



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK
İZOLATLARINDA ÇEŞİTLİ VİRULANS VE DİRENÇ GENLERİNİN
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Şehristan IŞIK BAYTAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Eylül-2019
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK
İZOLATLARINDA ÇEŞİTLİ VİRULANS VE DİRENÇ GENLERİNİN VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Şehristan IŞIK BAYTAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman:
Doç. Dr. Hanifi KÖRKOCA

Eylül-2019
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Şehristan IŞIK BAYTAR tarafından hazırlanan “Yoğun Bakım Hastalarından İzole Edilen Enterokok İzolatlarında Çeşitli Virulans ve Direnç Genlerinin Varlığının Araştırılması” adlı tez çalışması 18/09/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Doç. Dr. Gülhan BORA

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi,
Eczacılık Temel Bilimleri Bölümü



Danışman

Doç. Dr. Hanifi KÖRKOCA

Muş Alparslan Üniversitesi,
Sağlık Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü



Üye

Dr. Öğretim Üyesi Yusuf ALAN

Muş Alparslan Üniversitesi,
Eğitim Fakültesi, Temel Eğitim Bölümü



Yukarıdaki sonuç;
Enstitü Yönetim Kurulu 19.09.2019 Tarih ve 28 / III nolu kararı
ile onaylanmıştır.


Doç. Dr. Sedat BOZARI
FBE Müdürü

*Bu tez çalışması Muş Alparslan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından MŞÜ15-SYO-G01 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all materials and results that are not original to this work.



Şehristan IŞIK BAYTAR
19/09/2019

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YOĞUN BAKIM HASTALARINDAN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK İZOLATLARINDA ÇEŞİTLİ VIRULANS VE DİRENÇ GENLERİNİN VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Şehristan IŞIK BAYTAR

Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hanifi KÖRKOCA

2019, 38 Sayfa

Jüri

Danışman: Doç. Dr. Hanifi KÖRKOCA

Jüri Üyesi: Doç. Dr. Gülhan BORA

Jüri Üyesi: Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN

Muş Devlet Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatan hastalardan izole edilen 83 enterokok suşunda direnç genlerinin ve çeşitli virulans genlerin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile araştırıldı. Çalışma sonucunda tüm izolatlarda VanA, VanB, VanC, *asaI*, *gelE*, *esp*, *agg*, *cylA*, *hyl*, *cfr*, *ace* genleri sırasıyla; 6 (%7.23), 0 (%0), 0 (%0), 25 (%30.12), 30 (%36.14), 29 (%34.94), 8 (%9.64), 19 (%22.89), 11 (%13.25), 0 (%0), 20 (%24.1) adet tespit edildi. Tür düzeyinde; *E. faecalis* suşlarında %54,84 oranıyla en fazla *gelE* geni, %3,23 oranıyla en az VanA geni tespit edilirken *E. faecium* suşlarında %32,69 oranıyla en fazla *esp* geni, %3,85 oranıyla en az *agg* geni tespit edildi. Sonuç olarak çoğunluğu vankomisine duyarlı olan izolatlarda önemli oranda virulans gen tespit edilmesi gerekli tedbirlerin alınması açısından dikkate değer bulundu.

Anahtar Kelimeler: Enterokok, yoğun bakım hastası, direnç ve virulans genleri.

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF VARIOUS VIRULANCE AND RESISTANCE GENES IN ENTEROCOCCI ISOLATES ISOLATED FROM INTENSIVE CARE PATIENTS

Şehristan IŞIK BAYTAR

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF MUS
ALPARSLAN UNIVERSITY

THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOLOGY SCIENCE

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Hanifi KÖRKOCA

2019, 38 Pages

Jury

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Hanifi KÖRKOCA

Jury Member: Assoc. Prof. Dr. Gülhan BORA

Jury Member: Dr. Yusuf ALAN

The presence of virulence genes in enterococci. For this purpose, the presence of resistance genes and various virulence genes in 83 enterococcus strains isolated from hospitalized patients in Muş State Hospital Intensive Care Unit were investigated by polymerase chain reaction (PCR) method. At the end of the study, VanA, VanB, VanC, *asaI*, *gelE*, *esp*, *agg*, *cylA*, *hyl*, *cfr*, *ace* genes were determined in all isolates; 6 (7.23%), 0 (0%), 0 (0%), 25 (30.12%), 30 (36.14%), 29 (34.94%), 8 (9.64%), 19 (22.89%), 11 (13.25%), 0 (0%) and 20 (24.1%) were detected in number. At the species level; In *E. faecalis* strains, the highest *gelE* gene was detected with 54.84% and the lowest VanA gene was detected with 3.23%. At the species level; In *faecalis* strains, the highest *gelE* gene was detected with 54.84% and the lowest VanA gene was detected with 3.23%; the highest *esp* gene was detected in *E. faecium* strains with 32.69% and the least *agg* gene was detected with 3.85%. As a result, the detection of significant virulence genes in most of the isolates susceptible to vancomycin was remarkable in terms of taking necessary precautions.

Key Words: Enterococci, intensive care patient, resistance and virulence genes.

TEŐEKKÖR

Tez çalıőmam boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Hanifi KÖRKOCA'ya teőekkör ederim. Tezin laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen İnönü Üniversitesi Tıp Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Barış OTLU'ya, tez çalıőmam boyunca sabır ve desteklerini esirgemeyen aileme ayrıca üniversitemiz Fen Bilimleri Enstitüsü çalıőanlarına teőekkör ederim.

Şehristan IŞIK BAYTAR-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGE LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Temel Bilgiler	2
1.2. İnsanlarda Enterokok Enfeksiyonları	2
1.2.1. Nazokomiyal enfeksiyonlar	3
1.3. Enterekoklarda Direnç Mekanizmaları	4
1.3.1. İntrensek direnç	4
1.3.2. Kazanılmış direnç	5
1.3.2.1. Glikopeptid direnci	6
1.3.2.1.1. Yüksek seviyede vankomisin direncinin mekanizması	7
1.3.2.2. Glikopeptid direnç fenotipleri ve Linezolid Direnci	8
1.3.2.2.1. VanA fenotipi	9
1.3.2.2.2. VanB fenotipi	10
1.3.2.2.3. VanC fenotipi	11
1.3.2.2.4. Linezolid Direnci (<i>cfr</i>)	11
1.4. Virulans faktörler	11
1.4.1. Agregasyon faktörü (Asa 1)	12
1.4.2. Enterokokal yüzey proteini (Esp)	12
1.4.3. Sitolizin (Cyl)	13
1.4.4. Jelatinaz (GelE)	13
1.4.5. Hyaluronidaz (Hyl)	14
1.4.6. Kollojen-bağlayıcı adhezin (MSCRAMMAce)	14
1.4.7. Agregasyon substansı (agg)	14
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Suşların İzolasyonu ve İdentifikasyonu	18
3.2. DNA Ekstraksiyonu ve PCR Amplifikasyon	18
3.3. İstatistiksel Analiz	19
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	20
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	31
5.1. Sonuçlar	31
5.2. Öneriler	31

7. KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ	39

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 1. 1. Antibiyotik grupları ve etki mekanizmaları	6
Çizelge 1. 2. Enterokoklarda glikopeptid direnç tipleri	7
Çizelge 3. 1. PCR amplifikasyonu için kullanılan primerler	19
Çizelge 4. 1. Her bir suş için tespit edilen genler.....	24

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. 1. Vankomisin antibiyotiğinin ve vankomisine dirençli enterokoklarda VanA direncinin hücre duvar öncülerine etki mekanizması	5
Şekil 1. 2. Vankomisin antibiyotiğinin ve vankomisine dirençli enterokoklarda VanA direncinin hücre duvar öncülerine etki mekanizma durumu	10
Şekil 4. 1. <i>ace</i> (1008 bç) geninin görüntüsü.....	20
Şekil 4. 2. <i>agg</i> (1553 bç), <i>cylA</i> (517 bç) genlerinin görüntüsü	21
Şekil 4. 3. <i>agg</i> (1553 bç), <i>cylA</i> (517 bç) genlerinin görüntüsü	21
Şekil 4. 4. <i>asa-1</i> (375 bç), <i>esp</i> (510 bç), <i>gele</i> (213 bç) genlerinin görüntüsü	22
Şekil 4. 5. <i>VanA</i> (732 bç), <i>VanB</i> (647 bç), <i>VanCI/C2</i> (815/827 bç) genlerinin görüntüsü.....	22
Şekil 4. 6. <i>cfr</i> (746 bç) geninin görüntüsü.....	23
Şekil 4. 7. <i>hyl</i> (276 bç) geninin görüntüsü	23
Şekil 4.8. Çalışmada kullanılan enterokok suşlarında tespit edilen genlerin tür düzeyinde dağılımı.....	26

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

Ace: Kollojen-bağlayıcı adhezin

Agg: Agregasyon substansı

BOS: Beyin omurilik sıvısı

Cyl: Sitolizin

DNA: Deoksiribo nükleik asit

EfeA: Endokarditis spesifik antijen

ESP: Enterokok yüzey proteini

GeIE: Jelatinaz

MIC: En düşük yoğunluklu bakteristatik etkili ilaç

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

UV: Dezenfeksiyon ve sterilizasyon için kullanılan ışık

VRE: Vankomisine dirençli enterokoklar

VSE: Vankomisine duyarlı enterokoklar

1. GİRİŞ

Moleküler biyoloji ve biyo-teknolojideki gelişmeler sonucu sağlık sektöründe de önemli gelişmeler meydana gelmiştir. Bu gelişmeler beraberinde birçok hastalığın teşhis ve tedavisinin gerçekleşmesini olumlu yönde etkilemiştir. Ancak yoğun bakım ünitelerinde hasta yatış süresinin uzaması, kontrolsüz antibiyotik kullanımı ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda hastane kaynaklı enfeksiyonların artmasına neden olmuştur. Hastane kaynaklı enfeksiyonlar çoğunlukla hastanın hastaneye kabulünden 48 ila 72 saat sonunda ve hastaneden ayrıldıktan sonraki süreçte 10 gün içinde gelişmektedir. Bu tanıma uzun inkübasyonlu enfeksiyonlar (protez, cerrahi alan enfeksiyonları) dahil edilmemiştir (Özbalıkcı Karaman, 2007). Hastane enfeksiyonlarına neden olan bakteriler ciddi hastane enfeksiyonu salgınlarına neden olabilmektedir. Bu bakteriler antibiyotiklere direnç geliştirmekte, hastane ortamında kalıcı olabilmekte ve sağlıklı hastane personeli aracılığı ile diğer hastalara bulaşabilmektedir. Bu bakterilerden bağırsak kolonizasyonu sık olan ve vankomisine direnç geliştiren enterokoklar hastane kaynaklı enfeksiyonlarda ciddi önem kazanmıştır (Alp, 2008). Hastane enfeksiyonları yoğun bakım hastalarında önemli bir problemdir. Enterokokların bağırsak florasında yer alması hastalar arası bulaş ve bu bakterilerin hastane şartlarına dayanıklı olması bu etkenlere bağlı hastane enfeksiyonlarının sıklıkla görülmesine neden olmaktadır. Enterokokların nazokomiyal patojenler olarak önemi sahip oldukları intrinsik direnç ve geniş antimikrobiyal direnç kazanma kapasiteleri nedeniyle 1980’li yılların başından itibaren önemli olarak artmıştır (Arias ve Murray, 2012). Son zamanlarda enterokoklar üzerine ilginin yoğunlaşmasının tek nedeni nozokomiyal enfeksiyonlarına ve toplum kökenli enfeksiyonlara neden olmanın dışında bazı antibiyotiklere karşı gösterdikleri dirençtir (Erbek ve Özakın, 2002). Vankomisin-teikoplanin dirençli enterokoklar; çoğunlukla olarak nozokomiyal enfeksiyonlara, idrar yolu enfeksiyonlarına ve cerrahi yara enfeksiyonlarına, kan dolaşımı enfeksiyonlarına sıklıkta neden olmaktadır. (Chou ve ark., 2007).

Bakterilerde patojeniteyi belirleyen virulens özellikler çeşitli genler tarafından kodlanmaktadır. Bu genlerin enterokok enfeksiyonlarında rolü olduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışma ile Muş Devlet Hastanesi yoğun bakım servisi hastalarından izole edilen suşlarda, virulens genlerin varlığını araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla izole ve identifiye edilmiş suşlarda *asa1*, *gelE*, *cylA*, *hyl*, *esp*, *cfr*, *agg*, *ace*, *VanA*, *VanB* ve *VanC* genlerinin varlığı PCR ile araştırılacaktır.

1.1. Temel Bilgiler

Enterokoklar 1980’li yıllardan bu yana nozokomiyal enfeksiyonların önemli etkenlerinden olan vankomisine dirençli olan enterokoklar nozokomiyal patojenler arasında üst sıralarda yer almaktadır (Aktaş ve Derbentli, 2009). Enterokoklar insan ve hayvanların bağırsak florasında kommensal olarak bulunmaktadır. Bağırsak yollarının normal bir birleşimi olarak kabul edilen enterokoklar, ciddi ve hayatı tehdit eden hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olan bir patojen olarak hızla ortaya çıkmaktadır (Upadhyaya ve ark., 2009).

Uzun yıllar zararsız ve medikal açıdan önemsiz olduğuna inanılan enterokoklar son yıllarda %61 oranında yüksek mortalite ile en yaygın hastane enfeksiyonlarına sebep olan patojenler arasına girmiştir (Torun, 2017). Enterokokların nozokomiyal enfeksiyonlara ve toplum kökenli enfeksiyonlara sıklıkla neden olmalarının yanında antibiyotiklere karşı gelişen belirgin bir direnç bu etkenlerin araştırmacıların dikkatleri üzerlerine çekmelerine neden olmuştur (Erbek ve Özakin, 2002). Yeniden sınıflandırma ile 1984’te enterokoklar olarak adlandırılan cinsin içerisinde 34 tür yer almaktadır. Bunlardan insan hastalıklarından en sık soyutlanan türler %80-%90 oranla *Enterococcus faecalis* ve %5-%10 oranla *Enterococcus faecium*’dur (Torun, 2017).

1.2. İnsanlarda Enterokok Enfeksiyonları

Enterokoklar 1930’lu yıllarda üreme özellikleri ile streptokoklardan ayrılmışlardır. Enterokoklar 1970’li yıllardan itibaren hastane enfeksiyonları etkeni olarak izole edilmiş, 1980’li yıllar sonrası ise vankomisin direncinin ortaya çıkışı ile hastane kökenli enterokok enfeksiyon oranlarında belirgin bir şekilde artış tespit edilmiştir (Çetinkaya Aydın, 2015).

Hastanede yatan hastalarda, enterokoklar ile gelişen hastane enfeksiyonları: endojen kökenli veya ekzojen kökenli olmak üzere iki farklı şekilde karşımıza çıkmaktadır. Enterokoklar, infekte hastaların çıkartılarıyla geniş bir alana yayılarak, duyarlı hastaların idrar yollarına, kan, beyin omurilik sıvısı gibi vücut sıvılarının bulunduğu bölgelere kolonize olarak bu bölgelerde, sepsis, endokardit, pelvik enfeksiyonlar, üriner sistem enfeksiyonları, bakteriyemi, karın içi enfeksiyonlar, cerrahi yara enfeksiyonları, menenjit, kemik enfeksiyonları, yumuşak doku enfeksiyonları, santral sinir sistemi enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları ve yeni doğan enfeksiyonlarına neden olduğu görülmüştür. Bunlardan en çok problem yaratan bakteriyemidir (Akçimen ve Köksal, 2010; Ural, 1998) “Enterokok bakteriyemisi

sıklıkla nozokomiyal kaynaklıdır. Nötropeni, hemodiyaliz, cerrahi girişimler, organ transplantasyonu, parenteral beslenme, uzun süreli antibiyotik kullanımı, kortikosteroid kullanımı, kemoterapi, ciddi hastalıklar, üriner kateterler ve mukozit bakteriyemi için predispoze faktörlerdir (Devriese ve ark., 2006; Yıldırım, 2007).

Bu güne kadar yapılan araştırmalar neticesinde enterokoklara bağlı bakteriyemilerde %42-%68 oranlarında ölüme neden oldukları bildirilmektedir. Ayrıca böyle hastaların ileri seviyede immün zayıf olmaları ve çoğu hastada polimikrobiyal bakteriyemi görölmesinden dolayı enterokokların ölümcül vakalarda ki aldıkları rol tam olarak aydınlatılamamıştır. Başka araştırmalarda da ölümcül vakalarda ki enterokokların rollerinin %31-37 oranında olduğu bildirilmiştir. (Edmond ve ark., 1996). Enterokoklara bağlı önemli enfeksiyonların nedeni, adezyon ve salgısal virulans genlerinin bulunmasından kaynaklanmaktadır. Virulans faktörleri konak dokuya yapışma, kolonizasyon, invazyonu artırmak ve konak bağışıklık sisteminin modölasyonunu gerçekleştirmek yoluyla enfeksiyonun şiddetini artırarak enterokok enfeksiyonlarının patogenezinde katkı sağlamaktadır (Sava ve ark., 2010).

Vankomisin dirençli enterokok (VRE) enfeksiyonu, lokalizasyonla ilişkili klinik belirtilerin birlikte bulunduğu ve kültürde VRE'nin tespit edildiği durum olarak kabul edilmektedir. şimdiye kadar klinik örneklerden elde edilen izolatların az bir kısmını *E. faecium* (%5-%10), çoğunu ise *E. faecalis* (%80-%90) oluşturmaktadır. Hastane enfeksiyonlarında çoğul ilaç direncine sahip *E. faecium* izolatlarının izolasyon oranlarının artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bunun yanında azda olsa *E. raffinosus*, *E. casseliflavus*, *E. mundtii*, *E. gallinorum*, *E. durans*, *E. avium*, *E. hirae*, ve *E. flavescens* gibi diğer bazı türlerin de nozokomiyal enfeksiyonlarında etkili olduğu, klinik materyallerden izole edilen suşlarda bu türler de görölmüştür. Bunun yanında *E. pseudoavium*, *E. sulfureus* ve *E. malodoratus* türleri ayrıca PYR (Pyrolidonly-beta naphilamide) negatif tipik olmayan enterokoklar olarak isimlendirilen *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* řu ana kadar insan enfeksiyonlarından izole edilmemiştir (Sood ve ark., 2008).

1.2.1. Nazokomiyal enfeksiyonlar

Önemli bir sağlık sorunu olarak sağlık bakımı ile ilgili gelişen enfeksiyonlar yoğun bakım ünitelerinde artmış olan mortalite, morbidite ve maliyetin en önemli nedenlerinden birisi olarak ölkemizde ve dünyada karşımıza çıkmaktadır. Tüm dünyada VRE enfeksiyonları yüksek mortalite ve sınırlı tedavi seçenekleri nedeniyle önemli bir

sağlık sorunu olup hastane enfeksiyonlarının yaklaşık %12'sinden sorumludur (Joels ve ark., 2003). Hasta ve kurum ile ilişkili farklı değişkenler yoğun bakım ünitelerinde bu oranların yüksek olmasına zemin oluşturmaktadır. Hasta ile ilişkili değişkenler içinde; yaş, altta yatan hastalıklar, beslenme ve bağışıklık durumu yer almakta iken, kuruma bağlı değişkenle ise; fazla hasta sayısı, personel sayısının yetersizliği ve sirkülasyonu, el yıkama, sterilizasyon, dezenfeksiyon, izolasyon ve asepsi prosedürlerine etkin uyulmaması, ünitenin mimari yapısının uygunsuzluğu ve bilgi eksikliği gibi birçok faktör etkilidir (Yüceer ve Demir, 2009). Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda hastanın durumunda meydana gelen değişikliklere bağlı olarak antibiyotik kullanımının fazla olmasından kaynaklı çoğul antibiyotik dirençli mikroorganizmaların oluşmasına önemli bir etki oluşturmaktadır (Yalçın, 2009).

Sağlık bakımı ile ilgili gelişen enfeksiyon faktörleri değerlendirildiğinde; hastaneler arasında farklılıklar görüldüğü gibi aynı hastanenin farklı yoğun bakım üniteleri arasında bile farklılıklar olduğu görülmektedir. Yoğun bakım ünitelerinde enfeksiyona neden olan mikroorganizmaların tespiti, antibiyotik direnç mekanizmaları ve duyarlılık durumlarının takibi çok önemlidir. Hastane enfeksiyonlarının görüldüğü bu ünitelerde alınacak enfeksiyonla mücadele etme veya enfeksiyonların kontrol altına alınmasında önemli bir adımdır (Kutkan, 2016).

1.3. Enterokoklarda Direnç Mekanizmaları

Enterokokların önemli özelliklerinden biriside antimikrobiallere karşı gösterdikleri yüksek direnç oranlarıdır. Enterokok enfeksiyonlarında görülen yüksek mortalite oranlarının nedeni bu özellikleridir. Enterokoklarda doğal (intrensek) ve kazanılmış (ekstrensek) olmak üzere iki tip vankomisin direnci vardır (Aktaş ve Derbentli, 2009). Çok farklı antimikrobiallere karşı gösterdikleri intrensek ve/veya kazanılmış dirence sahip enterokokların sebep oldukları enfeksiyonların tedavisinin daha zor, hastaların hastanede kalma sürelerinin uzamasına neden olmaktadır (Yıldız, 2014).

1.3.1. İntrensek direnç

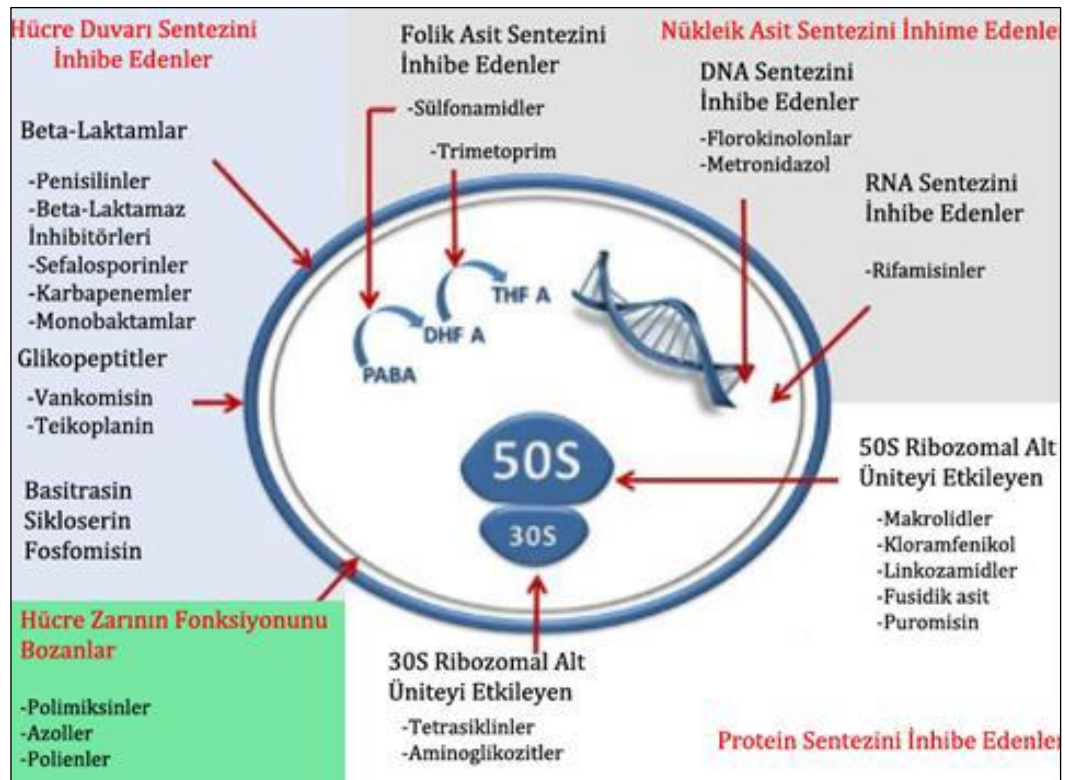
Canlının kendi DNA'sında, kendisine özgü direnç genlerine sahip olmayı ifade etmektedir. Kromozomal direnci ifade eder. Enterokok türlerinde penisilin, safalosporin, trimetoprim-sulfametaksazol, düşük düzeyde aminoglikozit, polimiksin, monobaktam ve kinopristin/dalfopristin direnci bu tarzdaki dirence örnek olarak verilebilir (Yıldız,

2014). Enterokoklarda birçok antibiyotiğe karşı kromozomal direnç söz konusudur. Bunlardan başlıca olanları betalaktamlar ve aminoglikozitlerdir. (Aktaş ve Derbentli, 2009).

1.3.2. Kazanılmış direnç

Kazanılmış direnç mutasyonlar veya plazmid, transpozon gibi hareketli genetik elementlerin kazanılması (konjugasyon, transdüksiyon, transformasyon) sonucu meydana gelmektedir. Aminoglikozid, tetrasiklin, makrolid ve glikopeptit direnci bu tür direnç kapsamında ortaya çıkmaktadır (Yıldız, 2014). Enterokoklardaki direnç mekanizmaları ile bunların eritromisin, florokinolonlar, tetrasiklin kloramfenikol ve klindamisine karşı yüksek düzey rezistansın yanı sıra yüksek seviyede aminoglikozit direnci betalaktamaz üretiminin yanısıra diğer mekanizmaların neden olduğu seviyede penisilin direnci ve glikopeptit antibiyotiklerine direnç kazanılması mümkündür (Engin, 2000).

Enterokokların direnç mekanizmalarını daha iyi ortaya koyabilmek için bu antibiyotiklerin yer aldığı grupları ve bu antibiyotiklerin etki mekanizmalarının bilinmesi gerekmektedir (Şekil 1.1; Çizelge 1. 1).



Şekil 1. 1. Vankomisin antibiyotiğinin ve vankomisine dirençli enterokoklarda VanA direncinin hücre duvar öncülerine etki mekanizması (Patel, 1999'dan aktaran Çöleri ve Çökmüş, 2008)

Çizelge 1. 1. Antibiyotik grupları ve etki mekanizmaları (Özteber 2013)

Antibiyotik	Kimyasal Yapılarına Göre Grubu	Etki Mekanizması
Eritromisin	Makrolid	Protein sentezini inhibe eder
Gentamisin	Aminoglikozit	Protein sentezini inhibe eder
Linkomisin	Linkozamid	Protein sentezini inhibe eder
Teikoplanin	Glikopeptid	Hücre duvarı sentezini inhibe eder
Tetrasiklin	Tetrasiklin	Protein sentezini inhibe eder
Vankomisin	Glikopeptid	Hücre duvarı sentezini inhibe eder

1.3.2.1. Glikopeptid direnci

Beta-laktam antibiyotiklere dirençli enterokoklardaki artış nedeniyle glikopeptid antibiyotikler kliniklerde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Glikopeptid antibiyotiklerden özellikle vankomisin ve teikoplanin kullanımında artış görülmüştür. Bu da beraberinde birtakım sorunlara neden olmuştur. Enterokokların glikopeptid direnci günümüzün başta gelen sorunlardan biri olmuştur. Kazanılmış ya da intrensek şeklinde dört çeşit glikopeptid direnci ortaya konulmuştur (Erbek ve Özakin, 2002). Enterokoklarda teikoplanin ve vankomisin en çok kullanılan glikopeptidlerdir. Hem vankomisin hem de teikoplanin gram-pozitif bakteri hücre duvarını meydana getiren peptidlerin uç noktasında yer alan D-Ala-D-Ala dizisine bağlanma yoluyla transglikozilasyon reaksiyonunu ile mürein tabakasının oluşumuna mani olarak etkisini göstermektedir. Enterokoklarda normal koşullarda mürein oluşumunda 2 D-Alanin molekülü ligaz enzimiyle bağlanıp, D-Ala-D-Ala meydana gelir. Mürein yan zincirinde D-Ala-D-Ala molekülünün bulunması gerekirken ligaz aracılığıyla D-Ala-D-Laktat ya da D-Ala-D-Serin oluşturularak bağlanması neticesinde bir glikopeptit olan vankomisin bağlanması gereken yere bağlanma kabiliyeti zayıflar. Neticesinde antimikrobiyal direnç gelişir. Glikopeptid direncinin klasifikasyonu fenotipik olarak minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlerine göre yapılırken artık klasifikasyon, ligaz enzimini kodlayan spesifik genlerin ortaya konulmasıyla gerçekleştirilmektedir. VanA, VanB, VanD ile VanG fenotipindeki antimikrobiyal direnç tiplerinde D-Ala-D-Laktat oluşturulmakta, VanC ve VanE fenotipi direnç şeklinde ise D-Ala-D-Serin meydana gelmektedir (Cetinkaya ve ark., 2000). Bu çalışmamızda özellikle yoğun bakım hastalarında alınan örnek suşlarda VanA, VanB ve VanC fenotipleri araştırılmıştır. VanA ile VanB direnç fenotipleri enterokoklarda yer almayan yani kromozomal dirençte yer almayan sonradan edinilmiş gen dizileri

neticesinde ortaya çıkar. Bu tipteki antimikrobiyal direnç ilk önce *E. faecalis* ile *E. faecium* izolatlarında belirlenmiştir (Cetinkaya ve ark., 2000).

Çizelge 1. 2. Enterokoklarda glikopeptid direnç tipleri (Murray 2000 ve Guardabassi 2004)

Özellik	Van A	Van B	Van C	Van D	Van E
MİK(µg/ml)					
Vankomisin	64 ila >1000	4 ila >1000	2 ila 32	16 ila 64	16
Teikoplanin	16 ila > 512	0.5 ila > 32	0.5 ila 1	2 ila 4	0.5
Transfer edilebilme	+	+	-	-	?
Direnç genlerinin lokasyonu	Plazmidler	Kromozom (plazmidler)	Kromozom	Kromozom	Kromozom
İndüklenme ile ekspresyon					
Vankomisin	+	+	-	+	+
Teikoplanin	+	-	-	-	-
Hareketli element	Tn 1546	Tn 1547	-	?	?
Ligaz geni	van A	van B	van C-1 ve van C-2/van C-3	van D	van E
Direnç tipi	Kazanılmış Direnç	Kazanılmış direnç	İntrinsik Direnç	Kazanılmış direnç	Kazanılmış direnç
Direnç proteinin M.A'lığı(kDa)	39-40	39.5	38	?	?
Modifiye edilmiş hedef	D-ala-D-lac	D-ala-D-lac	D-ala-D-ser	D-ala-D-lac	D-ala-D-ser
Türler	<i>E. faecalis</i> <i>E. mundtii</i> <i>E. faecium</i> <i>E. raffinosus</i> <i>E. avium</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. durans</i> <i>E. casseliflavus</i>	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i> <i>E. flavescens</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>

1.3.2.1.1. Yüksek seviyede vankomisin direncinin mekanizması

Gram pozitif bakteriler içerisinde ilk önce enterokok suşlarında vankomisine direnç sorunu karşımıza çıkmıştır. *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarında 80'li yılların sonunda direnç sorunundan söz edilmeye edilmiş bu yıldan itibaren vankomisine dirençli enterokok infeksiyonları dünyanın birçok yerinden bildirilmeye başlanmıştır. Vankomisine dirençli enterokok suşlarında yeni bir ligaz enzim varlığının bilinmesi ile birlikte, ligaz enziminin peptidoglikan yapısının prekürsör molekül olan D-ala-D-ala alt ucunun karakterinde değişikliğe neden olduğu ortaya konulmuştur. Ligaz enziminde meydana gelen bu değişiklikte vankomisinin bahse konu yere bağlanması engellenir.

Böylece beklenen antibakteriyel etkiyi engellemiş olmaktadır. Enterokok suşlarında dört fenotipte (VanA-D) vankomisin direnci ile karşılaşırız (Mederski-Samoraj and Murray, 1983; Uttley, 1988). VanA fenotipinde teikoplaninle birlikte vankomisine de yüksek seviyede antimikrobiyal direnç görülür. Glikopeptidlerin sıklıkla kullanılması enterokoklarda VanA tipi direncinin tetiklenmesi bakımından potansiyel bir durum teşkil ettiği saptanmıştır (Mederski ve ark., 1983; Vincent ve ark., 1991). Enfeksiyonlarda vankomisinin sıklıkla tercih edilmesi bununla birlikte yanlış kullanım problemlerini de beraberinde getirmiştir. Bu yanlış kullanımlar sonucu VanA fenotipindeki direnç sorunu ortaya çıkmıştır. Tn1546 transpozonu üzerinde bulunan vanA gen grubunun plazmidler vasıtasıyla aynı bakteri türündeki suşlar arasındaki aktarımının dışında farklı türlere ait suşlar arasında da aktarımı glikopeptid direncinin yaygınlaşmasına zemin hazırlamıştır (Smith ve ark, 1999). VanB tipi dirence sahip enterokok izolatlarının teikoplanine duyarlı iken vankomisine dirençli olduğunu görüyoruz. Bazı enterokok türlerinde görülen VanC tipindeki direnç endojenik olarak görülen vankomisin direncidir. VanC tipindeki dirence sahip izolatlar karşı teikoplanin daha etkili olduğu görülmektedir. Bu direnç *Enterococcus casseliflavus* ve *E. gallinarum* suşlarında saptanmıştır. *E. faecium* suşlarında VanD fenotipi direnç hem vankomisin, hem de teikoplanin direnç tanımlanmıştır (Mederski ve ark., 1983; Uttley, 1988; Öncül, 2010).

1.3.2.2. Glikopeptid direnç fenotipleri ve Linezolid Direnci

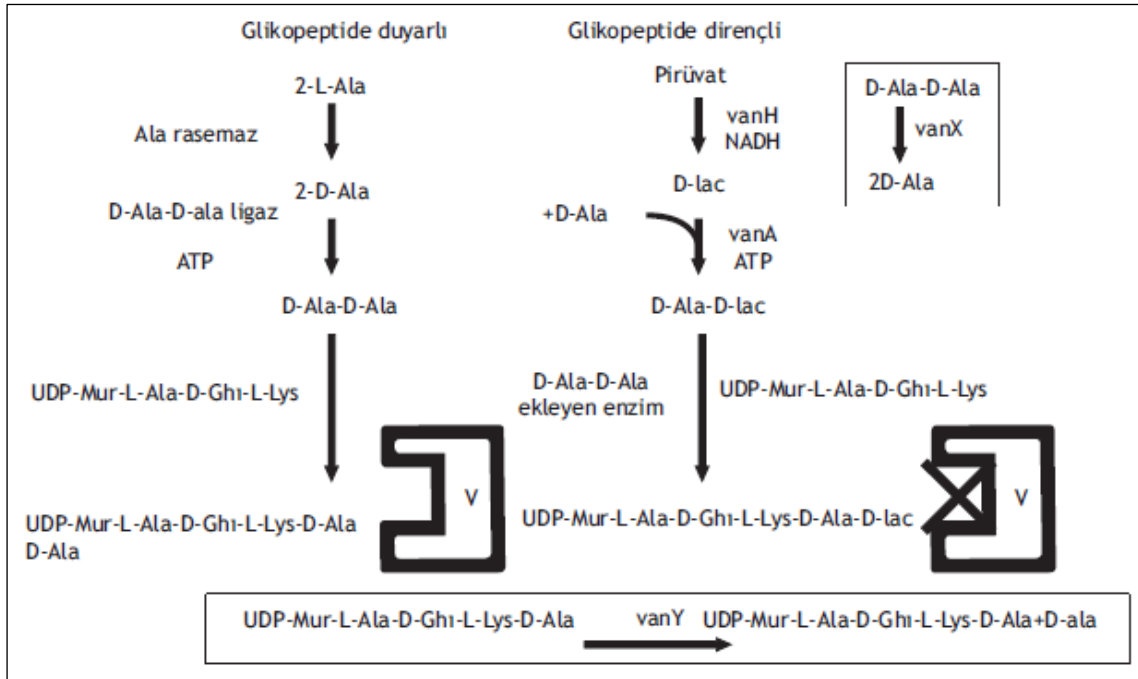
Şimdiye kadar glikopeptit direnciyle ilgili altı fenotip belirlenmiş olup, bunlar VanA-G'dir. Bunlardan en sık rastlanan fenotipler VanA, VanB ve VanC'dir. VanA fenotipinde dirence sahip izolatlarda, vankomisin için MİK değeri: $64 > 1024 \mu\text{g/ml}$; teikoplanin için ise MİK değeri: $16 > 512 \mu\text{g/ml}$ gibi yüksek seviyede iken; VanB fenotipine sahip suşlar ise vankomisine değişik seviyelerde dirençli bunun yanı sıra teikoplanine duyarlı oldukları görülmüştür. VanA ve VanB fenotiplerinde görülen antimikrobiyal direnç tetiklenebilir ve aynı zamanda başka türdeki izolatlar aktarılabilmektedir. VanC tipinde dirence sahip suşlar vankomisine düşük seviyelerde kromozomal dirençli olduğu ve teikoplanine da duyarlı olduğu görülmüştür. Bu direnç indüklenememekte ve aktarılamamaktadır (Malathum ve Murray, 1999). Enterokoklarda glikopeptit direncini arttıran başlıca unsurlar; hastanede uzun süreli kalma, yoğun bakım ünitelerinde yatış, immun yetmezlik, enteral beslenme, özellikle

sefalosporin ve vankomisini önceden kullanma gibi faktörlerdir (Lautenbach ve ark., 1999).

1.3.2.2.1. VanA fenotipi

En yaygın olan direnç fenotipidir. VanA tip direnç fenotipi genellikle diğer fenotiplere oranla daha yüksek dirence aracılık eder aynı zamanda tikoplaninine de çapraz direnç oluşturur. VanA fenotipini kodlayan gen kümesi tipik olarak Tn1546 transpozono üzerinde yer alır (Arthur ve ark., 1993). VanA geni transfer edilebilen ve transfer edilemeyen plazmitler ayrıca bakteriye ait kromozomlarda yer alabildiği belirtilmiştir. Diğer türlerden ziyade VanA geni *E. faecium*'a has olduğu düşünülmüş, ancak bundan başka enterokok türlerinde ve enterokok dışı bazı türlerde bulunduğu belirtilmiştir (Malathum ve Murray, 1999). vanH, vana, vanS, vanX, vanZ, vanR ile vanY genleri VanA operonunda bulunurlar. VanA operonunda yer alan genlerin ekspresyonu neticesinde peptidoklikan öncüllerinin uç noktasında D-Ala-D-Laktat sentezlenmektedir. Yeni sentez ürünü D-Ala-D-Ala'nın yerini alır. Bunun sonucunda vankomisin değişen bileşiğe azalmış bir afinite ile bağlanır (Reynolds ve ark., 2005).

Glikopeptid direnci enterokoklarda, VanA'dan VanG'ye kadar çeşitlilik göstermektedir. Bu çeşitliliğe rağmen direnç mekanizması bütün fenotiplerde benzerlik göstererek, vankomisinin bağlanması gereken yere daha düşük bir affinite ile bağlanması sonucu ortaya çıkmaktadır. Şekil 2.2'de de görüldüğü gibi vankomisin varlığında indüklenme söz konusu olup, sensörkinazın bir düzenleyici cevap proteini ile ilişki kurması neticesinde, vankomisin direncini kodlayan genlerin transkripsiyonu stimüle edilir.



Şekil 1. 2. Vankomisin antibiyotiginin ve vankomisine dirençli enterokoklarda VanA direncinin hücre duvar öncülerine etki mekanizma durumu (Patel, 1999'dan aktaran Çöleri ve Çökmüş, 2008)

Transkripsiyon bağlı olarak genler translasyon ile vankomisine oldukça düşük seviyede afinite ile bağlanabilmektedir. Böylece mürein tabakasındaki D-ala-D-ser veya D-ala-D-lak ile sonlanan öncüllerin meydana gelmesine olanak veren ligaza dönüşmektedirler. Başka translasyon ürünleri ise Dala-Dala dipeptidlerini kesip bakteri duvarının temel bileşiminde bulunan glikopeptidlere hassas hedefleri yok ederler. Vankomisine dirençli suşlarda mürein öncülüğündeki bu modifikasyonlar, glikopeptid ajanların bağlanacağı yere bin kat daha düşük bir afinite ile bağlanması sonucunu doğurur. Bu mekanizma ile bakteri hücre duvarı oluşumu engellenmiş olur (Murray 2000; Guardabassi 2004'den aktaran, Çöleri ve Çökmüş, 2008).

1.3.2.2.2. VanB fenotipi

Van B fenotipi baskın olarak enterokok türleri içerisinde en çok *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatlarında görülür. Bu fenotipin *E. casseliflavus* suşlarında da belirlendiği rapor edilmiştir (Erbek ve Özakın, 2002). VanB tipi direnç enterokoklarda VanA ligaza benzer özellik taşıyan VanB ligaz ile oluşmakta, meydana gelen VanB tekrar D-ala-D-ala-laktat pentapeptidin'in meydana gelmesine sebep olmaktadır. İntrensek dirençlidir, aynı zamanda transpozon veya plazmidde de kazanılmış direnç ile aktarılabilir özellik kazanmaktadır (Cetinkaya ve ark., 2000).

VanA ve VanB genleri benzer olup bazı farklılıklara sahiptirler. VanZ hariç, VanA'da bulunan genlerin altısı VanB'de mevcuttur. Vankomisin ile tetiklenen VanS ve VanR'yi diğer bir glikopeptid olan teikoplanin etkilemez. Neticede teikoplanine duyarlılık ortaya çıkmaktadır, bununla birlikte vankomisinle tetiklenen teikoplanin direnci ortaya çıkmaktadır (Cetinkaya ve ark., 2000; Rice., 2001).

VanA ile VanB arasındaki önemli bir farklardan biride görülme sıklığıdır. VanA'nın görülme sıklığı daha fazladır özellikle Avrupa'da baskın tip olarak karşımıza çıkmaktadır. ABD'de ise VanB'nin görülme sıklığı daha fazladır. Aynı zamanda bu iki fenotipin görüldüğü mikroorganizmalar da farklılık göstermektedir. (Çetinkaya ve ark., 2000; Rice., 2001).

1.3.2.2.3. VanC fenotipi

Bu direnç tipi, *E. gallinarum*, *Enterococcus flavescens* ve *E. casseliflavus* suşlarında tespit edilen, vankomisine düşük düzeyde dirençli oldukları tesbit edilmiştir. VanC tipi direnci kodlayan genler diğer direnç genlerinden (A, B, D ve E) farklı olarak yapısaldır (endojenik). Van C, membran proteinleri tarafından meydana getirilen yapısal bir direnç olduğundan indüklenemez ve transfer edilemeyen bir dirençtir. *E. casseliflavus* ve *E. galinarum* izolatlarının vankomisine duyarlılığı başka enterokok izolatlarından daha azdır. *E. galinarum* izolatlarının tamamı vankomisine düşük seviyede dirençli iken teikoplanine duyarlı olduğu saptanmıştır (Vincent ve ark., 1991).

1.3.2.2.4. Linezolid direnci (*cfr* geni)

Linezolid, vankomisine direnç gösteren enterokok enfeksiyonlarında oldukça sık kullanılmaktadır. Linezolide direnç; çoğunlukla glikopeptidlere dirençli izolatlarda olmak üzere ve glikopeptidlere duyarlı izolatlarda da tespit edilebilmektedir (Afşar ve ark., 2012). 23S rRNA'da A2503'te metiltransferaz ve adenozin modifikasyonunu kodlayan *cfr* geninin horizontal kazanımı ile gerçekleşebilmektedir. *Cfr*; genellikle plazmidlerde bulunmakta ve fenikol, linkozamin, oksazolidon, plöromutilin ve streptogramin A'ya çapraz dirence de neden olur (Tian ve ark., 2014).

1.4. Virulans faktörler

Enterokoklar düşük patojeniteye sahip olmalarına karşın toplum kökenli ve özellikle nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan önemli etkenlerdir (Acar ve ark., 1996). Özellikle çevre koşullarına uyum yeteneklerinin yüksek olması ve antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları geliştirmeleri açısından sorun teşkil eden bakteriler

arasındadır (Moellering, 1992). Aynı zamanda çoklu ilaç direnci göstermeleri ve bu organizmaların virulans faktörlerinin kazanılmasından kaynaklanmaktadır (Upadhyaya ve ark., 2009).

Enterokoklar genelde, *S. pyogenes* ve *S. aureus*, türü bakteriler gibi kromozomal virulans özellikleri yoktur. Sindirim sisteminde kommensal olarak yer alırlar, ancak enterokoklar bazı hallerde ekstraintestinal yayılım göstererek çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır. Normalde bir virulans determinant addedilmemesine rağmen antibiyotiklere karşı gelişen direnç ve virulansa dair yeni genetik element edinebilme; bakteriyi daha patojen kılar ve insanda değişik yerlere kolonizasyonuna ve neticede sıradışı enfeksiyon oluşturmasını destekler. Gen transferi, bakterilerin virulansını belirleyen tek faktör değildir. Birçok çalışmada bakteriye ait çeşitli virulans faktörlerin olduğu görülmüştür (Upadhyaya ve ark., 2009).

1.4.1. Agregasyon faktörü (Asa 1)

Bu faktör, *E. faecalis*'in indüklenebilir yüzey proteini olan, *asa1* geni tarafından kodlanan, ökaryotik hücrelere adezyon ve konjugasyonu esnasında hücreler arası temas için gereklidir (Fisher ve Phillips, 2009).

Bir yüzey proteini olan agregasyon faktörü iki bakteri arasında plazmid aktarımını kolaylaştırır. Mikroorganizmaların agregasyonuna da olanak vererek patojeniteye katkı sağlamaktadır. Enterokoklar böbrek epitel ve kalp kapakları hücrelerine bağlanma, üriner sistem ve endokardit enfeksiyonu meydana getirme yeteneğini agregasyon faktörüne borçludur. Başlıca katater enfeksiyonlarında, *E. faecium* izolasyonu *E. faecalis*'e göre daha azdır. Agregasyon faktörü ayrıca *E. faecalis* izolatlarında adezyonu sağlar (Tailor ve ark., 1993).

1.4.2. Enterokokal yüzey proteini (Esp)

Esp geni tarafından kodlanan hücre dışı yüzey proteini (*esp*), hücre duvarı ilgili bir protein çeşididir. *Esp* geni enterokokların kolonizasyonu ile ilişkili olduğu gibi enterokokların virulans özelliğini artırır. (Fisher ve Phillips, 2009).

Esp proteinini virulans faktörleri içerisinde önemli kılan; biyofilm oluşturma, bağışıklık sisteminden kaçış ve kolonizasyondaki rolüdür (Tsikrikonis ve ark., 2012; Akgül ve ark., 2016; Sava ve ark., 2010). Enterokokal yüzey proteini enterokoklarda biyofilm oluşumunu artırarak endokardit sepsis ve üriner enfeksiyonların patogenezinde rol alan önemli bir virulans faktörüdür. *E. faecalis* enterokokal yüzey

proteini tüm suşlarda yaygınken, *E. faecium* enterokokal yüzey proteini hastane kökenli izolatlarda daha sıktır. *E. faecium* esp gen ekspresyonu çevre koşullarındaki değişikliklerden etkilenmektedir. Örneğin 37°C’de ekspresyonu artarken, oksijensiz ortamda azalır (Gültekin, 2004; Torun, 2017). *esp* geni taşımayan *E. faecalis* suşlarının plazmid ile esp genine sahip olduktan sonra biyofilm oluşturma yeteneği kazandığı görülmüştür (Latasa ve ark., 2006).

1.4.3. Sitolizin (Cyl)

Enterokokal virulens faktörlerinden sitolizin en iyi karakterize edilenlerdendir. Sitolizin sentezi sayesinde enterokoklar konak canlıının bağışıklık sisteminden kaçmayı başarmaktadır. Sitolizin sentezinden sekiz gen sorumludur. (Chajęcka ve ark., 2016). Bu virulans faktörünü kodlayan gen bölgesi plazmit üzerinde yer aldığı gibi bakteriyel kromozom üzerinde bulunabilir (Karabıyık, 2011).

Epidemik vakalardan soyutlanan *E. faecalis* izolatlarında %60 oranında belirlenebilen bir virulans özellik olup ayrıca hemolitik karakteri vardır. Toksititesinin yanında değişik gram pozitif bakterileri etkileyebilen “bakteriyosin” işlevine sahip olduğu ortaya konulmuştur. Bu toksin at ve insan kanında hemoliz oluşturabilmekteyken, koyun eritrositlerine etki etmeyişi laboratuvar tanı açısından önemlidir (Gültekin, 2004). Sitolizinler *cylM*, *cylLS*, *cylI*, *cylR1*, *cylB*, *cylR2*, *cylLL* ve *cylA* olarak adlandırılan 8 genin denetiminde üretilmektedir (Gilmore ve ark., 1994). Sitolizin aynı zamanda hemolizin olarak isimlendirilmektedir. Sitolizinler, *E. faecalis*’in birçok klinik izolatları tarafından üretilen, L ve S sitolizin olarak isimlendirilen iki posttranslasyonel modifiye peptid olarak bulunmaktadır. Bu peptitler, bağışıklık hücreleri de olduğu gibi ökaryotik hücrelerde litik aktiviteye sahip bir özelliğe sahiptir. *E. faecalis* sitolizini ile ilgili birçok çalışma, bu molekülün deneysel modellerde enfeksiyonu şiddetini arttırdığını göstermektedir (Van Tyne ve ark., 2013).

1.4.4. Jelatinaz (GeIE)

Bakterilere ait proteinazların asıl işlevi; mikroorganizmanın peptid ihtiyaçlarını karşılamaktır. Ancak proteazların konak hücrelerine dolaylı zarar vermesinden dolayı virulens faktör olarak da adlandırılabilirler. Jelatinaz ve serin proteazlar *E. faecalis* için salgılanabilen iki proteazdır (Kayaoğlu ve Orstavik, 2004). *E. faecalis*’ten saflaştırılarak elde edilen jelatinaz, çinko bulduran hücre dışı metalloproteinazdır. Bu metalloproteinaza sahip *E. faecalis* izolatları insan endotelyumunu etkisizleştirilmesi sebebiyle “kokkolizin” şeklinde yeniden adlandırılmıştır. Bununla birlikte jelatinaz adı

çoğunlukla kullanılmaktadır (Portenier ve ark., 2003; Yıldız, 2014). Jelatinaz üreten *E. faecalis* izolatlarının akut toksik etkileri jelatinaz üretmeyen izolatlara göre yüksek bulunmuştur (Gültekin, 2004). Fibrinojen, kazein, jelatin, kollajen, insülin, hemoglobin ve bazı biyoaktif peptitleri parçalayabilen, matriks metallo proteinaz grubunun hücre dışı çinko bulduran bir ferdidir (Kayaoğlu ve Orstavik, 2004).

1.4.5. Hyaluronidaz (Hyl)

Hyaluronidaz hyaluronik asit üzerine etki eden bir enzimdir. *hyl* geni üzerinden sentezi gerçekleşir. Hyaluronidaz virulans faktörü bağ dokunun mukopolisakkarid kısmının yıkımını gerçekleştirerek enterokokların konak dokuda yayılımını kolaylaştırmaktadır (Kayaoğlu ve Orstavik, 2004). Bu faktör kromozomal *hyl* geni tarafından kodlanır. *hyl* geni klinik *E. faecium* izolatlarında yaygın olarak bulunur. *E. faecalis* suşlarında ise çok nadir görülmektedir (Gültekin, 2004; Fisher ve Phillips, 2009).

1.4.6. Kollojen-bağlayıcı adhezin (MSCRAMMAce)

Ace bir adezin ekstrasellüler matriks proteinlerine bağlanmada rolleri vardır. Başlıca *E. faecalis* endokardit enfeksiyonlarında Ace'nin rol aldığı görülmektedir. (Sillanpa ve ark., 2009). Ace ile bakteriler dokulara kolonize olmaktadır. *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatlarında Ace'inin tespit edildiği rapor edilmiştir. Enterokoklarda MSCRAMM proteininin yedi tanesi ayrıntılı bir şekilde tanımlanmıştır. Bu proteinler; *E. faecalis* kollajen bağlayan adezin olan Ace, *E. faecium*'da kollojen bağlayıcı protein A şeklindeki EcbA, *E. faecalis*'de yüzey proteinleri olan Fss1-3, *E. faecium*'da ikinci kollojen bağlayıcı adhezin olan Scm ve *E. faecium*'da kollojen bağlayıcı adhezin olan Acm'dir (Rich ve ark., 1999; Sava ve ark., 2010). Ace, enterokok suşlarında sıklıkla tespit edilmekte olup enfeksiyonla ilişkili olduğu belirtilmiştir (Nallapareddy ve ark. 2000; Tendolkar ve ark. 2003; Sava ve ark. 2010). *acm* olarak adlandırılan ve *ace* geninin homoloğu olan genin *ace* ile benzerliğine *E. faecium* izolatlarında rastlanılmaktadır. Fonksiyonel olarak bakterinin kollajene adezyonunda öncelikle rol alan adezin olduğu ortaya konulmuştur (Nallapareddy ve ark.; Tendolkar ve ark. 2003).

1.4.7. Agregasyon substansı (agg)

Agg plazmitler tarafından kodlanan bir yüzey proteindir. Tüm farklı seks feromon plazmitler, kodlayan bir homolog DNA bölgesi içerir. Agg (örneğin, pAD1 üzerinde kodlanmış Asa1), plazmid üzerindeki Agg hariç genel homolojiye uymayan

pAM373 (Asa373) Agg böbreklere yapışan bakteri sayısını arttırır ve intestinal epitel hücreleri, Agg'nin önemli olduğunu göstermektedir. *E. faecalis* tarafından konak dokuların kolonizasyonu ve translokasyonu için önemlidir. (Wirt, 1994; Galli, 1991).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Enterokokların toplum kökenli enfeksiyonlarda ve hastane enfeksiyonlarında yaygın bir şekilde izole edilmeleri ayrıca glikopeptidler başta olmak üzere birçok antibiyotiğe karşı direnç geliştirmelerinden dolayı araştırmacıların ilgi odağı olmuştur (Panesso ve ark., 2010). Hastane enfeksiyonu etkeni enterokoklarda çoklu antimikrobiyal direncin ortaya çıkması başta virulans faktörleri olmak üzere enterokokların ayrıntılı bir şekilde incelenmesi ihtiyacını doğurmuş olup konuyla ilgili aydınlatılması gereken birçok hususun olduğu bilinmektedir. Nozokomiyal enfeksiyon etkenleri arasında ilk sıralarda yer alan *Enterococcus faecium* izolatlarında yaygınlaşan çoklu antimikrobiyal direnç başlıca virulans faktörleri gibi birçok özelliğinin daha ayrıntılı incelenmesi gerektiğini ortaya koymuştur (Mete ve ark., 2017). Bu bağlamda enterokoklarda çeşitli virulans genlerin tespitine yönelik birçok çalışma yapıldığı görülmektedir.

Bu bağlamda ülkemizde çeşitli çalışmaların yapıldığı görülmektedir. Söğüt ve ark. (2018) vankomisine dirençli *E. faecium* izolatının tümünde vanA genini tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar *esp*, *gelE* ve *hyl* genlerini çeşitli oranlarda tespit etmişlerdir. Ancak vanB, *asal* ve *cylA* genleri ise hiçbir izolatta saptayamadıklarını belirtmişlerdir. Mete ve ark. (2017) 229 enterokok izolatında en sık rastlanan genlerin *asal*, *cylS* ve *esp* genleri olduğunu, *E. faecalis* izolatlarında *asal* geninin *E. faecium* izolatlarına göre anlamlı düzeyde fazla bulunduğunu belirlemişlerdir. Baylan ve ark. (2011) üriner sistem enfeksiyonlarından izole ettikleri 91 enterokok izolatı ile yaptıkları çalışmalarında *E. faecium* izolatlarından sekizinin glikopeptidlere dirençli olduğu saptamışlardır. Aynı araştırmacılar *E. faecalis* izolatlarında *esp* ve *asal* pozitifliğinin anlamlı düzeyde fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Yine Baylan ve arkadaşları *asal* ve *esp* genlerini en sık rastlanan genler olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılarca; 32 izolatın herhangi bir virulans özelliğe sahip olmadığı saptanmış, araştırılan faktörlerden tamamını veya dördünü bir arada içeren suşun tespit edildiği bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bir başka çalışmada Çopur ve ark. (2016) *esp* genini tüm izolatlarda %78.4 oranında *gelE* geni ise %12.9 oranında tespit etmişlerdir.

Yine konuyla ilgili farklı ülkelerde yapılan çalışmalarla da virulans genlerin varlığı ortaya konulmuştur. D'azevedo ve ark., (2008) fekal örnekten izole edilen 37 izolat içerisinde vankomisin direncine *E. faecalis* izolatlarında daha çok rasladıklarını bildirmişlerdir. Güncel çalışmalarda, özellikle bakteriyemi etkeni olan *E. faecium*

izolatlarında VRE tespit oranının *E. faecalis* izolatlarına kıyasla daha çok tespit edildiği belirtilmiştir. ABD’de gerçekleştirilen uzun süreli epidemiyolojik araştırmada tüm glikopeptid türevlerine karşı direnç gelişiminin *E. faecium* suşlarında yine bir başka enterokok türü olan *E. faecalis* suşlarına kıyasla daha çok oranda tespit edildiği bildirilmiştir (Rudy, Zientara, Bek, and Martirosian, 2005). Bakteriyemi vakaları ve üriner sistem enfeksiyonlarında soyutlanan VRE’lerle ilgili olarak Kanada’da yapılan bir çalışmada *E. faecium* türü izolatların oldukça fazla olduğu belirtilmiştir (Canadian, 2006). Creti ve ark. (2004) kommensal (dışkı ve boğaz sürüntüsü) *E. faecalis* izolatlarında *ace*, *esp*, *cylA* ve *gelE* genlerini çeşitli oranlarda tespit etmişler, izolatların tamamında *ace* genini belirlemişlerdir. Van Kerckhoven ve ark. (2004) Avrupa’nın çeşitli şehirlerindeki hastanelerden elde edilen vankomisine dirençli *E. faecium* izolatlarında *esp* geninin fekal izolatlara göre yüksek oranda tespit edildiğini, İtalya’da *esp* geninin vankomisine dirençli izolatlarda vankomisine duyarlı izolatlara göre yüksek olduğu, Birleşik Krallık’ta *hyl* geninin vankomisine dirençli izolatlarda vankomisine duyarlı izolatlara göre yüksek olduğu diğer genler yönünden önemli bir farklılık görülmediğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada Zou ve ark. (2011) klinik *E. faecalis* izolatında *gelE*, *ace*, *asa1* ve *esp* genlerini araştırdıkları çalışmada en yüksek oranla *gelE* genini bulduklarını bildirirken Al-Talib ve ark. (2015) enterokok izolatında virulans faktörlerin *E. faecalis* izolatlarında *E. faecium* izolatlarına kıyasla daha çok oranda tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada ise Li ve ark. (2015) klinik enterokok suşunda *ace*, *asa1*, *cylA*, *esp*, *gelE* ve *hyl* genlerinin varlığını birbirine yakın oranlarda tespit etmişken, Nateghian ve ark. (2016) yoğun bakım servisinde yatan çocuklardan soyutlanan enterokok izolatlarında *gelE*, *esp* ve *asa1* genlerini sırasıyla %91, %79 ve %87 oranlarında tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca Aghdam ve ark. (2017) ise kanal tedavisi gören hastalardan izole edilen enterokok suşlarında *ace*, *gel*, *esp*, *asa1*, *hyl* ve *cyl* genlerini araştırdıkları çalışmalarında *ace* ve *gel* genlerini diğerlerine göre daha fazla oranda tespit etmişlerdir. Bununla birlikte Dziri ve ark. (2018) yeni doğan ve yoğun bakım servislerinde yatan hastaların rektal sürüntü ve kan örneklerinden soyutladıkları *E. faecium* izolatlarının tamamında VanA genini tespit ettiklerini *esp* genini ise yalnızca bir izolatta tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Suşların İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Hastaların yoğun bakım servisine yatışından 72 saat sonra steril eküvyon çubuklarıyla alınan rektal sürüntü örnekleri Slanetz Bartley Medium'a ekilerek 37⁰C'de aerobik koşullarda 24 saat süre ile inkübe edildi. Üreyen şüpheli kolonilerin Triptik Soy Agar'a saf pasajları yapıldı. Gram pozitif kok görünümlü ve katalaz negatif izolatların identifikasyonunda MALDI TOF MS (Bruker, Almanya) kullanıldı. Örneklerin hazırlanması üretici firmanın önerisi doğrultusunda yapılacaktır. 37⁰C'de 24 saat inkübe edilen saf kültür plaklarından tek koloni kürdan ile alınıp MALDI TOF tartıtlarına sürüldü. Organik çözücü ile (Asetonitril+Trifloro Asetik Asit) hazırlanan 1 µl HCCA (alfa-siyano-4-hidroksinnamik asit) ile tartıt kaplandı. Spektrumları elde etmek amacıyla her bir örneğin ölçümünde, toplam olarak 240 olacak şekilde 40'arlı paketlerden oluşan lazer atışları gerçekleştirilerek protein analizleri yapıldı. Sistem ölçüm sonuçlarına göre isolatlar, MALDI Biyotyper 2.0 veri tabanı ile isimlendirildi.

3.2. DNA Ekstraksiyonu ve PCR Amplifikasyon

Kanlı agar besiyerinde üretilmiş izolatlardan Qiasymphony (Qiagen, Almanya) total nükleik asit izolasyon kiti ile DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen ekstraksiyon ürünlerinden; TopTaq master mix (Qiagen, Hilden, Almanya) ve uygun primerler kullanılarak PCR ile istenilen gen bölgelerinin amplifikasyonu yapılmıştır. PCR için kullanılan reaksiyon karışımı ve amplifikasyon koşulları aşağıda belirtilmiştir:

TopTaq (Qiagen) PCR reaksiyon karışımının hazırlanması:	
2X TopTaq Master Mix karışımı	12.5 µl
10X CoralLoad Concentrate	2.5 µl
Primer-F	1 µl
Primer-R	1 µl
DNAaz RNAaz free saf su	6 µl
DNA	2 µl
Toplam hacim	25 µl

Çizelge 3. 1. PCR amplifikasyonu için kullanılan primerler

Primer	Dizi	Büyüklik	Bağlanma	Hedef
<i>asa1-F</i>	GCACGCTATTACGAACTATGA	375 bp	50 °C	<i>asa1</i>
<i>asa1-R</i>	TAAGAAAGAACATCACCACGA			
<i>gelE-F</i>	TATGACAATGCTTTTTGGGAT	213 bp	50 °C	<i>gelE</i>
<i>gelE-R</i>	AGATGCACCCGAAATAATATA			
<i>cylA-F</i>	TGGATGATAGTGATAGGAAGT	517 bp	55°C	<i>cylA</i>
<i>cylA-R</i>	TCTACAGTAAATCTTTCGTCA			
<i>hyl-F</i>	ACAGAAGAGCTGCAGGAAATG	276 bp	56°C	<i>hyl</i>
<i>hyl-R</i>	GACTGACGTCCAAGTTCCAA			
<i>esp-F</i>	AGATTTTCATCTTTGATTCTTGG	510 bp	50 °C	<i>esp</i>
<i>esp-R</i>	AATTGATTCTTTAGCATCTGG			
<i>cfr-F</i>	TGAAGTATAAAGCAGGTTGGGAGTCA	746 bp	50 °C	<i>cfr</i>
<i>cfr-R</i>	ACCATATAATTGACCACAAGCAGC			
<i>agg-F</i>	AAGAAAAAGAAGGTAGACCAAC	1553 bp	55°C	<i>agg</i>
<i>agg-R</i>	AAACGGCAAGACAAGTAAATA			
<i>ace-F</i>	GAATTGAGCAAAAGTTCAATCG	1008 bp	55°C	<i>ace</i>
<i>ace-R</i>	GTCTGTCTTTTCACTTGTTTC			
<i>VanA-F</i>	GGGAAAACGACAATTGC	732 bp	55°C	<i>VanA</i>
<i>VanA-R</i>	GTACAATGCGGCCGTTA			
<i>VanB-F</i>	ACGGAATGGGAAGCCGA	647 bp	55°C	<i>VanB</i>
<i>VanB-R</i>	TGCACCCGATTTCGTTTC			
<i>VanC1/C2-F</i>	ATGGATTGGTAYTKGTAT	815/827 bp	55°C	<i>VanC1/C2</i>
<i>VanC1/C2-R</i>	TAGCGGGAGTGMCYMGTA			

Amplifikasyon için Sensoquest Labcyler Thermocycler (Sensoquest, Gottingen, Germany) cihazı kullanılmıştır. Amplifikasyon koşulları; 94°C’de 3 dakikalık ilk denatürasyonu takiben, 35 siklus olarak 94°C/1dk denatürasyon, XX°C/1dk bağlanma ve 72°C/1 dk uzama ve 72°C/7dk ek uzama olarak uygulanmıştır.

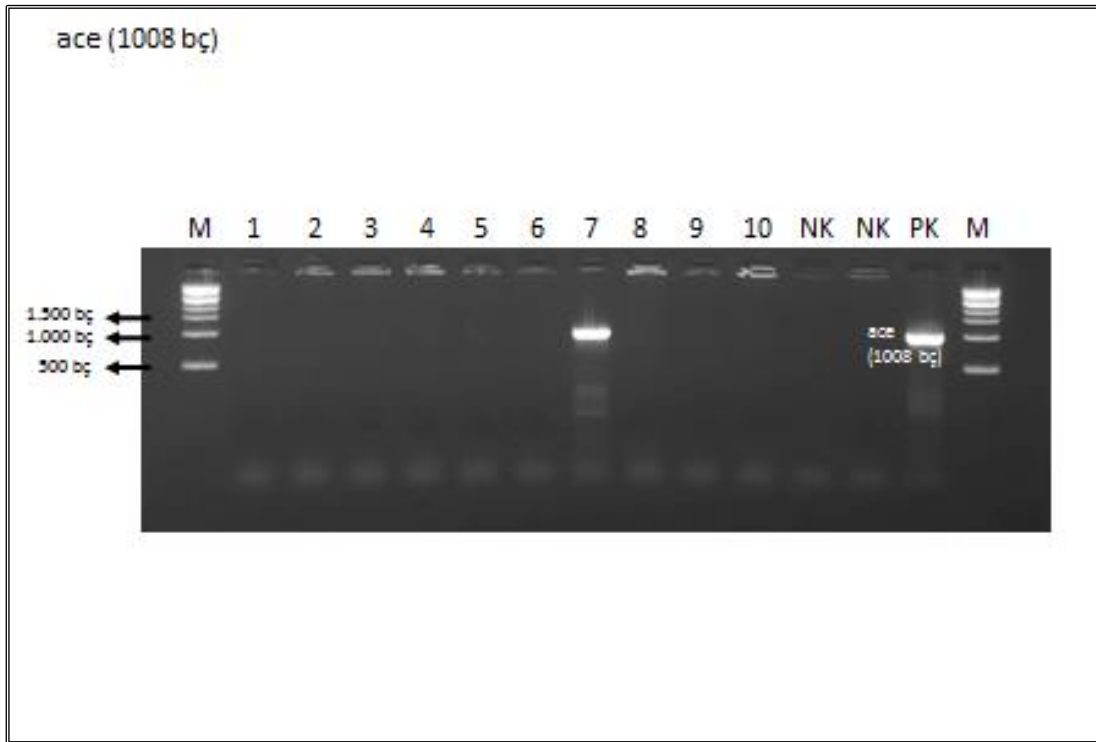
Amplifikasyon ürünleri %1.5’luk agaroz jelde 1X TBE tamponunda elektroforeze tabi tutulmuş ve 100 volt/cm² akımla yaklaşık 2 saat yürütülmüştür. Oluşan bantlar UV ışığı altında DNA moleküler ağırlık standardı [100 bp, 1000 bp DNA ladder (New England Biolabs (NEB))] ile karşılaştırılarak yorumlanmış ve Gel logic 2200 imaging system (Kodak Company, NY, USA) görüntüleme sistemi ile fotoğraflanmıştır.

3.3. İstatistiksel Analiz

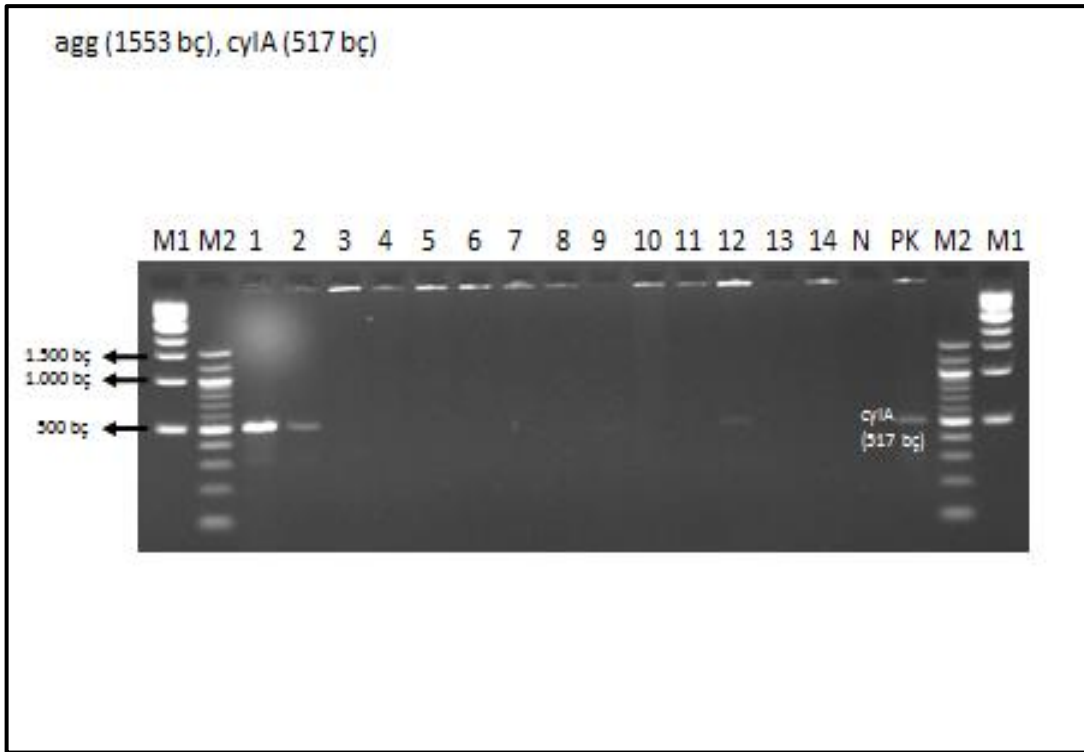
E. facium ve *E. faecalis* türleri arasında her bir gen varlığı arasında istatistiksel anlamda bir farkın olup olmadığını tespit amacıyla Ki-kare (X^2) testi kullanıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

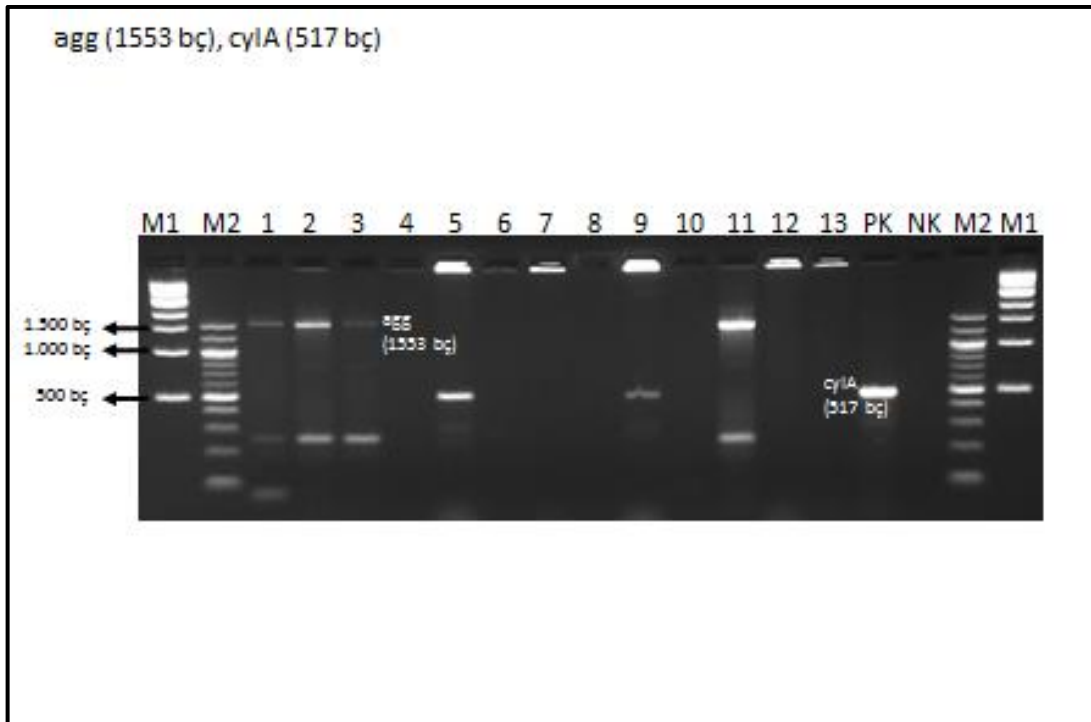
Çalışmada kullanılan 83 enterokok izolatında VanA, VanB, VanC, *asaI*, *gelE*, *esp*, *agg*, *cylA*, *hyl*, *cfr*, *ace* genleri sırasıyla; 6 (%7.23), 0 (%0), 0 (%0), 25 (%30.12), 30 (%36.14), 29 (%34.94), 8 (%9.64), 19 (%22.89), 11 (%13.25), 0 (%0), 20 (%24.1) adet tespit edilmiştir. İzolatların 66'sında (%79.52) en az bir gen belirlenmiştir. Suşların 17'sinde (%20,48) herhangi bir gen tespit edilmezken, 19'unda (%22,89) sadece bir gen, 22'sinde (%26,51) iki gen, 17'sinde (%20,48) üç gen, 6'sında (%7,23) dört gen ve 2'sinde (%2,41) beş gen tespit edilmiştir. İki türün suşları arasında genlerin varlığı yönünden istatistiksel analiz yapıldığında; *E. faecalis* izolatlarında tespit edilen *ace* ($p<0.0001$), *agg* ($p=0.021$), *cylA* ($p=0.004$) ve *gelE* ($p=0.012$) genlerinin varlığının *E. faecium* izolatlarında tespit edilenlere göre istatistiksel anlamda fazla olduğu ortaya konulmuştur. Diğer genler yönünden anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Her bir suş için tespit edilen genler Çizelge 4.1'de sunulmuş, tespit edilen genlerin türlere göre dağılımı şekil 4.8'de gösterilmiştir.



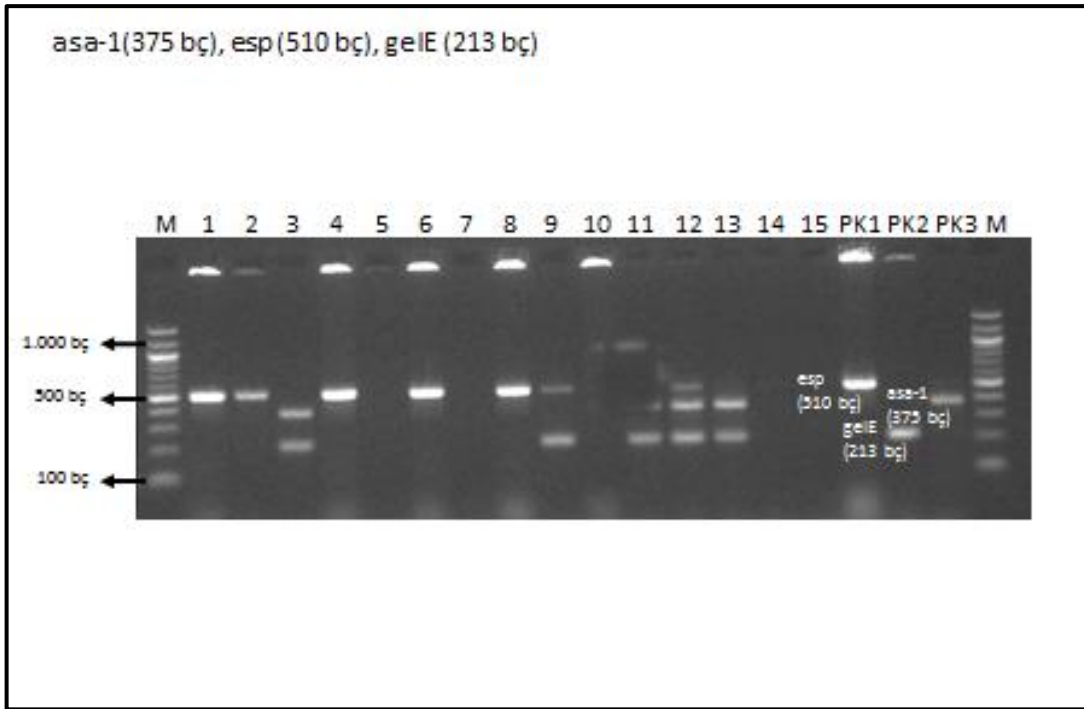
Şekil 4. 1. *ace* (1008 bp) geninin görüntüsü



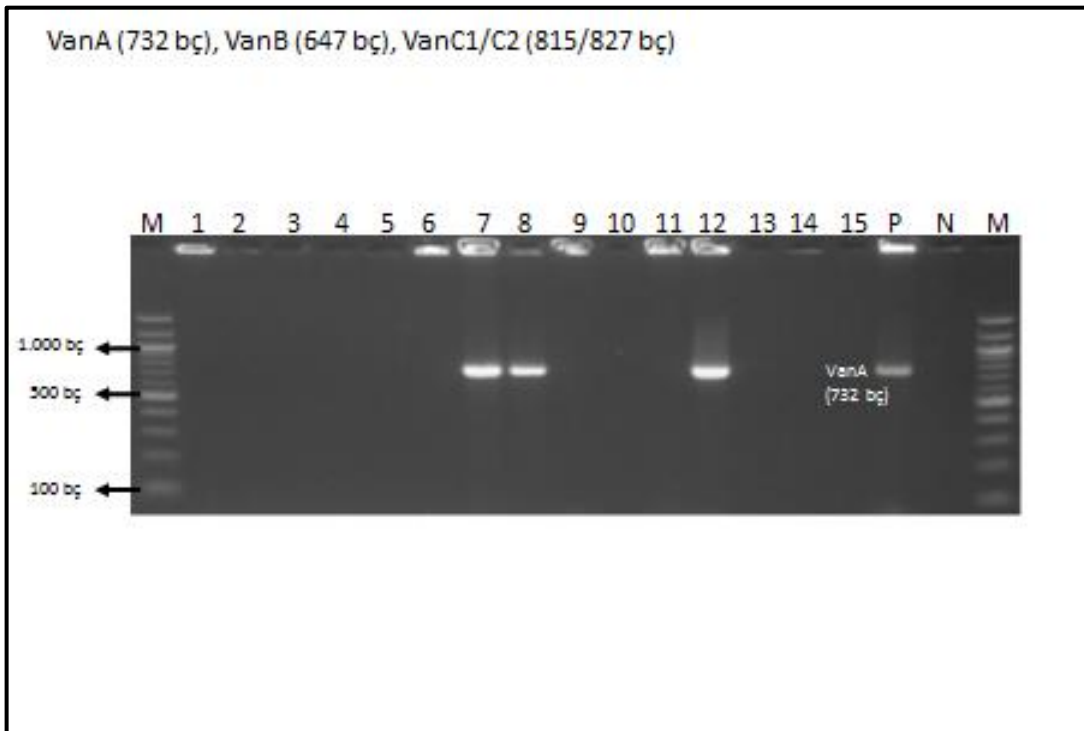
Şekil 4.2. *agg* (1553 bç), *cylA* (517 bç) genlerinin görüntüsü



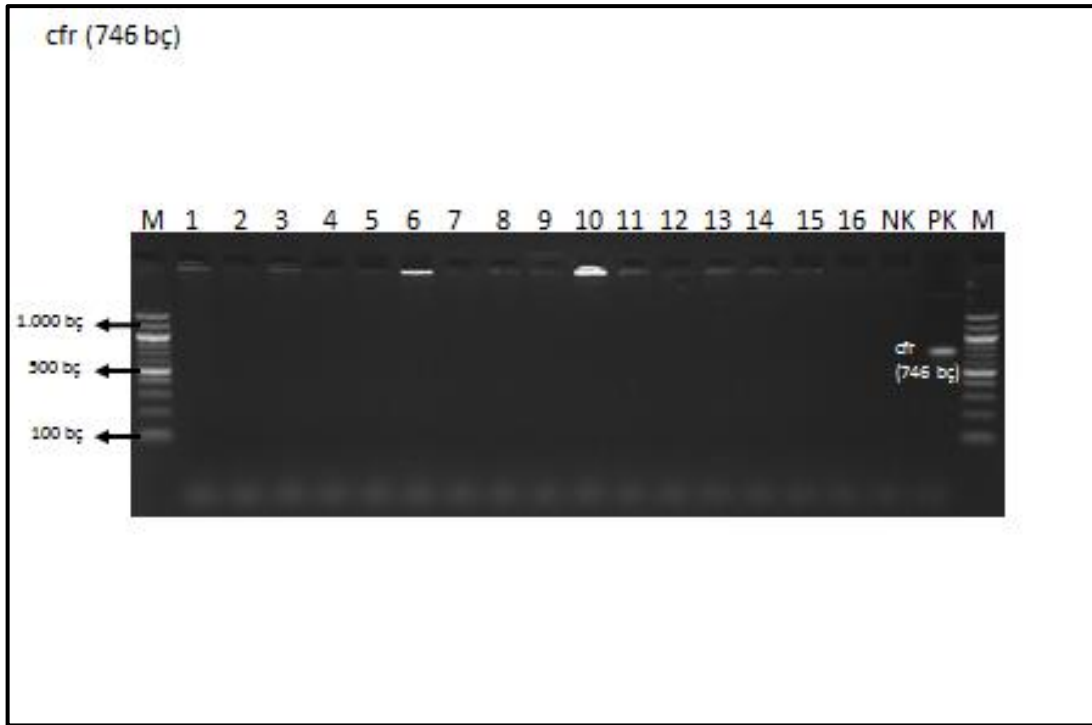
Şekil 4. 3. *agg* (1553 bç), *cylA* (517 bç) genlerinin görüntüsü



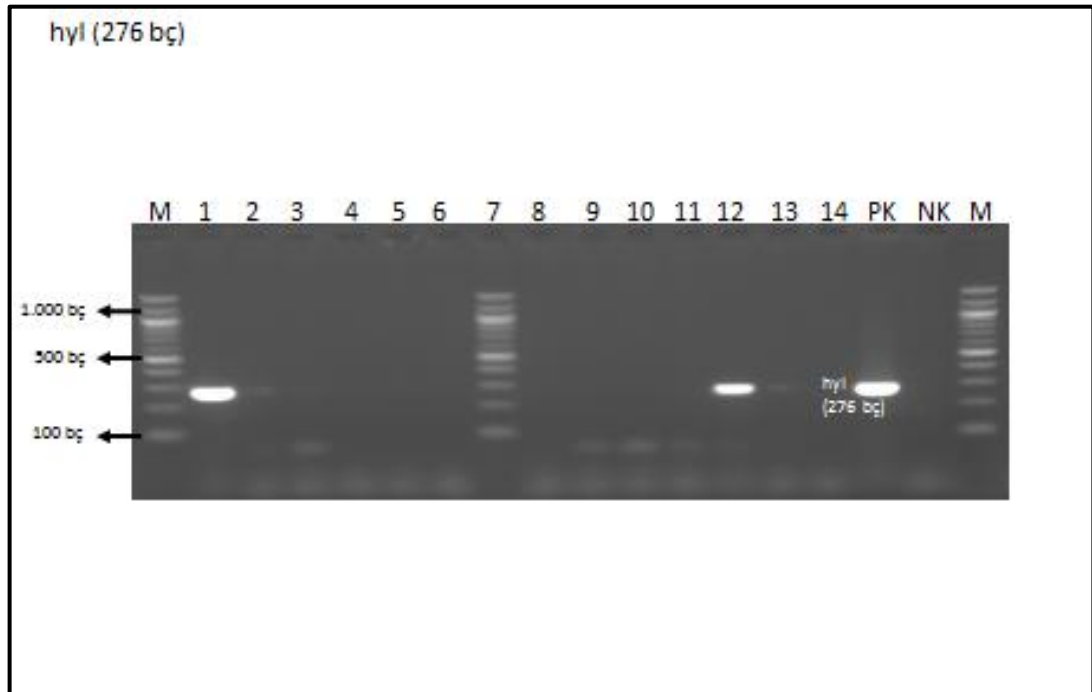
Şekil 4. 4. *asa-1* (375 bç), *esp* (510 bç), *gele* (213 bç) genlerinin görüntüsü



Şekil 4. 5. *VanA* (732 bç), *VanB* (647 bç), *VanC1/C2* (815/827 bç) genlerinin görüntüsü



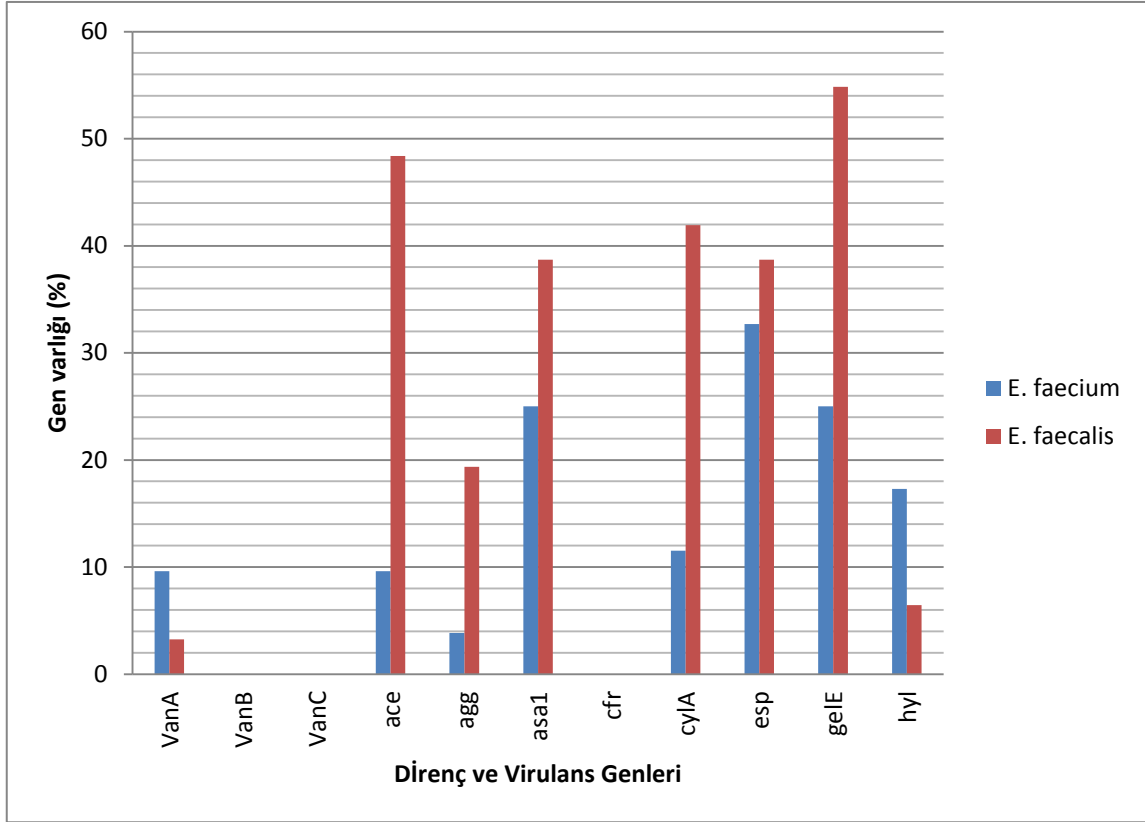
Şekil 4. 6. *cfr* (746 bç) geninin görüntüsü



Şekil 4. 7. *hyl* (276 bç) geninin görüntüsü

Çizelge 4.1'in devamı

No	Tür Adı	Genler										
		Van A	Van B	Van C	asaI	gelE	esp	agg	cyIA	hyl	cfr	ace
42	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
43	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
44	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
45	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
46	<i>E. faecium</i>	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
47	<i>E. faecium</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
48	<i>E. faecium</i>	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
49	<i>E. faecium</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
50	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
51	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
52	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
53	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
54	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
55	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
56	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
57	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0
58	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
59	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	<i>E. faecium</i>	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
61	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
62	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
63	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
64	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65	<i>E. faecium</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
66	<i>E. faecium</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
67	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1
68	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
69	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
70	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
71	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1
72	<i>E. faecium</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
73	<i>E. faecium</i>	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
74	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
76	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
77	<i>E. faecium</i>	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
78	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
79	<i>E. faecalis</i>	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
80	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
81	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
82	<i>E. faecalis</i>	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
83	<i>E. faecium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Toplam		6	0	0	25	30	29	8	19	11	0	20
%		7.23	0	0	30.12	36.14	34.94	9.64	22.89	13.25	0	24.1



Şekil 4.8. Çalışmada kullanılan enterokok suşlarında tespit edilen genlerin tür düzeyinde dağılımı

Enterokoklarda gelişen antimikrobiyal direnç ve bu bakterilerin çeşitli enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilmesi araştırmacıların dikkatini çekmiştir (Panesso ve ark., 2010). Hastane enfeksiyonlarında belirlenen enterokok izolatlarında yaygınlaşan çoklu antibiyotiklere direnç enterokoklarla ilgili olarak virulans faktörler başta olmak üzere bu bakterilerin ilgi odağı olmalarına yol açmıştır (Mete ve ark., 2017).

Söğüt ve ark. (2018) vankomisine dirençli 37 *E. faecium* izolatının tümünde vanA genini tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar *esp*, *gelE* ve *hyl* genlerini sırasıyla %62,2, %2,7 ve %27 oranlarında bulmuşlardır. Ancak *vanB*, *asa1* ve *cyla* genleri ise hiçbir izolatta saptayamamışlardır. Çalışmamızda tespit edilen *esp* ve *hyl* gen oranları Söğüt ve arkadaşlarının bulgularından düşük bulunmuştur, ancak *gelE* oranı yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte çalışmamızda Söğüt ve arkadaşlarının tespit edemedikleri *asa1* ve *cyla* genleri sırasıyla %30,12 ve %9,64 oranlarında tespit edilmiştir. Araştırmacılarının bulgularıyla paralel olarak *VanB* geni çalışmamızda da tespit edilmemiştir.

Mete ve ark. (2017) 229 enterokok izolatında en sık rastlanan genlerin *asa1* (%45), *cylS* (%33,2) ve *esp* (%32,3) genleri olduğunu, *E. faecalis* izolatlarında *asa1* geninin *E. faecium* izolatlarına göre anlamlı düzeyde fazla bulunduğunu

belirlemiştir. (Mete ve ark., 2017). Çalışmamızda en sık rastlanan genlerin *gelE* (%36.14), *esp* (%34.94) ve *asaI* (%30.12) olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda da Mete ve arkadaşlarının tespit ettiği gibi *esp* ve *asaI* genleri en yüksek oranda belirlenmiştir. Ayrıca aynı araştırmacıların *asaI* genini *E. faecalis* izolatlarında *E. faecium* izolatlarına göre daha yüksek oranda tespit ettiklerine yönelik bulgularının aksine çalışmamızda bahse konu genin iki türe ait izolatlarda tespit edilme oranlarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olmadığı tespit edildi.

Baylan ve ark. (2011) üriner sistem enfeksiyonlarından izole ettikleri 91 enterokok izolatı ile yaptıkları çalışmalarında *E. faecium* izolatlarında glikopeptidlere direnç oranının %25,8 olduğu, direncin tespit edildiği toplam sekiz izolattan yedisinin VanA fenotipinde birisinin ise VanA-B harici direnç fenotipinde olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda *E. faecium* suşlarından 5 (%9.62)'nin vanA direnç tipine sahip olduğu, vanB ve vanC fenotip dirençlerinin görülmediği tespit edilmiştir. Bu oran Baylan ve arkadaşlarının bulgusundan düşük bulunmuştur. Aynı araştırmacılar *E. faecalis* izolatlarında *esp* ve *asaI* pozitifliğinin anlamlı düzeyde fazla olduğunu tespit etmişlerdir, çalışmamızda ise bu genlerde *E. faecalis* yönünden bir fazlalık görülsede istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir, yine aynı araştırmacıların aksine araştırmamızda *hyl* geni açısından anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Baylan ve arkadaşları *esp* ve *asaI* genlerini sırasıyla %25.6 ve %26.7 oranlarında en yaygın rastlanan genler olarak tespit ettikleri yönündeki bulguları dikkate alındığında bu bulguyla uyumlu olarak çalışmamızda *asaI* ve *esp* genleri en sık tespit edilen üç gen arasında belirlenmiştir. Araştırmacıların bir başka bulgusu olarak; (%35.6 oranıyla 32 suşun virulansla ilgili herhangi bir faktörü bulundurmadığı saptanmış, virulans faktörlerden tümünü veya dördünü bir arada bulunduran suş tespit edildiği bildirilmiştir. Çalışmamızda hiçbir virulans gen içermeyen izolat sayısı oranı %20,48 iken Bayhan ve arkadaşları çalışmamızın bulgusundan yüksek olarak bu oranı %35.6 olarak bildirmişlerdir

Brezilya'da yapılan bir araştırmada 81 fekal örneklerden izole edilen 37 izolat içerisinde 20 (%54.1) *E. faecium* suşunda ve 17 (%45.9) *E. faecalis* suşunda vankomisin direnci tespit edilmiştir. (D'azevedo ve ark., 2008). Güncel araştırmalarda, başta bakteriyemi etkeni olan *E. faecium* suşlarında VRE tespit oranının %19 olduğu, *E. faecalis* suşlarında ise bu oranın %4 olduğu belirlenmiştir. ABD'de gerçekleştirilen uzun süreli epidemiyolojik çalışma ile 1995 ila 2002 yılları arasında izole edilen VRE suşlarında *E. faecium* izolatlarında *E. faecalis* izolatlarına oranla tüm glikopeptid

türevlerine karşı daha yaygın direnç belirlendiği rapor edilmiştir (Rudy, Zientara, Bek, and Martirosian, 2005). Üriner sistem enfeksiyonları ile bakteriyemi vakalarından izole edilen VRE izolatlarıyla ilgili Kanada'da gerçekleştirilen bir araştırmada *E. faecium*'un %98,3 oranında, *E. faecalis*'in ise %1.7 oranında tespit edildiği rapor edilmiştir (Canadian, 2006). Çalışmamızda da vankomisin direnci *E. faecium* izolatlarında daha fazla görünmesine rağmen istatistiksel analizde önemli bir fark belirlenmemiştir.

Çopur ve ark. (2016) çalışmalarında *esp* genini tüm izolatlarda %78.4 oranında *gelE* geni ise %12.9 oranında tespit etmişlerdir. Çalışmamızda tüm izolatlarda *esp* geni %34,94 oranı ile Çopur ve arkadaşlarının oranından düşük bulunurken, *gelE* geni için elde ettiğimiz %36,14'lük oran aynı araştırmacıların oranından yüksek bulunmuştur (Çopur ve ark., 2016).

Creti ve ark. (2004) kommensal (dışkı ve boğaz sürüntüsü) *E. faecalis* izolatlarında *ace*, *esp*, *cylA* ve *gelE* genlerini sırasıyla %100, %20, %30, %40 oranlarında tespit ettiklerini bildirmişlerdir. (Creti ve ark., 2004). Çalışmamızda *E. faecalis* izolatlarında *ace*, *esp*, *cylA* ve *gelE* genlerini sırasıyla %48,39, %38,71, %41,94 ve %54,84 oranlarında tespit edilmiştir. Bulgularımızdan *ace* genine ait oran araştırmacıların oranından düşük bulunurken *esp*, *cylA* ve *gelE* genlerine ait oran elde ettiğimiz oran aynı araştırmacıların bulgularından yüksek bulunmuştur.

Van Kerckhoven ve ark. (2004) Avrupa'nın çeşitli şehirlerindeki hastanelerden elde edilen vankomisine dirençli *E. faecium* izolatlarında *esp* geninin fekal izolatlara göre yüksek oranda tespit edildiğini, İtalya'da *esp* geninin vankomisine dirençli izolatlarda vankomisine duyarlı izolatlara göre yüksek olduğu, Birleşik Krallık'ta *hyl* geninin vankomisine dirençli izolatlarda vankomisine duyarlı izolatlara göre yüksek olduğu diğer genler yönünden önemli bir farklılık görülmediğini bildirilmişlerdir. (Vankerckhoven ve ark., 2004). Çalışmamızda da *esp* geni *E. faecium* izolatlarında diğer genlere göre %32,69 oranla en yüksek seviyede tespit edilmiştir.

Zou ve ark. (2011) 117 klinik *E. faecalis* izolatında *gelE*, *ace*, *asa1* ve *esp* genlerini sırasıyla %69,23, %48,72, %7,69 ve %6,84 oranlarında tespit etmişlerdir. (Zou ve ark., 2011). Çalışmamızda bahse konu genlerden *ace* geni %48,36 oranında tespit edilmiş olup bu değer ile Zou ve arkadaşlarının elde ettiği değer oldukça yakın bulunmuştur. Bununla birlikte aynı araştırmacıları *gelE* geni ile ilgili belirledikleri oran çalışmamızda elde ettiğimiz orandan yüksek bulunurken yine araştırmacıların *asa1* ve *esp* genleriyle ilgili elde ettikleri oranlar çalışmamızda tespit ettiğimiz oranlardan düşük bulunmuştur.

Malezya’da, Al-Talib ve ark. (2015) 222 enterokok izolatında gerçekleştirdikleri araştırmada virulans determinantların *E. faecalis* izolatlarında *E. faecium* izolatlarına göre daha fazla tespit edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da araştırmacıların bulguları ile uyumlu olarak *E. faecalis* izolatlarında *E. faecium* izolatlarına göre dört gen yönünden anlamlı düzeyde fazlalık belirlenmiştir. Aynı araştırmacılar izolatların %11’inde herhangi bir virulans determinantın tespit edilmediğini, beş virulans genin ise izolatların %21’inde tespit edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda araştırmacıların bulgusunun aksine çalışılan herhengi bir virulans gen tespit edilmeyen suşların oranı yüksek (%20,48) bulunmuştur. Bununla birlikte çalışmamızda beş genin birlikte bulunduğu izolat oranı %2,41 olarak tespit edilmiş olup bu oran Al-Talib ve arkadaşlarının elde ettiği orandan düşük bulunmuştur (Al-Talib ve ark., 2015).

Li ve ark. (2015) Çin’de yaptıkları çalışmada 160 klinik enterokok suşunda *ace*, *asal*, *cylA*, *esp*, *gelE* ve *hyl* genlerini sırasıyla %15, %28.8, %19.4, %21.9, %20.6 ve %19.6 oranlarında tespit ettiklerini bildirmişlerdir. (Li ve ark., 2015). Çalışmamızda *ace*, *asal*, *cylA*, *esp* ve *gelE* genleri için elde edilen oranlar Li ve arkadaşlarının elde ettikleri oranlardan yüksek bulunurken yine aynı araştırmacılarca *hyl* geni için elde ettikleri orandan düşük bulunmuştur.

Nateghian ve ark. (2016) yoğun bakım servisinde yatan çocuklardan soyutlanan enterokok suşlarında *gelE*, *esp* ve *asal* genlerini sırasıyla %91, %79 ve %87 oranlarında tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu genler için tespit ettiğimiz oranlar Nateghian ve arkadaşlarının elde ettikleri oranlardan oldukça düşük bulunmuştur (Nateghian ve ark., 2016).

Aghdam ve ark. (2017) kanal tedavisi gören hastalardan izole edilen enterokok suşlarında *ace*, *gel*, *esp*, *asal*, *hyl* ve *cyl* genlerini sırasıyla %85, %81, %56, %33, 2% ve %0 oranlarında tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda *ace*, *gelE*, ve *esp* genleri için belirlediğimiz oran aynı genler için Aghdam ve arkadaşlarının *hyl* ve *cyl* genleri için ortaya koydukları oranlar aynı genler için bizim ortaya koyduğumuz oranlardan düşük bulunmu bununla birlikte *asal* geni için belirlenen oranlarda bir uyum gözlemlenmiştir (Aghdam ve ark., 2017)

Dziri ve ark. (2018) yeni doğan ve yoğun bakım ünitelerine kabul edilmiş hastaların rektal sürüntü numunelerinden ve kan örneklerinden izole ettikleri *E. faecium* izolatlarının tamamında VanA genini tespit ettiklerini *esp* genini ise yalnızca bir izolatta tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmamızda Dziri ve arkadaşlarının bulgularının aksine *E. faecium* izolatlarının yalnızca %9,62’sinde VanA geni tespit edilebilmiştir.

Ayrıca yine aynı araştırmacıların bulgularının aksine *E. faecium* izolatlarının %32,69'unda *esp* geni belirlenmiştir (Dziri ve ark., 2018).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Yeşilbağ ve ark. (2015) hastane enfeksiyonu etkeni olan çok ilaca dirençli izolatların önce gastrointestinal kanalda kolonize olduğunu, özellikle yoğun bakım ünitelerinde çok ilaca dirençli izolatlarla kolonizasyonun belirlenmesinin hastane enfeksiyonunun önlenmesine pozitif katkı sağlayacağını, konuyla ilgili daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir. Ortaya çıkan patojenlerin erken tespitine, epidemiyolojik trendlerin izlenmesine ve kontrol önlemlerinin etkinliğinin doğrulanmasına olanak veren aktif sürveyans, çok ilaca dirençli bakteriler için kontrol programlarının önemli bir komponentidir. Rutin sürveyans kültür koleksiyonunun çok ilaca dirençli bakteri ile kolonize hastaların belirlenmesi için oldukça duyarlı bir yaklaşım olduğu düşünülmektedir. Gastrointestinal yol gibi önemli bir bakteriyel rezervuarla ilgili sürveyans kültürlerin hastane ortamında bakterilerin yayılmasından korunmak için temel araç olduğu kabul edilmektedir. Bu kapsamda rektal swap örneklerinin alınması oldukça yaygın kullanılan tekniktir (Stier ve ark., 2016). Bu bağlamda Mete ve arkadaşları enterokokların ilk olarak gastrointestinal yolda kolonize olduğunu akabinde virulans faktörleri edinerek organ ve dokularda enfeksiyonun meydana gelmesinde ve yayılmasında önemli olduğunu, ayrıca vankomisine duyarlı suşlarda vankomisine dirençli suşlardan daha fazla virulans genin tespit edilmesinin vankomisine duyarlı izolatların da hastanede yatan hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Mete ve ark., 2017).

Hem çalışmamızın hem de daha önce yapılan çalışmaların bulguları ışığında; enterokok izolatlarında virulans genlerinin tespit oranlarında farklılıklar olduğu görülmektedir. Bununla birlikte *E. faecalis* ve *E. faecium* türlerinin suşları arasında da virulans genlerin varlığı açısından farklılık olduğu hem çalışmamız hem de daha önceki çalışmalarla ortaya konulmuştur.

5.2. Öneriler

VRE izolatlarının yanı sıra VSE izolatlarında da önemli virulans genlerinin bulunması ciddi hastane enfeksiyonlarına yol açabilmektedir (Mete ve ark., 2017). Dolayısıyla çalışmamızda çoğunluğu vankomisine duyarlı olan yoğun bakım hastaları izolatlarında önemli oranda virulans genin tespit edilmiş olması, yoğun bakım hastalarında VSE izolatlarının da göz ardı edilmemesini buna bağlı olarak ta gerekli tedbirlere azami derecede uyulması gereğini ortaya koymaktadır.

7. KAYNAKLAR

- Acar, N., Berkem, R., Kurt, Ö., ve Akan, Ö., 1996. Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında Enterokok İdentifikasyon Modelleri, *Flora*, 1, 36-39.
- Afşar İ., Barış İ., Şener A.G., Demirci M., 2012. Linezolid Dirençli Enterococcus faecium: Türkiye'deki İlk G2576T Mutasyonu, *Mikrobiyoloji Bülteni*, 46 (3), 516-518.
- Aghdam, M. A., Barhaghi, M. H. S., Aghazadeh, M., Jafari, F., Hagh, M. B., Haghdoost, M., Memar, M. Y., Rezaee, M. A. ve Kafil, H.S., 2017. Virulence genes in biofilm producer Enterococcus faecalis isolates from root canal infections, *Cellular ve Molecular Biology*, 63 (5), 55-59.
- Akçimen, B., ve Köksal, F., (2010), “Hastane enfeksiyonlarından izole edilen vankomisin dirençli enterokokların pulsed field jel elektroforez yöntemiyle genotip tayini”, (Uzmanlık tezi), *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*, Adana, 1-128.
- Akgül, Ö., Gülhan, T., ve Güdücüoğlu, H., 2016. Tavuk ve martı kökenli enterokok türlerinin antibiyotik dirençliliğinin fenotipik ve genotipik analizi, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 63, 235-244.
- Aktaş, G., ve Derbentli, Ş., 2009. Vankomisine dirençli enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri, *İnfeksiyon Dergisi*, 23, 201-209.
- Alp, Ş., Şardan, Y. Ç., 2008. Vankomisine dirençli enterokokların epidemiyolojisi ve kontrolü, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 39, 89-95.
- Al-Talib, H., Zuraina, N., Kamarudin, B., ve Yean, C. Y., 2015. Genotypic Variations of Virulent Genes in Enterococcus faecium ve Enterococcus faecalis Isolated from Three Hospitals in Malaysia, *Advances in Clinical ve Experimental Medicine*, 24 (1), 121-7.
- Arias, C. A., ve Murray, B. E. J. N. R. M., 2012. The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance, *Nature reviews microbiology*, 10 (4), 266.
- Arthur, M., Courvalin, P., 1993. Genetics ve mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci, *American Society for Microbiology*, 37 (8), 1563.
- Baylan, O., Nazik, H., Bektöre, B., Çitil, B. E., Turan, D., Öngen, B., ve Haznedaroğlu, T., 2011. Üriner enterokok izolatlarının antibiyotik direnci ile virulans faktörleri arasındaki ilişki, *Mikrobiyol Bülteni*, 45 (3), 430-445.
- Canadian, N. I. S. P., 2006. Surveillance for vancomycin resistant enterococci (VRE) in patients hospitalized in Canadian acute-care hospitals participating in CNISP results, Public Health Agency, *Canada*.
- Çetinkaya Aydın, Ö., (2015), “Düzce Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yoğun Bakım Ünitelerinde Hastane Enfeksiyon Etkenleri ve Antibiyotik Duyarlılıkları”, (Uzmanlık tezi), *Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*, 1-81

- Çetinkaya, Y., Falk, P., ve Mayhall, G., 2000. Vancomycin-resistant enterococci, *American Society for Microbiology* 13 (4), 686-707.
- Chajęcka-Wierzchowska, W., Zadernowska, A., Łaniewska-Trokenheim, L. L., 2016. Virulence factors, antimicrobial resistance ve biofilm formation in enterococcus spp. isolated from retail shrimps, *Discover conferenes*, 69, 117-122.
- Chou, Y. Y., Lin, T. Y., Lin, J. C., Wang, N. C., Peng, M. Y., ve Chang, F. Y., 2007. Vancomycin-resistant enterococcal bacteremia: comparison of clinical features ve outcome between enterococcus faecium ve Enterococcus faecalis, *J Microbiol Immunol Infect*, 41 (2), 124-129.
- Çopur, Ş. S., ŞahİN, F., ve Göçmen, J. S., 2016. Determination of virulence ve multidrug resistance genes with polymerase chain reaction method in vancomycin-sensitive ve-resistant enterococci isolated from clinical samples, *Turkish Journal of Medical Sciences*, 46 (3), 877-891.
- Creti, R., Imperi, M., Bertuccini, L., Fabretti, F., Orefici, G., Di Rosa, R., ve Baldassarri, L., 2004. Survey for virulence determinants among Enterococcus faecalis isolated from different sources, *Journal of Medical Microbiology*, 53 (1), 13-20.
- D'azevedo, P. A., Furtado, G. H., Medeiros, E. A., Santiago, K. A., Silbert, S., ve Pignatari, A. C., 2008. Molecular characterization of vancomycin-resistant Enterococci strains eight years apart from its first isolation in Sao Paulo, *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 50 (4), 195-198.
- Devriese, L., Baele, M., ve Butaye, P., 2006. The genus enterococcus, *The Prokaryotes, Handbook on the biology of bacteria*, 163-174.
- Dziri, R., El Kara, F., Barguellil, F., Ouzari, H-I., El Asli, M. S., Klibi, N., 2018. Vancomycin-Resistant Enterococcus faecium in Tunisia: Emergence of Novel Clones, *Microbial Drug Resistance*, 25 (4), 469-474.
- Edmond, M. B., Ober, J. F., Dawson, J. D., Weinbaum, D. L., ve Wenzel, R. P., 1996. Vancomycin-resistant enterococcal bacteremia: natural history and attributable mortality, *Clinical Infectious Diseases*, 23 (6), 1234-1239.
- Erbek, S., ve Özakın, C., 2002. Enterokok Suşlarında Saptanan Yüksek Düzeyli Aminoglikozid ve Glikopeptid Direnci, *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*, 6, 142-149.
- Fisher, K., ve Phillips, C., 2009. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus, *Microbiology and Immunology*, 155 (6), 1749-1757.
- Galli D, Wirth R., 1991. Comparative analysis of Enterococcus faecalis sex pheromone plasmids identifies a single homologous DNA region which codes for aggregation substance, *Journal Of Bacteriology*, 173:3029–33.
- Gilmore, M. S., Segarra, R. A., Booth, M. C., Bogie, C. P., Hall, L. R., ve Clewell, D. B., 1994. Genetic structure of the Enterococcus faecalis plasmid pAD1-encoded

- cytolytic toxin system and its relationship to lantibiotic determinants, *Journal of Bacteriology*, 176 (23), 7335-7344.
- Gültekin, M., 2004. Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi, gram pozitif bakteri enfeksiyonları, 121-140.
- Joels, C. S., Matthews, B. D., Sigmon, L. B., ve Hasan, R., 2003. Clinical characteristics and outcomes of surgical patients with vancomycin-resistant enterococcal infections, *The American Surgeon*, 69 (6), 514.
- Kayaoğlu, G., ve Orstavik, D., 2004. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease, *Critical Reviews in Oral Biology Medicine*, 15 (5), 308-320.
- Kutkan, E., (2016), "Yoğun bakım hastalarında vankomisine dirençli enterokoklar ve alınan önlemlerin etkinliğinin araştırılması", (Yüksek Lisans Tezi), *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 1-80.
- Latasa, C., Solano, C., Penadés, J. R., ve Lasa, I. J. C. R. B., 2006. Biofilm-associated proteins, *Comptes rendus biologiques*, 329 (11), 849-857.
- Lautenbach, E., Bilker, W. B., ve Brennan, P. J., 1999. Enterococcal bacteremia: risk factors for vancomycin resistance and predictors of mortality, *Infection Control Hospital Epidemiology*, 20 (5), 318-323.
- Li, W., Li, J., Wei, Q. Hu., F., Lin, X., Chen, M., Ye, R., ve Lv H., 2015. Characterization of Aminoglycoside Resistance and Virulence Genes among *Enterococcus* spp. Isolated from a Hospital in China, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12 (3), 3014-3025.
- Malathum, K., ve Murray, B. E. J. D. R. U., 1999. Vancomycin-resistant enterococci: recent advances in genetics, epidemiology and therapeutic options, *Drug Resistance Updates*, 2 (4), 224-243.
- Mederski-Samoraj, B. D., ve Murray, B. E., 1983. High-level resistance to gentamicin in clinical isolates of enterococci, *The Journal Of Infectious Diseases*, 147 (4), 751-757.
- Moellering Jr, R. C. J. C. ve İ. D., 1992. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen, *Journal of Infectious Diseases*, 1173-1176.
- Murray 2000 ve Guardabassi 2004'den aktaran, Çöleri A, ve Çökmüş, C., 2008. Enterokok Türlerinde Glikopeptid Grubu Antibiyotiklere Direncinin Moleküler Mekanizmaları ve Gen Aktarım Yolları, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 65 (2), 87.
- Nallapareddy, S. R., Qin, X., Weinstock, G. M., Höök, M., Murray, B. E., 2000. *Enterococcus faecalis* Adhesin, Ace, Mediates Attachment to Extracellular Matrix Proteins Collagen Type IV and Laminin as well as Collagen Type I. *Infect Immun*

- Nateghian, A., Fallah, F., Daghighi, Z., Goudarzi, Z., Hashemi, A. ve Robinson, J. L. 2019. Detection of virulence genes in resistant enterococci isolated from pediatric patients at high risk for nosocomial infections, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 85, 260-262.
- Öncül, O., 2010. Vankomisin ve Teikoplanin Hikayesi, *Ankem Dergisi*, 24, 101-109.
- Özbalıkcı Karaman, S., (2007), “Yoğun bakım ünitesinde bakteriyemi etkeni olarak izole edilen dirençli bakterilerde in vitro tigesiklin duyarlılığı”, (Uzmanlık tezi), *Başkent Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*,
- Panesso, D., Reyes, J., Rincón, S., Díaz, L., Galloway-Peña, J., Zurita, J., ve Adachi, J. A., 2010. Molecular epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*: a prospective, multicenter study in South American hospitals, *Journal of Clinical Microbiology*, 48 (5), 1562-1569.
- Portenier, I., Waltimo, T. M., ve Haapasalo, M., 2003. *Enterococcus faecalis*—the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease, *Endodontic topics*, 6 (1), 135-159.
- Reynolds, P. E., Courvalin, P., 2005. Vancomycin resistance in enterococci due to synthesis of precursors terminating in D-alanyl-D-serine, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49 (1), 21-25.
- Rice, L. B., 2001. Emergence of vancomycin-resistant enterococci, *Emerging infectious diseases*, 7 (2), 183.
- Rudy, M., Zientara, M., Bek, T., ve Martirosian, G., 2005. Occurrence of antibiotic resistant enterococci in clinical specimens from a pediatric hospital, *Polish journal of microbiology*, 54 (1), 77-80.
- Sava, I. G., Heikens, E., ve Huebner, J., 2010. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections, *Clinical microbiologyinfection and Chemotherapy*, 16 (6), 533-540.
- Smith, T. L., Pearson, M. L., Wilcox, K. R., Cruz, C., Lancaster, M. V., Robinson-Dunn, B., ve White, E., 1999. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*, *The New England journal of medicine*, 340 (7), 493-501.
- Söğüt, M. Ü., Kırca, Ş., Uludağ, S. K., DİNÇ, G., ve Çiftçi, A. 2018. Giresun İlinde İzole Edilen Vankomisine Dirençli *Enterococcus faecium* Klinik İzolatlarının Moleküler Özellikleri, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 48 (3):192-198.
- Sood, S., Malhotra, M., Das, B., ve Kapil, A., 2008. Enterococcal infections and antimicrobial resistance, *Indian Journal of Medical Research*, 128 (2), 111.
- Stier, C.J.N., Paganini, M.C., de Souza, H.H.M., Costa, L.M.D., dos Santos, G.S., Cruz, E.D.A. 2016. Active surveillance cultures: comparison of inguinal and rectal sites for detection of multidrug-resistant bacteria, *Journal of Hospital Infection*, 92(2), 178-182.

- Taylor, S. A., Bailey, E. M., ve Rybak, M. J. J. A. O. P., 1993. Enterococcus, an emerging pathogen, *The Annals of pharmacotherapy*, 27 (10), 1231-1242.
- Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. 2003. Pathogenic enterococci, *new developments in the 21st century*. CMLS, Cell. Mol. Life Sci.; 60:2622–2636.
- Tian, Y., Li, T., Zhu, Y., Wang, B., Zou, X., Li, M., 2014. Mechanisms of linezolid resistance in staphylococci and enterococci isolated from two teaching hospitals in Shanghai, China, *BMC Microbiology*, 14:292.
- Torun, A., 2017. Selçuk Üniversitesi Tıp fakültesi hastanesi'nde 2012-2015 yılları arasında görülen vankomisin dirençli enterokokların dağılımı ve irdelenmesi, *Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*, 1-78.
- Tsikrikonis, G., Maniatis, A. N., Labrou, M., Ntokou, E., Michail, G., Daponte, A., Pournaras, S. J. M. P., 2012. Differences in biofilm formation and virulence factors between clinical and fecal enterococcal isolates of human and animal origin, *Microbial Pathogenesis Journal*, 52 (6), 336-343.
- Upadhyaya, P. G., Ravikumar, K., ve Umapathy, B. L., 2009. Review of virulence factors of enterococcus: an emerging nosocomial pathogen, *Indian Journal of Medical Microbiology*, 27 (4), 301.
- Ural, O., 1998. Nozokomiyal Enterokok Bakteriyemisi, *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 1-7.
- Uttley, A. C., 1988. Vancomycin-resistant enterococci, *The Lancet Journal*, 2, 57-58.
- Van Tyne, D., Martin, M., ve Gilmore, M., 2013. Structure, function, and biology of the enterococcus faecalis cytolysin, *Toxins Journal*, 5 (5), 895-911.
- Vankerckhoven, V., Van Autgaerden, T., Vael, C., Lammens, C., Chapelle, S., Rossi, R., ve Goossens, H., 2004. Development of a multiplex PCR for the detection of *asaI*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of *Enterococcus faecium*, *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (10), 4473-4479.
- Vincent, S., Knight, R. G., Green, M., Sahn, D., ve Shlaes, D. M., 1991. Vancomycin Susceptibility and Identification Of Motile Enterococci, *Journal Of Clinical Microbiology*, 29 (10), 2335-2337.
- Wirth R., 1994. The sex pheromone system of *Enterococcus faecalis*. More than just a plasmid-collection mechanism, *European Journal Biochemistry*, 222: 235–46.
- Yalçın, A. N., 2009. Yoğun bakım ünitesinde antibiyotik kullanımını ve direnç sorununa genel bakış, *Ankem Dergisi*, 23 (2), 136-142.
- Yeşilbağ, Z., Çağatay, A.A., Karadeniz, A., Başaran, S., Orhun, G., Ergin ÖZCAN, P., Özsüt, H., Eraksoy, H. 2015. Yoğun bakım birimindeki hastaların rektal kolonizasyonu ile hastane enfeksiyonu arasında bir ilişki var mı?, *Mikrobiyoloji Bulteni*, 49(3),327-339.

- Yıldırım, M., 2007. Enterokoklar ve Enterokoklarla Gelişen İnfeksiyonlar, *Düzce Üniv Tıp Fak Dergisi*, 2, 46-52.
- Yüceer, S., ve Demir, S. G., 2009. Yoğun bakım ünitesinde nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesi ve hemşirelik uygulamaları, *Dicle Tıp Dergisi*, 36 (3), 226-232.
- Zou, L. K., Wang, H. N., Zeng, B., Li, J. N., Li, X. T., Zhang, A. Y., Xia, Q. Q., 2011. Erythromycin resistance and virulence genes in *Enterococcus faecalis* from swine in China, *New Microbiologica*, 34 (1), 73-80.

Kontrol Edilecek Hususlar	Evet	Hayır
Sayfa yapısı uygun mu?	✓	
Şekil ve çizelge başlık ve içerikleri uygun mu?	✓	
Denklem yazımları uygun mu?	✓	
İç kapak, onay sayfası, tez bildirimi, özet, abstract, önsöz ve/veya teşekkür uygun yazıldı mı?	✓	
Tez yazımı; Giriş, Kaynak Araştırması, Materyal ve Yöntem (veya Teorik Esaslar), Araştırma Bulguları ve Tartışma, Sonuçlar ve Öneriler sıralamasında mıdır?	✓	
Kaynaklar soyadı sırasına göre verildi mi?	✓	
Kaynaklarda verilen her bir yayına tez içerisinde atıfta bulunuldu mu?	✓	
Kaynaklar açıklanan yazım kuralına uygun olarak yazıldı mı?	✓	
Tez içerisinde kullanılan şekil ve çizelgelerde kullanılan ifadeler Türkçe'ye çevrilmiş mi? (Latince ve Özel kelimeler hariçtir)	✓	
Tezin içindekiler kısmı, tez içerisinde verilen başlıklara uygun hazırlanmış mı?	✓	
*Tez Önerisi Formunun (FBE Form 22) ilk sayfası ile birlikte materyal ve yöntem kısımlarını içeren sayfaların fotokopisini tezinizin içindekiler sayfasından önce telli zımbalı formda koydunuz mu?	✓	

Yukarıdaki verilen cevapların doğruluğunu kabul ediyorum.

Unvanı Adı SOYADI

İmza

Öğrenci : Şehristan IŞIK BAYTAR.....

Danışman : Doç. Dr. Hanifi KÖRKOCA.....

Tez tesliminde enstitü web sayfası veri tabanında yayınlanmasına **izin veriyorum /vermiyorum.**

Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Bu tez MŞÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygundur.

Onaylayan Adı SOYADI

Tarih

İmza

Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖZLÜ.....

20.09.2019

*Seminer, Yüksek Lisans ve doktora tezleri FBE tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmalıdır. Tezler FBE'ne teslim edilmeden önce yukarıdaki kontrol listesi öğrenci ve danışman tarafından imzalanmalıdır. Bu sayfa tez teslimi esnasında en üst sayfa olarak verilmelidir.

*Tez ilk savunmaya sunulduğunda spiral cilt veya clip dosya formunda FBE teslim edilmelidir.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Şehristan IŞIK BAYTAR
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Gürpınar/1978
Telefon : 0506 388 48 08
Faks :
e-mail : sehristanbaytar@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Üniversite	: Yüzüncü Yıl Üniversitesi /Van	2000

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2016 –	Milli Eğitim Bakanlığı	Öğretmen

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR*