullanımında bile oldukça nadirdir ve geniş spektrumlu antibiyotik alan ileri derecede zayıflamış veya bağışıklığı baskılanmış hastalarda gösterilmiştir. VRE gibi antibiyotiklere dirençli enterokok izolatlarının bu enfeksiyonlara antibiyotik duyarlı enterokok izolatlarına göre daha fazla veya daha az neden olduğuna dair bir kanıt bulunmamaktadır (2).

2.12 Tedavi

Duyarlı ve dirençli enterokok enfeksiyonlarının tedavisine klinik yaklaşım çok farklıdır. Günümüzde "duyarlı" enterokok enfeksiyonları, ampisilin ve vankomisine direnç, aminoglikozidlere ise yüksek seviyede direnç (HLR) göstermeyen *E. faecalis* enfeksiyonlarıdır. Ampisiline direnç *E. faecalis*'in klinik izolatlarında nadir görülmeye devam etse de, aminoglikozidlere karşı yüksek düzey direnç (HLR) daha yaygındır ve vankomisine direnç artmaktadır. Öte yandan, vankomisin, ampisilin ve HLR aminoglikozid direnci gibi çoklu ilaç direnci (MDR) gösteren enterokok enfeksiyonlarının çoğunda etken *E. faecium*'dur (91).

2.12.1 Ampisilin ve Vankomisin Duyarlı, Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci Olmayan *E. faecalis* Tedavisi

Duyarlı enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde temel antibiyotik β-laktamlardır. β-laktam alerjisine bağlı olarak ampisilinin kullanılamadığı vakalar için ise vankomisindir. β-laktamlar arasında en iyi in vitro aktiviteye sahip olanlar, amino-penisilinler (ampisilin gibi) ve üreidopenisilinler (piperasilin gibi) ve bunu takiben penisilin G ve karbapenemlerdir (imipenem). Ancak β-laktam monoterapisi enterokoklar için çoğunlukla bakterisidal değildir ve endovasküler enfeksiyonlarda kötü sonuçlarla ilişkilendirilmiştir. β-laktam ya da vankomisin gibi hücre duvarına etki eden bir ajan ile birlikte aminoglikozid kullanımının enterokoklara karşı sinerjik bakterisidal etkisi vardır (91).

2.12.2 Ampisilin ve Vankomisin Duyarlı, Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci Olan *E. faecalis* Tedavisi

E. faecalis'in aminoglikozidlere HLR prevalansı gün geçtikçe artmaktadır. Gentamisin ya da streptomisine HLR gelişimi, hücre duvarı yapımını etkileyen bir ajan ve aminoglikozid kombinasyonunun bakterisidal etkisini bozmakta ve infektif

endokardit tadavisinde sorun oluşturmaktadır. Ayrıca aminoglikozid dirençli enterokok enfeksiyonu olan hastalarda ve aminoglikozitlerin toksisite profilleri sebebiyle böbrek fonksiyonları zarar görebilecek hastalarda aminoglikozidlere alternatif tedaviler önemlidir. Bu bağlamda, seftriakson ve sefotaksim gibi bir sefalosporin, ampisilin-amoksisilin gibi bir amino-penisilin kombinasyonunu, ampisilin-imipenem-vankomisin kombinasyonu, ampisilin-ofloksasin kombinasyonu ve daptomisin-ampisilin kombinasyonu başarıyla kullanılmıştır (91).

2.12.3 Çoklu İlaç Direnci Olan *E. faecium* Tedavisi

Çoklu ilaç direnci gösteren *E. faecium* suşlarının neden olduğu hastane enfeksiyonlarının artışı klinik tedavi açısından önemlidir. ABD hastanelerinde izole edilen *E. faecium* suşlarının çoğunun ampisiline dirençli olduğu, MİK değerlerinin 20 sene önceye göre arttığı ve artık MİK <64µg/ml suşlarına nadir rastlandığı bildirilmiştir. Ayrıca ampisiline dirençli *E. faecium* suşlarının tedavisinde kullanılan glikopeptitlere yüksek oranda direnç gelişmiştir ve bu suşların çoğunda da sinerjik bakterisidal terapi elde etme olanaklarını daha da düşürecek olan HLR gentamisin, streptomisin direnci görülmektedir (91).

Şu anda, vankomisine dirençli *E. faecium* enfeksiyonlarının tedavisi için FDA tarafından linezolid ve Q/D olmak üzere iki bileşik onaylanmıştır. Çoğu *E. faecalis* doğal olarak Q/D'e dirençlidir, ancak Q/D *E. faecium*'a karşı güçlü in vitro bakterisidal etkinliğe sahiptir. Ancak Q/D'nin tedavi kesilmelerine yol açan miyalj/artralji gibi bazı önemli yan etkileri olduğu gözardı edilmemelidir. 2008'de yapılan bir çalışmada VRE bakteriyemili hastalarda Q/D monoterapisinin mortalite oranı linezolid monoterapisine göre anlamlı oranda fazla bulunmuştur (50). Bu sebepten Q/D'in, Q/D + ampisilin, Q/D + doksisiklin + rifampin gibi kombine tedavinin bir parçası olarak kullanılması önerilmektedir (2, 91).

VRE tedavisinde FDA onaylı olan diğer antibiyotik, enterokoklara karşı bakteriyostatik aktiviteye sahip sentetik bir oksazolidinon olan linezoliddir. Klinik verilere göre linezolid VRE enfeksiyonlarının tedavisinde makul bir seçenek olarak görülmektedir ancak endovasküler enfeksiyonlarda tedavi oranının nispeten düşük olması rutin olarak kullanımını engelleyebilir (2, 91).

Daptomisin, VR *E. faecium* ve *E. faecalis* de dahil olmak üzere MDR *E. faecium* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bakterisidal etkinliğe sahip bir lipopeptid

antibiyotiktir. Diğer bakterisidal seçeneklerin olmaması durumunda şiddetli VRE enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadırlar. Derin yerleşimli enterokok enfeksiyonlarının daptomisin monoterapisinde direnç gelişimi ve tedavide başarısızlık görülebilmektedir. Bu yüzden daptomisin + yüksek düzey ampisilin + gentamisin, daptomisin + gentamisin + rifampin, daptomisin + tigesiklin gibi kombinasyonlar kullanılabilir (2, 91).

Tigesiklin enterokoklara karşı iyi in vitro etkinliğe sahiptir ve karın içi doku enfeksiyonları tedavisinde etkilidir. Ancak kandaki konsantrasyonu düşük olduğundan kan dolaşımındaki enterokoklara etkisi azdır (2, 91).

Kloramfenikol, VRE nedenli ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilen bir antibiyotiktir, ancak kemik iliği toksisitesi nedeniyle diğer terapilerin veya kombinasyonların başarısız olduğu durumlarda kullanılabilir (26, 91).

Oritavansin vankomisine duyarlı ve dirençli enterokoklara in vitro etkisi olan bir glikopeptitdir. Monoterapi ile dirençli suşların ortaya çıkmasını engellemek için gentamisinle kombinasyonu kullanılabilir (91).

2.12.4 Vankomisine Dirençli Enterokok Tedavisi

Glikopeptitlere direnç gösteren enterokokların sebep olduğu enfeksiyonların tedavisi terapötik seçeneklerin sınırlı olmasından dolayı sorun teşkil etmektedir. Penisiline hassas VRE nedenli enfeksiyonların tedavisinde ampisilin tercih edilebilir. Vankomisin direnci gösteren *E. faecalis* izolatlarının çoğu ampisiline duyarlı kalırken, *E. faecium* izolatlarının çoğu her ikisine de dirençlidir. Sistit gibi basit VRE enfeksiyonlarının tedavisinde ise nitrofurantoin, doksisiklin ve fosfomisin tercih edilebilir. Linezolid ve daptomisin ise penisiline dirençli ciddi VRE enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilir. Q/D ve tigesikilin gibi toksisitesi olan antibiyotiklerle tedavi ise olguya göre değerlendirilmelidir. Ciddi enfeksiyonlarda monoterapi olarak florokinolon kullanılması ise önerilmemektedir. Trimetoprim-sulfametoksazol'ün VRE enfeksiyonlarında kullanımı için de mutlaka hassasiyet durumuna bakılması gerekmektedir. VRE nedenli endokardit olgularında tedavi için bakterisidal etkili antibiyotiklerin kombinasyonu kullanılmalıdır (2).

2.13 Epidemiyolojik Tiplendirme Yöntemleri

Tiplendirme yöntemleri, bakterilerin ve diğer mikroorganizmaların, klinik ve çevresel ortamlarda, tek kaynaktan küresel bir ekosisteme kadar değişen seviyelerde yayılma ve nüfus dinamikleri üzerinde çalışmak için kullanılır. Bu yöntemler çoğunlukla haploid organizmalara kolay ve rahat bir şekilde uygulanmıştır, ancak parazitler, mayalar, mantar ve bitkiler de dahil olmak üzere diploid organizmaların tiplendirme çalışmaları da hızla artmaktadır (200). Aynı türün farklı bakteri izolatlarını ayırt etmek için tiplendirme yöntemleri, enfeksiyon önleme ve kontrolünde temel epidemiyolojik araçlardır. Serotip, biyotip veya antibiogram gibi fenotipe dayalı geleneksel tiplendirme yöntemleri yıllardır kullanılmaktadır. Bununla birlikte, izolatların moleküler düzeyde ilişkisini inceleyen yöntemler bakteriyel tipler ve alt tipler arasında ayrım yapabilmemizi ve sürveyans/salgın verilerinde artışı sağlamıştır. Enterokoklar nozokomiyal enfeksiyonlara yol açtıkları ve sıklıkla çoklu ilaç direnci gösterdikleri için enfeksiyon kontrolü için bunların tip ve subtiplerinin belirlenmesinde ve yayılımlarının izlenmesinde epidemiyolojik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır (164, 200).

2.13.1 Fenotipik Tiplendirme Yöntemleri

Fenotipleme, koloni morfolojisi, renk, koku ve diğer makroskopik özelliklere göre yapılabilir. Ancak çoğu tiplendirme yöntemi metabolitler, ilaçlar, bakteriyel toksinler veya bakteriyofajların varlığında üreme ve yüzey antijenleri gibi özgül moleküllerin ifadesinin nicel ve nitel değerlendirilmesine dayanmaktadır. Tüm yöntemler deneysel koşulların standartlaştırılmasını gerektirir. Çünkü fenotipler genellikle çevresel koşullardaki değişikliklere karşı oldukça hassastır. Kısaca fenotipleme, organizmaların genotiplerinin ifadesinden kaynaklanan karakterler arasındaki benzerliklerine göre gruplandırılması temeline dayanır (200).

2.13.1.1 Biyotipleme

Mikroorganizmanın sahip olduğu enzimler ve çeşitli karbonhidratları fermente edebilme yeteneklerinin saptanmasıyla yapılan modelleme anlamına gelen biyotiplendirme, geleneksel bir mikrobiyal farklılık belirlenmesi yöntemi olarak kabul edilebilir. Genellikle farklı karbonhidrat kaynakları ve indikatör boyaları içeren tüpler kullanılır ve sonuçları değerlendirmek için sayısal analiz yapılır. Bu yöntemleri

basitleştirmek ve hızlandırmak için test kombinasyonları ve test kitleri geliştirilmiştir (41).

2.13.1.2 Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) Yöntemi ile Protein Temelli Tipleme

Enterokokların geleneksel fenotipik tanımlanması zaman aldığından ve sıklıkla kuşkulu olduğundan daha hızlı ve kesin bir tanımlama yapmak amacıyla geliştirilen SDS-PAGE yöntemi, elde edilen hücre protein modellerinin karşılaştırılması ile türler ve alt türler düzeyinde güvenilir sonuç verir. Bu proteinlerin iyi tanımlanmış koşullar altında elektroforezi bakteri suşunun parmak izi olarak düşünülebilen protein profilleri üretir ve protein profilleri ile DNA-DNA homoloji değerleri arasında yüksek bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Bu yöntem bilinmeyen izolatların farklılaştırılması ve sınıflandırma şemalarının değerlendirilmesi için kullanılabilir. Bir çalışmada *E. faecium*'un atipik fenotipteki suşlarının protein profillerinin tipik suşlarınkine benzer olduğu ve diğer enterokok türlerinden ayırt edilebildiği gösterilmiştir. Enterokoklar üzerinde yapılan başka bir çalışma da SDS-PAGE ile RAPD-PCR sonuçlarının benzer olduğu gösterilmiştir (41).

2.13.1.3 Multilokus Enzim Elektroforezi (MLEE)

MLEE, enfeksiyon hastalıkları epidemiyolojisinde suş tipleme temel amaçlı kullanılan protein temelli moleküler bir yöntemdir. Bu yöntemde ilgili her izolattan lizis sonucu elde edilen çoklu enzimler elektroforez işlemine tabi tutulur. Elektroforez, enzimleri elektrik alanda enzimlerin farklı moleküler ağırlıkları ve elektrik yüklerinin belirlediği göç oranlarına göre ayırır ve jel enzim spesifik boyalarla boyanarak jeldeki göçleri izlenir. Enterokoklarla çalışılan MLEE ve PFGE yöntemlerinin tekrarlanabilir ve ayırt edici oldukları gösterilmiş, ancak MLEE ile izolatlar arasındaki ilişkilerin daha kolay tanındığı belirtilmiştir (19, 41).

2.13.1.4 Antibiyogram Temelli Tipleme

Antimikrobiyal duyarlılık testleri ile tiplendirme katı besiyerinde difüzyon ile ya da sıvı besiyerlerinde seri seyreltmeler ile gerçekleştirilebilir ve birçok tür için uygulanabilir. Tiplendirebilme, çalışılan izolatlarda saptanabilir kazanılmış direnç mekanizmalarının çeşitliliği, stabilitesi ve yaygınlığına bağlıdır. Dezenfektan ve antiseptiklere direnç profilleri de tiplendirme amacıyla araştırılabilir. Bazı direnç profilleri plazmit kaynaklıdır ve seçici koşulların kaybolması durumunda ortadan

kalkabilirler. İnhibisyon zonlarının ölçümüyle ortaya çıkan direnç profillerinin küme (cluster) analizleri ile kombinasyonu diğer yöntemlerle bulunan verilere ek olarak kullanışlı tipleme verilerini sağlayabilir. Birçok araştırmacı enterokokların doğal ya da kazanılmış olan antibiyotik direnç profillerini araştırmıştır. *E. casseliflavus*, *E. flavescens* ve *E. gallinarum*'un düşük seviyedeki vankomisin direncinin tür tanımlamadaki kullanılabilirliği örnek olarak gösterilebilir (41, 200).

2.13.1.5 Serotipleme

Serotipleme önemli bir fenotipik yöntemdir ve sıklıkla kullanılmaktadır. Çoğu tipleme yüzey antijenleriyle ilişkili monoklonal veya poliklonal antikorların kullanıldığı sistemlerle yapılmaktadır. Metodun ve reaktiflerin kalite kontrolünün yanısıra hazırlık aşamasının ve test koşullarının standardizasyonu önemlidir. Testin ayrım yeteneği bazen SDS-PAGE gibi diğer yöntemlerle kombine edilerek geliştirilebilir. Lancefield 1933'de, hemolitik dışkı streptokoklarının D antijen grubuna dahil olduğunu bildirmiştir. 1995'de ise Petts, betahemolitik streptokok ve enterokokların gruplandırılması için modifiye nitröz asit ekstraksiyonu lateks aglütinasyon kitini geliştirmiş ve bu metodun güvenilir olduğunu bildirmiştir (41, 200).

2.13.1.6 Kütle Spektrometresi

Kütle spektrometresi (Mass Spectrometry) başlangıçta, kompleks karışımlardaki düşük molekül ağırlıklı moleküllerin tanımlanması için geliştirilmiştir. Günümüzde, karmaşık biyolojik makromoleküllerin ve onların spesifik bozunma ürünleriyle karışımlarının analizi için de kullanılmaktadır. Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS / Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization time-of- flight, Mass Spectrometry) tüm organizmalar için moleküler parmak izi oluşumunu kolaylaştırır. Yöntem biyolojik materyali çok küçük parçalara ayırıp uçuşmasını sağlamak için yoğun lazer ışığı kullanır ve daha sonra uçuşan parçacıkları güçlü bir elektrik alana tabi tutar. Küçük iyonlar yüksek hızda hareket edere ve büyük olanlardan önce bir dedektöre ulaşırlar. Üretilen sinyaller kaydedilir ve bir bakteri hücresinin moleküler içeriği için karakteristik olan karmaşık spektrumlar oluşur. Bu spektrumlar uygun bilgisayar yazılımı kullanılarak karşılaştırıldığında bakteri türleri ayırt edilebilir (200). Bu yöntemin enterokok tanımlaması ve antibiyotik dirençli fenotipler arasında ayrım yapmak için uygulanabilirliği gösterilmiştir (8).

2.13.2 Genotipik Tiplendirme Yöntemleri

1980'lerde bakterilerin genotiplendirilmesi için çeşitli genetik yöntemler geliştirilmiştir. Belirli bir genotipleme yöntemiyle tanımlanan herhangi bir bakteri genetik profili, parmak izi kadar eşsiz olabilmektedir. Mevcut bakteri genotiplendirme yöntemleri DNA bantları oluşturma modeli, DNA dizilemesi ve DNA hibridizasyonu olarak üç kategoriye ayrılabilir. DNA bantlama modeli DNA'nın direk olarak Restriksiyon Endonükleaz (RS) enzimiyle parçalanmasıyla, genomun bilinen ya da bilinmeyen bölgelerinin amplifikasyonuyla ya da enzimle parçalama ve amplifikasyon kombinasyonuyla yapılabilir. DNA dizileme temelli metod belirlenmiş bir dizilimin bilinen bir dizilimle karşılaştırılması ile yapılırken, hibridizasyon temelli metod bilinen bölgelerin hibridizasyon analizinin uygulanması ile ayırt edebilme yeteneğine dayanır (210).

2.13.2.1 DNA Bantları Oluşturma Temelli Yöntemler

DNA bantları oluşturma temelli yöntemler PCR amplifikasyonuyla ya da genomik DNA'nın endonükleaz restriksiyon enzimiyle kesilmesi sonucu ya da amplifikasyon ve kesim kombinasyonuyla oluşan fragment boyutlarına göre sınıflandırma yaparlar (210).

2.13.2.1.1 Restriksiyon Enzim Temelli Yöntemler

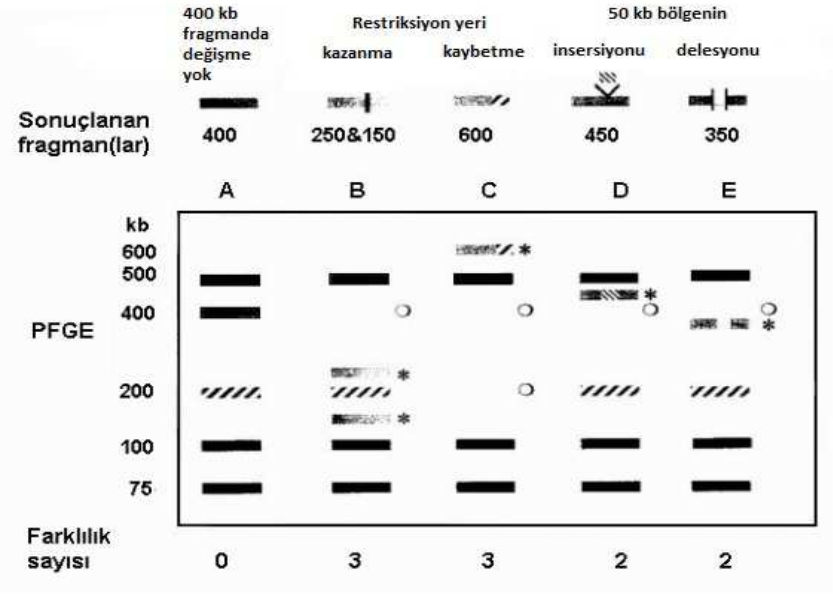
2.13.2.1.1.1 Pulse-Field Jel Elektroforezi (PFGE)

Bu yöntemde besiyerinde üretilen bakteriler düşük erime ısılı agarozla karıştırılıp kalıplara döküldükten sonra deterjan ve enzimler yardımıyla kalıp içindeki bakteriler parçalanır, protein ve karbonhidratları uzaklaştırmak için yıkanır, bozulmamış-kırılmamış kromozomal DNA elde edilir ve restriksiyon enzimi ile kesilir. Kesilmiş DNA parçaları içeren kalıplar elektroforez uygulanacak jeldeki kuyucuklara yerleştirilir. DNA'nın boyutuna bağlı olarak geleneksel sabit elektrik alanında ayrılabilir. Ancak 40-50 kb'den büyük DNA parçaları sabit elektrik akımı altında jel boyunca aynı hareketliliği gösterdiğinden büyük DNA moleküllerini ayırmak için PFGE'de değişik açılarda elektrik alanları uygulaması yapılmaktadır. Elektroforez sonrası jel etidyum bromür ile boyanarak bant profilleri görünür hale getirilmekte, bilgisayar programları ile değerlendirilerek suşlar arası ilişki gösterilmektedir. DNA yoğunluğu, jelde agaroz miktarı, uygulanan voltaj ve jel sıcaklığı gibi çeşitli durumlar deneyi etkileyeceğinden standart protokol kullanımı gerekmektedir (44).

Tenover ve arkadaşları (192), aynı PFGE profiline sahip olan bakterilerin aynı suşa ait olduğunu, tek bir genetik olayla bir ila üç bant arasında farklılık gösteren izolatların 'yakın ilişkili' olduğunu bu farklılığın bir nokta mutasyonu veya bir insersiyon ya da bir delesyon gibi tek bir genetik olayla ilişikili olduğunu, muhtemelen iki bağımsız genetik olayı temsil eden dört ila altı bantla farklılaşan izolatların 'muhtemel ilişkili' olduğunu, üç ya da daha fazla genetik olay sonucu altı veya daha fazla bant farklılığı bulunan izolatların 'ilgisiz' olarak kabul edilmesi gerektiğini önermiştir. Genetik olayların PFGE profilleri üzerine etkisi Tablo 2.3 ve Şekil 2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 2. 3 Genetik olayların PFGE profilleri üzerine etkisi (192)

Yeni bir restriksiyon bölgesinin oluşmasıyla sonuçlanan nokta mutasyon: Yeni profilde, salgın profilinde bulunan bir bant olmayacak ve salgın profilinde olmayan iki yeni ve daha küçük bant olacak; iki küçük bantın boyutlarının toplamı yaklaşık olarak büyük bantın boyutu kadar olacaktır. Bu değişim, üç bantı farklı profil olarak ortaya çıkacaktır. (Şekil 2.3B)
Bir restriksiyon bölgesinin kaybıyla sonuçlanan nokta mutasyon: Yeni profil salgın suşunda olmayan daha büyük bir bant kazanırken iki küçük bant kaybına uğramış olacak. Bu değişim, üç bantı farklı profil olarak ortaya çıkacaktır. (Şekil 2.3C)
Restriksiyon parçası içine restriksiyon bölgesi bulunmayan yeni bir DNA insersiyonu: Yeni profil salgın profiliyle aynı sayıda banda sahip olacak ancak daha büyük yeni bir bant bulunacaktır. Bu değişim, iki bantı farklı profil olarak ortaya çıkacaktır. Şekil 2.3D)
Bir banttan içinde restriksiyon bölgesi bulunmayan parçanın delesyonu: Yeni profil büyük bir parçası eksik, buna karşılık küçük boyutta yeni bir bant sahibi olacaktır. Bu değişim, iki bantı farklı profil olarak ortaya çıkacaktır. (Şekil 2.3E)



Şekil 2. 3 Değişik genetik olayların PFGE profilindeki görüntüsü (192).

A, salgın suşu profili; B, yeni bir restriksiyon bölgesinin eklenmesi; C, yeni bir restriksiyon bölgesinin eksilmesi; D, bir bantın içine restriksiyon bölgesi bulunmayan yeni bir DNA insersiyonu; E, bir banttan DNA delesyonu. *:kazanılan bant; o: kaybolan bant

Pulsed-field jel elektroforezi (PFGE), klinik olarak önemli çeşitli bakterilerin moleküler tipleme yöntemleri arasında 'altın standart' kabul edilmekte, salgınlarda ve hastane kaynaklı VRE enfeksiyonlarının klonal ilişikilerinin tespitinde sıkça kullanılmaktadır (210, 200, 41, 108). Ancak son yıllarda PFGE ile tam genom sekans analizi yöntemini kıyaslayan çalışmalar tam genom sekans analizinin ayrım gücünün PFGE'den daha yüksek olduğunu bildirmiş ve moleküler epidemiyolojik çalışmalarda kullanımını önermişlerdir (42, 83, 101, 107, 112, 168).

2.13.2.1.1.2 Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP)

Restriksiyon enzimi tarafından tanınan DNA, özgül kısa dizili bölgelerden parçalara ayrılır. Ortaya çıkan DNA parçaları daha sonra uzunluk olarak jel elektroforezi ile ayrılır ve Southern blot prosedürü vasıtasıyla bir membrana aktarılır, radyoaktif DNA probları özgül DNA parçalarına bağlanır, görüntülenir ve bilinen bir diziyle karşılaştırılarak tiplendirilir (108, 200, 210).

Bu yöntemin başka bir çeşidi de rRNA problarının kullanıldığı ribozomal gen lokuslarının sayılarını ve kromozomdaki pozisyonlarını gösteren ribotiplemedir ancak ayrım gücü PFGE'den düşüktür (200, 210).

2.13.2.1.1.3Plazmit Profil Tipleme

Bakteriyel ekstrakromozomal genetik element olan plazmitlerin endonükleaz ile parçalanmasından sonra agaroz jel elektroforezi ile görüntülenen profillerin değerlendirilmesi yöntemidir. Birçok bakteri türünün tiplendirilmesi için kullanılmıştır. Enterokokların tiplendirilmesinde de bu yöntem kullanılmış olmakla birlikte (155, 113) fermantasyon sırasında ve diğer süreçlerde plazmitlerin kaybolabileceği veya konjügatif transfer ile yeniden düzenlenebileceğinden plazmit profilleri soy tiplendirmesi için güvenilir bir yöntem olarak değerlendirilmemektedir (200).

2.13.2.1.2 PCR Temelli Yöntemler

2.13.2.1.2.1Polimorfik DNA'nın Rastgele Çoğaltılması (Random Amplification Of Polymorphic DNA-RAPD)

Bilinmeyen genomik bölgelerin tek ve kısa primer kullanılarak rastgele çoğaltılması esasına dayanır. Primer bağlama alanlarının sayısı ve pozisyonları bakteri suşuna özeldir. Çoklu lokasyonda üretilen farklı büyüklükteki amplikonlar, agaroz jelde farklı bantlar halinde gözlenebilir benzerliklerine göre genotiplenebilir. Suş farklılıklarını ayırtedebilme gücü PFGE'den daha düşüktür ancak basit, ucuz, hızlı ve kullanımı kolay olduğundan salgın vakalarında bakteri izolatlarının tiplendirilmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır. RAPD yönteminin temel dezavantajı, çok düşük bağlanma sıcaklıkları kullanılması ve reaktiflerin, protokoller ve makinelerde bulunan ufak farklılıklara duyarlı olması sebebiyle laboratuvar içi tekrarlanabilirliğinin düşük olmasıdır. Klinik örneklerden izole edilen enterokokların farklılıklarının gözlemlenmesi ve tanımlanmaları için kullanılan bir yöntemdir. İyi bir şekilde standartlaştırılmış RAPD ve PFGE protokollerinin bilgisayarlı yöntemlerle karşılaştırılmasıyla uyumlu DNA parmak izi kümeleri gösterilmiştir (164, 210).

2.13.2.1.2.2PCR-RFLP Yöntemi

Bu yöntem, spesifik primerlerle spesifik bir lokusun amplifikasyonundan sonra parçalanması ve fragmanların agaroz jel elektroforezi ile ayrılmasına dayanır. Bu yöntemin RFLP yönteminden farkı, ilgili DNA bölgesinin sınırlandırılmasıdır. Bu yöntem, çeşitli bakterilerin tiplendirilmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır (210).

2.13.2.1.2.3 Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (AFLP- Amplified Fragment Length Polymorphism)

DNA'nın RE enzimleriyle kesilmesi ve oligonükleotid adaptörlerin bağlanması, kesilen bölgelerin PCR yöntemiyle çoğaltılması ve çoğalan bölgenin poliakrilamid jelde analiz edilmesi aşamalarından meydana gelmektedir. AFLP yöntemi, RFLP yöntemine benzemekle birlikte RFLP'ye göre analizi daha kolaydır ve daha az miktarda DNA'ya gereksinim duymaktadır (205).

2.13.2.1.3 PCR Ve Tekrarlayan DNA Bölge Bantları

2.13.2.1.3.1 Tekrarlayan Elementli Polimeraz Zincir Tepkimesi (Repetitive-Element Polymerase Chain Reaction - REP-PCR)

Cins ve türlere göre uzaklıkları değişiklik gösteren, bakteriyel genomda dağılmış olarak bulunan tekrarlayan DNA dizilerini hedef alan primerlerin kullanıldığı amplifikasyon sonucunda değişik uzunluklarda DNA fragmentlerinin PCR ile gösterimine dayalı bir yöntemdir. Tekrarlanan sekanslar 35-40 bp tekrarlayan ekstranel palindromik (REP) sekans, 124-127 bp enterobakteriyal tekrarlayan intergenik konsensüs (ERIC) sekansı ve 154 bp BOX eleman dizileri olmak üzere üç aileye ayrılabilir. Bu fragmentlerin polimorfizmi spesifik DNA fingerprinting (parmak izi) olarak değerlendirilir (164, 210).

2.13.2.1.3.2 Değişken Sayıda Tandem Tekrarlar Tiplemesi (Variable-Number Tandem Repeat (VNTR)

Bakteriyel kromozomlarda bulunan tekrarlayan dizilerin sayısına dayanan bir genotipleme aracıdır. Değişken sayıda tandem tekrarlar (VNTR), bakteriyel genom üzerinde çok sayıda kopyalanan ardışık tekrarlardır. Tekrarların sayısı, tandem tekrarların yanındaki iyi korunmuş bölgelere tamamlayıcı primerler kullanılarak belirlenebilir. Tekrarlanan tandemlerin sayısı suşlar arasında değişiklik gösterebilir ve PCR ürünlerinin karşılaştırılmasıyla suşlar tiplendirilir (210).

2.13.2.2 DNA Dizileme Temelli Yöntemler

2.13.2.2.1 Parsiyel Sekans Analiz

16S rDNA'nın V4 ve V9 bölgelerine yönelik PCR işlemi sonrası yapılan parsiyel dizi analizi, enterokokların tanımlanması ve sınıflandırılmasında kullanılmıştır. VRE'nin tanımlanması için *van* genini hedefleyen multipleks PCR ile kısmi 16S rDNA dizilimi (V4 / V9 ve V6 bölgesi) kombinasyonu kullanılmıştır. Ayrıca izole edilen enterokokların tür tanısı için *ddl*, *cpn60*, *groESL*, *sodA* gibi genlerin de dizi analizi yapılmıştır (41).

2.13.2.2.2 Multilokus Dizi Tiplendirme (Multilocus sequence typing-MLST)

Bakteriye ait 7 temel gen (housekeeping gene) içindeki yaklaşık 450-500 baz çifti büyüklüğündeki parçalar PCR ile çoğaltılır ve otomatik DNA dizileyici ile iki iplikçik yönünden de dizilenir. Bakteri türündeki farklı dizilimler, her bir korunan temel gen için farklı alleller olarak tanımlanır ve her bir izolat için 7 lokustaki alleller, 'allelik profil'i oluşturur. Türlere ait her bir izolat 7 temel gen lokusundaki allellere karşılık gelen 7 tamsayı serisi sayesinde 'sekans tipi' olarak tanımlanır. MLST'de alleller arasındaki nükleotid farklılıklarının sayısı gözardı edilerek, bu farklılıkların tek bir nükleotid alanında mı yoksa birkaç alanda mı meydana geldiği göz önünde bulundurulur ve farklı allel numaraları verilir. Allel dizileri ve sekans tip profillerinin internet üzerinden sorgulanabildiği büyük merkezi veritabanları mevcuttur. MLST'in ana dezavantajı yüksek maliyetidir (41, 200). *E. faecalis* alt türlerinin farklılaştırılması ve salgın izolatlarının tanımlanması için kullanılabilirliği bildirilmiştir (135).

2.13.2.3 DNA Hibridizasyonu

Bu metot hedef DNA ve prob olarak adlandırılan hedef DNA'yı tamamlayan floresanla etiketlenmiş bir DNA fragmanı gerektirir. Hibridizasyon tekniği, bir substrat üzerine dizilmiş yüzlerce veya on binlerce DNA fragmanı veya oligonükletidlere uygulanabilir. Diziler, boyutlarına göre mikroarray ve makroarray olarak sınıflandırılabilir ve sıklıkla mutasyon ve bakteri genotiplendirme çalışmalarının taranmasında kullanılır (210).

2.14 Korunma ve Kontrol Önlemleri

1995'te Centers for Disease Control and Prevention (CDC)'a bağlı "Hospital Infection Control Practices Advisory Committe (HICPAC)" hastane kaynaklı VRE yayılımının kontrol edilebilmesi amacıyla vankomisinin uygun kullanımı, hastane personelinin eğitimi, mikrobiyoloji laboratuvarının etkin kullanımı ve kontrol önlemlerinin uygulanması konularında önerilerde bulunmuştur (76).

2.14.1 Uygun Vankomisin Kullanımı

Vankomisin kullanımının VRE kolonizasyonu ve enfeksiyonu için bir risk faktörü olduğu ve uygunsuz kullanımının *S. aureus* ve *S. epidermidis*'te vankomisin direnci gelişimine neden olabileceği düşünülmektedir. Bu yüzden vankomisin kullanımının uygun olduğu ve olmadığı durumlar belirtilmiştir (76).

2.14.1.1 Vankomisin Kullanımının Uygun Olduğu Durumlar

- Beta laktam antibiyotiklere dirençli Gram pozitif mikroorganizmaların neden olduğu ciddi enfeksiyonlar,
- Beta laktam antibiyotiklere karşı ciddi derecede alerjisi olan kişilerde Gram pozitif mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonlar,
- Antibiyotikle ilişkili kolit (AAC) metronidazol tedavisine yanıt veremediğinde veya AAC ciddi ve potansiyel olarak yaşamı tehdit ediyorsa,
- Yüksek endokardit riski bulunan durumlarda "American Heart Association" önerilerine uygun olarak profilaksi uygulanmasında,
- Kardiyak veya vasküler girişimler, total kalça protezi gibi protez cihaz implantasyonu içeren majör cerrahi girişimlerin yapıldığı merkezlerde metisiline dirençli stafilokok enfeksiyonlarının yüksek olması halinde girişim öncesi profilaksi olarak vankomisin kullanımı uygundur.

2.14.1.2 Vankomisin Kullanımının Uygun Olmadığı Durumlar

- Cerrahi profilakside rutin olarak,
- Febril nötropenik hastalarda ampirik tedavide (MRSA prevalansının yüksek olduğu hastanelerde ve Gram pozitif enfeksiyon şüphesinin yüksek olduğu durumlarda önerilebilir.),

- Diğer kan kültürleri negatifken tek kan kültüründe koagülaz negatif stafilokok üremesinde,
- Kültüründe beta-laktam dirençli mikroorganizma izole edilmemiş hastaların ampirik tedavisine devam edilmesi,
- Periferik veya santral vasküler kateteri olan hastalarda kolonizasyon veya enfeksiyon gelişimini önleme amaçlı profilakside,
- Gastrointestinal sistemin selektif dekontaminasyonu,
- MRSA kolonizasyonunun eradikasyonu,
- Antibiyotik ilişkili kolit olgularının primer tedavisi,
- Düşük doğum ağırlıklı bebeklerde rutin profilaksi,
- Devamlı periton diyalizi veya hemodiyaliz uygulanan hastalarda rutin profilaksi,
- Böbrek yetmezliği olan hastalarda beta-laktam antibiyotiklere duyarlı enfeksiyonların tedavisi,
- Vankomisin içeren solüsyonların topikal olarak uygulanması vankomisin kullanımının uygun olamadığı durumlar olarak bildirilmiştir.

2.14.2 Eğitim Programı

VRE yayılımını önleyici ilkeler konusunda hemşireler, temizlik işçileri, hasta bakıcılar, laboratuvar personeli, konsültan ve asistan doktorlar, eczacılar ve öğrencilere sürekli VRE epidemiyolojisi, kontrol yöntemleri ve kontrolün önemi konularında eğitim verilmeli ve ilkelerin uygulanması sağlanmalıdır (76).

2.14.3 Mikrobiyoloji Laboratuvarının Rolü

VRE yayılımının sınırlandırılabilmesi ve önlenebilmesi için gerekli kontrol önlemleri kolonize veya infekte hastaların en kısa sürede doğru olarak tespit edilmesi ve duyarlılık sonuçlarının bildirilmesiyle başlamaktadır. VRE izole edilen bütün hastanelerde tüm enterokok izolatlarının vankomisin duyarlılığı incelenmelidir. VRE izole edildiğinde önerilen kılavuzlar doğrultusunda duyarlılık testi tekrarlanmalı ve testin sonucu beklenmeden enfeksiyon kontrol komitesine ve hastanın izlendiği servise haber verilmelidir. Kesin sonuç belli oluncaya kadar hasta izole edilir ve izolasyonun devamının gerekliliğine kesin sonuca göre karar verilir (6, 76).

2.14.4 Kontrol Önlemleri

HICPAC tarafından hastadan hastaya VRE geçişini önlemek için alınması gereken izolasyon önlemleri şunlardır:

- VRE ile infekte veya kolonize hastalar (VRE pozitif) tek kişilik odaya veya VRE pozitif başka hastalarla birlikte aynı odaya yerleştirilmeli,
- VRE pozitif hasta odasına girerken eldiven ve önlük giyilmeli, hasta odasından ayrılmadan önce eldiven ve önlük çıkarılıp eller antiseptik ajanlarla yıkanmalı ve eller yıkandıktan sonra hasta odasındaki yüzeylerle temas edilmemeli,
- VRE pozitif hastalarda kullanılan tıbbi aletler diğer hastalar için kullanılmamalı, kullanılması gerektiğinde dezenfekte edilmeli ve odalar arası eşya transferinden kaçınılmalı,
- Yeni saptanan VRE pozitif hasta ile aynı odada izlenen hastalardan gaita veya rektal sürüntü kültürleri alınarak kolonizasyon yönünden araştırılmalı ve VRE kolonizasyonu uzun süre devam edebildiği için, en az bir hafta arayla alınmış üç veya daha fazla negatif kültür sonucu elde edilene kadar araştırmaya devam edilmelidir.

VRE pozitifliğinin endemik olduğu ya da yayılımın önlemlere rağmen devam ettiği hastaneler için HICPAC'in önerileri aşağıdaki gibidir.

- Kontrol çalışmaları yoğun bakım ünitelerinde ve VRE yayılımının en hızlı olduğu servislerde yoğunlaştırılmalıdır. Hasta transferinin VRE yayılımına neden olabileceği unutulmamalıdır.
- Mümkün olduğunca VRE pozitif hasta grubuna bakım veren sağlık personelinin VRE negatif olanlara bakım vermesinden kaçınılmalıdır.
- Sağlık personelinde VRE taşıyıcılığı ve buna bağlı VRE yayılımı bildirilmiştir. Epidemiyolojik olarak VRE yayılımı ile ilişkili olduğu saptanan VRE taşıyıcısı personel, taşıyıcılık durumu sonlanana kadar VRE negatif hastaların bakımından uzaklaştırılmalıdır.
- VRE pozitif hastaların yattıkları odalardaki yüzeylerin ve cihazların temizliğine ve dezenfeksiyonuna özel önem verilmelidir. Bu tür çalışmaların enfeksiyon kontrol ekibi tarafından yönlendirilmesi gereklidir.

VRE kontrolünde gastrointestinal kolonizasyon varlığının belirlenmesi amacıyla sürveyans kültürlerinin alınması önemli bir yer tutmaktadır. VRE pozitifliği tespit edildiğinde aynı odadaki ya da servisteki diğer hastalardan perirektal kültür alınabileceği gibi VRE'nin yaygın olduğu merkezlerden transfer edilen hastalardan da perirektal kültür alınabilir. Ayrıca yayılım yolarını ve rezervuarları saptamak amacıyla seçilmiş suşların uygun aralıklarla moleküler tiplendirme yöntemlerinden biri ile benzerlik yönünden araştırılması önerilmektedir (6, 26, 76).

3 GEREÇ VE YÖNTEM

Etik Kurul onayı alan çalışmamızda,

- 01.04.2013-30.11.2013 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi yoğun bakım üniteleri ve diğer çeşitli servislerinde (Anestezi Reanimasyon, İç Hastalıkları Gastroloji, Çocuk Hematoloji, İç Hastalıkları Hematoloji, Çocuk Hastalıkları Yoğun Bakım, İç Hastalıkları, İç Hastalıkları Acil, Çocuk Hastalıkları Kardiyoloji, Göğüs Hastalıkları, Çocuk Hastalıkları Acil, Otolog Kök Hücre Nakil Servisi, İç Hastalıkları Nefroloji, Çocuk Hastalıkları Cerrahisi, Ortapedi ve Travmatoloji Acil, Çocuk Hastalıkları Gastroloji, Transplantasyon Ünitesi, Kardiyoloji Yoğun Bakım, Genel Cerrahi, Enfeksiyon Hastalıkları, Yeni Doğan Yoğun Bakım Ünitesi, Kalp Damar Cerrahi, Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi, Nöroloji Yoğun Bakım, Kadın Doğum Onkoloji) yatmakta olan hastalardan haftada bir alınan rektal sürüntü (RS) örneklerinde VRE varlığı araştırıldı. Birden fazla rektal sürüntü örneğinde VRE izole edilen hastalardan birer suş çalışmaya alındı ve salgın suşu varlığının araştırılması için bu suşlar arası klonal ilişkinin saptanması amaçlandı. Ayrıca;
- Bu hastaların klinik örneklerinde üreyen VRE suşları,
- Aynı tarihler arasında herhangi bir klinik örnekte etken olarak saptanan VRE şuşları,
- Yukarıdaki suşların uzun süre sonra hala varolup olmadığının tespiti amacı ile 04.12.2014-04.03.2016 tarihleri arasında klinik örneklerde ve bu hastaların RS örneklerinde üreyen VRE suşları,
- Hastanemizin çeşitli servislerinden (İç Hastalıkları Erişkin Yoğun Bakım (Y.B.), Nöroşirurji Y.B., Kadın Doğum Servis, Göğüs Cerrahi Servis, Çocuk Cerrahi Servis, Genel Cerrahi Servis, Yeni Doğan Y.B., Göz Hastalıkları Ameliyathane, Ortopedi ve Travmatoloji Ameliyathane, Kalp Damar Cerrahi Y.B., Acil Cerrahi Y.B., Acil Cerrahi Ameliyathane, Genel Cerrahi Servis, Çocuk Hastalıkları Y.B.) Haziran 2014'te alınmış çevre sürüntü örneklerinde üreyen VRE suşları da çalışmaya dahil edilmiştir.

Rektal sürüntü kültürlerinde üreyen Gram pozitif koklardan katalaz testi, safra eskülin testi ve %6,5'luk NaCl içeren besiyerinde üreme testi yapılarak enterokok tanısı konulan suşların disk difüzyon yöntemiyle vankomisin ve teikoplanin duyarlılığına bakılmıştır. Dirençli görülen suşların identifikasyonu için Vitek-2 otomatize sistemi (bioMerieux, Marcy L'Etoile, Fransa) kullanılmış ve tüm suşların vankomisin ve teikoplanin gradient testleri yapılarak minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri belirlenmiştir. Salgın suşu varlığının araştırılması için tür tanısı ve MİK değerleri belirlenen VRE suşlarının PFGE yöntemi ile klonal ilişkilerinin tespiti amaçlanmıştır.

3.1 Kullanılan Besiyerleri

3.1.1 Safra-Eskülin Agar

30 gr safra-eskülin agar (Oxoid, Hampshire, Birleşik Krallık) 1 lt distile su içinde çözdürüldü, 121 ºC'de 15 dakika otoklavlandı ve 90 mm çapında steril plastik petrilere 4mm kalınlıkta olacak şekilde döküldü.

3.1.2 Koyun Kanlı Agar

40 gr toz besiyeri (Oxoid, Hampshire, Birleşik Krallık) 1 lt distile su içinde çözdürüldü, 121 ºC'de 15 dakika otoklavlandı ve 90 mm çapında steril plastik petrilere 4mm kalınlıkta olacak şekilde döküldü.

3.1.3 Mueller Hinton Agar

38 gr toz besiyeri (Becton Dickinson, New Jersey, ABD) 1 lt distile su içinde çözdürüldü, 121 ºC'de 15 dakika otoklavlandı ve 90 mm çapında steril plastik petrilere 4mm kalınlıkta olacak şekilde döküldü.

3.1.4 Enterococcosel Agar

56 gr toz besiyeri (Becton Dickinson, New Jersey, ABD) 1 lt distile su içinde çözdürüldü, 121 ºC'de 15 dakika otoklavlandı ve 90 mm çapında steril plastik petrilere dökülmeden önce 6 mg (6 µg/ml) vankomisin ilave edilerek ve 4mm kalınlıkta olacak şekilde petrilere döküldü.

3.1.5 Mueller Hinton Buyyon

23 gr toz besiyeri (Sigma, Missouri, ABD) 1 lt distile su içinde çözdürüldü, 121 ºC'de 15 dakika otoklavlandı.

3.1.6 Sodyum Azitli Buyyon

100 ml triptik soy buyyon (Oxoid, Hampshire, Birleşik Krallık) besiyerine 0,015gr sodyum azit (BioMatic, Ontario, Kanada) eklendi.

3.1.7 %6,5 NaCl'lü Sıvı Besiyeri

100 ml distile suya 2,5 gr beyin-kalp infüzyon buyyon (Becton Dickinson, New Jersey, ABD) ve 6gr NaCl (Merck, NewYork, ABD) eklenerek 121ºC'de 15 dakika otoklavlandı.

3.1.8 Saklama Besiyeri

%10 gliserol içeren beyin-kalp infüzyon sıvı besiyeri (Becton Dickinson, New Jersey, ABD) hazırlandı ve 121 ºC'de 15 dakika otoklavlandı.

3.2 Rektal Sürüntü Kültürü ve Değerlendirilmesi

Steril eküvyonlar ile rektal sürüntü örnekleri alınarak Amies transport besiyeri (Fıratmed, İstanbul, Türkiye) içinde Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen örnekler dörde bölünmüş Enterococcosel agara açı ortay yapacak şekilde sürüldükten sonra sodyum azitli sıvı besiyerine daldırıldı. Enterococcosel agara azaltma ekim yapıldıktan sonra sodyum azitli besiyeri ile birlikte 18-24 saat inkübe edildi. Ertesi gün Enterococcosel agarlarında üreme olmayan örneklerin sodyum azitli besiyerlerinde bulanıklık olanlar Enterococcosel agara ekildi ve 18-24 saat inkübasyona bırakıldı. Üreme olamayan petriler 48 saat takip edildi (23, 94, 69).

Kahverengi-siyah koloniler Gram boyama metodu ile boyandıktan sonra, Gram pozitif kok görünümünde olan koloniden %5 koyun kanlı agara pasaj alındı ve katalaz, PYR ve %6,5 luk NaCl'de üreme testleri yapıldı.

3.2.1 Katalaz Testi

Enterokok olduğu düşünülen koloniden lam üzerine konularak üzerine %3 lük hidrojen peroksit (H_2O_2-Merck, NewYork, ABD) damlatıldı. Moleküler O_2 üretimi sonucu hava kabarcığı oluşumu izlendi. Katalaz testi negatif olan suşlar değerlendirildi.

3.2.2 Safra-Eskülin Testi

Şüpheli koloniden safra-eskülin katı besiyerine ekim yapıldı. 35ºC'de 24-48 saatlik inkübasyon sonunda eskülini hidrolize ederek siyah renk oluşturan suşlar pozitif kabul edildi ve değerlendirmeye alındı.

3.2.3 %6,5 NaCl'de Üreme (Tuz Tolerans) Testi

Şüpheli koloniden %6,5 NaCl'lü sıvı besiyerine ekim yapılarak 35ºC'de 24-72 saat inkübe edildi. Bulanıklık oluşturan suşlar pozitif kabul edilerek değerlendirmeye alındı.

3.2.4 PYR Testi

Hazır olarak temin edilen test, üreticinin (O.B.I.S.-PYR, Oxoid, Hampshire, Birleşik Krallık) talimatına uygun sekilde uygulandı. Test kağıdı (ID581) üzerine 1-2 bakteri kolonisi koyuldu, üzerine fosfat tamponlu tuz çözeltisinden (ID100) bir damla damlatıldı. Oda sıcaklığında 5 dakika beklendikten sonra üzerine 1 M hidroklorik asit içerisinde %0,5 dimetilamino-sinnamaldehit içeren ayıraçtan (ID200) 1 damla döküldü. Test kağıdı üzerinde mor renk olusumu pozitif olarak kabul edildi.

Enterococcosel agarda kahverengi-siyah koloni oluşturan, katalaz testi negatif, PYR testi pozitif olan Gram pozitif koklar tür tayinine tabi tutuldu.

3.3 Tür Tayini

Enterococcosel agarda kahverengi-siyah koloni oluşturan katalaz testi negatif, PYR testi pozitif olan gram pozitif koklar, VITEK 2 Compact otomasyon sistemi (bioMerieux, Marcy L'Etoile, Fransa) GP paneli ile tür düzeyinde tanımlandı. Şüpheli suşlardan elde edilen saf kültürlerden alınan koloniler şeffaf plastik deney tüpü (12x75 mm) içinde bulunan 3 ml tamponlanmış steril tuzlu suda (% 0,45-0,50 NaCl, pH 4.5-7.0) McFarland 0,5 bulanıklığında süspanse edildi. Gram pozitif identifikasyon kartılarının (Vitek-2 GP) vakum pipetleri süspansiyona daldırıldıktan sonra kullanma talimatına uygun olarak Vitek-2 sisteminin içine yerleştirildi ve veri girişi yapıldı. 18-24 saat, 37ºC'de inkübasyon sonrası tür tanımlamaları gerçekleştirildi.

3.4 Minimum İnhibitör Konsantrasyon Gradient Testi

Kanlı agar besiyerine pasaj yapılmıs 18 saatlik taze kültürde üreyen kolonilerden steril Mueller Hinton buyyon içinde 0,5 Mc Farland bulanıklıkta süspansiyon hazırlandı. Steril eküvyon yardımıyla Mueller Hinton agar besiyerine yayıldıktan sonra vankomisin ve teikoplanin gradient (E-Test, Oxoid, Hampshire, Birleşik Krallık) şeritleri yerleştirildi. 35 ºC de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası elips şeklindeki inhibisyon alanının şeritle kesiştiği konsantrasyon MİK değeri olarak belirlendi. CLSI önerilerine uygun olarak vankomisin MİK degeri ≤4 mg/L olan suşlar duyarlı, 8-16

mg/L olan suşlar orta derecede duyarlı, ≥32 mg/L olan suşlar dirençli olarak kabul edildi. Teikoplanin MİK değeri ≤8 mg/L olan suşlar duyarlı, 16 mg/L olan suşlar orta derecede duyarlı, ≥32 mg/L olan suşlar dirençli olarak kabul edildi (206).

3.5 Suşların Saklanması

Kültür ve antibiyotik duyarlılık testleri sonucu VRE olduğu tespit edilen suşlar saklama besiyeri içeren ependorf tüplerine alınarak moleküler testler uygulanıncaya kadar -80 ºC'de derin dondurucuda (Sanyo, Osaka, Japonya) saklandı.

3.6 Multipleks PCR Yöntemi İle Direnç Genotipinin Belirlenmesi

VRE olarak saptanmış suşlara *vanA* ve *vanB* direnç genleri için özgül primerler kullanılarak multipleks PCR uygulandı. Pozitif kontrol olarak *vanA* geni için *E. faecium* B7641, *vanB* geni için *E. faecalis* V583 suşları kullanıldı.

3.6.1 Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

3.6.1.1 10X TBE

1M Tris Baz (Sigma, Missouri, ABD)

1M Borik Asit (Sigma, Missouri, ABD)

0,2 M EDTA pH 8 (Sigma, Missouri, ABD)

3.6.1.2 Etidyum Bromür

Etidyum bromür (Sigma, Missouri, ABD) 10 mg/ml olacak şekilde hazırlandı. Manyetik karıştırıcı (Jintan Zhongte Precision Machinery, Jiangsu, Çin) yardımıyla steril distile su içerisinde çözüldü ve oda ısısında ışıktan korunarak saklandı.

3.6.1.3 % 1,8'lik Agaroz Jel

0,9 gr agaroz (Sigma, Missouri, ABD) 50 ml 0,5 X TBE tamponu ile karıştırıldı ve mikrodalga fırın (Vestel, Manisa, Türkiye) içerisinde partikülleri tamamen eriyinceye kadar ısıtıldı. Hazırlanan jel, sıcaklığı 55°C'ye ayarlanmış su banyosunda (GFL, Burgwedel, Almanya) 10-15 dk bekletildikten sonra içerisine 5 µl etidyum bromür ilave edildi. Jel, kenarları kapatılmış kaset üzerine döküldü ve üzerine cepleri olusturacak tarak yerleştirildikten sonra donması beklendi.

3.6.1.4 Primerler

Çalışmamızda primer olarak *vanA* ve *vanB* direnç gen bölgelerine özgü primerler (IDT, Kaliforniya, ABD) kullanıldı (4). Liyofilize haldeki primerler üretici firma önerileri doğrultusunda TE buffer eklenerek 100 µM'lık stok çözeltiler elde edildi.

Tablo 3. 1 Multiplex PCR yönteminde kullanılan primer dizileri

Gen	Pozisyon	Primerler(5'-3')	Ürün(baz çifti)
vanA	130	CAT GAA TAG AAT AAA AGT TGC AAT A	1030
	1136	CCC CTT TAA CGC TAA TAC GAT CAA	
v*anB*	138	GTG ACA AAC CGG AGG CGA GGA	433
	570	CCG CCA TCC TCC TGC AAA AAA	

3.6.2 DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu DNA izolasyon kiti (High Pure PCR Template Preparation Kit-Roche, Mannheim, Almanya) kullanılarak üretici önerileri doğrultusunda yapıldı.

- Bir gecelik saf kültürde üreyen bakteriler 200 µl PBS içeren 1,5 ml mikrosantrifüj tüpünde 4 Mc Farland bulanıklığında süspanse edildi.
- 3000 g'de 5 dakika santrifüj (IEC, Massachusetts, ABD) edildikten sonra üst sıvı atılarak çökeltiye 5 µl lizozim eklendi ve 37°C'de 15 dk inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda 200 µl bağlama tamponu (binding buffer) ve 40 µl proteinaz K eklenip 10 dk 70°C'de inkübe edildi.
- İnkübasyon'dan sonra 100 µl izopropanol eklenerek karıştırıldı.
- Boş bir toplayıcı tüpünün üstüne filtreli tüp konularak karışımın tümü filtreli tüpe aktarıldı ve 1 dk 8000 g'de santrifüjde çevrildi.
- Santrifüjden sonra alttaki toplama tüpü atılıp yenisi konularak üstteki filtreli kısma 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı solüsyon (inhibitör removel buffer) eklendi ve 8000 g'de 1 dk santrifüj edildi.

- Santrifüjden sonra toplama tüpü tekrar yenilendi, filtreli tüpe 500 µl yıkama tamponu (washing buffer) eklendi ve 8000 g'de 1 dk santrifüj edildi. Bu işlem iki defa tekrarlandı.
- Toplama tüpü tekrar yenilenerek üstteki filtreli tüpe 200 µl 70°C'de önceden ısıtılmış elüsyon tampon çözeltisi (elution buffer) konularak son kez 8000 g'de 1 dk santrifüj edildi.
- Santrifüjden sonra ependorf tüplerde biriken sıvı, amplifikasyonda hedef olarak kullanılacak DNA'dır. Kısa süre içerisinde kullanılmak üzere +2°C-+8°C arasında buzdolabında (Vestel, Manisa, Türkiye) saklandı.

3.6.3 Amplifikasyon ve Elektroforez

Amplifikasyon için Maxima Hot Start Green PCR Master Mix (2X)(TermoFisher Scientific, Massachusetts, ABD) ticari hazır amplifikasyon karışımı kullanıldı.

Her 50 µl reaksiyon için eklenecek komponentler oda sıcaklığına getirildi.

Master Mix 25µl

VanA İleri primer 1 µl

VanA Geri primer 1 µl

VanB İleri primer 1 µl

VanB Geri primer 1 µl

DNA 10 µl

11 µl nükleazsız su ile 50µl'ye tamamlandı. Nazikçe vortekslendi ve termal çevrim (Techne, Cambridge, Birleşik Krallık) başlatıldı.

Amplifikasyon programı 94°C'de 5 dak., 94°C'de 30 sn., 58°C'de 30 sn., 72°C'de 30 sn. toplam 30 siklus; 72°C'de 10 dak. olarak uygulandı. Amplifikasyon ürünleri, etidyum bromürlü %1,8'lik agaroz jelde (Sigma, Missouri, ABD) 1 saat yürütüldü ve UV ışık altında görültüleyici (Kodak, NewYork, ABD) ile DNA moleküler ağırlık standardı (Φ174 Hae III-NewEngland BioLabs, Massachusetts, ABD) ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.7 Pulse Field Jel Elektroforez Yöntemi İle Klonal İlişkinin Saptanması

Murray ve arkadaşlarının (131) kullandığı protokolün modifikasyonu ile oluşturulan protokol kullanılmıştır.

3.7.1 Kullanılan Çözeltiler Ve Hazırlanışları

Tüm çözeltiler DNAz-RNAz içermeyen ultra saf su ile hazırlanmıştır.

3.7.1.1 PIV

Tris 0,01M (pH8) (Sigma, Missouri, ABD)

NaCl 1M (Merck, NewYork, ABD)

3.7.1.2 %1,5'lik Düşük Erime Sıcaklıklı Agaroz (Low Melting Agaroz-LMA)

0,15 gr LMA (BioRad, Kaliforniya, ABD)10 ml distile su içinde eritildi. 1,5 ml'lik ependorf tüplerine dagıtıldı. Kullanılıncaya kadar oda ısısında bekletildi.

3.7.1.3 EC-Lizis

Tris 0,006M (pH7,4)

NaCl 1M

EDTA 0,1M (pH7,5) (Sigma, Missouri, ABD)

Sodyum dezoksikolat %2 (Sigma, Missouri, ABD)

Sodyum lauril sarkozin %0,5 (Sigma, Missouri, ABD)

Lizozim 2mg/ml (taze eklenir) (Sigma, Missouri, ABD)

RNAz 100µg/ml (taze eklenir) (Sigma, Missouri, ABD)

Lizostafin 100µg/ml (taze eklenir) (Sigma, Missouri, ABD)

3.7.1.4 ESP

KCl 100mM (Sigma, Missouri, ABD)

Tris 40 mM (pH8)

$MgCl_2$ 5 mM (Sigma, Missouri, ABD)

SDS %1 (taze eklenir) (Sigma, Missouri, ABD)

Proteinaz K 500µg/ml (taze eklenir) (Sigma, Missouri, ABD)

3.7.1.5 TE Buffer

Tris 10mM

EDTA 1mM

3.7.1.6 SmaI Tamponu

Tris 0,006M

KCl 0,02M

$MgCl_2$ 0,006M

3.7.2 İzolatların Hazırlanması

- Tür düzeyinde tanımlaması yapılmış ve -80°C'de saklanmış bakterilerden kanlı agar besiyerine tek koloni ekimi yapıldı.
- 37°C'de bir gece inkübasyondan sonra kültürün saflığı kontrol edildi.
- Saf kültür halinde üreyen koloniler plastik öze ile toplanarak, 3 ml BHI sıvı besiyerine ekildi ve 37°C'de 150rpm'de bir gece inkübasyona bırakıldı.
- Üremeli BHI sıvı besiyerinin bir mililitresi 5000rpm'de 1 dk santrifüj edildi.
- Pellete 4 McFarland olacak şekilde PIV solüsyonu eklenip pipetaj yapıldı (90).

3.7.3 İzolatların Agaroza Gömülmesi

- Her suş için bir agoroz kalıbı işaretlenip buz kabına oturtuldu.
- Elde edilen standart bakteri süspansiyonunun 0,3ml'si 50ºC'de sıvı hale getirilmiş %1,5 düşük erime sıcaklıklı agaroz (BioRad, Kaliforniya, ABD) ile 1:1 oranında süspanse edildi ve birkaç defa pipetaj yapılarak hücrelerin agaroz içinde homojen dağılması sağlandı.
- Bekletilmeden, bakteri-agaroz karışımından 100 µl hava kabarcığı olmayacak şekilde agaroz kalıbına (10mm x 5mm x 1,5mm, BioRad, Kaliforniya, ABD) konuldu.
- Kalıplar, agaroz katılaşıncaya kadar 4°C'de 20 dakika bekletildi.

3.7.4 Agaroz İçindeki Hücrelerin Parçalanması

- Bloklar 1ml EC-lizis solüsyonu içeren 1,5ml'lik konik tüpler içerisine konulup 37°C'de çalkalayıcılı ben-maride bir gece inkübasyona bırakıldı.

- İnkübasyon sonunda EC-lizis aspire edilip 1ml ESP solüsyonu konularak 50°C'de çalkalayıcılı su banyosunda (GFL, Burgwedel, Almanya) bir gece inkübasyona bırakıldı.

3.7.5 Agaroz Kalıpların Yıkanması

- Lizis aşamasından sonra agaroz kalıbının katılaşması için tüpler 4°C'de en az 15 dakika bekletildi ve agar kalıba zarar vermeden EC-lizis solüsyonu aspire edildi.
- Daha sonra agaroz kalıpları 4 ml TE tamponuyla altı defa olmak üzere, 30°C'de 30'ar dakika yıkandı ve içinde saflaştırılmış DNA bulunan agaroz, restriksiyon enzimi (RE) ile kesime hazır hale getirildi.

3.7.6 Agaroz Kalıplar İçerisindeki DNA'nın RE İle Kesimi

- DNA içeren agaroz kalıbı bir lam üzerine alınarak bir bistüri yardımıyla 1/3 oranında kesildi. Restriksiyon enzimi olarak SmaI (Thermo Scientific, Illinois, USA) kullanıldı.
- Parçalardan biri, 100 µl 1x SmaI tamponu içine konularak çalkalamalı su banyosunda 30°C'de benmaride 30 dakika bekletilirken diğer parçalar sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere TE tamponu içinde 4°C'de saklamaya alındı.
- Her agaroz kalıbı için 10 µl 10x SmaI tamponu, 2 µl SmaI enzimi (10 U/µl), 87,5 µl steril ultra saf su olacak şekilde karışım hazırlandı. Her agaroz kalıp kendi karışımı içine konularak 30°C'de su banyosunda bir gece bekletildi.
- Süre sonunda karışım aspire edilerek yerine 200 µl TE tamponu eklenip 37°C'de 1 saat tutuldu.

3.7.7 Elektroforez Jelinin Hazırlanması, Kalıpların Jele Yüklenmesi Ve Elektroforez

- 100 ml 0,5x TBE içinde %1 agaroz (Pulsed-field certified agarose, BioRad, Kaliforniya, ABD) hazırlandı. 1 g pulsed-field certified agarose balona konularak üzerine 100 ml 0,5xTBE tamponu eklendi ve yavaşça karıştırılarak agarın dağılması sağlandı. Balon, mikrodalga fırında tampon kaynamasına izin vermeyecek sürede tutuldu, çıkarılarak hafifçe karıştırıldı ve tekrar 10-15 saniye mikrodalga fırında tutularak agarozun iyice çözünmesi sağlandı ve 45-50°C'lik su banyosunda beklemeye bırakıldı.

- Agaroz dökülecek kaset hazırlandı. Su terazisi ile zeminin düzgünlüğü kontrol edildi.
- RE ile kesilmiş olan DNA içeren agaroz kalıplarının her biri, 15'li dişli tarağın dişlerinin uç kısmına ve tarağın uç çizgisine tam paralel olacak şekilde yerleştirildi. Her çalışmada tarağın 1., 7. ve 15. dişlerine Lambda PFG ladder (NewEngland BioLabs, Massachusetts, ABD) marker olarak eklendi. Diğer dişlerin üzerilerine örnekler sırayla yerleştirildi. Agaroz plakların etrafındaki sıvının fazlası alındıktan sonra üst ve alt kısımlarına erimiş düşük erime ısılı agarozdan pipet yardımıyla eklenerek plakların dişlere yapışması sağlandı.
- Tarak agaroz dökülecek kaset içine yerleştirildi.
- Su banyosundan çıkarılmış ve sıcaklığı yaklaşık 45-50°C olan agaroz hava kabarcığı oluşturmayacak şekilde kaset içerisine döküldü.
- Oda sıcaklığında 30 dakika katılaşmaya bırakıldıktan sonra tarak dikkatlice çıkarıldı.
- Agaroz kasetinin çerçeveleri çıkarıldı ve tabla üzerindeki agaroz, içerisinde 2000 mililitre 0,5xTBE tamponu bulunan ve yüklenmeden 2 saat önce çalıştırılarak TBE tamponunun 14°C'ye soğutulduğu CHEF-DR III drive module (BioRad, Kaliforniya, ABD) cihazına konuldu.
- Elektroforez 6V, başlangıç zamanı 3,5 saniye ve fragmanların ayrılması için bitiş zamanı 23,5 saniye olacak şekilde 19 saat olarak ayarlandı.
- Elektroforez sonunda jel cihazdan alınarak 30 dakika boyunca etidyum bromür (1µl/ml) eklenmiş distile su içinde boyandı ve jel görüntüleme sistemi (Kodak, NewYork, ABD) ile bantlar UV altında incelendi.

PFGE ile elde edilen bant sayı ve ilişkileri BioNumerics6.6 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem. Belçika) jel analiz programı kullanılarak; küme analizi Dice benzerlik katsayısı ve UPGMA (Unweighted Pair Group Method Average) ilişki kuralı parametreleriyle değerlendirildi, kökenlere ait filogenetik dendogram oluşturuldu ve PFGE klonlarını tiplendirmek için önce %65 benzerlikte makrorestriksiyon ile tipler, %90 benzerlikte mikrorestriksiyon ile de alttipler belirlendi.

4 BULGULAR

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi yoğun bakım üniteleri ve servislerinde yatmakta olan hastalardan 01.04.2013-30.11.2013 tarihleri arasında haftada bir olarak alınan 2531 rektal sürüntü örneğinin 530'unda VRE saptandı. VRE ile kolonize olan ve sürveyans kültürlerinden birden fazla VRE suşu izole edilen hastalardan birer suş olmak üzere 85 suş, bu hastaların dördünün klinik örneklerinden izole edilen dört VRE suşu ve aynı dönemde herhangi bir klinik örnekte patojen olarak saptanan beş VRE suşu daha çalışmaya dahil edilerek toplamda 94 suş çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışma sırasında farklı tarihlerde (Aralık 2014-Mart 2016) klinik örneklerde saptanan 20 VRE suşu ve bu hastalardan beşinin rektal sürüntü kültüründe izole edilen VRE suşları da eklenerek 25 suş daha çalışmaya dahil edilmiştir. Ayrıca Haziran 2014'te hastanemizin çeşitli servislerinden (İç Hastalıkları Erişkin Yoğun Bakım, Nöroşirurji Y.B., Kadın Doğum servis, Göğüs Cerrahi servis, Çocuk Cerrahi servis, Genel Cerrahi servis, Yeni Doğan Y.B., Göz Hastalıkları ameliyathane, Ortopedi ve Travmatoloji Ameliyathane, Kalp Damar Cerrahi Y.B., Acil Cerrahi Y.B., Acil Cerrahi Ameliyathane, Genel Cerrahi servis, Çocuk Hastalıkları Y.B.) çevre kontrolü için alınmış yüzey sürüntü örneklerinde iki farklı servisten (İç Hastalıkları Erişkin Yoğun Bakım (beş; hemşire masası, klavye, üç farklı hasta yatağı), Ortopedi ve Travmatoloji Ameliyathane (bir; monitör) üreyen altı VRE suşu da çalışmaya dahil edilerek toplamda 125 VRE suşu ile çalışılmıştır.

01.04.2013-30.11.2013 tarihleri arasında toplanan 94 VRE suşunun 85'i rektal sürüntü, altısı idrar, ikisi hemokültür ve biri biyopsi örneğidir. 94 VRE suşunun toplandığı 90 hastanın yaş-cinsiyet dağılımı Tablo4.1'de, VRE üremesi olan tüm hastaların merkezlere göre dağılımı Tablo4.2'de gösterilmiştir.

Tüm suşlar *vanA* direnç genine sahip *E. faecium* olarak tanımlanmış, vankomisine ve ampisiline dirençli, linezolide ise duyarlı oldukları saptanmıştır. Gradient testi ile altı suş teikoplanine orta duyarlı, bir suş duyarlı, 118 suş dirençli, ancak VITEK AST ile hepsi teikoplanin dirençli bulunmuştur. Şekil 4.1'de vankomisin-teikoplanin gradient testi, Şekil 4.2'de ise vanA-vanB multiplex PCR agaroz jel örneği gösterilmiştir.

PFGE klonlarını tiplendirmek için önce %65 benzerlikte makrorestriksiyon ile tipler, %90 benzerlikte mikrorestriksiyon ile de alttipler belirlendi. %65 benzerlikte altı tip varlığı (A-F) ve bu tiplerden en büyük olanının 37 alttipte 108 suşu barındıran A tipi (anatip) olduğu, A tipinin en büyük alttipinin 22 suş içeren A7, 12 suş içeren A18 ve dokuz suş içeren A20 oldukları belirlenmiştir. E tipi altı alttipte dokuz suş içerirken, D tipi iki alttipte üç suş, F tipi iki alttipte iki suş, C tipi iki alttipte iki suş ve B tipi bir suş içermektedir. Şekil 4.3'te PFGE agaroz jel örneği, Şekil 4.4'te ise PFGE sonucu oluşturulan dendogram gösterilmiştir.

Tablo 4. 1 Yaş gruplarına ve cinsiyete göre hasta dağılımı

	Cinsiyet		
Yaş	Erkek	Kadın	Toplam
0	2	0	2
1-18	15	4	19
19-45	14	15	29
46-50	7	7	14
>60	12	14	26
Toplam	50	40	90

Tablo 4. 2 VRE üremesi olan hastaların merkezlere göre dağılımı (n:110)

Hematoloji	27	Ç.H.A.	3	K.İ.T.	2	Ç.Kardiyoloji	1	Plastik C.	1
Travma A.	12	Ç.Cerrahi	3	O.K.H.N.	2	Göğüs	1	Trans	1
A.R.	10	G.Cerrahi	3	K.D.Onkoloji	2	İ.H.	1	Göğüs C.	1
Ç.Hematoloji	8	Gastroloji	3	Ç. Nefroloji P.	2	K.Y.B.	1	Kalp Damar C.Y.B.	1
İ.H.A.	7	Y.D.Y.B.	3	Nefroloji	2	Nöroşürirji	1	Onkoloji	1
Ç.Y.B.	6	Kalp D. Cerrahi	2	Ç.Gastroloji	1	Ortopedi	1	Üroloji P.	1

Hematoloji: İç hastalıkları Hematoloji, Travma A.: Ortopedi ve Travmatoloji Acil, A.R.: Anestezi Reanimasyon, Ç.Hematoloji: Çocuk Hastalıkları Hematoloji, İ.H.A. İç Hastalıkları Acil, Ç.H.A.: Çocuk Hastalıkları Acil, Ç.Y.B.: Çocuk Hastalıkları Yoğun Bakım, Ç.Cerrahi: Çocuk Hastalıkları Cerrahi, G.Cerrahi: Genel Cerrahi, Gastroloji: İç Hastalıkları Gastroloji, Y.D.Y.B.:Yeni Doğan Yoğun Bakım, Kalp D. Cerrahi: Kalp Damar Cerrahi, K.İ.T.:Kemik İliği Transplantasyon, O.K.H.N: Otolog Kök Hücre Nakil, , K.D.Onkoloji: Kadın Doğum Onkoloji, Ç. Nefroloji P.: Çocuk Hastalıkları Nefroloji Poliklinik, Nefroloji: İç Hastalıkları Nefroloji, Ç.Gastroloji: Çocuk Hastalıkları Gastroloji, Ç.Kardiyoloji: Çocuk Hastalıkları Kardiyoloji, Göğüs: Göğüs Hastalıkları, İ.H.: İç Hastalıkları, K.Y.B.: Kardiyoloji Yoğun Bakım, Nöroşirürji: Beyin-Sinir Cerrahisi, Ortopedi: Ortopedi ve Travmatoloji, Plastik C.: Plastik Cerrahi, Trans: Transplantasyon Ünitesi, Göğüs C.: Göğüs Cerrahisi, Kalp Damar C.Y.B.: Kalp Damar Cerrahisi Yoğun Bakım, Üroloji P.: Üroloji Poliklinik

Çeşitli servislerde yatan 85 hastanın 50'sinin ilk gönderilen rektal sürüntü örneklerinde, 35'inin ise ilk rektal sürüntü örnekleri negatifken yedi gün ve üzeri yatışları sırasında gönderilen diğer rektal sürüntü örneklerinde pozitiflik saptanmıştır. 01.04.2013-30.11.2013 tarihleri arası VRE pozitifliği saptanan örneklere ait bilgi tablosu Tablo4.3'te, Aralık 2014-Mart 2016 tarihleri arasında toplanan VRE suşlarına ait bilgi tablosu Tablo4.4'te, VRE suşlarının vankomisin direnç fenotipi, vankomisin

direnç geni, çeşitli antibiyotiklerin E-test ve minimum inhibitör konsantrasyon değerleri ve klonal tipleri Tablo4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4. 3 01.04.2013 – 30.11.2013 tarihleri arası VRE pozitifliği saptanan örneklere ait bilgi tablosu

No	HK	Y	C	ÖT	YYİS	PÖSS	SYT	İRSGT	İRSPT	PKÖST	İPÖKYS(Gün)
1	**a1**	68	E	Biyopsi	Gastroloji	Gastroloji	12.03.2013	26.08.2013	26.08.2013	21.08.2013	163
2	**a1**	68	E	RS	Gastroloji	Gastroloji	12.03.2013	26.08.2013	26.08.2013		168
3	a2	4	E	RS	Ç.Y.B.	Ç.Y.B.	09.09.2013	09.09.2013	04.11.2013		57
4	a3	53	E	RS	Travma A.	Travma A.	21.10.2013	22.10.2013	22.10.2013		2
5	a4	1	K	RS	Ç.Y.B.	Ç.Y.B.	02.10.2013	07.10.2013	21.10.2013		20
6	a5	55	E	RS	Gastroloji	Gastroloji	07.08.2013	26.08.2013	26.08.2013		20
7	a6	1	E	RS	Ç.Y.B.	Ç.Y.B.	13.08.2013	19.08.2013	19.08.2013		7
8	a7	54	E	RS	Hematoloji	Hematoloji	22.04.2013	22.04.2013	20.05.2013		29
9	a8	41	E	RS	Enfeksiyon	A.R.	13.08.2013	27.08.2013	27.08.2013		15
10	a9	22	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	30.07.2013	30.07.2013	12.08.2013		14
11	a10	70	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	27.07.2013	05.08.2013	05.08.2013		10
12	a11	67	E	İdrar	İ.H.A.	İ.H.A.	04.08.2013	yok	yok	21.08.2013	18
13	a12	73	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	15.07.2013	15.07.2013	19.08.2013		36
14	a13	6	E	RS	Ç.Hematoloji	Ç.Hematoloji	22.07.2013	19.08.2013	19.08.2013		29
15	a14	7	K	İdrar	Ç.H.	Ç.H.A.	01.08.2013	yok	yok	11.08.2013	11
16	a15	30	E	RS	Hematoloji	Hematoloji	02.09.2013	10.09.2013	23.09.2013		22
17	a16	4	E	RS	Ç.Gastroloji	Ç.Gastroloji	19.10.2013	22.10.2013	04.11.2013		17
18	**a17**	1	E	RS	Y.D.Y.B.	Kalp D. Cerrahi	01.06.2013	03.06.2013	11.11.2013	01.11.2013	164
19	a18	39	K	RS	G.Cerrahi	G.Cerrahi	10.09.2013	10.09.2013	18.09.2013		9
20	a19	1	E	RS	Kalp D. Cerrahi	Kalp D. Cerrahi	16.11.2013	21.11.2013	21.11.2013		6
21	a20	1	K	İdrar	Ç.Cerrahi	Ç.Cerrahi	13.07.2013	02.12.2013	yok	10.11.2013	121
22	a21	1	E	RS	Ç.Y.B.	Ç.Y.B.	09.07.2013	22.07.2013	22.07.2013		14
23	a22	23	E	RS	Hematoloji	Hematoloji	04.03.2013	04.03.2013	20.08.2013		170
24	a23	13	E	RS	Ç.Hematoloji	Ç.Hematoloji	01.07.2013	22.07.2013	22.07.2013		22
25	a24	52	E	RS	Travma A.	Travma A.	17.07.2013	17.07.2013	17.07.2013		/0/
26	a25	37	E	RS	İ.H.A.	A.R.	30.05.2013	23.07.2013	23.07.2013		55
27	a26	21	E	RS	Nöroşürirji	Nöroşürirji	25.08.2013	26.09.2013	26.11.2013		94
28	**a27**	0	E	HK	Ç.Cerrahi	Ç.Cerrahi	20.05.2013	28.06.2013	04.11.2013	06.11.2013	171
29	a28	40	E	RS	Travma A.	Travma A.	09.11.2013	12.11.2013	12.11.2013		4
30	a29	72	K	İdrar	K.D.Onkoloji	K.D.Onkoloji	19.07.2013	yok	yok	28.07.2013	10
31	a30	71	E	RS	Hematoloji	Hematoloji	12.06.2013	15.07.2013	23.07.2013		42
32	a31	62	E	RS	Hematoloji	Hematoloji	08.10.2013	21.10.2013	21.10.2013		14
33	a32	51	K	RS	Travma A.	Travma A.	18.11.2013	26.11.2013	26.11.2013		9
34	a33	40	E	RS	K.İ.T.	K.İ.T.	14.05.2013	14.05.2013	22.07.2013		70
35	a34	78	K	RS	Travma A.	G.Cerrahi	07.05.2013	09.07.2013	09.07.2013		64
36	a35	24	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	27.05.2013	27.05.2013	15.07.2013		50
37	a36	27	E	RS	Travma A.	Travma A.	31.07.2013	13.08.2013	13.08.2013		14
38	a37	25	E	RS	İ.H.A.	İ.H.A.	13.11.2013	26.11.2013	26.11.2013		14
39	a38	82	E	RS	Travma A.	Travma A.	07.11.2013	12.11.2013	26.11.2013		15
40	a39	69	E	RS	Hematoloji	Hematoloji	17.09.2013	23.09.2013	21.10.2013		37
41	a40	78	K	RS	Nöroloji Y.B.	Travma A.	04.11.2013	19.11.2013	19.11.2013		8
42	a41	78	K	RS	Ortopedi	Ortopedi	12.11.2013	26.11.2013	26.11.2013		14
43	a42	29	K	RS	K.İ.T.	K.İ.T.	26.11.2013	27.11.2013	27.11.2013		2
44	a43	45	K	RS	A.R.	A.R.	19.10.2013	22.10.2013	22.10.2013		4
45	**a27**	0	E	RS	Ç.Cerrahi	Ç.Cerrahi	20.05.2013	24.06.2013	04.11.2013		169
46	a44	42	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	19.09.2013	23.09.2013	30.10.2013		42
47	**a17**	1	E	İdrar	Y.D.Y.B.	Kalp D. Cerrahi	01.06.2013	03.06.2013	11.11.2013	01.11.2013	154
48	a45	47	E	RS	Hematoloji	Hematoloji	13.06.2013	17.06.2013	12.08.2013		61
49	a46	54	K	RS	Enfeksiyon H.	Hematoloji	23.08.2013	11.11.2013	11.11.2013		81
50	a47	73	E	RS	A.R.	Travma A.	27.10.2013	06.11.2013	06.11.2013		11
51	a48	59	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	17.07.2013	17.07.2013	17.07.2013		/0/
52	a49	14	E	RS	Ç.Hematoloji	Ç.Hematoloji	25.02.2013	04.03.2013	16.07.2013		142
53	a50	67	K	RS	İ.H.A.	Hematoloji	23.04.2013	23.07.2013	23.07.2013		92
54	a51	36	K	RS	İ.H.A.	İ.H.A.	02.07.2013	03.07.2013	03.07.2013		2
55	a52	88	E	RS	İ.H.A.	İ.H.A.	03.07.2013	03.07.2013	03.07.2013		2
56	a53	48	K	RS	İ.H.A.	Hematoloji	24.03.2013	09.04.2013	09.04.2013		18
57	a54	23	K	RS	G.Cerrahi	G.Cerrahi	02.05.2013	27.05.2013	27.05.2013		26

No	HK	Y	C	ÖT	YYİS	PÖSS	SYT	İRSGT	İRSPT	PKÖST	İPÖKYS(Gün)
58	a55	26	E	RS	K.Y.B.	K.Y.B.	20.06.2013	25.06.2013	25.06.2013		6
59	a56	61	E	RS	Travma A.	Travma A.	09.04.2013	09.04.2013	09.04.2013		/0/
60	a57	85	E	RS	İ.H.A.	Travma A.	29.03.2013	02.04.2013	02.04.2013		5
61	a58	81	K	RS	Travma A.	Travma A.	27.03.2013	02.04.2013	30.04.2013		29
62	a59	56	K	RS	İ.H.A.	Hematoloji	03.04.2013	16.04.2013	16.04.2013		14
63	a60	34	K	RS	Trans.	Trans.	29.04.2013	06.05.2013	06.05.2013		8
64	a61	65	K	RS	O.K.H.N.	O.K.H.N.	26.02.2013	11.03.2013	11.03.2013		13
65	**a62**	3	K	RS	Ç.Hematoloji	Ç.Hematoloji	15.04.2013	22.04.2013	22.04.2013		7
66	a63	30	K	RS	İ.H.A.	Hematoloji	12.03.2013	26.03.2013	16.04.2013		35
67	a64	58	E	RS	Travma A.	Travma A.	28.05.2013	28.05.2013	11.06.2013		15
68	a65	95	K	RS	A.R.	A.R.	22.05.2013	22.05.2013	12.06.2013		22
69	a66	5	E	RS	Ç.Cerrahi	Ç.Cerrahi	13.06.2013	24.06.2013	24.06.2013		12
70	a67	22	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	22.05.2013	27.05.2013	27.05.2013		6
71	a68	14	E	RS	Ç.Hematoloji	Ç.Hematoloji	25.02.2013	25.02.2013	10.06.2013		106
72	a69	2	E	İdrar	Onkoloji					23.05.2013	
73	a70	4	E	RS	Ç.H.A.	Ç.Hematoloji	03.05.2013	10.06.2013	10.06.2013		39
74	a71	73	K	RS	Nefroloji	A.R.	07.06.2013	25.06.2013	25.06.2013		19
75	a72	44	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	26.04.2013	30.04.2013	13.05.2013		18
76	a73	55	K	RS	O.K.H.N.	O.K.H.N.	28.03.2013	10.06.2013	10.06.2013		75
77	a74	8	E	RS	Ç.H.A.	Ç.Hematoloji	22.05.2013	10.06.2013	10.06.2013		20
78	a75	29	E	RS	İ.H.A.	İ.H.A.	04.06.2013	10.06.2013	10.06.2013		7
79	a76	25	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	14.05.2013	20.05.2013	20.05.2013		7
80	a77	34	E	RS	Hematoloji	Hematoloji	09.05.2013	13.05.2013	20.05.2013		12
81	**a62**	3	K	HK	Ç.Hematoloji	Ç.Hematoloji	15.04.2013	22.04.2013	22.04.2013	13.05.2013	29
82	a78	39	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	17.01.2013	17.01.2013	20.05.2013		124
83	a79	9	E	RS	Ç.Kardiyoloji	Ç.Kardiyoloji	22.05.2013	27.05.2013	27.05.2013		6
84	a80	70	E	RS	Göğüs	Göğüs	28.05.2013	28.05.2013	28.05.2013		/0/
85	a81	73	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	20.05.2013	20.05.2013	27.05.2013		8
86	a82	82	E	RS	A.R.	A.R.	12.06.2013	12.06.2013	25.06.2013		19
87	a83	81	K	RS	A.R.	A.R.	01.04.2013	01.04.2013	08.05.2013		38
88	a84	42	E	RS	A.R.	A.R.	10.04.2013	16.04.2013	16.04.2013		7
89	a85	49	E	RS	A.R.	A.R.	12.03.2013	20.03.2013	02.04.2013		22
90	a86	65	K	RS	Hematoloji	Hematoloji	30.04.2013	30.04.2013	30.04.2013		/0/
91	a87	39	E	RS	Hematoloji	Hematoloji	22.04.2013	22.04.2013	13.05.2013		22
92	a88	31	K	RS	İ.H.A.	Hematoloji	26.04.2013	30.04.2013	30.04.2013		5
93	a89	53	K	RS	İ.H.	İ.H.	24.04.2013	08.05.2013	08.05.2013		15
94	a90	17	E	RS	Ç.Hematoloji	Ç.Hematoloji	05.04.2013	22.04.2013	20.05.2013		46

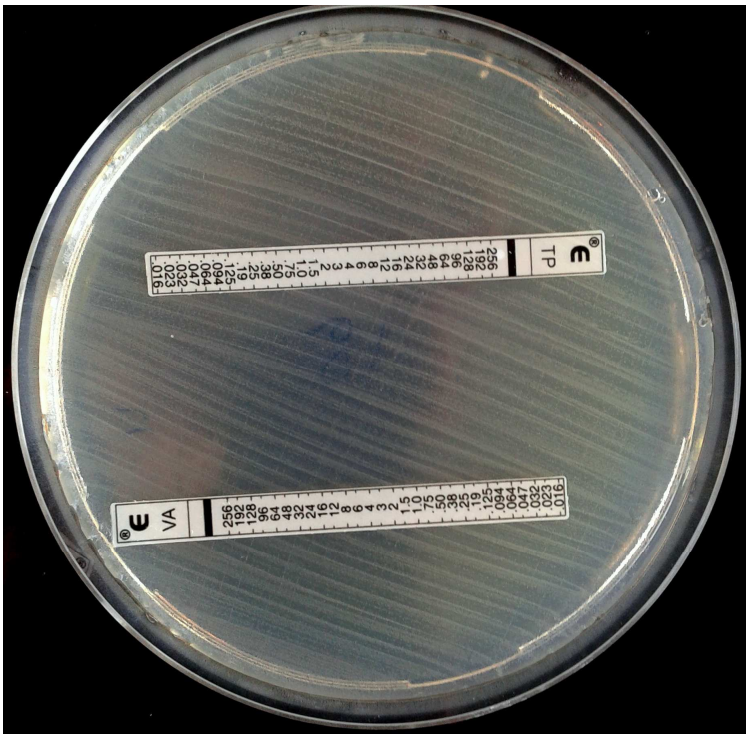
No: Suş no, HK: Hasta kodu, Y: Yaş, C: Cinsiyet, ÖT: Örnek türü, YYİS: Yatiş Yapılan İlk Servis, PÖSS: Pozitif Örneğin Saptandığı Servis, SYT: Servise Yatış Tarihi, İRSGT: İlk Rektal Sürüntü Gönderim Tarihi, İRSPT: İlk Rektal Sürüntü Pozitifliğinin Saptandığı Tarih, PKÖST: Pozitif Klinik Örneğin Saptandığı Tarih, İPÖKYS: İlk Pozitif Örneğe Kadar Yatış Süresi

Hematoloji: İç hastalıkları Hematoloji, Travma A.: Ortopedi ve Travmatoloji Acil, A.R.: Anestezi Reanimasyon, Ç.Hematoloji: Çocuk Hastalıkları Hematoloji, İ.H.A. İç Hastalıkları Acil, Ç.H.A.: Çocuk Hastalıkları Acil, Ç.H.:Çocuk Hastalıkları Ç.Y.B.: Çocuk Hastalıkları Yoğun Bakım, Ç.Cerrahi: Çocuk Hastalıkları Cerrahi, G.Cerrahi: Genel Cerrahi, Gastroloji: İç Hastalıkları Gastroloji, Y.D.Y.B.:Yeni Doğan Yoğun Bakım, Kalp D. Cerrahi: Kalp Damar Cerrahi, K.İ.T.:Kemik İliği Transplantasyon, O.K.H.N: Otolog Kök Hücre Nakil, , K.D.Onkoloji: Kadın Doğum Onkoloji, Ç. Nefroloji P.: Çocuk Hastalıkları Nefroloji Poliklinik, Nefroloji: İç Hastalıkları Nefroloji, Ç.Gastroloji: Çocuk Hastalıkları Gastroloji, Ç.Kardiyoloji: Çocuk Hastalıkları Kardiyoloji, Gögüs: Göğüs Hastalıkları, İ.H.: İç Hastalıkları, K.Y.B.: Kardiyoloji Yoğun Bakım, Nöroşirürji: Beyin-Sinir Cerrahisi, Ortopedi: Ortopedi ve Travmatoloji, Plastik C.: Plastik Cerrahi, Trans: Transplantasyon Ünitesi, Göğüs C.: Göğüs Cerrahisi, Kalp Damar C.Y.B.: Kalp Damar Cerrahisi Yoğun Bakım, Üroloji P.: Üroloji Poliklinik

Tablo 4. 4 Aralık 2014-Mart 2016 tarihleri arasında tarihleri arası VRE pozitifliği saptanan örneklere ait bilgi tablosu

No	HK	Y	C	ÖT	YYİS	PÖSS	SYT	İRSGT	İRSPT	PKÖST	İPÖKYS (Gün)
KL1	b1	0	E	İdrar	Y.D.Y.B.	Y.D.Y.B.	20.12.2014			27.12.2014	8
KL2	b2	73	E	İdrar		Üroloji P.				06.02.2015	
KL3	b3	8	K	İdrar	Ç.Nefroloji	Ç.H.A	26.01.2015			09.02.2015	14
KL4	b4	0	K	Abse	Y.D.Y.B.	Y.D.Y.B.	20.01.2015			13.02.2015	24
KL5	b5	6	E	Bos	Ç.Y.B	Ç.H.A	05.01.2015			23.02.2015	50
KL6	b6	1	E	İdrar		Ç. Nefroloji P.				03.03.2015	
KL7	**b7**	79	K	İdrar	Nefroloji	Nefroloji	06.03.2015			11.03.2015	6
KL8	**b8**	0	E	İdrar	Y.D.Y.B.	Y.D.Y.B.	20.02.2015	23.02.2015		15.03.2015	34
KL9	b9	15	K	İdrar	Plastik C.	Plastik C.	03.02.2015			21.03.2015	47
KL10	**b7**	79	K	RS	Nefroloji	Nefroloji	06.03.2015		23.03.2015		18
KL11	**b8**	0	E	RS	Y.D.Y.B.	Y.D.Y.B.	20.02.2015	23.02.2015	23.03.2015		24
KL12	b10	1	E	Hemokültür	Y.D.Y.B.	Y.D.Y.B.	18.05.2015			15.06.2015	29
KL13	b11	69	K	İdrar	İ.H.A.	İ.H.A.	03.06.2015			16.06.2015	14
KL14	b12	25	E	Abse	Gastroloj	Gastroloji	21.07.2015			24.07.2015	4
KL15	b13	4	E	İdrar	Ç. Nefroloji	Ç. Nefroloji P.	21.05.2015			14.06.2015	25
KL16	**b14**	14	K	İdrar	Ç.Y.B.	Ç.Y.B.	24.10.2015	26.10.2015		05.11.2015	13
KL17	**b14**	14	K	RS	Ç.Y.B.	Ç.Y.B.	24.10.2016	26.10.2015	11.11.2015		19
KL18	b15	55	K	Abse	K. D. Onkoloji	K. D. Onkoloji	16.01.2016			17.01.2016	19
KL19	b16	54	K	İdrar	A.R.	İ.H.A.	07.01.2016			19.01.2016	13
KL20	**b17**	5	E	Hemokültür	Ç.Y.B.	Ç.Y.B.	27.12.2015	18.01.2016		04.02.2016	40
KL21	b18	68	E	B. Aspirasyon	Göğüs C.	Göğüs C.	13.01.2016			01.02.2016	20
KL22	**b17**	5	E	RS	Ç.Y.B.	Ç.Y.B.	27.12.2015	18.01.2016	10.02.2016		46
KL23	b19	64	E	Plevra	Nefroloji	Nefroloji	12.02.2016			12.02.2016	
KL24	**b20**	61	E	HK	A.R.	A.R.	15.02.2016	23.02.2016		07.03.2016	21
KL25	**b20**	61	E	RS	A.R.	A.R.	15.02.2016	23.02.2016		08.03.2016	22

No: Suş no, HK: Hasta kodu, Y: Yaş, C: Cinsiyet, ÖT: Örnek türü, YYİS: Yatiş Yapılan İlk Servis, PÖSS: Pozitif Örneğin Saptandığı Servis, SYT: Servise Yatış Tarihi, İRSGT: İlk Rektal Süruntü Gönderim Tarihi, İRSPT: İlk Rektal Süruntü Pozitifliğinin Saptandığı Tarih, PKÖST: Pozitif Klinik Örneğin Saptandığı Tarih, İPÖKYS: İlk Pozitif Örneğe Kadar Yatış Süresi
Y.D.Y.B.:Yeni Doğan Yoğun Bakım, Üroloji P.: Üroloji Poliklinik, Ç.Nefroloji: Çocuk Hastalıkları Nefroloji, Ç.H.A.: Çocuk Hastalıkları Acil, Ç.Nefroloji P.: Çocuk Hastalıkları Nefroloji Poliklinik, , Plastik C.: Plastik Cerrahi, İ.H.A. İç Hastalıkları Acil, Gastroloji: İç Hastalıkları Gastroloji, Ç.Y.B.: Çocuk Hastalıkları Yoğun Bakım, K.D.Onkoloji: Kadın Doğum Onkoloji, A.R.: Anestezi Reanimasyon, , Göğüs C.: Göğüs Cerrahisi.



Şekil4. 1 Vankomisin-Teikoplanin gradient testi

Tablo 4. 5 VRE suşlarının Vankomisin direnç fenotipi, Vankomisin direnç geni, Vankomisin-Teikoplanin E-test değerleri, çeşitli antibiyotiklere direnç durumu ve klonal tipleri.

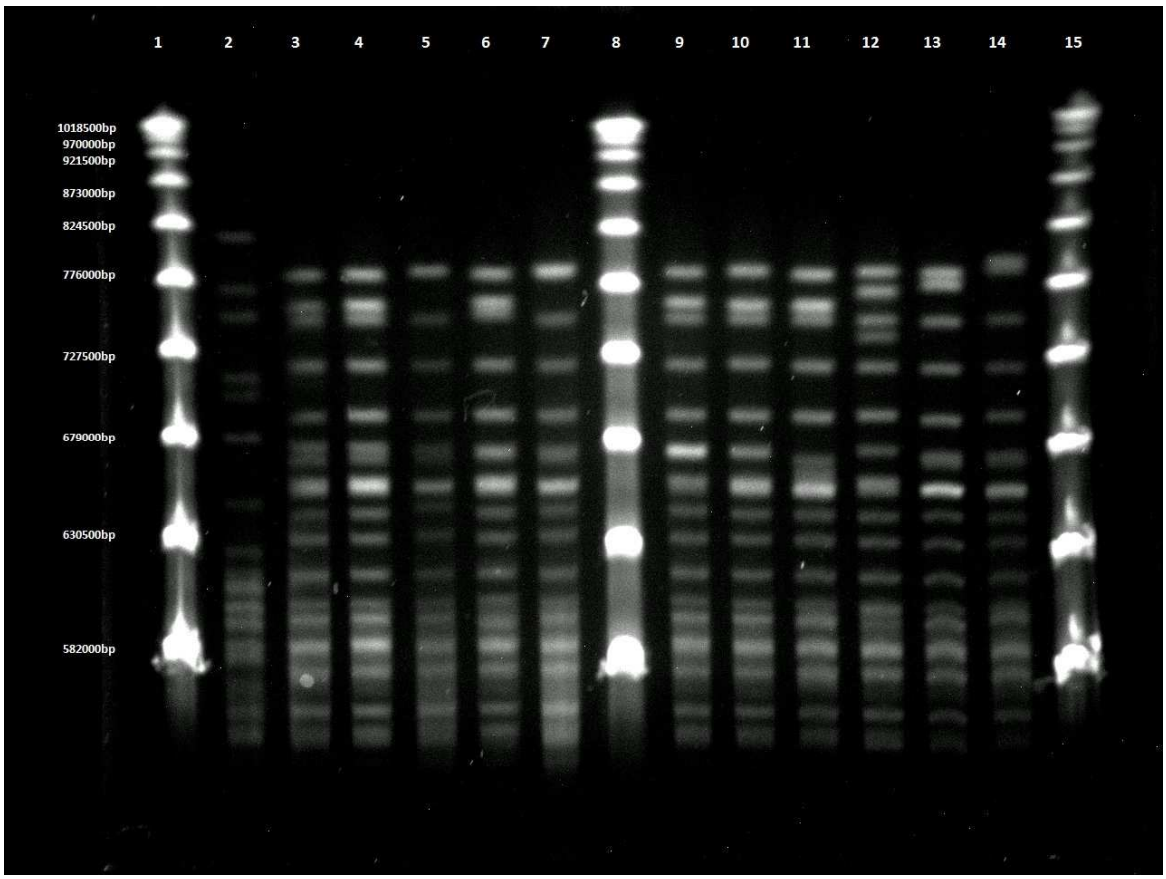
No	HK	MO	E-Test		Direnç							Klonal tip
			V	T	F	G	V	T	YDG	L	A	
1	**a1**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A19
2	**a1**	E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	R	S	R	A19
3	a2	E.fcm	>256	64	A	vanA	R	R	R	S	R	C2
4	a3	E.fcm	>256	16	A	vanA	R	R	R	S	R	A19
5	a4	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A18
6	a5	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A18
7	a6	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A37
8	a7	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A19
9	a8	E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	R	S	R	A18
10	a9	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A15
11	a10	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
12	a11	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
13	a12	E.fcm	>256	128	A	vanA	R	R	R	S	R	A15
14	a13	E.fcm	>256	96	A	vanA	R	R	S	S	R	E1
15	a14	E.fcm	>256	48	A	vanA	R	R	R	S	R	A35
16	a15	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A16
17	a16	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A29
18	**a17**	E.fcm	>256	48	A	vanA	R	R	R	S	R	A17
19	a18	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A16
20	a19	E.fcm	>256	64	A	vanA	R	R	S	S	R	A22
21	a20	E.fcm	>256	24	A	vanA	R	R	R	S	R	A2
22	a21	E.fcm	>256	48	A	vanA	R	R	R	S	R	A30
23	a22	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	S	S	R	A3
24	a23	E.fcm	>256	32	A	vanA	R	R	S	S	R	A8
25	a24	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A18
26	a25	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A19
27	a26	E.fcm	>256	32	A	vanA	R	R	R	S	R	A13
28	**a27**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A1
29	a28	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A8
30	a29	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A5
31	a30	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A1
32	a31	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
33	a32	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
34	a33	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A8
35	a34	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A3
36	a35	E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	R	S	R	A4
37	a36	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A11
38	a37	E.fcm	>256	96	A	vanA	R	R	R	S	R	A25
39	a38	E.fcm	>256	128	A	vanA	R	R	R	S	R	A25
40	a39	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A20
41	a40	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A24
42	a41	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A20
43	a42	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A20
44	a43	E.fcm	>256	96	A	vanA	R	R	R	S	R	A24
45	**a27**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	E5
46	a44	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	E4
47	**a17**	E.fcm	>256	32	A	vanA	R	R	R	S	R	E4
48	a45	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	F1
49	a46	E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
50	a47	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
51	a48	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A9
52	a49	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
53	a50	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A9
54	a51	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	S	S	R	A7
55	a52	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
56	a53	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
57	a54	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A10
58	a55	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A9

No	HK	MO	E-Test		Direnç							Klonal tip
			V	T	F	G	V	T	YDG	L	A	
59	a56	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A9
60	a57	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	E6
61	a58	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
62	a59	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
63	a60	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A10
64	a61	E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	R	S	R	E3
65	**a62**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
66	a63	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A33
67	a64	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	S	S	R	A20
68	a65	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A20
69	a66	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A20
70	a67	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A20
71	a68	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A20
72	a69	E.fcm	>256	**8**		vanA	R	R	R	S	R	A26
73	a70	E.fcm	>256	256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
74	a71	E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	R	S	R	A9
75	a72	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A32
76	a73	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A13
77	a74	E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	R	S	R	F2
78	a75	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A31
79	a76	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A16
80	a77	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A15
81	**a62**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A18
82	a78	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A18
83	a79	E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	S	S	R	B1
84	a80	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	S	S	R	E2
85	a81	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
86	a82	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A27
87	a83	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
88	a84	E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	S	S	R	A7
89	a85	E.fcm	>256	64	A	vanA	R	R	R	S	R	A34
90	a86	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A14
91	a87	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A32
92	a88	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
93	a89	E.fcm	>256	24	A	vanA	R	R	S	S	R	A9
94	a90	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
KL1	b1	E.fcm	>256	32	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
KL2	b2	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
KL3	b3	E.fcm	>256	24	A	vanA	R	R	R	S	R	A6
KL4	b4	E.fcm	>256	64	A	vanA	R	R	R	S	R	A12
KL5	b5	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A36
KL6	b6	E.fcm	>256	32	A	vanA	R	R	R	S	R	A23
KL7	**b7**	E.fcm	>256	96	A	vanA	R	R	R	S	R	A22
KL8	**b8**	E.fcm	>256	48	A	vanA	R	R	R	S	R	A22
KL9	b9	E.fcm	>256	24	A	vanA	R	R	R	S	R	A20
KL10	**b7**	E.fcm	>256	48	A	vanA	R	R	R	S	R	A22
KL11	**b8**	E.fcm	>256	96	A	vanA	R	R	R	S	R	E1
KL12	b10	E.fcm	>256	96	A	vanA	R	R	S	S	R	A21
KL13	b11	E.fcm	>256	48	A	vanA	R	R	R	S	R	D1
KL14	b12	E.fcm	>256	24	A	vanA	R	R	S	S	R	A22
KL15	b13	E.fcm	>256	128	A	vanA	R	R	R	S	R	A22
KL16	**b14**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	D1
KL17	**b14**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A23
KL18	b15	E.fcm	>256	32	A	vanA	R	R	R	S	R	C1
KL19	b16	E.fcm	>256	128	A	vanA	R	R	R	S	R	A26
KL20	**b17**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A28
KL21	b18	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A34
KL22	**b17**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	D2
KL23	b19	E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	R	S	R	A16
KL24	**b20**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	E2
KL25	**b20**	E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A7
Ç1		E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A18
Ç2		E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A18

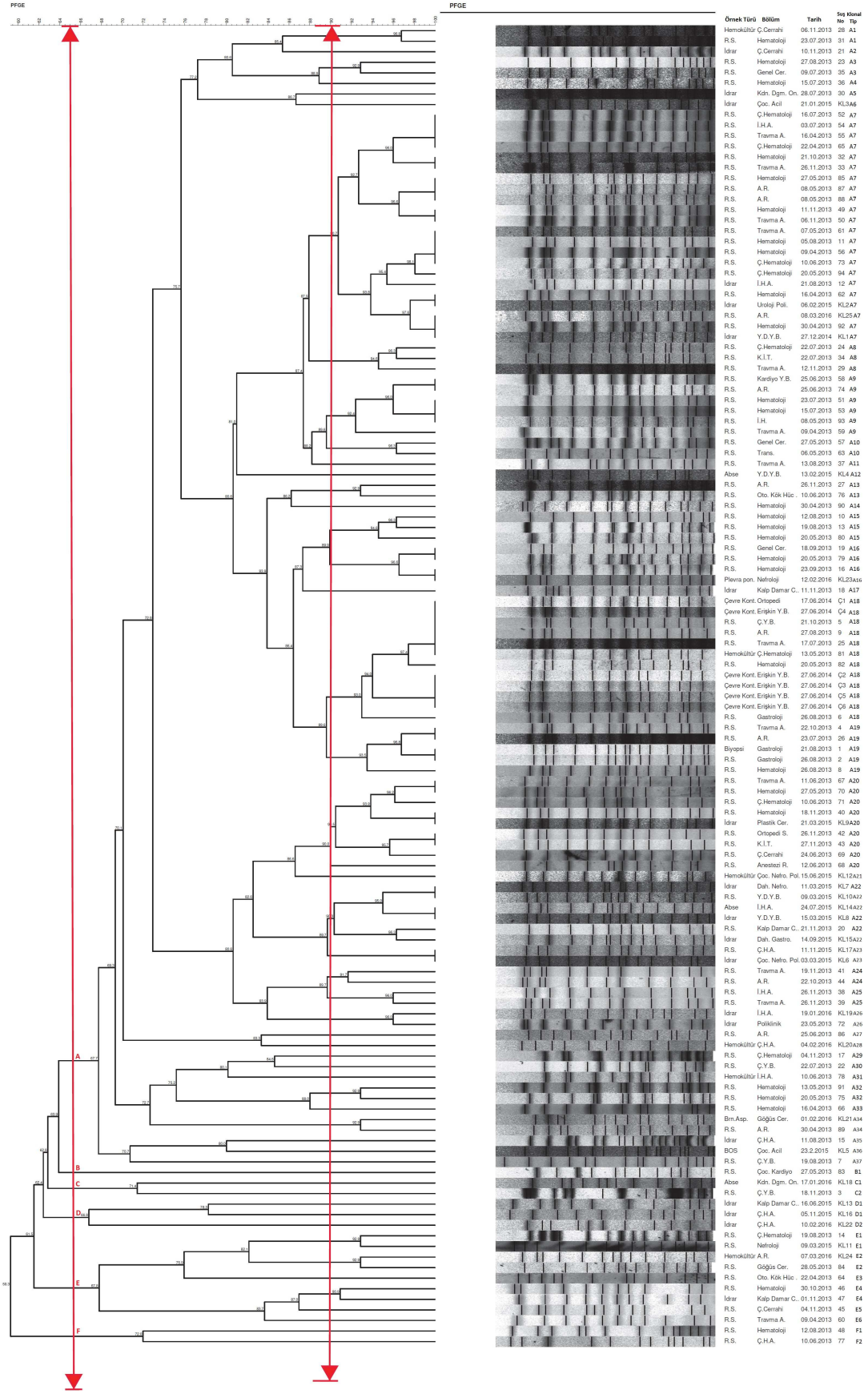
No	HK	MO	E-Test		Direnç							Klonal tip
			V	T	F	G	V	T	YDG	L	A	
Ç3		E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A18
Ç4		E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A18
Ç5		E.fcm	>256	192	A	vanA	R	R	R	S	R	A18
Ç6		E.fcm	>256	>256	A	vanA	R	R	R	S	R	A18

No: Suş no, HK: Hasta kodu, E.fcm: *E. faecium*, V: Vankomisin, T: Teikoplanin, L: Linezolid, A: Ampsilin, YDG: Yüksek Düzey Gentamisin F: Fenotip, G: Genotip, MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon, R: Dirençli, S: Hassas

Şekil 4. 2 vanA-vanB genleri multiplex PCR agaroz jel örneği



Şekil 4. 3 PFGE agaroz jel örneği



Örnek Türü	Bölüm	Tarih	Suş No	Klonal Tip
Hemokültür	Ç.Cerrahi	06.11.2013	28	A1
R.S.	Hematoloji	23.07.2013	31	A1
İdrar	Ç.Cerrahi	10.11.2013	21	A2
R.S.	Hematoloji	27.08.2013	23	A3
R.S.	Genel Cer.	09.07.2013	35	A3
R.S.	Hematoloji	15.07.2013	36	A4
İdrar	Kdn. Dgm. Ün.	28.07.2013	30	A5
İdrar	Çoc. Acil	21.01.2015	KL3	A6
R.S.	Ç.Hematoloji	16.07.2013	52	A7
R.S.	İ.H.A.	03.07.2013	54	A7
R.S.	Travma A.	16.04.2013	55	A7
R.S.	Ç.Hematoloji	22.04.2013	65	A7
R.S.	Hematoloji	21.10.2013	32	A7
R.S.	Travma A.	26.11.2013	33	A7
R.S.	Hematoloji	27.05.2013	85	A7
R.S.	A.R.	08.05.2013	87	A7
R.S.	A.R.	08.05.2013	88	A7
R.S.	Hematoloji	11.11.2013	49	A7
R.S.	Travma A.	06.11.2013	50	A7
R.S.	Travma A.	07.05.2013	61	A7
R.S.	Hematoloji	05.08.2013	11	A7
R.S.	Hematoloji	09.04.2013	56	A7
R.S.	Ç.Hematoloji	10.06.2013	73	A7
R.S.	Ç.Hematoloji	20.05.2013	94	A7
İdrar	İ.H.A.	21.08.2013	12	A7
R.S.	Hematoloji	16.04.2013	62	A7
İdrar	Uroloji Poli.	06.02.2015	KL2	A7
R.S.	A.R.	08.03.2016	KL25	A7
R.S.	Hematoloji	30.04.2013	92	A7
İdrar	Y.D.Y.B.	27.12.2014	KL1	A7
R.S.	Ç.Hematoloji	22.07.2013	24	A8
R.S.	K.İ.T.	22.07.2013	34	A8
R.S.	Travma A.	12.11.2013	29	A8
R.S.	Kardiyo Y.B.	25.06.2013	58	A9
R.S.	A.R.	25.06.2013	74	A9
R.S.	Hematoloji	23.07.2013	51	A9
R.S.	Hematoloji	15.07.2013	53	A9
R.S.	İ.H.	08.05.2013	93	A9
R.S.	Travma A.	09.04.2013	59	A9
R.S.	Genel Cer.	27.05.2013	57	A10
R.S.	Trans.	06.05.2013	63	A10
R.S.	Travma A.	13.08.2013	37	A11
Abse	Y.D.Y.B.	13.02.2015	KL4	A12
R.S.	A.R.	26.11.2013	27	A13
R.S.	Oto. Kök Hüc.	10.06.2013	76	A13
R.S.	Hematoloji	30.04.2013	90	A14
R.S.	Hematoloji	12.08.2013	10	A15
R.S.	Hematoloji	19.08.2013	13	A15
R.S.	Hematoloji	20.05.2013	80	A15
R.S.	Genel Cer.	18.09.2013	19	A16
R.S.	Hematoloji	20.05.2013	79	A16
R.S.	Hematoloji	23.09.2013	16	A16
Plevra pon.	Nefroloji	12.02.2016	KL23	A16
İdrar	Kalp Damar C.	11.11.2013	18	A17
Çevre Kont.	Ortopedi	17.06.2014	Ç1	A18
Çevre Kont.	Erişkin Y.B.	27.06.2014	Ç4	A18
R.S.	Ç.Y.B.	21.10.2013	5	A18
R.S.	A.R.	27.08.2013	9	A18
R.S.	Travma A.	17.07.2013	25	A18
Hemokültür	Ç.Hematoloji	13.05.2013	81	A18
R.S.	Hematoloji	20.05.2013	82	A18
Çevre Kont.	Erişkin Y.B.	27.06.2014	Ç2	A18
Çevre Kont.	Erişkin Y.B.	27.06.2014	Ç3	A18
Çevre Kont.	Erişkin Y.B.	27.06.2014	Ç5	A18
Çevre Kont.	Erişkin Y.B.	27.06.2014	Ç6	A18
R.S.	Gastroloji	26.08.2013	6	A18
R.S.	Travma A.	22.10.2013	4	A19
R.S.	A.R.	23.07.2013	26	A19
Biyopsi	Gastroloji	21.08.2013	1	A19
R.S.	Gastroloji	26.08.2013	2	A19
R.S.	Hematoloji	26.08.2013	8	A19
R.S.	Travma A.	11.06.2013	67	A20
R.S.	Hematoloji	27.05.2013	70	A20
R.S.	Ç.Hematoloji	10.06.2013	71	A20
R.S.	Hematoloji	18.11.2013	40	A20
İdrar	Plastik Cer.	21.03.2015	KL9	A20
R.S.	Ortopedi S.	26.11.2013	42	A20
R.S.	K.İ.T.	27.11.2013	43	A20
R.S.	Ç.Cerrahi	24.06.2013	69	A20
R.S.	Anestezi R.	12.06.2013	68	A20
Hemokültür	Çoc. Nefro. Pol.	15.06.2015	KL12	A21
İdrar	Dah. Nefro.	11.03.2015	KL7	A22
R.S.	Y.D.Y.B.	09.03.2015	KL10	A22
Abse	İ.H.A.	24.07.2015	KL14	A22
İdrar	Y.D.Y.B.	15.03.2015	KL8	A22
R.S.	Kalp Damar C.	21.11.2013	20	A22
İdrar	Dah. Gastro.	14.09.2015	KL15	A22
R.S.	Ç.H.A.	11.11.2015	KL17	A23
İdrar	Çoc. Nefro. Pol.	03.03.2015	KL6	A23
R.S.	Travma A.	19.11.2013	41	A24
R.S.	A.R.	22.10.2013	44	A24
R.S.	İ.H.A.	26.11.2013	38	A25
R.S.	Travma A.	26.11.2013	39	A25
İdrar	İ.H.A.	19.01.2016	KL19	A26
İdrar	Poliklinik	23.05.2013	72	A26
R.S.	A.R.	25.06.2013	86	A27
Hemokültür	Ç.H.A.	04.02.2016	KL20	A28
R.S.	Ç.Hematoloji	04.11.2013	17	A29
R.S.	Ç.Y.B.	22.07.2013	22	A30
Hemokültür	İ.H.A.	10.06.2013	78	A31
R.S.	Hematoloji	13.05.2013	91	A32
R.S.	Hematoloji	20.05.2013	75	A32
R.S.	Hematoloji	16.04.2013	66	A33
Brn.Asp.	Göğüs Cer.	01.02.2016	KL21	A34
R.S.	A.R.	30.04.2013	89	A34
İdrar	Ç.H.A.	11.08.2013	15	A35
BOS	Çoc. Acil	23.2.2015	KL5	A36
R.S.	Ç.Y.B.	19.08.2013	7	A37
R.S.	Çoc. Kardiyo	27.05.2013	83	B1
Abse	Kdn. Dgm. Ün.	17.01.2016	KL18	C1
R.S.	Ç.Y.B.	18.11.2013	3	C2
İdrar	Kalp Damar C.	16.06.2015	KL13	D1
İdrar	Ç.H.A.	05.11.2015	KL16	D1
İdrar	Ç.H.A.	10.02.2016	KL22	D2
R.S.	Ç.Hematoloji	19.08.2013	14	E1
R.S.	Nefroloji	09.03.2015	KL11	E1
Hemokültür	A.R.	07.03.2016	KL24	E2
R.S.	Göğüs Cer.	28.05.2013	84	E2
R.S.	Oto. Kök Hüc.	22.04.2013	64	E3
R.S.	Hematoloji	30.10.2013	46	E4
İdrar	Kalp Damar C.	01.11.2013	47	E4
R.S.	Ç.Cerrahi	04.11.2013	45	E5
R.S.	Travma A.	09.04.2013	60	E6
R.S.	Hematoloji	12.08.2013	48	F1
R.S.	Ç.H.A.	10.06.2013	77	F2

Şekil 4. 4 PFGE sonucu oluşturulan dendogram

5 TARTIŞMA

Enterokoklar, plazmit ve transpozonlar gibi hareketli genetik elementleri kazanabilir, enterokok türlerine ve *Staphylococcus aureus* gibi diğer bakterilere transfer edebilirler. Kromozomal dirence ek olarak direnç etkenlerinin kazanımı ile dünya çapında başlıca hastane enfeksiyonları etkenleri arasına girmişlerdir ve EARRS 2016 verilerine göre VRE sıklığında her geçen yıl artış görülmektedir (91, 184).

Gastrointestinal sistemde kolonize olan VRE suşları semptom vermeden uzun süre taşınabilir ve diğer hastalara bulaşa sebep olurlar. Vankomisin direnci özellikle hastanede yatan hastalarda önemli bir problemdir. Metisiline dirençli stafilokoklar gibi VRE de hastalık ve ölüm oranlarını arttırdığından hastanede yatan hastalar için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Bu yüzden VRE kolonizasyonunun yayılmasını engellemek ve kolonize hastalarda enfeksiyonu önlemek için erken tespit büyük önem arz etmektedir (65, 76, 138, 152).

VRE kolonizasyonun araştırılması ve erken tespiti için yatan hastalarda rektal sürünütü kültürü yapılmasının uygun olduğu bildirilmiştir (23, 69, 94). VRE tarama kültürlerinde Gram negatif flora bakterilerinin baskın oluşu VRE izolasyonunu zorlaştırmakta ve gözden kaçabilmesine neden olabilmektedir. Bu durumu önlemek amacıyla farklı besiyerlerinin kullanıldığı çalışmalar yapılmıştır. Landman ve arkadaşları(94) VRE taşıyıcılığını tanımlamada beş selektif besiyerini karşılaştırmışlar, vankomisin ve aztreonam içeren enterokokosel buyyonun diğer besiyerlerine (vankomisin ve aztreonamlı triptik soy buyyon, vankomisin, polimiksin, streptomisinli Mueller Hinton agar, Safra-eskülin azit agar, klindamisinli Campylobacter kanlı agar) göre daha duyarlı oldugunu bildirmişlerdir. Gambarotto ve arkadaşları(59) ise 4 mg/L vankomisin içeren safra-eskülin buyyon ve 6 mg/L vankomisin içeren agar kullandığı çalışmasında VRE pozitif suşların %75' inin safra-eskülin buyyonda üreyip agar besiyerlerinde üremedigini saptamıştır. Ieven ve arkadaşları(81), 213 dışkı ve 122 rektal sürüntü örneğinde enterokokosel agar ve enterokokosel buyyon kullandıkları çalışmalarında sadece agar kullanımının %46,5 oranında yalancı negatiflik verdiğini bildirmişlerdir. Bu veriler doğrultusunda biz de çalışmamızda Enterococcosel agar ile floradaki baskın Gram negatif çomakların inhibisyonunu sağlayan sodyum azitli buyyon besiyerlerini kullandık.

Both ve arkadaşları(21), VRE tespiti için moleküler ve kültür esaslı teknikleri birleştiren çalışmaları için topladıkları 365 rektal sürüntü örneğinin 35'inde saptadıkları VRE suşlarının hepsinin *E. faecium* olduğunu bildirmişlerdir. Ryan ve arkadaşları(162), kan örneklerinden izole ettikleri VRE suşlarının klonal ilişkilerinin saptanmasını amaçlayan çalışmalarında VRE suşlarının %95'inin *E. faecium* olduğunu bildirmişlerdir. Liu ve arkadaşlarının(110) hastane kaynaklı VRE salgının kontrolünü amaçlayan çalışmalarında 37 VRE izolatının hepsinin *E. faecium* olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde ise Altun ve arkadaşları(7), farklı kliniklerden farklı türde örneklerde enterokok varlığını araştırdıkları çalışmalarında izole ettikleri beş VRE suşunun da *E. faecium* olduğunu bildirmişlerdir. Çetin ve arkadaşlarının(32) kan kültürlerinde etken mikroorganizmaların araştırıldığı çalışmalarında izole edilen 18 VRE suşunun 15'i *E. faecium* üçü ise *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır. Mete ve arkadaşları(125), çeşitli örneklerden izole edilen enterokok türlerinde virülans faktörleri araştırdıkları çalışmalarında izole edilen VRE suşlarının birinin *E. faecalis*, 29'unun *E. faecium* olduklarını bildirmişlerdir. Arslan ve arkadaşlarının(13) kan kültürlerinden izole edilen VRE suşlarının MLST tiplerini araştırdıkları çalışmalarında izole edilen 38 VRE suşu da *E. faecium* olarak tanımlanmıştır. Dünya genelinde VRE izolatları arasında baskın tür olarak tespit edilen VR *E. faecium* (VREfm), bizim çalışmamızda hakim (125/125) tür olduğu belirlendi.

Yapılan çalışmalarda VRE izolatlarında dirençten sorumlu genin baskın olarak *vanA* olduğu bildirilmiştir. Lee ve arkadaşları(99), bir VRE salgınında hastane içi yayılımın ve klonlarının tespitini amaçladıkları çalışmalarında kolonizan ve enfeksiyon etkeni olarak izole etikleri toplam 54 VREfm suşunun hepsinin *vanA* geni taşıdığını göstermişlerdir. Kim ve arkadaşları(87), VRE ile kolonize yoğun bakım hastalarında enfeksiyon ve ölüm risk faktörlerini araştırdıkları çalışmalarında 184 hastanın sürüntü kültürlerinden izole edilen VRE suşlarının hepsinin *vanA* geni taşıdıklarını tespit etmişlerdir. Gambarotto ve arkadaşları(59), yatan hastalarda VRE sıklığını araştırdıkları çalışmalarında izole ettikleri 12 VREfm suşunun hepsinin *vanA* geni taşıdıklarını göstermişlerdir. Both ve arkadaşları(21) ise VRE'lerin tespiti için moleküler ve kültür esaslı teknikleri birleştiren çalışmaları için topladıkları rektal sürüntü örneklerinden izole ettikleri 35 VREfm suşundan 26'sının *vanA*, dokuzunun *vanB* pozitif olduğunu göstermişlerdir. Ryan ve arkadaşları(162), kan örneklerinden izole ettikleri VRE suşlarını moleküler olarak tiplendirdikleri çalışmalarında 83 VRE suşunun 74'ünün

vanA, üçünün *vanB*, beşinin hem *vanA* hem *vanB* geni taşıdığını göstermişlerdir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda da *vanA* geninin baskın olduğu gösterilmiştir. Ongut ve arkadaşları(148), VRE taraması çalışmalarında dokuz hastaya ait toplamda 20 örnekte saptadıkları VRE pozitifliğinin hepsinde *vanA* geni taşıyan *E. faecium* olduğunu bildirmişlerdir. Yis ve arkadaşları(211), VRE kolonizasyonu araştırdıkları çalışmalarında izole ettikleri 18 VRE suşunun hepsinde *vanA* geni olduğunu göstermişlerir. Baylan ve arkadaşları(15), üriner enterokok izolatlarının antibiyotik direnci ile virülans faktörleri arasındaki ilişki amaçlayan çalışmalarında vankomisin direnci saptadıkları sekiz suşun *E. faecium* olduğu ve bunların yedisinin *vanA*, birinin *vanA*-*vanB* dışı direnç geni taşıdıklarını bildirmişlerdir. Aktaş ve arkadaşları(4), izole ettikleri 13 VRE suşunun *E. faecium* olduğunu ve *vanA* geni taşıdıklarını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da VREfm olarak tanımlanan 125 suşun hepsinin *vanA* genine sahip oldukları tespit edilmiştir.

Çalışmamızda vankomisin-teikoplanin gradient testleri ve otomatik identifikasyon kitlerinin vankomisin-teikoplanin antibiyogram sonuçları doğrultusunda bir suş hariç diğer bütün suşların vanA fenotipi direnç (Vankomisin MİK≥64 μg/ml; Teikoplanin MİK≥16 μg/ml) gösterdiği belirlenmiştir. VanA fenotipiyle teikoplanin direnci açısından uyumsuz olan suşun vankomisin gradient testi >256mg/L, teikoplanin gradient testi ise vanA fenotipinde tanımlanan (≥16mg/L) MİK değerinden düşük seviyede (8 μg/ml), duyarlı olarak belirlenmiştir. Teikoplaninin direnç seviyesinde görülen azalmaya *vanS* geninin sensör dizisinde nokta mutasyonu (48, 70, 95) ya da VanY ve VanZ aksesuar proteinlerinde bozulmanın (48, 70, 100, 179) neden olabileceğini bildirilmiştir.

İzole ettiğimiz VRE suşlarının VITEK GP-AST kiti ile ampisiline direnç oranı %100, yüksek düzey gentamisine direnç oranı %90,4 ve linezolid direnci %0 olarak saptanmıştır. Deshpande ve arkadaşlarının(39) Kuzey Amerika ve Avrupa'da izole edilmiş VRE suşlarının moleküler epidemiyolojilerini ve antibiyogram duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında VREfm için Kuzey Amerika için ampisilin direncini %97,5, YDG direnci %42,5, linezolid direnci %0 olarak bildirilirken Avrupa izolatları için ampisilin direnci %98,7, YDG direnci %37, linezolid direnci %0,8 olarak bildirilmiştir. Kuzey Amerika'da yapılan benzer bir çalışmada ise ampisilin direnci %90,1, YDG direnci %41,1, linezolid direnci %1,5 olarak bildirilmiştir (154). Sader ve

arkadaşlarının(166) Avrupa ülkelerinden izole edilmiş VRE'lerde daptomisin aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında ampisilin direnci %100, YDG direnci %52,7, linezolid direnci %0 olarak bildirilmiştir. Sader ve arkadaşlarının(167) benzer başka bir çalışmasında ise ampisilin direnci %95,4, YDG direnci %45,5, linezolid direnci %0 olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda linezolid ve ampisilin direncinin Avrupadakiler ile benzer oranda oldukları ancak YDG direncinin oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum hastanemizden izole edilen suşlarda, YDG direncinden genellikle sorumlu olan *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* genini taşıyabileceklerini düşündürmektedir (47, 150).

VRE kolonizasyonu çalışmalarında risk faktörlerinin hastaya ait faktörler (immünsupresyon, nötropeni, böbrek yetmezliği gibi), hastaneye ait faktörler (yoğun bakım ünitesinde yatış, onkoloji unitesinde yatış, uzun süreli yatış öyküsü gibi) ve başta vankomisin olmak üzere antibiyotik kullanımı olduğu bildirilmiştir (212).

Çevre sürüntü örnekleri (n:6) hariç 119 örneğin toplandığı 110 hastanın 79'unun (%72) üç bölümde yoğunlaştığı, bunlardan 36'sının (%32,7) hematoloji servislerinde, 22'sinin (%20) acil servislerde, 21'inin (%19,1) yoğun bakım ünitelerinde (10'u Anestezi ve reanimasyon servisinde) yattığı görülmüştür. Hematoloji hastalarının 19/36'sının, Acil servis hastalarının 3/22'sinin, yoğun bakım hastalarının 9/21'inin ilk rektal sürüntü örneklerinde VRE görülmezken, sırasıyla, 8 ile 170 gün, 19 ile 38 gün, 15 ile 57 gün arasında değişen yatış süreleri içerisinde pozitifleştikleri görülmektedir. Ayrıca 01.04.2013-30.11.2013 arasında toplanan R.S. örneklerinden 50 hastanın ilk R.S. örnekleri pozitif saptanırken, rektal sürüntülerinde VRE pozitifliği saptanana kadar hastanede yatış süreleri sıfır ile 168 gün arası değişiklik göstermektedir. Çalışmamıza dahil olan hastaların, VRE kolonizasyonu çalışmalarında risk faktörleri olarak belirlenen immünsupresyon, nötropeni, böbrek yetmezliği, yoğun bakım ünitesinde yatış, onkoloji ünitesinde yatış, uzun süreli yatış öyküsü gibi faktörlere sahip oldukları görülmektedir. Saba ve arkadaşları(163), Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde antibiyotik kullanımı ve hastane enfeksiyonu sıklığı ilişkisini araştırdıkları ve pozitif korelasyon buldukları çalışmalarında bildirdikleri yoğun bakım servislerinde glikopeptitlerin de dahil olduğu, bir diğer risk faktörü olan, antibiyotiklerin yüksek kullanım oranını bildirmişlerdir. Çalışmamızda hastaların antibiyotik kullanım durumlarına ulaşılamamış olmasına rağmen ülkemizde uygunsuz antibiyotik

kullanımının yaygın olduğu bilindiğinden (40, 140, 165) hastanemizde de benzer bir durumun mevcut olduğu düşünülmektedir.

Servise yatış ve pozitif rektal sürüntü saptanma tarihleri aynı olarak belirlenen beş hastadan izole edilen suşlardan (Suş no: 25, 51, 59, 84, 90) 25 numaralı suşun (Ortopedi ve Travmatoloji Acil-17.07.2013) Ç1 (Ortopedi ve Travmatoloji Ameliyathane-Haziran 2016), Ç4 (Erişkin Y.B.-Haziran 2016), 5 (Ç.Y.B.-20.10.2013), 9 (A.R.-27.08.2013) ve 81 (Ç.Hematoloji-13.05.2013) numaralı suşlarla, 51 numaralı suşun ise (Hematoloji-17.07.2013) 53 (Hematoloji-15.07.2013) ve 93 (İç Hastalıkları-08.05.2013) numaralı suşlarla PFGE ile özdeş oldukları görülmüştür.

25 numaralı suş ile Haziran 2013'te Çocuk Hastalıkları Acil bölümünde yatışı yapılmış hastadan izole edilmiş olan 81 numaralı suşun özdeş bulunması, Ortopedi ve Travmatoloji Acil bölümünün Çocuk Hastalıkları Acil bölümünün bir üst katında aynı binada bulunmaları, hasta yakınlarının, hastane çalışanlarının aynı asansörü kullanmaları, temizlik görevlilerinin bina genelinde çalışmaları gibi bilgilerin varlığıyla birlikte suşun bina içi yayılımını işaret etmektedir.

Özdeş olan 51 numaralı suş ile 53 numaralı suşun yakın günlerde tespit edilmesi ve bu suşların izole edildiği Hematoloji bölümü ile yine bu suşlarla özdeş olan 93 numaralı suşun izole edildiği İç Hastalıkları bölümünün aynı binada olması, tuvaletler ve asansörler gibi binadaki ortak kullanım alanlarının varlığı ile birlikte suşun bina içi yayılımını işaret etmektedir.

Diğer üç hastanın ise (Suş no:59, 84, 90) servislere yatmadan önce GİS'lerinin VRE ile kolonize olduğu düşünülmektedir. Bunun sebebinin vankomisin ve geniş spektrumlu sefalosporinler gibi antibiyotiklerin ülkemizdeki yaygın kullanımı (204) veya kontamine yüzeylerle temas ile olabileceği düşünülmüştür. VRE, çiftlik hayvanlarının dışkılarında ve hayvansal ürün bazlı gıda maddelerinde bildirildiğinden gıdalar da VRE kaynağı olabilir (59).

Çalışmamızda, örneklerinde VRE pozitifliği bulunan 110 hastanın 22'sinin (%20) acil servislerde olduğu, ancak bu hastalardan onunun daha önce hastanemizin çeşitli servislerinde yatışlarının olduğu görülmüştür. Kalan 12 hastanın birinde yatışının yapıldığı gün, ikisinde yatışlarından bir gün sonra, dokuzunda ise yatışlarından 3 ile 33 gün arası değişen süreler sonrası pozitiflik saptanmıştır. Yaptığımız literatür taramalarında acil servislerde VRE sıklığına dair bir çalışma görülememiştir. VRE

pozitif hastaların çevre kontaminasyonuna kaynak olabilecekleri (77), kolonize sağlık çalışanlarının potansiyel kaynak olabilecekleri (158), sağlık çalışanlarının VRE'leri kontamine ortamdan kontamine olmayan ortama taşıdıkları (43), hastane yüzeylerinde (20), sağlık çalışanları formalarında, laboratuvar önlüklerinde, hastane mahremiyet perdeleri gibi hastane ürünlerinde uzun süre hayatta kalabilecekleri (141,147), hasta odalarının temizlendikten sonra görsel açıdan temiz olarak değerlendirilse de sadece %30 kadarının mikrobiyolojik değerlendirme ile temiz olarak kabul edilebileceği (64) bilinmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, yoğun hasta giriş çıkışı, sağlık çalışanlarının kısa muayene süreleri ve hastadan hastaya hızlı geçişleri ve temizlik görevlilerinin kısa işlem süresi gibi etkenleri barındırabilen bu servislerde, hijyen uygulamalarının önemi ortaya çıkmaktadır.

Ortopedi ve Travmatoloji bölümü ameliyathanesi ve erişkin yoğun bakım ünitesi çevre sürüntü örneklerinde saptanan VRE pozitifliği ile Ortopedi ve Travmatoloji acil servisinin de dahil olduğu acil sevislerde ve yoğun bakım ünitelerinde yüksek oranlarda VRE rastlanmasının, kolonize sağlık çalışanlarının potansiyel kaynak olabilecekleri (158), sağlık çalışanlarının VRE'leri kontamine ortamdan kontamine olmayan ortama taşıdıkları (43), hastane yüzeylerinde (20), sağlık çalışanları formalarında, laboratuvar önlüklerinde, hastane mahremiyet perdeleri gibi hastane ürünlerinde uzun süre hayatta kalabilecekleri (141,147) gibi durumlarla ve hijyen uygulamalarındaki muhtemel aksaklıklarla ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Temmuz 2013'te Ortopedi ve travmatoloji acil servisinden izole edilen bir VRE suşu ile Haziran 2014'te Ortopedi ve travmatoloji bölümü ameliyathanesi ve erişkin yoğun bakım servisinden alınan çevre sürüntülerinden izole edilen VRE suşlarının yaptığımız Pulsed-field jel elektroforezi (PFGE) dendogramında aynı pulsotipte (A18) görülmeleri bu düşüncemizi destekler niteliktedir.

Klinik olarak önemli çeşitli bakterilerin moleküler tipleme yöntemlerinden PFGE, salgınlarda ve hastane kaynaklı VRE enfeksiyonlarının klonal ilişikilerinin tespitinde sıkça kullanılmaktadır (41, 108, 200, 210). PFGE yönteminin kısa süreli sürveyans çalışmalarında olduğu kadar, uzun süreli sürveyans çalışmaları için de önemli olduğu vurgulanmıştır (30, 35).

Klonal ilişki tespiti için PFGE yöntemini kullandığımız çalışmamızda %65 benzerlikte 6 makrorestriksiyon grubunun olduğu (ana tip A, minör tipler B-F), %90-

100 benzerlikte bu grupların 50 alt tip içerdiği, bu gruplardan en büyük olanının 37 alt tipte 108 suşu barındıran A ana tipi olduğu ve özdeş ya da yakın ilişkili 22 suş içeren A7, 12 suş içeren A18 ve 9 suş içeren A20 olmak üzere üç predominant alt tip varlığı tespit edilmiştir. E tipi altı alt tipte dokuz suş, D tipi iki alt tipte üç suş, F tipi iki alt tipte iki suş, C tipi iki alt tipte iki suş ve ayrıca B tipinin bir suş içerdiği görülmüştür. PFGE sonucu; izole ettiğimiz VRE suşlarının poliklonal olduğunu, her birimde bir çok farklı alt tipler olduğunu göstermektedir. Landerslev ve arkadaşları(93), 118 VRE suşunun PFGE analizinde hastane yayılımının poliklonal olduğunu bildirmişlerdir. Alatorre-Fernández ve arkadaşları(5), bir kanser hastanesinde hematolojik maligniteleri olan hastalardan alınan kan kültürlerinden izole ettikleri 23 VRE suşunu PFGE yöntemi ile poliklonal olduklarını bildirmişlerdir. Shokoohizadeh ve arkadaşları(174) dokuz aylık sürede çeşitli klinik örneklerden izole ettkleri 45 VRE suşunun poliklonal olduğunu bildirmişlerdir. Sun ve arkadaşları(185), 2005-2011 yılları arası topladıkları 96 VRE suşunun poliklonal olduğunu bildirmişlerdir. Ülkemizde Mamal ve arkadaşlarının(197) çalışmasında sekiz farklı VRE kökenin PFGE yöntemiyle poliklonal olarak bulunduklarını bildirmişlerdir. Çolak ve arkadaşları(33), bir yıl boyunca değisik hastalardan izole edilen 20 VRE kökeninin PFGE yöntemiyle poliklonal olduğunu bildirilmistir. Ergani-Özcan ve arkadaşları(49) izole ettikleri 36 suşu araştırmışlar ve PFGE yöntemiyle poliklonal olduklarını tespit etmislerdir. Güdücüoğlu ve arkadaşları(66) 14 VRE suşunun PFGE ile iki majör klon ve bu klonlarla yakın ilişkili beş klonu ile poliklonal olduğunu bildirmişlerdir. Kılıç ve arkadaşları(85) klinik örneklerden izole edilen dört VRE suşunun dört farklı klona ait olduklarını bildirmişlerdir. Güldemir ve arkadaşları(67) ise bir üniversite hastanesinin farklı kliniklerinden gönderilen örneklerden izole edilen 26 *E. faecium* suşunun %97 benzerlikle ortak aynı grupta yer aldıklarını ve çapraz bulaş oranının yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Birçok çalışmada VRE suşlarının poliklonal bildirilmesi, hastanelerde kontrol edilemeyen VRE kolonizasyonu ya da enfeksiyonu olan nadir ya da sporadik vakaların direnç paternlerinin plazmitler ya da transpozonlar aracılığı ile farklı klonlara aktarımının bir sonucu olarak değerlendirilebilir (86, 142, 183).

A7 alt tipinde 22 suşun izolasyon tarihlerinin Nisan 2013 ile Mart 2016 arasında, A18 alt tipindeki 12 suşun izolasyon tarihlerinin Mart 2013-Haziran 2016 arasında değişiklik gösterdiği görülürken bu alt tiplerin yerleşik köken olduğu düşünülmektedir. Corso ve arkadaşları(30), epidemik bir klonun uzun süre bir hastanede varlığını

sürdürebileceğini ve yoğun seçici bir baskıya maruz kalarak genetik altyapısında yeniden düzenlenme yapabileceğini önermiştir.

A7 alttipinde çocuk hastalıkları hematoloji servisinden izole edilmiş 65 (22.04.2013) ve 52 (16.07.2013) numaralı suşların, A.R. servisinden 88 (16.04.2013) ve 87 (08.05.2013) numaralı suşların, A9 alt tipinde hematoloji servisinden izole edilmiş 51 (17.07.2015) ve 53 (23.07.2013) numaralı suşların özdeş oldukları görülmüştür. Ayrıca A16 alttipindeki 19 (Genel Cerrahi) ve 79 (Hematoloji) numaralı suşların birbirine yakın zamanlarda (Şubat2013/Mart2013) aynı binadaki aralarında serbest geçiş bulunan acil servislerinde (Travma acil/Dahiliye acil), A20 alttipindeki 67 (Travma acil) ve 70 (Hematoloji) numaralı suşların birbirine yakın zamanlarda (Haziran2013/Mayıs2013) aynı binadaki aralarında serbest geçiş bulunan acil servislerinde (Travma acil/Dahiliye acil), A23 alttipindeki KL6 (Çocuk hastalıkları nefroloji poliklinik) ve KL17 (Çocuk hastalıkları acil) numaralı suşların (Şubat2013/Kasım2013) aynı serviste (Çocuk hastalıkları acil) yatışlarının olduğu görülmüştür. Bu veriler çapraz bulaş durumunu düşündürmektedir ve hastanede yatış süresinin uzamasının hastalarda çapraz bulaş riskini artıracağı bilinmektedir (58). Aynı alttipte özdeş ya da yakın ilişkili varyantların birden fazla birimde görülmesi ise direk ya da dolaylı olarak ortak kullanım alanlarını kontamine eden, hijyen kurallarına uymayan personel ve hasta/hasta yakınları varlığını düşündürmektedir.

Gastroloji servisinde yatan A1 kodlu hastanın hem R.S. hem biyopsi örneğinden, B7 kodlu hastanın hem R.S. hem idrar örneğinden izole edilen VRE suşlarının aynı klonal alt tiplerde, sırasıyla A19, A22, %100 benzerlik gösteren aynı suşlar olduğu görülürken, A17, A27, A62, B8, B14, B17, B20 kodlu hastaların rektal sürüntüleriyle klinik örneklerinden izole edilen VRE suşlarının farklı klonal alt tiplerde olduğu görülmüştür. Bu durum A1 ve B7 kodlu hastaların klinik örneklerinden izole edilen VRE'lerin endojen kaynaklı, diğer hastaların klinik örneklerinden izole edilen VRE'lerin eksojen kaynaklı olabileceğini düşündürmüştür.

Haziran 2014'te Ortopedi ve Travmatoloji ameliyathane çevre sürüntü örneğinden izole edilen VRE suşu ile Temmuz 2013'te Ortopedi ve Travmatoloji Acil servisinde yatmakta olan bir hastanın rektal sürüntüsünden izole edilen bir VRE suşunun, A18 klonal alt tipinde özdeş oldukları görülmüştür. Ancak bu varyantın bu tarihler arasında bir daha görülmemiş olması, personel taşıyıcılığı, personel izin ya da görevlendirme

durumu, aynı hastanın ya da birinci derecede yakınlarının aynı birimde tedavi durumları gibi bilgilere sahip olmadığımızdan açıklanamamıştır.

Tüm çevresel izolatların (Ç1;Ortopedi ve Travmatoloji Ameliyathane, Ç2, Ç3, Ç4, Ç5, Ç6; İç Hastalıkları Erişkin Yoğun Bakım) A18 klonal alt tipine dahil oldukları Ç1 ile Ç4'ün, Ç2 ile Ç3, Ç5 ve Ç6'nın özdeş oldukları görülmüştür. Sağlık çalışanlarının ellerinde, elbiselerinde kontamine ortamdan kontamine olmayan ortama taşınabilecekleri bilindiğinden (43, 141, 147) böyle bir durumun söz konusu olabileceği düşünülmüştür.

Çeşitli poliklinik ve servislerden gelen klinik örneklerden izole edilen 30 VRE suşunun dört tipte 24 farklı klonal alt tip halinde dağılımları GİS kaynaklı endojen enfeksiyon olarak düşünülmüştür.

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi yoğun bakım üniteleri ile çeşitli servislerde yatan hastalardan alınan rektal sürüntü örneklerinden, klinik örneklerden ve çevre sürüntü örneklerinden izole edilen VRE suşlarının hastane enfeksiyonları epidemiyolojisi açısından, PFGE yöntemi kullanılarak, izolatlar arasındaki klonal ilişkinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonucu tüm suşların *vanA* direnç geni taşıyan linezolide duyarlı, ampisiline dirençli, vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* oldukları, poliklonal yayılım gösterdikleri ve ana tip olan A klonal tipinin uzun zamandır hastanede varlığını sürdürdüğü tespit edilmiştir. Bu sonuç, hastanemizde VRE varlığının zaman zaman yeni suşlar eklenerek devam ettiğini düşündürmektedir ve hastane kaynaklı VRE enfeksiyonları açısından risk varlığını göstermektedir. Karşılaşma olasılığımızın yüksek olduğu bu durumun hasta-personel-hastane üçgeninde ciddi sorunlar yaratmaması için enfeksiyon kontrol önlemlerinin eğitimden uygulamaya kadar her aşamasına dikkat edilmesi, bu kontrollerin süreklilik göstermesi ve mikrobiyoloji laboratuvarının etkin kullanımının yanı sıra glikopeptit antibiyotiklerin zorunlu durumlar haricinde ampirik tedavide kullanımının önüne geçilmesi ya da azaltılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Abt MC, Buffie CG, Sušac B, Becattini S, Carter RA, Leiner I ve ark. TLR-7 activation enhances IL-22–mediated colonization resistance against vancomycin-resistant enterococcus. *Sci Transl Med* 2016; **8**(327): 327ra25
2. Agudelo Higuita NI, Huycke MM. Enterococcal Disease, Epidemiology, and Implications for Treatment. İçinde: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y ve ark. editörler. Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [web page on the Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; Erişim Tarihi (10.08.2015), https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190424/
3. Aktaş G, Derbentli Ş. Vankomisine dirençli Enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri. *İnfeksiyon Dergisi* 2009; **23**: 201-209.
4. Aktaş Z, Diyarbakırlı P, Bal Ç. Vankomisine dirençli Enterococcus faecium suşlarının fenotipik ve genotipik olarak incelenmesi. *Mikrobiyol Bul* 2007; **41**(3): 347-356.
5. Alatorre-Fernández P, Mayoral-Terán C, Velázquez-Acosta C, Franco-Rodríguez C, Flores-Moreno K, Cevallos MA ve ark. A polyclonal outbreak of bloodstream infections by Enterococcus faecium in patients with hematologic malignancies. *Am J Infect Control* 2017; **45**(3): 260-266.
6. Alp Ş, Şardan YÇ. Vankomisine dirençli enterokokların epidemiyolojisi ve kontrolü. *Hacettepe Med J* 2008; **39**: 89-95.
7. Altun D, Erdem G, Çöplü N, Çağatay M. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının tür düzeyinde tanımanması ve antibiyotik duyarlılıklarının çeşitli yöntemlerle araştırılması. ANKEM Derg 2013; **27**(3): 130-134.
8. Anders J. (Ağustos 2016). *MALDI-TOF MS Biotyping in the Characterization of Antimicrobial-resistant Enterococcus spp. from Wildlife Associated with Concentrated Animal Feeding Operations.* [Poster]. IAFP 2016 Annual Meeting, Missouri.
9. Arias CA, Murray BE. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2014; **12**(10): 1221-1236.
10. Arias CA, Murray BE. The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol* 2012; **10**(4): 266-278.
11. Arias CA, Panesso D, McGrath DM, Qin X, Mojica MF, Miller C. ve ark. Genetic basis for in vivo daptomycin resistance in enterococci. *N Engl J Med* 2011; **365**(10): 892-900.
12. Arsène S, Leclercq R. Role of a qnr-like gene in the intrinsic resistance of Enterococcus faecalis to fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; **51**(9): 3254-3258.
13. Arslan U, Demir E, Oryaşin E ve ark. Kan kültürlerinden izole edilen vankomisine dirençli Enterococcus faecium suşlarının MLST tipleri. *Mikrobiyol Bul* 2013; **47**(3): 432-441.
14. Barros J, Andrade M, Radhouani H, López M, Igrejas G, Poeta P, Torres C. Detection of vanA-containing Enterococcus species in faecal microbiota of gilthead seabream (Sparus aurata). *Microbes Environ* 2011; **27**(4): 509-511.
15. Baylan O, Nazik H, Bektöre ve ark. Üriner enterokok izolatlarinin antibiyotik direnci ile virülans faktörleri arasindaki ilişki. *Mikrobiyol Bul* 2011; **45**(3): 430-45

16. Beliveau C, Potvin C, Trudel J, Asselin A, Bellemare G. Cloning, sequencing, and expression in Escherichia coli of a Streptococcus faecalis autolysin. *J Bacteriol* 1991; **173**(18): 5619-5623.
17. Bhavsar AP, Brown ED. Cell wall assembly in Bacillus subtilis: how spirals and spaces challenge paradigms. *Mol Microbiol* 2006; **60**(5): 1077-1090.
18. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F ve ark. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; **103**(3): 732-737.
19. Boerlin P. Applications of multilocus enzyme electrophoresis in medical microbiology. *J Microbiol Methods* 1997; **28**(3): 221-231.
20. Bonilla HF, Zervos MJ, Kauffman CA., Noskin GA, Peterson LR, BoyceJM. Long-term survival of vancomycin-resistant Enterococcus faecium on a contaminated surface. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996; **17**(12): 770-772.
21. Both A, Franke GC, Mirwald N, Lütgehetmann M, Christner M, Klupp EM ve ark. Two-tier approach combining molecular and culture-based techniques for optimized detection of vancomycin-resistant enterococci. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2017; **89**(4): 253-257.
22. Bourgogne A, Garsin DA, Qin X, Singh KV, Sillanpaa J, Yerrapragada S ve ark. Large scale variation in Enterococcus faecalis illustrated by the genome analysis of strain OG1RF. *Genome Biol* 2008; **9**(7): R110.
23. Boyce JM, Opal SM, Chow JW, Zervos MJ, Potter-Bynoe G, Sherman CB ve ark. Outbreak of multidrug resistant Enterococcus faecium with transferable VanB class vancomycin resistance. J Clin Microbiol 1994; **32**(5): 1148-1153
24. Boyd DA, Willey BM, Fawcett D, Gillani N, Mulvey MR. Molecular characterization of Enterococcus faecalis N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, vanL. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; **52**(7): 2667-2672.
25. Byappanahalli MN, Nevers MB, Korajkic A, Staley ZR, Harwood VJ. Enterococci in the environment. *Microbiol Mol Biol Rev* 2012; **76**(4): 685-706.
26. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000; **13**(4): 686-707.
27. Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. *Clin Infect Dis* 2000; **31**(2): 586-589.
28. Clark C, McGhee P, Appelbaum PC, Kosowska-Shick K. Multistep resistance development studies of ceftaroline in Gram-positive and -negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55(5)**: 2344-2351.
29. Clewell DB, Weaver KE, Dunny GM, Coque TM, Francia MV, Hayes F. Extrachromosomal and Mobile Elements in Enterococci: Transmission, Maintenance, and Epidemiology. İçinde: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y ve ark., editörler. Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [web page on the Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; Erişim Tarihi (15.08.2015), https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190424/
30. Corso AC, Gagetti PS, Rodriguez MM, Melano RG, Ceriana PG, Faccone DF, Galas MF. Molecular epidemiology of vancomycin-resistant Enterococcus faecium in Argentina. *Int J Infect Dis* 2007; **11**(1): 69-75.
31. Courvalin P. Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. *Clin Infect Dis* 2006; **42**(1): 25-34.

32. Çetin F, Mumcuoğlu İ, Aksoy A, Gürkan Y, Aksu N. Kan kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2014; **71**(2): 67-74.
33. Çolak D, Naas T, Günseren F, Fortineau N, Ögünç D, Gültekin M, Nordmann P. First outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a tertiary hospital in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 2002; **50**(3): 397-401.
34. Çöleri A, Çökmüş C. Molecular mechanisms of resistance to glycopeptide antibiotics in Enterococcus species and modes of gene transfer. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2008; **65**(2): 87-96
35. d'Azevedo PA, Furtado GH, Medeiros EA, Santiago KA., Silbert S, Pignatari AC. Molecular characterization of vancomycin-resistant Enterococci strains eight years apart from its first isolation in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2008; **50**(4): 195-198.
36. Deibel RH. The group D streptococci. *Bacteriol Rev 1964;* **28**(3): 330-366.
37. Denny FW. History of hemolytic streptococci and associated diseases. İçinde Stevens DL, Kaplan EL, Editörler. *Streptococcal infections: clinical aspects, microbiology, and molecular pathogenesis*. Oxford University Press, NewYork; 2000. pp1-18
38. Deshpande LM, Ashcraft DS, Kahn HP, Pankey G, Jones RN, Farrell DJ, Mendes RE. Detection of a new cfr-like gene, cfr (B), in Enterococcus faecium isolates recovered from human specimens in the United States as part of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; **59**(10): 6256-6261.
39. Deshpande LM, Fritsche TR, Moet GJ, Biedenbach DJ, Jones RN. Antimicrobia l resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; **58(2)**: 163-170.
40. Devrim İ, Gülfidan G, Oruç Y, Yaşar N, Sorguç Y, Ayhan FY ve ark. Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi'nde antibiyotik kullanımına ilişkin nokta prevalans çalışması. *Çocuk Enfeks Derg* 2009; **3**(1): 11-13.
41. Domig KJ, Mayer HK, Kneifel W. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of Enterococcus spp.: 2. Pheno-and genotypic criteria. *Int J Food Microbiol* 2003; **88**(2): 165-188.
42. Dominguez SR, Anderson LJ, Kotter CV, Littlehorn CA, Arms LE., Dowell E ve ark. Comparison of whole-genome sequencing and molecular-epidemiological techniques for Clostridium difficile strain typing. *J Pediatric Infect Dis Soc* 2015; **5**(3): 329-332.
43. Duckro AN, Blom DW, Lyle EA, Weinstein RA, Hayden MK. Transfer of vancomycin-resistant enterococci via health care worker hands. *Arch Intern Med* 2005; **165**(3) 302-307.
44. Durmaz B, Durmaz R. Pulsed-field gel electrophoresis. İçinde Durmaz R, editör. *Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji*, 2. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2001. pp. 161-168.
45. Eaton TJ, Gasson MJ. A variant enterococcal surface protein Espfm in Enterococcus faecium; distribution among food, commensal, medical, and environmental isolates. *FEMS Microbiol Lett* 2002; **216**(2): 269-275.
46. Eckert C, Lecerf M, Dubost L, Arthur M, Mesnage S. Functional analysis of AtlA, the major N-acetylglucosaminidase of Enterococcus faecalis. *J Bacteriol* 2006; **188**(24): 8513-8519.

47. Emaneini M, Khoramian B, Jabalameli F, Beigverdi R, Asadollahi K, Taherikalani M ve ark. Prevalence of high-level gentamicin-resistant Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium in an Iranian hospital. *J Prev Med Hyg* 2016; **57**(4): E197.
48. Eom JS, Hwang IS, Hwang BY, Lee JG, Lee YJ, Cheong HJ ve ark. Emergence of vanA genotype vancomycin-resistant enterococci with low or moderate levels of teicoplanin resistance in Korea. *J Clin Microbiol* 2004; **42**(4):1785-1786.
49. Ergani-Özcan A, Naas T, Baysan BO, Öğünç D, İnan D, Çolak D, Nordmann P. Nosocomial outbreak of vancomycin-resistant Enterococcus faecium in a pediatric unit at a Turkish university hospital. *J Antimicrob Chemother* 2008; **61**(5): 1033-1039.
50. Erlandson KM, Sun J, Iwen PC, Rupp ME. Impact of the more-potent antibiotics quinupristin-dalfopristin and linezolid on outcome measure of patients with vancomycin-resistant Enterococcus bacteremia. *Clin Infect Dis* 2008; **46**(1): 30-36.
51. Fabretti F, Theilacker C, Baldassarri L, Kaczynski Z, Kropec A, Holst O ve ark. Alanine esters of enterococcal lipoteichoic acid play a role in biofilm formation and resistance to antimicrobial peptides. *Infect Immun* 2006; **74**(7): 4164-4171.
52. Fakoorziba MR, Eghbal F, Hassanzadeh J, Moemenbellah-Fard MD. Cockroaches (Periplaneta americana and Blattella germanica) as potential vectors of the pathogenic bacteria found in nosocomial infections. *Ann Trop Med Parasitol* 2010; **104**(6): 521-528.
53. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. *Microbiology* 2009; 155(6), 1749-1757.
54. Flahaut S, Hartke A, Giard JC, Auffray Y. Alkaline stress response in Enterococcus faecalis: adaptation, cross-protection, and changes in protein synthesis. *Appl Environ Microbiol* 1997; **63**(2): 812-814.
55. Flahaut S, Hartke A, Giard JC, Benachour A, Boutibonnes P, Auffray Y. Relationship between stress response towards bile salts, acid and heat treatment in Enterococcus faecalis. *FEMS Microbiol Lett* 1996; **138**(1): 49-54.
56. Fotedar R, Banerjee U, Singh S, Verma AK. The housefly (Musca domestica) as a carrier of pathogenic microorganisms in a hospital environment. *J Hosp Infect 1992;* **20**(3): 209-215.
57. Frankenberg L, Brugna M, Hederstedt L. Enterococcus faecalis heme-dependent catalase. *J. Bacteriol* **184**(22): 6351-6356.
58. Furtado GHC, Mendes RE, Pignatari ACC, Wey SB, Medeiros EAS. Risk factors for vancomycin-resistant Enterococcus faecalis bacteremia in hospitalized patients: an analysis of two case-control studies. *Am J Infect Control* 2006; **34**(7): 447-451.
59. Gambarotto K, Ploy MC, Turlure P, Grélaud C, Martin C, Bordessoule D ve ark. Prevalance of vancomycinresistant enterococci in fecal samples from hospitalized patients and nonhospitalized controls in a Cattle-Rearing area of France. *J Clin Microbiol* 2000; **38**(2): 620-624.
60. Garsin DA, Frank KL, Silanpää J, Ausubel FM, Hartke A, Shankar N. ve ark. Pathogenesis and Models of Enterococcal Infection. İçinde: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y ve ark. editörler. Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [web page on the Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; Erişim Tarihi (10.08.2015), https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190424/

61. *Genus Enterococcus* [web page on the Internet] Erişim Tarihi (20.02.2017), List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature: http://www.bacterio.net/enterococcus.html
62. Gilmore MS, Lebreton F, van Schaik W. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. *Curr Opin Microbiol 2013;* **16**(1): 10-16.
63. Gonçalves A, Igrejas G, Radhouani H, Correia S, Pacheco R, Santos T ve ark. Antimicrobial resistance in faecal enterococci and Escherichia coli isolates recovered from Iberian wolf. *Lett Appl Microbiol* 2013; **56**(4): 268-274.
64. Griffith CJ, Cooper RA, Gilmore J, Davies C, Lewis M. An evaluation of hospital cleaning regimes and standards. *J Hosp Infect* 2000; **45**(1): 19-28.
65. Griffiths C, Lamagni TL, Crowcroft NS, Duckworth G, Rooney C. Trends in MRSA in England and Wales: analysis of morbidity and mortality data for 1993-2002. *Health Stat Q* 2004; **21**: 15-22.
66. Güdücüoğlu H, Aktaş E, Cömert FB, Aygül K, Özlü N, Baykal S ve ark. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Pediatri Servisinde vankomisine dirençli enterokokların ilk izolasyonu ve çoğul klonların tespiti. *Mikrobiyol Bul* 2009; **43**(4): 535-43.
67. Güldemir D, Karagöz A, Dal T, Tekin A, Özekinci T, Durmaz R. Hastane kaynaklı enterokok izolatlarının pulsed-field jel elektroforezis yöntemiyle moleküler tiplendirilmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2015; **72**(1): 1-10.
68. Hammerum AM. Enterococci of animal origin and their significance for public health.
*Clin Microbiol Infec*t 2012; **18**(7): 619-625.
69. Handwerger S, Raucher B, Altarac D, Monka J, Marchione S, Singh KV ve ark. Nosocomial outbreak due to Enterococcus faecium highly resistant to vancomycin, penicillin and gentamicin. *Clin Infect Dis* 1993; **16**(6): 750-755.
70. Hashimoto Y, Tanimoto K, Ozawa Y, Murata T, Ike Y. Amino acid substitutions in the VanS sensor of the VanA-type vancomycin-resistant Enterococcus strains result in high-level vancomycin resistance and low-level teicoplanin resistance. *FEMS Microbiol Lett* 2000; **185**(2): 247-254.
71. Hayashi H, Takahashi R, Nishi T, Sakamoto M, Benno Y. Molecular analysis of jejunal, ileal, caecal and recto-sigmoidal human colonic microbiota using 16S rRNA gene libraries and terminal restriction fragment length polymorphism. *J Med Microbiol* 2005; **54**(11): 1093-1101.
72. Hegstad K, Mikalsen T, Coque TM, Werner G, Sundsfjord A. Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium. *Clin Microbiol Infect* 2010; **16**(6): 541-554.
73. Hendrickx AP, van Luit-Asbroek M, Schapendonk CM, van Wamel WJ, Braat JC, Wijnands LM ve ark. SgrA, a nidogen-binding LPXTG surface adhesin implicated in biofilm formation, and EcbA, a collagen binding MSCRAMM, are two novel adhesins of hospital-acquired Enterococcus faecium. *Infect Immun* 2009; **77**(11): 5097-5106.
74. Hendrickx AP, van Wamel WJ, Posthuma G, Bonten MJ, Willems RJ. Five genes encoding surface-exposed LPXTG proteins are enriched in hospital-adapted Enterococcus faecium clonal complex 17 isolates. *J Bacteriol* 2007; **189**(22): 8321-8332.

75. Hollenbeck BL, Rice LB. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence* 2012; **3**(5): 421-569.
76. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; **16**: 105-113.
77. Huang SS, Datta R, Platt R. Risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria from prior room occupants. *Arch Intern Med* 2006; **166**(18): 1945-1951.
78. Hummel A, Holzapfel WH, Franz CM. Characterisation and transfer of antibiotic resistance genes from enterococci isolated from food. *Syst Appl Microbiol* 2007; **30**(1): 1-7.
79. Hutchings MI, Palmer T, Harrington DJ, Sutcliffe IC. Lipoprotein biogenesis in Gram-positive bacteria: knowing when to hold 'em, knowing when to fold 'em. *Trends Microbiol* 2009; **17**(1): 13-21.
80. Huycke M.M. Physiology of enterococci. İçinde Gilmore MS, Clewell DB, Courvalin P, Dunny GM, Murray BE, Rice LB. editörler. *The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance.* Washington DC: ASM Press; 2002. pp. 133-175.
81. Ieven M, Vercauteren E, Descheemaeker P, Van Laer F, Goossens H. Comparison of direct plating and broth enrichment culture for the detection of intestinal colonization by glycopeptide-resistant enterococci among hospitalized patients. *J Clin Microbiol* 1999; **37**(5): 1436-1440.
82. Jamet E, Akary E, Poisson MA, Chamba JF, Bertrand X, Serror P. Prevalence and characterization of antibiotic resistant Enterococcus faecalis in French cheeses. *Food microbiology* 2012; **31**(2): 191-198.
83. Joensen KG, Scheutz F, Lund O, Hasman H, Kaas RS, Nielsen EM ve ark. Real-time whole-genome sequencing for routine typing, surveillance, and outbreak detection of verotoxigenic Escherichia coli. *J Clin Microbiol* 2014; **52**(5): 1501-1510.
84. Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of Enterococcus faecalis: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; **15**(5): 308-320.
85. Kılıç A, Şenses Z, Aydoğan H, Başustaoğlu A. Klinik örnekleden izole edilen vankomisin dirençli enterokokların moleküler analizi. *Mikrobiyol Bul* 2006; **40**: 295-299.
86. Kim WJ, Weinstein RA, Hayden MK. The changing molecular epidemiology and establishment of endemicity of vancomycin resistance in enterococci at one hospital over a 7-year period. *J Infect Dis* 1999; **179**(1): 163-171.
87. Kim YJ, Kim SI, Kim YR, Lee JY, Park YJ, Kang MW. Risk factors for vancomycin-resistant enterococci infection and mortality in colonized patients on intensive care unit admission. *Am J Infect Control* 2012; **40**(10): 1018-1019.
88. Klare I, Konstabel C, Badstübner D, Werner G, Witte W. Occurrence and spread of antibiotic resistances in Enterococcus faecium. *Int J Food Microbiol* 2003; **88**(2): 269-290.
89. Kozlowicz BK, Dworkin M, Dunny GM. Pheromone-inducible conjugation in Enterococcus faecalis: a model for the evolution of biological complexity?. *Int J Med Microbiol* 2006; **296**(2): 141-147.
90. Körkoca H, Berktaş M, Durmaz R, Gürsoy NC. The research of clonal relationship among Aeromonas strains isolated from human, animal and drinking water by pfge. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2013; **19**(2): 271-276.

91. Kristich CJ, Rice LB, Arias CA. Enterococcal Infection—Treatment and Antibiotic Resistance. İçinde: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y ve ark. editörler. Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [web page on the Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; Erişim Tarihi (10.08.2015), https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190424/
92. Lancefield RC. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J Exp Med* 1933; **57**(4): 571-595.
93. Landerslev KG, Jakobsen L, Olsen SS, Pedersen MB, Kristensen B, Lemming LE ve ark. Polyclonal spread of vanA Enterococcus faecium in Central Denmark Region, 2009–2013, investigated using PFGE, MLST and WGS. *Int J Antimicrob Agents* 2016; **48**(6): 767-768.
94. Landman D, Quale JM, Oydna E, Willey B, Ditore V, Zaman M ve ark. Comparison of selective media for identifiying fecal carriage of vancomycinresistant enterococci. *J Clin Microbiol* 1996; **34**(3): 751-752.
95. Lauderdale TL, McDonald LC, Shiau YR, Chen PC, Wang HY, Lai JF ve ark. Vancomycin-resistant enterococci from humans and retail chickens in Taiwan with unique VanB phenotype-vanA genotype incongruence. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46**(2): 525-527.
96. Layton BA, Walters SP, Lam LH, Boehm AB. Enterococcus species distribution among human and animal hosts using multiplex PCR. *J Appl Microbiol* 2010; **109**(2): 539-547.
97. Leavis H, Top J, Shankar N, Borgen K, Bonten M, van Embden J ve ark. A novel putative enterococcal pathogenicity island linked to the esp virulence gene of Enterococcus faecium and associated with epidemicity. *J Bacteriol* 2004; **186**(3): 672-682.
98. Lebreton F, Willems RJL, Gilmore MS. *Enterococcus Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization*. İçinde: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y ve ark. editörler. Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection web page on the Internet].Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; Erişim Tarihi (10.08.2015), https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190424/
99. Lee SC, Wu MS, Shih HJ, Huang SH, Chiou MJ, See, LC ve ark. Identification of vancomycin-resistant enterococci clones and inter-hospital spread during an outbreak in Taiwan. *BMC Infect Dis* 2013; **13**(1): 163-168.
100. Lee WG, Huh JY, Cho SR, Lim YA. Reduction in glycopeptide resistance in vancomycin-resistant enterococci as a result of vanA cluster rearrangements. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**(4):1379-1381.
101. Leekitcharoenphon P, Nielsen EM, Kaas RS, Lund O, Aarestrup FM. Evaluation of whole genome sequencing for outbreak detection of Salmonella enterica. *PloS one* 2014; **9**(2): e87991.
102. Leendertse M, Willems RJ, Flierman R, De Vos AF, Bonten MJ, Van Der Poll T. The complement system facilitates clearance of Enterococcus faecium during murine peritonitis. *J Infect Dis* 2010; **201**: 544-552.
103. Leendertse M, Willems RJ, Giebelen IA, Roelofs JJ, Bonten MJ, Van Der Poll T. Neutrophils are essential for rapid clearance of Enterococcus faecium in mice. *Infect Immun* 2009; **77**: 485-491.
104. Leendertse M, Willems RJ, Giebelen IA, Roelofs JJ, van Rooijen N, Bonten MJ ve ark. Peritoneal macrophages are important for the early containment of Enterococcus faecium peritonitis in mice. *Innate Immun* 2009; **15**: 3-12.

105. Leendertse M, Willems RJ, Giebelen IA, van den Pangaart PS, Wiersinga WJ, de Vos AF ve ark. TLR2-dependent MyD88 signaling contributes to early host defense in murine Enterococcus faecium peritonitis. *J Immunol* 2008; **180**: 4865-4874.
106. Lefort A, Mainandi JL, Tod M, Lortholory O. Antienterococcal antibiotics. *Med Clin North Ame* 2000; **6**:1471-1495.
107. Lewis T, Loman NJ, Bingle L, Jumaa P, Weinstock GM, Mortiboy D ve ark. High-throughput whole-genome sequencing to dissect the epidemiology of Acinetobacter baumannii isolates from a hospital outbreak. *J Hosp Infect* 2010; **75**(1): 37-41.
108. Lin T, Lin L, Zhang F. Review on molecular typing methods of pathogens. *Open J Med Microbiol* 2014; **4**(03): 147-152.
109. Liu Q, Ponnuraj K, Xu Y, Ganesh VK, Sillanpää J, Murray BE ve ark. The Enterococcus faecalis MSCRAMM ACE binds its ligand by the Collagen Hug model. *J Biol Chem* 2007; **282**(27): 19629-19637.
110. Liu Y, Cao B, Gu L, Liu K, Feng Z. Successful control of vancomycin-resistant Enterococcus faecium nosocomial outbreak in a teaching hospital in China. *Am J Infect Control* 2012; **40**(6): 568-571.
111. Long KS, Poehlsgaard J, Kehrenberg C, Schwarz S, Vester B. The Cfr rRNA methyltransferase confers resistance to phenicols, lincosamides, oxazolidinones, pleuromutilins, and streptogramin A antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**(7): 2500-2505.
112. Lytsy B, Engstrand L, Gustafsson A, Kaden R. Time to review the gold standard for genotyping vancomycin-resistant enterococci in epidemiology: Comparing whole-genome sequencing with PFGE and MLST in three suspected outbreaks in Sweden during 2013-2015. *Infect Genet Evo* 2017; **54**: 74-80.
113. Ma X, Kudo M, Takahashi A, Tanimoto K, Ike Y. Evidence of nosocomial infection in Japan caused by high-level gentamicin-resistant Enterococcus faecalis and identification of the pheromone-responsive conjugative plasmid encoding gentamicin resistance. *J Clin Microbiol* **36**(9): 2460-2464.
114. Maekawa S, Habadera S. Comparative distribution of the serotypes of Enterococcus faecalis isolated from the urine of patients with urinary tract infections and the feces of healthy persons as determined by the slide agglutination reaction. *Kansenshogaku Zasshi* 1996; **70**(2): 168–174.
115. Maria da Glória SC, Shewmaker PL, Steigerwalt AG, Morey RE, Sampson AJ, Joyce K ve ark. Enterococcus caccae sp. nov., isolated from human stools. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006; **56**(7): 1505-1508.
116. Marinho C, Silva N, Pombo S, Santos T, Monteiro R, Gonçalves A, Poeta P. Echinoderms from Azores islands: an unexpected source of antibiotic resistant Enterococcus spp. and Escherichia coli isolates. *Mar Pollut Bull* 2013; **69**(1), 122-127.
117. Marothi YA, Agnihotri H, Dubey D. Enterococcal resistance-an overview. *Indian J Med Microbiol* 2005; **23**(4): 241-249.
118. Marshall SH, Donskey CJ, Hutton-Thomas R, Salata RA, Rice LB. Gene dosage and linezolid resistance in Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; **46**(10): 3334-3336.
119. Martin JD, Mundt JO. Enterococci in insects. *J Appl Microbiol* 1972; **24**(4): 575-580.

120. Mazmanian SK, Liu G, Ton-That H, Schneewind O. Staphylococcus aureus sortase, an enzyme that anchors surface proteins to the cell wall. *Science* 1999; **285**(5428): 760-763.
121. McBride SM, Fischetti VA, LeBlanc DJ, Moellering Jr RC, Gilmore MS. Genetic diversity among Enterococcus faecalis. *PloS one* 2007; **2**(7): e582.
122. McDonald LC, Rossiter S, Mackinson C, Wang YY, Johnson S, Sullivan M ve ark. Quinupristin-dalfopristin–resistant Enterococcus faecium on chicken and in human stool specimens. *N Engl J Med* 2001; **345**(16): 1155-1160.
123. McKessar SJ, Berry AM, Bell JM, Turnidge JD, Paton JC. Genetic characterization of vanG, a novel vancomycin resistance locus of Enterococcus faecalis. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; **44**(11): 3224-3228.
124. Mesnage S, Chau F, Dubost L, Arthur M Role of N-acetylglucosaminidase and N-acetylmuramidase activities in Enterococcus faecalis peptidoglycan metabolism. *J Biol Chem* 2008; **283**(28): 19845-19853.
125. Mete E, Kaleli İ, Cevahir N, Demir M, Akkaya Y, Satılmış ÖK. Enterokok Türlerinin Virulans Faktörlerinin Araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2017; **51**(2): 101-114.
126. Miller WR, Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibioticresistance in enterococci. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2014; **12**(10), 1221–1236.
127. Miller WR, Murray BE, Rice LB, Arias CA. Vancomycin-Resistant Enterococci: Therapeutic Challenges in the 21st Century. *Infect Dis Clin North Am* 2016; **30**(2): 415-439.
128. Mundt JO. Occurrence of enterococci in animals in a wild environment. *Appl Microbiol* 1963; **11**(2): 136-140.
129. Mundy LM, Sahm DF, Gilmore M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2000; **13**(4): 513-22.
130. Murray BE, Mederski-Samaroj B. Transferable beta-lactamase. A new mechanism for in vitro penicillin resistance in Streptococcus faecalis. *J Clin Invest* 1983; **72**(3): 1168-1171.
131. Murray BE, Singh KV, Heath JD, Sharma BR, Weinstock GM. Comparison of genomic DNAs of different enterococcal isolates using restriction endonucleases with infrequent recognition sites. *J Clin Microbiol* 1990; **28**(9): 2059-2063.
132. Murray BE. Beta-lactamase-producing enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; **36**(11): 2355-2359.
133. Murray BE. Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis*. 1998; **4**(1): 37-47.
134. Murray BE. The life and times Enterococcus Clin Microbiol Rev. 1990; 3(1): 46-65
135. Nallapareddy SR, Duh RW, Singh KV, Murray BE. Molecular typing of selected Enterococcus faecalis isolates: pilot study using multilocus sequence typing and pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 2002; **40**(3): 868-876.
136. Nallapareddy SR, Singh KV, Duh RW, Weinstock GM, Murray BE. Diversity of ace, a gene encoding a microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules, from different strains of Enterococcus faecalis and evidence for production of ace during human infections. *Infect Immun* 2000; **68**(9):5210-5217.
137. Nallapareddy SR, Weinstock GM, Murray BE. Clinical isolates of Enterococcus faecium exhibit strain-specific collagen binding mediated by Acm, a new member of the MSCRAMM family. *Mol Microbiol* 2003; **47**(6): 1733-1747.

138. National Nosocomial Infections Surveillance System. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004; **32**: 470-485
139. Navarre WW, Schneewind O. Surface proteins of gram-positive bacteria and mechanisms of their targeting to the cell wall envelope. *Microbiol Mol Biol Rev* 1999; **63**(1): 174-229.
140. Naz H, Aykın N, Çevik FÇ. Eskişehir Yunus Emre Devlet Hastanesi'nde yatan hastalarda antibiyotik kullanımına yönelik kesitsel araştırma. *ANKEM Derg* 2006; **20**(3): 137-140.
141. Neely AN, Maley MP. Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastic. *J Clin Microbiol* 2000; **38**(2): 724-726.
142. Nelson RRS, McGregor KF, Brown AR, Amyes SGB, Young HK. Isolation and characterization of glycopeptide-resistant enterococci from hospitalized patients over a 30-month period. *J Clin Microbiol* 2000; **38**(6): 2112-2116.
143. Nilsson O. Vancomycin resistant enterococci in farm animals-occurrence and importance. *Infect Ecol Epidemiol* 2012; **2**: 1-8.
144. Nomura T, Tanimoto K, Shibayama K, Arakawa Y, Fujimoto S, Ike Y ve ark. Identification of vanN-type vancomycin resistance in an Enterococcus faecium isolate from chicken meat in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; **56**(12): 6389-6392.
145. Nowakiewicz A, Ziółkowska G, Trościańczyk A, Zięba P, Gnat S. Determination of resistance and virulence genes in Enterococcus faecalis and E. faecium strains isolated from poultry and their genotypic characterization by ADSRRS-fingerprinting. *Poultry science* 2017; **96**(4), 986-996.
146. O'Driscoll T, Crank CW. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infect Drug Resis*t 2015; **8:** 217-230.
147. Ohl M, Schweizer M, Graham M, Heilmann K, Boyken L, Diekema D. Hospital privacy curtains are frequently and rapidly contaminated with potentially pathogenic bacteria. *Am J Infect Control* 2012; **40**(10): 904-906.
148. Ongut G, Kilinckaya H, Baysan BO, Ogunc D, Colak D, Inan D ve ark. Evaluation of Brilliance VRE agar for the detection of vancomycin-resistant enterococci in rectal swab specimens. *J Med Microbiol* 2013; **62**(4): 661-662.
149. Ostrolenk M, Hunter AC. The distribution of enteric streptococci. *J Bacteriol* 1946; **51**(6): 735-741.
150. Osuka H, Nakajima J, Oishi T, Funayama Y, Ebihara T, Ishikawa H ve ark. High-level aminoglycoside resistance in Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium causing invasive infection: Twelve-year surveillance in the Minami Ibaraki Area. *J Infect Chemother* 2016; **22**(1): 61-63.
151. Palmer KL, Kos VN, Gilmore MS. Horizontal gene transfer and the genomics of enterococcal antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol* 2010; **13**(5): 632-639.
152. Patel R. Clinical impact of vancomycin-resistant enterococci. *J Antimicrob Chemother* 2003; **51**: 13-21.
153. Paulsen IT, Banerjei L, Myers GSA, Nelson KE, Seshadri R, Read TD ve ark. Role of mobile DNA in the evolution of vancomycin-resistant Enterococcus faecalis. *Science* 2003; **299**(5615): 2071-2074.
154. Pfaller MA, Sader HS, Jones RN. Evaluation of the in vitro activity of daptomycin against 19615 clinical isolates of Gram-positive cocci collected in

North American hospitals (2002–2005). Diagn Microbiol Infect Dis 2007; **57**(4): 459-465.

155. Pompei R, Thaller MC, Pittaluga F, Flore O, Satta G. Analysis of bacteriolytic activity patterns, a novel approach to the taxonomy of enterococci. *Int J Syst Evol Microbiol* 1992; **42**(1): 37-43.
156. Qin X, Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. Characterization of fsr, a regulator controlling expression of gelatinase and serine protease in Enterococcus faecalis OG1RF. *J. Bacteriol.* 2001; **183**: 3372-3382.
157. Qin X, Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. Effects of Enterococcus faecalis fsr genes on production of gelatinase and a serine protease and virulence. *Infect. Immun.* 2000; **68**: 2579-2586.
158. Rhinehart E, Smith NE, Wennersten C, Gorss E, Freeman J, Eliopoulos GM ve ark. Rapid Dissemination of β-Lactamase–Producing, Aminoglycoside-Resistant Enterococcus faecalis among Patients and Staff on an Infant–Toddler Surgical Ward. *N Engl J Med* 1990; **323**(26): 1814-1818.
159. Rice LB. Tn916 family conjugative transposons and dissemination of antimicrobial resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; **42**(8): 1871-1877.
160. Rich RL, Kreikemeyer B, Owens RT, LaBrenz S, Narayana SV, Weinstock GM ve ark. Ace is a collagen-binding MSCRAMM from Enterococcus faecalis. *J Biol Chem* 1999; **274**(38): 26939-26945.
161. Rodríguez-Martínez JM, Velasco C, Briales A, Garcia I, Conejo MC, Pascual A. Qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2008; **61**(6): 1240-1243.
162. Ryan L, O'Mahony E, Wrenn C, FitzGerald S, Fox U, Boyle B ve ark. Epidemiology and molecular typing of VRE bloodstream isolates in an Irish tertiary care hospital. *J Antimicrob Chemother* 2015; **70**(10): 2718-2724.
163. Saba R, Inan D, Turhan Ö, Yalcin AN, Günseren F, Mamıkoğlu L. Surveillance of antimicrobial use in a Turkish university hospital. *Turk J Med Sci* 2011; **41**(4): 701-710.
164. Sabat AJ, Budimir A, Nashev D, Sá-Leão R, Van Dijl JM, Laurent F ve ark. Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Euro Surveill* 2013; **18**(4): 17-30.
165. Saçar S, Toprak Kavas S, Asan A, Hırçın Cenger D, Turgut H. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde antibiyotik kullanımına ilişkin nokta prevalans çalışması. ANKEM Derg 2006; **20**(4): 217-21.
166. Sader HS, Watters AA, Fritsche TR ve ark. Daptomycin antimicrobial activity tested against methicillin-resistant staphylococci and vancomycin-resistant enterococci isolated in European medical centers (2005). *BMC Infect Dis* 2007*;* **7**(1): 29-37.
167. Sader HS, Streit JM, Fritsche TR, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria isolated from European medical centres: results of the Daptomycin Surveillance Programme (2002–2004). *Clin Microbiol Infect* 2006; **12**(9): 844-852.
168. Salipante SJ, SenGupta DJ, Cummings LA, Land TA, Hoogestraat DR, Cookson BT. Application of whole-genome sequencing for bacterial strain typing in molecular epidemiology. J Clin Microbiol 2015; **53**(4): 1072-1079.
169. Sava IG, Heikens E, Huebner J. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections. *Clin Microbiol Infect.* 2010; **16**(6): 533-40.

170. Scheb-Wetzel M, Rohde M, Bravo A, Goldmann O. New insights into the antimicrobial effect of mast cells against Enterococcus faecalis. *Infect Immun* 2014; **82**(11): 4496-4507.
171. Schleifer KH, Kilpper-Bälz R. Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the Genus Enterococcus nom. rev. as Enterococcus faecalis comb. nov. and Enterococcus faecium comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*; 1984; 34(1), 31-34.
172. Sghir A, Gramet G, Suau A, Rochet V, Pochart P, Dore J. Quantification of bacterial groups within human fecal flora by oligonucleotide probe hybridization. *Appl Environ Microbiol* 2000; **66**(5): 2263-2266.
173. Shankar V, Baghdayan AS, Huycke MM, Lindahl G. Gilmore MS. Infection-derived Enterococcus faecalisstrains are enriched in esp, a gene encoding a novel surface protein. *Infect Immun* 1999; **67**(1): 193-200.
174. Shokoohizadeh L, Mobarez AM, Zali MR, Ranjbar R, Alebouyeh M, Sakinc T ve ark. High frequency distribution of heterogeneous vancomycin resistant Enterococcous faecium (VRE fm) in Iranian hospitals. *Diagn Pathol* 2013; **8**(1): 163-167.
175. Sillanpää J, Nallapareddy SR, Houston J, Ganesh VK, Bourgogne A, Singh KV ve ark. A family of fibrinogen-binding MSCRAMMs from Enterococcus faecalis. *Microbiology* 2009; **155**(7): 2390-2400.
176. Sillanpää J, Nallapareddy SR, Prakash VP, Qin X, Höök M, Weinstock GM ve ark. Identification and phenotypic characterization of a second collagen adhesin, Scm, and genome-based identification and analysis of 13 other predicted MSCRAMMs, including four distinct pilus loci, in Enterococcus faecium. *Microbiology* 2008; **154**(10): 3199-3211.
177. Silverman JA, Oliver N, Andrew T, Li T. Resistance studies with daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45**(6): 1799-1802.
178. Silverman JA, Perlmutter NG, Shapiro HM. Correlation of daptomycin bactericidal activity and membrane depolarization in Staphylococcus aureus. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47**(8): 2538-2544.
179. Simonsen GS, Myhre MR, Dahl KH, Olsvik O, Sundsfjord A. Typeability of Tn1546-like elements in vancomycin-resistant enterococci using long-range PCRs and specific analysis of polymorphic regions. *Microb Drug Resist* 2000; **6**(1): 49-57.
180. Smyth CJ, Matthews H, Halpenny MK, Brandis H, Colman G. Biotyping, serotyping and phage typing of Streptococcus faecalis isolated from dental plaque in the human mouth. *J Med Microbiol* 1987; ***23***(1): 45-54.
181. Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A. Enterococcal infections & antimicrobial resistance. *Indian J Med Res* 2008; **128**(2): 111-121.
182. Stępień-Pyśniak D, Marek A, Banach T, Adaszek Ł, Pyzik E, Wilczyński J, Winiarczyk S. Prevalence and antibiotic resistance of Enterococcus strains isolated from poultry. *Acta Vet Hung* 2016; **64**(2): 148-163.
183. Stosor V, Kruszynski J, Suriano T, Noskin GA, Peterson LR. Molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci: a 2-year perspective. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; **20**(10): 653-659.
184. Summary of the latest data on antibiotic resistance in the European Union, EARS-Net surveillance data November 2016. [web page on the Internet] Erişim Tarihi (01.11.2017), European Centre for Disease Prevention and Control

https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/antibiotics-EARS-Net-summary-2016_0.pdf

185. Sun H, Wang H, Xu Y, Jones RN, Costello AJ, Liu Y ve ark. Molecular characterization of vancomycin-resistant Enterococcus spp. clinical isolates recovered from hospitalized patients among several medical institutions in China. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; **74**(4): 399-403.
186. Süßmuth SD, Muscholl-Silberhorn A, Wirth R, Susa M, Marre R, RozdzinskiE. Aggregation substance promotes adherence, phagocytosis, and intracellular survival of Enterococcus faecalis within human macrophages and suppresses respiratory burst. *Infect Immun* 2000; **68**(9): 4900-4906.
187. Svec P, Devriese LA, Sedlacek I, Baele M, Vancanneyt M, Haesebrouck F ve ark. Enterococcus haemoperoxidus sp. nov. and Enterococcus moraviensis sp. nov., isolated from water. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; **51**(4): 1567-1574.
188. Swoboda JG, Meredith TC, Campbell J, Brown S, Suzuki T, Bollenbach T ve ark. Discovery of a small molecule that blocks wall teichoic acid biosynthesis in Staphylococcus aureus. A*CS Chem Biol* 2009; **4**(10): 875-883.
189. Teixeira LM, Facklam RR. Enterococcus in *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections.*10th ed. Chichester: John Wiley & Sons; 2007. pp. 882-903.
190. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. *Cell Mol Life Sci.* 2003; **60**(12): 2622-36.
191. Teng F, Singh KV, Bourgogne A, Zeng J, Murray BE. Further characterization of the epa gene cluster and Epa polysaccharides of Enterococcus faecalis. *Infect Immun* 2009; **77**(9): 3759–3767.
192. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH ve ark. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; **33**(9): 2233-2239.
193. Theilacker C, Kaczynski Z, Kropec A, Fabretti F, Sange T, Holst O ve ark. Opsonic antibodies to Enterococcus faecalis strain 12030 are directed against lipoteichoic acid. *Infect Immun* 2006; **74**(10): 5703-5712.
194. Thomas VC, Hiromasa Y, Harms N, Thurlow L, Tomich J, Hancock LE. A fratricidal mechanism is responsible for eDNA release and contributes to biofilm development of Enterococcus faecalis. *Mol Microbiol* 2009; **72**(4): 1022-1036.
195. Thurlow LR, Thomas VC, Fleming SD, Hancock LE. Enterococcus faecalis capsular polysaccharide serotypes C and D and their contributions to host innate immune evasion. *Infect Immun* 2009; **77**(12): 5551-5557.
196. Ton-That H, Schneewind O. Assembly of pili on the surface of Corynebacterium diphtheriae. *Mol Microbiol* 2003; **50**(4): 1429-1438.
197. Torun MM, Altınkum MS, Bahar H, Kocagöz S, Biçer P, Demirci M. Vankomisine dirençli Enterococcus faecium kökenlerinde genotipik ve fenotipik özelliklerin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005; **35**(3): 153-158.
198. Ulusal hastane enfeksiyonları sürveyans ağı özet raporu. [web page on the Internet] Erişim Tarihi (07.12.2016), http://mikrobiyoloji.thsk.saglik.gov.tr/ulusal-raporar.html?download=529:2015-ulusal-ozet-raporu
199. Upadhyaya PG, Ravikumar KL, Umapathy BL. Review of virulence factors of enterococcus: an emerging nosocomial pathogen. *Indian J Med Microbiol* 2009; **27**(4), 301-305.

200. Van Belkum A, Tassios PT, Dijkshoorn L, Haeggman S, Cookson B, Fry NK ve ark. Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clin Microbiol Infect* 2007; **13**(3): 1-46.
201. van den Bogaard AE, Jensen LB, Stobberingh EE. Vancomycin-resistant enterococci in turkeys and farmers. *N Engl J Med* 1997; **337**(21): 1558-1559.
202. Van Tyne D, Gilmore M. Friend turned foe: evolution of enterococcal virulence and antibiotic resistance. *Annu Rev Microbiol* 2014; **68**: 337-356.
203. Van Tyne D, Martin MJ, Gilmore MS. Structure, function, and biology of the Enterococcus faecalis cytolysin. *Toxins* 2013; **5**(5): 895-911.
204. Versporten A, Bolokhovets G, Ghazaryan L, Abilova V, Pyshnik G, Spasojevic T ve ark. Antibiotic use in eastern Europe: a cross-national database study in coordination with the WHO Regional Office for Europe. *Lancet Infect Dis* 2014; **14**(5): 381-387.
205. Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M ve ark. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res* 1995; **23**(21): 4407-4414.
206. Wayne, P. A. USA: CLSI; 2012. *Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Second Informational Supplement. CLSI Document M100-S22*.
207. Werner G, Coque TM, Franz CM, Grohmann E, Hegstad K, Jensen L ve ark. Antibiotic resistant enterococci—tales of a drug resistance gene trafficker. *Int J Med Microbiol* 2013; **303**(6): 360-379.
208. Wicken AJ, Elliott SD, Baddiley J. The identity of streptococcal group D antigen with teichoic acid. *Microbiology* 1963; **31**(2): 231-239.
209. Xu X, Lin D, Yan G, Ye X, Wu S, Guo Y ve ark. vanM, a new glycopeptide resistance gene cluster found in Enterococcus faecium. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54**(11): 4643-4647.
210. Yıldırım İH, Yıldırım SC, Koçak N. Molecular methods for bacterial genotyping and analyzed gene regions. *J Microbiol Infect Dis* 2011; **1**(01): 42-46.
211. Yiş R, Aslan S, Çıtak Ç, Değirmenci S. Gaziantep Çocuk Hastanesinde vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonunun değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2011; **45**(4): 646-654.
212. Zaas A. K, Song X, Tucker P, Perl TM. Risk factors for development of vancomycin-resistant enterococcal bloodstream infection in patients with cancer who are colonized with vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 2002; **35**: 1139-1146.
213. Zapun A, Contreras-Martel C, Vernet T. Penicillin-binding proteins and β-lactam resistance. *FEMS Microbiol Rev* 2008; **32**(2): 361-385.
214. Zong Y, Xu Y, Liang X, Keene DR, Höök A, Gurusiddappa S ve ark. A 'Collagen Hug'model for Staphylococcus aureus CNA binding to collagen. *EMBO J* 2005; **24**(24): 4224-4236.

HAM VERİLER

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

VANKOMİSİNE DİRENÇLİ ENTEROKOKLARDA DEĞİŞKEN ALANLI (PULSED FİELD) JEL ELEKTROFOREZİ (PFGE) YÖNTEMİ İLE KLONAL İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%17	%13	%7	%6
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	%5
2	SAVAŞAN, Serap, KAYA, Osman, KIRKAN, Şükrü and ÇİFTÇİ, Alper. "Balık kökenli Enterococcus faecalis suşlarının antibiyotik dirençlilikleri", Ankara Üniversitesi, 2008. Yayın	%3
3	istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	%2
4	acikarsiv.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
5	Submitted to Yüzüncü Yıl Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
6	www.mikrobiyolbul.org İnternet Kaynağı	<%1
7	Submitted to Adnan Menderes Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı : 1375 **Tarih : 28.08.2012**

Konu : Prof. Dr. M.Derya AYDIN hk,

Sayın Prof. Dr. M. Derya AYDIN
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi :Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalının 20/07/2012 gün ve 704 sayılı yazısı

Sorumlu araştırıcılığını üstlendiğiniz ve Doktora öğrencisi Kutay SARSAR'in yürüteceği 2012/1298-1170 dosya numaralı "Vankomisine dirençli enterokoklarda değişken alanlı (Pulsed Field) jel elektroforezi (PFGE) yöntemi ile klonal ilişkinin araştırılması" başlıklı çalışma kurulumuzun 10.08.2012 tarihli 13 sayılı toplantısında etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

PATENT HAKKI İZNİ

TELİF HAKKI İZNİ

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Kutay	**Soyadı**	Sarsar
Doğ.Yeri	İstanbul	**Doğ.Tar.**	25.12.1983
Uyruğu	T.C.	**TC Kim No**	
Email	kutay.sarsar@istanbul.edu.tr	**Tel**	

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Doktora	İstanbul Üniversitesi-İTF-Mikrobiyoloji	2018
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi-İTF-Mikrobiyoloji	2008
Lisans	Trakya Üniversitesi-Biyoloji	2004
Lise	Şişli Kurtuluş Lisesi	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1.	Biyolog	İstanbul Üniversitesi	2009-devam
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**(Diğer) Puanı**
İngilizce	İyi	Orta	Orta		YÖKDİL-75

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft Office	İyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Sarsar K, Aydın MD. Steril piyürili kadınlarda Ureaplasma urealyticum ve Mycoplasma hominis varlığının araştırılması. ANKEM Derg 2010;24:82-5.

Akman A, Sarsar K, Kipritçi Ö, Aydın MD. Ürogenital sistemden izole edilen Ureaplasma urealyticum suşlarının tetrasiklin, makrolid ve kinolon grubu antibiyotiklere direnç oranları: 2001-2007 ANKEM Derg 2008;22ek1:41 (Poster)

Sarsar K, Aydın MD. Steril piyürili hastalarda Ureaplasma urealyticum ve Mycoplasma hominis'in araştırılması. ANKEM Derg 2009;23ek1:88 (Poster)

Sarsar K, Önder N, Özkan A, Aydın MD. Ürogenital sistemden izole edilen Ureaplasma urealyticum suşlarının antibiyotik direnç oranları: 2007-2011 ANKEM Derg 2011;25ek1:60 (Poster)

Akbulut K, Sarsar K, Aygün B, Aktaş Z, Kayacan Ç, Aydın MD.Transplantasyon Ünitesi'nden gönderilen idrar örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları: 2007-2011 ANKEM Derg 2012;26ek1:34 (Poster)

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

Sinema, Ekstrem sporlar