

T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**METİSİLİN DİRENÇLİ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VE  
VANKOMİSİN DİRENÇLİ ENTEROKOK SUŞLARINDA  
DAPTOMİSİNE DUYARLILIKLARININ İNVİTRO E-TEST  
YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Nuray ARI**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Zülal Aşçı TORAMAN**

**ELAZIĞ  
2014**

## DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez uzmanlık tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

\_\_\_\_\_

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

\_\_\_\_\_

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

.....

\_\_\_\_\_

## TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım boyunca bilgi ve birikimiyle yardımlarını esirgemeyen, sabırla destekleyen değerli hocam, tez danıŐmanım Prof. Dr. Zülal AŐŐI TORAMAN'a, emeğini, bilgisini ve desteğini sonuna kadar benden esirgemeyen sevgili Anabilim Dalı BaŐkanımız Prof. Dr. Mustafa YILMAZ'a sonsuz saygı ve teŐekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim sırasında yetiŐmemde önemli katkıları olan bilgi ve deneyim kazanmama olanak sağlayan değerli hocalarım; Prof. Dr. Adnan SEYREK, Doç. Dr. Yasemin BULUT'a

Araştırma görevlisi ve teknisyen arkadaşlarıma,

Ve benden desteklerini esirgemeyen değerli aileme sonsuz teŐekkürler.

## ÖZET

Gram pozitif mikroorganizmaların hem toplumda hem de hastanede yol açtığı pek çok ciddi enfeksiyon vardır. Aynı zamanda çok ilaca direnç sadece birkaç tedavi seçeneği bırakacak kadar artmaktadır. Gram pozitiflerin yol açtığı enfeksiyonlar metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomisine dirençli enterokok (VRE) gibi tedavisi zor etkenlerle gelişir. Vankomisine direnç gelişimi; duyarlılıkta azalma ve klinik başarısızlık raporları artarak ortaya çıkmaktadır.

Daptomisin son zamanlarda geliştirilmiş, MRSA ve VRE suşları dahil olmak üzere geniş bir aerobik ve anaerobik Gram pozitif etki alanına sahip antimikrobiyal bir ajandır. Dirençli Gram pozitif patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlarda yeni bir tedavi seçeneğidir.

Çalışmamıza Ekim 2011-Haziran 2013 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Bölümüne gönderilen çeşitli örneklerden, izole edilmiş 81 adet MRSA ve 11 adet VRE suşu dahil edilmiştir, gönderilen klinik ve gelen örnek tipi ayırt edilmeksizin rastgele toplanmıştır. Bu suşların daptomisine karşı duyarlılığı E-test (Biomerieux S.A. France) yöntemi ile CLSI önerileri dikkate alınarak Mueller Hinton Agarda (Oxoid UK) belirlendi. Bu sonuçlar BD Phoenix (Becton Dickinson U.S.A.) tam otomatik bakteri identifikasyon cihazı kullanılarak doğrulandı.

Çalışmamızda da Biomerieux S.A.-France'in E-testleri kullanılmış ve daptomisinin MİK değerleri, *S.aureus* için MİK<sub>50</sub>: 0.5 µg/ml, MİK<sub>90</sub>: 1 µg/ml, *E. faecium* için MİK<sub>50</sub>: 2.5 µg/ml, MİK<sub>90</sub>: 3 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bakterilerin hepsi daptomisine duyarlı bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre daptomisin; MRSA ve VRE suşları tarafından meydana gelen enfeksiyonlarda alternatif olarak kullanılacak en önemli antibiyotiklerden biri olduğu görülmüştür.

Daptomisin gibi yeni ajanlar pek çok ciddi Gram pozitif izolata etkili olmakla birlikte direnç sorunu devam etmektedir. Farmakokinetik profilleri ve güvenlik profilleri uygun olan Gram pozitiflere karşı yeni ajanlara klinik ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Daptomisin, Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*, Vankomisin dirençli Enterokok

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF SENSITIVITY OF DAPTOMYCIN WITH INVITRO E-TEST METHOD IN STRAINS OF VANCOMYCIN-RESISTANT ENTEROCOCCUS AND METHICILLIN RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Many serious infections are caused by Gram positive organisms in both community and hospital settings. At same time, multiple antibiotic resistance is on rise, often leaving few therapeutic options. Infections caused by Gram positive pathogens are increasingly difficult to treat due to pathogens such as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomycin resistant enterococci (VRE).

Daptomycin recently developed, including MRSA and VRE broad domain with aerobic and anaerobic Gram positive antimicrobial agent. Infections caused by Gram positive pathogens resistant in a new treatment option.

In our study, isolated 81 pieces MRSA and 11 pieces VRE from samples sent to the Central Laboratory of Microbiology Department of Firat University Hospital between October 2011-June 2013 dates were included. The susceptibility of these strains to daptomycin E-test (Biomerieux SA France) with my Conquer CLSI considering the recommendations on Mueller Hinton agar (Oxoid UK) was determined. These results Phoenix BD (Becton Dickinson, USA) was confirmed using fully automated bacteria identification apparatus.

In our study, Biomerieux SA-France's E-tests were used and of daptomycin MIC values and *S.aureus* MIC 50: 0.5 microg / ml, MIC90: 1 microg / ml, *E.faecium* MIC50: 2.5 microg / ml, MIC90: 3 mg / ml, respectively. The bacteria were susceptible to all of daptomycin.

According to the results obtained in this study, daptomycin, by MRSA and VRE can be used as an alternative to that infection was found to be one of the most important antibiotics.

Newer agents are effective in the treatment of serious Gram positive infections; however, resistant isolates of Gram positive organisms. There is a clinical need for new antimicrobials that have suitable pharmacokinetic properties and safety profiles, with activity against these Gram positive pathogens.

**Keywords:** Daptomycin, Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin resistant Enterococcus

## İÇİNDEKİLER

<b>BAŞLIK SAYFASI</b>	<b>i</b>
<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vi</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>ix</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Genel Bilgiler	4
1.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	4
1.1.1.1. Tarihçe	4
1.1.1.2. Genel Özellikler	6
1.1.1.3. Sınıflandırma	7
1.1.1.4. Morfoloji ve Kimyasal Özellikler	7
1.1.1.5. Virülans ve Patojeniteleri	8
1.1.1.5.1. Hücre Duvarı	8
1.1.1.5.1.1. Hücre Duvarı Peptidoglikan Sentezi	10
1.1.1.5.2. Kapsül	11
1.1.1.5.3. Yüzey proteinleri	11
1.1.1.5.4. Genom	12
1.1.1.5.5. Enzimler	12
1.1.1.5.5.1. Katalaz	13
1.1.1.5.5.2. Koagülaz	13
1.1.1.5.5.3. Hyalüronidaz	13
1.1.1.5.5.4. Stafilokinaz	14
1.1.1.5.5.5. Deoksiribonükleaz (DNase)	14
1.1.1.5.5.6. Lipaz	14
1.1.1.5.5.7. Penisilinaz ( $\beta$ -Laktamaz)	14
1.1.1.5.6. Toksinleri	14
1.1.1.5.6.1. Sitolitik toksinler	15
1.1.1.5.6.1.1. Alfa toksin	15

1.1.1.5.6.1.2. Beta toksin	15
1.1.1.5.6.1.3. Gama toksin	15
1.1.1.5.6.1.4. Delta toksin	15
1.1.1.5.6.2. Lökosidin	16
1.1.1.5.6.3. Enterotoksinler	16
1.1.1.5.6.4. Eksfoliyatif toksin (Eksfoliyatin)	16
1.1.1.5.6.5. Toksik şok sendrom toksini-1 (TSST-1)	17
1.1.1.5.7. Patogenez	17
1.1.1.6. Epidemiyoloji	18
1.1.2. Enterekoklar	19
1.1.2.1. Tarihçe	19
1.1.2.2. Genel bilgiler	19
1.1.2.3. Sınıflandırılması ve Türler	20
1.1.2.4. Genel Özellikleri	22
1.1.2.5. Virülans Faktörleri	26
1.1.2.5.1. Hemolizin (sitolizin)	26
1.1.2.5.2. Jelâtinaz	27
1.1.2.5.3. Yüzey Adezyonları (Enterococcal Surface Protein = ESP)	27
1.1.2.5.4. Kümeleşme Maddesi (Agregasyon Faktörü)	27
1.1.2.5.5. Kollagen adezini (MSCRAMM Ace)	28
1.1.2.5.6. Kapsüler Polisakkarit ve Hücre Duvarı Karbonhidratı	29
1.1.2.5.7. Ekstra-Sellüler Süperoksit	29
1.1.2.6. Epidemiyoloji	30
1.1.3. Antibiyotik Direnci	30
1.1.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i> 'ta Antibiyotik Direnci	30
1.1.3.1.1. Stafilokoklarda Glikopeptid Dışı Antibiyotiklere Karşı Direnç	31
Stafilokoklarda bugüne kadar bilinen antibiyotik dirençleri şunlardır:	31
1.1.3.1.1.1. $\beta$ -Laktamlara Direnç	32
1.1.3.1.1.2. Aminoglikozidlere Karşı Direnç	32
1.1.3.1.1.3. Kloramfenikol Direnci	33
1.1.3.1.1.4. Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin B Direnci	33

1.1.3.1.1.5. Tetrasiklin Direnci	33
1.1.3.1.1.6. Kinolon Grubu Antibiyotiklere Direnç	34
1.1.3.1.1.7. Rifampin Direnci	34
1.1.3.1.2. Metisilin Direnci	35
1.1.3.1.3. Stafilokoklarda Glikopeptid Direnci	39
1.1.3.1.4. Oksazolidinon Direnci (Linezolid-Eperozolid)	40
1.1.3.1.5. Streptogramin Direnci (Kinopristin/Dalfopristin)	41
1.1.3.2. Enterokoklarda Antibiyotik Direnci	41
1.1.3.2.1. Enterokokların Çeşitli Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları	44
1.1.3.2.2. Enterokoklarda Vankomisin Bağımlılığı	49
1.1.4. Daptomisin	50
1.1.4.1. Yapı ve Etki Mekanizması	50
1.1.4.2. Farmakodinami ve Farmakokinetik	51
1.1.4.3. Etki Spektrumu	52
1.1.4.4. Klinik kullanım	52
1.1.4.5. Yan Etkiler	53
1.1.4.6. Direnç	54
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>55</b>
2.1. Bakteri Suşları	55
2.2. Mikrobiyolojik kültür ve identifikasyon işlemleri	55
2.3. Suşların Saklanması	57
2.4. İstatistiksel Değerlendirme	58
<b>3. BULGULAR</b>	<b>59</b>
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>64</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>76</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>101</b>

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> <i>S.aureus</i> 'un bazı yüzey proteinleri.	12
<b>Tablo 2.</b> MRSA ve VRE suşlarının izole edildiği örneklerin klinik branşlara göre dağılımı.	59
<b>Tablo 3.</b> MRSA ve VRE suşlarının izole edildiği örneklere göre dağılımı.	60
<b>Tablo 4.</b> MRSA ve VRE'nin E-test yöntemiyle MİK dağılımı.	61
<b>Tablo 5.</b> <i>S.aureus</i> suşlarının BD Phoenix tam otomatize sistemde antibiyotik duyarlılık oranları.	62
<b>Tablo 6.</b> Enterekok suşlarının BD Phoenix tam otomatize sistemde antibiyotik duyarlılık oranları.	63

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	Peptidoglikan tabakanın şematik yapısı	9
<b>Şekil 2.</b>	Müreın monomerin sentezi. Müreın monomer	10
<b>Şekil 3.</b>	Enterococcus türleri için tanı rehberi.	25
<b>Şekil 4.</b>	Dapomisinin kimyasal yapısı.	51
<b>Şekil 5.</b>	Oksasilin ve sefoksitin disk difüzyon testi.	56
<b>Şekil 6.</b>	Daptomisin E-test.	56
<b>Şekil 7.</b>	Vankomisin ve daptomisin E-testi.	57
<b>Şekil 9.</b>	MRSA ve VRE izolatlarının elde edildiği örneklere göre dağılımı	61
<b>Şekil 10.</b>	<i>S.aureus</i> suşlarının BD Phoenix tam otomatize sistemde antibiyotik duyarlılık oranları.	62
<b>Şekil 11.</b>	Enterekok suşlarının antibiyotik duyarlılık oranları	63

## KISALTMALAR

<b>AME</b>	: Aminoglikozid Modifiye eden Enzim
<b>BORSA</b>	: Borderline resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>CDC</b>	: Centers for Disease Control
<b>CRF</b>	: Coagulase-Reactin Factor
<b>DNase</b>	: Deoksiribonükleaz
<b>GISA</b>	: Glikopeptid intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>HK-MRSA</b>	: Hastane Kaynaklı Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>hVISA</b>	: Heterorezistan Vancomycin-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>MİK</b>	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
<b>MODSA</b>	: Modified resistant <i>S.aureus</i>
<b>MRKNS</b>	: Metisiline Dirençli Koagülaz Negatif Stafilokok
<b>MRSA</b>	: Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>MSCRAMM Ace:</b>	Microbial surface component recognizing adhesive matrix molecule adhesin of collagen from Enterococci
<b>MSSA</b>	: Metisilin duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>NAG</b>	: N-Asetil Glikozamin
<b>NAM</b>	: N-Asetil Muramik asit
<b>NNIS</b>	: National Nosocomial Infections Surveillance
<b>ORF</b>	: Open Reading Frames
<b>PBP</b>	: Penisilin Bağlayan Protein
<b>PCR</b>	: Pollymerase Change Reaction
<b>PDP</b>	: Penisilinaza Dirençli Penisilinler
<b>PRSP</b>	: Penisilin dirençli <i>Streptococcus pneumoniae</i>
<b>PVL</b>	: Panton-Valentin Lökosidin
<b>PYR</b>	: L-pirolidonil- $\beta$ -naftilamid
<b>SCC <i>mec</i></b>	: staphylococcal cassette chromosome <i>mec</i>
<b>TK-MRSA</b>	: Toplum Kaynaklı Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>TŞST-1</b>	: Toksik Şok Sendromu Toksini-1
<b>VBE</b>	: Vankomisin Bağımlı Enterokok
<b>VISA</b>	: Vancomycin-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>VRE</b>	: Vancomycin-resistant Enterokok

<b>VRSA</b>	: Vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>YDAD</b>	: Yüksek Düzey Aminoglikozit Direnci
<b>YDGD</b>	: Yüksek Düzey Gentamisin Direnci

## 1. GİRİŞ

Yüksek organizasyonlu canlı grupları; bir diğer canlı grubu olan ve geniş bir çeşitlilik gösteren basit bir organizasyon yapısına sahip mikroorganizmaların bazılarında yarar görürken, bazılarında ise küçük ya da yaşamına son verecek kadar büyük zararlar görebilmektedir. Bazı mikroorganizma türlerinin kendi yaşamını devam ettirmek için sentezlediği ve bulunduğu ortama salgıladığı antibiyotikler diğer bazı mikroorganizmaların çoğalmasını engellemekte, hatta ölümüne neden olabilmektedir. Bir mikroorganizma kendisinden daha geniş ve karmaşık bir yapıya sahip canlıların çeşitli organlarında çoğalarak enfeksiyon yaparken bir diğer mikroorganizmadan elde edilen antibiyotik ile bu hastalıkla mücadele edilmektedir.

Doğada var oldukları tarihten itibaren enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalar uzun bir süre konakçısının herhangi bir dış müdahalesi olmadan özgür bir dönem geçirdiler. Bu dönem; ilki 1929 yılında Sir Alexander Fleming tarafından keşfedilen antibiyotiklerin yaklaşık 70 yıl önce (1940'lı yıllarda) kullanıma girmesiyle sona ermiştir. Zaten konağın iç savunma mekanizması olan bağışıklık sistemiyle önceden beri savaşan bu küçük organizmalar bu tarihten sonra antibiyotiklerle de mücadele etmek zorunda kalmışlardır (1).

Mikroorganizmalar yüzyıllardır insanoğlunu etkilemiş, kavimlerin, toplulukların yaşam şartlarını belirlemiş canlılardır. Yirminci yüzyılda tıp biliminin elde ettiği en önemli kazanımlardan biri; ortalama insan yaşam süresinde belirgin artış olmasıdır. Global olarak bakıldığında, 1955 yılında 48 yaş olan ortalama yaşam süresi 1997 yılında 66 yaşa kadar uzamıştır. Bu da yarım yüzyıldan az bir sürede %38 artış demektir. İnsanoğlunun yaşam beklentisindeki bu kazanımların pek çok sebebi vardır, fakat en önemli etmenlerden biri enfeksiyon hastalıklarına bağlı morbidite ve mortalitenin azalmış olmasıdır. Enfeksiyon hastalıklarının azalması multifaktoriyel olmasına rağmen, üç ana etken üzerinde durulabilir. Bunlar; artmış sanitasyon ve hijyenik koşullar, etkili aşuların geliştirilmesi, son olarak da 1930 ve 1940'lı yıllardan başlayarak güvenli, etkili antimikrobiyal ajanların keşfi ve üretilmesidir. Elde edilen bu kazanımlara rağmen, enfeksiyon hastalıkları insanların karşılaştığı en önemli sağlık problemlerinden biri olmaya devam etmektedir. Tüm dünyada görülen ölümlerin hala en önemli nedenlerinden biridir. Dünya Sağlık

Örgütü verilerine göre, 1997 yılında dünyada her üç ölümden biri enfeksiyöz ya da paraziter hastalıklar sebebiyle oluşmuştur. Bu istatistiki sonuç çarpıcı olmasına rağmen, aslında enfeksiyon hastalıklarına bağlı ölüm oranlarını gerçek değerlerinden az göstermektedir. Örneğin, ölümlere yol açan pek çok enfeksiyöz sebep; enfeksiyon sonucu gelişen kanserler (hepatit B'ye bağlı hepatosellüler karsinoma ve siroz, human papilloma virüs enfeksiyonuna bağlı servikal kanser, *Helicobacter pylori* enfeksiyonuna bağlı mide kanseri), poststreptokokal romatizmal kalp hastalığına bağlı kardiyovasküler ölümler ve puerperal sepsise bağlı anne ölümleri ile hastane enfeksiyonlarına bağlı ölümler gibi, Dünya Sağlık Örgütü'nün enfeksiyöz ve parazitik hastalıklar kategorisine dahil edilmemiştir. Enfeksiyon hastalıklarının kontrolü ve önlenmesi konusundaki kazanımlar dünyanın gelişmiş ve diğer bölgelerinde eşit olarak oluşmamıştır. Enfeksiyon hastalıklarına bağlı ölümlerin ortalama %95'i gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir. Bu ülkelerde ölümlerin %43'ü enfeksiyonla ilişkiliyken, gelişmiş ülkelerde ise bu oran sadece %1'dir (2).

*Staphylococcus aureus* antibiyotiklerin henüz keşfedilmediği dönemlerde çok ağır seyreden, tedavisi güç, ölümcül enfeksiyonlara neden olmaktadır. Günümüzde de nozokomiyal patojenler arasında öneminin giderek artması, epidemilere yol açabilmesi ve çoklu antibiyotik direncine bağlı tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması nedeniyle dünya tıp gündeminin başlarında yer almaktadır (3).

Penisilinin Alexander Fleming tarafından bulması ve 1940 yılında Florey ve Chain tarafından büyük miktarlarda üretiminin başarılması ile stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde önemli bir aşama kaydedilmiştir. Fakat penisilinin yaygın klinik kullanıma girmesiyle birlikte günümüz enfeksiyon medikal tedavisinin devasa handikapı olan ilaç direnci yüzünü göstermiş ve penisilini parçalayan stafilokok suşları ortaya çıkmıştır. Stafilokoklar tarafından penisilinaz üretimi ilk olarak 1944 yılında Kirby tarafından bildirilmiştir. Bu tarihten itibaren stafilokoklarda penisilin direnci giderek artmış, 1950'li yıllarda penisilinin yanı sıra eritromisin, tetrasiklin, streptomisin gibi o dönemde kullanımda olan diğer antibiyotiklere de direnç hızlı bir şekilde gelişmiştir (4).

Penisilinaza dirençli metisilinin 1960'larda kullanıma girmesi ve daha sonra da diğer penisilinaza dirençli penisilinlerin kullanıma girmesiyle birlikte stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde ikinci önemli aşama kaydedilmiştir. Ancak, çok kısa süre

içerisinde (1961) stafilokoklarda metisilin direnci tanımlanmış ve 1970’li yıllardan itibaren de metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarında çoklu antibiyotik direnci problemi ortaya çıkmıştır. Direnç probleminin artması ile birlikte MRSA tüm dünyada nozokomiyal epidemilere yol açan ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir (5).

Başlangıçta MRSA’lara yönelik sadece tedavi yönünde çalışmalar yapılmış, kısıtlı kontrol önlemleri dışında, korunma yöntemlerine çok az başvurulmuş, etkenin tamamen ortadan kaldırılması ise hastane enfeksiyonları açısından hiç düşünülmemiştir. Bunda biraz da küçük çaplı hastanelerde MRSA enfeksiyonu görülmemesinin rolü olmuştur. 1990’lı yılların başlarından itibaren MRSA enfeksiyonlarının hastane ortamında yayılmasının önlenmesindeki zorluklar fark edilmeye başlanmıştır. Bunun üzerine; söz konusu enfeksiyonların kontrol altında tutulması ve hastane ortamında yayılmasının en aza indirilmesine yönelik olarak yoğun çalışmalar başlatılmıştır ve halen sürdürülmektedir. Bugün birçok hastanede bu amaçla; hastanenin işlev ve özelliklerine uygun olarak, hastaların kesin izolasyonu da dahil olmak üzere her türlü önleme başvurulmakta, hastanenin kendi işlev ve özelliklerine uygun, özgün korunma politikaları geliştirilmeye çalışılmaktadır (6).

Bu çalışmanın bir diğer öznesi olan enterokoklar uzun yıllar tıbbi önemi olmayan bakteriler grubunda incelenmiş; insanlar için zararsız bakteriler gözüyle bakılmıştır. Bakteriyosin üretmeleri nedeniyle *Enterococcus* cinsine ait türler son on yıldır yaygın olarak gıda endüstrisinde probiyotikler veya starter organizmalar olarak kullanılmıştır. Son zamanlarda, enterokoklar %61 kadar yüksek bir mortalite oranıyla en sık gözlenen nozokomiyal patojenlerden biri haline gelmiştir. İngiltere’de yapılan araştırmalarda enterokok türlerinin neden olduğu bakteremi olgularının 2004 yılına oranla 2005 yılında %8 oranında bir artış gösterdiği bildirilmektedir. Vankomisine dirençli enterokok (VRE) nedeniyle ölüm riskinin %75 gibi çok yüksek oranlara ulaştığı; Hastalık Kontrol ve İzleme Komitesi (Center For Disease Control and Prevention=CDC)’ne bağlı bir kurum olan “National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS)” 2004 kayıtlarına göre VRE ile ilişkili hastane enfeksiyonlarının son 15 yıl içerisinde 20 kat artış gösterdiği ifade edilmektedir. Tüm dünyada gözlenen enterokok türlerindeki antibiyotik direncinin dramatik

denilebilecek artışı, enterokokların ekolojisi de dahil olmak üzere epidemiyolojisi ve virülansının da daha kapsamlı olarak anlaşılması gerektiğini ortaya koymaktadır (7).

Enterokok ve MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde kinupristin-dalfopristin, daptomisin, tigesiklin ve yeni glikopeptidler günümüzde kullanılan veya üzerinde çalışmaların devam ettiği antibiyotikler olarak öne çıkmaktadır (8).

Dirençli bir bakterinin organizmadan uzaklaştırılması için savaşta manevra yeteneğimiz yeni ve etkili bir antibiyotiğin keşfedilmesine kadar sınırlanmış durumdadır. Böyle bir durum hasıl olduğunda bakterinin yaptığı enfeksiyonlarda mortalite oranlarının yüksek seviyelere çıkacağı beklenmesi gereken bir sonuçtur.

Dünya çapında artan antibiyotik direnci nedeniyle Gram pozitif bakteri enfeksiyonları, özellikle de MRSA ve diğer Gram pozitif enfeksiyonlar için yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Daptomisin ise geniş Gram pozitif patojen etkinliğine sahip olan siklik lipopeptit sınıfı bir antimikrobiyaldir.

Bu çalışmada son yıllarda kullanıma giren daptomisinin hastanemize gelen örneklerden izole edilen MRSA ile VRE'lerdeki etkinliğinin ve direnç durumunun belirlenmesi hedeflenmiştir.

## **1.1. Genel Bilgiler**

### **1.1.1. *Staphylococcus aureus***

#### **1.1.1.1. Tarihçe**

Stafilokokları ilk kez 1878'de Robert Koch tanımlamış, 1880'de Pasteur sıvı besi yerinde üretmiş (9) ve 1881'de İskoçyalı cerrah Alexander Ogston fare ve kobaylar için patojen olduğunu gösterip o dönemde çok ağır seyreden, tedavisi güç, ölümcül enfeksiyonlara neden olduğunu belirlemiştir (3). Grekce üzüm salkımı (staphyle) anlamına gelen bu adlandırma mikroskopik incelemede kümelenmeler yapması nedeniyle Alexander Ogston tarafından seçilmiştir (10). Rosenbach ise 1884'te beyaz renkli kolonileri *Staphylococcus albus*, sarı-portakal rengi kolonileri ise *Staphylococcus aureus* olarak isimlendirmiştir. Bu ayırım yakın zamana kadar devam etmiştir (11).

Patojen mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan etkili ajanların keşfi modern tıbbın en önemli gelişmelerinden biri olmakla birlikte, antienfektif potansiyele sahip maddeler aslında binlerce yıldır

kullanılagelmiş olup, halen alternatif tıp adı altında kullanılma olasılığı vardır. Mesela günümüzden 2.500 yıl kadar önce Çinliler küflenmiş soya fasulyesinin çeşitli cilt enfeksiyonlarındaki tedavi edici etkisini kullanma bilgisine sahiplerdi. Eski tarihlerden beri dünyanın değişik yerlerindeki pek çok uygarlıkları kurmuş olan insanlar bitkilerden yapılmış ilaçlarla yüzeysel ve sistemik enfeksiyonları tedavi etmeye çalışmış, 1900'lu yıllarda arsenik ve bizmut gibi ağır metaller sifiliz dahil bazı enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır.

Penisilinin klinikte kullanılmaya başlandığı 1944 yılına kadar, sulfonamidlerin 1936 yılında keşfi ve klinik kullanıma girmesiyle modern kemoterapi çağı başlamış, değişik sulfonamid preparatları antibakteriyel tedavinin seçkin ilaçları olmuştur. 1940'lı yıllarda penisilinin tedavide kullanılmaya başlanmasıyla birlikte, stafilokokal enfeksiyonlara bağlı mortalite oranı dramatik azalma göstermiştir. Fakat kısa bir süre sonra, *S.aureus* suşları penisilinaz enzimi üretmeye başlayarak penisiline direnç geliştirmiş ve bu dirençli suşlar hızla yayılmıştır. İlk direnç 1944'te tanımlanmış olmakla birlikte 1950'lerin sonlarına varıldığında suşların yaklaşık %50'si penisiline dirençli hale geldiği görülmüştür. Aynı zamanlarda tetrasiklin, kloramfenikol ve eritromisine karşı çoklu direnç gösteren *S.aureus* suşları bildirilmiştir (12).

Penisilinaza dirençli metisilin ilk semisentetik antimikrobiyal ajan olarak 1959 yılında klinik kullanıma girmiştir. Fakat iki yıl sonra, 1961 MRSA izolatları İngiltere'den bildirilmiş (12), 1960'lı yıllarda Avrupa'da ve 1970'li yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'nde bir problem haline gelmiştir (13). Antibiyotiklere çoklu direnç gösteren MRSA suşları 1980'lerin sonlarında ve 1990'lı yıllarda tüm dünyaya yayılmıştır (14). Amerika Birleşik Devletleri'nde MRSA izolatlarının oranı 1975'te %2 iken, 1996'da %35'e yükselmiştir. Japonya'da 1992-1993 yıllarında çeşitli coğrafik bölgelerdeki hastalardan izole edilen yaklaşık 7.000 suşun analizi, *S.aureus* izolatlarının %60'ının metisiline dirençli olduğunu göstermiştir (15). MRSA halen tüm dünyada çeşitli büyüklüklerdeki hastanelerde en sık rastlanan nozokomiyal patojenler arasında yerini korumaktadır. Çoklu direnç gösteren MRSA suşlarına bağlı enfeksiyonların artması nedeniyle, son 25 yıldan beri de vankomisin, stafilokokal nozokomiyal enfeksiyonların tedavisinde kullanılır hale gelmiş, 1990 yılında *S.aureus* enfeksiyonlarının teikoplanin ile tedavisi sonrası, teikoplanine

dirençli izolatların seleksiyonuna bağlı klinik başarısızlıklar bildirilmiştir (16, 17). 1997 yılında Japonya (18, 19), ABD (20-26), Fransa (27), Hong Kong (28) ve Kore’de (29) vankomisine azalmış duyarlılık gösteren MRSA izolatlarının ortaya çıkması maalesef çok endişe verici olmuştur. Diğer antimikrobiyal ajanların da çoğuna dirençli olan bu suşlar vankomisin tedavisine cevap vermeyen hastalardan izole edilmiştir. Glikopeptid orta dirençli *S.aureus* (GISA= Glikopeptid intermediate *S.aureus*) suşlarının glikopeptidlere azalmış hassasiyeti terapötik alternatifleri sınırlamaktadır.

#### 1.1.1.2. Genel Özellikler

Stafilokoklar hareketsiz, sporsuz, katalaz pozitif, Gram pozitif, 1 mikrometre çapında, tama yakın yuvarlak, *micrococcaceae* familyası içinde yer alan koklardır. Micrococci terimi, bundan yaklaşık 100 yıl önce Von Reclinhausen tarafından abse materyalindeki Gram pozitif koklar için kullanılmıştır. Bu familyada *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Stomatococcus*, ve *Planococcus* cinsleri bulunmaktadır. Peptidoglikan hücre duvarına sahip, katalaz pozitif bu kokların nükleik asit bileşimlerinde önemli farklılıklar bulunduğundan, bu taksonomiden günümüzde uzaklaşmaktadır (11). Bergey’in “Manuel of Systematic Bacteriology” kitabının 1986 basımında *Micrococcaceae* ailesinin 4 cinsi içeren bu sınıflandırması daha sonraki genetik çalışmalar (DNA-ribozomal RNA hibridizasyon, 16S rRNA sekanslama) ve kemotaksonomik analizler (hücre duvarı kompozisyonu, hücresel yağ asitleri) ile mikroorganizmaların çeşitliliğini göstermiş ve bu dört cinsin tek bir aileye bağlanmaması gerektiğini ortaya koymuştur. Planokok ve stafilokok cinslerinin *Bacillus/Lactobacillus/Streptococcus* grubu üyeleri ile yakın filogenetik ilişkileri bulunduğu anlaşılmıştır. Mikrokok ve stomatokok grubu üyeleri ise amıçelyal *Actinomycetes* türleriyle ilişkilidir. Bergey’in bu yeni basımına göre stafilokoklar Phylum Firmicutes içerisinde ve Family 5 (“*Staphylococcaceae*”)’deki Genus 1’i içerir. Family 5’te aynı zamanda *Gemella*, *Macrooccus* ve *Salinicoccus* bulunur (30).

İnsanda en sık hastalığa neden olan türleri *S.aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (*S.epidermidis*) ve *Staphylococcus saprophyticus* (*S.saprophyticus*)’tur. Doğada; tozda, toprakta, hayvanların deri, mukoza dokularında ve dışkılarında yaygın olarak bulunan, insanların deri, burun boşluğu ve doku lezyonlarında çoğalan

bakterilerdir (31). Dış çevre şartlarına, kuruluğa, yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklıdır. İnsanda enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen mikroorganizmalardan birisidir. Genelde %10 NaCl'li ortamda ve 18-40°C'ler arasında üreyebilirler. Birçok türde karotenoid pigment bulunabilir. Glikozun parçalanması sonucu oluşturulan esas ürün laktik asit olup aerop koşullarda asetik asit ve CO<sub>2</sub> oluşturabilirler. Stafilocoklar lizostafine duyarlı ancak lizozime dirençlidirler (11, 32, 33).

#### 1.1.1.3. Sınıflandırma

Günümüze kadar *Staphylococcus* genusunda 33 tür ve 17 alt tür saptanmıştır. Stafilocok türleri DNA/DNA ilişkileri ve fenotipik özelliklerine göre en az dört grup altında toplanabilirler.

1- *Staphylococcus epidermidis* grubunda; *S.epidermidis*, *S.capitis*, *S.warneri*, *S.heamolyticus*, *S.hominis* ve *S.saccharolyticus*

2- *Staphylococcus saprophyticus* grubunda; *S.saprophyticus*, *S.cohnii* ve *S.xylosus*

3- *Staphylococcus simulans* grubunda; *S.simulans* ve *S.carnosus*

4- *Staphylococcus sciure* grubunda; *S.sciure* ve *S.lentus* türleri yer almaktadır.

*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus* ve *Staphylococcus caseolyticus* herhangi bir gruba sokulamamıştır.

İnsanlardaki stafilocok enfeksiyonlarında öncelikle *S.aureus* yer alır. Fırsatçı patojenler olan *S.epidermidis* ve *S.saprophyticus* da sıklıkla enfeksiyona sebep olurlar. Daha nadiren *S.haemolyticus*, *S.hominis*, *S.warneri*, *S.saccharolyticus*, *S.cohnii* ve *S.simulans*'da fırsatçı enfeksiyon sebepleridir (34, 32).

#### 1.1.1.4. Morfoloji ve Kimyasal Özellikler

Bu gruptaki bakteriler *Staphylococcus* genusunda yer alırlar. Gram pozitif kok görünümünde tekli, ikili, dörtlü hücreler halinde bulunabilirler. Üç veya dört hücreden oluşan kısa zincirler yapabilirler ve düzensiz üzüm salkımı benzeri şekiller oluştururlar. Hareketsiz, spor oluşturmeyen, genellikle katalaz pozitif, oksidaz negatif, kapsülsüz olup, anaerop, katalaz negatif olan ve karbohidratlardan gaz oluşturmeyen *S.saccharolyticus* ve *S.aureus subsp. anaerobius* haricinde fakültatif

anaeropturlar. Daha çok aerop üremeyi tercih ederler. Anaerobik ortamda glukozdan asit oluştururlar. Çoğu %7,5-10 NaCl içeren basit besi yerlerinde, 18-45°C'de kolaylıkla ürerler. Birçok türünde karotenoid pigment bulunabilir. Lizozime direnç göstermekle birlikte basitrasın, furazolidon, lizostafine duyarlıdırlar (10).

Stafilokoklar kanlı besiyerlerinde daha iyi çoğalmakla beraber basit besiyerleri dahil bir çok besiyerlerinde üreyebilirler. *S.aureus*'a ait koloniler geniş (6-8 mm çapında), düz, yüzeyden hafifçe kabarık, yarı şeffaf görünümündedir. Çoğu suşa ait koloniler krem-sarı, portakal rengi pigmentasyon gösterirler. *S.aureus* kanlı agarda beta hemoliz yapmaktadır. *S.aureus* hemaerop hem de anaerop ortamda ürer (10, 32).

Koagülaz deneyi, *S.aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmede en yaygın olarak kullanılan, en çok önem taşıyan ve genel olarak kabul gören identifikasyon kriteridir. Plazmayı pıhtılaştırma yeteneğini gösterir. *S.aureus* koagülaz pozitifdir. İki farklı yöntemle koagülaz testi yapılabilir. Birincisi kümeleştirme faktörü olarak da bilinen bağlı koagülazın araştırıldığı lam deneyidir. İkincisi ise stafilokokların besiyerine saldıkları serbest koagülazın araştırıldığı tüp testidir. Lam deneyi hızlı sonuç vermekle birlikte, *S.aureus* suşlarının %10-15'i bu yöntemle negatif sonuç verebilir. Mannitolu yalnız *S.aureus* parçaladığı halde koagülaz negatif olanlar parçalamazlar. Mannitole etki deneyi, koagülaz testinden sonra *S.aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırt etmede en yararlı deneydir. Diğer karbonhidratlardan trehaloz, mannoz, maltoz, sükroz ve laktozu parçalarlar. Ksiloz, sellobioz, arabinoz ve rafinozu ise parçalamazlar. Oksidaz olumsuz olup nitratları nitritlere indirgerler (10, 11).

#### **1.1.1.5. Virülans ve Patojeniteleri**

*Staphylococcus aureus* virülansı en yüksek olan stafilokok türüdür. Fakat mikroorganizmanın virülansı ile konak savunma sisteminin oluşturacakları dengeye bağlı olarak enfeksiyon tablosu oluşur. Stafilokokların virülansında rol oynayan faktörler; hücre duvar yapıları, kapsülü, yüzey proteinleri, toksinleri ve enzimleridir.

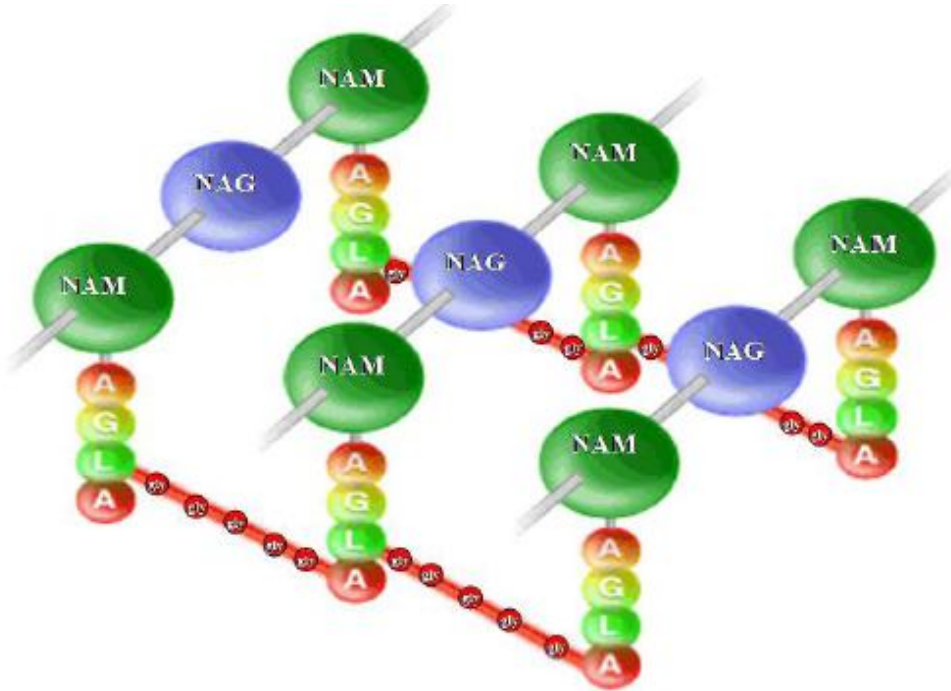
##### **1.1.1.5.1. Hücre Duvarı**

*Staphylococcus aureus*'un hücre duvarı 3 bölümden oluşmaktadır:

- 1- Peptidoglikan tabaka
- 2- Teikoik asit

### 3- Protein A ve diğer yüzey proteinleri

Peptidoglikan; birden fazla tabakadan oluşmuş dayanıklı ve kompleks bir yapıdır. Sitoplazmik membranın dışında yer alır, bakteriye şeklini veren ve ozmotik basınçtan koruyan bir yapıdır. Stafilokokal hücre duvarı kuru ağırlığının yaklaşık %50'sini oluşturan peptidoglikan (mürein) tabaka insanda Gram negatif bakterilerin endotoksinlerine benzer aktivite gösterir. Yani makrofajlardan sitokin salınımını uyarır, komplemanın aktivasyonuna yol açıp trombosit agregasyonuna neden olur. Ayrıca monositlerden interlokin-1 salınımını uyararak polimorfonükleer lokositlerin enfeksiyon bölgesine toplanmalarına ve sonuçta apse oluşumuna da yol açar. Çok sayıdaki çapraz bağ içeriği, hücre duvarının sağlamlığını artırarak konak savunmasına karşı katkı yapıp, farklı fiziksel koşullara dayanabilmesini ve canlı kalabilmesini sağlar (35). Peptidoglikan yapısını oluşturan polisakarit iskelet; birbirine  $\beta$  (1-4) bağlarıyla bağlı, tekrarlayan N-Asetil Glikozamin (NAG) ve N-Asetil Muramik asit (NAM) birimlerinden oluşmaktadır (30). NAM'a bağlı D ve L aminoasitlerden oluşmuş tetrapeptid zincir L-alanin, D-glutamin, L-lizin ve D-alaninden oluşmaktadır (Şekil 1).

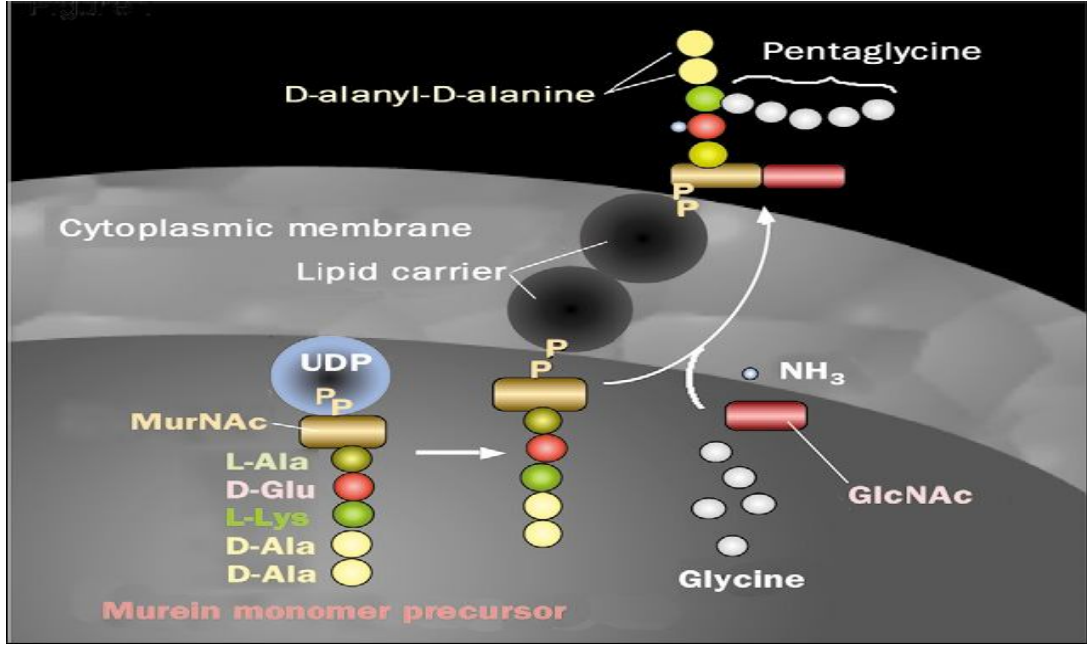


NAM; N-asetil muramik asit, NAG; Nasetil glikozamin A; Alanin, G; Glutamat, L; Lizin, gly; Glisin. (36 numaralı kaynaktan modifiye edilmiştir).

**Şekil 1.** Peptidoglikan tabakanın şematik yapısı.

### 1.1.1.5.1.1. Hücre Duvarı Peptidoglikan Sentezi

Yüksek ozmotik basınca sahip olan *S.aureus*'un düşük basınçlı ortamlarda üreyebilmesi ve rüptüre olmaması için peptidoglikan tabakasına ihtiyacı vardır. Peptidoglikanın üretilmesi için monomerik komponent (mürein monomer) hücre içinde sentezlenmeli ve sitoplazmik membranda bulunan lipid taşıyıcılar tarafından hücre dışına taşınmalıdır (Şekil 2).



Mürein monomer; İki amino şeker (N-asetil muramik asit [MurNAc] ve N-asetil glukozamin [GlcNAc]) ile 10 aminoasitten oluşur. Mürein monomerin prekürsörü MurNAc ve ana peptidler (L-alanin, D-glutamik asit, L-lizin ile 2 D-alanin)'den oluşur. Bu yapı, sitoplazmada sentezlenir ve sitoplazmik membrandaki lipid taşıyıcıya bağlanır. Sonra sitoplazmik membranın dışına doğru ilerlerken GlcNAc ile beraber 5 glisin bu yapıya eklenir ve matür mürein monomer haline gelmesi için izoglutamik asidine bir NH<sub>3</sub> grubu bağlanır (37).

**Şekil 2.** Mürein monomerin sentezi.

Sitoplazmik membranda bulunan glikoziltransferaz ve transpeptidaz adlı 2 enzim mürein monomerlerini peptidoglikanın devasa yapısına monte eder. Glikoziltransferaz, yeni oluşan peptidoglikan zincirlerini üretmek için mürein monomerlerini amino şeker parçalarının bulunduğu yerden polimerize eder. Sonra da Penisilin Bağlayan Protein (PBP; transpeptidaz olarak da bilinir), yeni sentezlenmiş peptidoglikanı *S.aureus*'un daha önceden sentezlenmiş olan peptidoglikan tabakalarına bağlar. Bu aşamada PBP, mürein monomerin D-alanil-D-alanin rezidülerini tanır, iki D-alanini birbirinden ayırır, sondan bir önceki D-alanini önceden sentezlenmiş olan peptidoglikan tabakalarından dışa doğru çıkıntı yaptırarak

pentaglisin zincirinin ucuna bağlar. Peptidler arasında köprü formasyonu oluştuğunda tamamlanmış peptidoglikandan mürein monomerin terminal D- alanini koparır (38).

Hücre duvarı ağırlığının %50'ye yakın bir kısmını oluşturan ikinci kısmı teikoik asittir. Ribitol teikoik asit ve lipoteikoik asit olmak üzere iki tiptir. Ribitol teikoik asit hücre duvarından uzanır. Lipoteikoik asit ise hücre membranından uzanır. Hücre duvarında aktif enzimlerin ve diğer proteinlerin bağlandığı yer olarak *S.aureus*'un metabolizmasında oldukça önemli fizyolojik görevleri vardır (39). Bununla birlikte teikoik asidin stafilokok enfeksiyonlarının patogeneğinde ve immün sistemin aktive olmasındaki direkt rolü tam olarak aydınlatılmış değildir (30, 40).

Sadece *S.aureus*'ta bulunan Protein A, peptidoglikan yapının “en dışında bulunan hücre duvarı bileşenidir. Yüzey proteinlerinin bir prototipi olan protein A, hücre duvarının yaklaşık %7'sini oluşturur. En önemli özelliği, IgG3 dışındaki tüm IgG ve IgA2 ile bazı IgM'lerin Fc reseptörleri ile birleşebilmesidir (30). Bu şekilde bakteriyi fagositoza karşı korumaktadır. Ayrıca hücre dışına salgılanan protein A aynı reseptörlere de bağlanarak komplemanın aktive olmasına neden olur (36, 40, 41).

#### **1.1.1.5.2. Kapsül**

Genellikle kapsülsüz olmakla birlikte nadiren kısıtlı bir kapsül formasyonu oluşturabilirler. *S.aureus*'ların çoğunun kökeninde polisakkarit yapıda bir mikrokapsül yer almaktadır. Bu yapı, bakteriyi fagositozdan korur, mitojenle karşılaşmasından sonraki mononükleer hücrelerin proliferasyonunu inhibe eder ve konak hücreleri ile sentetik materyallere yapışmasını sağlar. Bugüne kadar tanımlanan 11 kapsüler serotip içinde insan enfeksiyonlarının %75'inden sorumlu olanlar tip 8 ve 5'tir (30, 42-44).

#### **1.1.1.5.3. Yüzey Proteinleri**

Protein A, elastin, kollajen, fibronektin bağlayan proteinler ve “clumping” faktör, kimyasal yapıları ve hücre duvarı yerleşimleri birbirlerine benzeyen stafilokoksik yüzey proteinleridir. Bu proteinler stafilokokların konak dokularında kolonize olmasında en önemli faktörlerdir. Bu proteinlerin prototipi, antikomplemanter ve antifagositer etkinliği olan protein A'nın en önemli özelliği,

IgG3 dışındaki tüm IgG ve IgA2 ile bazı IgM'lerin Fc reseptörleri ile birleşebilmesidir (Tablo 1), (11, 39).

**Tablo 1.** *S.aureus*'un bazı yüzey proteinleri.

Gen	Protein	Fonksiyon	Enfeksiyondaki rolü
<i>Spa</i>	Protein A	Antikorların Fc parçasına bağlanma	Deneyisel sepsis
<i>clf A</i>	Kümeleştirici faktör	Fibrinojene bağlanma	Deneyisel osteoartrit
<i>clf B</i>	Kümeleştirici faktör	Fibrinojene bağlanma	Deneyisel osteoartrit
<i>cna</i>	Kollajen bağlayan protein	Kollajene bağlanma	Deneyisel osteoartrit
<i>fna</i>	Fibronektin bağlayan protein	Fibronektine bağlanma	Deneyisel endokardit
<i>fnb</i>	Fibronektin bağlayan protein	Fibronektine bağlanma	İnvazyon
<i>sdr C</i>	Serin-aspartat tekrar proteini	Fibronektine bağlanma	-
<i>sdr D</i>	Serin-aspartat tekrar proteini	Muhtemelen fibrinojene bağlanır	-
<i>sdr E</i>	Serin-aspartat tekrar proteini	Muhtemelen fibrinojene bağlanır	-
<i>pls</i>	Plazmine duyarlı protein	Nazal mukoza hücrelerine bağlanma	Nazal mukozada kolonizasyon
<i>fnt B</i>	Metisiline direncini etkileyen protein	Muhtemelen hücre duvarı yapısında rol oynar	Metisilin direncinin ortaya çıkmasına katkı sağlar
<i>sas A</i>	Protein A yüzey proteini	Bilinmiyor	-
<i>sas B</i>	Protein B yüzey proteini	Bilinmiyor	-
<i>sas C</i>	Protein C yüzey proteini	Bilinmiyor	-
<i>sas E</i>	Protein E yüzey proteini	Bilinmiyor	-
<i>sas F</i>	Protein F yüzey proteini	Nazalmukoza hücrelerine bağlanma	İnvaziv hastalıklarla ilişkili
<i>sas G</i>	Protein G yüzey proteini	Bilinmiyor	İnvaziv hastalıklarla ilişkili
<i>sas I</i>	Protein I yüzey proteini	Bilinmiyor	-
<i>sas J</i>	Protein J yüzey proteini	Bilinmiyor	-
<i>sas K</i>	Protein K yüzey proteini	Bilinmiyor	-

#### 1.1.1.5.4. Genom

Bakteri genomu; profajlar, plazmidler ve 2800 baz çiftli sirküler bir kromozomdan oluşur. Bakteri virülansı ve antibiyotik direncinden sorumlu olan genler bu kromozomda veya ekstra kromozomal yapılar üzerinde bulunabilir (43).

#### 1.1.1.5.5. Enzimler

Stafilokoklar; katalaz, koagülaz, hyaluronidaz, stafilokinaz, deoksiribonükleaz (DNaz), lipaz ve penisilinaz ( $\beta$ -laktamaz) gibi birçok enzim üretirler. Stafilokokların komşu dokulara yayılımını kolaylaştıran bu enzimler özellikle enfeksiyon patogeneğinde rol alırlar (45).

#### **1.1.1.5.5.1. Katalaz**

Bakterilerin, fagositler tarafından hücre içine alındıktan sonra, oluşturulan toksik hidrojen peroksidini yıkarak su ve oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimleridir. Mikroorganizmalar, bu enzim sayesinde fagositlerin içinde toksik oksijen radikalleri tarafından öldürülmeye karşı direnç kazanır (46).

#### **1.1.1.5.5.2. Koagülaz**

*Staphylococcus aureus*'un diğer stafilokoklardan ayırımını sağlayan ekstrasellüler bir proenzim olan koagülaz, Coagulase-Reactin Factor (CRF) ile birleşerek aktif duruma geçer ve plazmayı pıhtılaştırır. Filtrelerden geçebilir ve ısıya dirençli bir enzimdir. Koagülaz pozitif stafilokokların üzerinde oluşan kalın fibrin tabakasının mikroorganizmayı fagositoza karşı koruyarak patojenliğe katkı yaptığı bilinmektedir. *S.aureus* suşlarında iki ayrı tipte koagülaz bulunur. Bunlar; fibrinojeni fibrine direkt olarak dönüştüren bağlı koagülaz ve bu dönüşümü serumdaki CRF yardımıyla yapabilen serbest koagülazdır. Serbest koagülaz protein yapısındadır ve proteolitik enzimlerle kolaylıkla inaktive edilir. Bu özelliklere sahip olan stafilokoklar, girdikleri organizmada fibrin bir zırh ile kaplanarak fagositoza karşı korundukları gibi aynı zamanda serumun bakterisit etkisini de önlediklerinden patojenlik kazanmış olurlar. Koagülaz enzimi lamda ve tüpte koagülaz testi olmak üzere iki şekilde araştırılmaktadır. Her iki test için de EDTA'lı tavşan plazmasının kullanılması önerilmektedir. Lam deneyi ile stafilokokların yüzeylerinde bağlı halde bulunan koagülaz saptanırken tüp koagülaz testi ile de serbest koagülaz saptanabilmektedir. Tüpte uygulanan test halen *S.aureus*'un belirlenmesi için en güvenilir testtir (47, 48).

#### **1.1.1.5.5.3. Hyalüronidaz**

*Staphylococcus aureus* suşlarının %90'dan fazlası tarafından salgılanan 'yayılma faktörü' olarak da bilinir. Bağ dokusunun aselüler matriksindeki asit mukopolisakkaritler olan hiyaluronik asidi hidrolize ederek enfeksiyonun yayılımını kolaylaştıran enzimlerdir.

#### **1.1.1.5.5.4. Stafilokinaz**

Fibrini parçalayarak organizmanın yayılmasına yardımcı olur. ‘Fibrinolizin’ olarak da bilinir. Isıya dirençlidir. Plazminojeni plazmine çevirir. Fibrinolitik etki bu madde aracılığıyla oluşur (49, 50).

#### **1.1.1.5.5.5. Deoksiribonükleaz (DNase)**

*Staphylococcus aureus*’ların %90-96’sında bulunan DNaz enzimleri endo ve ekzonükleaz aktivitesine sahip, nükleik asitleri 3’ fosfomononükleotidlere parçalayan ısıya dirençli fosfodiesterazlardır.

#### **1.1.1.5.5.6. Lipaz**

Bu enzim, yağları hidrolize ederek vücudun lipid içeren bölgelerinde bakterilerin yaşamasını sağlar *S.aureus* suşlarının tümü ve KNS’lerin yaklaşık 1/3’ü lipaz enzimi salgırlar. Yüzeysel dokuları invaze ederek fronkül ve karbonkül gibi enfeksiyonlar oluşmasına neden olur (10, 48, 44).

#### **1.1.1.5.5.7. Penisilinaz ( $\beta$ -Laktamaz)**

Penisilin grubu antibiyotiklerdeki  $\beta$ -laktam halkasının hidroksil grubunu parçalayarak etkisiz hale getiren enzimdir. Bunun sonucunda, bakteriler hücre duvarı sentezini inhibe eden  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere karşı dirençli hale gelirler. Klinik kullanıma girdiği dönemlerde hemen hemen tüm stafilokok kökenleri penisiline duyarlı iken, günümüzde özellikle hastane kaynaklı izolatlarda bu oran %5’in altına düşmüştür. Bu enzimin salgılanmasını sağlayan genler, plazmid ve transpozonlarla aktarılır (50, 51).

#### **1.1.1.5.6. Toksinleri**

*Staphylococcus aureus*, konak hücre morfolojisini ve fonksiyonunu etkileyen çok sayıda hücre dışına salınan toksin üretebilir. Bunlardan bir kısmı toksik etkilerini enzimatik aktivite ile gösterirken, diğerleri süperantijen özellikleri nedeniyle sitokin salınımını indükler. Ayrıca, bu toksinler sayesinde stafilokoklar yoğun inflamatuvar yanıt olan bölgelerde bile üremelerini sürdürebilirler. Toksinleri şunlardır: sitolitik toksinler, enterotoksinler, ekfoliyatif toksin, Toksik Şok Sendromu Toksini-1 (TŞST-1), Panton-Valentin Lökosidin (PVL) (30, 40, 52-55).

#### **1.1.1.5.6.1. Sitolitik Toksinler**

Stafilokokların salgıladıkları deney hayvanlarında öldürücü nekrotik etkilere sahip, eritrositler ve çeşitli hücreler üzerinde sitolitik olan ekzotoksinlerdir. İyi antijen yapısındaki bu toksinlere karşı organizmada nötralizan antikolar oluşmaktadır. Bu toksinler dört tiptir:

##### **1.1.1.5.6.1.1. Alfa Toksin**

İlk olarak Kraus ve Clairmont tarafından 1900 yılında tanımlan bu toksin *S.aureus* insan suşlarının ana hemolizindir. Hemolitik, dermonekrotik, lizozom parçalayıcı ve doku kültürlerinde sitolitik etkilere sahiptir. Tavşan eritrositleri için hemolitik aktivitesi en fazladır, insan eritrositlerine fazla bir etkisi bulunmamaktadır. İnsan makrofajları ve trombositleri üzerine litik etkisi bulunur, monositlere karşı ise etkisizdir. Dolaşım, kas ve böbrek korteksi dokularında tahribata yol açarlar (11).

##### **1.1.1.5.6.1.2. Beta Toksin**

Glenny ve Stevens tarafından 1935'te ilk kez tanımlanmıştır. Stafilokok sfingomyelinazı olup En iyi koyun, daha az olarak insan ve tavşan eritrositlerini eritir. Soğukta ve sfingomyelin üzerine etki ederek eritrositleri eritir (11).

##### **1.1.1.5.6.1.3. Gama Toksin**

Smith ve Price tarafından 1938'de tanımlanmış, Möllby Wadström tarafından elde edilmiştir. İnsan, tavşan ve koyun eritrositleri duyarlıdır, at ve kuş eritrositleri dirençlidir. Özellikle stafilokoklara bağlı kemik enfeksiyonlarında kanda bu toksine karşı antikor düzeyinin yüksek bulunması, bu toksinin bu hastalıklarda etkili olduğunu düşündürmektedir (11).

##### **1.1.1.5.6.1.4. Delta Toksin**

1947'de Williams ve Harper tanımlanan bu toksin insan, tavşan, koyun ve maymun eritrositlerini eritir. Biyolojik etkinliği geniş olup, eritrosit, lökosit, makrofaj, lenfosit ve trombositleri hasara uğratan bir proteindir. Bu sitolitik toksinlerden alfa ve delta toksin, insanlarda hastalık oluşturan *S.aureus* suşlarında en çok bulunanlardır. *S.aureus* suşlarının %95'inde bunlardan biri, %82'sinde her ikisi birlikte bulunur (11).

#### **1.1.1.5.6.2. Lökosidin**

Bu toksin polimorf nüveli lökositler ve makrofajlar üzerine litik etkili iken diğer hücreleri etkilemez. Toksin, elektroforetik olarak birbirinden ayrı F (Fast) ve S (Slow) adında iki protein komponentinden meydana gelir. Bu komponentlerden her biri iyi antijen yapısında olup her birinden ayrı toksoid oluştururlar. Hücre zarında potasyum ve diğer katyonlara karşı geçirgenliği artırıcı gözeneklerin açılmasını sağlayarak etkili olurlar (10, 11).

#### **1.1.1.5.6.3. Enterotoksinler**

Isıya dirençli, 100°C'ye 30 dakika dayanabilen, polipeptit yapısında maddelerdir. Özellikle yüksek CO<sub>2</sub>'li atmosfer ortamında karbonhidratlı ve proteinli besiyerlerinde üreyen stafilokoklar tarafından oluşturulurlar. Enterotoksinin A, B, C1, C2, D, E ve F şeklinde yedi immünolojik tipi mevcuttur. *S.aureus* kökenlerinin %35-50'sinin bu toksinleri oluşturabildikleri belirlenmiştir. A ve D besin zehirlenmelerinde, B ise hastane enfeksiyonlarında çok karşılaşılan bir toksindir. Özellikle burun veya nazofarenks portörlerinden oluşan gıda elleyicilerinin kontamine ettiği gıdalar ile besin zehirlenmesi tablolarına yol açarlar. Besin zehirlenmelerinde tablo, stafilokok üremiş ve enterotoksin oluşmuş besinlerin yenmesini izleyen 2-6 saat içerisinde bulantı, kusma ve ishal ile başlar. Semptom ve bulgular genellikle 24 saat içerisinde düzelir. İyileşme tamdır. Enterotoksijenik stafilokok üremesine uygun ortam oluşturan besin maddeleri arasında jambon, patates, dondurulmuş tavuk, süt tozu, yağ, krema ve mayonez sayılabilir. Kusturucu etkileri mide ve barsaklardaki reseptörler vasıtasıyla nervus vagus ve sempatik sinirler yolu ile kusma merkezine iletilen uyarı ile oluşmaktadır. İshal oluşmaları barsak lümeninden su absorpsiyonunun engellenmesi ve mukozadan barsak boşluğuna sıvı boşalımının artması ile olur (10, 12).

#### **1.1.1.5.6.4. Eksfoliyatif Toksin (Eksfoliyatin)**

Stafilokok enfeksiyonlarının veziküler ve eksfoliyatif deri lezyonlarından sorumlu olan bu toksin epidermolitik toksin olarak da bilinir. Antijenik ve biyokimyasal yapıları açısından en az iki farklı eksfoliyatin bulunduğu belirlenmiştir. A tip, kromozomal, B tipi plazmide bağlı genler tarafından oluşturulur (32).

#### **1.1.1.5.6.5. Toksik Şok Sendrom Toksini-1 (TSST-1)**

Toksik şok sendromunda yer alan stafilokokların büyük bir kısmı faj-1 grubundan 29 ve 52 tiplerindedir. Bu özgül toksini sağlayan *S.aureus* suşlarının hastane kaynaklı olabileceği bildirilmektedir (11, 32).

#### **1.1.1.5.7. Patogenez**

Stafilokoklar; daha önceden kolonize olmuş hastalarda enfeksiyon oluşturduğu gibi kolonize sağlık personelinin hastalara teması ile de enfeksiyona neden olabilirler. Bakterinin konağa yapışması (adherans), anatomik bariyerlerden girişi, fagositik hücrelerin inaktivasyonu, konağın hümoral savunmasının baskılanması ve toksinlerin salgılanması enfeksiyon patogenezinde önemli etkenlerdir (56).

İnsanın bağışıklık sisteminin durumu, mikroorganizmanın sayısı ve virülansı, deri ve mukoza bütünlüğünün bozulması, yanık ve travma enfeksiyon oluşumunu hazırlayıcı faktörlerdir. *S.aureus*, enfekte ettiği bölgede hızla kolonize olabilen bir bakteridir. Aynı zamanda deri ve mukozadaki minör çatlaklardan invaze olarak konak savunma mekanizmalarının çoğundan kendini korumasını sağlayan biyokimyasal mekanizmalara da sahiptir. Bu mekanizmalar nedeniyle dolaşım sistemine girdiğinde, bakteriyel endokardit ve yaygın metastatik abselere neden olabilmektedir. Burun stafilokok taşıyıcılığı önemli enfeksiyon kaynağıdır (56). *S.aureus*; yüksek virülansı, çevresel koşullara üstün adaptasyon yeteneği ve antibiyotiklere çok çabuk direnç geliştirebilmesi ile stafilokok türleri arasında özel bir yere sahiptir. Yeni geliştirilen antibiyotiklere bile maalesef oldukça hızlı ve etkin direnç mekanizmaları geliştirerek hastane enfeksiyonlarının başta gelen etkenlerinden olmaktadır (53).

Follikülit ve fronkül gibi basit yüzeysel enfeksiyonlardan, derin yerleşimli, hayatı tehdit eden abseler, pnömoni, osteomyelit, sepsis ve endokardit gibi yaygın ve ciddi seyreden çok çeşitli enfeksiyonlara neden olmakta, ekzotoksinleri sayesinde yerleştiği bölgeden uzak sistemleri de etkileyebilmektedir (40).

*Staphylococcus aureus* insanlardaki stafilokok enfeksiyonlarında öncelikli patojen olarak yer alır. *S.aureus* dışında deri ve mukozaların normal flora bakterileri olarak kabul edilen *S.epidermidis* ve *S.saprophyticus* gibi mikroorganizmalar da enfeksiyon tablosu oluştururlar (57). Bu bakteriler konak organizmanın uygun

koşullarında enfeksiyon oluşturan fırsatçı patojenleridir. Bu grup içinde en sık (%70–80) izole edilen tür olan *S.epidermidis*'in oluşturduğu enfeksiyonlar, genellikle yabancı cisimlerin varlığı ile ilişkilidir. Bu da bakterinin yabancı cisimlerin üzerine yapışma ve bu yüzeyler üzerinde biyofilm oluşturma yeteneği ile açıklanmaktadır (58).

#### 1.1.1.6. Epidemiyoloji

*Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarının doğal seyri özetlenecek olursa; pek çok yenidoğan, çocuk ve yetişkinler *S.aureus* ile kolonize olurlar ve bu mikroorganizmayı tercihen nazofarenkslerinde, bazen cilt ve giysilerinde, daha nadiren vajinalarında ya da istisnai olarak rektum veya perineal bölgelerinde barındırırlar. Bu bölgelerdeki *S.aureus* cilt veya müköz membranlardaki herhangi bir bölgeyi veya kişiden kişiye transfer yoluyla, aerosol yolla veya direk kontakt yoluyla diğer konakları kontamine ederler. Müköz membranlar ve cilt, lokal doku invazyonuna karşı çok etkili bir mekanik bariyer oluştururlar. Bu bariyer travma ya da cerrahi ile bozulursa, *S.aureus* alttaki dokuya girebilir; nekrotik doku, fibrin, çok sayıda canlı ve ölü polimorfo nükleer lökositten oluşan lokal bir abse lezyonuna yol açabilir. Herhangi bir zamanda çoğalan bakteriler lokal fagositik mekanizmaları aşabilir ve lenfatik kanallara, kan dolaşımına girebilirler. Bunu izleyen stafilokokal bakteri yemi, korkutucu bir komplikasyondur, metastatik enfeksiyonlara ve hastanın ölümüne yol açabilir (2).

Doğumdan kısa bir süre sonra çoğu yenidoğan çevredeki yakın insanlar aracılığıyla *S.aureus* ile kolonize olur. Kolonizasyon bölgeleri; umbilikal kordon, perineal alan, cilt ve bazende gastrointestinal sistemdir. *S.aureus* ayrıca giysileri ve çarşafları da kontamine edebilir ve bu yolla atmosferi daha fazla kontamine etmek üzere saçılırlar. Yaşamın daha ileri yıllarında nazal bölgede kolonize olurlar. Çocukların ve yetişkinlerin %25 kadarı taşıyıcı olurlar. Herhangi bir zamanda yetişkinlerdeki nazal taşıyıcılık oranının, mevsimsel ve lokal epidemiyolojik faktörlere bağlı olarak, %20 ile %40 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Yaklaşık olarak nüfusun %20'si sürekli olarak, %60'ı ise gecici olarak *S.aureus* ile kolonize olur, geri kalan %20'si ise hiç kolonize olmaz. Kadın popülasyonda toksik şok sendromu insidansı nedeniyle erişkin premenopozal kadınlarda vajinal taşıyıcılık

oranları araştırılmıştır. Bildirilen değerler menstrual dönemde artış göstermekle beraber %10'a yakındır. Rektal ve perineal taşıyıcılıklar da tanımlanmıştır (59, 33).

Bazı gruplar *S.aureus* ile kolonize olmaya eğilimlidir. Örneğin doktorlar %50, hemşireler%70 ve hastane koğu görevlileri %90 sıklıkla olmak üzere, %33 olan genel popülasyon taşıyıcılık oranlarına göre, daha yüksek nazofarengeal taşıyıcılık oranlarına sahiptirler. İnsülin kullanan diabetik hastalar, kronik hemodiyaliz hastaları, çeşitli dermatolojik bozuklukları olan hastalar, yasa dışı intravenoz ilaç kullanıcıları ve HIV pozitif hastalar genel popülasyona göre daha yüksek taşıyıcılık oranlarına sahiptir. Taşıyıcılar nazal bölgeden organizmayı ciltlerine transfer ederler. Travma organizma için giriş kapısı oluşturur, bunu lokal ve bazen jeneralize enfeksiyon izler. Bu örnekte organizma endojen orijinlidir, başka vakalarda hastane personeli veya bir aile üyesinden geçebilir (10, 33).

### **1.1.2. Enterekoklar**

#### **1.1.2.1. Tarihçe**

Enterekok ismi ilk kez Fransa'da Thiercelin tarafından 1899 yılında yayımlanan bir makalede kullanılmıştır (60, 61). Gram pozitif diplokok olan bu yeni bakterinin menşeinin barsak olduğunu vurgulama amaçlı bu adlandırma yapılmıştır. *Streptococcus faecalis* (*S.faecalis*) 1906 yılında Andrewes ve Horder tarafından, *Streptococcus faecium* (*S.faecium*) ise 1919 yılında Orla-Jensen tarafından tanımlanmıştır (60). 1940 ve 1950 yılları arasındaki çalışmalarda *S.faecium* ile *S.faecalis*'in farklı biyokimyasal özellikler göstermesi nedeniyle Lancefield tarafından yapılan serolojik sınıflandırmada enterekoklar D grubu streptokoklar arasında yer almıştır. Schleifer ve Kilpper-Balz 1984 yılında DNA-DNA ve DNA-rRNA hibridizasyon deneyleriyle *S.faecium* ve *S.faecalis*in streptokoklardan ayrılarak *Enterococcus* cinsine aktarılmasını önermişlerdir (61-63).

#### **1.1.2.2. Genel bilgiler**

Dayanıklı, sert derili hücre duvarı yapısına sahip bakterileri içerisinde barındıran *Firmicutes* şubesinde yer alan enterokoklar genellikle tek tek koklar; diplokoklar ya da kısa zincirlik oklar şeklinde gözlenen Gram pozitif boyanan bakterilerdir. Bu bakteriler sıvı besiyerlerinde üretildiğinde daha uzun zincirler oluşturdukları ve daha oval bir morfolojiye sahip oldukları gözlenir. Bu yapıları ile

streptokoklardan ayırt edilmesi zordur. İnsan barsak ve genito üriner sistem florasında bulunan bu fakültatif anaerob organizmalar insan derisinde kolonize olabilmekte, insan ve habitatlar dışında çok değişik ortamlarda da barınabilmektedir. Böcekler de dâhil diğer hayvanlardan, toprak su ve gıdalardan izole edilmektedirler. Hayatta kalmaları için gerekli olan ısı ve pH dereceleri oldukça farklılıklar gösterebilmektedir. Spor oluşturma yetenekleri yoktur (64).

Tanımlanmasında kullanılan önemli kriterler arasında yer alan en belirgin özellikleri; tuzlu ortamlara toleranslı oluşu, safırlı ortamlarda yaşamlarını sürdürmeleri, eskülini hidrolize etmeleri, çoğunun L-pirolidonil- $\beta$ -naftilamid (PYR) hidrolizinin olumlu oluşu, sitokrom enzimlerinin bulunmayışı ve katalaz olumsuz oluşlarıdır (64). Uzun yıllar fekal streptokoklar olarak tanımlanan enterokoklar sadece klinik mikrobiyolojinin değil, gıda ve su mikrobiyolojisinin de önemli araştırma konularından biri olmuştur. İnsan dışkılarından en sık olarak izole edilen tür *Enterococcus faecalis*'tir. Bu tür özellikle sularda fekal kontaminasyonun bir göstergesi olarak aranan bakteriler arasında yer almaktadırlar (65).

### 1.1.2.3. Sınıflandırılması ve Türler

Mikroorganizmaların sınıflandırılmasındaki en büyük düzenlemeler moleküler mikrobiyolojik yöntemlerin son yıllardaki hızlı gelişimine paralel görülmüştür. Taksonomilerinde büyük değişiklikler yapılan bakteri cinslerinden birisi de *Streptococcus* cinsi olmuştur. Bakterilerin genetik yapılarındaki değişiklikler dikkate alınarak Lancefield D grubu streptokoklar *Enterococcus* cinsi olarak; Lancefield N grubu streptokoklar da *Lactococcus* cinsi olarak farklı cinsler içinde incelenmeye başlanmıştır (66). Günümüzde değişik ortamlardan izole edilen *Enterococcus* cinsine ait türlerin tanımlamasında ve sistematize edilmesinde DNA-DNA reasosiyasyon deneyleri, 16S rRNA genlerinin sekanslaması gibi moleküler yöntemler kullanılmaktadır (68). Bakterilerin yağ asit kompozisyonunun uzun zamandır kullanılan gaz-likit kromatografisi ile belirlenmesinin önemli tanısal değeri vardır (68, 69).

İlk kez bu bakterilere Thiercelin tarafından "enterocoques" ismi verildikten sonra 1970 yılında Kalina bu ismi temel alarak *S.faecalis* ve *S.faecium*'u *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*) ve *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) olarak yeniden adlandırmıştır (70, 71). Ancak Kalina'nın bu adlandırması resmi olmayan

bir adlandırma olarak kalmıştır. *S.faecalis* ve *S.faecium* türlerinin resmi olarak *Enterococcus* genusuna aktarılması 1984 yılında Schleifer ve Kilpper-Baltz tarafından gerçekleştirilmiştir. Williams ve arkadaşları 1991 yılında enterokok cinsinde yer alan türlerin 16S rRNA reverz transkriptaz sekans analizleri sonucu birbirleriyle çok benzer yapılarda olduğunu belirtmiş ve sekans analizlerine göre *E.faecium*, *E.avium*, *E.gallinarum* ve *E.cecorum* türlerini bu genus içerisine dâhil etmişlerdir (70).

Streptokok ve enterokokların sınıflandırılması hakkında Hardie ve Whiley (72) 1997 yılında yayınladıkları makalede enterokok cinsine ait türleri *E.faecalis*, *E.faecium*, *E.avium*, *E.gallinarum* ve *E.cecorum*'a ilave olarak çeşitli türler ve taksonomik durumu değişenler olmak üzere çeşitli gruplara ayırmıştır. Enterokoklar Schleifer ve Kilpper Balz'dan bir yıl sonra 1985 yılında Schleifer ve arkadaşları ve daha sonra 1987 yılında da yine Schleifer ve Kilpper Balz tarafından DNA-DNA ve DNA- rRNA hibridizasyon çalışmaları ile streptokoklardan ayrılmıştır. Bu ayırım Ludwig ve arkadaşları tarafından yapılan 16S rRNA sekans analizleri ile 1985 yılında da doğrulanmıştır. Böylece enterokokların *lactococcus* ve diğer Gram pozitif koklardan farklı olduğu da görülmüştür. Enterokoklar DNA'larındaki düşük G+C içerikleri ile *Firmicutes* filumuna ait organizmalar içerisinde sınıflandırılmışlardır. *Enterococcaceae* ailesinde yer alan enterokokların filogenetik olarak en yakın akrabaları *Vagococcus* cinsine ait bakterilerdir. Fenotipik olarak benzedikleri streptokoklar ve laktokoklara kıyasla *Corynebacterium*, *Tetragenococcus*, *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Dolosigranulum*, *Facklamia*, *Globi catella* ve *Abiotrophia* cinsleri ile daha yakın ilişkisinin olduğu bildirilmektedir (73).

Biyomedikal kaynakların sistematik bir şekilde ve güncel olarak verildiği "U.S. National Library of Medicine National Institutes of Health"ın web sayfalarında yer alan "Taxonomy Browser"da *Enterococcus* cinsi içerisinde 2010 yılı Ağustos ayı itibarıyla tanımlanmış 43 türe yer verilmiştir. *Enterococcus* cinsinin bakteriler içindeki yeri ve içerdiği türler aşağıda görülmektedir:

## **FIRMICUTES** (şube)

### **BACILLI** (sınıf)

#### **LACTOBACILLALES** (takım)

#### **ENTEROCOCCACEAE** (aile)

#### **ENTEROCOCCUS** (cins)

<i>E.aquimarinus</i>	<i>E.gallinarum</i>	<i>E.pseudoavium</i>
<i>E.asini</i>	<i>E.gilvus</i>	<i>E.raffinusus</i>
<i>E.avium</i>	<i>E.haemoperoxidus</i>	<i>E.ratti</i>
<i>E.azikeevi</i>	<i>E.hawaiiensis</i>	<i>E.rattus</i> (kesinleşmemiş isim)
<i>E.caccae</i>	<i>E.hermannensis</i>	<i>E.rottai</i> (kesinleşmemiş isim)
<i>E.camelliae</i>	<i>E.hirae</i>	<i>E.saccharolyticus</i>
<i>E.canintestini</i>	<i>E.inustiatius</i>	<i>E.sanguinicola</i>
<i>E.canis</i>	<i>E.italicus</i>	<i>E.silesiacus</i>
<i>E.casseliflavus</i>	<i>E.lactis</i>	<i>E.sulfureus</i>
<i>E.cecorum</i>	<i>E.malodoratus</i>	<i>E.termitis</i>
<i>E.columbae</i>	<i>E.moraviensis</i>	<i>E.thailandicus</i>
<i>E.devriesei</i>	<i>E.mundtii</i>	<i>E.villorum</i>
<i>E.dispar</i>	<i>E.pallens</i>	<i>E.faecalis</i>
<i>E.durans</i>	<i>E.pernyi</i>	
<i>E.faecium</i>	<i>E.phoeniculicola</i>	

*Enterococcus lactis* türü Rusya'nın Stavropol bölgesinde 2006 yılında Botina ve Sukhododolets tarafından peynirden izole edilmişlerdir (74). 2008 yılında Tayland'da Tanasupawat ve iki arkadaşı fermente sucuklardan izole ettikleri yeni suşa *Enterococcus thailandicus sp. nov.* isminin verilmesini önermişlerdir (75). Çin meşe ipek böceklerinde sıklıkla enfeksiyon yapan *Antheraea pernyi* daha sonra *Streptococcus* genusuna aktarılmıştır. Wang LL ve ark 2010 yılında yaptıkları sistematik çalışmada bu bakterinin 16S rRNA sekanslama tekniği ile *Enterococcus* genusuna ait olduğunu bu nedenle bakterinin isminin *E.pernyi* olarak değiştirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (76).

#### **1.1.2.4. Genel Özellikleri**

Enterokoklar kanlı agarda 35-37°C'de 24 saatlik inkübasyon sonrası kolonileri genelde 1-2 mm büyüklüğünde küçük, gri renkte parlak görülür, bazı suşların kolonisi daha da küçük olabilmektedir. Anaerobik koşullarda kolonileri aerob koşullarda üretilenlere göre daha büyüktür. Özellikle tavşan, at veya insan kanı

ile zenginleştirilmiş agarlardaki kültürlerinde *E.faecalis* türlerinin yaklaşık 1/3'ü beta-hemolitik koloniler oluştururken koyun kanlı agarda hemoliz oluşturmazlar. *E.faecium* dâhil diğer türlerin klinik izolatları genellikle alfa ya da non-hemolitik koloniler oluşturmaktadırlar. Karbonhidrat fermentasyonunun sonucu olarak laktik asit üretmeleri nedeniyle laktik asit bakterileri olarak değerlendirilirler. Karbonhidratlardan gaz oluşturmazlar. Optimum üreme için gerekli olan ısı 35°C olmakla birlikte suşlarının büyük bir kısmı 10-45°C'de üreyebilmektedir. Enterokokların 60°C'lik sıcaklıkta yarım saat canlılığını koruduğu bilinmektedir. Ancak 5-65°C arasında üreyebilen suşların da olduğu bildirilmektedir (77). Türlerin büyük kısmı %6, 5 NaCl içeren sıvı ortamlarda üreyebilir ve safra tuzları varlığında eskulini hidrolize ederler. Lösin aminopeptidaz (LAPaz) oluştururlar ve lösin- $\alpha$ -naftilamid'i (LAP) hidrolize ederler. *E.cecorum*, *E.columbae*, *E.pallens*, *E.saccharolyticus* ve yeni tanımlanan türlerden *E.canintestini*, *E.devrieseni* ve *E.moraviensis* dışındaki enterokokların çoğu PYR'i hidrolize eder. *E.casseliflavus* ve *E.gallarum* türleri hareketlidir. Hareket testi sonuçları besiyeri içeriği ile ilgili olarak değişebilmektedir. *E.casseliflavus*, *E.gilvus*, *E.mundtii*, *E.pallens* ve *E.sulfureus* türleri pigment yapabilmektedir.

Sitokrom enzimlerine sahip olmayan enterokoklar porfirinleri sentez edemezler. Sitokrom aktivitesi kanlı besiyerinde üreyen bazı *E.faecalis* suşlarında görülebilir, ayrıca katalaz testinde zayıf bir köpürme izlenebilir. Kanlı agar plağında üreyen *E.haemoperoxidus* suşlarında pozitif katalaz testi bildirilmiştir (78). Çoğu enterokok suşu Lancefield'in 1938 yılında yaptığı sınıflandırmada grup D antijeni olarak tanımlanan hücre duvarına bağlı gliserol teikoik asit içerir. DNA'sının G+C içeriği türler arasında %41-44 arasında değişmektedir (79). Genom büyüklüğü yaklaşık 2000-3500 kb arasında olan enterokok türlerinin genomik çeşitliliğini araştıran bir çalışmada Oana ve ark. (80) *E.faecium* ATCC19434 kromozomal DNA'sının 2600 kb olduğunu, diğer *E.faecium* suşlarında ise 2550-2995 kb, *E.faecalis* suşlarında 3000-3250 kb arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Yine bu çalışmada kromozomal DNA'nın bir *E.avium* suşunda 3445 kb ve bir *E.durans* suşunda 3070 kb olduğu da rapor edilmiştir. Tüm enterokok türleri için özgün olmayan Grup D antijeni *S.bovis*, *S.equinis* gibi streptokok türlerinin yanı sıra insan patojeni olarak değerlendirilmeyen *Pediococcus* türlerinde de bulunmaktadır. D grup

antijeni olmayan *Lactococcus* ve *Aerococcus* türlerinde PYR olumlu; D grup antijeni bulunan *Pediococcus* türlerinde ise PYR olumsuz olup vankomisine dirençlidirler (81). *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Aerococcus* cinsinde yer alan bakteriler safralı eskülinli besiyerlerinde ve %6.5'lük NaCl içeren besiyerlerinde üreyebilir, eskülini hidrolize ederler (81, 82). *Enterococcaceae* familyasında yer alan Gram pozitif, katalaz negatif diğer cinslerden *Leuconostoc* cinsi karbonhidratları gaz oluşturarak fermente eder. Bu bakteriler içerisinde kok ya da kokobasil morfolojisini göstermeyen tek cins *Lactobacillus* olup bu bakterilerin isimlerinden de anlaşılacağı gibi çomak morfolojisine sahiptirler (82-83).

Enterokoklar mannitol, sorboz, sorbitol arabinoz ve rafinoz içeren buyyonlarda asit oluşturmalarına, arginini hidrolize etme, %0.04 tellüriti indirgeme, sükröz ve piruvatı kullanma, hareket, pigment özellikleri ve metil- $\alpha$ -D-glikopiranosid'ten asit oluşturma gibi fenotipik özelliklerine göre beş gruba ayrılmaktadır. Grup IV içerisindeki türlerinin ayırımında ise litmus milk besiyerinde asit ve pıhtı; hippurat ve glikozdan asit oluşturup oluşturmadıklarını da araştırmak gerekmektedir (84, 85).

**Grup 1:** *E.avium*, *E.malodoratus*, *E.raffinosis*, *E.pseudoavium*, *E.saccharolyticus*, *E.pallens*, *E.gilvus*'dan oluşur. Bu türler mannitol, sorbitol ve sorboz sıvı besiyerinde asit oluştururlar, ancak arginini hidrolize edemezler (84, 85).

**Grup 2:** *E.faecalis*, *E.faecium*, *E.casseliflavus*, *E.haemoperoxidus*, *E.mundtii* ve *E.gallinarum*'dan oluşur. Bu türler arginini hidrolize ederler, mannitollü sıvı besi yerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler (84, 85).

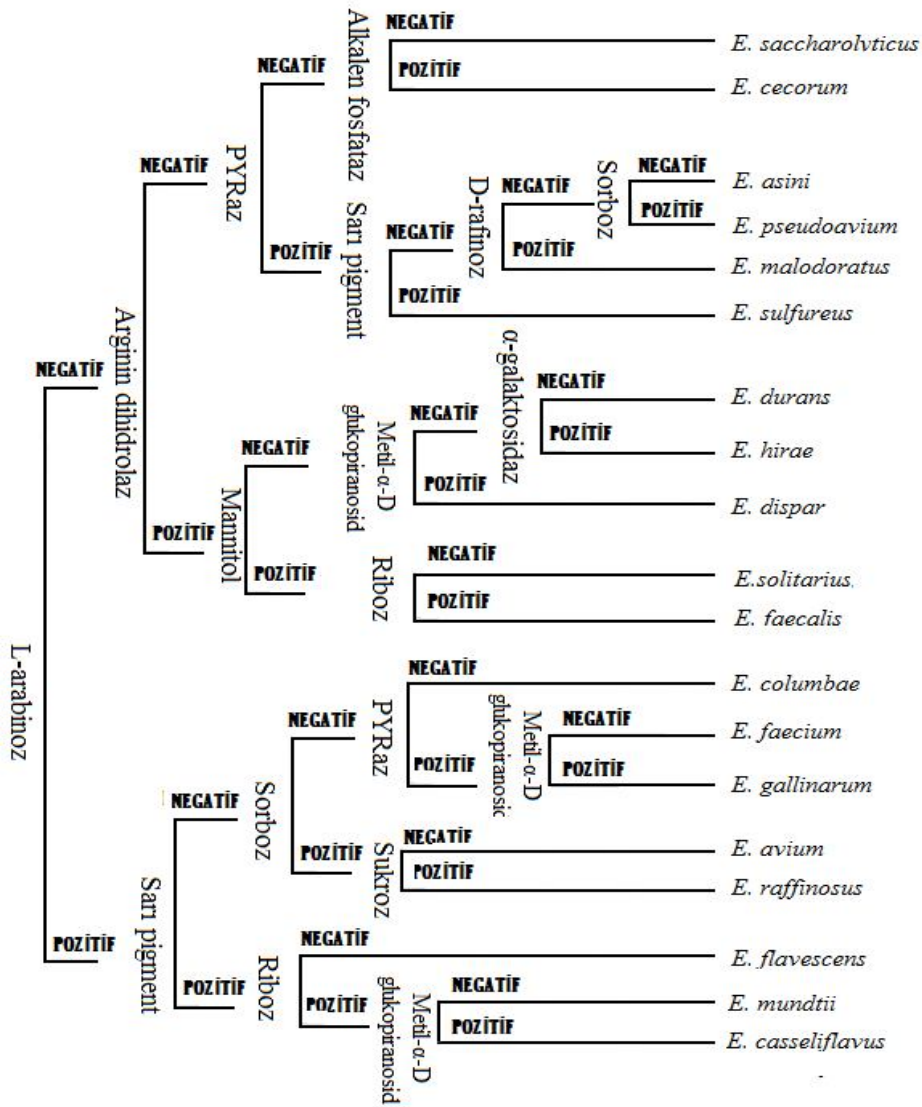
**Grup 3:** Bu grubu *E.villorum*, *E.dispar*, *E.durans*, *E.hirae*, *E.ratti* ve *E.faecalis* ile *E.faecium*'un mannitol negatif varyantları oluşturur. Bu gruptaki türler D antijeni içermez, arginini hidrolize ederler fakat mannitol, sorboz ve sorbitol içeren sıvı besi yerlerinde asit oluşturmazlar (84, 85).

**Grup 4:** *E.sulfurens*, *E.asini*, *E.phoeniculicola* ve *E.cecorum* bu grupta bulunmaktadır. Bu gruptaki türler mannitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arginini hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E.cecorum* asit oluştururken, *E.sulfureus* asit oluşturmaz (84, 85).

**Grup 5:** Bu grupta *E.columbae*, *E.canis* ve *E.moraviensis* yer alır. Bu türler arginini hidrolize etmezler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler (84, 85).

İnsan enfeksiyonlarından yüksek oranda izole edilen *E.faecalis* ve *E.faecium* türleri grup 2 içinde yer almaktadır. Bu grupların belirlenmesi araştırılan özgün bakteriye yönelme süresini kısaltacağından pratik değer taşımaktadır.

Şekil 3’de Sıklıkla izole edilen enterokok türlerinin tanısında Manero A Blanch (86) kullanılan biyokimyasal testler ve sonuçlarının bir anahtarı verilmiştir.



Şekil 3. Enterococcus türleri için tanı rehberi.

### 1.1.2.5. Virülans Faktörleri

Enterokoklar düşük virülans özelliklerine sahiptir. Fakat süper enfeksiyonlara neden olmaları ve özellikle çoklu antibiyotik direnci göstermeleri nedeni ile önemi artmaktadır. Bir organizmanın virülansının o organizmanın genomu üzerinde patojenite adaları adı verilen özel bölgelerde bulunan virülans kodlayan genleri ile düzenlendiği bilinmektedir. Enterokokların patojenite adaları, ilk olarak 1980’li yıllarda hastane enfeksiyonu yapan çoklu ilaç direnci gösteren bir *E.faecalis* suşunun genomunda (MMH594) Giridhara ve ark. (87) tarafından tanımlanmıştır (85). Bu genin boyutu 150 kb civarında ve 129 “open reading frames” (ORF)’i kodladığı ve kromozomdaki G+C içeriğinin %32.2 olduğu bildirilmiştir. Virülans potansiyel rol oynadığı bilinen transpozanları, transkripsiyonal regülâtörleri kodlayan genler vardır. Virülans özellikleri *E.faecalis* patojenite adaları içinde toksin sitolizin ve kümeleşme maddesi (aggregation substance) salgılayan enterokok yüzey protein (ESP) olarak adlandırılan hücre yüzeyi ile ilişkili protein kodlanmaktadır. VRE, V583 ve V586 izolatları ile MMH594 suşlarındaki patojenite adalarını oluşturan sekansların karşılaştırılması sonucu özgün bölgelerin yüksek sıklıkta seçici olarak silinmesi sonucu organizmanın virülansında zayıflama olduğu görülmüştür. Patojenite adaları ayrıca herhangi bir işlevleri olmaksızın 18 ORF’yi de kodlar. Kommensal kaynaklı enterokoklar bu ORF’leri içermezler. *Enterococcus* türlerinin gastrointestinal bölgelerde kommensal olarak bulunmasına rağmen, bazı predispozan koşullar bu organizmaların intestinal bölgelerin dışındaki vücut bölgelerine geçmesine yol açabilir ve enfeksiyonlara neden olabilir (85).

Konakta organizmanın değişik bölgelerde de kolonize olmasını sağlayan yeni özellikler elde etmesi ile bakteri daha virulan hale gelebilir. Organizmanın virülansından sorumlu pek çok faktör ve temel özellikleri aşağıda verilmiştir.

#### 1.1.2.5.1. Hemolizin (sitolizin)

İnsan, at ve tavşan eritrositlerini parçalama kapasitesine sahip bir sitolitik protein olup plazmid üzerinde ya da bakteri kromozomuna entegre olarak bulunan *cylA* geni tarafından kodlanmaktadır (88). Hayvan modellerinde ve insan enfeksiyonlarında, enfeksiyonun artan şiddetinin hemolizin üreten enterokok suşlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak hemolizin üretimi enterokokların virülansı için bir ön koşul olmayıp hemolitik olmayan suşların da enfeksiyonlara

neden olduğu bilinen bir durumdur. Hemolizin üretimi %5 at kanı ilave edilmiş taze hazırlanmış sığır kalp infüzyon agarda, 37°C'de karbondioksitli ortamda bir gece inkübe edilip 24 ve 48 saat sonra koloni etrafında açık bir bölge  $\alpha$ -hemoliz pozitif olarak değerlendirilir (87).

#### **1.1.2.5.2. Jelâtinaz**

Jelâtinaz, kollajen, kazein, hemoglobin ve diğer peptidleri hidrolize etme yeteneğine sahip bir proteazdır. Enterokoklar tarafından üretilir, *gelE* geni tarafından kodlanır. Hayvan modellerinde *E.faecalis*'in jelatinaz üreten suşlarının endokardit için daha virülan olduğu gösterilmiştir (88). Yapılan farklı çalışmalarda kandan izole edilen *E.faecalis* suşlarının %64'ünün, hatta endokardit olgularından izole edilen suşların tamamının jelatinaz ürettiği bildirilmiştir (87). Jelâtinaz üreten suşları belirlemek için taze hazırlanmış ve jelâtin içeren pepton-maya özütü agara bakteri ekilir, 37°C'de bir gecelik inkübasyondan sonra plaklar soğuk ortamda tutularak kolonilerin etrafında bulanık bir hale ya da zon araştırılır.

#### **1.1.2.5.3. Yüzey Adezyonları (Enterococcal Surface Protein = ESP)**

Hücre duvarı ile ilişkili bir proteindir. Hem *E.faecalis* hem de *E.faecium*'da bir patojenite adası üzerinde bulunan *esp* geni tarafından kromozomal olarak kodlanır (86, 87). Bazı çalışmalarda, klinik izolatlardaki *esp* geninin varlığı ya da yokluğu ile biyofilm oluşumu arasında herhangi bir ilişki saptanmazken, bazılarında da ESP aracılı biyofilm oluşumu gösterilmiştir. Biyofilm oluşumundan, *esp*'nin yanı sıra, enterokoklardaki başka gen bölgeleri de sorumlu tutulmuştur. *ESP* gen bölgesi tarafından kodlanan pleomorfik yüzey pilusları insanlarda endokardit sırasında antijenik özellik göstermekte ve *E.faecalis*'in biyofilm oluşturmasında rol oynamaktadır (89). Deneysel idrar yolu enfeksiyonlarında ESP'nin *E.faecalis* suşlarının idrar yollarında kalıcılığını arttırdığı gösterilmiştir. ESP kodlayan genler klinik izolatlarda kommensal izolatlarla oranla daha yüksek oranda bulunmaktadır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Pollymerase Change Reaction=PCR) testinde de ESP11 ve ESP12 primerleri kullanılarak bu genler tespit edilir (87).

#### **1.1.2.5.4. Kümeleşme Maddesi (Agregasyon Faktörü)**

*Enterococcus faecalis*'in bakteriyel konjugasyon sırasında kümeleşmesini indükleyen yüzey proteini olup bir çeşit çiftleşme feromonudur ve plazmidler

tarafından kodlanır. Kümeleşme maddesi plazmid aktarımını kolaylaştırmak için etkili enterokokkal verici-alıcı temasına aracılık eder. Kümeleşme maddesinin; *In vivo* olarak, enterokok enfeksiyonunun patogenezinde katkıda bulunan mekanizmalardan biri olduğu gösterilmiştir. Hücre-hücre temasına yardım etmesine ek olarak ekstraselüler matriks proteinleri ve artmış hücre yüzey hidrofobisi dahil konak hücrelere tutunmada da işlev görürler. Kümeleşme maddesi salgılayan enterokokların bu maddeyi salgılamayanlara oranla fagositoza önemli ölçüde daha dirençli oldukları görülmüştür (87). Kateter enfeksiyonlarında, *E.faecalis* izolasyonunun *E.faecium*'a oranla daha fazla olmasının nedeni, *E.faecalis* suşlarının taşıdığı kümeleşme faktörü sayesinde katetere tutunma özelliği göstermesidir (90, 91, 92). Hastane kaynaklı enterokok bakteremileri için sentral venöz kateterler; ürogenital enfeksiyonlar için idrar yollarına uygulanan kateterler önemli risk faktörlerindedir.

#### **1.1.2.5.5. Kollagen Adezini (MSCRAMM Ace)**

“Microbial surface component recognizing adhesive matrix molecule adhesin of collagen from Enterococci” ifadesinin kısaltması MSCRAMM Ace'dir. Enterokoklardaki yüzey bileşeni olup yapışkan kollagen matriks molekülüdür (87).

Birçok enfeksiyonun patogenezinde konak hücre ile bakterinin mukozal yüzeylere kolonizasyonu arasındaki etkileşim enfeksiyonun başlamasında birincil koşul olarak kabul edilmektedir. Bakteriyel endokardit patogenezinin, bakterinin ekstraselüler matriksinin hasarlı kalp dokusuna yapışması ile başladığına inanılmaktadır. Bakteriyel yüzey adezinlerin yapışma ve kolonizasyonda önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür. Ace, enterokokların hücre duvarında bulunan; stafilokokkal *Cna* adezyonu ile yapısal ve işlevsel ilişkisi olan bir kollajen bağlayan MSCRAMM'dir. Kollajen bağlayan protein (*Cna*), fibronektin bağlayan proteinler ve fibrinojen bağlayan proteinler gibi ekstraselüler matriks proteinlerine bağlanmada aracılık yapan yapışkan matriks molekülleri tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenlerinin tümünü ifade eden MSCRAMM'ların moleküler ve işlevsel fonksiyonları tanımlanmıştır. MSCRAMM'ların tipik olarak bazı ortak yapısal özellikleri vardır. Bu moleküllerde çoğu durumda ekstraselüler matriks proteinlerine bağlanmadan sorumlu olmayan tekrarlanmayan bir bölgeyi takip eden kısa bir sinyal dizisi; suşlar arasında değişkenlik gösteren tekrarlayan bir bölge ve bir C-terminal bölgesi ile

aminoasitlerce zengin, hidrofobik özellik gösteren kısa bir membran bölgesi yer almaktadır (93). Bu madde *E.faecalis*'in hem kommensal hem de patojen izolatlarında bulunur; insanlardaki enfeksiyonları sırasında salgılanır. Ace'ye karşı oluşan antikolar, Ace'nin ekstrasellüler matriks proteinlerine in vitro yapışmasını engeller. Anti-Ace antikoları enterokokkal endokarditli hastaların serumunda %90 oranında tespit edilmiştir. *E.faecium*'da tanımlanan ve *Acm* olarak ifade edilen adezin, Ace ile benzer yapıya sahiptir (87).

#### **1.1.2.5.6. Kapsüler Polisakkarit ve Hücre Duvarı Karbonhidratı**

Hem *E.faecalis* hem de *E.faecium*'un yüzeyinde kimyasal olarak saflaştırılmış ikinci bir polisakkarit kapsül bulunmaktadır. *E.faecalis*'e ait klinik izolatlarından sıklıkla salgılanan maddedir. Bu saflaştırılmış hücre duvarı bileşeninin gliserol fosfat, glikoz ve galaktoz kalıntılarından oluştuğu ifade edilmektedir (87). *E.faecalis*: A, B, C ya da D polisakkaritlerinden birini üretmektedir. Saflaştırılmış kapsüler karbonhidrat bileşenlerine karşı oluşan antikoların sistemik enterokokkal enfeksiyonlara karşı koruyucu rolü olduğu bildirilmektedir (94).

#### **1.1.2.5.7. Ekstra-Sellüler Süperoksit**

Bir serbest anyonik radikal olup moleküler oksijenin kimyasal bağ yapabilme özelliğini azaltarak oksidasyona neden olur. Süperoksit, oksidaz gibi enzimlerin etkisiyle bu etkiyi oluşturur. Negatif yüklü olması nedeniyle hücre membranına zayıf diffüze olur, intra ve ekstra yerleşimi kısıtlanır. Özelleşmiş ökaryotik hücreler oksijen duyarlılığında, inflamatuvar işlemlerde ve hücrelerin uyarımın da önemli rol oynayan multi-moleküler NADH oksidaz kompleksi salgırlar. Buna karşın aerotoleran ökaryot ve prokaryot hücrelerde her zaman görülen intrasellüler süperoksit üretiminin genellikle zararlı olduğu kabule dilmektedir (95). Diğer serbest radikaller gibi süperoksidin de nötralize edilmemesi durumunda bu metabolit; hücre zarını parçalayarak hücre ölümüne; hücre lipit ve proteinlerinin yıkımı ile zarın sertleşip hücre işlevlerinin bozulmasına; DNA'da kırılmalara, hücrede mutasyon oluşmasının kolaylaşmasına ve bağışıklıkta rol oynayan fagositer hücrelerin parçalanmasına yol açabilmektedir. Süperoksidin hücre içi konsantrasyonları genellikle düşüktür. *E.faecalis* prokaryotik organizmalar arasında en fazla ekstrasellüler süperoksit üretme yeteneği olan bakterilerden olup; kandan izole edilen suşlarında ekstra-sellüler süperoksit üretiminin arttığı ifade edilmektedir (95, 96).

### **1.1.2.6. Epidemiyoloji**

Doğumdan hemen sonra yeni doğanda kolonize olan enterokoklar insanlarda gastrointestinal florada bulunması nedeni ile hastane ve hastane dışı ortamlarda endojen kaynaklı enfeksiyonlara yol açabilmektedirler. Hastadan hastaya ve hatta hastaneler arası yayılabilmesinde bu bakterilerin normal bağırsak florasında bulunması temel risk faktörüdür. *E.faecalis* diğer enterokok türlerine göre dışkıda daha yüksek oranda bulunmakta ve enterokokkal enfeksiyonlarda en sık izole edilen tür olup tüm enterokokkal enfeksiyonların yaklaşık %80-90'ından sorumlu olduğu bildirilmektedir (97, 98). Bu bakterilerin stetoskop, elektronik termometre, kapı kolları, yatak, mobilyalar dâhil hastane ortamındaki pek çok yerde bulunabileceği ve dirençli suşların hastanede yayılabileceği ifade edilmektedir (98-100). Toprak, su, bitkiler, kuşlar, böcekler, memeliler gibi canlı ve cansız geniş habitatlarda bulunabilen bu bakterilerin hastalara taşınmasında sağlık personelinin de önemli bir rolü vardır (101). Enterokok türleri idrar yolları enfeksiyonlarından, endokardit, cerrahi yara enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonu ve neonatal sepsise kadar değişen hastane enfeksiyonlarının sık rastlanan etkenleri olup nozokomiyal idrar yolu enfeksiyonlarının ikinci ve baktereminin üçüncü sırada en yaygın etkenleri olarak bulunmuştur (102). Enterokokkal enfeksiyonların en önemli etkilerini hematoloji onkoloji üniteleri ve yeni doğan, çocuk yoğun bakım ünitelerinde gösterdiği ifade edilmektedir (98). *Enterococcus* genusunda çok sayıda tür olmasına rağmen insanlardaki enterokokkal enfeksiyonlardan birinci sırada yer alan *E.faecalis*'den sonra ikinci sırada sorumlu tutulan enterokok türünün *E.faecium* olduğu bildirilmektedir (90, 97).

### **1.1.3. Antibiyotik Direnci**

#### **1.1.3.1. *Staphylococcus aureus*'ta Antibiyotik Direnci**

*Staphylococcus aureus*'larda ilk antibiyotik direnci 1930'lu yıllarda klinik kullanıma giren sülfonamid grubu antibiyotiklerle başlayıp günümüzde linezolid, daptomisin gibi yeni antibiyotiklere kadar uzanmaktadır. 1941 yılında kullanılmaya başlayan penisilin G ile *S.aureus* enfeksiyonlarında oldukça dramatik bir azalma görülmesiyle birlikte bu yüz güldürücü durum uzun sürmemiş ve çok kısa bir süre sonra penisilinaz ( $\beta$ -laktamaz) enzimi sentezleyen izolatların ortaya çıkması sonucunda penisilin direnci görülmeye başlanmıştır. 1950'li yıllarda, günümüzde

ST30-CA-MRSA-IV olarak adlandırılan penisiline dirençli faj tip 80-81 *S.aureus* klonu, tüm dünyada gerek hastane kaynaklı gerekse toplum kaynaklı enfeksiyonlara yol açmıştır. 2000'li yıllara gelindiğinde ise penisilinaz enzimi pozitifliği %90-95'lere ulaştığı saptanmıştır (103, 104)

Direnç sorunu, 1959 yılında  $\beta$ -laktamaz enzimine dayanıklı semisentetik bir penisilin olan metisilin ile çözülmüş olmasına rağmen bu çözüm de uzun sürmemiş ve 1961 yılında İngiltere'de COL izolatu olarak adlandırılan ilk MRSA izolatu tanımlanmıştır. Önceleri "Archaic" klonları olarak adlandırılan ve COL izolatından köken alan MRSA klonları CC8 olarak bilinen genetik soyda yer alır. Archaic klonu 1970 ve 1980'li yıllarda İngiltere ve Avrupa'da önemli salgınlara yol açmıştır. Daha sonraki yıllarda yeni stafilokokal kaset kromozomu (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*; SCCmec) klonlarının kazanılmasıyla ortaya çıkan ve çoklu ilaç direnci gösteren değişik MRSA klonları hem hastane kaynaklı hem de toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olmuştur (104).

Son yıllarda MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan ilaçlar vankomisin ve teikoplanin olmak üzere glikopeptid grubu antibiyotiklerdir. Bunların yanı sıra linezolid, daptomisin ve tigesiklin gibi yeni antibiyotikler de kullanılmaktadır. Ancak ne yazık ki, stafilokoklarda antibiyotiklere karşı görülen hızlı direnç gelişimi hem glikopeptid grubu ilaçlara hem de yeni geliştirilen ilaçlara karşı da ortaya çıkmıştır. Vankomisine orta düzeyde duyarlı *S.aureus* (Vancomycin-intermediate *S.aureus*=VISA) izolatları 1997 yılında ve vankomisine dirençli *S.aureus* (Vancomycin-resistant *S.aureus*=VRSA) izolatları da 2002 yılında görülmeye başlanmıştır. Yeni antibiyotiklerden linezolid ilk kez 2000 yılında klinik kullanıma girmiş ve bundan bir yıl gibi çok kısa bir süre sonra ilk linezolide dirençli MRSA izolatu tanımlanmıştır (105). Aynı şekilde daptomisin ilk kez 2003 yılında klinik kullanıma girmiş ve bundan iki yıl sonra bu ilaca karşı da direnç ortaya çıkmıştır (106).

#### **1.1.3.1.1. Stafilokoklarda Glikopeptid Dışı Antibiyotiklere Karşı Direnç**

Stafilokoklarda bugüne kadar bilinen antibiyotik dirençleri şunlardır:

#### 1.1.3.1.1.1. $\beta$ -Laktamlara Direnç

Bakteriler tarafından üretilen  $\beta$ -laktamaz enzimine bağılı olarak gelişen bir direnç olup ilk kez Kirby ve arkadaşları tarafından bulunmuştur. 1944 yılında *S.aureus*'ta  $\beta$ -laktamaz olan penisilinaz enzimi yapımına bağılı penisilin direnci bildirilmiştir. Günümüzde penisilinaz üreten *S.aureus* suşları %80-90 düzeyindedir.  $\beta$ -laktamaz geni büyük bir plasmid içinde bulunan aktarılabilen elementin bir parçasıdır. Bu elementin içinde başka antimikrobiyal direnç genleri mesela; gentamisin ve eritromisin direnç genleri de taşınabilir (107, 108).

PBP, penisilin gibi  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin hedefidir.  $\beta$ -laktam molekülü, yapısal analogu olduğu D-alanil-D-alanin bağlanma bölgelerinden stafilkokların PBP'lerine kovalent olarak bağlanır. Bu da PBP'yi inaktive ederek peptidoglikan ağdan hücre rüptürüne sebep olup peptidoglikan sentezinin karşılıklı köprüler oluşturma aşamasını inhibe eder. Ancak, stafilkoklardan  $\beta$ -laktam grubuna direnç geliştirmiş bakteriler olan MRSA ve metisiline dirençli koagülaz negatif stafilkok (MRKNS); normal stafilkok suşlarında bulunan PBP-1, PBP-2 ve PBP-3'ten farklı olarak  $\beta$ -laktamlara bağlanma afinitesi çok düşük olan penisilin bağlayan protein 2a (PBP2a) sentezlemeleri nedeniyle  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklere direnç meydana gelir (109, 110). Sonuç olarak PBP2a,  $\beta$ -laktamların varlığında da peptidoglikan sentezini devam ettirebilir. Geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz dirençli parenteral bir sefalosporin olan seftabiprol, penisilin bağlayıcı proteinler PBP2a ve PBP2x'e karşı yüksek affinite göstermektedir. Stafilkok ve pnömokoklardaki direktten sorumlu bu proteinlere bağlanması direnç açısından bu ajanı önemli hale getirmektedir. Gram pozitif ve negatif pek çok mikroorganizmaya karşı etkili olan seftabiprol, hayvan modellerindeki etkinliğiyle klinik enfeksiyonlarda da umut verici bir tablo çizmektedir (111, 112). Bu tek PBP2a geni, lateral gen transferi yoluyla şu anda bilinmeyen bir bakteriden *S.aureus*'un aldığı, mobil bir genetik eleman tarafından taşınan ve mecA olarak adlandırılan eksojen bir SCC mec geni tarafından kodlanır (113).

#### 1.1.3.1.1.2. Aminoglikozidlere Karşı Direnç

Aminoglikozidler, *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi toprak bakterilerinden elde edilen antibiyotiklerdir. Gentamisin, netilmisin ve tobramisin stafilkoklara karşı en aktif aminoglikozidlerdir. Gram pozitif koklara bağılı gelişen

enfeksiyonların tedavisinde  $\beta$ -laktam antibiyotikler ve vankomisin gibi diğer bazı antibiyotiklerle sinerjik etkilerinden yararlanmak amacıyla kombine tedavide kullanılırlar. Kombinasyon tedavisinde in vitro olarak sinerjistik etkileşim görülmesine rağmen in vivo olarak bu etki bilinmemektedir (114).

Aminoglikozidlere direnç, ilaç molekülündeki amino grubunu asetilleyen asetiltransferazlar, hidroksil grubunu fosforile eden fosfotransferazlar veya hidroksil grubunu adenile eden nükleotidiltransferazlar aracılığıyla meydana gelmektedir. (115). En yaygın direnç geni, *aac* (6')-*aph* (2'') genidir.

#### **1.1.3.1.1.3. Kloramfenikol Direnci**

Stafilokoklar, kloramfenikol asetiltransferaz enzimini plazmid veya kromozom kontrolünde sentezleyerek ilacı asetile edip ribozomların 50S alt birimine bağlanmasına engel olur (116).

#### **1.1.3.1.1.4. Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin B (MLSB) Direnci**

*Erm* geni tarafından kodlanan metilaz enzimleriyle 23S RNA'nın değişikliğe uğratılarak MLSB grubu ilaçların ribozomlara bağlanmasının engellenmesi en önemli mekanizmadır (116). Ayrıca bu ilaçların enzimatik olarak değiştirilmesi ve pompa mekanizması (*mcrA*, *mefA* pompa sistemleri) ile bunlara geçirgenliğin azalması şeklinde direnç de tanımlanmıştır. MLSB direnci yapısal veya indüklenebilir tipte olabilir. Yapısal dirençli suşlar tüm MLSB antibiyotiklere dirençlidir ve standart duyarlılık testleri ile saptanabilir. İndüklenebilir MLSB direnci olan suşlar ise in vitro testlerde 14 ve 15 üyeli makrolidlere (eritromisin gibi) dirençli, 16 üyeli makrolidlere, linkozamidlere ve tip B streptograminlere duyarlı görünmektedir. Bu suşlar klindamisine in vitro duyarlı görünse de klindamisin ile tedavi esnasında yeterli yanıt alınmayabilir. Bu nedenle uluslararası kılavuzlarda eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı görünen stafilokoklarda indüklenebilir MLSB direnci olup olmadığının çift disk testi ile rutin olarak test edilmesi önerilmektedir (117, 118).

#### **1.1.3.1.1.5. Tetrasiklin Direnci**

Tetrasiklinler, ribozomun 30S subunitine bağlanıp aminoaçıl-tRNA'yı bloke ederek protein sentezini inhibe ederler. Stafilokoklar için bakteriyostatik ilaçlardır. Stafilokoklarda tet (K), tet (L), tet (M) olmak üzere üç direnç geni bulunmaktadır. tet

(M) geni minosiklin ve doksisisikline kromozomal direnci kodladığı için klinik açıdan önemlidir. En önemli direnç mekanizması, ilacın dışarı pompalanmasıdır. Bu olay da plazmid, kromozom veya sıklıkla transpozonlarda bulunan tetrasiklin direnç geni (tet A-G, tet K, L) tarafından üretilen özgül bir membran proteinine bağlıdır. Direnç gelişimini azaltmak için stafilokok enfeksiyonlarında tek başına kullanılmamalıdır. Bakteri, ilaçla ilk temas ettiğinde duyarlı olduğu halde temasın devam etmesi durumunda indüklenme sonucu enzim salgılanmasının artması nedeniyle çok kısa zamanda direnç gelişebilir (119, 120).

#### **1.1.3.1.1.6. Kinolon Grubu Antibiyotiklere Direnç**

Nalidiksik asit derivativesi olan florokinolonlar özellikle topoizomerez I'ı, DNA girazı ve topoizomerez IV'ü hedefler. Gram pozitif bakterilerde topoizomerez IV florokinolonların öncelikli hedefidir. Florokinolonlara direnç, DNA giraz ve topoizomerez IV subunit A ve subunit B'nin kodladığı genlerdeki bir dizi mutasyon sonucu gelişir (121).

#### **1.1.3.1.1.7. Rifampin Direnci**

Rifampin, DNA'ya bağlı RNA polimerazın beta subunitini bloke ederek transkripsiyonu inhibe eden, semisentetik oldukça potent bakterisidal bir antistafilokokal antibiyotiktir. İnvitro olarak 0.03 µg/L ve altında Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) değeriyle en güçlü antistafilokokal ilaçlardan biridir. Rifampisine direnç RNA polimerazın beta subunitini kodlayan *rpoB* genindeki kromozomal mutasyonla oluşur ve ilaca azalmış afiniteye neden olur. Diğer antibiyotiklerin daha az ulaşabildikleri doku ve abselere iyi dağılım gösterir. Ancak tek başına kullanıldığında RNA polimerazın B- alt grubunda noktasal mutasyonlar sonucu yüksek seviyede direnç gelişimi görülebilmektedir. Bu nedenle stafilokok enfeksiyonlarında rifampinin tek başına kullanımı önerilmemektedir. Stafilokokal prostetik kalp kapağı endokarditlerinde nafsilin ve vankomisin tedavi protokolünün bir komponenti olarak kullanılması önerilmemektedir. Ayrıca vankomisine cevap alınamayan MRSA enfeksiyonlarında benzer tedavi protokollerine ek olarak kullanılabilceği rapor edilmiştir, ancak rifampinin bu kullanımıyla ilgili fazla bilgi yoktur (114, 122, 123).

### 1.1.3.1.2. Metisilin Direnci

Metisilin direnci  $\beta$ -laktamaz enzimiyle hidrolize olmayan  $\beta$ -laktam antibiyotiklere (metisilin, oksasilin, nafsilin, kloksasilin, dikloksasilin) karşı olan dirençdir (114). Mikroorganizmalar ürettikleri  $\beta$ -laktamaz (penisilinaz) enzimi ile  $\beta$ -laktam halkası taşıyan antibiyotiklerin etkilerini inhibe ederler. Bu durum  $\beta$ -laktam halkasının amid bağının hidrolizi yoluyla gerçekleşmektedir.  $\beta$ -laktamazların  $\beta$ -laktam halkasındaki amid bağına ulaşmalarını engellemek için benzil penisilin yapısındaki fenoksi grubunun yerine metoksi grubunun eklenmesi ile metisilin (2, 6-dimetoksifenilpenisilin) sentez edilmiştir. Bir penisilin türevi olan metisilin,  $\beta$ -laktamaz enzimine dirençlidir. Önceden de belirttiğimiz gibi metisilin kullanıma girmesinden sadece iki yıl sonra İngiltere’de ilk metisilin dirençli stafilokok rapor edilmiştir. İnvitro olarak metisiline dirençli bulunan stafilokok suşları, diğer  $\beta$ -laktam antibiyotiklere de dirençli kabul edilmektedir (124, 125).

Stafilokoklardaki metisilin direnci üç farklı mekanizma ile gerçekleşmektedir;

- a. Kromozomal (intrinsik) metisilin direnci,
- b. Aşırı miktarda  $\beta$ -laktamaz salgılanması,
- c. PBP’lerdeki yapısal değişiklikler,

**1. Kromozomal (intrinsik) Metisilin Direnci;** MRSA’da en sık karşılaşılan direnç mekanizmasından 2.1 kb büyüklüğündeki *mecA* geni sorumludur. Tüm MRSA’lar bu gene sahipken metisiline duyarlı olan suşlarda bu gen bulunmamaktadır. *mecA* geni, stafilokokal kaset kromozomu olarak adlandırılan kaset bölgesinde yerleşim göstermektedir. *SCCmec* kasetinin, büyüklükleri 20 kb’dan 68 kb’a kadar değişkenlik gösteren yaklaşık 11 alt tipi (Tip I-XI) tanımlanmıştır (128). Tip I, IV ve V, sadece yapısal ve regülatuar genler ile rekombinaz genlerini içerir. Bu alt tiplerde, transpozon elemanları ve  $\beta$ -laktam antibiyotik dışındaki antibiyotiklere dirençten sorumlu olan genler bulunmamaktadır. Hastane kökenli MRSA’lar *SCCmec* alt tip I-III’ü içerirken, toplum kaynaklı MRSA’lar *SCCmec* alt tip IV ve V’i içermektedir (113, 114, 126, 127).

Metisiline duyarlı *S.aureus* (MSSA)’larda, beş adet penisilin bağlayan protein (PBP) bulunurken, MRSA’larda bunlara ek olarak *mecA* geni tarafından kodlanan PBP 2’ ya da PBP 2a olarak adlandırılan 78 kDa ağırlıkta olan farklı bir PBP sentezlenmektedir (103, 110). Diğer PBP’lerden farklı olarak PBP 2a,  $\beta$ -laktam

yapısındaki antibiyotiklere karşı düşük afinite göstermektedir. Dolayısıyla,  $\beta$ -laktam grubu antibiyotik varlığında, yüksek afiniteli PBP'lerin fonksiyonunu göstererek peptidoglikan sentezini sürdürebilme yeteneğine sahip olan tek transpeptidazdır (114, 129). Normalde hücre duvarında yer alan PBP'lere bağlanarak peptidoglikan sentezini engelleyen  $\beta$ -laktam grubu antibiyotikler, MRSA'larda PBP 2a'ya bağlanamazlar ve bunun sonucunda peptidoglikan sentezi devam eder (103).

Stafilokoklarda PBP2a sentezinin düzenlenmesinde *mecR1* ve *mecI* adı verilen iki regülatuar gen önemli rol oynar. Bu genler *mecA* gen transkripsiyonunu düzenlemektedirler. *mecR1* membrana bağlı bir sinyal taşıyıcı protein olan *MecR1*'i kodlarken *mecI* transkripsiyonel düzenleyici bir protein olan *MecI*'yi kodlar. *MecR1* ve *MecI* proteinleri,  $\beta$ -laktamaz üretiminin düzenleyici proteinleri olan *BlaR1* ve *BlaI* proteinleri ile büyük oranda benzerlik gösterirler (114, 129, 130). *BlaI*, *blaI* geni tarafından kodlanan,  $\beta$ -laktamaz üretiminden sorumlu bir gen olan *blaZ* transkripsiyonunu inhibe eden bir proteindir. *BlaR1* ise *blaR1* geni tarafından kodlanır ve  $\beta$ -laktamaz varlığında  $\beta$ -laktamaz gen transkripsiyonuna yol açar. *mecI* ve *mecR1*, *mecA* için aynı düzenleyici rolü oynar. *mecI*, *mecA*'yı baskılayan bir protein, *mecR1* ise sinyal uyarıcı bir protein kodlar (130, 131). Operatör bölgelerin benzerliği dolayısıyla *BlaI* proteini, PBP2a üretimini etkileyebilmektedir (53, 114, 130, 132). Bu nedenle *blaZ* geni, *BlaR1* ve *BlaI* proteinleri kontrolünde PBP2a üretimini indükleyebilmektedir.  $\beta$ -laktamaz üretimi indüklenebilir özellikte olabilmekte iken PBP2a sentezi normal regülatör genlerin varlığında indüklenebilir değildir, ancak bazı suşlarda yüksek metisilin konsantrasyonlarında PBP2a sentezi bir miktar indüklenebilmektedir (53, 133, 134). Bunun nedeni *MecI* proteininin *mecA* geni üzerine olan baskılayıcı etkisinin, *BlaI* proteininin *blaZ* geni üzerine olan baskılayıcı etkisinden daha güçlü olmasıdır. Bunun bir sonucu olarak; *mecA* geni taşıyor olsa da *mecI* ve *mecR1* regülatör bölgeleri sağlam olan suşlar, *mecI*'nin *mecA* üzerindeki baskılayıcı gen işlevini etkili olarak yapabilmesinden dolayı fenotipik olarak metisiline duyarlıdır. Bu MRSA izolatları pre-MRSA olarak adlandırılırlar (53, 130).

Sık veya uygunsuz antibiyotik kullanımı *S.aureus* suşlarında kromozomal mutasyonlara veya *mecA* gen sisteminde delesyonlara neden olarak baskılayıcı

fonksiyonun ortadan kalkmasına ve PBP2a'nın devamlı üretilir hale gelmesine neden olabilir (33, 52, 109, 112).

Kromozomal metisilin direnci fenotipik olarak üç şekilde ortaya çıkmaktadır;

**a. Homojen direnç;** Hücrelerin hepsi yüksek konsantrasyondaki metisilin varlığında üreyebilme özelliği göstererek yüksek düzeyde direnç ortaya koyarlar (110).

**b. Heterojen direnç;** Bakteri topluluğunda bulunan tüm hücreler metisilin direnci için gerekli olan bilgiyi yani *mecA* genini taşımalarına rağmen bu topluluğun sadece belirli bir kısmında direnç açığa çıkar. Bu direnç indüklenebilir özelliktedir ve *fem* (factors essential for the expression of methicillin resistance) sisteminin neden olduğu düşünülmektedir.

**c. Eagle-tip direnç;** Bu direnç tipinde ise bakterilerin çoğunluğu (%99.9 veya daha fazlası) düşük metisilin konsantrasyonlarına (1-5 µg/mL) duyarlı iken, çok az bir kısmı ise yüksek metisilin konsantrasyonlarına ( $\geq 50$  µg/mL) direnç göstermektedir. Bu tip direncin, sağlam *mecA* regülatör genlerinin yüksek metisilin konsantrasyonlarında PBP2a sentezini indüklemeleri sonucu olduğu düşünülmektedir (135).

**2. Aşırı miktarda  $\beta$ -laktamaz salgılanması;** Sınırdaki (borderline) metisilin direncine neden olmaktadır. Metisilin  $\beta$ -laktamaz enzimine dayanıklıdır. Ancak, McDougal ve arkadaşları, metisiline direnç gelişimine aşırı miktarda  $\beta$ -laktamaz üretiminin de neden olabileceğini göstermişlerdir. Bu suşlar BORSA (Borderline resistant *S.aureus*) olarak adlandırılırlar (133).

**3. PBP'lerdeki yapısal değişiklikler;** Orta düzeyde metisilin direncine neden olmaktadır. Bu MRSA suşları  $\beta$ -laktamaz üretmezler ve *mecA* geni taşımazlar. Ancak metisiline dirençlidirler. Bu direnç türünün mekanizmasının, PBP'lerin yapısındaki mutasyonel değişikliklerle ilgili olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda  $\beta$ -laktamaz negatif olup, *mecA* geni taşımadıkları halde, metisiline dirençli kökenler saptanmıştır. Bu suşlara MODSA (Modified resistant *S.aureus*) adı verilmektedir (136, 137).

Metisilin direncinde önceden de bahsettiğimiz gibi *fem* faktörleri adı verilen bir protein grubunu kodlayan genlerin de rol oynadığı düşünülmektedir. *Fem* faktörleri PBP2a'yı etkilememektedirler ancak çoğu peptidoglikan yapımında görev

alır. Peptidoglikan zincirleri arasına glisin rezidüleri ekleyerek pentaglisin yapıyı oluştururlar (138). Fem faktörlerinin enzimatik aktiviteleri vardır. Doğrudan ya da direkt olarak metisilin direncine etki ederler (138). Fem sitemindeki mutasyonlar, peptidoglikan yapının değişmesi ile sonuçlanmakta ve  $\beta$ -laktamaz ile metisilin direncini etkileyebilmektedir (140). Fem faktörleri, *mecA* geninden farklı olarak hem duyarlı hem de dirençli suşlarda bulunmaktadır (141).

Bir patojen olarak MRSA; çoklu ilaç direnci göstermesi nedeniyle önemi büyüktür. Tüm  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklerin yanı sıra linkozamidler, makrolidler ve aminoglikozidlere karşı da direnç gösterir (142). Günümüz dünyasında MRSA yaygın olarak görülmekte olup, prevalansı ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Kuzey Avrupa ülkelerinde MRSA prevalansı %1'in altında iken, Güney Avrupa ülkelerinde, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve bazı Asya ülkelerinde bu oran %50'lere ulaşmıştır. Amerika Birleşik Devletleri yoğun bakım ünitelerinde ise %60'ları aşan oranlar bildirilmektedir (143, 144).

Hastane kaynaklı MRSA (HK-MRSA) enfeksiyonlarının yanı sıra toplum kaynaklı MRSA (TK-MRSA) enfeksiyonlarının görülme sıklığında da 1990'lı yıllarda başlamak üzere önemli bir artış ortaya çıkmıştır. TK-MRSA'ların moleküler mikrobiyolojisi HK-MRSA'lardan oldukça farklılık gösterir. HK-MRSA izolatlarında, genellikle tip I, II veya III SCC*mec* genetik elemanı bulunmaktadır. TK-MRSA izolatlarında ise başta tip IV olmak üzere tip V veya VII SCC*mec* genetik elemanı ve bakterinin virülansında rol oynayan bir toksini kodlayan Panton-Valentine leukocidin (PVL) geni bulunmaktadır. PVL, önemli bir virülans faktörü olup invaziv deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ve nekrotizan pnömoni ile ilişkili bulunmuştur. SCC*mec* tip II ve tip III taşıyan HK-MRSA izolatlarında metisilin yanı sıra makrolid, klindamisin, streptogramin B ve tetrasiklin direnci de görülürken; TK-MRSA izolatları sıklıkla klindamisin, trimetoprim-sülfametoksazol, tetrasiklin, gentamisin, florokinolonlar ve kloramfenikole karşı duyarlıdır (103, 144).

Toplum kaynaklı MRSA izolatlarının SCC*mec* tipleri, PFGE (Pulsed field gel electrophoresis) paternleri, MLST (Multilocus sequence typing) ve SPA (Staphylococcal protein A) profilleri HK-MRSA'lardan farklılık gösterir. Örneğin; ABD'de HK-MRSA enfeksiyonlarının önemli bir bölümünden USA100 ve USA200 sorumluyken, TK-MRSA enfeksiyonlarından USA300 ve USA400 pulstipleri

sorumludur. Dolayısıyla TK-MRSA'ların HK-MRSA'lardan bağımsız olarak TK-MSSA'lardan geliştiği düşünülmektedir. Toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı MRSA'lar sadece genetik farklılıklar değil aynı zamanda oluşturdukları enfeksiyonlar açısından da farklılık gösterirler. TK-MRSA'lar genellikle deri ve yumuşak doku enfeksiyonları (apse, follikülit vb.) ile pnömoniye yol açarken, HK-MRSA'lar solunum yolu enfeksiyonları, kan akımı enfeksiyonları ve cerrahi yara enfeksiyonları gibi klinik tablolara yol açarlar. TK-MRSA'lar günümüzde özellikle acil servis yoğun bakım ünitelerinde, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde, askeri kışlalarda ve hapishanelerde meydana gelen enfeksiyonların önemli bir etkeni haline gelmiştir (145).

#### 1.1.3.1.3. Stafilokoklarda Glikopeptid Direnci

Glikopeptid antibiyotiklerden olan vankomisin ve teikoplanin bakterilerin hücre duvarını oluşturan peptidlerin terminal D-ala-D-ala dizisine bağlanarak transglikozilasyon reaksiyonunu ve peptidoglikan oluşumunu inhibe ederek bakterinin hücre duvarı sentezini bozar (146). Bu temel mekanizma dışında RNA sentezinin inhibisyonuyla plazma membran fonksiyonlarını ve hücre duvarında fosfolipid siklusunu bozarak bakterisidal etki de gösterirler (147). İlk kez 1997 yılında Japonya'dan, vankomisine ve teikoplanine orta düzeyde (vankomisin MIC değeri 8 µg/ml) dirençli *S.aureus* suşu bildirilmiştir (18). Daha sonra tüm dünyadan birçok VISA suşu bildirimleri yapılmıştır (148). ABD'den 2002 yılında bildirilen iki vankomisin dirençli *S.aureus* suşu, hem tam vankomisin direnci taşıması (vankomisin MIC değeri  $\geq 32\mu\text{g/mL}$ ) hem de farklı yayılım mekanizması nedeniyle VISA'dan farklıdır. VISA suşlarındaki kromozomal dirençten farklı olarak VRSA suşlarında direnç *E.faecalis*'teki *vanA* operonun konjugal transferi sonucu gelişmiştir (148, 149). Vankomisine azalmış duyarlılığı olan *S.aureus* suşları giderek artmaktadır. Glikopeptid antibiyotiklerin uygun olmayan doz ve sürelerde kullanılması, bu ilaçlara direnç gelişmesine katkıda bulunan en önemli faktörler olmuşlardır (146).

*Staphylococcus aureus*'ta günümüzde bilinen iki vankomisin direnç mekanizması vardır. Bu direnç mekanizmaları:

**a. Peptidoglikan Biyosentezindeki Değişiklik:** VISA suşlarında görülen bu direnç mekanizmasıyla orta düzeyde (vankomisin için MIC değeri: 8-16 µg /mL)

vankomisin direnci gelişir. Orta düzeydeki vankomisin direncinin nedeni peptidoglikan biyosentezindeki değişikliktir. Bu suşlardaki hücre duvarı daha kalın ve irregülerdir. Peptidoglikan çapraz bağ sayısı daha az olduğundan serbest D-ala-Dala rezidülerinin sayısı daha fazladır. Çapraz bağ sayısının azalmasının nedeni pentapeptid köprüdeki D-glutamatin amidasyonu için gerekli L-glutamin miktarındaki azalmadır. Sonuç olarak vankomisini yakalayıp ona bağlanabilecek daha fazla D-ala-D-ala rezidüsü olduğundan vankomisine orta düzeyde direnç oluşur. Rezidülere bağlanan vankomisin, diğer vankomisin moleküllerinin sitoplazmik membrandaki hedeflerine ulaşmalarını engelleyerek direnç artırır (107, 150).

**b. *vanA* operonunun konjugal transferi:** Bu VRSA izolatlarındaki vankomisin MIC değeri  $\geq 128$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'dir. Bu izolatlardaki direncin nedeni terminal peptiddeki D-ala-D-ala'nın yerini D-ala-D-Lac'ın alması ve vankomisinin bu rezidüle bağlanamamasıdır (107, 150).

#### **1.1.3.1.4. Oksazolidinon Direnci (Linezolid-Eperozolid)**

Tamamen sentetik antibiyotik olan linezolid ve eperozolidin üyeleri olan oksazolidinon grubunun antimikrobiyal özellikleri, antidepresan ilaçlar olan monoamin oksidaz inhibitörlerinin araştırmaları esnasında farkedilmiş ve daha sonra antibiyotik olarak geliştirilmişlerdir. Linezolid tüm önemli Gram pozitif bakterilere karşı mükemmel in vitro aktiviteye sahiptir. Ribozomun 50S subunitinin 23S subunitinde bulunan peptidil transferaza bağlanarak, 70S oluşumunu engeller ve protein sentezinin başlamasını inhibe eder. Böylece ribozomal protein sentezinin başlangıç kompleksini durdurmuş olur (151). Linezolidlere karşı bilinen bir direnç mekanizması yoktur. Spesifik nokta mutasyonları ile direnç gelişmektedir. Mutasyonlar, çoğunlukla 23S rRNA'da bulunan 2576 pozisyonundaki değişimler sonucu, linezolidin bağlanmasının azalması yoluyla olmaktadır (151). Linezolidin 50S alt birimindeki bağlanma noktası, kloramfenikol ve linkomisin'in bağlanma noktası ile çok yakındır. Bu nedenle bu ilaçlarla yarışmaya girer. Kloramfenikol ve linkomisinden farklı olarak, peptid bağı oluşumunu inhibe etmez. Bu nedenle bu ilaçlarla çapraz direnç göstermez (152). Diğer protein sentez inhibitörlerinden farklı bir şekilde etki ettiklerinden çapraz direnç bulunmamaktadır (151).

### 1.1.3.1.5. Streptogramin Direnci (Kinopristin/Dalfopristin)

*Streptomyces pristinaspiralis*'ten köken alan streptograminler makrolid-linkozamid-streptogramin (MLS) ailesi içinde yer alan bir antibiyotik grubudur. Streptograminler moleküler yapılarına göre A ve B olmak üzere başlıca iki gruba ayrılırlar. Dalfopristin A grubunda, kinupristin B grubunda yer alır (153). Bu grupların yapısal olarak birbirleriyle ilişkileri yoktur, fakat bunlar duyarlı bakterilere birlikte sinerjik etki gösterirler. Grup A streptograminler peptidiltransferazın donör bölgesine, peptidil-tRNA'nın akseptör bölgesine ise aminoaçıl-tRNA'nın bağlanmasını geri dönüşümlü olarak inhibe ederler. Grup B streptograminler ise, grup A streptograminlerin yarattığı ribozomal yapı değişikliğine bağlı olarak peptidil-tRNA'nın donör bölgeye doğru yerleşimini önlerler. Sonuçta ribozoma gelen aminoasitlerden peptid zincirleri yapılamaz veya yapılan zincir yeterli uzunlukta olmaz. Tek başlarına bakteriyostatik etki gösterirlerken kombine verildiklerinde bakterisidal etkinlik kazanırlar ve invitro antibakteriyel aktivitede 10 katlık bir artış olur. Bu iki suda çözünen streptograminin %30 kinupristin-%70 dalfopristin şeklinde intra venöz preparatları mevcuttur. Genel olarak stafilokoklarda kinupristin-dalfopristin direnci üç mekanizmayla gelişmektedir:

**a. Hedefte modifikasyon:** 23S rRNA'da mutasyon veya peptidiltransferaz metilasyonunu kodlayan rRNA *erm* geninde posttranskripsiyonel modifikasyon sonucu grup B streptogramin direnç fenotipi ortaya çıkar, grup A streptogramine direnç gelişmez.

**b. Antibiyotik inaktivasyonu:** Stafilokoklarda bulunan laktonaz enzimi, grup A streptograminleri parçalayan asetiltransferaz enzimi ve grup B streptograminleri parçalayan hidrolaz enzimi, streptogramin direncine neden olabilir.

**c. Aktif dışarı atım:** Koagülaz negatif stafilokoklarda makrolid ve grup B streptogramin direncinden sorumlu bir mekanizmadır. *mrsA* ve *erpA* genleri varlığında bu direnç tipi gözlenir.

### 1.1.3.2. Enterokoklarda Antibiyotik Direnci

Enterokokkal enfeksiyonlarda yapılan araştırmalarda mortalitenin yüksek olduğu ve enterokokların çok sayıda antibiyotiğe karşı belirgin bir direnç artışının olduğu belirtilmektedir (97). Oluşan enfeksiyonlar antibiyotiklere dirençli suşlar tarafından yapılmışsa tedavisinde antibiyotik seçeneği kısıtlanır. Endokardit ve

menenjit gibi ciddi enfeksiyonların tedavisinde sinerjik etkileşimle bakterisidal etkinlik elde edebilmek için  $\beta$ -laktam ve glikopeptid antibiyotiklerin aminoglikozidlerle birlikte kullanıldığı kombine bir tedavi önerildiği; bu kombinasyonda yer alan antibiyotiklerden birine direnç söz konusu olduğunda sinerjik bakterisidal etkinin ortadan kalktığı belirtilmektedir (154).

Enterokok türleri içinde en sık enfeksiyon yapan tür *E.faecalis* olmasına rağmen başta vankomisin olmak üzere, çoklu ilaç dirençlerinde öne çıkan tür *E.faecium*'dur (155). İlk olarak Avrupa'da 1988 yılında vankomisine dirençli *E.faecium* klinik izolatlarının bildiriminin yapılmasının ardından ABD'de de bu bakterilerin epidemisinde bir artışın gözlemlendiği ifade edilmektedir. VRE prevalansının ABD hastanelerindeki yoğun bakım birimlerinde 1988 yılından 1993 yılına kadar olan süreçte 20 kat arttığı; yeni verilere göre de glikopeptid direncinin *E.faecium* için yaklaşık %70-80; *E.faecalis* için %10 oranında; total VRE prevalansının ise %30 dolaylarında olduğu bildirilmektedir (89). Enterokoklarda özellikle *E.faecium* suşlarında ampisilin direncinin de önemli boyutlarda arttığı; bu suşlarda plazmid aracılığı ile yüksek düzeyde glikopeptid direncinin geliştiği ve son zamanlarda vankomisine dirençli *E.faecium* suşlarının dikkatleri daha çok çekmeye başladığı yapılan yayınlarda belirtilmektedir (90, 155). Yurdumuzda, yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) de saptanan vankomisine dirençli ilk *E.faecium* suşu bildirimini 1998 yılında Antalya ilindedir (156). Enterokokların antimikrobiklere direnci diğer anti-enterokokkal antibiyotiklerde de rastlanmaktadır. Örneğin dirençli suşlarla ortaya çıkan enfeksiyonların tedavisinde 2000 yılından beri kullanılan oksazolidon sınıfından bir antimikrobiyal ilaç olan linezonide karşı dirençli olan suşlar 2001 yılında Gonzales ve ark. (157), 2002 yılında Auckland ve ark. (158) ve Herrero ve ark. (159), 2003 yılında Bassetti ve ark. (160) tarafından rapor edilmiştir. Daha sonraki yıllarda dünyanın pek çok bölgesinden bu antibiyotiğe karşı dirençli suşlar rapor edilmiş; 2009 yılında da VRE dâhil linezolidde dirençli bakterilerin yayıldığı belirtilmiştir (161). Enterokoklarda  $\beta$ -laktamaz direnci ile birlikte plazmide bağımlı aminoglikozid direnci de aktarılır. Buna bağlı olarak da bu antibiyotiklerin birlikte kullanıldığı tedavilerde sinerjik etkinin ortadan kalkmasıyla istenilen sonuç alınmamaktadır.

Enterokoklar ağır antibiyotik içeren ortamlarda hayatta kalma yeteneklerini buldukları ortamda çoklu antibiyotik direnci kazanarak gösterirler. Enterokoklarda antimikrobiyal direnç iki tiptir. Birincisi kendi doğasında olan, bakterinin kendi kromozomu üzerindeki genlerin kontrol ettiği doğal (içsel, intrensek) direnç, ikincisi plazmid ve transpozonlar aracılığıyla sonradan kazanılan yani edinsel dirençtir (155).

**a) Doğal (İntrensek, İçsel) Direnç:** Penisilinaz-duyarlı düşük seviye penisilin direnci; penisilinaz-dirençli penisilinlere direnç; sefalosporin direnci; düşük seviye linkozamid direnci; nalidiksik asit direnci; düşük seviye aminoglikozit ve klindamisin direnci ve sadece *E.Faecalis* suşlarında görülen kinupristin/dalfopristin direnci bu direnç şekillerindedir.

Enterokoklarda doğal penisilin direnci,  $\beta$ -laktam antibiyotiklere düşük bağlanma yatkınlığı olan ve hücre duvarı sentezinde görev yapan düşük molekül ağırlıklı penisilin bağlayan proteinlerden özellikle PBP5 enziminin varlığında gözlenir (162). Enterokoklar  $\beta$ -laktam antimikrobiklere maruz kaldıklarında üremeleri durur ancak ölmezler. Bu özellik kazanılmış bir özelliktir. Enterokoklar 5 defa bir penisilinle karşılaştıklarında hızlı bir şekilde tolerans geliştirirler. Enterokokların çoğu penisilin ve glikopeptid gibi hücre duvarı üzerinde etkili olan ajanlara karşı dirençli olması endokardit ve menenjit gibi ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bu antibiyotiklerin etkisiz olma olasılığını gündeme getirir. Enterokok türlerinden yalnızca *E.faecalis* türünün  $\beta$ -laktamaz enzimi salgıladığı, yüksek seviyede penisilin ve ampisilin (MIK>256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) direnci gösterdiği bildirilmektedir (155). Enterokoklar hücre duvarlarındaki aminoglikozid geçirgenliğinin zayıf olmasından dolayı tüm aminoglikozidlere (MIK 8-256  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) karşı düşük seviye direnç gösterirler. *E.faecium*'da düşük seviye aminoglikozid direncinin bir diğer nedeni ise bu bakterinin aac6 geni tarafından kodlanan 6'asetiltransferaz (AAC-6') enzimine sahip olmalarıdır. AAC-6' enziminin kanamisin, netilmisin, sisomisin, isepamisin ve tobramisin yapısında değişiklik yaparak onları etkisiz hale getirdiği ancak gentamisine etkisinin olmadığı belirtilmiştir (100). Enterokokların folat sentezini inhibe etmeleri nedeniyle suşların çoğu trimetoprim-sulfametoksazole *in vitro* olarak duyarlı ancak *in vivo* olarak dirençlidirler.

### **b) Edinsel (Ekstresek, Kromozomal) Direnç**

Bakteri DNA'sının mutasyonu sonucu ya da bakteri kromozomuna yeni bir DNA parçasının entegrasyonu sonucu edinsel direnç ortaya çıkar (155). Mutasyonla gelişen direnç genleri başka enterokok türlerine ve başka türden bakterilere taşınabilmektedir. *E.faecium* suşları geniş spektrumlu bir antibiyotik olan tetrasikline konjugasyon yoluyla direnç kazanabilmektedir (163).

Enterokoklarda edinsel direnç örnekleri:  $\beta$ -laktamazlarla penisiline direnç; yüksek seviye aminoglikozid direnci; vankomisin direnci; kloramfenikol direnci; eritromisin direnci; yüksek seviye linkozamid direnci yüksek seviye klindamisin direnci; yüksek seviye tetrasiklin direnci; yüksek seviye florokinolon direnci ve hücre duvarına etkili ajanlara tolerans.

#### **1.1.3.2.1. Enterokokların Çeşitli Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları**

Enterokokların kloramfenikol direnci çoğunlukta ürettikleri asetil transferaz enzimi ile oluşmaktadır (164). Antibiyotik molekülünü 3-asetil ve 1, 3-diasetil türevlerine dönüştürerek inaktivasyonuna neden olan asetil transferaz enzimi plazmidler tarafından kodlanabildiği gibi bakteri kromozomunda da olabilmektedir. Enterokoklar arasında kloramfenikol direnç genlerinin hücre-hücre temasına dayanan konjugasyon yoluyla aktarıldığı ilk kez 1964 yılında tespit edilmiştir (165).

Eritromisin direnci genellikle bu antibiyotiğin hedef aldığı bölgede bakterinin geliştirdiği değişiklikler ile ortaya çıkmaktadır. Enterokoklardaki eritromisin direnci, klindamisine yüksek düzeyde dirençten de sorumlu tutulan rRNA'nın metilasyonunda rol oynayan ermB geni ile ilişkili olan dirençtir.

Enterokoklardaki tetrasiklin direnci plazmid veya transpozon aracılı konjugasyonla yayılmaktadır (163, 166). Direnç gelişmesinde antibiyotiğin hedef aldığı bağlanma bölgesinin yapısındaki değişiklikler, antibiyotiğin hızla dışarı atılmasında ve böylece hücre içinde birikmesini engellemede rol oynayan ATP'ye bağımlı olarak etkinlik gösteren aktif pompa sistemleri önemli rol oynamaktadır. Bu direnç plazmid veya kromozom kontrolündedir; ancak, direnç determinantları sıklıkla transpozonlar üzerinde bulunur ve tetrasiklinin düşük konsantrasyonları ile indüklenebilir. Bu dirençte rol oynayan genler özgül membran proteinlerini (*tet* proteinlerini) sentezler ve katyonlarla birlikte tetrasiklin hücre dışına pompalanır

(167). Bir tetrasikline dirençli olan bakterinin doksisisiklin ve minosiklin dışında diğer tüm tetrasiklinlere de dirençli olduğu belirtilmektedir (167). İnsan, hayvan ve diğer kaynaklardan izole edilen tetrasiklin dirençli enterokoklarda çeşitli direnç genleri tanımlanmıştır. Bu genlerden Tn916 transpozonu üzerinde taşınan *tetM* geninin insan, domuz ve piliçlerden izole edilen *E.faecium* ve *E.faecalis* suşlarında %95 oranında bulunduğu bilinmektedir (168, 169). Enterokoklarda tetrasiklin direnciyle ilişkili *tetM* geninden başka *tetL* ve *tetO* genleri de bulunmaktadır (169). Bunlardan *tetL* geni tetrasiklinin hücre dışına atılmasında rol oynayan aktif pompa sisteminin kodlanmasında rol oynar.

Aminoglikozit direnci de tetrasiklin ve glikopeptid direncine benzer şekilde plazmid veya transpozon aracılı konjugasyonla kazanılmaktadır (166). Enterokoklar arasında YDAD'nin tüm dünyada hızlı bir şekilde yayıldığı bildirilmektedir (170). Enterokoklar gentamisin, amikasin, tobramisin ve streptomisine yüksek seviyede dirence aracılık eden aminoglikozid modifiye eden enzim (AME) salgırlarlar. AME penisilin, ampisilin ya da vankomisin gibi hücre duvarına etki eden antibiyotiklerin gentamisin, tobramisin, netilmisin, kanamisin ve amikasin gibi aminoglikozidlerle kombinasyonları arasındaki sinerjiyi ortadan kaldırır (170, 171). Enterokoklarda klinik olarak en önemli AME kodlayan gen *aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia* genidir. Bu *aac (6')-Ie-aph (2'')-Ia* genini taşıyan enterokoklar streptomisin dışında gentamisin, tobramisin, amikasin, kanamisin ve netilmisine dirençlidir. Tüm *E.faecium* suşları hücre duvarına etkili antibiyotiklerin tobramisin, kanamisin, netilmisin ve sisomisin gibi aminoglikozitler ile sinerjistik etkisini ortadan kaldıran ve kromozomal olarak kodlanan aminoglikozid asetiltransferaz *Aac (6')-I'* i üretirler. Bu suşlarda *aph (3')-IIIa* geni yüksek seviye kanamisin direncine neden olan aminoglikozid fosfotransferaz'ı; *ant (4')-Ia* geni de aminoglikozid nükleotidtransferazı kodlar (172).

Enterokokların  $\beta$ -laktam antibiyotiklere direncinden, penisilin bağlayan proteinlerde ortaya çıkan değişmeler ve  $\beta$ -laktamaz üretimi sorumludur.  $\beta$ -laktamaz üretimi *E.faecalis* suşlarının bazılarında, PBP'lerde ortaya çıkan değişmeler ise suşların çoğunda görülmektedir. Penisilin için düşük bir afiniteye sahip olan PBP miktarı ile direnç seviyesi arasında ilişki vardır. *E.faecalis* ve *E.faecium* suşlarının çok azı dışında enterokoklar  $\beta$ -laktamaz üretmezler ve onların hücre duvarları  $\beta$ -laktamlara karşı bir geçirgenlik bariyeri olmazlar. Bu nedenle  $\beta$ -laktamlara karşı

direnç mekanizmalarını araştıran çalışmaların çoğu PBP'lere bağlanan penisilinlerin rolü üzerinde yoğunlaşmıştır. PBP'ler peptidoglikan polimerizasyonundan sorumlu karboksipetidaz, transpeptidaz ve transglikosilaz reaksiyonlarına dahil olan ve  $\beta$ -laktam antibiyotiklere kovalent bağlarla bağlanma özelliğindeki membran proteinleridir (173).  $\beta$ -laktamların hücredeki hedefleri olan PBP'lerdeki değişiklikler; kromozomal mutasyonlar sonucu PBP'lerin  $\beta$ -laktam antibiyotiğe afinitesinin azalması, PBP sayısında azalma olması veya  $\beta$ -laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezlenmesi sonucu oluşabilmektedir (174).  $\beta$ -laktamaz üreten enterokokların bildiriimi ilk kez 1983 yılında yapılmıştır. İlk  $\beta$ -laktamazın tesbit edildiği *E.faecalis* suşuna HH22 adı verilmiştir. 1990'lı yılların ortalarında yapılan çalışmalarda *E.faecalis* suşlarında  $\beta$ -laktamaz üretiminin *S.aures* suşlarında farklı olarak yapısal olduğu ortaya konulmuştur (175). Enterokoklarda  $\beta$ -laktamaz enzimini kodlayan genler (*bla*), transfer edilebilen bir plazmid üzerindedir. Bazı *E.faecalis* suşlarında, bu genin kromozomlarda yerleştiği gösterilmiştir (176).

*Enterococcus faecium*, *E.faecalis*'e göre en az 4-16 kat; *E.faecalis* ise streptokokların çoğundan 10-100 kat fazla penisilinlere dirençlidir. *E.faecalis* izolatlarının çoğu penisilin ve ampisilinin 1-8  $\mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonlarında inhibe olurken *E.Faecium* izolatlarının çoğu 16-64  $\mu\text{g/ml}$ 'lik miktarlarında inhibe olmaktadır. Enterokokların bir diğer sorun yaratan özelliği de tipik olarak  $\beta$ -laktamlara tolerant oluşlarıdır. Bu direncin temel mekanizması düşük afiniteli PBP üretimidir. Penisilin direnci üretilen özgün bir PBP olan PBP5 miktarı ile doğru orantılıdır. İndüklenebilir  $\beta$ -laktamaz üreten stafilokokların aksine enterokoklarda bu enzimin üretimi yapısal, düşük seviyede ve inokulum bağımlıdır.  $\beta$ -laktamaz üreten enterokoklar nadiren izole edilirler (177). Enterokokkal penisilinaz geni stafilokokkal tip A penisilinaz geni ile aynıdır. Bu gen gentamisine yüksek seviyede dirençli suşlarda her zaman vardır ve sıklıkla *aph (2'')-Ia/aac (6')-Ie* içeren transfer yapma özelliğindeki bir plazmid üzerinde bulunur. Penisilinaz üreten enterokoklar sıklıkla penisilinlere, ampisilin ve üreidopenisilinlere yüksek direnç gösterirler. Penisilinaz aktivitesi klavulanat, sülbaktam ve tazobaktam gibi  $\beta$ -laktamaz inhibitörleri tarafından engellenir. Enterokokkal penisilinaz üretimi, klinik laboratuvarlarda MIK ya da disk difüzyon testleri gibi rutin duyarlılık testleriyle aranmamalıdır. Bu nedenle eğer, endokardit ya da diğer ciddi enfeksiyonları olan hastalardan enterokok izole

edilmişse ve tedavide penisilin kullanılacaksa penisilinaz üretiminin araştırılması kromojenik nitrosefin gibi özgün bir test ile yapılmalıdır (178).

Normal enterokokkal peptidoglikan sentezinde ligaz enzimi aracılığıyla iki D-alanin molekülü “D-ala-D-ala” şeklinde bağlanır ve sonra UDP-N-asetilmüramil tripeptidi ve UDP-N-asetilmüramil pentapeptidi oluşur. Bu pentapeptit peptidoglikana transglikozilasyonla dahil olur ve transpeptidasyonla karşı köprüler kurularak güçlü bir peptidoglikan tabakası oluşur. Vankomisin pentapeptidin “D-ala-D-ala” ucuna yüksek afiniteyle bağlanma özelliğindedir. Vankomisin bağlandığı pentapeptidin bundan sonra oluşması beklenen molekülün transglikozilasyon aşamasını (karşılıklı bağlanmasını) engeller (177). Enterokoklarda glikopeptid direncinin temeli, D-ala-D-ala yerine Dala-D-lac (*VanA* ve *VanB*) veya D-ala-D-ser (*VanC*) ile biten peptidoglikan prekürsörlerinin sentezine dayanmaktadır. Glikopeptidler oluşan bu yeni prekürsörlere yüksek afiniteyle bağlanamadığı için bakterinin hücre duvarı sentezini engelleyemez. *E.faecalis*'deki konjugatif transpozon üzerinde bulunan *VanA* geninin, *S.aureus*'un bazı suşlarına transfer edilebildiği gösterilmiştir. Plazmidler üzerinde farklı direnç genlerinin kümeleşmiş olması, bakteriler arasında çoğul direncin yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Direnç plazmidleri; konjugasyon, transdüksiyon veya transformasyonla duyarlı olan alıcı bakterilere horizontal olarak aktarıldığında onlarda da bir veya daha fazla antibiyotiğe karşı direncin meydana gelmesine neden olmaktadır (166).

Vankomisin direncinin *VanA*, *VanB*, *VanC*, *VanD*, *VanE*, *VanG* ve *VanL* ile gösterilen tanımlanmış 7 fenotipi vardır. Xu X ve arkadaşları 2010 yılında Çin Şangay'da bir *E.faecium* suşunda *VanM* adını verdikleri yeni bir glikopeptid direnç gen kümesini bulduklarını yayınlamışlardır (179). Glikopeptid direncinde rol oynayan genlerden *VanA* ve *VanB* enterokoklarda daha önce bulunmayan yeni gen kümelerinin kazanılmasına aracılık ederler. *VanA* ve *VanB* direnç fenotipleri ilk olarak *E.faecalis* ve *E.faecium* suşlarında tanımlanmıştır (177).

*VanA* direnç tipine sahip suşlar yüksek seviye vankomisin (MIK değerleri,  $\geq 64$   $\mu\text{g/ml}$ ) ve teikoplanin (MIK değerleri,  $\geq 16$   $\mu\text{g/ml}$ ) direnci gösterirler. Bu direnç vankomisin, teikoplanin, avoparsin ve ristosetin gibi glikopeptidlerle ya da basitracin, polimiksin B gibi glikopeptidlerin dışındaki diğer antibiyotiklerle uyarılabilir. Vankomisin direncinin oluşmasında ve düzenlenmesinde görev yapan

*VanA* fenotipinin oluşması için gerekli genler (*VanR*, *VanS*, *VanH*, *VanX* ve *VanZ*) *E.faecium* suşlarında genellikle bir plazmid üzerinde yer alan 1546 transpozonu (yer değiştiren genetik elemanlar) üzerinde bulunmaktadır. Bu genler peptidoglikan oluşumunda D-Ala-D-Ala prekürsörleri yerine D-Ala-D-laktat sentezine yol açar ve antibiyotığın bu terminale düşük afinitesi nedeniyle bakterinin hücre duvarı sentezini engelleyemez (177).

Enterokoklarda *VanB* glikopeptid direnci *VanA* ligaz enzimine oldukça benzer bir yapıya sahip, anormal ligaz olan *VanB* aracılığıyla oluşur. Peptidoglikan tabakasında “D-Ala-D-lac” prekürsör terminallerinin oluşmasını destekler. Başlangıçta *VanB* izolatlarının, vankomisin daha ılımlı seviyelerine (MIK değerleri 32-64 µg/ml) dirençli, ancak teikoplanine duyarlı olduğuna inanılıyordu. Şimdi *VanB* izolatlarının vankomisin direnç seviyelerinin 4 ila  $\geq 1$  µg/ml aralığında oldukça değişkenlik gösterdiği oysa teikoplanine duyarlılıklarını korumakta oldukları bilinmektedir. *VanB* direnç determinantları aynı zamanda bir enterokoktan diğerine transfer olabilen büyük hareketli elementler üzerinde yer almaktadır. *VanB* öncelikli olarak *E.faecium* ve *E.faecalis* suşlarında bulunmaktadır (177).

*VanC* direnç fenotipi vankomisine intrensek düşük seviye direnç gösteren (MIK değerleri 4-32 µg/ml) ve teikoplanine duyarlı olan *E.gallinarum*, *E.casseliflavus* ve *E.flavescens* suşlarında gösterilmiştir. *E.gallinarum* suşlarında *VanC-1*, *E.casseliflavus* suşlarında *VanC-2* ve *E.flavescens* suşlarında *VanC-3* gen nükleotid zincirleri bulunur. *E.gallinarum* suşlarındaki *VanC* ligazı peptidoglikan tabakasında “D-Ala-D-ser” prekürsör terminallerinin oluşmasını destekler. *VanC-2* ve *VanC-3* genleri birbirlerine çok benzer yapıda olup, *VanC-1* ile nükleotid sekansları arasında 2/3 oranında benzerlik gösterir (177).

*VanD* direnç geni ilk kez 1991 yılında bir *E.faecium* suşunda tanımlanmıştır. Bu bakterinin büyümesi vankomisinin 64 µg/ml ve teikoplaninin 4 µg/ml’lik konsantrasyonlarında engellenmiştir. Bu direnç geninin kromozom üzerinde bulunduğu ve diğer enterokoklara geçmediği bilinmektedir (177).

*VanE* direnç geni; vankomisine düşük seviyede direnç (MIK: 16 µg/ml) gösteren teikoplanine duyarlı (MIK: 0.5 µg/ml) olan bir *E.faecalis* suşunda son yıllarda tanımlanmıştır. Bu yeni direnç fenotipi intrensek *VanC* ile benzerlik göstermektedir (177).

*VanG* operonu; D-Ala-D-Ser *VanG* ligaz enzimi aracılığıyla bakterinin vankomisine düşük seviyede (MIK: 16µg/ml) direnç kazanmasını sağlar. *VanG* direnç fenotipi teikoplanine duyarlıdır (MIK: 12-16 µg/ml). İlk olarak *E.faecalis* WCH9 suşunda tanımlan *VanG* direnci Avustralya'da izole edilen çok az sayıda *E.faecalis* suşunda gösterilmiştir. *VanG* direncinin duyarlı *E.faecalis* suşlarının kromozomuna transferi ca. 240 kb elementleri yoluyla olmaktadır. *VanG* operonu ve elementleri taşıyan kromozomal eklenme bölgesi *E.faecalis* BM4518 suşunun (vankomisin MIK: 16 µg/ml; teikoplanin MIK: 0.5 µg/ml) ayırıcı özelliğidir (180). Vankomisine düşük direnç gösteren ve teikoplanine duyarlı olan *E.faecalis* BM4518 ve WCH9 suşları hücre duvarlarının oluşumu sırasında peptidoglikan prekürsör ucunda D-alanin-D-serin'in indüklenebilir sentezine neden olurlar. *E.faecalis* JH2-2 suşunun *VanG* tipi glikopeptid direncinin kromozomdan kromozoma taşınması c.240 kb genetik elementi ve eritromisin direncini kodlayan *ermB* geni ile ilişkilidir (180, 181).

*VanL* direnç tipi'nin varlığı *E.faecalis*'te gösterilmiştir. Bu direnç fenotipindeki suşlar hücre duvarlarını oluştururken peptidoglikan prekürsör ucunda D-ala-D-sersentezi yaparlar. Vankomisine düşük seviyede direnç gösterirken teikoplanine duyarlıdırlar.

*VanM* direnç tipi'nin varlığı 2010 yılında bir *E.faecium* suşunda gösterilmiştir. Bu yeni glikopeptid direnç geni *VanA*, *VanB* ve *VanD* ile ilişkili D-ala-D-lak ligazını kodlayan konjugasyonla transfer olabilen bir genidir. *VanM* ligaz geni 1032 baz çifti uzunluğunda olup %79.9'u *VanA*, %70.8'i *VanB*, %66.3'ü *VanD* ve %78.8'i *VanF* ile ortak olan 343 aminoasit proteinini kodladığı; *VanM* sekansının *VanA*'ya daha yakın olmasına rağmen *VanD*'ye daha benzer olduğu ifade edilmektedir (179).

#### **1.1.3.2.2. Enterokoklarda Vankomisin Bağımlılığı**

Hastalardan, sağlık çalışanlarının ellerinden ya da kontamine olmuş eşyalardan bulaşarak çok sayıda salgınlara neden olan ve önemli nozokomiyal patojenler olarak ilk kez 1986 yılında izole edilen VRE'ler hakkında pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucu olarak; glikopeptid antibiyotiklerin varlığında üreyebilen, klinik önemleri henüz tanımlanmamış mutant VRE'lerin varlığı tespit edilmiştir.

Vankomisin bağımlı enterokok (VBE) adı verilen bu bakteriler ilk olarak intravenöz vankomisin ile uzun süreli tedavi gören bir kadının idrarından 1993 yılında izole edilmiştir. Vankomisine bağımlı *E.faecium* fenotiplerinin kemik iliği nakli yapılanlardan, immün sistemi baskılanmış kişilerde izole edildiğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (182). Vankomisin bağımlılığına *E.faecalis*, *E.faecium* ve *E.avium* türlerinde rastlanılmaktadır (182-185). Bu fenotipler vankomisinin uyarımı sonucu hücre duvarının sentezi için gereken peptidoglikan prekürsörlerini oluşturur; vankomisin eksikliğinde ise peptidoglikan sentezinde gereken bu maddeleri sentezlemeleri mümkün olmaz (186).

Vankomisin tedavisi alan olgulardan izole edilen bu bakteriler besiyerlerine yapılan pasajlarında üremezler; pasaj yapılan besiyerine vankomisin emdirilmiş diskler yerleştirildiğinde ise bu disklerin etrafında üreyebilirler.

#### **1.1.4. Daptomisin**

##### **1.1.4.1. Yapı ve Etki Mekanizması**

Daptomisin, LY146032, yeni bir antibiyotik sınıfı olan siklik lipopeptitlerin ilk ve tek üyesidir. *Streptomyces roseosporus* tarafından üretilmiştir (Şekil 4). Stafilokoklar başta olmak üzere Gram pozitif ve dirençli patojenlere karşı hızlı ve yüksek bakterisidal etkinliğe ve farklı bir etki mekanizmasına sahiptir. Kalsiyuma bağlanarak aktif hale geçmekte ve hücre membranı ile etkileşerek iyon kanalları oluşturmaktadır. Bu kanallardan hücre dışına  $K^+$  iyonlarının çıkışı olmakta ve bunun sonucunda da hücre membranında depolarizasyon meydana gelmektedir. Bunun yanında; hücre duvarını rüptüre etmeden, bakteri hücrelerini lizis yapmadan bakterilerin ölümüne neden olduğundan toksin salınımına bağlı komplikasyon gelişme riski de azalmaktadır (187-189).



Sitokrom P450 ile etkileşmediğinden tedavi sırasında önemli bir ilaç etkileşimi görülmemektedir. Statinler ile birlikte kullanıldıklarında kas toksisitesi açısından vakalar yakından takip edilmelidir. Ayrıca  $\beta$ -laktamlar, aminoglikozidler ve rifampisin ile sinerjik etkisi yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (195, 193).

#### 1.1.4.3. Etki Spektrumu

Geniş aerobik ve anaerobik Gram pozitif etkinliğe sahiptir. Bu Gram pozitif etkinlik arasında; stafilokoklar (MRSA, VISA, VRSA dahil), enterokoklar (VRE'leri de içeren *E.faecalis* ve *E.faecium*) ve streptokoklar (PRSP; Penisilin dirençli *Streptococcus pneumoniae*) yer almaktadır. Ayrıca *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Lactobacillus* gibi vankomisine dirençli kökenlere, *Bacillus* cinsi bakterilere, *Corynebacteria* bakterilerine, peptostreptokoklara, *Clostridium difficile* dahil klostridiumlar gibi anaeroplara da etkili olduğun bildirilmektedir (198-201).

Traczewski ve arkadaşları tarafından yapılanin vitro çalışmada, 1985-2007 yılları arasında toplanan MRSA izolatlarında daptomisin, vankomisin ve teikoplanin ile MIC<sub>50</sub> ve MIC<sub>90</sub> seviyelerine bakılarak karşılaştırıldığında en potent antibiyotik olduğu saptanmıştır. Traczewski ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vankomisine %6.1, teikoplanine %18.8 oranında direnç gelişirken daptomisine direnç gelişmemiştir. Metisilin ve vankomisin dirençli *S.aureus* ve enterokok izolatları ile yapılan zamana bağlı öldürme çalışmalarında daptomisin, vankomisin ve linezolid ile karşılaştırılmış ve daptomisinde daha yüksek bakterisidal etkinlik saptanmıştır. Crompton JA ve arkadaşları yakın zamanda yayınladıkları bir makalede; daptomisinin *S.aureus* enfeksiyonlarında, vankomisin MIC değeri <2 mcg/ml olan hastalarla >2 mcg/ml olan hastalarda aynı derecede etkin olduğu belirtilmektedir (190, 202-204).

#### 1.1.4.4. Klinik kullanım

Daptomisin; komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonları (2003), metisiline duyarlı ve metisiline dirençli *S.aureus* izolatlarının neden olduğu sağ kalp enfektif endokarditi ve *S.aureus* bakteremisi (2006) için FDA onayı almıştır.

Daptomisinin komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanımı ile ilgili iki randomize faz 3 çalışması bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde; daptomisinin etkinlik ve güvenirliliği, metisiline duyarlı izolatlarda penisilinaza dirençli penisilinler, metisiline dirençli izolatlarda ise vankomisinle

karşılaştırılmıştır. Toplam 1092 hastanın kabul edildiği çalışmada; MRSA'nın neden olduğu enfeksiyonlarda vankomisin ile %69, daptomisin ile %75; MSSA'ya bağlı enfeksiyonlarda ise vankomisin ve PDP ile %87 daptomisin ile %86 oranında tedavi başarısı elde edilmiştir. Güvenlilik ve tolerabilite açısından da hem PDP hem de vankomisin ile arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Diğer çalışmada ise MRSA ile infektekomplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonu olan 265 hastada vankomisin ile karşılaştırılmıştır. Daptomisin kullanan hastalarda 4 günde, vankomisin kullananlarda ise 7 günde klinik kür sağlanmıştır (205, 206).

Daptomisinin kemik ve eklem enfeksiyonlarında kullanımı ile ilgili henüz yeterli veri bulunmasa da kemik dokusuna iyi geçtiği bildirilmektedir. Septik artriti olan 22 vakada kullanılmış ve klinik sonuçların başarılı olduğu belirtilmiştir (207-209).

Daptomisinin bakteremi ve sağ taraf endokarditli hastalarda kullanımı ile ilgili faz 3 çalışması mevcuttur. Bu çalışmada Fowler ve ark. *S.aureus* bakteremisi ve/veya endokarditi olan toplam 246 hastada daptomisinin etkinliğini düşük doz aminoglikozidle birlikte antistafilokokkal penisilin veya vankomisin ile karşılaştırmışlardır. Daptomisin burada 6mg/kg dozunda kullanılmıştır. MRSA izolatlarına karşı klinik başarı vankomisinle %31.8 daptomisinle %44.4, MSSA izolatlarında ise antistafilokokkal penisilinler/vankomisinle %48.6 daptomisinle ise %44.6 oranında saptanmıştır. Bu çalışmanın alt grup analizlerinde ise komplike bakteremi, sağ yan endokarditi ve MRSA bakteremilerinde etkinlikleri benzer olarak bulunmuştur (210).

#### **1.1.4.5. Yan Etkiler**

Daptomisin genelde tolere edilebilir, ılımlı yan etkileri olan bir ilaç olarak karşımıza çıkmaktadır. Faz 3 çalışmalarında en sık bildirilen yan etkiler başta konstipasyon olmak üzere gastrointestinal yan etkilerdir (ishal, kusma, bulantı). Bunun yanında; anemi, hipokalemi, baş ağrısı, artralji, periferik ödem ve renal bozukluk da bildirilmektedir. Preklinik çalışmalarda en dikkat çekici yan etki doza bağımlı iskelet sistemi toksisitesidir. Tedavinin 7-12'ci günlerinde kas güçsüzlüğü, myalji ve kreatin kinaz yüksekliği saptanmış, ilacın kesilmesi sonrası tüm yan etkiler kaybolmuştur. Ayrıca nadiren geriye dönüşümlü paralizilere de neden olabilmektedir. İnsanlara ait yeterli veri bulunmasa da hayvan çalışmalarının

sonucunda gebelik kategorisi B olarak tespit edilmiştir. Düşük yan etki profili ile güvenli bir molekül olmakla birlikte ilaç düzeyi takibi gerekmemektedir (211, 212).

#### **1.1.4.6. Direnç**

*Staphylococcus aureus* ve enterokok kökenlerinde daptomisine karşı direnç oranları henüz çok düşüktür. Dirençli *S.aureus* kökenlerinde direnç mekanizmasının hücre membranına bağlanmada azalma olduğu şeklinde gösterilmiştir. Stafilocokların daptomisin direncinde; *rpoB* ve *rpoC* (RNA polimeraz subunitlerini kodlayan), *yycG* (histidin kinazı kodlayan) ve *mprF* (lizilfosfatidilgliserol sentetazı kodlayan) genlerindeki mutasyonların rol oynadığı bildirilmektedir. Ayrıca Graber CJ ve ark. tedavi başarısızlığı olan bir VISA suşunda aynı zamanda daptomisine de azalmış duyarlılık saptamışlardır (212-214).

Sonuç olarak daptomisin; hızlı bakterisidal etkisinin yanı sıra düşük MIC değerlerine sahiptir. Günde tek doz kullanım kolaylığı olan, doku geçişi iyi olan, güvenli ve tolere edilebilir yeni bir ajandır. Tüm bu özellikleri ile dirençli Gram pozitif patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde terapötik bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır (215).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Bakteri Suşları

Çalışma öncesi fakülte etik kurulundan 22.09.2011 tarih ve 2011-2012/13 sayılı kurul kararı alındıktan sonra çalışmaya başlandı.

Çalışmamıza Ekim 2011-Haziran 2013 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Bölümüne gönderilen çeşitli örneklerden izole edilmiş 89 adet MRSA ve 11 adet VRE suşu dahil edilmiştir, örnekler gönderilen klinik ve gelen örnek tipi ayırt edilmeksizin rastgele toplanmıştır.

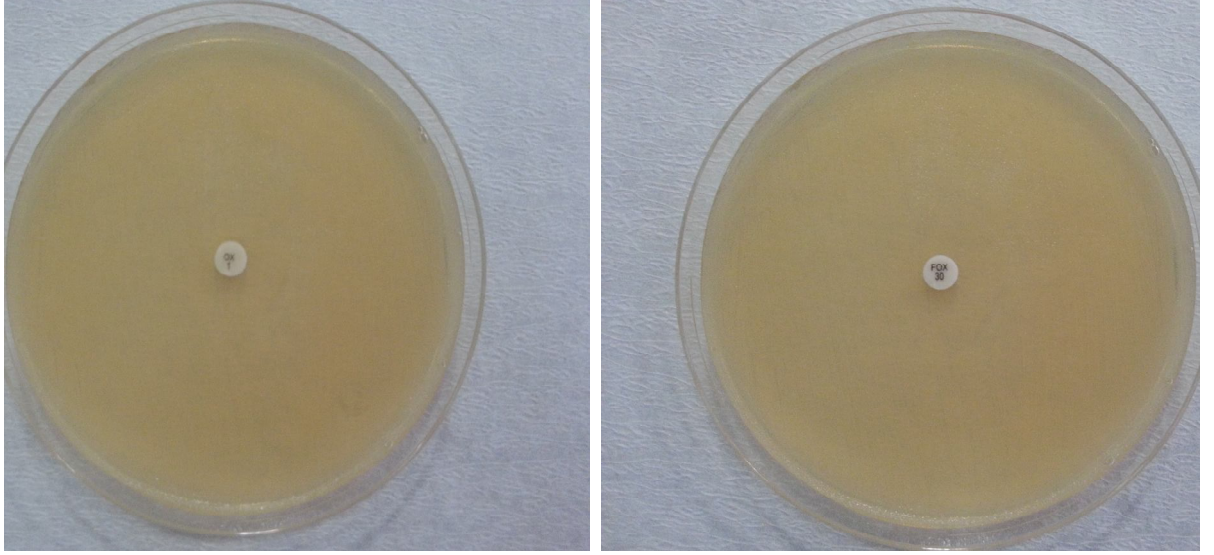
### 2.2. Mikrobiyolojik Kültür ve İdentifikasyon İşlemleri

Laboratuvara gönderilen örneklerin kültürlerinde stafilokok şüpheli kolonilerden öncelikle Gram boyama yapıldı. Gram boyamada üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturmuş Gram pozitif koklar lama yayılıp üzerlerine %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılarak gaz kabarcığı oluşturan bakteriler stafilokok olarak kabul edildi. *S.aureus*'u diğer stafilokoklardan ayırmak için tüp koagülaz testi uygulandı. Stafilokok suşu olduğuna karar verilen Gram pozitif, katalaz pozitif kolonilerden alınıp tavşan plazmasına eklenerek etüvde 24 saatlik inkübasyondan sonra pıhtı oluşturan bakteriler *S.aureus* olarak değerlendirmeye alındı.

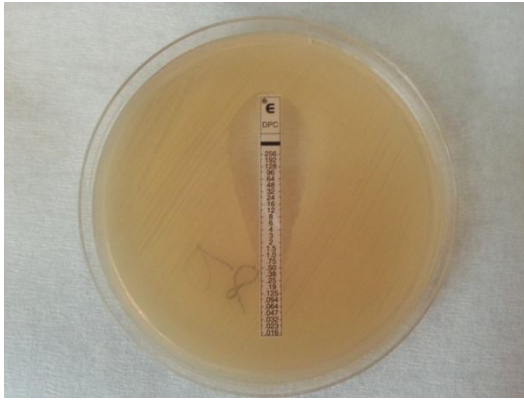
Bu suşların metisiline ve sefoksitine karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri dikkate alınarak Mueller Hinton Agarda (Oxoid UK) araştırıldı. Disk difüzyon yöntemiyle sefoksitin (30 µg) diski (Oxoid UK) ve oksasilin (1 µg) diski (Oxoid UK) kullanıldı (216). Saf kolonilerden sıvı besiyerinde 0,5 McFarland standart bulanıklığında bakteri solüsyonu hazırlanıp Mueller Hinton Agara ekim yapılarak üzerine 30 µg sefoksitin diski ve 1 µg oksasilin diski yerleştirilip 35°C de 24 saat normal atmosfer şartlarında inkübe edildi. Sefoksitin diski çevresindeki inhibisyon zonu  $\leq 21$  mm olan *S.aureus*'lar dirençli,  $\geq 22$  mm olanlar duyarlı, oksasilin diski için  $\geq 13$  mm olanlar duyarlı, 11-12 mm olanlar orta duyarlı,  $\leq 10$  mm olanlar ise dirençli kabul edildi (Şekil 5).

Bu suşların daptomisine karşı duyarlılığı E-test (Biomerieux S.A.France) yöntemi ile CLSI önerileri dikkate alınarak Mueller Hinton Agarda (Oxoid UK) belirlendi. Saf kolonilerden sıvı besiyerinde 0, 5 McFarland standart bulanıklığında bakteri solüsyonu hazırlanıp Mueller Hinton Agara ekim yapıldıktan sonra E-test stripleri yerleştirildi. Stripler 35°C de 24 saat inkübe edildi ve süre sonunda striplerin

etrafındaki elipsin sonucu MIK değeri olarak okundu. İki uç yükseklik farkı olduğunda daha yüksek olan üstteki uç MIK değeri olarak kabul edildi. Daptomisin E-testi *S.aureus* için  $\leq 1$   $\mu\text{gr/ml}$  olan bakteriler duyarlı kabul edildi (Şekil 6).



Şekil 5. Oksasilin ve sefoksitin disk difüzyon testi.

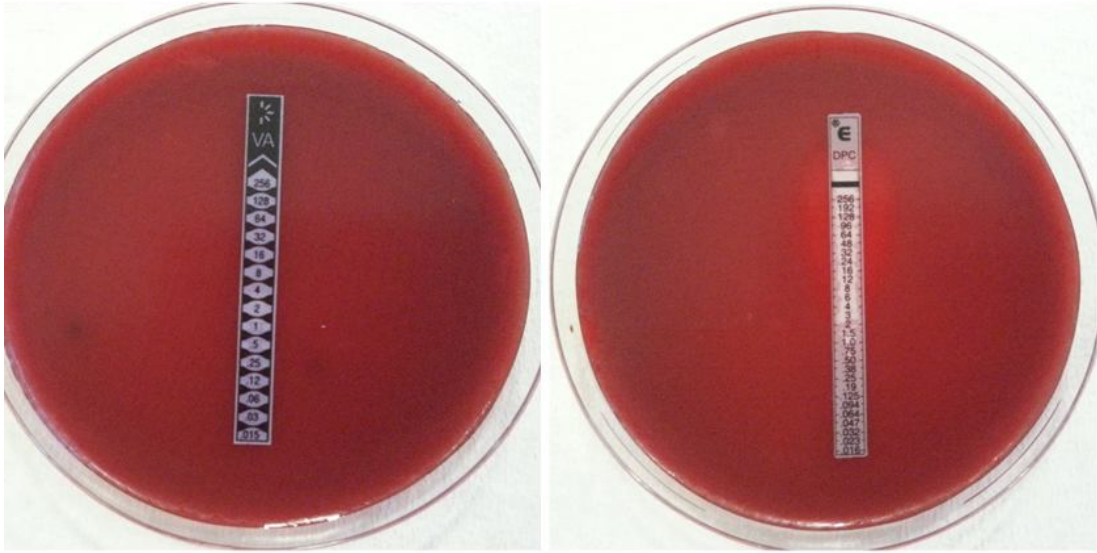


Şekil 6. Daptomisin E-test.

Besiyerlerinde üreyen enterokok şüpheli 0,5-1 mm çapında gri, kenarları belirgin ve düz beyaz-yeşilimsi kolonilerden Gram boyama yapılarak, Gram pozitif koklar araştırılıp Gram pozitif kok olduğu tespit edilen kolonilere katalaz testi uygulandı. Katalaz testi olumsuz olan suşlar iğne özeyele safra-eskülin agar besiyerine ekilip %40 safıralı ortamda üreyen ve eskülini hidrolize eden bakterilerin %6.5'lik NaCl'de üreyip üremedikleri kontrol edildi. Tuzlu ortamda üreme gösteren suşlara

son olarak PYR testi yapılarak olumlu sonuç alınan bakteriler *Enterococcus spp.* olarak kabul edildi.

Bu suşların vankomisine karşı duyarlılığı da yine E-test (Biomerieux S.A. France) yöntemi ile CLSI önerileri dikkate alınarak Beyin Kalp İnfüzyon agarda (Oxoid UK) belirlendi. Saf kolonilerden sıvı besiyerinde 0,5 McFarland standart bulanıklığında bakteri solüsyonu hazırlanıp Mueller Hinton Agara ekim yapılarak üzerine E-test stripleri yerleştirildi. Stripler 35°C de 24 saat inkübe edildi ve bu süre sonunda striplerin etrafındaki elipsin sonucu MİK değeri olarak okundu. İki uç yükseklik farkı olduğunda daha yüksek olan üstteki uç MİK değeri olarak kabul edildi. Enterokoklar için vankomisin MİK değerleri;  $\leq 4$   $\mu\text{gr/ml}$  duyarlı, 8-16 arası orta derecede duyarlı,  $\geq 32$   $\mu\text{gr/ml}$  dirençli, daptomisin için MİK değeri ise;  $\leq 4$   $\mu\text{gr/ml}$  duyarlı olarak kabul edildi (Şekil 7).



**Şekil 7.** Vankomisin ve daptomisin E-testi.

### 2.3. Suşların Saklanması

MRSA ve VRE olduğu gösterilen suşlar mikrobanklara (Pro-lab diagnostics/Richmond Hill, Kanada) pasaja alınıp -80°C de muhafaza edildi. Sayı tamamlandığında suşlar çıkarılarak, kanlı besiyerine tekrar ekim yapıp suşların canlandırılması sağlandı. Bakterilerin invitro koşullarda daptomisin E-test antibiyotik duyarlılık testleri CLSI kriterlerine göre değerlendirildi. Bu sonuçlar BD Phoenix (Becton Dickinson U.S.A.) tam otomatik bakteri identifikasyon cihazı kullanılarak doğrulandı.

#### **2.4. İstatistiksel Değerlendirme**

Tüm veriler SPSS 15.0 paket programı kullanılarak değerlendirildi ve hesaplandı. Verilerin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında ki-kare ve Fischer'in kesin ki-kare testi kullanıldı.  $P < 0.05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

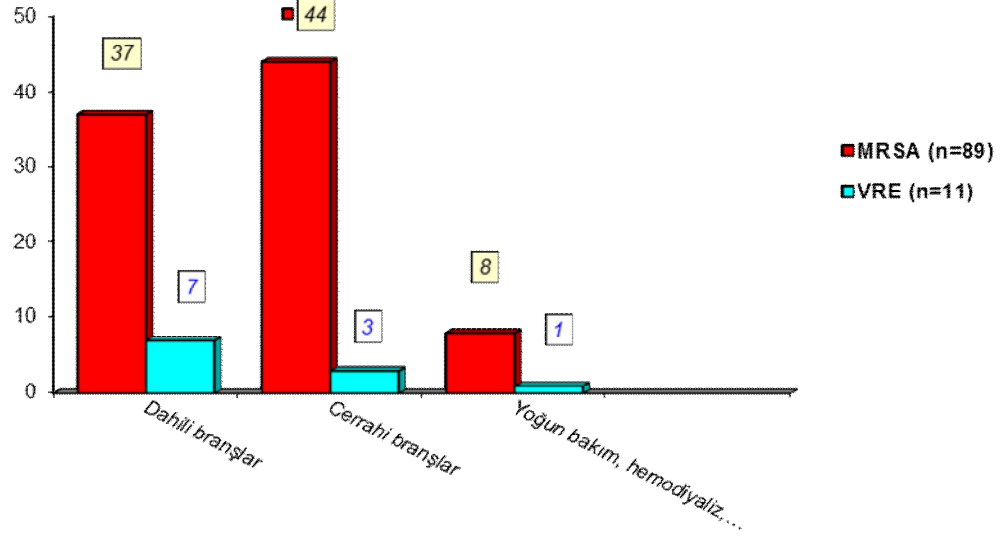
Çalışmamızda Ekim 2011-Haziran 2013 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Bölümüne gönderilen çeşitli örneklerden, izole edilip 89 adet MRSA ve 11 adet VRE suşu, gönderilen klinik ayırt edilmeksizin rastgele toplandı. Bakteri gruplarının gönderildiği klinikler ve izole edildikleri örnekler sırasıyla Tablo 2 ve 3’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** MRSA ve VRE suşlarının izole edildiği örneklerin klinik branşlara göre dağılımı.

GÖNDERİLEN KLİNİK	MRSA (n=89)	VRE (n=11)	TOPLAM (n=100)
Dahiliye	19	2	21
Ortopedi	13	-	13
Plastik Cerrahi	9	2	11
Pediyatri	6	3	9
Göğüs Hast.	7	1	8
Nöroşirurji	8	-	8
Kalp Damar Cerrahisi	5	-	5
Onkoloji	4	1	5
Genel Cerrahi	2	1	3
Nöroloji	3	-	3
Üroloji	2	-	2
Kadın Hast. ve Doğum	2	-	2
Anestezi	2	-	2
Yoğun Bakım	2	-	2
Hemodiyaliz	2	-	2
Kardiyoloji	-	1	1
Kulak Burun Boğaz	1	-	1
Enfeksiyon Hastalıkları	1	-	1
Göğüs Cerrahisi	1	-	1

Bakterilerin izole edildiği örneklerin en fazla sayıda gönderildiği klinik 21 örnekle dahiliye kliniği olmuştur. Bu kliniği 13 örnekle ortopedi, 11 örnekle plastik cerrahi, 9 örnekle pediyatri kliniği ve 8’er örnekle göğüs hastalıkları ve nöroşirurji

izlemiştir. Bu 6 anabilim dalından gönderilen materyaller, toplam sayının %70'ine denk gelmektedir (Tablo 2, Şekil 8).



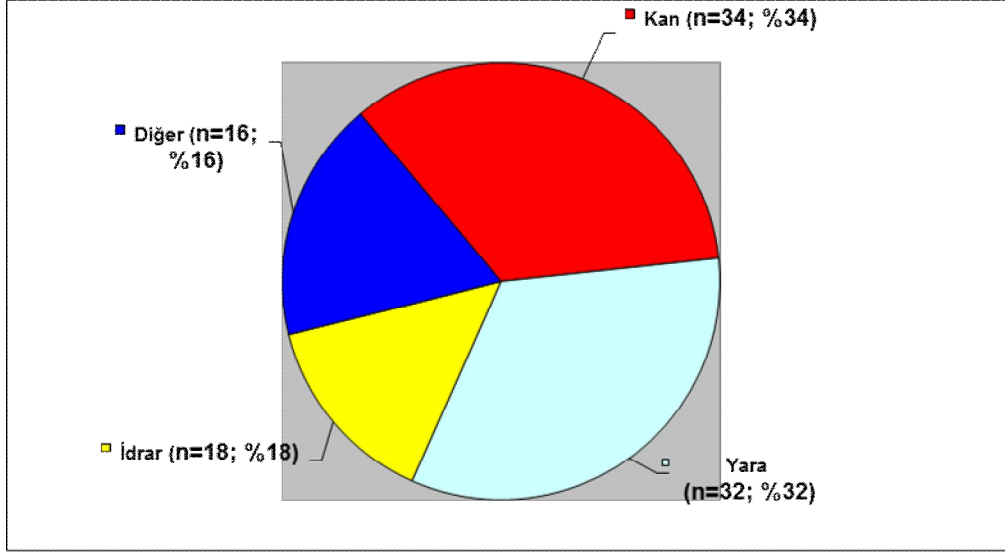
**Şekil 8.** MRSA ve VRE suşlarının izole edildiği örneklerin klinik branşlara göre dağılımı.

Çalışmamızda kullandığımız stafilokokların en fazla izole edildiği örnekler sırasıyla kan, yara ve idrar kültürleri olmuştur. Bakterilerin %84'ü (toplam 84 adet) bu 3 örnekten izole edilmiştir. Ayrıca MRSA ve VRE en fazla kan, yara ve idrar kültürleri izole edilmiştir. Enterekokların da en fazla izole edildiği örnekler, idrar ve kan kültürleri olmuştur (Tablo 3, Şekil 9).

**Tablo 3.** MRSA ve VRE suşlarının izole edildiği örneklere göre dağılımı.

	MRSA	VRE	TOPLAM
Kan	31	3	34
Yara	30	2	32
İdrar	13	5	18
Balgam	8	-	8
SVS	5	1	6
Burun	1	-	1
Genital	1	-	1

SVS: Steril vücut sıvılar



**Şekil 9.** MRSA ve VRE izolatlarının elde edildiği örneklerle göre dağılımı (n=100).

Yapılan daptomisin E-testlerin hiçbiri dirençli bulunmamış olup otomatize sistemle de bu sonuçlar desteklenmiştir. *S.aureus* için daptomisin E-test MİK değerleri 0,125-1 µgr/ml aralığında, enterokok için yapılan daptomisin E-test MİK değerleri 2-4 µgr/ml aralığında bulunmuştur. *S.aureus* için MİK<sub>50</sub> değeri 0.5, MİK<sub>90</sub> değeri 1, enterokok için MİK<sub>50</sub> değeri 2.5, MİK<sub>90</sub> değeri 3 bulunmuştur (Tablo 4).

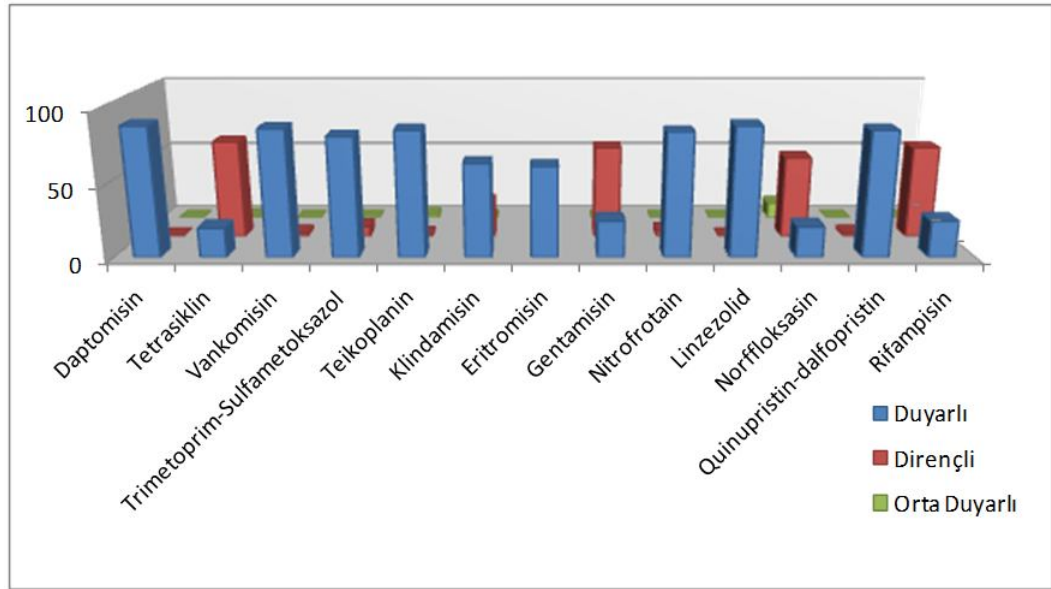
**Tablo 4.** MRSA ve VRE'nin E-test yöntemiyle MİK dağılımı.

	Dağılım	MİK <sub>50</sub>	MİK <sub>90</sub>
MRSA	0, 125-1	0.5	1
VRE	1-4	2.5	3

Yapılan çalışmada *S.aureus* suşlarının hepsi daptomisine ve linezolide duyarlı bulunmuştur. Vankomisin, teikoplanin, nitrofrontain, quinupristin-dalfopristin ve trimetoprim-sulfametoksazole duyarlılık %90'ın üzerinde iken tetrasiklin, norfloksasin ve gentamisine direncin yüksek olduğu görüldü (Tablo 5, Şekil 10).

**Tablo 5.** *S.aureus* suşlarının BD Phoenix tam otomatize sistemde antibiyotik duyarlılık oranları.

ANTİBİYOTİK	Duyarlı n (%)	Dirençli n (%)	Orta Duyarlı n (%)
Daptomisin	89 (%100)	-	-
Tetrasiklin	20 (%22.5)	68 (%76.4)	1 (%1.1)
Vankomisin	87 (%97.7)	2 (%2.3)	-
Trimetoprim-Sulfametoksazol	82 (%92)	7 (%8)	-
Teikoplanin	86 (%96.6)	1 (%1.1)	2 (%2.3)
Klindamisin	64 (%72)	25 (%28)	-
Eritromisin	62 (%69.7)	26 (%29.2)	1 (%1.1)
Gentamisin	25 (%28.1)	64 (%71.9)	-
Nitrofrontain	85 (%95.5)	4 (%4.5)	-
Linezolid	89 (%100)	-	-
Norfloksasin	21 (%23.6)	57 (%64)	11 (%12.4)
Quinupristin-Dalfopristin	86 (%96.6)	2 (%2.3)	1 (%1.1)
Rifampin	25 (%28)	64 (%72)	-

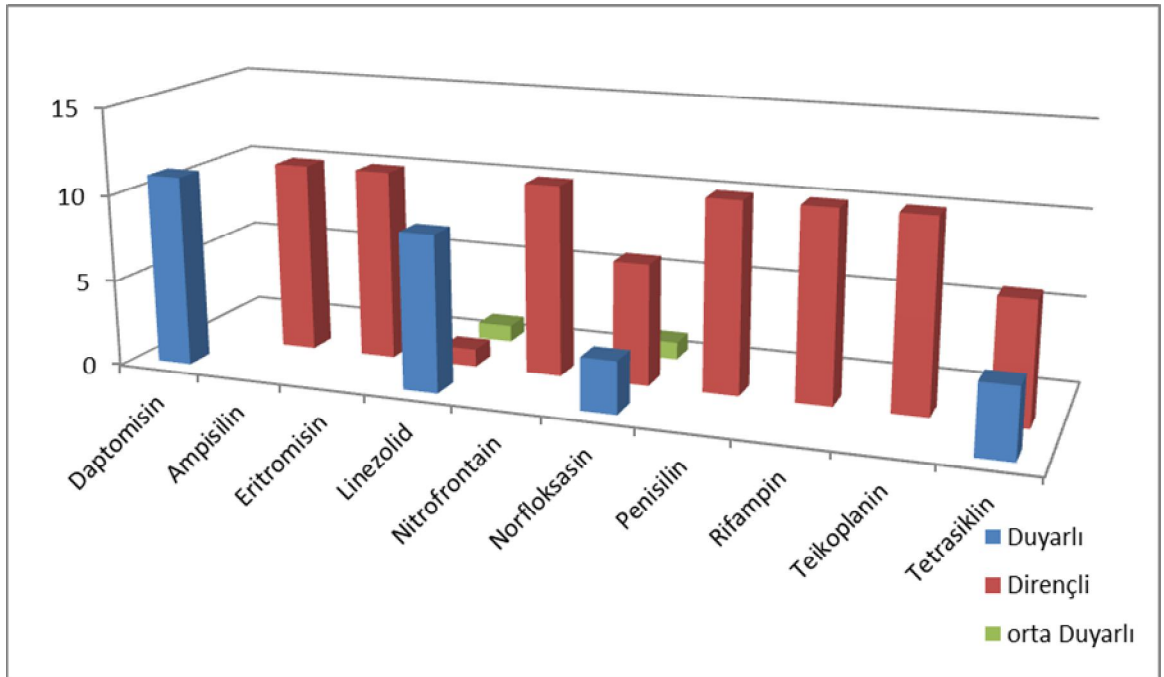


**Şekil 10.** *S.aureus* suşlarının BD Phoenix tam otomatize sistemde antibiyotik duyarlılık oranları.

Enterekokların hepsi daptomisine duyarlı olup; ampisilin, penisilin, eritromisin, nitrofrontain, rifampin ve teikoplanine dirençli, suşların %82'si linezolide duyarlı bulunmuştur (Tablo 6, Şekil 11).

**Tablo 6.** Enterekok suşlarının BD Phoenix tam otomatize sistemde antibiyotik duyarlılık oranları.

ANTİBİYOTİK	Duyarlı	Dirençli	Orta Duyarlı
Daptomisin	11 (%100)	-	-
Ampisilin	-	11 (%100)	-
Eritromisin	-	11 (%100)	-
Linezolid	9 (%82)	1 (%9)	1 (%9)
Nitrofrontain	-	11 (%100)	-
Norfloksasin	3 (%27)	7 (%64)	1 (%9)
Penisilin	-	11 (%100)	-
Rifampin	-	11 (%100)	-
Teikoplanin	-	11 (%100)	-
Tetrasiklin	4 (%36)	7 (%64)	-



**Şekil 11.** Enterekok suşlarının antibiyotik duyarlılık oranları.

#### 4. TARTIŞMA

Tıp dünyasında sağlanan olumlu gelişmeler sonucu, bir taraftan insanoğlunun yaşam kalitesi artıp, süresi uzarken, diğer taraftan da tanı ve tedavi amacıyla uygulanan girişimler, yoğun antibiyotik kullanımı gibi faktörlerin faturası maalesef "hastane enfeksiyonları" ve "antibiyotiklere dirençli bakteriler" olarak karşımıza çıkmaktadır. Son on yılda hastanede edinilmiş enfeksiyonlardan Gram pozitif koklar ve mantarlar bu listede ilk sırada yer alan ajanlar olmuştur. Çoklu dirençli Gram pozitif patojenlerin tedavisinde sorunlar yaşandıkça, daha potent antibiyotik gerekliliği ortaya çıkmıştır. Linezolid, tigesiklin ve daptomisin gibi Gram pozitif bakterilere etkili yeni antibiyotikler ülkemizde de kullanılmaya başlanmıştır (195). Bilindiği gibi *S.aureus* hem nozokomiyal hem de toplum kökenli enfeksiyonların önde gelen etkenlerindedir. Son yıllarda özellikle metisiline dirençli stafilokokların etken olduğu enfeksiyonların artması ve bunların tedavisinde karşılaşılan zorluklar, çözülmesi gereken önemli problemler olarak bildirilmektedir (217).

Çoklu antibiyotik direnci gösteren *S.aureus*, *P.aeruginosa* ve *M.tuberculosis* gibi patojenlerin 1970'li yılların başlarında ortaya çıkması, bilim adamlarını hemen hemen bütün bakteriyel enfeksiyonların antimikrobiyal ajanlarla tedavi edilebildikleri düşüncesinden uzaklaşmalarıyla sonuçlanmıştır. Antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz kullanımı gittikçe artan antimikrobiyallere dirençli bakteri türlerinin evrimine destek olmuştur. Ayrıca bölgesel ve uluslararası seyahatlerin artışı da bu bakterilerin coğrafik sınırları geçişini kolaylaştırmıştır (218).

Son yıllarda hem toplum hem de hastane kaynaklı *S.aureus* enfeksiyonları sürekli artmakta ve aynı zamanda bu bakterilerdeki çoklu ilaç direnci nedeniyle oluşturdukları hastalıkların tedavisi giderek güçleşmektedir. Araştırmaların birçoğunda *S.aureus*'un nozokomiyal pnömoni ve cerrahi alan enfeksiyonlarının en sık, kan ile ilişkili enfeksiyonların ise ikinci sıklıkta etkeni olduğu gösterilmiştir (43). Stafilokoksik enfeksiyonlarının tedavisi amacıyla penisilinler geliştirilmiş, ancak kısa süre sonra *S.aureus* kökenlerinde yüksek düzey penisilin direnci gözlenmiştir (219). Ardından klinik kullanıma sunulan antistafilokoksik penisilinlere (metisilin, nafsilin, oksasilin), makrolidlere, tetrasiklinlere ve aminoglikozidlere de direnç oraya çıkmış ve bu dirençli kökenlerin yayılmasıyla birlikte stafilokoksik enfeksiyonların

tedavisi tüm dünyada önemli bir sorun haline gelmiştir. CDC verilerine göre 1987-1997 arasında yoğun bakım ünitelerinde ortaya çıkan stafilokok enfeksiyonları içinde MRSA enfeksiyonlarının oranı %20'lerden %45'lere ulaşmıştır. MRSA kökenlerinin çoğunun makrolidler, linkozamidler, kloramfenikol, tetrasiklinler, kinolonlar ve aminoglikozitlere de dirençli olabilecekleri bilinmektedir. Buna bağlı olarak metisiline dirençli bir stafilokok enfeksiyonunda kullanılabilir antibiyotikler birçok kez sadece glikopeptidler ile sınırlı kalmaktadır. Metisiline dirençli kökenler içinde sadece vankomisine duyarlı kökenlerin oranı da bu 10 yılda %22,8'den %56,2'ye yükselmiştir (43). Bu durum dirençle savaşı neredeyse hastanın altta yatan sorununa çare bulmaktan daha ön plana geçirmekte, bu da çeşitli maddi ve manevi olumsuzluklarla sonuçlanmaktadır (217).

*Staphylococcus aureus* suşlarında  $\beta$ -laktamaz üretimine bağlı penisilin rezistansı penisilin kullanıma girmesinden kısa süre sonra rapor edilmiştir. XX. yüzyılın 2. yarısından itibaren yaygın olarak görülmeye başlanmıştır (219). Günümüzde hastane kaynaklı *S.aureus* izolatlarının %95'ten fazlası  $\beta$ -laktamaz üretmektedir.  $\beta$ -laktamaza dayanıklı bir antibiyotik olan MRSA izolatları ilk olarak 1961 yılında bildirilmiştir (220). *S.aureus*'larda antibiyotik direnci hızla gelişmiş ve 1950'li yılların başında pek çok ülkede suşların 3/4'ü penisiline dirençli hale gelmiştir (221). Nadir olmakla birlikte 2000 yılında kullanıma giren linezolid dirençli MRSA suşu sadece bir yıl sonra bildirilmiştir (105). Yine 2003 yılında kullanıma giren daptomisine de iki yıl içinde dirençli suş bildirilmiştir (106).

Metisilin ve tüm  $\beta$ -laktamlara (yeni sefalosporinler ve karbapenemler dahil) direnç ekzojen *mecA* geninin kodladığı  $\beta$ -laktam antibiyotiklere düşük afinitesi olan PBP2a ile gelişir. Öte yandan yeni sefalosporinlerden olan seftobiprol ve seftarolin ise antistafilokokal etkinliklerini korumuştur. *mecA* geni içinde bulunduğu SCC*mec* olarak adlandırılan bölge DNA üzerinde bulunur ve en az sekiz tipi vardır. *mecA* (2 kb) ile küçük bir parçayı oluşturur. Diğer direnç determinantlarını da taşır hatta plazmidlere bile linalize olur (222). MRSA suşlarının etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde tüm  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin yanında çoklu direnç nedeniyle diğer grup antibiyotiklerin de seçilememesi sonucunda, günümüzde bu enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak glikopeptid antibiyotikler kullanılmaya başlanmıştır. Başta YBÜ olmak üzere hastanelerin bazı bölümleri, stafilokok ve MRSA enfeksiyonları

açısından daha yüksek risk oluşturmaktadır. Ülkemizde de hastane enfeksiyonu etkenleri içinde ilk sıralarda yer alan MRSA'nın yıllar içinde görülme sıklığında artış saptanmaktadır (223).

Atmışbeş yaşın üstünde olan, hastanede uzun süre yatan, operasyon geçiren ya da çok sayıda invaziv girişim uygulanan, açık cilt lezyonları bulunan ve geniş spektrumlu uzun süre antibiyotik tedavisine maruz kalan hastalar; hem endojen floranın hem de ortam bakterilerinin tehditi altındadır. Bu koşullar dirençli bakteri suşlarının seçilmesine yol açarken, MRSA enfeksiyon ve kolonizasyonunu da ön plana çıkarmaktadır (224).

Batı ve Doğu Avrupa'da da %25 civarında olan MRSA oranı 2007 yılında Yunanistan, Kıbrıs, Portekiz ve Malta'da %50'yi bulurken, Hollanda ve İskandinav ülkelerinde <%2 gibi düşük oranlarda kalmıştır (221, 105, 106). Avrupa ülkelerinde MRSA oranı genel bir bakışla ya stabil kaldığı veya azaldığı gözlenmiştir. Ama hala pek çok ülkede >%25 olması nedeniyle önemli bir sorun olmaya devam etmektedir (225). Amerika Birleşik Devletleri'nde ise 2004 ve 2007 yıllarına ait verilerde oranların sırasıyla %54 ve %58 olduğunu göstermektedir (226, 227).

MRSA görülme sıklığının pek çok ülkede son 20 yıl içinde artması enfeksiyon kontrol önlemlerinin bu yönde kurgulanmasına neden olmuştur. İngiltere'de *S.aureus* bakteremileri içinde MRSA oranının 1990'lı yıllarda başlayan artışı, 2000-2005 yılları arasında %40-45 ile en yüksek oranlara ulaşmıştır. Enfeksiyon kontrol önlemleriyle bu oran 2007 yılında %36'ya inmiştir. İskandinav ülkelerinde <%2 gibi düşük oranlarda kalmasının nedeni olarak da vaktinde başlanan enfeksiyon kontrolünde "sapta ve yok et" stratejisinin sıkı sıkı uygulanmasının sonucu olarak yorumlanmıştır. Ancak bu ülkelerde kümes hayvanlarıyla ilişkili MRSA klonlarından kaynaklanan MRSA salgınları halen artışın devam ettiğini göstermektedir (222).

Daha önceden hastaneye yatış öyküsü olmayan ve MRSA taşıyıcılığı için klasik risk faktörlerini taşımayan kişilerde saptanan TK-MRSA soruna yeni bir boyut getirmiştir. Bu mikroorganizma bakımevindeki çocuklarda, sağlıklı sporcu erkeklerde, cezaevi sakinlerinde, ordu mensuplarında ve homoseksüel erkeklerde toplum kaynaklı salgınlara yol açmıştır (222). Özellikle ABD'de yaygın olan bu salgınlar Avrupa ve Asya'da daha nadir görülmektedir (222). TK-MRSA SCC*mec* tip

IV ve V'i içermektedir. Ayrıca, bu suşların önemli bir kısmı bakteriyofajlar tarafından kodlanan PVL toksini üretimi aracılığıyla virülansını artırmıştır. Özellikle sağlıklı genç erişkinlerde deri ve yumuşak doku enfeksiyonu ve daha az olarak hayatı tehdit eden nekrotizan pnömoni gibi enfeksiyonlara yol açar (222, 228). Genelde TK-MRSA suşlarının sağlık hizmetiyle ilişkili suşlara göre dirençli olduğu antibiyotik spektrumu daha dardır. Hastane kökenli suşların büyük bir kısmı,  $\beta$ -laktam ve florokinolonun yanı sıra linkozamid, streptogramin, tetrasiklin, aminoglikozid gibi diğer sınıf antibiyotiklere de dirençlidir. TK-MRSA'ların çoğu ise tersine sadece  $\beta$ -laktamlara dirençlidir. Yine ABD'deki suşların çoğu siprofloksasine duyarlı iken, plazmid aracılı *msr(A)* genine sahip USA300 suşlarının bazıları makrolidlere dirençlidir. USA300 suşları ayrıca yine plazmid aracılı *tet(K)* ve *erm(C)* genlerini de kazanabilir. Avrupa kaynaklı TK-MRSA suşlarının bazıları tetrasiklin ve fusidik aside dirençlidir. Bu nedenle toplum kökenli suşların antibiyogramlarını dikkatle değerlendirmek gereklidir (228). Ayrıca, virülansı yüksek PVL toksin üreten suşların hastanelere yerleşmesi tehditi sürmektedir. Bu nedenle MRSA suşunun toplum kökenli veya hastane kökenli olmasından çok PVL pozitif veya negatif olması daha önemli gibi görünmektedir. Ayrıca, klinik ve referans laboratuvarlarının bu ayırımları yapabilmesi ve değişimlerinin zamanında saptaması önemlidir (222).

Enfeksiyonun başarıyla tedavisi; etken organizmanın izolasyonu, tanımlanması, çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenip özgün tedavi seçeneklerinin ortaya konulması ve hekimin bu seçenekleri kendisine sunan laboratuvar sonuçlarına göre hareket etmesiyle sonuçlanan bir dizi doğru basamakla mümkündür. Gram pozitif bakterilerin tedavisinde kullanılan pek çok antibiyotik, enterokoklara karşı etkili olamaması nedeniyle; enterokokal enfeksiyonların tedavisi diğer Gram pozitif bakterilere göre daha zordur. Bu durumdan enterokokların birçok antibiyotiğe doğal direnç göstermelerine ek olarak, yeni mekanizmalarla antibiyotik direnci oluşturmaları ve bu direnci aktarabilmeleri sorumlu tutulmaktadır (229).

Enterokoklar *S.aureus*'tan sonra birçok bölgede ikinci sırada etken olan nozokomiyal enfeksiyonların sık nedenlerindedir. Enterokoklar *S.aureus*'tan farklı olarak primer patojen değildir. İnsan bağırsak florasının bir üyesi olan bu mikroorganizma sağlıklı kişilerde üriner sistem hariç herhangi bir soruna yol açmaz. Hatta gastrointestinal sistem üzerine pozitif etkileri olduğu düşünülmekle birlikte

hastanedeki hastalar için fırsatçı bir patojendir (222, 225). *E.faecium*'da bazı suşlar fırsatçı patojen olmanın yanı sıra gerçek patojenler gibi davranır. Çeşitli klinik tablolara yol açan enterokoklar nozokomiyal kan akımı enfeksiyonlarında üç veya dördüncü sırada yer alıp hastanede kalma süresini uzatır ve mortaliteyi artırır (225). Çoğunlukla klinik olarak izole edilen *E.faecalis* (%80) olmasına rağmen çok ilaca dirençli olması nedeniyle *E.faecium* (%20) daha büyük öneme sahip klinik izolattır. Enterokoklarda glikopeptid ve yüksek seviyeli aminoglikozid direnci paralel gider (225). Tüm enterokoklar sefalosporinlere dirençlidir. İstisnası *E.faecalis* ve seftobiproldür.

Tek başına enterokoklara bakterisidal etki gösteren bir antibiyotik günümüzde bulunabilmiş değildir. Tedavinin temeli hücre duvarına etkili bir ajan ve bir aminoglikozidin (genelde gentamisin) eklenmesiyle sağlanan sinerjistik etkili kombine antibiyotik kullanımı şeklindedir. Horizontal yolla kazanılan direnç ile bu kombinasyonun bakterisidal etkisinin ortadan kaldırılması en önemli problemlerden biridir. Enterokoklar düşük afiniteli PBP'leri nedeniyle pek çok  $\beta$ -laktam antibiyotiğe düşük duyarlılığa sahiptir. İki önemli direnç mekanizması vardır;  $\beta$ -laktamaz ve modifiye PBP'nin (özellikle PBP-5 ve daha az olarak PBP-4) aşırı üretilmesidir. İlki daha sık ikincisi ise nadirdir. *E.faecium*'da ampisilin direnci hızla yayılmaktadır (225, 230). *E.faecium*'ların %100'üne yakını ampisiline dirençlidir. *E.faecalis* için ise ampisilin direnci hala sorun değildir (<%1). *E.faecalis*'te  $\beta$ -laktam direnci  $\beta$ -laktamaz ve PBP-4 mutasyonu üzerindedir (231).

Çoğu antibiyotiğe intrinsek direnci olan enterokokların tedavisinde trimetoprim-sulfametoksazol, kloramfenikol, rifampisin ve makrolidler önerilmemektedir. Kinolonlar tek başına kullanıldıklarında hızla direnç geliştiği gözlemlendiğinden, duyarlı olduğu gösterilmeden ampirik olarak tek başına bir kinolon kullanılması önerilmemektedir. Enterokoklarda ampisilin, aminoglikozid ve son yıllarda giderek artan sıklıkta glikopeptid direnci de gözlenmektedir. Vankomisine dirençli enterokokların, aynı zamanda tüm penisilin ve aminoglikozidlere karşı yüksek düzeyde dirençleri vardır. Vankomisine dirençli suşlarla gelişen enfeksiyonlarda tedavi seçenekleri, bir glikopeptid ile birlikte aminoglikozid kombinasyonu ya da linezolid, daptomisin, tigesiklin gibi daha yeni antibiyotiklerin kullanılmasıdır (232).

Bindokuzyüzseksenaltı yılında ilk izole edildiğinden bu yana VRE tüm dünyada problem olarak ortaya çıkmıştır (231). CDC'nin verilerine göre 2006-2007 yıllarında VRE oranı *E.faecium*'da %80 iken, *E.faecalis*'te %6.9 olarak gösterilmiştir (233). Glikopeptid direnci Avrupa ülkelerinde aminoglikozid direncine göre daha düşüktür ve *E.faecium*'da daha belirgindir. Vankomisin direnci *E.faecium*'da *E.feacalis*'e göre 10 kat daha fazladır. İngiltere ve İrlanda'da *E.faecalis* ve *E.faecium* için direnç oranları sırasıyla %2.8 ve %32'dir. VRE insidansı Avrupa'da 2006 yılında %4.5'ten, 2007 yılında %10.7'ye ulaşmıştır (234). *E.faecium* suşlarında vankomisine direnç oranı Avrupa ülkelerinde 2005 yılında %17.9'dan 2007 yılında %26.3'e çıkmıştır (234). Öte yandan Amerika BirleşikDevletleri'nde glikopeptid direnci 50 merkezden gelen verilere göre %28 olarak gösterilmiştir (235). 2002-2008 yılları arasında sörveyans verilerine göre izole edilen 2875 *E.faecium* suşunun sadece %20.2'si vankomise duyarlı bulunmuştur (234). Yine bu ülkede 2004 yılında *E.faecium*'da vankomisin direnci %72.4 iken, *E.faecalis*'te %9.6 olarak gösterilmiştir (226).

Enterokoklar çevrede kolonize olma ve ortamda kalma potansiyeline sahiptir. Önceden VRE ile kolonize ya da enfekte olduğu bilinen bir hastanın yattığı hasta odası, iki hafta boyunca yatan hastalar için kolonizasyon riski taşır. Ayrıca, VRE ile kolonize hastada kan akımıyla ilişkili enfeksiyon gelişme olasılığı artar (230). Pek çok ülkede görülen glikopeptide dirençli enterokoklarla gelişen hastane salgınları klonal yayılımın önemini göstermektedir. Endojen enterokokal flora ile karşılaştırıldığında hastane ortamındaki enterokokların daha yüksek seviyede kolonizasyon yeteneği, hızla artması, konak dokularını invaze etmesi ve ısrarcı olarak kalması bugünkü enterokok gerçeğinin diğer bir yüzüdür. Hastanede salgınlara yol açan tüm dünyada bulunan glikopeptide dirençli *E.faecium* suşları bir klinikten diğerine farklılık gösterir (230, 231).

Dış ortama karşı dayanıklı olan enterokoklar, hastane enfeksiyonlarında önemli etkenler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bakterinin gastrointestinal sistemdeki kolonizasyonu; altta yatan ciddi bir hastalık, geçirilmiş bir cerrahi operasyon, böbrek yetmezliği, nütropeni, organ nakilleri gibi durumlarda daha kolay olmaktadır. İdrar yolları ya da damar içi katater uygulamaları, vankomisin, sefalosporin ve penisilinlerin yaygın kullanımı ve hastaların hastanede kalış sürelerindeki uzamalar

nedeniyle enterokokkal hastane enfeksiyonlarının giderek bir artış gösterdiği bilinmektedir. Bunların sonucu olarak da bu bakterilerin özellikle doğal dirençlerinde artış ortaya çıkmakta ve enfeksiyonlarının tedavisinde ciddi sorunlar yaşanmaktadır (98, 236-238).

*Staphylococcus aureus* ve enterokokların tedavisinde kullanılan bir antibiyotik olan daptomisin, sikliklipopeptit olarak adlandırılan grubun ilk üyesi olup ABD'de 2003, Avrupa'da 2006 yılında MRSA dahil *S.aureus* bakteremisi ve sağ kapak endokarditi için lisans almıştır. *S.aureus*'lara hızlı bakterisidal etkilidir. Klinik GISA/VISA suşlarında vankomisin duyarlılığında azalmayla ilişkili olarak daptomisin duyarlılığında azalma ve daptomisine dirençli mutantların in vitro seçilmesi önemlidir. Ancak VISA nadir olması nedeniyle çoğunlukla daptomisine duyarlıdır. Tedavi sırasında MRSA MIK'lerinin 0.5 mg/L'den 2.4 mg/L'ye çıkması nedeniyle endokarditte tedavi başarısızlığı görülmüştür. Daptomisine direnç mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Transfer edilebilir daptomisin direnci de gösterilmemiştir. Ancak çevrede bulunan *Streptomyces roseosporus* intrinsek dirençlidir ve direnç genlerinin olası kaynağı olabilir. Daptomisine dirençli izolatlarda saptanan fenotipik özellikler şunlardır: sitoplazmik membran akıcılığının artması, pozitif olarak yüklenmiş translokasyonun artması, net pozitif membran yüzey yükünde artış, daptomisinin depolarizasyonu, permeabilizasyonunda ve otolizinde azalma ve daptomisinin membran yüzeylerine bağlanmasında azalma (239).

Daptomisine karşı direnç çok nadir olmakla birlikte stafilokokların daptomisin direncinde *mprF* (lizil fosfatidil gliserol sentetazı kodlayan), *yyeG* (histidin kinazı kodlayan) ve *rpoB* ve *rpoC* (RNA polimeraz subunitlerini kodlayan) genlerindeki mutasyonlar rol oynadığı belirlenmiştir (212). Daptomisine dirençli *S.aureus* suşlarında daptomisinin hücre membranına bağlanmasında azalma gösterilmiştir (213). *S.aureus* ve enterokok kökenlerinde daptomisine karşı direnç oranları halen çok düşüktür (193). Glikopeptidlerin MIK düzeylerinin artmasına paralel, daptomisinin MIK değerlerinde de bir artış dikkati çekmiştir. Bu durum, aynı mekanizmaların direnci etkilediğini düşündürmekte, ayrıca direnç sorununun ne kadar büyük ve karmaşık bir tehdit olduğunu bir kez daha vurgulamaktadır (240, 241).

Bir değer önemli noktada vankomisin ve daptomisin MİK değerleri arasındaki ilişkidir. Heterorezistan Vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA) ve VISA suşlarında daptomisin MİK değerlerinde 1-2 mg/L artış olması dikkate değerdir (239). Bunun klinik önemi halen açık olmamakla birlikte in vitro bir enfektif endokardit modelinde *S.aureus* bakteremisinde daptomisin MİK değeri 2 mg/L olan enfeksiyonlarda standart doz yerine (6 mg/kg), 10 mg/kg verildiğinde tedavinin başarısında ve direncin önlenmesinde daha etkili olduğu gösterilmiştir (242). Özellikle önceden vankomisin kullanımı olan olgularda daptomisin kullanımı söz konusu ise bu durumun göz önünde tutulması ve yüksek doz daptomisin başlanması konusunda uyarıcı bir özellik olarak algılanması gerekebilir (239).

Daptomisin, Gram pozitif bakterilere karşı etkili bir antibiyotik olup özellikle son yıllarda daha sık karşılaştığımız MRSA ve VRE enfeksiyonlarına karşı etkili yeni bir seçenektir. Bakterisidal etkisi hızlı başlar. Günde tek doz kullanımı önemli bir avantajdır.

Silverman ve ark. (243) spontan direnç sıklığını, artan ilaç konsantrasyonları varlığında, seri pasaj ve kimyasal mutasyon yöntemlerini kullanarak *S.aureus* ( $<10^{10}$ ), *S.epidermidis* ( $<10^9$ ), *E.faecium* ( $<10^9$ ), *E.faecalis* ( $<10^9$ ), *S.pneumoniae* ( $<10^8$ ) suşlarında in vitro daptomisin direncini araştırmışlar, bu üç yöntemle spontan dirençli mutant gözlenmediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada popülasyon analizine göre daptomisine bakterilerin duyarlılıklarının heterojen olduğu; kalsiyum konsantrasyonu ve kültür yoğunluğunun bakteri direnç oranlarını etkilediği gösterilmiştir. Hem sıvı besiyerlerine yapılan seri sulandırmalar hem de kimyasal mutajenlerle kararlı *S.aureus* mutantları izole edilmiş ve bu izolatlarda daptomisin MİK değerlerinin orijinal suşlara oranla 8-12 kat daha fazla olduğunu da belirtilmiştir. Bu çalışmada yüksek MİK değerleri ( $>12,5$  mg/ml) elde edilen pek çok *S.aureus* mutantının önemli büyüme defektine sahip olmasına rağmen tipik küçük koloni varyantlarını göstermediği de ifade edilmiştir. Artan ilaç konsantrasyonlarında, kimyasal mutajenlerle ortaya çıkan daptomisine dirençli bazı mutant suşların önemli virülans kaybına uğradığını da belirten Silverman ve arkadaşları elde edilen bu sonuçlara göre bazı daptomisin dirençli organizmalar ile oluşan enfeksiyonların halen kolayca tedavi edilebileceğine vurgu yapmışlardır (243).

Daptomisini deaçilasyon ile inaktive eden bir aktinomiçes (*Actinoplanes utahensis*) türünden de bahseden Montero ve ark. (244) Gram pozitif bakterilerde daptomisine direnç gelişiminin nadir olduğunu ancak bu antimikrobiyalle uzun süre tedavi gören olgularda *S.aureus* ve enterokok türlerinde direnç geliştiğine ilişkin birçok raporun bulunduğunu; glikopeptid kullanımından sonra daptomisin direncinin gelişebileceğini belirtmiştir. Bu direncin kesin mekanizması henüz belirlenmemesine rağmen, vankomisinin bakteri hücre duvarının kalınlaşmasını tetiklediği ve böylece daptomisinin membran geçişini azalttığı düşünülmektedir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde Canton ve ark. (234) tarafından yapılan 2002-2008 yıllarını kapsayan sörveyans çalışmasında daptomisin duyarlılığını, 4496 *E.faecalis* suşu için %99,9 (MIK<sub>90</sub>: 1 mg/l), 2875 *E.faecium* suşu için %99,5 (MIK<sub>90</sub>: 4 mg/l) olarak tespit etmişlerdir. Elde edilen bu sonuçların 2005-2007 yılları arasında Avrupa'da yapılan ve daptomisinin enterokok suşlarına %100 etkili olduğunu ve MIK<sub>90</sub> değerlerinin *E.faecalis*'de 1 mg/l, *E.faecium*'da ise 2 mg/l olarak bulunduğunu bildiren sörveyans çalışması ile uyumlu olduğunu bildirmişlerdir. Rathe ve ark. (245) izole edilen 124 enterokok suşunun daptomisin duyarlılığını disk difüzyon, BMD ve E-test ile araştırmışlar ve disk difüzyonla tamamının (%100) duyarlı olduğunu; MIK<sub>50</sub> değerinin 1mg/l ve MIK<sub>90</sub> değerinin de 2mg/l olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada biri dışında tüm suşların hem E-test hem de BMD ile daptomisine duyarlı olduğu; E-test ile belirlenen MIK değerlerinin mikrodilüsyonla belirlenen değerlerden biraz daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hsueh ve ark. (246) daptomisinin vankomisine dirençli *E.faecium* suşlarının %70'inde, *E.faecalis* suşlarının ise tamamında etkili olduğunu göstermişlerdir. Jorgensen ve ark. (247) Amerika Birleşik Devletleri'nin farklı bölgelerinde toplanan VRE suşlarını inceleyen bir çalışmasında; daptomisin MIK değerlerinin 8µg/ml'e ulaştığı gösterilmiştir. Fluit ve ark. (248) *E.faecalis*'de MIK değerlerini 0.5-4 µg/ml arasında, *E.faecium*'da ise 0.25-8 µg/ml arasında bulmuş, *E.faecalis*'de MIK<sub>50</sub>: 0.5, MIK<sub>90</sub>: 4, *E.faecium* için MIK<sub>50</sub>: 4, MIK<sub>90</sub>: 4 olarak bulmuştur. Johnson ve ark. (249) çalışmalarında bu çalışma ile son derece uyumlu sonuçlar almışlardır. Johnson, ticari olarak hazır Mueller Hinton Agar yerine, İso Sensitif Agar'ın kullanılması durumunda, daptomisine duyarlılığın daha fazla olduğunu bildirmiştir.

Gales ve ark. (250) Ocak 2005-Eylül 2008 tarihleri arasında Brezilya'daki hastanelerden 3907 Gram pozitif suşun antibiyotik duyarlılıklarını sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile test etmişlerdir. 754 enterokok suşunun tümü daptomisine duyarlı, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri 1 µg/ml olarak bulunmuştur. *E.faecalis* suşlarının MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri *E.faecium* suşlarından daha düşük olarak tespit edilmiştir. Vankomisin direnci ile daptomisin MİK değerleri arasında ilişki bulunmamıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada klinik izolatlarda daptomisin MİK değerleri araştırılmış ve vankomisine dirençli *E.faecalis* suşlarının MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri, vankomisine duyarlı olanlardan iki kat yüksek bulunurken, *E.faecium* suşlarında böyle bir fark görülmemiş ve aynı sonuçlar elde edilmiştir (198).

Daptomisinin in vitro aktivitesi katyonların varlığına bağlı olup, duyarlılık testinde kullanılacak Mueller Hinton Agara final konsantrasyonunda litrede 50 mg Ca<sup>+2</sup> ve 25mg magnezyum eklenmesi önerilmiştir (249). E-test ve BMD ile yapılan çalışmalarda, Ca<sup>+2</sup> seviyesi 25-40 µg/ml arasında olan Mueller Hinton Agarın E-test çalışmaları için uygun olduğunu, fakat ticari olarak hazırlanan besiyerlerinde bulunan serbest kalsiyum oranının değişken olduğunu ve bu yüzden E-test sonuçlarını etkileyebileceği ifade edilmektedir (245, 249, 251).

Fuchs ve ark. (251) ise *E.faecalis*'te E-test sonuçlarını (MİK<sub>50</sub>: 1, MİK<sub>90</sub>: 2) olarak, BMD sonuçlarını ise (MİK<sub>50</sub>: 1.5, MİK<sub>90</sub>: 2) olarak tespit etmişler *E.faecium*'da ise E-test ve BMD ile aynı sonuçları (MİK<sub>50</sub>: 2, MİK<sub>90</sub>: 4) bulmuşlardır.

Dinç ve ark. (252)'nin yaptığı çalışmaya; 2003 ile 2010 yılları arasında kandan izole edilen toplam 99 MRSA suşu dahil edilip, MRSA izolatlarının vankomisin, tigesiklin, linezolid ve daptomisine karşı antibiyotik duyarlılığı E-test yöntemi ile çalışılmış ve tüm suşlar daptomisin duyarlı bulunmuş.

Zhang ve ark. (253)'nin 2010 ile 2011 yılları süresince 17 eğitim hastanesinden toplanmış 2679 tane Gram pozitif izolatla, mikrobrot ve agar dilüsyon yöntemi kullanılarak ilaç duyarlılığına bakılmış. Yapılan çalışmada izolatların hepsi daptomisin, vankomisin ve linezolide duyarlı bulunmuştur.

Yaptığımız bu tez çalışmasında da Biomerieux S.A.-France'in E-testleri kullanılmış ve daptomisinin MİK değerleri, *S.aureus* için MİK<sub>50</sub>: 0.5 µg/ml, MİK<sub>90</sub>:

1 µg/ml, *E.faecium* için MİK<sub>50</sub>: 2.5 µg/ml, MİK<sub>90</sub>: 3 µg/ml olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdaki bakterilerin hepsi daptomisine duyarlı bulunmuştur.

Ülkemizde yapılan Çelikkilek ve ark.'nın yaptığı çalışmada, daptomisin MRSA tedavisinde halen etkin olduğu görülmüştür. MİK<sub>50</sub>, MİK<sub>90</sub> değerlerini sırasıyla 0.09 ve 0.19 bulunmuştur. Bu MİK değerlerinin bizim çalışmamızdaki değerlerden daha düşük olması dikkat çekicidir (254). Yine ülkemizde Öksüz ve ark. tarafından 2007-2009 yılları arasında toplanan 49 MRSA suşunda yapılan E-test çalışmasında; suşlarının hepsi daptomisin, linezolid ve kinupristin/dalfopristin'e duyarlı bulunmuş (255).

Gerek hastane kökenli, gerekse toplum kökenli MRSA ve VRE enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak tedavi seçenekleri direnç ve yan etki nedeniyle azalmaktadır. Glikopeptidlere artmış direnç oranlarının yanısıra duyarlı sınırlarda kalsa dahi MİK'in azalması nedeniyle güvenle tercih edilememektedir. Başka bir deyişle MİK değerleri 1-2 mg/L arasında olan *S.aureus* suşları hala duyarlı sınırlardadır ama vankomisin tedavisine yanıtları düşüktür. Ancak yüksek doz vankomisin nefrotoksisite riski de göz önünde tutulmalıdır (256). Linezolidin hematolojik yan etkileri, kinupristin-dalfopristinin atralji, miyalji ve venöz yetmezlik gibi yan etkileri söz konusudur. Tedavi başarısızlığı klinik tablonun kötüleşmesine, bunun sonucu olarak da hastanede kalış süresinin ve maliyetin artmasına neden olur. MRSA oranlarının yüksek olduğu yerlerde komplike yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde antistafilokokal bir antibiyotik kullanıldığı zaman hastaların iyileşme süresinin kısaldığı, hastanede kalış sürelerinin ve maliyetin azaldığı gösterilmiştir. Bu anlamda hızlı progresyon gösteren ve MRSA enfeksiyonlarının dışlanamadığı durumlarda in vivo bakterisidal etki gösteren, hızlı klinik yanıt alınan bir ilaç seçeneği olarak daptomisin uygun olacaktır. 4 mg/kg daptomisin tedavisiyle yumuşak doku enfeksiyonlarında klinik yanıt oldukça iyidir, ancak bakteremi veya osteomyelitin eşlik ettiği enfeksiyonlarda daha yüksek dozda kullanılması önerilmektedir (257).

Dağı ve ark. (258)'nin kan kültüründen izole ettiği 100 enterekok suşunun E-test yöntemiyle daptomisin duyarlılığı değerlendirilmesi sonucunda; tüm suşlar daptomisine duyarlı bulunmuş. Aynı şekilde Şamlıoğlu ve ark. (259)'nin 2010

yılında yaptığı Gram pozitif koklardaki daptomisin duyarlılığı çalışmasında E-test yöntemiyle tüm suşlar daptomisin ve linezolidde duyarlı bulunmuş.

Dirençli bir bakterinin organizmadan uzaklaştırılması için savaşta manevra yeteneğimiz yeni ve etkili bir antibiyotiğin keşfedilmesine kadar sınırlanmış durumdadır. Böyle bir durum meydana geldiğinde bakterinin yaptığı enfeksiyonlarda mortalite oranlarının yüksek seviyelere çıkacağı beklenmesi gereken bir sonuçtur. Dünyanın hemen her yerinde artan antibiyotik direnci nedeniyle özellikle MRSA ve VRE gibi Gram pozitif enfeksiyonlar için yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak; çalışmamızda MRSA ve VRE suşlarının hepsi daptomisine duyarlı bulunmuştur. Son yıllarda MRSA ve VRE gibi bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan birçok ilaca karşı gelişen direnç nedeni ile sorunlar yaşanmaktadır. Gram pozitif bakterilere etkili olan daptomisinin, bu tür mikroorganizmaların etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde uygun endikasyonlarda kullanılacak elimizdeki nadir ilaçlardan biridir. Ülkemizdeki ve dünyadaki daptomisin duyarlılık direnç verileri yeterli olmayıp yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 5. KAYNAKLAR

1. Billiau A. Penicillin in Belgium 1945-1952. Verh K Acad Geneesk Belg 2009; 71: 165-203.
2. Ostroff SM, Leduc JV. Global Epidemiology of Infectious Diseases. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone 2000: 167-168.
3. Tanır G, Göl N, Antibiyotik direnci, Klimik Dergisi 1999; 12: 47-54.
4. Şardan YÇ. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü, Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane Enfeksiyonları. Günaydın M, Esen Ş, Seriş A, Leblebicioğlu H, (editörler), SİMAD Yayınları, 2002; 1: 317-335.
5. Peşken Y. Hastane Enfeksiyonları Epidemiyolojisi. Günaydın M, Esen Ş, Seriş A, Leblebicioğlu H, (editörler). SİMAD Yayınları, 2002: 203-213.
6. Wenzel RP. Methicillin-resistant Staphylococcus outbreak: A consensus panel's definition and management guidelines. Am J Infec Cont 1998; 26: 102-110.
7. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. Microbiology 2009; 155: 1749-1757.
8. Arman D. Dirençli Gram pozitif kok enfeksiyonları: Kullanımdaki tedavi seçenekleri. ANKEM Derg 2008; 22: 287-296.
9. Unat EK. Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi. İstanbul: Dergah Tıp Yayınları, 1982: 428-445.
10. Waldvogel FA. *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). MandellGL, Bennett JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone, 2000: 2069-2092
11. Cengiz AT. Staphylococcus. Ustacelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Kitabından. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 339-346.
12. Jevons MP. 'Celbenin'-resistant staphylococci. Br Med J 1961; 1: 124-125.

13. Hartstein AI, Mulligan ME. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Glen Mayhall C (ed). Hospital epidemiology and infection control. Maryland: Williams and Wilkins, 1986: 290-306.
14. Schmitz FJ, Jones ME. Antibiotics for treatment of infections caused by MRSA and elimination of MRSA carriage. What are the choices? Int J Antimicrob Agents 1997; 9: 1-19.
15. Hashimoto H, Inoue M, Hayashi I. A survey of *Staphylococcus aureus* for typing and drug resistance in various areas of Japan during 1992 and 1993 [Japanese]. Jap J Antibiotics 1994; 47: 618-626
16. Kaatz G, Seo SM, Dorman NJ, Lerner SA. Emergence of teicoplanin resistance during therapy of *Staphylococcus aureus* endocarditis. J Infect Dis 1990; 162: 103-8.
17. Brunet F, Vedel G, Dreyfus F, Vaxelaire JF, Giraud T, Schremmer B, Monsallier JF. Failure of teicoplanin therapy in two neutropenic patients with staphylococcal septicemia who recovered after administration of vancomycin. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990; 9: 145-147.
18. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother 1997; 40: 135-6.
19. Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, et al. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. Lancet 1997; 350: 1670-1673
20. Centers for Disease Control and Prevention. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin-United States 1997. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1997; 46: 765-766.
21. Centers for Disease Control and Prevention. Update: *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin-United States 1997. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1997; 46: 813-815.
22. Centers for Disease Control and Prevention. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin-Japan States 1997. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1997; 46: 624-626.

23. Centers for Disease Control and Prevention. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin-Illinois, 1999. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2000; 48: 1165-1167.
24. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, Cruz C, Lancaster MV, Robinson-Dunn B, et al. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med 1999; 340: 493-501.
25. Sieradzki K, Roberts RB, Haber SW, Tomasz A. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. N Engl J Med 1999; 340: 517-523.
26. Fridkin SK. Vancomycin-intermediate and resistant *Staphylococcus aureus*: what the infectious disease specialist needs to know. Clin Infect Dis 2001; 32: 108-15.
27. Ploy MC, Grelaud C, Martin C, de Lumley L, Denis F. First clinical isolate of vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. Lancet 1998; 351: 1212.
28. McManus J. Vancomycin resistant staphylococcus reported in Hong Kong. BMJ 1999; 318: 626.
29. Mi-Na K, Pai CH, Woo JH, Ryu JS, Hiramatsu K. Vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* in Korea. J Clin Microbiol 2000; 38: 3879-3881.
30. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop GW, Schreckenberger PC, Woods GL. Gram Positive Cocci. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Darcy P. Lippincott Williams Wilkins. Baltimore: 2006; 623-671.
31. Bilgehan, H, 1992, Klinik mikrobiyolojik tanı, Barış Yayınları, Bornova. 448-458
32. Bilgehan H. Staphylococcus. Özel Bakteriyolojive Bakteri Enfeksiyonları. İzmir: Fakülteler Kitapevi Barış Yayınları, 2000: 239-268.
33. Dündar V, Dündar DE. Stafilokoklar. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Cilt 2. Topçu AW, Söyletir G, Doganay M (editörler). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri 2002: 1507- 1516.

34. Ostroff SM, Leduc JV. Global Epidemiology of Infectious Diseases. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone, 2000: 167-168.
35. Joklik WK, Willet HP, Amos DB, Wilfet C. Zinsser Microbiology. Twentieth Edition, Appleton and Lange, 1992: 401-416.
36. Megan Simmer. Prescription Antibiotics–How Exactly Do These Drugs Work [Online], Science Creati ve Quarterly.2003. <http://www.scq.ubc.ca/prescription-antibiotics-how-exactly-do-these-drugs-work/> Erişim Tarihi: 20.10.2013
37. Hiramatsu K. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance Lancet Infectious Diseases 2001; 1: 147–155.
38. Ustaçelebi ř. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. İstanbul: Güneş Kitabevi, 1999: 15.
39. Tunger A. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Ulusoy S, Usluer G, Unal S (editörler). Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004: 9-68.
40. Que A, Philippe M. *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th. (ed). Philadelphia: Churchill Livingstone, 2010; 2543–2579.
41. Tefvik CA. Stafilokoklar. Ustaelebi ř. (ed) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003: 339-348.
42. Hardy KJ, Hawkey PM, Gao F, Oppenheim BA. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill. Br J Anaesth 2004; 92: 121-130.
43. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. New England J Med 1998; 339: 520–531.
44. Shulman ST. Sthaphylococci, Staphylococcal disease, and toxic shock syndromE. In: Shulman ST, Phair JP, Peterson LR, Warren JR (eds). The Biologic and Clinical Basis of Infectious Disease 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1997; 505–514.
45. Bulger RJ, Sherris JC: Decreased incidence of antibiotic resistance among *Staphylococcus aureus*. Ann Intern Med 1968; 69: 1099–1108.

46. Batıktulu S. Çeşitli klinik materyallerden izole edilen *S.aureus* suşlarında metisilin direnci ve E-test ile Vankomisin MIC değerlerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi. S.B. Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2006: 12.
47. Ünal S. Akhan S. Stafilocok infeksiyonları. Topçu AW, Söyletir G. Doğanay M (ed). Infeksiyon Hastalıkları Kitabı. Birinci baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 1996: 773-781.
48. Koneman EW. The Gram positive cocci Part I: Staphylococci and related organisms. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fifth edition, Philadelphia: Lippincott Company, 1997: 539-576.
49. Hajek V, Meugnier H, Bes M. Staphylococcus saprophyticus subs. Bovis subs. nov. isolated from bovine nostrils. Int J Syst Bacteriol 1996; 46: 792–796.
50. Bilgehan, H. Klinik mikrobiyoloji özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları Bornova: Barış Yayınları, 1994; 188–211.
51. Bouvet A, Fournier JM, Audurier A, Branger C, Orsoni A, Girerd C. Epidemiological markers for epidemic strain and isolates in an outbreak of nosocomial oxacillin-resistant *S.Aureus* J Clin Microbiol 1990; 28: 1338.
52. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. The Staphylococci. Brooks GF, Butel JS, Morse SA (ed). Medical Microbiology. 12. Baskı New York: Javets, Melnick & Adelberg's 2004: 223-230.
53. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S. *Staphylococcus aureus*: Mikrobiyoloji, Patogenez ve Epidemiyoloji. Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp, 2004: 9-71.
54. Kaneko J, Kamio Y. Bacterial two-component and hetero-heptameric pore-forming cytolytic toxins: structures, pore-forming mechanism, and organization of the genes. Biosci Biotechnol Biochem 2004; 68: 981-1003.
55. Lindsay JA, Ruzin A, Ross HF, Kurepina N, Novick RP. The gene for toxic shock toxin is carried by a family of mobile pathogenicity islands in *Staphylococcus aureus*. Mol Microbiol 1998; 29: 527-543.

56. Tevfik CA. Stafilokoklar. Ustaçelebi Ş. (ed) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003: 339-348.
57. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 4. Baskı. İzmir: Barış Yayınları, 2004; 495-496
58. Kayser FH, Bienz KH, Eckert J, Zinkernagel RM. Medizinische Mikrobiologie verstehen, lernen, nahschlagen. Georg Thieme Verlag 1998; 12: 56.
59. Martin RR, Buttram V, Besch P, Kirkland JJ, Petty GP. Nasal and vaginal *Staphylococcus aureus* in young women: Quantitative studies. Ann Intern Med. 1982; 96: 951.
60. Murray BE. The life and times of the enterococcus. Clin Microbiol Rev 1990; 3: 46-65.
61. Murray BE. Enterococci: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). Infectious Diseases. Second edition, Philadelphia: W. B Saunders Company, 1998: 1723-1730.
62. Facklman RR, Teixeria LM. Enterococcus, Collier L, Balows A, Sussman M (eds). Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Vol 2 (Systematic Bacteriology). 9th edition, London: Edward Arnold, 1998: 669-682.
63. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fifth edition. Philadelphia: Lippincott Co, 1997: 597-621, 837-839.
64. Devriese A, Kerckhove VD, 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.
65. Wheeler AL, Hartel PG, Godfrey DG, Hill JL, Segars WI. Potential of Enterococcus faecalis as a human fecal indicator for microbial source tracking. J Environ Qual. 2002; 31: 1286-1293.
66. Ruoff KL. Recent taxonomic changes in the genus Enterococcus. Eur J Clin Microbiol Dis 1990; 9: 75-79.

67. Carvalho Mda G, Steigerwalt AG, Morey R. Designation of the provisional new enterococcus species CDC PNS-E2 as *Enterococcus sanguinicola* sp. nov, isolated from human blood, and identification of a strain previously named *Enterococcus* CDC PNS-E1 as *Enterococcus italicus* Fortina, Ricci, Mora, and Manachini 2004. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 3473-3476.
68. Satomi M, Kimura B, Mizoi M, Sato T, Fujii T. *Tetragenococcus muriaticus* sp. nov, a new moderately halophilic lactic acid bacterium isolated from fermented squid liver sauc E. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47: 832-836.
69. Amstein CF, Hartman PA. Differentiation of some *Enterococci* by gas chromatography. *J Bacteriol* 1973; 113: 38-41.
70. Kalina AP. The taxonomy and nomenclature of enterococci. *Int J Syst Bacteriol* 1970; 20: 185-189.
71. Semedo-Lemsaddek T, Tenreiro R, Lopes-Alves P, Barreto-Crespo MT. *Enterococcus*. In "Molecular Detection of Foodborne Pathogens". Liu D (ed), CRS pres, Taylor and Francis Group, Boca Raton, 2010: 157-179.
72. Hardie JM, Whiley RA. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *J App Microbiol* 1997; 83: 1-11.
73. Devriese L, Baele M, Butaye P. The Genus *Enterococcus*: Taxonomy. *Prokaryotes* 2006; 4: 163-174.
74. Botina SG, Sukhodolets VV. Speciation in bacteria: comparison of the 16S rRNA gene for closely related *Enterococcus* species. *Genetika* 2006; 42: 325-330.
75. Tanasupawat S, Sukontasing S, Lee JS. *Enterococcus thailandicus* sp. nov, isolated from fermented sausage ('mum') in Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008; 58: 1630-1634.
76. Wang LL, Qin F, Song C, Zhou ZY. Reclassification of the pathogen for emptygut disease of Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*. *JFAE* 2010; 8: 156-158.
77. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* 2009; 155: 1749-1757.

78. Svec P, Devriese LA, Sedláček I, Baele M, Vancanneyt M, Haesebrouck F, et al. *Enterococcus haemoperoxidus* sp. nov. and *Enterococcus moraviensis* sp. nov, isolated from water. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51: 1567-1574.
79. Kusuda R, Kawai K, Salati F, Banner CR, Fryer L. *Enterococcus serolicida* sp. nov, a fish pathogen. *Int J Syst Bacteriol* 1991; 41; 406-409.
80. Oana K, Okimura Y, Kawakami Y, Hayashida N, Shimosaka M, Okazaki M, et al. Physical and genetic map of *Enterococcus faecium* ATCC19434 and demonstration of intra- and interspecific genomic diversity in enterococci. *FEMS Microbiology Letters* 2002; 207: 133-139.
81. Facklam R, Hollis D, Collins MD. Identification of Gram positive coccid and coccobacillary vancomycin-resistant bacteria. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 724-730.
82. Facklam R, Elliot JA. Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, Gram positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 479-495.
83. Blackall LL, Rossetti S, Christensson C, Cunningham M, Hartman P, Hugenholtz P, Tandoi V. The characterization and description of representatives of 'G' bacteria from activated sludge plants. *Lett Appl Microbiol* 1997; 25: 63-69.
84. Facklam, RR, Carvalho, MGS, Teixeira LM. History, taxonomy, biochemical characteristics, and antibiotic susceptibility testing of enterococci. In Gilmore MS, Clewell DB, Courvalin P, Dunny GM, Murray BE, Rice LB (eds.). *The Enterococci: pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance*. Washington DC: ASM Press, 2002: 1-54.
85. Tyrrell GJ, Turnbull L, Teixeira LM, Lefebvre J, Carvalho Mda G, Facklam RR, Lovgren M. *Enterococcus gilvus* sp. nov. And *Enterococcus pallens* sp. nov. isolated from human clinical specimens. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1140-1145.
86. Manero A, Blanch AR. Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. *Applied And Environmental Microbiology* 1999; 65: 4425-4430.
87. Giridhara Upadhyaya PM, Ravikumar KL, Umopathy BL. Review of virulence factors of enterococcus: An emerging nosocomial pathogen. *Indian J Med Microbiol* 2009; 27: 301-305.

88. Drahovská H, Slobodníková L, Kocíncová D, Seman M, Konceková R, Trupl J, Turna J. Antibiotic resistance and virulence factors among clinical and food enterococci isolated in Slovakia. *Folia Microbiol (Praha)* 2004; 49: 763-768.
89. Willems RJ, Bonten MJ. Glycopeptide-resistant enterococci: deciphering virulence, resistance and epidemicity. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20: 384-390.
90. Varman M, Chatterjee A, Abuhammour W. Enterococcal infection. *Emedicine*. Co Online article available at <http://emedicine.medscape.com/article/971259-overview> last edited 12 Nov 2009.
91. Giridhara Upadhyaya PM, Umapathy BL, Ravikumar KL. Comparative study for the presence of enterococcal virulence factors gelatinase, hemolysin and biofilm among clinical and commensal isolates of *Enterococcus faecalis*. *J Lab Physicians* 2010; 2: 100-104.
92. Schlievert PM, Gahr PJ, Assimacopoulos AP, Dinges MM, Stoehr JA, Harmala JW, et al. Aggregation and binding substances enhance pathogenicity in rabbit models of *Enterococcus faecalis* endocarditis. *Infect Immun* 1998; 66: 218-223.
93. Nallapareddy SR, Singh KV, Duh RW, Weinstock GM, Murray BE. Diversity of ace, a gene encoding a microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules, from different strains of *Enterococcus faecalis* and evidence for production of ace during human infections. *Infect Immun* 2000; 68: 5210-5217.
94. Kocha S, Hufnagel M, Theilacker C, Huebner C. Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. *Vaccine* 2004; 22: 822-830.
95. Huycke MM, Moore D, Joyce W, Wise P, Shepard L, Kotake Y, Gilmore MS. Extracellular superoxide production by *Enterococcus faecalis* requires Demethyl menaquinone and is attenuated by functional terminal quinol oxidases. *Mol Microbiol* 2001; 42: 729-740.
96. Huycke MM, Joyce W, Wack MF. Augmented Production of Extracellular superoxide by blood Isolates of *Enterococcus faecalis*. *J Infect Dis* 1996; 173: 743-746.

97. Duprè I, Zanetti S, Schito AM, Fadda G, Sechi LA. Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolates collected in Sardinia (Italy). *J Med Microbiol* 2003; 52: 491-498.
98. Çelik Ü, Alhan E. Pediatrik enfeksiyonlarda zorlu patojen: Enterokoklar. *Çocuk Enf Derg* 2008; 2: 58-66.
99. Çomoğlu S. Dirençli Gram Pozitif Bakterilerde Linezolid'in in vitro Aktivitesinin E-Test Yöntemiyle Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul: T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, 2008.
100. Tok NÇ. Enterokoklarda Vankomisin Direnci. Uzmanlık Tezi. İstanbul: T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, 2006.
101. Duckro AN, Blom DW, Lyle EA, Weinstein RA, Hayden MK. Transfer of vancomycin-resistant enterococci via health care worker hands. *Arch Intern Med* 2005; 165: 302-307.
102. Goh SH, Facklam RR, Chang M, Hill JE, Tyrrell GJ, Burns EC, et al. Identification of *Enterococcus* species and phenotypically similar *Lactococcus* and *Vagococcus* species by reverse checkerboard hybridization to chaperonin 60 gene sequences. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3953-3959.
103. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE. The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 222-35.
104. Stefani S, Goglio A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: related infections and antibiotic resistance. *Int J Infect Dis* 2010; 14: 19-22.
105. Tsiodras S, Gold HS, Sakoulas G, Eliopoulos GM, Wennersten C, Venkataraman L, et al. Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 2001; 358: 207-208.
106. Mangili A, Bica I, Snyderman DR, Hamer DH. Daptomycin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1058-1060.

107. Ünal S. Staphyococcus aureus: Direnç mekanizmaları. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (Editörler). Önemli ve sorunlu Gram pozitif bakteri infeksiyonları'nda. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004: 23-38.
108. Chambers HF. Penicillins. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds). Principles and Practise of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 281-294.
109. Reynolds PE, Brown DFJ. Penicillin-binding protiens of betalactam-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. FEBS Lett 1985; 192: 28–32.
110. Hartman BJ, Tomasz A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with betalactam resistance in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol 1984; 158: 513–516.
111. Chanbers HF: Ceftobiprole: vivo profile of a bactericidal cefalosporins. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 17-22
112. Vaudaux P, Gjinovci A, Bento M, Li D, Schrenzel J, Lew DP. Intensive therapy with ceftobiprole medocaril of experimental foreign-body infection by methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, Antimicrobial Agents Chmother 2005; 49: 3789-93.
113. Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A new class of genetic element, Staphylococcus Cassette Chromosome mec, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 1549–55.
114. Chambers HF. Meticillin Resistance in Staphylococci: Molecular and Biochemical Basis and Clinical Implications. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 781-91.
115. Öztürk R. Antimikrobik ilaçlara karşı direnç gelişme mekanizmaları ve günümüzde direnç durumu. İstanbul: İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sempozyum Dizisi No: 31 2002: 83–100.
116. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S. Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 2003; 31-41.
117. Moreillon P, Que YA, Glauser MP, *Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock). Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Pennsylvania, Elsevier Churchill Livingstone, 2005: 2321-2351.

118. Antimikrobik duyarlılık testleri için uygulama standartları. Clinical and Laboratory Standards Institute (Çeviri Editörü Gür D). Onaltıncı bilgi eki. İstanbul Türk Mikrobiyoloji Cem Yayını, 2006: 100-16, (2006).
119. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10.baskı. Ankara: Hacettepe-Taş 2002; 182–327.
120. Nikaïdo H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. Science 1994; 264: 382–8.
121. Yıldız O, Aygen B. Stafîlokokların Antibiyotik Duyarlılığı ve Direnç Sorunu. Enfeksiyon Hastalıkları Serisi 2002; 5: 128-136.
122. Krut O, Sommer H, Kronke M. Antibiotic-induced persistence of cytotoxic *Staphylococcus aureus* in non-phagocytic cells. J Antimicrob Chemother 2004; 53: 167–173.
123. Schmitz FJ, Fluit AC, Hafner D. Development of resistance to ciprofloxacin, rifampin and mupirocin in methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus* isolates. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 3229–3231.
124. Jolly L, Wu S, van Heijenoort J, de Lencastre H, Mengin- LeCreulx D, Tomasz A. The femR315 gene from *Staphylococcus aureus*, the interruption of which results in reduced methicillin resistance, encodes a phosphoglucosamine mutase. J Bacteriol 1997; 179: 5321-5325.
125. Proctor RA, Van Langevelde P, Kristjansson M, Maslow JN, Arbeit RD. Persistent and relapsing infections associated with small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 1995; 20: 95-102
126. Appelbaum PC. Microbiology of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 2007; 45: 165-170.
127. Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol 2001; 9: 486-93.
128. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome (SCC) Elements (IWG-SCC). www.sccmec.org

129. Mulligan ME, Murray-Leisure KA, Standiford HC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of the microbiology, pathogenesis and epidemiology with implications for prevention and management. *Am J Med* 1993; 94: 313-328.
130. Kuwahara-Arai K, Kondo N, Hori S, Tateda-suzuki E, Hiramatsu K. Suppression of methicillin resistance in a *mecA* containing pre-methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* strain is caused by the *mecI* mediated repression of PBP 2' production. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2680-5.
131. Kobayashi N, Taniguchi K, Urasawa S. Analysis of diversity of mutations in the *mecI* gene and *mecA* promoter/operator region of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 717-20.
132. Gregory PD, Lewis RA, Curnock SP, Dyke KG. Studies of the repressor (BlaI) of  $\beta$ -lactamase synthesis in *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol* 1997; 24: 1025–1037.
133. McDougal L, Thornsberry C. The role of  $\beta$ -lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase resistant penicillins and cephalosporins. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 832-839.
134. Zhang HZ, Hackbarth CJ, Chansky KM, Chambers HF. A proteolytic transmembrane signalling pathway and resistance to  $\beta$ -lactams in staphylococci. *Science* 2001; 291: 1962–1965.
135. Salmenlinna S. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Finland. Academic dissertation. Faculty of Medicine, University of Helsinki, Haartman Institute, 2002.
136. Tomasz A, Drugeon HB, De Lencastre HM, Jabes D, McDougal L, Bille J. New mechanism for methicillin resistance in *S.aureus*: clinical isolates that lack the PBP 2a gene and contain normal penicillin-binding proteins with modified penicillin-binding proteins with modified penicillinbinding capacity. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1867-1869.
137. Dumlupınar B. Antibiyotiklere Dirençte Yeni Eğitimler. *Klimik Dergisi* 2001; 14: 47-56

138. Rohrer S, Ehlert K, Tschierske M, Labischinski H, Berger-Bachi B. The essential *Staphylococcus aureus* gene *fmhB* is involved in the first step of peptidoglycan pentaglycine interpeptide formation. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 9351-9355.
139. Berger-Bächi B, Rohrer S. Factors influencing methicillin resistance in staphylococci. *Arch Microbiol* 2002; 178: 165-171.
140. Hackbarth CJ, Miick C, Chambers HF. Altered production of penicillin-binding protein 2a can affect phenotypic expression of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2568-71.
141. Henze U, Sidow T, Wecke J, Labischinski H, Berger-Bachi B. Influence of *femB* on methicillin resistance and peptidoglycan metabolism in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 1993; 175: 1612-20.
142. Lentino JR, Narita M, Yu VL. New antimicrobial agents as therapy for resistant Gram positive cocci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27: 3-15.
143. Hawkey PM. The growing burden of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: 11-19.
144. Shorr AF. Epidemiology of staphylococcal resistance. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 171-176.
145. Rehm SJ, Tice A. *Staphylococcus aureus*: methicillin-susceptible *S.aureus* to methicillin-resistant *S.aureus* and vancomycin-resistant *S.aureus*. *Clin Infect Dis* 2010; 51: 176-182.
146. Jehl F, Chomarat M, Weber M, Gerard A. Antibiyotik Duyarlılık Testinden ReçeteyE. Çev: Söyletir G, Bal Ç, Gür D, Wilke Topçu A. 2. Baskı İstanbul: Bio Merieux Yayınları 2003: 78–83.
147. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Asya Mikrobiyoloji. 4. Baskı. İzmir: Asya Tıp Kitabevi 2005; 54
148. Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downes FP, et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the *vanA* resistance gene. *N Eng J Med* 2003; 348: 1342-1347.

149. Centers for disease Control and Prevention (CDC). *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin-USA 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2002; 51: 565-7
150. Brown DFJ, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ, et al. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). J Antimicrob Chemother 2005; 56: 1000-1018.
151. Küçükbayrak A, Özdemir D. Two new protein synthesis inhibitors: Linezolid and streptogramins (quinupristin/dalfopristin). Turkish Journal of Infection 2006; 20: 145-151
152. Usluer G, Ünal S. Linezolid. Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi 2005; 10: 1-15
153. Murray BE, Nannini EC. Glycopeptides (vancomycin and teicoplanin), streptogramins (quinopristin-dalfopristin) and lipopeptides (daptomycin). Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds). Principles and Practise of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 417-435.
154. Alp Ş, Şardan YÇ. Vankomisine dirençli enterokokların epidemiyolojisi ve kontrolü. Hacettepe Tıp Derg 2008; 39: 89-95.
155. Marothi YA, Agnihotri H, Dubey D. Enterococcal resistance - An overview. Indian J Med Microbiol 2005; 23: 214-219.
156. Vural T, Şekercioglu AS, Ögünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A. Vankomisine dirençli *Enterococcus casseliflavus* suşu. ANKEM Derg 1998; 12: 113.
157. Gonzales RD, Schreckenberger PC, Graham MB, Kelkar S, DenBesten K, Quinn JP. Infections due to vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* resistant to linezolid. Lancet 2001; 357: 1179.
158. Auckland C, Teare L, Cooke F. Linezolid-resistant enterococci: report of the first isolates in the United Kingdom. J Antimicrob Chemother 2002; 50: 743–746.
159. Herrero IA, Issa NC, Patel R. Nosocomial spread of linezolid-resistant, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. N Engl J Med 2002; 346: 867–869.

160. Bassetti M, Farrel PA, Callan DA, Topal JE, Dembry LM. Emergence of linezolid-resistant *Enterococcus faecium* during treatment of enterococcal infections. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21: 593–594.
161. Ito W, Takeda M, Kayaba H, et al. Clinical evaluation after a notification policy of linezolid use: a case series of 22 patients. *J Chemother* 2009; 21: 52-57.
162. Çaylan R, Üstünakın M, Kadımov V, Aydın K, Köksal İ. Fekal ve klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2004; 34: 24-28.
163. Bentorcha F, De Cespédès G, Horaud T. Tetracycline resistance heterogeneity in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 808–812.
164. Trieu-Cuot P, de Cespédès G, Bentorcha F, Delbos F, Gaspar E, Horaud T. Study of heterogeneity of chloramphenicol acetyltransferase (CAT) genes in streptococci and enterococci by polymerase chain reaction: characterization of a new CAT determinant. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 12: 2593-2598.
165. Raycroft RE, Zimmerman LN. New mode of genetic transfer in *streptococcus faecalis* var. liquefaciens. *J Bacteriol* 1964; 87: 799-801.
166. Durmaz R. Direnç gelişimini önlemede moleküler mikrobiyolojinin katkısı. *ANKEM Derg* 2009; 23: 111-115.
167. Yüce A. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Derg* 2001; 14: 41-46.
168. Agersø Y, Pedersen AG, Aarestrup FM. Identification of Tn5397-like and Tn916 like transposons and diversity of the tetracycline resistance gene tet (M) in enterococci from humans, pigs and poultry. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 832-839.
169. Diarra MS, Rempel H, Champagne J, Masson L, Pritchard J, Topp E. Distribution of antimicrobial resistance and virulence genes in *Enterococcus* spp. And characterization of isolates from broiler chickens. *Appl Environ Microbiol* 2010; 76: 8033-8043.

170. Papaparaskevas J, Vatopoulos A, Tassios PT, Avlami A, Legakis NJ, Kalapothaki V. Diversity among high-level aminoglycoside-resistant enterococci. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 277-283.
171. Udo EE, Al-Sweih N, John P, Jacob LE, Mohanakrishnan S. Characterization of High-Level Aminoglycoside-Resistant Enterococci in Kuwait Hospitals. *Microb Drug Resist* 2004; 10: 139-145.
172. Chow JW. Aminoglycoside resistance in Enterococci. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 586-589.
173. Fontana R, Canepari P, Lle MM, Satta G. Mechanisms of resistance of enterococci to  $\beta$ -lactam antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9: 103-105.
174. Güler Ö. Klinik örneklerden izole edilen bakterilerde  $\beta$ -laktamaz varlığının ve çeşitli antibiyotik gruplarına karşı duyarlılıklarının araştırılması. T.C. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 2007.
175. Okamoto R, Okubo T Inoue M. Detection of genes regulating  $\beta$ -lactamase production in *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2550–2554.
176. Rice LB, Eliopoulos GM, Wennersten C, Goldmann D, Jacoby GA, Moellering RC Jr. Chromosomally mediated  $\beta$ -lactamase production and gentamicin resistance in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 272–276.
177. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhal CG. Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 686–707.
178. Murray BE. Diversity among Multidrug-Resistant Enterococci. *Emerg Infect Dis* 1998; 4: 37–47.
179. Xu X, Lin D, Yan G, Ye X, Wu S, Guo Y, Zhu D, et al. VanM, a new glycopeptide resistance gene cluster found in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 4643-4647.

180. Boyd DA, Du T, Hizon R, Kaplen B, Murphy T, Tyler S, et al. VanG-yype Vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* strains isolated in Canada. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2217–2221.
181. Depardieu F, Bonora MG, Reynolds PE, Courvalin P. The vanG glycopeptide resistance operon from *Enterococcus faecalis* revisited. *Mol Microbiol* 2003; 50: 931-948.
182. Kirkpatrick BD, Harrington SM, Smith D, Marcellus D, Miller C, Dick J, et al. An outbreak of vancomycin dependent *Enterococcus faecium* in a bone marrow transplant unit. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 1268-1273.
183. Tambyah PA, Marx JA, Maki DG. Nosocomial infection with vancomycindependent enterococci. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 1277-1281.
184. Rosato A, Pierre J, Billot-Klein D, Buu-Hoi A, Gutmann L. Inducible and constitutive expression of resistance to glycopeptides and vancomycin dependence in glycopeptide-resistant *Enterococcus avium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 830-833.
185. Sifaoui F, Gutmann L. Vancomycin dependence in a VanA-producing *Enterococcus avium* strain with a nonsense mutation in the natural D-Ala-D-Ala ligase genE. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 1409.
186. Van Bambeke F, Chauvel M, Reynolds PE, Fraimow HS, Courvalin P. Vancomycin dependent *Enterococcus faecalis* clinical isolates and revertant mutants. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 41-47.
187. Silverman JA, Perlmutter NG, Shapiro HM. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2538-2544.
188. Tedesco KL, Rybak MJ. Daptomycin. *Pharmacotherapy* 2004; 24: 41-57.
189. Hobbs JK, Miller K, O'Neill AJ, Chopra I. Consequences of daptomycin-mediated membrane damage in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: 1003-1008.
190. Cha R, Grucz RG Jr, Rybak MJ. Daptomycin dose-effect relationship against resistant Gram positive organisms. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 1598-603.

191. Safdar N, Andes D, Craig W. In vivo pharmacodynamic activity of daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 63-68.
192. Chakraborty A, Roy S, Loeffler J, Chaves RL. Comparison of the pharmacokinetics, safety and tolerability of daptomycin in healthy adult volunteers following intravenous administration by 30 min infusion or 2 min injection. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64: 151-158.
193. Kosmidis C, Levine DP. Daptomycin: pharmacology and clinical use. *Expert Opin Pharmacother* 2010; 11: 615-625.
194. Silverman JA, Mortin LI, Vanpraagh AD, Li T, Alder J. Inhibition of daptomycin by pulmonary surfactant: in vitro modeling and clinical impact. *J Infect Dis* 2005; 191: 2149-2152.
195. Özaras R, Tabak F. Daptomisin. *Klimik Dergisi* 2010; 23: 35-38.
196. Smith K, Perez A, Ramage G. Comparison of biofilm-associated cell survival following in vitro exposure of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms to the antibiotics clindamycin, daptomycin, linezolid, tigecycline and vancomycin. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33: 374-378.
197. Raad I, Hanna H, Jiang Y. Comparative activities of daptomycin, linezolid and tigecycline against catheter-related methicillin-resistant *Staphylococcus bacteremic* isolates embedded in biofilm. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 1656-1660.
198. Barry AL, Fuchs PC, Brown SD. In vitro activities of daptomycin against 2, 789 clinical isolates from 11 North American Medical Centers. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1919-1922.
199. Carpenter CF, Chambers HF. Daptomycin: another novel agent for treating infections due to drug-resistant Gram positive pathogens. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 994-1000.
200. Critchley IA, Blosser-Middleton RS, Jones ME, Thornsberry C, Sahn DF, Karlowsky JA. Baseline study to determine in vitro activities of daptomycin against Gram positive pathogens isolated in the United States in 2000-2001. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 1689-1693.

201. Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Lonks JR, Boyce JM. Comparative in vitro activities of daptomycin and vancomycin against resistant Gram positive pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 3447-3450.
202. Traczewski MM, Katz BD, Steenbergen JN. Inhibitory and Bactericidal Activity of Daptomycin, Vancomycin and Teicoplanin against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Collected from 1985 to 2007. *Antimicrob. Agents Chemother* 2009; 53: 1735-1738.
203. Cha R, Brown WJ, Rybak MJ. Bactericidal Activities of Daptomycin, Quinupristin-Dalfopristin, and Linezolid against Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* in an In Vitro Pharmacodynamic Model with Simulated Endocardial Vegetations. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 7: 3960–3963.
204. Crompton JA, North DS, Yoon M, Steenbergen JN, Lamp KC, Forrest GN. Outcomes with daptomycin in the treatment of *Staphylococcus aureus* infections with a range of vancomycin MICs. *J Antimicro Chemother* 2010; 65: 1784-1791.
205. Arbeit RD, Maki D, Tally FP, Campanaro E, Eisenstein BI. Daptomycin 98-01 and 99-01 Investigators: The safety and efficacy of daptomycin for the treatment of complicated skin and skin-structure infections. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1673-1681.
206. Davis SL, McKinnon PS, Hall LM, Delgado G Jr, Rose W, Wilson RF, Rybak MJ. Daptomycin versus vancomycin for complicated skin and skin structure infections: clinical and economic outcomes. *Pharmacotherapy* 2007; 27: 1611-1618
207. Finney MS, Crank CW, Segreti J. Use of daptomycin to treat drug-resistant Gram positive bone and joint infections. *Curr Med Res Opin* 2005; 21: 1923-1926.
208. Rouse MS, Piper KE, Jacobson M, Jacofsky DJ, Steckelberg JM, Patel R. Daptomycin treatment of *Staphylococcus aureus* experimental chronic osteomyelitis. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 301-305.
209. Forrest GN, Donovan BJ, Lamp KC, Friedrich LV. Clinical experience with daptomycin for the treatment of patients with documented Gram positive septic arthritis. *Ann Pharmacother* 2008; 42: 213-217.

210. Fowler VG Jr, Boucher HW, Corey GR, Abrutyn E, Karchmer AW, Rupp ME, et al. Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. *N Engl Med J* 2006; 355: 653-665.
211. Streit JM, Jones RN, Sader HS. Daptomycin activity and spectrum: a worldwide sample of 6737 clinical Gram positive organisms. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 669-674.
212. Friedman L, Alder JD, Silverman JA. Genetic changes that correlate with reduced susceptibility to daptomycin in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 2137-2145.
213. Kaatz GW, Lundstrom TS, Seo SM. Mechanisms of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28: 280-287.
214. Graber CJ, Wong MK, Carleton HA, Perdreau-Remington F, Haller BL, Chambers HF. Intermediate Vancomycin Susceptibility in a Community associated MRSA ClonE. 2007; 13: 491-493.
215. Bozkurt GY, Kutlu H, Yeni Bir Antibakteriyel Ajan: Daptomisin, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2010; 63.
216. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty Second Informational Supplement CLSI document. Pennsylvania: Wayne, 2012; 100-122.
217. Kloos WE, Bannerman TL. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds). *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. Washington, DC: ASM Press, 1995: 282-298.
218. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest* 2003; 111: 1265-1273.
219. Spink WW, Ferris V. Quantitative action of penicillin inhibitor from penicillin resistant strains of staphylococci. *Science* 1945; 102: 221.
220. Barber M. Methicillin-resistant staphylococci. *J Clin Pathol* 1961; 14: 385.

221. Sakoulas G, Moellering RC. Increasing antibiotic resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. Clin Infect Dis 2008; 46: 360-367.
222. Woodford N, Livermore D. Infections caused by Gram positive bacteria: a review of the global challenge J Infect 2009; 59:4-16.
223. Arslan H, Tuncbilek S, Nazlier S. Nosokomial infeksiyon etkeni olarak izole edilen stafilocoklarda glikopeptid antibiyotiklerin etkinliği, 8. Turk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Program ve Özet Kitabı 1997: 784.
224. Brogden RN, Peters DH: Teicoplanin: A reappraisal of its antimicrobial activity pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. Drugs 1994; 47: 823.
225. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2010. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS Net) [http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Forms/ECDC\\_DisForm.aspx?ID=774](http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Forms/ECDC_DisForm.aspx?ID=774).
226. Draghi DC, Sheehan DJ, Hogan P, Sahm DF. In vitro activity of linezolid against key Gram positive organisms isolated in the United States: results of the LEADER 2004 surveillance program. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 5024-32.
227. Jones RN, Ross JE, Castanheira M, Mendes RE. United States resistance surveillance results for linezolid (LEADER Program for 2007). Diagn Microbiol Infect Dis 2008; 62: 416-26.
228. Woodford N. Biological counterstrike: antibiotic resistance mechanisms of Gram positive cocci. Clin Microbiol Infect 2005; 11: 2-21.
229. Dinç BM, Arca EA, Yağcı S, Karabiber N. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Enterococcus faecalis ve Enterococcus faecium suşlarında in-vitro antibiyotik duyarlılığı. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2009; 66: 117-121.
230. Arias CA, Murray BE. Emergence and management of drug-resistant enterococcal infections. Expert Rev Anti Infect 2008; 6: 637-655.
231. Arias CA, Contreras GA, Murray BE. Management of multidrug-resistant enterococcal infections. Clin Microbiol Infect 2010; 16: 555-562.

232. Hızel K. Dirençli Gram pozitif kok enfeksiyonlarının tedavi ve yönetimi. ANKEM Derg 2011; 25: 50-53.
233. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, et al; National Healthcare Safety Network Team; Participating National Healthcare Safety Network Facilities. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. Infect Control Hosp Epidemiol 2008; 29: 996-1011.
234. Cantón R, Ruiz-Garbajosa P, Chaves RL, Johnson AP. A potential role for daptomycin in enterococcal infections: what is the evidence? J Antimicrob Chemother 2010; 65: 1126-36.
235. Jones RN, Fritsche TR, Sader HS, Ross JE. LEADER surveillance program results for 2006: an activity and spectrum analysis of linezolid using clinical isolates from the United States (50 medical centers). Diagn Microbiol Infect Dis 2007; 59: 309-17.
236. English BK, Shenep JL. Enterococcal and Viridans Streptococcal infections. Feigin RD, Cherry JD (eds). Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 5th edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 2004: 1175-1192.
237. Boyce JM, Opal SM, Chow JW, Zervos MJ, Potter-Bynoe G, Sherman CB, et al. Outbreak of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with transferable vanB class vancomycin resistance. J Clin Microbiol 1994; 32: 1148-1153.
238. Livornese LL Jr, Dias S, Samel C, Romanowski B, Taylor S, May P, et al. Hospital-acquired infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* transmitted by electronic thermometers. Ann Intern Med 1992; 117: 112-116.
239. Alder J. The use of daptomycin for *Staphylococcus aureus* infections in critical care medicine. Crit Care Clin 2008; 24: 349-363.
240. Patel JB, Jevitt LA, Hageman J, McDonald LC, Tenover FC. An association between reduced susceptibility to daptomycin and reduced susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 2006; 42: 1652-1653.

241. Cui L, Tominaga E, Neoh HM, Hiramatsu K. Correlation between reduced daptomycin susceptibility and vancomycin resistance in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 1079-1082
242. Rose WE, Leonard SN, Rybak MJ. Evaluation of daptomycin pharmacodynamics and resistance at various dosage regimens against *Staphylococcus aureus* isolates with reduced susceptibilities to daptomycin in an in vitro pharmacodynamic model with simulated endocardial vegetations. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 3061-7.
243. Silverman JA, Oliver N, Andrew T, Li T. Resistance Studies with Daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1799-1802.
244. Montero CI, Stock F, Murray PR. Mechanisms of resistance to daptomycin in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 1167-1170.
245. Rathe M, Kristensen L, Ellerman-Eriksen S, Thomsen MK, Schumacher H. Vancomycin-resistant *Enterococcus* spp.: validation of susceptibility testing and in vitro activity of Vancomycin, Linezolid, Tigecycline and Daptomycin. *APMIS* 2010; 118: 66-73.
246. Hsueh PR, Chen WH, Teng LJ, Luh KT. Nosocomial infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci at a university hospital in Taiwan from 1991 to 2003: resistance trends, antibiotic usage and in vitro activities of newer antimicrobial agents. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26: 43-49.
247. Jorgensen JH, Crawford SA, Kelly CC, Patterson JE. In vitro activity of daptomycin against vancomycin-resistant enterococci of various Van types and comparison of susceptibility testing methods. *Antimicrob Agent Chemother* 2003; 47: 3760-3763.
248. Fluit AC, Schmitz FJ, Verhoef J, Milatovic D. In vitro activity of daptomycin against Gram positive European clinical isolates with defined resistance determinants. *Antimicrob Agent Chemother* 2004; 48: 1007-1011.
249. Johnson AP, Mushtaq S, Warner M, Livermore DM. Calcium-supplemented daptomycin Etest strips for susceptibility testing on Iso-Sensitest agar. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 860-862.

250. Gales AC, Sader HS, Ribeiro J, Zoccoli C, Barth A, Pignatari AC. Antimicrobial susceptibility of Gram positive bacteria isolated in Brazilian hospitals participating in the SENTRY Program (2005-2008) Braz J Infect Dis 2009; 13: 90-98.
251. Fuchs PC, Barry AL, Brown SD. Evaluation of daptomycin susceptibility testing by E test and the effect of different batches of media. J Antimicrob Chemother 2001; 48: 557-561.
252. Dinç F, Dinç FT, Akca B, Sınırtaş AM, Özakın C. Kandan izole edilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA). Suşlarının CLSI ve EUCAST kriterlerine göre vankomisin, Tigesiklin, Linezolid ve Daptomisin İn Vitro duyarlılık sonuçları. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 2011; 41: 120-126.
253. Zhang FF A study of in vitro activity of daptomycin against 2679 Gram positive cocci. 2013; 52: 474-479.
254. Çelikkbilek N, Özdem B, Gürelık FÇ, Güvenman S, Güner HR, Açıkğöz ZC. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarının Vankomisin, Teikoplanin, Linezolid ve Daptomisine İn Vitro Duyarlılıkları. Mikrobiyol Bul 2011; 45: 512-518.
255. Oksuz L, Gurler N. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli stafilocok suşlarının son yıllarda kullanıma giren antibiyotiklere in-vitro duyarlılık sonuçları. ANKEM 2009; 23: 71-77.
256. Hidayat LK, Hsu DI, Quist R, Shriner KA, Wong-Beringer A. High-dose vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: efficacy and toxicity. Arch Intern Med 2006; 166: 2138-2144.
257. Gonzalez-Ruiz A, Beiras-Fernandez A, Lehmkühl H, Seaton RA, Loeffler J, Chavas RL. Clinical experince with daptomycin in Europe: the first 2, 5 years. J Antimicrob Chemother 2011; 66: 912-919.
258. Dağı HT, Arslan U, Uğur AR, Alp F, Fındık D, Tuncer İ. Kan Kültürlerinden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Daptomisine Duyarlılığı, ANKEM Derg 2012; 26: 111-115.
259. Şamlıoğlu P, Ece G, Atalay S, Köse Ş. Yoğun bakım birimlerinden izole edilen Gram pozitif koklarda daptomisin duyarlılığı, ANKEM Derg 2011; 25: 173-177.

## 6. ÖZGEÇMİŞ

Elazığ merkezde dünyaya geldim. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2004 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 2004-2010 yılları arasında Elazığ'ın Maden ilçesi Hazar Köyü Sağlık Ocağı'nda pratisyen hekim olarak görev yaptım. 2010 yılı Mart ayında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda ihtisas eğitimime başladım.