



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİK-YL-2014-005

KÖPEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI

Vet. Hek. Zeynep GÜLTEKİN

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Neriman AYDIN**

AYDIN - 2014

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİK-YL-2014-005**

**KÖPEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK
SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI**

Vet. Hek. Zeynep GÜLTEKİN

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Neriman AYDIN**

AYDIN - 2014

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Vet. Hek. Zeynep GÜLTEKİN tarafından hazırlanan “**KÖPEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK SUŞLARININ ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI**” başlıklı tez, 28/08/2014 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

1- Prof. Dr. Osman KAYA

2- Prof. Dr. Neriman AYDIN

3- Doç. Dr. Sevin KIRDAR

Üniversitesi :

ADÜ, Veteriner Fakültesi

ADÜ, Tıp Fakültesi

ADÜ, Tıp Fakültesi

İmzası:



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Güzel DİŞÇİGİL
Enstitü Müdürü

Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 09100- AYDIN
Santral : (256) 218 20 00 Direkt Telefon : 218 20 44 Fax : (256) 218 20 44

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe	2
2.2. Morfoloji ve Üreme Özellikleri	4
2.3. Sınıflandırma	5
2.4. Enterokok Grupları	6
2.4.1. Grup 1	6
2.4.2. Grup 2	6
2.4.3. Grup 3	6
2.4.4. Grup 4	6
2.4.5. Grup 5	7
2.4.6. Bazı Enterokok Türlerinin Özellikleri	7
2.5. Enterokok İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi	8
2.6. Patogenez	8
2.7. Virülans Faktörleri	9
2.7.1. Sitolizin	9
2.7.2. Agregasyon Faktörü (AF)	10
2.7.3. Ekstraselüler Süperoksid	10
2.7.4. Enterokokal Yüzey Proteini	10
2.7.5. Jelatinaz	10
2.7.6. Lipoteikoik Asit (LTA)	11
2.7.7. Kollajen Bağlayıcı Adezin (MSCRAMM Ace)	11
2.7.8. Kapsül, Hücre Duvarı Polisakkaritleri	11
2.7.9. Seks Feromonları	11
2.7.10. Hyaluronidaz	11
2.7.11. <i>Enterococcus faecalis</i> antijen A Proteini (EfaA proteini)	12
2.7.12. AS-48	12
2.7.13. Antibiyotik Direnci	12
2.7.13.1 İnterensek Direnç	13
2.7.13.2. Eksterensek (Kazanılmış) Direnç	13

2.7.13.3. Beta - Laktam Grubu Antibiyotiklere Direnç	13
2.7.13.4. Aminoglikozid direnci.....	14
2.7.13.5.Linkozamid direnci	14
2.7.13.6. Kloramfenikol direnci	14
2.7.13.7. Tetrasiklin direnci	15
2.7.13.8. Kinolon direnci.....	15
2.7.13.9.Eritromisin direnci.....	15
2.7.13.10. Glikopeptid Direnci.....	15
2.8. Enterokok İnfeksiyonları.....	16
2.9. Enterokokların Tanımlanması	16
2.10. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	17
2.11. Enterokok İnfeksiyonlarının Tedavisi.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1 Örneklerin Alınması.....	19
3.2 İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmaları	19
3.2.1 Besi yerleri	19
3.2.1.1. Brain Heart Infusion Agar.....	19
3.2.1.2. Brain Heart Infusion Broth.....	20
3.2.1.3. Enterocococel Agar	20
3.2.1.4.Müller Hinton Agara	21
3.2.2 Enterokokların İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	21
3.2.2.1 Katalaz Testi.....	22
3.2.2.2. Oksidaz Testi.....	23
3.2.2.3 Safra Eskülin Testi	23
3.2.2.4. L-Pirolidonil-B-naftilamid (PYR) testi	23
3.2.2.5. %6.5 luk NaCl de üreme testi.....	23
3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	23
3.4.Phoenix PMIC/ID Paneli (Bakteri İdentifikasyon ve Antibiyogram Cihazı).....	24
4.BULGULAR	25
5.TARTIŞMA	27
SONUÇ	33
ÖZET.....	34
SUMMARY	35
KAYNAKLAR.....	36

KISALTMALAR

- AAC(6')-APH(2'') : 6' Asetil transferaz-2'' fosfotransferaz
AF: Agregasyon faktör
AS -48 : *Enterococcus faecalis* tarafından üretilen peptit
BHIB: Brain-heart infusion broth
Cna: *Staphylococcus aureus*'un kollajen bağlayan proteini
CNA: Columbia-kolistin nalidiksik agar
EFA: *Enterococcus faecalis* antigen A
Esp: Enterokokal yüzey proteini
LTA: Lipoteikoik asit
MBK: Minimal bakterisidal konsantrasyon
MIK: Minimal inhibitör konsantrasyonu
MSCRAMM Ace: Kollajen bağlayıcı adezin
NCCLS: National Comitee for Clinical Laboratory Standarts
PCR: Polymerase chain reaction
PEA: Fenil etil alkol agar
PFGE: Pulsed field gel electrophoresis
PMNL: Polimorfonükleer lökosit
PYR: Pyrolidonyl arylamidase
SEA: Safra eskülin agar
TMP-SMX: Trimetoprim-sulfometaksazol
VRE: Vankomisine dirençli enterokoklar
YDAD: Yüksek düzeyde aminoglikozid direnci

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Enterokokların Gram boyama görüntüleri.....	4
Şekil 2.2. Enterokokların diğer gram pozitif ve katalaz negatif koklardan ayrımı.....	5
Şekil 3.1. Enterokokların tanımlanması.....	21

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Önemli enterokok türleri, bulunduğu canlılar ve ortamlar.....	8
Tablo 3.1. Enterokokların arjinin, sorboz, sorbitol, mannitol ve tellürit'i hidrolize edip etmemelerine göre sınıflandırılması.....	22
Tablo 3.2. Enterokoklarda antibiyotik duyarlılıklarının disk difüzyon aralığı	24
Tablo 4.1. <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>E. faecium</i> kökenlerinin izole edildikleri örneklere göre dağılımı.....	25
Tablo 4.2. <i>Enterococcus faecalis</i> kökenlerinin antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	26
Tablo 4.3. <i>Enterococcus faecium</i> kökenlerinin antibiyotik duyarlılık sonuçları.....	26
Tablo 5.1. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin ampisiline karşı direnç oranları	29
Tablo 5.2. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin eritromisine karşı direnç oranları	29
Tablo 5.3. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin kloramfenikole karşı direnç oranları	30
Tablo 5.4. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin tetrasikline karşı direnç oranları.....	31
Tablo 5.5. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin siprofloksasine karşı direnç oranları	31
Tablo 5.6. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin vankomisine karşı direnç oranları ...	32

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Enterokoklar, insan ve hayvanların sindirim florasında bulunmakla birlikte toprak, yüzey suları, bitkiler, sebzeler ve böceklerde de bulunmaktadır. Enterokok türlerinden *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans*'ın insan dışkılarından sıklıkla izole edilmesinin yanında bu bakterilere çiftlik hayvanlarında daha az sıklıkta rastlandığı belirtilmektedir. *Enterococcus* cinsi içinde insan dışkılarından en fazla *E. faecalis* ve *E. faecium*'un, tavuk, sığır ve domuz gibi hayvanlardan ise en fazla *E. faecium*'un izole edildiği, bunun yanında *E. faecalis* ve *E. cecorum*'un ve daha az sıklıkla da *E. gallinarum* ve *E. durans/hirae* ya da *E. avium*'a rastlandığı bildirilmektedir. *Enterococcus mundtii* ve *E. casseliflavus*'un ise tipik olarak bitki kaynaklı olduğu ifade edilmektedir (Franz ve ark 1999, 2001). Öte yandan enterokokların, kümes hayvanları, kanarya ve papağanların infeksiyonlarında rol aldığı bilinmektedir (Devriese ve ark 1994). Bunların sekonder infeksiyonlar ve altta yatan viral veya bakteriyel infeksiyonlar tarafından tetiklenen infeksiyonlar olabileceği belirtilmektedir (Butaye ve ark 2000).

Enterokok'lar kedi ve köpeklerde otitis eksternaya ve nadiren de üriner yolu infeksiyonlarına neden olmaktadır. *Enterococcus durans*, *E. hirae* ve *E. villorum* türleri köpek, kedi, tay ve buzağılarda ishale yol açmaktadır. *Enterococcus hirae*'nin bir kedide enteropatiye, karaciğer safra kanalı ve pankreatik kanalında supuratif yangıya neden olduğu rapor edilmiştir (Moellering 2000).

Sadece hayvan yemlerinde kullanılan bir glikopeptid olan avoparsin, terapötik olarak insanlarda kullanılan ve aynı gruptan olan vankomisine ve teikoplanine çapraz direnç oluşturmaktadır. Bates ve arkadaşları, 1993 yılında hayvanlardan vankomisine dirençli enterokok (VRE) izolasyonunu rapor ederek bu konuya dikkat çekmişlerdir (Bates 1998). Avrupa'da besi hayvanlarında saptanan VRE'lerin avoparsin kullanımından kaynaklandığı bildirilmektedir. Danimarka'da 1995 yılında kümes hayvanları ve domuzlarda avoparsin ve VRE'lerin saptanması üzerine, aynı yıl avoparsinin kullanımı yasaklanmıştır (Emborg ve ark 2003). Bu yasaklamaya, avoparsinin vankomisin ile çapraz dirence yol açması, direncin transfer edilebilmesi, VRE'lerin seleksiyonuna neden olması ve bu dirençli suşların gıdalar

yoluyla insanlara aktarılmasına dayanarak karar verilmiştir. Aynı yıl Norveç, bir yıl sonra Almanya ve 1997 yılında tüm Avrupa Birliği bu kararı uygulamışlardır (Emborg ve ark 2003).

İnsanlarda vankomisine dirençli enterokokların özellikle hastane infeksiyonları olmak üzere önemli sağlık sorununa yol açtığı bilinmektedir. Bu çalışmada insanlarla yakın temas halinde bulunan köpeklerden izole edilen enterokok türleri ve bu türlerin antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

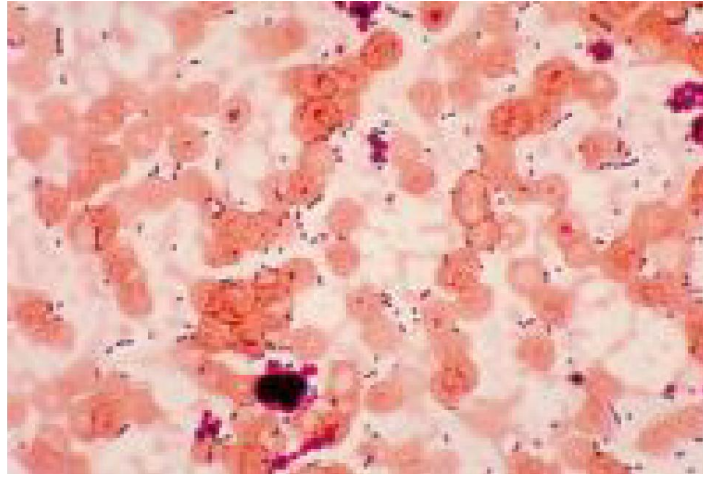
2.1. Tarihçe

Enterokok cinsine ait mikroorganizmalar ilk olarak streptokoklar içerisinde “fokal orijinli streptokoklar” olarak gruplandırılmıştır. Enterokok terimi, ilk kez Thiercelin (1899) (Facklam ve Teixeira 1998), *Streptococcus faecalis* tür ismi ise ilk olarak F.W.Andrews ve T.J.Horder (1906) tarafından kullanılmıştır (Andrews ve Horder 1906, Facklam ve Teixeira 1998). Orla-Jensen (1919) bu grupta fermentasyon özellikleri *Streptococcus faecalis*'ten farklılık gösteren *Streptococcus faecium* olarak adlandırılan ikinci bir organizma tanımlamışlar. (Kandler ve ark 1968). Helen U. Wing ve M. Sherman tarafından (1935 ve 1937) *S. faecium*'a benzeyen ancak farklı özellikler gösteren (daha az fermentasyon özelliği) üçüncü bir tür olan *Streptococcus durans*'ı tanımlanmıştır. Graham, 1937 ve 1938 yıllarında, 9.6 pH'da, 10-45 °C arasındaki sıcaklıklarda ve %6.5 NaCl içeren sıvı besiyerinde üreyebilen ve 60 °C'de yarım saat canlılığını sürdürebilen streptokoklar için “enterococcal grup” terimini kullanmıştır (Graham ve Bartley 1939). Nowlan ve Deibel (1967) bu gruba *Streptococcus avium*'u eklemiştir. Kalina (1970) *S. faecalis* ve *S. faecium* Lancefield sınıflamasına göre serolojik olarak Grup D Streptokoklar olarak *Streptococcus* cinsi içerisinde kalmıştır (Facklam ve Teixeira 1998). Ancak K.H. Schleifer ve R. Klipper-Baltz (1984) *S. faecalis* ve *S. faecium* türlerinin diğer streptokoklardan farklı olduklarını ileri sürerek bunların *Streptococcus* cinsinden ayrılıp *Enterococcus* adı altında tanımlanmasını önermiştir (Murray 1990, Schleifer ve Klipper 1987). Enterokok cinsi içinde *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. malodoratus*, *E. hirae*, *E. gallinarum*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. flavescens*, *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E. saccharolyticus*, *E. columbae* ve *E. cecorum* yer almaktadır (Facklam ve Teixeira 1998)

2.2. Morfoloji ve Üreme Özellikleri

Enterokoklar tekli, ikili, ya da kısa zincirler halinde görülebilen, spor oluşturmeyen, gram pozitif koklardır. Bazı suşların yalancı katalaz reaksiyonu göstermesine karşın enterokoklar genellikle katalaz negatif, oksidaz negatif, fakültatif anaerobiktirler. Enterokoklar %6,5'lük NaCl içeren buyyonda ve %40 safra varlığında ürer, eskulini hidrolize

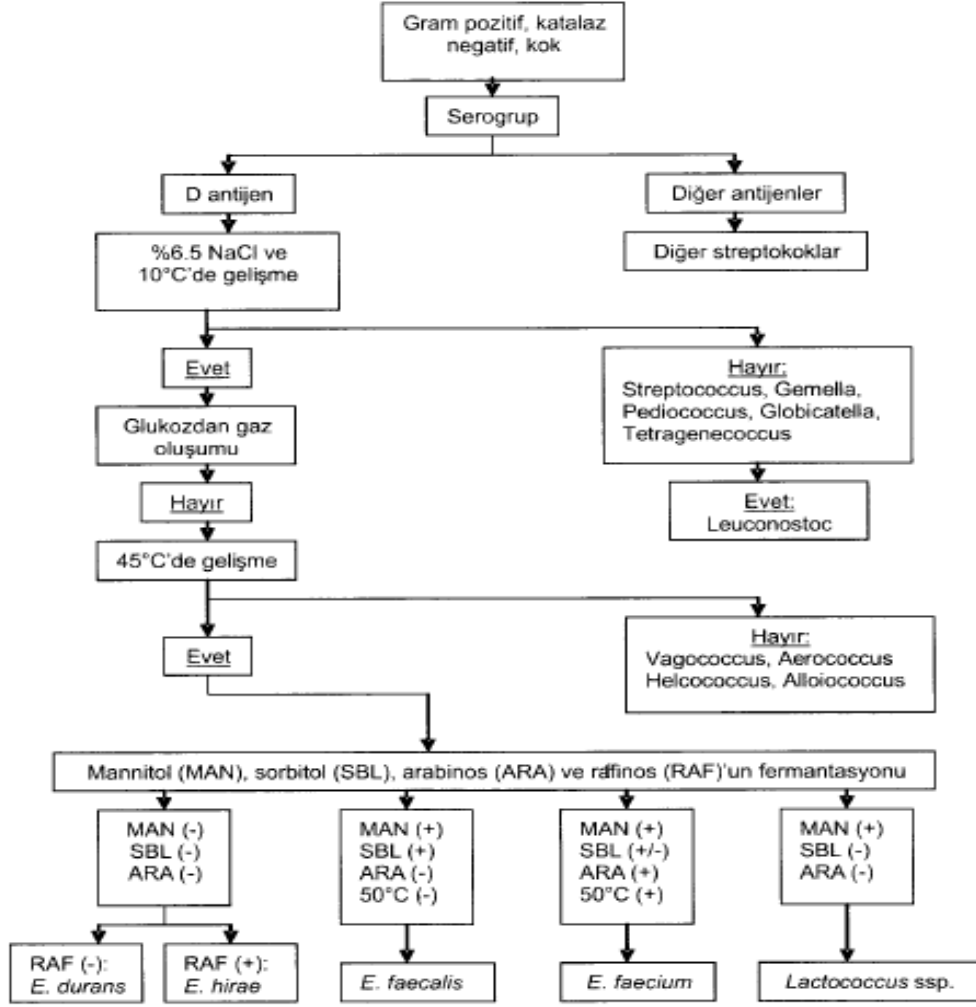
ederler ve 60 °C'ye 30 dakika dayanıklıdır. Kanlı agarda 0,5 – 1,5 mm boyutunda (streptokoklardan daha büyük) kabarıklık, gri – beyaz renkte koloniler yaparlar. Alfa, beta veya gama hemoliz yaparlar. Eskülini hidrolize edebilir ve glikozdan gaz oluşturmazlar. *Enterococcus cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* dışında kalan tüm kökenler L-pyrolidonyl beta naphthylamid (PYR) maddesini hidrolize ederler. Karbonhidratları L-laktik aside fermente edebilme özelliklerinden dolayı homofermentatif laktik asit bakterileri içinde yer alırlar. *Enterococcus casseliflavus* ve *E. gallinarum* gibi bazı türleri dışında hareketsizdirler (Facklam ve Teixeira 1998). Enterokokların Gram boyama görüntüleri şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Enterokokların Gram boyama görüntüleri

Enterokokların izolasyonunda eskülinli safralı azidli agar, kanamisinli eskülinli azidli agar, sitratlı azidli ve tween-80 li karbonatlı agar, talyum asetatlı agar ve kristal viyoleli azidli agar gibi besi yerleri kullanılır (Unat 1986).

Enterokokların gram pozitif, katalaz negatif koklardan ayırımında kullanılan algoritma şekil 2.2'de gösterilmektedir (Klein 2003).



Şekil 2.2. Enterokokların diğer gram pozitif ve katalaz negatif koklardan ayrımı (Klein 2003)

2.3. Sınıflandırma

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol:2, 1986)'de gram pozitif koklar, katalaz pozitif *Micrococcaceae* familyası ve katalaz negatif *Streptococcaceae* familyası olarak 2 grupta incelenir. Gram pozitif kokların DNA-RNA hibridizasyonları, 16S-rRNA sıralarının analizi ve hücre duvar yapılarının incelenmesi yöntemleri ile yapılan sınıflandırma çalışmaları sonucu; 1991'de Bentley ve arkadaşları, daha sonra da Kawamuro ve arkadaşlarının modifiye ettiği şekliyle *Streptococcaceae* familyası Gram pozitif koklar, *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Lactococcus* cinsi olarak ayrılmıştır.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'e göre *Enterococcus* cinsi içinde en az 12 tür tanımlanmıştır; *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. malodoratus*, *E. gallinorum*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. raffinosus*, *E. solitarius*, *E. Pseudoavium*.

Ancak son yıllarda, *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. saccharolyticus*, *E. dispar*, *E. sulfureus*, *E. seriolicida*, *E. flavecens* gibi yeni türler de katılmıştır (Moellering 2000).

2.4. Enterokok Grupları

Enterokoklar mannitol, sorbitol, sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arjinini hidrolize etmelerine göre beş gruba ayrılırlar (Facklam ve Teixeira, 1998).

2.4.1. Grup 1

Enterococcus avium, *E. malodoratus*, *E. raffinosus*, *E. pseudoavium*, *E. saccharolyticus*, *E. pallens*, *E. gilvus*'dan oluşur. Bu türler mannitol, sorbitol ve sorbozdan asit oluştururlar. Fakat arjinini hidrolize etmezler (Facklam ve Teixeira, 1998).

2.4.2. Grup 2

Enterococcus faecalis, *E. faecium*, *E. casseliflavus*, *E. haemoperoxidus*, *E. mundtii*, ve *E. gallinorum* türlerinden oluşur. Bu gruptaki türler mannitolden asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü besiyerinde değişken reaksiyon verirler. Ayrıca grup 1'den farklı olarak arjinini hidrolize ederler (Facklam ve Teixeira 1998)

2.4.3. Grup 3

Enterococcus villorum, *E. dispar*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. ratti* ve *E. faecalis* ile *E. faecium*'un mannitol negatif olan varyantları bu grubu oluşturmaktadır. Bu gruptaki türler arjinini hidrolize ederler. Ancak mannitol, sorbitol ve sorboz içeren besiyerlerinin hiçbirisinde asit oluşturmazlar (Facklam ve Teixeira 1998)

2.4.4. Grup 4

Enterococcus sulfurens, *E. asini*, *E. phoeniculicola* ve *E. cecorum* bu grubu oluşturmaktadır. Bu türler mannitol ve sorboz içeren besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arjinini hidrolize etmezler. *Enterococcus cecorum* sorbitol içeren besiyerlerinde asit oluştururken, *E. sulfurens* asit oluşturmaz (Facklam ve Teixeira, 1998).

2.4.5. Grup 5

Enterococcus columbiae, *E. caris*, *E. moraviensis*, bu grupta bulunur. Bu gruptaki türler arjinini hidrolize etmezler, sorbozdan asit oluşturmazlar, mannitolden asit oluştururlar ve sorbitollü besiyerinde değişken reaksiyon verirler (Facklam ve Teixeira, 1998).

2.4.6. Bazı Enterokok Türlerinin Özellikleri

İnsanlardan ve hayvanlardan sıklıkla izole edilen türlerin genel özellikleri aşağıda yer almaktadır (Facklam ve Teixeira 1998, Fisher ve Phillips 2009, Holt ve ark 1994).

***Enterococcus faecalis*:** İnsanlarda gastrointestinal flora üyesidir. Ağız, hepatobiliyer sistem ve vajinadan da izole edilmiştir. İnsan kaynaklı infeksiyonlardan en sık sorumlu tutulan türdür. Üriner infeksiyon, yara, periton sıvısı, derin pelvik apse, endokardit ve kan kültürlerinden izole edilmiştir. Ayrıca çeşitli hayvanlarda da bulunur. Bazen beta hemolitikdir. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da ürer.

***Enterococcus faecium*:** İnsan ve sığırların gastrointestinal sisteminde bulunur. Yiyecek, sebze ve yemlerden de izole edilmiştir. İki biyotipi vardır. *Enterococcus faecalis*'e göre antimikrobiyallere daha rezistandır. Bazen alfa hemolitikdir. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da ürer.

***Enterococcus durans*:** Süt ve kuru gıdadan izole edilmiştir. İnsan ve hayvanda nadiren, barsak ve üriner sistemden izole edilmiştir. Alfa ve beta hemolitikdir. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da ürer. 50 °C'de üremez.

***Enterococcus avium*:** Kuşlar, tavuk, köpek gibi hayvanlardan izole edilmiştir. İnsan gastrointestinal sistem florasının da bir parçasıdır. Apendisit, otit ve beyin apselerinden izole edilmiştir. Alfa hemolitikdir. % 6,5'luk NaCl'de üremesi zayıftır. H₂S üretir, pigment yapmaz.

***Enterococcus casseliflavus*:** Bitki ve toprakta bulunur. Vankomisine dirençlidir. Fırsatçı insan infeksiyonları yapar. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da ürer. Hareketlidir, sarı pigment yapar.

***Enterococcus gallinarum*:** Evcil kuşların gastrointestinal sisteminde bulunur. İnsanda hemodiyalizli bir hastadan izole edilmiştir. Vankomisine dirençlidir. Koyun kanlı agarda

nonhemolitiklidir. At kanlı agarda beta hemoliz yapabilir. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da ürer. Hareketlidir, pigment yapmaz.

Enterococcus hirae: Domuz ve tavuklarda bulunur. Önceden atipik *E.faecium* olarak bilinirdi. Hemoliz yapmaz. 10-45 °C arasında üreyebilir. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da ürer.

Tablo 2.1. Önemli enterokok türleri, bulunduğu canlılar ve ortamlar

Enterokok türleri	Canlılar ve ortamlar
<i>E.faecalis</i>	İnsanlar, hayvanlar, su, besinler
<i>E.faecium</i>	İnsanlar, hayvanlar, su, besinler
<i>E.gallinarum</i>	İnsanlar, evcil kuşlar, besinler
<i>E.casseliflarus</i>	Toprak, bitki, besinler, insan
<i>E.avium</i>	Kuş, tavuk ve köpek
<i>E.hirae</i>	Domuz ve tavuk
<i>E.durans</i>	İnsanlar, hayvanlar, besinler

2.5. Enterokok İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

Enterokoklar, insan ve hayvanların gastrointestinal sistem florasının üyeleridir. Doğada; toprak, su, bitki, kuşlar böcekler ve memelilerde yaygın olarak bulunurlar. İnsanlarda, esas olarak gastrointestinal florada bulunmaları nedeni ile gerek hastane gerekse hastane dışı kaynaklı enfeksiyonlara yol açmaktadırlar. *Enterococcus faecalis* diğer enterokok türlerine göre dışkıda daha yüksek oranda bulunur (Gültekin, 2004).

Enterokoklar çevre koşullarına dayanıklı olduklarından birçok ortamda canlılıklarını sürdürebilirler. Bu nedenle enterokoklar gerek cansız maddeler aracılığı ile, gerekse sağlık personeli ile hastadan hastaya taşınarak hastane enfeksiyonu olarak salgınlara yol açabilmektedir (Lawrence ve ark 1992).

2.6. Patogenezi

Enterokoklar, düşük virülanslı bakteriler olmalarına rağmen toplum kaynaklı ve özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda önemli etkenlerdir. Birçok antibiyotiğe karşı intrensek olarak dirençli olup, bazı antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilmektedirler. Ayrıca çevreye kolayca adapte olabilmektedirler (Franz ve ark 2001).

2.7. Virülans Faktörleri

Enterokoklar memeli hayvanların gastrointestinal sistemi içinde hem konakçı ile hem de bağırsak florasının diğer elemanları ile uyumlu olarak yaşayan kommensal bakterilerdir. Antibiyotik tedavisi, konak yaralanması veya azalan konak immunitesi gibi konak-patojen ilişkisinin dinamiklerindeki değişiklikler, bu bakterinin ekstraintestinal konak alanlarına erişmesine ve infeksiyon oluşturmaya olanak sağlayabilir. Enterokokların kommensal davranışlarının dışına sapsmasına neden olan diğer bir mekanizma ise konak savunmasını aşmak için yeni özellikler kazanması ve yeni ortamlarda kolonize olmasıdır. İnfeksiyona neden olan *E. faecalis* kökenlerinde patojenite adaları gösterilmiştir. Kommensal türlerle infeksiyona neden olan türlerin bu genetik farklılıkların patogeneizde rol oynadığı giderek kabul görmektedir (Devriese ve ark 2006, Kayaoglu ve Orstavik 2004, Upadhyaya ve ark 2009).

Enterokokların en önemli virülans faktörleri aşağıda verilmiştir:

1. Sitolizin
2. Agregasyon faktörü
3. Ekstraselüler süperoksitler
4. Enterokokal yüzey proteini
5. Jelatinaz
6. Lipoteikoik asit
7. Kollajen Bağlayıcı Adezin MSCRAMM Ace
8. Kapsül, hücre duvarı polisakkaritleri
9. Seks feromonları
10. Hyaluronidaz
11. Efa
12. AS-48
13. Antibiyotik direnci

2.7.1. Sitolizin

Enterococcus faecalis türlerinde bulunan ve plazmid ile kodlanan sitolizin ökaryotik ve prokaryotik hücreleri eritir. İnsan, at ve tavşan eritrositlerine karşı litik aktivite gösteren bu protein, eritrositler dışında, polimorfonükleer lökosit (PMNL)'ler, makrofajlar ve gram pozitif organizmalar için de litik aktivite gösterir. Buna karşılık toksinin koyun eritrositleri ve gram negatif bakterilere karşı etkisiz olduğu gösterilmiştir (Kayaoglu ve Orstavik 2004).

2.7.2. Agregasyon Faktörü (AF)

Agregasyon faktörü, verici ve alıcı bakteri arasında etkin temasın sağlanmasına aracılık eden ve plazmid geçişini kolaylaştıran, feromon-duyarlı, plazmid-kodlu bakteriyel bir adezindir. Plazmid transferini kolaylaştırması neticesinde, antibiyotik direncine yol açan genetik parçalar *E. faecalis* türleri ve diğer türler arasında transfer edilebilmektedir. Aynı zamanda bakterilerin agregasyonunu da sağlayarak virulansa katkıda bulunmaktadır (Kayaoğlu ve Orstavik 2004).

2.7.3. Ekstraselüler Süperoksid

Enterococcus faecalis'lerin çoğu ve bazı *E. faecium* türleri tarafından ekstraselüler süperoksitlerin sentezlenip mikro-çevreye salındığı, bunun da bakterinin hayat süresini uzattığı gösterilmiştir. Enterokoksik bakteriyemi ve endokarditli hastalardan izole edilen klinik suşların dışkı kökenli izolatlarından daha yüksek oranda süperoksid radikali ürettiği gösterilerek, süperoksid üretiminin virulansla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Kayaoğlu ve Orstavik 2004).

2.7.4. Enterokokal Yüzey Proteini

Enterokokal yüzey proteini *Esp*, ilk olarak virulent gentamisin dirençli bir *E. faecalis* izolatından tanımlanmıştır. *Esp*, bakteriyemi ve endokardit ile ilişkili suşlarda yüksek oranda bulunurken, dışkı kökenli izolatlarında nadiren bulunur. *Esp*'nin karboksi-terminal ucu ile, üriner sistem enfeksiyonlarında mesin veya üroplakin gibi mesane duvarı komponentlerine bağlanarak, bir adezyon faktörü gibi *E. faecalis*'in mesane epiteline yapışmasını sağlar (Kayaoğlu ve Orstavik 2004).

2.7.5. Jelatinaz

Bakteriyal proteazların temel fonksiyonu; organizmaya peptid gereksinimlerini sağlamaktır. Fakat; proteazların konak dokularına indirekt olarak zarar verebilmesi ve virulens faktörü olarak da sınıflandırılabilmesi mümkündür. *Enterococcus faecalis* için salgılanabilen iki proteaz tanımlanmıştır: jelatinaz ve bir serin proteaz'dır (Kayaoğlu ve Orstavik 2004).

2.7.6. Lipoteikoik Asit (LTA)

Enterococcus faecalis suşlarında adhezif özelliği gösterilen LTA'nın donör hücre tarafından üretilen agregasyon faktörü için alıcı hücrede reseptör olarak fonksiyon gördüğü ve bu yüzden plazmid transferi ve agregat oluşumunu kolaylaştırarak *E. faecalis*'in virulansına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Kayaoğlu ve Orstavik 2004).

2.7.7. Kollajen Bağlayıcı Adezin (MSCRAMM Ace)

Yapısal ve fonksiyonel olarak *Staphylococcus aureus*'un kollajen bağlayan proteini *Cna*'ya benzer özelliklere sahip olan MSCRAMM Ace, hücre dışı matriks proteinlerine bağlanmayı sağlayan protein yapıda bir adhezindir. Enterokoksik enfeksiyonlarda, özellikle *E. faecalis* endokarditlerinde Ace yaygın olarak eksprese edilir. Klinik izolatlarda fekal izolatlardan daha yüksek oranda bulunmaktadır. Ayrıca bakterinin dentine adhezyonunda da etkilidir (Kayaoğlu ve Orstavik 2004).

2.7.8. Kapsül, Hücre Duvarı Polisakkaritleri

Klinik *E. faecalis* izolatlarında yaygın olarak üretilen kapsül polisakkaritini kodlayan bir operon bulunmaktadır. Bunun dışında hem *E. faecalis* hem de *E. faecium* izolatlarında ikinci bir kapsül polisakkariti daha tanımlanmıştır. Her iki polisakkaride karşı oluşan antikolar koruyucudur. Enterokoklarda hücre duvarı, beta-D glikoz-1-fosfat, teikoik asit ve tetraheteroglikan komponentlerinden oluşur. Opsonik antikolar için hedef olan bu yapılarda virulansın yanı sıra karşı koruyucu immünite için hedef rolü oynarlar (Upadhyaya ve ark 2009).

2.7.9. Seks Feromonları

Seks feromonları kromozomda kodlanan, 7-8 amino asit uzunluğunda küçük, hidrofobik peptidlerdir. *Enterococcus faecalis*'te sinyal peptidleri olarak fonksiyon görürler. *Enterococcus faecalis*'te belirli konjugatif plazmidlerin transferi seks feromon sistemi ile birkaç kat arttırılır (Kayaoğlu ve Orstavik 2004).

2.7.10. Hyaluronidaz

Hyaluronidaz, hyaluronik asiti tahrip ederek doku hasarına yol açan bir enzimdir. Bağ dokudaki mukopolisakkaritlerin bir kısmını depolimerize ederek bakterinin yayılmasını

sağlar. Ayrıca hyaluronik asidin degradasyon ürünü olan disakkaritler de bakteriler için besin kaynağı olabilir. Hyaluronidaz kendi zarar verici etkilerine ek olarak, diğer bakteriyel toksinlerin zararlı etkilerini kolaylaştırabilir ve doku hasarının şiddetini artırır (Kayaoğlu ve Orstavik 2004).

2.7.11. *Enterococcus faecalis* antijen A Proteini (EfaA proteini)

İlk olarak endokarditlerden izole edilen *E. faecalis* suşlarında tanımlanan *EfaA* proteini, *efaA* geninde kodlanır. *EfaA*'nın aminoasit dizisi, streptokokal adezinler olarak bilinen proteinlerle %55-60 homoloji göstermektedir. *EfaA*, mangan transport sistemi için solut bağlayan protein reseptörüdür. Mikroorganizmanın yaşaması ve çoğalması için mangan gerekir ve *efaA* mangandan fakir ortamda fazla miktarda eksprese edilir. *EfaA*, endokarditler de adezin olarak fonksiyon gördüğü, ancak bütün klinik örneklerden, hastane ortamından, süt, peynir ve et gibi gıda izolatlarından izole edilen *E. faecalis* suşlarında da *efaA*'nin bulunduğu gösterilmiştir (Kayaoğlu ve Orstavik 2004).

2.7.12. AS-48

Enterococcus faecalis tarafından üretilen AS-48, enterokoklar da dahil olmak üzere pek çok gram pozitif ve gram negatif bakterilere inhibisyon yapar ve eritir. Bu basit peptit, hedef hücrelerin sitoplazmik membranlarında gözenek oluşturma yoluyla litik aktivite gösterir (Kayaoğlu ve Orstavik 2004)

2.7.13. Antibiyotik Direnci

Geçmiş yıllar boyunca Enterokoklar özellikle antibiyotik direncinin gelişimi ve yayılımı ile ilgili birçok çalışmaya konu olmuşlardır. Besi hayvanlarında büyümeyi artırıcı ilaçların sık kullanılması sonucu hayvan kaynaklı enterokoklarda antibiyotik direncinin artmasına ve bu direncin insanlardaki enterokoklarda da yayılmasına neden olmuştur. Enterokoklarda antibiyotik direnci intrinsek ya da kazanılmış olabilir. Enterokoklar başta beta laktamlar ve aminoglikozitler olmak üzere birçok antibiyotiğe intrinsek dirençlidir. Bazı antibiyotiklere de çok çabuk direnç geliştirirler. Enterokoklarda antimikrobiklere çoklu direncin artmasında, bakterilerin birçok antibiyotiğe intrinsek dirençli olmalarının yanında plazmid, transpozon ve kromozomlardaki direnç genlerine bağlı kazanılmış direnç ve direncin bir bakteriden diğerine aktarılabilmesi etkili olmaktadır (Aktaş ve Derbentli 2009).

2.7.13.1 İnterensek Direnç

İnterensek direnç türe/cinse özgüdür ve enterokok türlerinin tamamında görülen kromozomal direnci ifade eder. Enterokok türleri penisilinlere, sefalosporinlere, linkozamidlere, trimetoprim-sulfametaksazol (TMP-SMX)'e, aminoglikozidlere (düşük düzeyde), polimiksinlere, monobaktamlara ve kinopristin/dalfopristin'e karşı kalıtsal olarak dirençlidir (Çetinkaya ve ark 2000).

2.7.13.2. Eksterensek (Kazanılmış) Direnç

Enterokokların birçok antibiyotiğe karşı kazanılmış direnç mekanizmaları bulunmaktadır. Kazanılmış direnç genellikle bir DNA mutasyonu ya da yeni bir DNA segmentinin transferi sonucunda gelişir. Bu mutasyon sonucu oluşan dirençli genler enterokoklar arasında veya başka mikroorganizmalara transfer edilebilir. Enterokoklarda yeni DNA segmenti transferinden en sık sorumlu olan mekanizma konjugasyondur. Başka mikroorganizmalar için tanımlanmış olan transdüksiyon ve transformasyon gibi mekanizmalar enterokoklarda doğal koşullarda DNA transferine neden olmaz. Tetrasiklin direnci enterokoklarda konjugasyon yoluyla kazanılan direncin en tipik örneklerindedir (Çetinkaya ve ark 2000).

2.7.13.3. Beta - Laktam Grubu Antibiyotiklere Direnç

Beta - laktam direnci enterokok cinsi bakterilerin tipik özelliğidir. Enterokoklar beta-laktam antibiyotiklere karşı hem interensek hem de eksterensek direnç gösterirler. Enterokoklar beta-laktam antibiyotiklere karşı karakteristik olarak tolerans gösterirler. Yani tedavi dozunda MBK/MIK (minimal bakterisid konsantrasyon/minimal inhibitör konsantrasyon) oranı 32'nin üzerindedir. Dolayısıyla beta-laktam antibiyotikler enterokoklara karşı bakterisidal değil, bakteriyostatik etkilidir.

Enterokoklar iki ayrı direnç mekanizması ile β -laktam antibiyotiklere direnç kazanır. Direncin major mekanizması, kromozomal olarak düşük afiniteli PBP5 miktarının artması sonucu penisilin hücre içine girişinin azalmasıdır. Penisilin direnci, enterokoklarda bulunan PBP5 miktarı ile doğru orantılıdır ve sıklıkla *E. faecium* suşlarında görülür. PBP5 sentez yeteneğinin kaybının, penisiline oldukça dirençli suşların çok duyarlı olmasına neden olduğu gösterilmiştir. β -laktam grubu antibiyotiklere karşı direncin diğer mekanizması ise β -laktamaz üretimidir. β -laktamaz üreten enterokoklar nadir olarak izole edilmektedir. β -laktamaz üreten

ilk suş 1981 yılında Murray ve arkadaşları tarafından ABD’de tanımlanmıştır (Çetinkaya ve ark 2000, Murray 1998).

2.7.13.4. Aminoglikozid direnci

Enterokoklar düşük düzeyde aminoglikozid direnci gösterirler. Bu tip dirençte iki mekanizma söz konusudur. Birinci mekanizma tüm enterokok türlerinde bulunur ve bakteri duvarının bu grupta bulunan antibakteriyel ilaçlara karşı geçirgenliğinin az olmasından kaynaklanır. İkinci mekanizma sadece *E. faecium*’da bulunur. *Enterococcus faecium*’un sahip olduğu 6’asetiltransferaz (AAC-6’) enzimi asetilasyonuna yol açar. Böylece sitoplazmaya geçen ilaç inaktive edilir. Enzim kanamisin, netilmisin, sisomisin, isepamisin ve tobramisinini modifiye eder. Ancak gentamisine etkisi yoktur.

Enterokoklarda kazanılmış yüksek düzeyde aminoglikozid direnci (YDAD) yaygındır. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direncinde (YDAD) en sık görülen mekanizma aminoglikozid modifiye edici enzim üretimidir. Bu enzimler sitoplazmaya geçen ilaçları inaktive edecek miktarlarda sitoplazmada bulunurlar. Aminoglikozid modifiye edici enzimleri kodlayan direnç geni gentamisin, kanamisin ve netilmisinde bulunur. Ancak streptomisinde yoktur. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid direnci varlığında, kombine tedavide sinerjizmden söz edilemez. Yüksek düzeyde aminoglikozid direncini saptamak için disk difüzyon, agar dilüsyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır (Çetinkaya ve ark 2000, Murray 1998).

2.7.13.5. Linkozamid direnci

Enterokokların düşük düzeyde linkozamid ve klindamisine interensek direnci karakteristik özellikleridir (Çetinel Aksoy 2008).

2.7.13.6. Kloramfenikol direnci

Enterokoklar kloramfenikole karşı direnç gösterirler ve dirençten sorumlu esas mekanizma, plazmid üzerinde “*cat*” geni ile kodlanan kloramfenikol asetil transferaz üretimidir (Klare ve ark 2003).

2.7.13.7. Tetrasiklin direnci

Tetrasiklin direnci enterokoklarda konjugasyon yolu ile kazanılan direncin en tipik örneğidir. Dirençten sorumlu *tetM*, *tetQ* ve *tetN*, *tetL* gibi çok sayıda gen tanımlanmıştır. *tetL* geni bir plazmidde taşınır. Bu genler efluks sistemini kodlayabildiği gibi ribozomal kaynaklı dirence de sebep olabilir (Klare ve ark 2003). Tetrasiklinlerin hücre dışına pompalanmasını sağlayan gen, tetrasiklin ile temas sonucu indüklenir (Murray 1998).

2.7.13.8. Kinolon direnci

Direnç *gyrA* (giraz) ve *parC* (topoizomeras) genlerindeki mutasyonlara bağlı gelişir. Enterokokal suşların çoğunluğu kinolonlara intermediate duyarlılık veya direnç gösterir (Klare ve ark 2003)

2.7.13.9. Eritromisin direnci

Eritromisin direnci enterokoklarda *ermB* geni ile ilişkilidir. Bu gen, ribozomal RNA'nın metilasyonundan sorumludur. Metilasyon nedeni ile eritromisin ribozomlara bağlanamaz. Aynı mekanizma, klindamisine yüksek düzeyde dirençten de sorumludur (Şardan 2004).

2.7.13.10. Glikopeptid Direnci

Glikopeptid antibiyotikler, hücre duvarı sentezinde peptidoglikan polimerlerini oluşturacak öncül maddelerden olan D-ala-D-ala terminal ucuna bağlanır ve hücre duvarı sentezini bozarlar. Vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) ise ligaz enzimi ile D-ala-D-ala ucunun yapısını değiştirir ve D-ala-D-laktat veya Dala-Dserin meydana getirir. Böylece bu uca vankomisin bağlanma yeteneği çok azalır ve hücre duvarı sentezi devam eder. Direncin sınıflandırılması önceleri izolatların MİK değerlerine göre yapılmaktaydı. Günümüzde ise sınıflandırma spesifik ligaz genlerinin varlığına göre yapılmaktadır. *vanA*, *vanB*, ve *vanD* tipi direnç; D-ala-D- laktat, *vanC* ve *vanE* tipi direnç ise D-ala-D- serin üretimi ile ilişkilidir (Çetinkaya ve ark 2000, Murray 1998).

Enterokoklarda glikopeptid antibiyotiklere direnç, ilk kez 1988 yılında Uttley ve arkadaşları tarafından bildirilmiş ve daha sonra tüm dünyada görülmeye başlanmıştır (Uttley ve ark 1988). Enterokoklarda bugüne kadar glikopeptidler için tanımlanmış altı direnç fenotipi mevcuttur. Bunlar: *VanA*, *VanB*, *VanC*, *VanD*, *VanE*, *VanG* fenotipleridir.

2.8. Enterokok İnfeksiyonları

Enterokokların neden olduğu infeksiyonlar son yıllarda oldukça artmış olup, özellikle hastane infeksiyonlarına neden olan etkenler arasında ön sıralarda yer almaktadır. Tüm enterokok infeksiyonlarının %80-90'ından *E. faecalis*, % 5-15'inden ise *E. faecium* sorumludur. *Enterococcus gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. avium* ve *E. raffinosus* gibi diğer enterokok türleri klinik örneklerin %5'inden izole edilmiştir (Başustaoğlu ve Aydoğan 2002).

Enterokokların, kümes hayvanları, kanarya ve papağanların infeksiyonlarında rol aldığı bilinmektedir. Bunlar büyük ihtimalle sekonder infeksiyonlardır ve altta yatan viral veya bakteriyel infeksiyonlar tarafından tetiklendiği düşünülmektedir.

Enterokok'lar kedi ve köpeklerde otitis eksternaya ve nadiren de üriner yolu infeksiyonlarına neden olmaktadır. *Enterococcus durans*, *E. hirae* ve *E. villorum* türleri köpek, kedi, tay ve buzağılarda ishale yol açmaktadır. *Enterococcus hirae*'nin bir kedide enteropatiye, karaciğer safra kanalı ve pankreatik kanalında supuratif yangıya neden olduğu bildirilmiştir (Moellerig 1992).

2.9. Enterokokların Tanımlanması

Enterokok türlerinin tanımlanması biyokimyasal ve fizyolojik testlerle yapılmaktadır. Herhangi bir kanlı agar enterokok üretmek için kullanılabilir. Gram negatif bakteri içeren karışık klinik örneklerden izolasyon için azid içeren Safra-eskulin-azid veya Entorococcosel agar kullanılır. CNA (Columbia kolistin-nalidiksik azid agar) veya PEA (fenil etil alkol agar) da bu amaçla kullanılabilir. Enterokok identifikasyonunda konvansiyonel yöntemler kullanılırken biyokimyasal testler için 'brain heart infusion broth' bazlı besiyerleri kullanılır.

Klinik materyallerden en çok izole edilen iki tür *E. faecalis* ve *E. faecium*'dur. Enterokokların sadece % 80'i Lancefield Grup D antijenine karşı hazırlanan antiserumla reaksiyon vermektedir. Buna rağmen çoğu enterokok safralı ortamda eskulini hidrolize eder, % 6.5'lük NaCl buyyonunda ürer, PYR pozitifdir. *Enterococcus faecalis* suşları genellikle % 0.04 potasyum tellurite karşı tolerandır ve agarda siyah koloniler yaparlar. Bazı *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ve *E. mundtii* suşları da tellurite tolerandır. *Enterococcus casseliflavus* hareketlidir, sarı pigment yapar. *Entrococcus mundtii* sarı pigment yapar ancak hareketli değildir. *Enterococcus gallinarum* hareketli ancak sarı pigment yapmaz.

Enterokokların identifikasyonunda hızlı kit sistemleri de kullanılmaktadır (API Rapid System, RAPID ID32 System, RAPID STR, VITEK Gram Pozitif İdentifikasyon (GPI) Kartları, Micro Scan G pozitif Breakpoint Combo Panel gibi). Enterokok türlerinin genetik ve moleküler yöntemlerle identifikasyonunda DNA hibridizasyon, ribotipleme, pulsed field jel elektroforezi (PGFE), PCR gibi yöntemler kullanılır. Bunlar arasında en faydalı ve güvenilir metot PGFE' dir (Facklam ve ark 1999).

2.10. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

In vitro antibiyotik duyarlılık testleri, bir bakteriyel patojenin bir antibiyotiğin tedavi sırasında ulaşılan in vivo düzeylerine duyarlı olup olmadığının değerlendirilmesi amacıyla uygulanmaktadır. Antimikrobik ilaçlara karşı duyarlılık birçok yöntem ile saptanabilmektedir. Rutin laboratuvarlarda uygulanan testlerle genellikle ilaçların inhibitör (bakteriyostatik) aktivitesi değerlendirilir. Bu amaçla uygulanan yöntemler; katı veya sıvı besiyerlerinde seyreltme (dilüsyon) yöntemleri ve disk difüzyon yöntemi (Jorgensen 1997, Gülay 1999)

Seyreltme yöntemlerinde standart bakteri topluluğu, iki katlı dilüsyonlar şeklinde değişen yoğunluklarda antimikrobik ajan ile karşılaştırılır. İnkübasyon süresi sonunda gözle görünür üremeyi engelleyen en düşük antimikrobik ilaç yoğunluğu saptanır. Buna Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) denir ve (mg/L) şeklinde ifade edilir. Minimum İnhibitör Konsantrasyon, bu sınırdan düşük ise mikroorganizma söz konusu ajana “duyarlı” olarak değerlendirilir. Bunun dışında “orta” ve “dirençli” kategorileri de bulunur (NCCLS 2011).

Duyarlılık sınırları, sağaltım sırasında ulaşılan serum ve doku düzeyleri ile, duyarlılık özelliği kesin olarak bilinen bakterilerin MİK değerleri göz önüne alınarak belirlenmektedir. Her antimikrobik ajan için bakteri türüne göre de değişen ayrı bir sınır değer söz konusudur. Genel olarak sağaltımın başarısı için MİK değerinin serum düzeyine (Cmax) kıyasla 4-16 kez düşük olması istenmektedir (Craig 1998). Seyreltme temeline dayanan testler kantitatif sonuç verdiği için yeğlenmektedir. Sıvı besiyerindeki seyreltme yöntemleri, tüpte uygulanıyorsa makro (tüp) dilüsyon, mikrodilüsyon plaklarında uygulanıyorsa mikrodilüsyon olarak adlandırılır (Jorgensen 1997).

Diğer bir yöntem olan disk difüzyon yönteminde ise; belirli bir miktar antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakları yüzeyine yerleştirilir. Böylece diskteki antibiyotik agarın içerisine gittikçe azalan miktarlarda yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller.

Bunun sonucunda disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı oluşur (inhibisyon zonu). İnhibisyon zonunun çapı, bakterinin duyarlılığı ile direkt olarak ilişkilidir. Her antibakteriyel için standart değerler vardır. Disk etrafında inhibisyonun görülmemesi, bakterinin o antibakteriyele karşı dirençli olduğunu gösterir. Bu alanın çapı ölçülerek duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) olacak şekilde duyarlılık dereceleri belirlenir (NCCLS 2011).

2.11. Enterokok İnfeksiyonlarının Tedavisi

Enterokokal infeksiyonların tedavisi, hem bu mikroorganizmaların birçok antibiyotiğe dirençli olduklarından, hem de laboratuvarlarda gerçek ve doğru duyarlılıklarının saptanması için spesifik yöntemlere ihtiyaç duyulmasından dolayı, karışık ve zor olmaktadır. Standart duyarlılık testleriyle penisilin-aminoglikozid sinerjisi, betalaktamaz üreten suşların penisilin ve ampisilin direnci tahmin edilemez. Bu sebepten dolayı laboratuvarlar YDAD ve beta laktamaz varlığı açısından etkeni test etmelidir. Glikopeptidler, penisilin alerjisi varlığında veya *E. faecium* gibi yüksek düzeyde penisilin direnci olan suşlarda tercih edilir. Siprofloksasin ve ofloksasin gibi kinolonlar, enterokoklara in vitro etkili olup bazı üriner infeksiyonlarda kullanılırlarsa da genelde etkilerine güvenilmez ve sistemik infeksiyonlarda ilk tercih edilecek ajanlar değildir. Bunun yanı sıra siprofloksasin direnci de giderek artmaktadır. Sparfloksasin, levofloksasin, grepofloksasin, travofloksasin gibi yeni kinolonların dirençli suşlarda etkinlikleri sınırlıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Mart 2012 – Kasım 2013 tarihleri arasında yapılan bu çalışma hayvan etik kurulundan izin alınarak Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ile Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1 Örneklerin Alınması

İzmir ili merkez ve çevre ilçelerdeki hayvan klinikleri ve hastanelerinden sağlıklı 100 adet köpekten steril svab ile oral, nasal ve rectal olmak üzere toplam 300 sürüntü örneği toplandı. Toplanan örnekler soğuk zincir koşullarında laboratuara ulaştırıldı.

3.2 İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmaları

3.2.1 Besi yerleri

Örneklerin izolasyon ve identifikasyon çalışmalarında, Brain Heart Infusion Agar (Oxoid), Brain Heart Infusion Broth (Oxoid), Kanlı Agar, Müller Hinton Agar (Oxoid) ve Enterocococel Agar (Difco) besi yerleri kullanıldı. Üretici firmalarının önerileri doğrultusunda hazırlanan besi yerleri sterilite kontrolü yapılarak (bir gece 37 °C'de bekletildikten sonra) kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklandı.

3.2.1.1. Brain Heart Infusion Agar

Brain Heart Infusion Agar (OXOID)

Beyin Ekstraktı	12.5 g
Kalp Ekstraktı	5.0 g
Pepton	10.0 g
D (+) glikoz	2.0 g
Sodyum Klorür	5.0 g
Di Sodyum Fosfat	2.5 g
Agar	10.0 g
Toplam:	37 g/litre

Ticari besiyeri 1 lt. distile suya ilave edilip eritildi. pH değeri 7.4 ± 0.2 'ye ayarlandı. 121°C'de 15 dk. otoklavda sterilize edildi ve steril petri kutularına döküldü.

3.2.1.2. Brain Heart Infusion Broth

Brain Heart Infusion Broth (OXOID)

Beyin Ekstraktı	12.5 g
Kalp Ekstraktı	5.0 g
Pepton	10.0 g
D (+) glikoz	2.0 g
Sodyum Klorür	5.0 g
Di Sodyum Fosfat	2.5 g
Toplam:	37 g/litre

Ticari besiyeri 1 lt. distile suya ilave edilip eritildi. pH değeri 7.4 ± 0.2 'ye ayarlandı. 121 °C'de 15 dk. otoklavda sterilize edildi ve steril petri kutularına döküldü.

3.2.1.3. Enterocococel Agar

Enterococcosel™ Agar (Bile Esculin Azide Agar) (DIFCO)

Pankreatik Kazein	17.0 g
Hayvansal Pepton	3.0 g
Maya Ekstraktı	5.0 g
Oxgall	10.0 g
Sodyum Klorür	5.0 g
Sodyum Sitrat	1.0 g
Eskulin	1.0 g
Demir (III) Amonyum Sitrat	0.5 g
Sodyum Azid	0.25 g
Agar	13.5 g
Toplam :	56 g/litre

Ticari besiyerine 1 lt. distile su ilave edilip eritildi. Ph değeri 7.2 ± 0.2 ' ye ayarlandı. Otoklavda 121 °C 'de 15 dk. sterilize edildi ve steril petri kutularına döküldü.

3.2.1.4. Müller Hinton Agar

Müller-Hinton Broth (Oxoid, UK)

Et ekstraktı 30 g

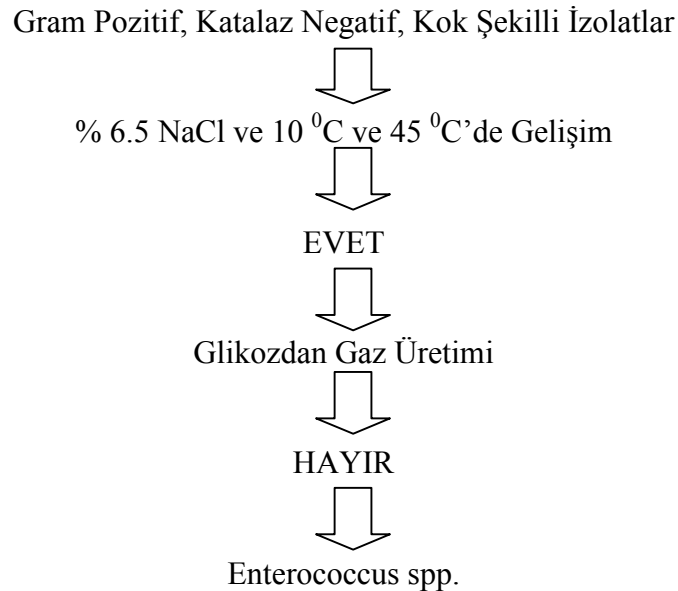
Kazein hidrolizat 17.5 g

Nişasta 1.5 g

pH 7.3 ± 0.1 (sterilizasyondan önce) ayarlandı. 38 gram toz besiyeri 1 litre saf su ile karıştırıldı ve 121 °C otoklavda 15 dakika sterilize edildi.

3.2.2 Enterokokların İzolasyon ve İdentifikasyonu

Örnekler kanlı agar besisi yerine ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreyen kolonilere gram boyama yapılarak Gram pozitif kok olanlara katalaz testi uygulandı. Katalaz testi negatif olanlar streptokok spp. olarak nitelendirilip enterokok tanımı yapılması için 'safra esculin agar'a (Enterocococel™ Agar) ekildi. 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreyen siyah koloniler seçilerek 'brain heart infusion agar' besisi yerine pasajları yapıldı. İzole edilen enterokok şüpheli izolatları koagülaz testi, PYR testi, %6.5 luk NaCl'de üreme testi uygulanarak *Enterococcus spp.* olarak cins düzeyinde tanımlandı (Şekil 3.1' te gösterilmektedir).



Şekil 3.1. *Enterococcus spp.*'nin tanımlanması (Klein, 2003).

Bu kökenlere daha sonra arjinin, sorboz, sorbitol, mannitol ve tellürit'i hidrolize edip etmemelerine göre tür ve gruplarına göre sınıflandırıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Enterekokların arjinin, sorboz, sorbitol, mannitol ve tellürit'i hidrolize edip etmemelerine göre sınıflandırılması (Holt ve ark 1994)

Tür Adı	Arjinin	Sorboz	Sorbitol	Tellürit	Mannitol
<i>E.avium</i>	-	+	+	-	+
<i>E.casseliflavus</i>	(+)	-	-	+	+
<i>E.cecorum</i>	-	-	-	ND	-
<i>E.dispar</i>	+	-	-	ND	-
<i>E.durans</i>	+	-	-	-	(-)
<i>E.faecalis</i>	+	-	(+)	+	+
<i>E.faecium</i>	+	-	-	-	(+)
<i>E.gallinarum</i>	+	-	-	(+)	+
<i>E.hirae</i>	+	-	-	-	-
<i>E.malodoratus</i>	-	+	+	-	+
<i>E.mundtii</i>	+	-	D	-	+
<i>E.pseudoavium</i>	-	+	+	ND	+
<i>E.raffinosis</i>	-	+	+	ND	+
<i>E.saccharolyticus</i>	-	+	+	ND	+
<i>E.seriolicida</i>	+		+	-	+
<i>E.solitarius</i>	+		+	ND	+

+ : %90 ve üzeri pozitif. (+) : %80-89 pozitif. d : %21-79 pozitif. ND : Belirlenemedi

- : %90 ve üzeri negatif. (-) : %11-20 negatif

3.2.2.1 Katalaz Testi

Kanlı agar besi yerinde üretilmiş 24 saatlik saf bakteri kültüründen 3-5 koloni öze ile lam üzerine konuldu. Lam üzerine bir damla %3 lük H₂O₂ (hidrojen peroksit) damlatıldı. Hava kabarcıkları oluşturmayan suşlar katalaz negatif olarak değerlendirildi ve gram pozitif, katalaz negatif kok olarak çalışmaya alındı (Koneman ve ark.1997).

3.2.2.2. Oksidaz Testi

Kanlı agar besi yerinde üretilmiş 24 saatlik saf bakteri kültüründen öze yardımıyla test kiti üzerine sürülür. Pembe – mor renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.2.3 Safra Eskülin Testi

Bu test için bile-esculin-azid agar kullanıldı. Bu besiyerine kanlı agarda saf kültür olarak üreyen 24 saatlik bakteri kültüründen ekim yapıldı. Safra eskulin agarda 37 °C'de 24 – 48 saatlik inkubasyon sonunda besiyerinde üreyen ve eskülini hidrolize ederek siyah renk oluşturan suşlar pozitif olarak değerlendirildi (Koneman ve ark.1997).

3.2.2.4. Pyrolidonyl arylamidase (PYR) testi

Pyrolidonyl naphthylamid (Sigma) emdirilmiş filtre kağıdı üzerine 24 saatlik saf bakteri kültüründen bir-iki koloni konulduktan sonra bir damla PYR ayırıcı (%0.015 p-dimetylamino-cinnamaldehyde, sigma) damlatılarak 2 dakika inkubasyona bırakıldı. Pembe renk veren suşlar pozitif olarak değerlendirildi (Gordon ve ark.1987).

3.2.2.5. %6.5 luk NaCl de üreme testi

Kanlı agarda 24 saat üretilmiş koloniden öze ile %6.5 NaCl (Merck) içeren brain heart infizyon buyyonu içerisine ekim yapılarak 35 °C'de 24 – 72 saat inkube edildi. Buyyonda üreme sonucu bulanıklık oluşturan suşlar pozitif olarak değerlendirildi (Bilgehan 2002).

3.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Bu çalışmada enterokok suşlarına National Comitee for Clinical Laboratory Standarts M2-A8 önerileri doğrultusunda disk diffuzyon yöntemi uygulandı ve değerlendirme aynı standardın M100-S21 Ek Tablolar kitapçığında yayınlanmış olan kriterlere göre tespit edildi. Bakteriler ticari olarak temin edilen kanlı agarda çoğaltıldı ve 24 saatlik kültürlerinden 0.5 McFarland standardına eşdeğer bulanıklılıkta süspansiyon hazırlandı. Bakteri süspansiyonları 15 dk. içerisinde Müller Hinton Agara önerildiği şekilde yayıldı ve çalışmaya dahil edilen antibiyotik diskleri aralarında en az 25 mm. olacak şekilde yerleştirildi. Plaklar 24 saat 35 °C'de aerobik koşulda inkübe edildikten sonra disk çevresinde oluşan (bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı) inhibisyon zonunun çapı ölçülerek duyarlı, orta duyarlı ve dirençli olacak şekilde değerlendirildi (Tablo 3.2.) (Facklam ve Sahm, 1995, NCCLS 2011).

Tablo 3.2. Enterokok türlerinin disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik duyarlılık aralıkları (Facklam ve Sahm, 1995, NCCLS 2011)

Antibiyotikler	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli
Penisilin	≥ 15	-	≤ 14
Ampisilin	≥ 17	-	≤ 16
Eritromisin	≥ 23	14-22	≤ 13
Kloramfenikol	≥ 18	13-17	≤ 12
Tetrasiklin	≥ 19	15-18	≤ 14
Siprofloksasin	≥ 21	16-20	≤ 15
Vankomisin	≥ 17	15-16	≤ 14

3.4. Phoenix PMIC/ID Paneli (Bakteri İdentifikasyon ve Antibiyogram Cihazı)

BD Phoenix otomatize mikrobiyolojik sistem otomatik tanımlama ve antibiyotik duyarlılığını belirlemek amacıyla kullanılmaktadır. Enterokok türlerinin 24 saatlik kültüründen Phoenix ID Broth'a 0.5 McFarland bulanıklıkta olacak şekilde süspansiyonu hazırlandı. Bir damla Phoenix AST indikatör, Phoenix ID Broth'a eklendi. Daha sonra 25 µl Phoenix AST Broth'a ilave edildi. Phoenix ID Broth ve Phoenix AST Broth, phoenix panellere eklenir ve 30 dakika içinde cihaza konuldu. İdentifikasyon ve antibiyogram duyarlılığı cihaz üzerinde bulunan bilgisayar programına göre sonuçlandırılmaktadır.

4.BULGULAR

Sağlıklı 100 adet köpektan nasal, oral ve rektal yolla toplam 300 örneğ alıldı. İncelenen 300 örneğin toplam 51'inde (% 17) *Enterokok sp.* izole edilmiştir. Bunların 35 adeti (% 69) *E.faecalis*, 13 adeti (%25) *E.faecium*, 3 adeti (% 6) ise *Enterococcus spp.* olarak izole edilmiştir.

Tablo 4.1. *Enterococcus faecalis* ve *E. faecium* kökenlerinin izole edildikleri örneğlere göre dağılımı

Köken	Örneđ Tipi	Sayı	%
<i>E.faecalis</i> n=35	rektal	15	43
	oral	11	31
	nazal	9	26
<i>E.faecium</i> n=13	rektal	9	69
	oral	1	8
	nazal	3	23
<i>Enterococcus</i> <i>spp.</i> n=3	rektal	-	-
	oral	2	67
	nazal	1	33
Toplam		51	100

Köpeklerden alınan rektal, oral ve nazal sürüntü örneğinden elde edilen 51 enterokok suşunun antibiyotik duyarlılığı disk difüzyon yöntemi ve otomatik yöntemle belirlenmiştir. Test edilen enterokok suşlarının eritromisin, tetrasiklin, kloramfenikol siprofloksasin, penisilin ve ampisilin dirençleri sırasıyla ; %51, %37, %20, %14, %14, %14 bulunmuştur. İzole edilen tüm kökenlerde vankomisine karşı direnç saptanmamıştır.

Enterococcus faecalis izolatlarının test edilen antibiyotiklere direnci ise; eritromisin, tetrasikline, kloramfenikol ve siprofloksasin sırasıyla; %51, %37, %20, %9 bulunmuştur.

Vankomisin, ampisilin ve penisiline ise direnç saptanmamıştır. *Enterococcus faecium* izolatlarında ise eritromisin, penisilin, ampisilin, siprofloksasin, tetrasikline ve kloramfenikol dirençleri sırasıyla; %54, %54, %54, %31, %31, %15 bulunmuştur (Tablo 4.2 ve 4.3).

Tablo 4.2. *Enterococcus faecalis* kökenlerinin antibiyotiklere karşı duyarlılıkları.

Antibiyotikler	Dirençli		Orta Duyarlı		Duyarlı	
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)
Penisilin	0	0	-	-	35	100
Ampisilin	0	0	-	-	35	100
Eritromisin	18	51	-	-	17	49
Kloramfenikol	7	20	-	-	28	80
Tetrasiklin	13	37	-	-	22	63
Siprofloksasin	3	9	-	-	32	91
Vankomisin	-	-	-	-	35	100

Tablo 4.3. *Enterococcus faecium* kökenlerinin antibiyotik karşı duyarlılıkları.

Antibiyotikler	Dirençli		Orta Duyarlı		Duyarlı	
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)
Penisilin	7	54	-	-	6	46
Ampisilin	7	54	-	-	6	46
Eritromisin	7	54	-	-	6	46
Kloramfenikol	2	15	-	-	11	85
Tetrasiklin	4	31	-	-	9	69
Siprofloksasin	4	31	-	-	9	69
Vankomisin	-	-	-	-	13	100

5. TARTIŞMA

Enterokoklar birçok antibiyotiğe karşı gerek intrensek gerekse kazanılmış direnç göstermeleri nedeniyle infeksiyonlarındaki tedavi seçenekleri sınırlıdır. Özellikle glikopeptid grubu antibiyotiklere direnç göstermeleri, bu durumu daha da önemli hale getirmektedir. Vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) ilk kez 1986'da Leclercq ve grubu tarafından izole edilmiş ve zamanla özellikle ABD'de yayılmıştır. Ülkemizde de vankomisine dirençli enterokoklar birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Öngen ve ark 1999; Başustaoglu ve ark 2000).

Enterokoklarda antibiyotiklere direnç gelişiminde en önemli faktörlerden birisi hayvan gıdalarında katkı maddesi olarak antibiyotiklerin kullanımının yaygınlaşmasıdır. Hayvansal gıda, dışkı kontaminasyonu ile çevrede su ve toprakta enterokokların yayılması ile insanlara, dirençli bakteriler bulaşabilmektedir (Gilmore 2002).

İnsanlarla yakın teması bulunan köpeklerin taşıdığı enterokokların insanlardaki infeksiyonlarda rolü tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada pet köpeklerde taşınan enterokokların belirlenmesi ve antibiyotiklere dirençlerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Toplam 100 adet pet köpeğinden 300 sürüntü örneği alınarak yapılan bu çalışmada 51 örnekte enterokok üremesi tespit edilmiştir. Köpeklerin oral, anal ve rektal örneklerinden kanlı agara yapılan kültürlerinde karışık floranın yoğun üremesi nedeniyle enterokok izolasyonu yapılamamıştır. Ancak enterokok izolasyonu selektif besiyeri olarak kullanılan Enterococcosel agar kullanılarak yapılabilmektedir.

Bu çalışmada köpeklerin flora örneklerinden izole edilen 51 enterokok kökeninin % 69 *E.faecalis*, % 25 *E. faecium* ve %6 *Enterococcus spp.* olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada oral, nasal ve rectal florada baskın olarak taşınan türün *E.faecalis* olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmanın yapıldığı İzmir İlinde köpeklerde yapılan bir başka çalışmada da *E.faecium* ve *E.faecalis* türlerinin izole edildiği ve baskın olan türün *E.faecium* olduğu bildirilmiştir (Türkyılmaz ve ark 2010). Ülkemiz dışında yapılan bazı çalışmalarda da köpeklerin flora örneklerinden *E.faecium* baskın tür olarak izole edilmiştir. Ayrıca *E.faecalis*, *E.avium*, *E.gallinarium*, *E.casseliflavus* türlerinin de izole edildiği bildirilmiştir (Ghosh ve ark 2011,

Rodrigues ve ark 2002, Cinquepalmi ve ark 2013, Simjee ve ark 2002). İnsanlarda en sık infeksiyon yapan enterokok türlerinden *E.faecalis* ve *E.faecium*'un köpeklerin florasında taşınan türler olarak bulunması, insanlara özellikle dirençli kökenlerin bulaşması infeksiyonlara neden olabilmesi açısından önemli olabileceği düşünülmektedir.

Köpeklerde enterokoklar hem flora elemanı hem de infeksiyonlara neden olan bakteriler olarak yer almaktadır. Köpek dışkılarından yapılan bir araştırmada *E. faecium*'un dışkı ile çevreye yayılabileceği gösterilmiştir (Cinquepalmi ve ark 2013). Ayrıca, moleküler tiplendirme metodları ile yapılan bir çalışmada, hayvan izolatları ile insan izolatları arasında yüksek düzeyde çeşitlilik gözlenmekle birlikte insan ve hayvan izolatlarında benzer ve ilişkili suşlar saptanmıştır (Wegener ve ark 1999). İnsanlardan izole edilen enterokok kökenlerinde bulunan tranpozon Tn1546 köpekte idrar infeksiyonu yapan enterokok türünde de gösterilmiş olması, vankomisine karşı yüksek direncin insan ve hayvanlarda taşınan türler arasında, gen değişiminin bir kanıtı olabileceği bildirilmiştir (Ghosh ve ark 2011, Herrero ve ark 2004, Türkyılmaz ve ark 2010, Simjee ve ark 2002, Rodrigues ve ark 2002).

Bu çalışmada köpeklerden alınan örneklerden oral ve rektal örneklerde enterokok izolasyonu nasal örneklere göre daha fazla olmuştur. Oral ve rektal örneklerden enterokok izole edilme oranı ise birbirine yakın bulunmuştur. Bu durumun köpeklerin doğal davranışları arasında yer alan, ağız ve anal bölge temasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Diğer taraftan insan ve köpekler arasında yer alan iletişim yollarından, köpeğin insanı yalaması, insanların köpeklerin ağız ve burunlarına dokunması gibi temaslar mikroorganizmalar için bir geçiş yolu oluşturabilmektedir.

Bu çalışmada enterokok identifikasyonu konvansiyonel ve otomatik yöntemlerle yapılmıştır. Enterokokların identifikasyonu sonucunda *E. faecium*, *E.faecalis* ve *Enterococcus spp.* izole edilmiştir. Yapılan birçok çalışmada köpeklerin flora örneklerinden *E.faecium* ve *E.faecalis* izole edildiği bildirilirken bazı çalışmalarda ise *E.avium*, *E.gallinarium*, *E.casseliflavus* türleri de izole edilmektedir (Cinquepalmi ve ark 2013, Rodrigues ve ark 2002, Simjee ve ark 2002). Diğer taraftan köpeklerde idrar yolu infeksiyonlarından *E.gallinarium*, *E.casseliflavus*, *E. faecium* ve *E.faecalis* türlerinin izole edildiği bildirilmektedir (Simjee ve ark 2004).

Bu çalışmada *Enterococcus faecium*'da penisiline ve ampisiline karşı direnç %54 iken *E. faecalis*'de ve *Enterococcus spp.*'de direnç saptanmamıştır. Köpeklerin florasında

taşıyan enterokoklarla yapılan antibiyotik duyarlılık çalışmalarında ampisilin ve penisilinle ilgili fazla sayıda veriye ulaşılamamıştır. Bildirilen az sayıda çalışmada ise veriler arasında farklılıklar bulunmamaktadır (Tablo 5.1.).

Tablo 5.1. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin ampisiline karşı direnç oranları

Tarih - Ülke	Örnek Türü	<i>E.faecalis</i> (%)	<i>E.faecium</i> (%)
Bu çalışmada	Flora	0	54
2011 - ABD	Dışkı	0	96.5
2013 - İtalya	Dışkı	100	66.6

Bu çalışmada *Enterococcus faecium*'un eritromisine direnç %54 iken *E. faecalis* türünde ise bu oran % 51 olarak saptanmıştır. Benzer çalışmalarda köpeklerden izole edilen enterokoklarda eritromisin direnci *E.faecium* kökenlerinde % 38 - 77.7 oranında iken *E. faecalis* kökenlerinde % 0 - 100 olarak bulunmuştur (Tablo 5.2.) (Türkyılmaz ve ark 2010, Ghosh ve ark 2011, Simjee ve ark 2002, Cinquepalmi ve ark 2013, Damborg ve ark 2009). *Enterococcus faecalis* ve *E.faecium* türlerinde bu çalışmada da olduğu gibi eritromisine karşı direnç oranlarının yüksek olduğu görülmektedir. Eritromisin köpeklerde özellikle gastro-intestinal sistem infeksiyonları olmak üzere yaygın olarak kullanılmaktadır (Çamkerten ve Şahin 2003). Bu durum eritromisine karşı direncin artmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 5.2. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin eritromisine karşı direnç oranları

Tarih - Ülke	Örnek Türü	<i>E.faecalis</i> (%)	<i>E.faecium</i> (%)	Enterokok türleri
Bu çalışmada	Flora	51	54	
2013 - İtalya	Dışkı	100	77.7	
2010 - Türkiye	Flora	57.1	74.6	
2011 - ABD	Dışkı	56.4	53.1	
2002 – Michigan State Univ	İdrar	0	38	
2009 - Danimarka				18

Bu çalışmada *Enterococcus faecalis* kökenlerinde kloramfenikole karşı direnç % 20 iken *E. faecium* türünde bu oran %15 olarak saptanmıştır. Yapılan benzer çalışmalarda İtalya'da kloramfenikole karşı direnç bildirilmezken, bu çalışmanın yapıldığı bölgede *E.faecium*'da % 9.5, *E.faecalis*'te ise % 17.9 bulunmuştur (Tablo 5.3.)(Cinquelpalmi ve ark 2013, Türkyılmaz ve ark 2010). Aynı bölgede 3 yıl arayla yapılan iki çalışmanın sonuçları karşılaştırıldığında kloramfenikole karşı yaklaşık %3-6 oranında direnç artışı olduğu anlaşılmaktadır. Bu artışın köpeklerde kloramfenikolün kullanımıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir (Kayaalp 1991). Ayrıca köpeklerde infeksiyon tedavisinde kloramfenikolün seçiminde bölgesel olarak direnç oranlarının dikkate alınmasının tedavinin başarısı için gerekli olabilecektir.

Tablo 5.3. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin kloramfenikole karşı direnç oranları

Tarih - Ülke	Örnek Türü	<i>E.faecalis</i> (%)	<i>E.faecium</i> (%)
Bu çalışmada	Floa	20	15
2010 - Türkiye	Flora	17.9	9.5
2013 - İtalya	Dışkı	0	0

Enterococcus faecalis 'in tetrasikline direnç oranı % 37 iken *E. faecium* türünde bu oran % 31 olarak saptanmıştır. Benzer çalışmalarda köpeklerden izole edilen enterokoklarda tetrasiklin direnci *E. faecalis* kökenlerinde % 14 - 100 oranında iken *E.faecium* kökenlerinde % 71.4 – 84.1 olarak farklı oranlarda bulunmuştur (Tablo 5.4.) (Türkyılmaz ve ark 2010, Cinquelpalmi ve ark 2013, Simjee ve ark 2002, Ghosh ve ark 2011, Damborg ve ark 2009, Rodrigues ve ark 2002). Bu nedenle köpeklerde enterokok infeksiyonların tedavisinde tetrasiklin kullanımı, antibiyotik duyarlılık oranları dikkate alınarak yapılmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

Tablo 5.4.Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin tetrasikline karşı direnç oranları

Tarih - Ülke	Örnek Türü	<i>E.faecalis</i> (%)	<i>E.faecium</i> (%)	Enterokok türleri
Bu çalışmada	Flora	37	31	
2002 - Portekiz				95.2
2011 - ABD	Dışkı	59.6	84.1	
2002 – Michigan State Unv	İdrar	14	84	
2009 - Danimarka				84
2013 - İtalya	Dışkı	100	73.3	
2010 - Türkiye	Flora	67.8	71.4	

Bu çalışmada *Enterococcus faecalis* 'in siprofloksasine direnç % 9 iken *E. faecium* türünde bu oran % 31 olarak saptanmıştır (Tablo 5.5). Yapılan bazı çalışmalarda enterokok türlerinin (*E.faecium*, *E.faecalis* ve *E.avium*) siprofloksasine karşı direnç % 25 - 73,1 oranında bildirilmiştir (Rodrigues ve ark 2002, Damborg ve ark 2009). Siprofloksasinin köpeklerde sindirim, solunum ve ürogenital infeksiyonlarda sıklıkla kullanılıyor olması direncin bazı kökenlerde yüksek bulunmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 5.5. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin siprofloksasine karşı direnç oranları

Tarih - Ülke	Örnek Türü	<i>E.faecalis</i> (%)	<i>E.faecium</i> (%)	Enterokok türleri
Bu çalışmada	Flora	9	31	
2002 - Portekiz				73.1
2009 - Danimarka	Flora			25

Enterococcus faecalis ve *E. faecium* türlerinde vankomisin direnci saptanmamıştır. Bu çalışmanın yapıldığı bölgede daha önce yapılan benzer bir çalışmada *E.faecalis* ve *E.faecium* kökenlerinde vankomisine direnç bildirilmemiştir (Tablo 5.6.) (Türkyılmaz ve ark 2010,

Ghosh ve ark 2011, Damborg ve ark 2009). Ancak köpeklerde idrar yolu infeksiyonlarında yapılan bir çalışmada *E.faecium* kökenlerinde % 7 oranında direnç bildirilmiştir (Simjee ve ark 2002). Ayrıca Japonya’ da yapılan bir çalışmada da vankomisin direnci bildirilmiştir (Kataoka ve ark. 2013).

Tablo 5. 6. Köpeklerden izole edilen enterokok türlerinin vankomisine karşı direnç oranları

Tarih - Ülke	Örnek Türü	<i>E.faecalis</i> (%)	<i>E.faecium</i> (%)	Enterokok türleri
Bu çalışmada	Flora	0	0	
2002 – Michigan State Univ.	İdrar	0	7	
2010 - Türkiye	Flora	0	0	
2011 - ABD	Dışkı	0	0	
2009 - Danimarka				0
2013 – Japonya	Dışkı	52.3	27.7	

İnsanlarda günümüzde vankomisine dirençli enterokok türlerine bağlı infeksiyonlar görülmektedir (Çetinkaya ve ark 2000). Bu direncin kaynağını hayvan yemlerinde kullanılan bir glikopeptid olan avoparsin kullanımıyla ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Emborg ve ark 2003). Köpeklerinde hayvan etleriyle beslenebilmeleri nedeniyle dirençli genlerin köpeklerde taşınan türlere geçebileceği düşünülmektedir. Ülkemizde hayvan yemlerinde avoparsinin yasaklanmış olması köpeklerden izole edilen enterokok türlerinde vankomisine karşı direnç görülmemesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Tarım Köyişleri ve Sağlık Bakanlığı Tebliği 2002).

Veteriner Hekimlikte özellikle pet hayvanlarında olmak üzere antibiyotik kullanımı yaygın olarak devam etmektedir. Diğer taraftan antibiyotik kullanmadan önce duyarlılık testi yapılması halen yaygın olarak kullanılan bir yöntem değildir. Bu durum enterokokların antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesine yol açabileceği gibi dirençli kökenlerin tedavisinde başarısızlığa da yol açabilecektir. Bu çalışmada köpeklerin florasında taşınan enterokok türlerinin köpeklerin infeksiyonlarında da kullanılan bazı antibiyotiklere karşı yüksek oranda direnç göstermektedir. Bazı antibiotiklere karşı yüksek oranda direnç bulunması hem köpeklerdeki enterokok infeksiyonlarının tedavisi açısından hem de temas halinde olan insanlara bulaşma riski açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

SONUÇ

Köpeklerin oral, nasal ve rektal floralarından taşınan enterokoklar ve antibiyotiklere karşı direnç oranlarının araştırıldığı bu çalışmada, oral ve rektal florada ağırlıklı olarak *E.faecalis* olmak üzere enterokok türleri taşınmaktadır.

Köpeklerin florasında taşınan enterokok türlerinde hem köpek hem de insan enfeksiyonlarında kullanılan bazı antibiyotiklere karşı yüksek oranda direnç bulunmuştur. Bu antibiyotiklerin başında *E.faecium* türlerinde eritromisin, ampisilin ve penisilin gelmektedir. *Enterococcus faecalis* türlerinde ise eritromisin ve tetrasiklin bulunmaktadır. Köpeklerin florasında taşınan *E.faecalis* ve *E.faecium* türlerinde vankomisine karşı direnç görülmemiştir.

Enterokok türlerinde bazı antibiyotiklere direncin yüksek olması nedeniyle köpek enfeksiyonlarının tedavi başarısı için antibiyotik duyarlılık sonuçlarının dikkate alınması gerekmektedir. Ayrıca köpeklerin insanlarla yakın temas içinde olması nedeniyle bu suşların insanlara bulaşma ve dirençli kökenlerle enfeksiyon riski doğurabileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Enterokoklar, insan ve hayvanların sindirim florasında bulunan ve hem insanlarda hem de köpeklerde infeksiyonlara neden olabilen bakterilerdir. Köpeklerde otitis media, idrar yolu infeksiyonları gibi hastalıklara yol açmaktadır. İnsanlarda birçok infeksiyonlara yol açmalarının yanında özellikle hastane infeksiyonları olmak üzere vankomisine dirençli enterokokların önemli sağlık sorununa yol açtığı bilinmektedir. Bu çalışmada insanlarla yakın temas halinde bulunan köpeklerden izole edilen enterokok suşlarının türleri ve bu türlerin antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması ve hem köpekler için hemde insanlar için öneminin ortaya konması amaçlanmıştır. Mart 2012-Kasım 2013 tarihleri arasında İzmir İlinde pet hayvan kliniklerine başvuran sağlıklı köpeklerin oral, nasal ve rektal floralarından toplanan 300 sürüntü örneği alınmıştır. Bu örneklerden üreyen toplam 51 enterokok cinsi klasik ve otomatik yöntemlerle tanımlanmıştır. Toplam 51 enterokok kökeninin 35'i *E.faecalis*, 13'ü *E.faecium*, 3'ü *Enterococcus spp.* olarak tanımlanmıştır.

Enterococcus faecalis kökenlerinin %43 oranında rectal, %31 oranında oral ve %26 oranında ise nazal bölgeden alınan örneklerden izole edilmiştir. Bu oran *E.faecium*'da ise sırasıyla; %69, %8 ve %23'tür. İzole edilen 51 suşun eritromisin, tetrasiklin, kloramfenikol siprofloksasin, penisilin ve ampisilin ve vankomisin duyarlılıkları disk difüzyon ve otomatik yöntemlerle araştırıldı.

51 suşun direnç oranları; eritromisine % 51, tetrasikline % 37, kloramfenikole % 20, siprofloksasine % 14, penisiline % 14 ve ampisiline % 14 oranında olup vankomisine karşı direnç saptanmamıştır. *Enterococcus faecalis* izolatlarında eritromisin, tetrasikline, kloramfenikol ve siprofloksasin dirençleri oranları sırasıyla; %51, %37, %20, %9 bulunmuştur. Vankomisin, penisilin ve ampisiline ise direnç saptanmamıştır. *Enterococcus faecium* izolatlarının test edilen antibiyotiklere direnci ise; eritromisin, ampisilin, penisiline, tetrasikline, siprofloksasin ve kloramfenikol sırasıyla; %54, %54, %54, %31, %31 ve % 15 bulunmuştur. Vankomisine ise direnç saptanmamıştır.

Bu çalışmada köpeklerin özellikle oral ve rectal florasında başta *E.faecalis* olmak üzere enterokok türlerinin taşındığı belirlenmiştir. Ayrıca köpeklerin infeksiyonlarında da kullanılan bazı antibiyotiklere karşı enterokok türlerinde yüksek oranda direnç saptanmıştır. Bu hem köpeklerdeki enterokok infeksiyonlarının tedavisi açısından hem de temas halinde olan insanlara bulaşma riski açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler : *Antibiyotik direnci, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, köpek, oral, nasal, rektal*

SUMMARY

Enterococcus, which are found in the digestive flora, are bacterium that can cause infections both in humans and dogs. They cause illnesses such as otitis media and urinary infections. They cause many other infections in human beings, including hospital bugs that are resistant to vancomycin and that lead to serious health problems. The aim of this study is to establish the kinds of enterococcus strains that were isolated from dogs which were in close contact with humans and their resistance to antibiotics. It is expected that the results would reveal the significance of these bacterium for dogs and humans.

300 swabs were taken from the oral, nasal, and rectal flora of dogs that were admitted to pet animal clinics in İzmir between March 2013 and February 2014. A total of 51 types of enterococcus were identified using conventional and automatic methods. 35 were identified to be *E.faecalis*, 13 as *E.faecium* and 3 *Enterococcus spp.*

Enterococcus faecalis was isolated from the rectal, oral and nasal flora at the following respective rates: 43%, 31% and 26%. These rates were as follows for *E.faecium*: 69%, 8% and 23%. 51 isolated strains were examined, using disc diffusion and automatic methods to identify their sensitivity to erythromycin, tetracycline, chloramphenicol, ciprofloxacin, penicillin ve ampicillin and vankomycin.

Resistances to the following antibiotics were identified: 51% to erythromycin, 37% to tetracycline, 20% to chloramphenicol, 14% to ciprofloxacin, 14% to penicillin, and 14% to ampicillin. No resistance to vankomycin was identified. The respective resistance levels of *E. faecalis* are as follows: erythromycin 51%, tetracycline 37%, chloramphenicol 20% and ciprofloxacin 9%. No resistance to vankomycin, ampicillin and penicillin was identified. *Enterococcus faecium* showed the following resistances to erythromycin, ampicillin, penicillin, tetracycline, ciprofloxacin and chloramphenicol : %54, %54, %54, %31, %31 and %7. This study established that different types of enterococcus, specifically the strains were not resistant to vankomycin.

E.faecalis are carried in the oral and rectal flora of dogs. High levels of resistance to antibiotics that are used to treat different types of enterococcus infections were also identified. This finding is considered to be important for the treatment of enterococcus infections in dogs and for the risk of contamination for human beings who are in close contact with such dogs.

Keywords : *Antibiotic resistance, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Dog, oral, nasal, rectal*

KAYNAKLAR

Aktaş G, Derbentli Ş. Vankomisine dirençli Enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal Of Infection)* 2009; 23 (4): 201-209,

Andrews F, Horder T. A study of Streptococci pathogenic for man. *Lancet*. 1906; 2:708-713.

Basustaoğlu A, Aydoğan H. Enterokoklar Ed : Uzun, Ö. Enfeksiyon Hastalıkları Serisi. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2002;5(2):45-60.

Bates J. Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci in the community and the relevance of farm animals to human infection. *J Hosp Infect* 1998;39:75-7.

Bilgehan, H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi Üçüncü baskı. 2002; 495-523. İzmir.

Butaye, P, Devriese, L, A.; Haesebrouck, F. Phenotypic Distinction in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* Strains Between Susceptibility and Resistance to Growth-Enhancing Antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999; Vol. 43, No.10, 2569-2570.

Cinquepalmi V, Monno R, Fumarola L, Ventrella G, Calia C, Greco MF, Vito D, Soleo L. Environmental contamination by dog's faeces : a public health problem ?. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2013, 10(1), 72-84.

Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998;26:1

Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*. 2000; 13: 686-707.

Damborg P, Top J, Hendrickx A. P, Dawson S, Willems R. J, Guardabassi L. Dogs are a reservoir of ampicillin-resistant *Enterococcus faecium* lineages associated with human infections. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009;75, 2360–2365 10.1128/AEM.02035-08

Descheemaeker, P.R.M., Chapelle, S., Devriese, L.A., Butaye, P., Vandamme, P., Goossens, H.: Comparison of glycopeptide resistant *Enterococcus faecium* isolates and glycopeptide resistance genes of human and animal origins. *Antimicrob. Agents Chemother*, 1999; 43: 2032-2037.

Devriese L, Baele M, Butaye P. The Genus *Enterococcus*: Taxonomy. *Prokaryotes*. 2006;4:163-174.

Devriese LA, Van De Kerckhove A, Kilpper-Bälz R, Schleifer KH. Characterization and identification of *Enterococcus* species isolated from the intestines of animals. *Int J Syst Bacteriol.* 1987;37:257–259.

Devriese, L. A., M. Ieven, H. Goossens, P. Vandamme, B. Pot, J. Hommez, and F. Haesebrouck. Presence of vancomycin-resistant enterococci in farm and pet animals. *Antimicrob. Agents Chemother*. 1996;40:2285-2287.

Emborg HD, Andersen JS, Seyfarth AM, Wegener HC. Relations between the consumptions of antimicrobial growth promoters and the occurrence of resistance among *Enterococcus faecium* isolated from broiler. *Epidemiol Infect* 2003;132:95-105

Facklam RR, Sahm DF, Teixeria LM. "Enterococcus". Murray PR, Baron EJ,

Facklam RR, Teixeria LM. *Enterococcus*. In: Collier L, Bolows A, Sussman (eds). *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial infections*. Vol 2 (Systematic Bacteriology). Ed: Edvard Arnold, 9th edition. London 1998; 669-682.

Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*. 2009;155:1749-1757.

Franz, C.M, Halzapfel, W.H, Stiles, M.E. Enterococci at the crossroads of food safety? *International Journal of Food Microbiology* 1999;47: 1 – 24.

Franz, C.M, Muscholl-Silberhorn, A.B, Yousif, N.M, Vancanneyt, M, Swings, J, Holzapfel, W.H. Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food. *Applied and Environmental Microbiology* 2001;67: 4385– 4389.

Ghosh A., Dowd S. E., Zurek L. Dogs leaving the ICU carry a very large multi-drug resistant enterococcal population with capacity for biofilm formation and horizontal gene transfer. *PLoS ONE* 2011; 6:e22451 10.1371/journal.pone.0022451

Gilmore, M.S., Clewell, D.B., Courvalin, P.M., Dunny, G.M., Murray, B.E., Rice, L.B. 2002 *The Enterococci –Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance*, ASM Press Washington p72.

Graham NC, Bartley EO.. Some observations on the classification of Enterococci. *Journal of Hygiene*.1939; 39:538-552.

Gülây, Z. Antimikrobiyal ilaçlara direnç. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara. Güneş Kitabevi. 1999;s.91-108.

Gültekin, M. Enterokoklar: Ed: Ulusoy, S., Usluer, G., Ünal S. *Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi*. Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara 2004;121-140.

Herrero I, Fernández-Garayzábal JF, Moreno MA, Domínguez L. Dogs should be included in surveillance programs for vancomycin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol*. 2004;42:1384–1385.

Jackson C. R., Fedorka-Cray P. J., Davis J. A., Barrett J. B., Frye J. G. Prevalence, species distribution and antimicrobial resistance of enterococci isolated from dogs and cats in the United States. *J. Appl. Microbiol*. 2009;107, 1269–1278 10.1111/j.1365-2672.2009.04310.x

Jorgensen, JH. Laboratory issues in the detection and reporting of antibacterial resistance. *Infect Dis Clin North Am*. 1997;Vol.11, p. 785-802

Kandler O, Schleifer KH, Dandl R. Differentiation of *Streptococcus faecalis* Andrewes and Horder and *Streptococcus faecium* Orla-Jensen based on the Amino acid composition of their murein. *Journal of Bacteriology*. 1968; 96:1935-1939

- Kataoka Y, Ito C, Kawashima A, Ishii M, Yamashiro S, Harada K, Ochi H, Sawada T. Identification and Antimicrobial Susceptibility of Enterococci Isolated from Dogs and Cats Subjected to Differing Antibiotic Pressures. *J. Vet. Med. Sci.* 75(6): 749–753, 2013.
- Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence Factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship To Endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004; 15:308-320.
- Klare I, Konstabel C, Badstubner D, Werner G, Witte W. Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. *International Journal of Food Microbiology* . 2003; 88: 269–290.
- Klein G. Taxonomy, Ecology and Antibiotic Resistance of Enterococci From Food and Gastro-Intestinal Tract. *International Journal of Food Microbiology.* 2003;88, 2-3, 123-131.
- Wayne, PA. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement 2011; M 100 – S21
- KONEMAN, E.W., ALLEN, S.D., JONDA, W. M., SCHRECKENBER., P. C., WINN W.C., JR., 1997. Enterobacteriaceae, Color Atlas and Textbook of 78 Diagnostic Microbiology, 5thed., Lippincott Company, Philadelphia, Newyork, 171.
- Lawrence, L., Livornese, Jr M.D., Susan Dias. Hospitalacquired Infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* transmitted by electronic thermometers. *Annals of Internal Medicine*1992; 117:112-116.
- Moellerig, R.C. Jr. Emergence of enterococcus as a significant pathogen. *Clin Infect Dis* 1992;14:1173-1178.
- Moellering J.C, “Enterococcus Species”. In Mandell G. L, et al. Principles and Practise of Infectious Diseases, 5th Ed. NewYork: Churcill Livingstone; 2000: 2147-2156.
- Murray B. E. The life and times enterococcus. *Clin. Microbiol. Rev.* 1990; 3: 45 – 65.
- Murray BE. Diversity among Multidrug-Resistant Enterococci. *Emerging Infectious Diseases.* 1998; 4:37-47.
- Öngen B, Gürler N, Esen F, Karayay S, Töreci K. Glikopeptidlere ve denendiği bütün antibiyotiklere dirençli *Enterococcus faecium* susu. *Ankem Derg.*, 1999;13:501-505.
- Özyurtlu N, Yeşilmen S, Kaya NBA. Diyarbakır ve Çevresindeki Sağlıklı Dişi Sokak Köpeklerinde Siklus Dönemine Göre Vaginal Aerobik Bakteriyel Floranın Saptanması 2008: 1 (1): 7 – 10
- Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH. In *Manual of Clinical Microbiology*, 7th Ed. Washington: American Society for Microbiology; 1999.
- Rodrigues, J., Poeta, P., Martins, A., Costa, D.: The importance of pets as reservoirs of resistant *Enterococcus* strains, with special reference to vancomycin. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health*, 2002; 49: 278-280.

Schleifer K. H., Klipper B. R. Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review. *Syst. Appl. Microbiol.*1987; 10: 1 – 19.

Schouten MA, Voss A, Hoogkamp JA. VRE and meat. *Lancet* 1977;349:1259-9.

Shankar N, Coburn P, Pillar C, Haas W, Gilmore M. Enterococcal cytolysin: activities and association with other virulence traits in a pathogenicity island. *International Journal of Medical Microbiology.* 2004; 293:609-618.

Simjee S, White D. G, McDermott P. F, Wagner D. D, Zervos M. J, Donabedian S. M. Characterization of Tn1546 in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from canine urinary tract infections: evidence of gene exchange between human and animal enterococci. *J. Clin. Microbiol.* 2002;40, 4659–4665 10.1128/JCM.40.12.4659-4665.2002

Şardan YÇ. Enterokoklarda direnç sorunu. *Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar.* Ed: Şardan YÇ. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara 2004:10-16.

Tarım Köyişleri ve Sağlık Bakanlığı. Türk gıda kodeksi hayvansal kökenli gıdalarda veteriner ilaçları maksimum kalıntı limitleri tebliği 2002/30, 24739 Tarih 28.04.2004.

Tenover, F.C, Tokars, J, Swenson, J, Paul, S, Spitalny, K, Jarvis, W. Ability of Clinical Laboratories to Detect Antimicrobial Agent-Resistant Enterococci. *J. Clin. Microbiol.* 1993;3: (17).

Türkyılmaz S, Erdem V, Bozdoğan B. Investigation of antimicrobial susceptibility for enterococci isolated from cats and dogs and the determination of resistance genes by polymerase chain reaction *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2010; 34(1): 61-68

Unat E. K, “Gram Pozitif Koklar” Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, 2. Baskı. İstanbul:Emek Matbaacılık, 1986: 429-480

Upadhyaya PMG, Ravikumar KL, Umopathy BL. Review of virulence factors of enterococcus: An emerging nosocomial pathogen. *Indian Journal of Medical Microbiology.*2009; 27:301-305.

Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin resistant enterococci. *Lanset* 1988;1:57-58.

Wegener HC, Aarestrup FM, Jensen LB, Hammerum AM, Bager F. Use of antimicrobial growth promoters in food animals and *Enterococcus faecium*. Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe. *Emerg Infect Dis* 1999;5:329-55.

Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”. 9th Ed. Baltimore: Williams&Willkins; 1994.

Kayaalp, O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 6. Baskı. Feryal Matbaacılık. Ankara 1991.

Şahin T, Çamkerten İ. Kedi ve Köpeklerin Böbrek Hastalıklarında Antibiyotiklerin Kullanımı. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.* 2003,14 (1):82-86

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Ankara’da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Aydın’da tamamladım. 2002 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nde eğitime başlayarak 2009 yılında mezun oldum. Aynı yıl İzmir Terapi Hayvan Hastanesi’nde küçük hayvan hekimliği yapmaya başladım. Daha sonra 2013 yılında Söke’de bulunan Agrilab Veteriner Teşhis Laboratuvarı’nda sorumlu yönetici olarak görev yaptım. Şuan özel bir gıda firmasında sorumlu yöneticilik yapmaktayım. Yabancı dil olarak ‘İngilizce’ bilmekteyim. 2011 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ABD Yüksek Lisans programına başladım.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen danışmanım Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Neriman AYDIN, çalışmam sırasında ilgi ve yardımlarını gördüğüm Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Osman KAYA, Prof. Dr. Şükrü KIRKAN, Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ, Doç. Dr. Serap SAVAŞAN, Yrd. Doç.Dr. Göksel ERBAŞ ve Yrd. Doç.Dr. Uğur PARIN, laboratuvar çalışmalarımda büyük yardım ve desteklerini gördüğüm Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyolojisi Ana Bilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. Rıfat BÜLBÜL'e sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca yüksek lisans çalışmamda destek veren sevgili aileme de teşekkürlerimi bir borç bilirim.