T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİANABİLİM DALI

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ENTEROKOK TÜRLERİNİN BELİRLENMESİ ve KİNUPRİSTİN/DALFOPRİSTİN, TİGESİKLİN ve DAPTOMİSİNEDUYARLILIĞIN ARAŞTIRILMASI

Arş.Gör.Dr.DilekBİLİCİ

Tez Yöneticisi

Prof.Dr.Osman AKTAŞ

Uzmanlık Tezi

Erzurum-2011

İÇİNDEKİLER

ONAY	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
SUMMARY	viii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
Enterokoklar	4
Enterokokların Sınıflandırılması ve Türler	4
Enterokokların Genel Özellikleri	6
Enterokokların Virülans Faktörleri	10
Enterokok Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi	14
Enterokoklarda Antibiyotik Direnci	15
Enterokokların Neden Olduğu Enfeksiyonlar	23
Enterokoklara Etkili Klasik ve Yeni Antibiyotikler	26
Enterokokların Antibiyotik Duyarlılığının Araştırılmasında Kriterler	28
MATERYAL ve METOD	30
A. Klinik Örnekler ve Enterokok İzolasyonu	30
B. Enterokok Suşlarının Saklanması	31
C. Uygulanan Antibiyotik Duyarlılık Testleri	31
D. İstatistiksel analiz	33
BULGULAR	34
TARTIŞMA	43
SONUÇLAR	58
KAYNAKLAR	62

ONAY

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Dr. DilekBİLİCİ'nin "**Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Türlerinin Belirlenmesi ve Kinupristin/Dalfopristin, Tigesiklin ve Daptomisine Duyarlılığın Araştırılması**" isimli tez konusu Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın 20.4.2009 tarih, 1/2 karar no'lu ortak kararı ile Anabilim Dalı Kurulunda görüşülerek kabul edilmiştir.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 15.5.2009tarih ve 152 no'lu karar ile etik kurallara uygun görülmüştür.

Çalışma Temel Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığınca 29.4.2009tarih ve 1/2 no'lu karar ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve asistanlığım süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hiçbir asistanından sevgi ve muhabbetini esirgemeyenve huzurlu bir asistanlık geçirmemize vesile olan saygıdeğer hocam Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Ahmet Ayyıldız'a

Tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesindearaştırmalarımı yönlendiren, tezimi yazarken benden daha çok yorulan, her türlü teşvik ve yardımlarını esirgemeyen ilme ve bilimsel ahlaka verdiği değerle bana örnek olan tez danışmanım sevgili hocam sayın Prof. Dr. Osman Aktaş'a

Uzmanlık eğitimim süresince eğitim ve öğretimime katkıda bulunan bana bir asistan gibi değil değerli bir çalışma arkadaşı gibi davranan ve bunu hissettiren kıymetli hocalarım sayın Prof. Dr. Selahattin Çelebi, Prof. Dr.A.Esin Aktaş, Prof. Dr.Halil Yazgı, Doç. Dr. Ülkü Altoparlak, Doç. Dr. Ahmet Özbek, Doç. Dr. Hakan Uslu, Yrd. Doç. Dr. Hamidullah Uyanık'a

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum sevgili araştırma görevlisi arkadaşlarım ve diğer sağlık personeli arkadaşlarıma

Tez yazımı esnasında her zaman olduğu gibi destek ve yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim Sefa Bilici'ye teşekkür ederim.

ÖZET

İnsanın kolon ve ince bağırsak florası dâhil doğada çok çeşitli habitatlarda yaygın olarak bulunan, uzun yıllar insan hastalıklarıyla ilişkisi olmayan zararsız bakteriler gözüyle bakılan enterokoklar günümüzde yüksek mortalite oranıyla en sık gözlenen nozokomiyal patojenler arasında incelenmektedir. Antibiyotiklere direnç kazanma ve bu direnci diğer Gram-olumlu bakterilere aktarma yetenekleri özellikleri, farklı türlerinin antibiyotiklere duyarlılıklarındaki değişkenlikler onların ekolojisi de dâhil olmak üzere tanısı, tedavisi epidemiyolojisi ve virulanslarının araştırılması gerektirmektedir. Bu amaçla yöremizdeki enterokokkal enfeksiyonlardan izole edilen suşların tür tanısı, klasik tedavide kullanılan ve yeni kullanıma giren daptomisin ve tigesiklinin gibi antibiyotiklere karşı duyarlılıkları araştırılmıştır.

İdrar, kan, yara, BOS ve kulak örneklerinden kanlı agar, çikolatamsı agar, kan kültür şişelerinden izole edilen ve koloni morfolojisi, Gram-olumlu boyanma, katalaz aktivitesi, safrada üreme, eskülini hidrolize etme, % 6.5 oranında NaCl içeren sıvı ortamda üreme, PYR hidrolizi sonuçları olumlu bulunan Enterococcus spp olarak tanımlanan bakteriler Api 20 Strep (Bio-Merieux) test kitleri ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. Enterokokların duyarlılık testleri ve kullanılan antibiyotikler CLSI önerilerine göre belirlenmiş; suşlarının antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile CLSI doküman M100-S20 önerilerine göre Mueller Hinton agarda araştırılmış; yüksek düzey aminoglikozid direncini araştırmada 120 µgr'lık gentamisin ve 300 µgr'lık streptomisin diskleri kullanılmıştır. Tigesiklin ve daptomisin etkinliğinin araştırılmasında E Test Yöntemi (AB BIODISK ®) uygulanmıştır.

Çalışmamızda 55 E. faecium, 42 E. faecalis, 2 E. durans ve 1 E. avium olmak üzere 100 enterokok suşu izole edilmiştir. Suşlarının en yüksek sıklıkta izole edildiği klinik örnek idrar (% 59), kan (%21) ve yara (%13) olmuş, BOS vagen ve kulak örneklerinde düşük sayıda üreme olmuştur. Suşların % 67'si 0-15 yaşlarındaki çocuklardan, % 33 ise 22 yaşın üzerindeki yetişkinlerden izole edilmiş 16-40 yaş arasında izolasyon sıklığı düşük bulunmuştur (% 5). Enterokok izole edilen olguların % 41'i ciddi rahatsızlıkları olan hastalardan oluşmuştur.

E. faecium suşlarının 3 (% 6)'ü vankomisin ve aynı anda teikoplanine de dirençli olup tüm suşlarda VRE oranı % 3 olarak bulunmuştur. Antibiyotik duyarlılığı araştırılan suşların tamamı linezolide duyarlı bulunmuştur. Enterokok suşlarının en yüksek dirençli

olduğu antibiyotikler sırasıyla eritromisin (% 64), penisilin (% 63) ampisilin (% 56), gentamisin (% 49), tetrasiklin (% 38), streptomisin (% 37), levofloksasin (% 33) ve kinupiristin/dalfopristin (% 29) olmuştur. E. faecalis suşlarının 11 (% 26.2)'i penisiline; 5'(% 11.9)'i ampisiline; E. faecium suşlarının 52 (% 94.5)'si penisiline, 51 (% 92.7)'i ampisiline dirençliydi. Yüksek doz gentamisin/streptomisin direnci (YDGD/YDSD) E. faecium suşlarında (%69/%44) E. faecalis'e (% 26/% 29) oranla daha yüksek olduğu görüldü. Yüksek doz streptomisin direnci 1 E. durans suşunda tespit edilmiştir. Enterokok suşlarının MİK aralığı E-test ile araştırılmış ve tigesiklin için 0.023-3 µg/ml, daptomisin için 0.016-3 µg/ml olarak saptanmıştır. Bu değerler tüm suşların bu iki antibiyotiğe duyarlı olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak çok yüksek oranlarda olmasa da yöremizde VRE suşları bulunmaktadır ve izole edilen enterokok suşlarının enterokok tedavisinde kullanılan klasik ilaçlara karşı direnç oranları oldukça yüksektir. Enterokokkal enfeksiyonların önlenmesi için tüm hastanelerde sürveyansı, yakından izlenmesi, sağlık personelinin eğitilmesi ve tedavide uygun antibiyotiklerin akılcı kullanımı gerekmektedir.

Anahtar kelimeler; Enterokoklar, VRE, kuinopristin/dalfopristin, tigesiklin, daptomisin,Antibiyotik duyarlılığı

SUMMARY

Determination of Enterococci species Isolated From Various Clinical samples and investigation their Susceptibilities to quinupristin/dalfopristine, tigecycline and daptomycin

Enterococous seen as harmless bacteria not relation to the human diseases for long years, and existing common in various habitats in nature including colon and small intestines flora are among nausocomial pathogens observed the most commonly with its high mortality rates in our day. Acquiring resistance against antibiotics and the feature of transmitting of this resistance into other gram-positive bacteria and the variabilities in susceptibility to the antibiotics of different species and diagnosis of them including ecology and treatment and epidemiology and their virulence should be examined througly. For this purpose, species diagnosis of the strains isolated from enterococcal infections in our region, the specificity to the antibiotics such as daptomycin and tigecycline used in classical treatment and starting for new usage have been investigated.

Bacteria isolated from samples of urine, blood, wound, ear and cerebrospinal fluid on the blood and chocolate agar and in the blood culture bottles were investigated for colony morphology, Gram-positive staining, catalase activity, growth in bile, hydrolyzed to esculine, growth in liquid medium containing 6.5% NaCl and PYR hydrolysis. The bacteria that results of these tests were positive identified as *Enterococcus* spp. Enterococcus species were identified with the Api 20 Strep (Bio-Mérieux) test kits.Susceptibility tests of enterococcus and antibiotics used were determined according to CLSI offerings.The susceptibility of the strains against antibiotics was examined in Mueller Hinton Agar by means of Kirby Bauer disk diffusion method according to CLSI document M100-S20 offerings,and gentamycin (120µgr) and streptomycin (300µgr) discs were used in the investigation high level aminoglycoside resistance. E- Test method was used in the investigation of the efficacy of tigecycline and daptomycin.

In our study, 100 enterococcus strains,55 of them *E. faecium*, 42 of them *E faecalis*, 2 *E. durans* and 1 *E. avium* were isolated. The most frequently isolated strains were obtained in the urine (59%), blood (21%) and wound (13%) samples. The isolation

rates were low in the cerebrospinal fluid, ear and vagen samples.67% of the strains was isolated from the children between the age of 0-15 years old, 33% of them was isolated from the adults over 22 years of age, but isolation frequency was found lower between 16 and 40 years of age (5%). 41% of the cases from whom enterococcus was isolated is made up of patients who have severe diseases.

Three of *E. faecium* strains indicated resistance to vancomycin and teicoplanin, and the rate of VRE in all strains was found as 3%. All of the strains were susceptible to linezolid. Erytromycine (64%), peniciline (63%), ampicilline (56%), gentamycine (49%), tetracycline (38%), streptomycin (37%), levofloxacine (33%) and quinopristine/dalfopristin (29%) were less effective antibiotics against the strains. 11 of *E. faecalis* strains were resistant to penicillin (26.2%) five of them were resistant to ampicilline (11.9%),fifty-two of *E. faecium* strains were resistant to penicillin (94.5%), fifty-one of them were resistant to ampicilline (92.7%). It was observed that the resistant of high dose gentamicin and streptomycin (YDGD/YDSD) were higher in *E. faecium* strain (69% / 44%) than in *E. faecalis*.High dose streptomycin resistance was detected in 1 *E. durans* strain. MIC interval of enterococcus strain was investigated by means of E-test, and it was found 0.023-3 mg/mlfor tigecycline 0.016-3 mg/ml for daptomycin.These values indicated that the whole strains were sensitive to these two antibiotics.

In conclusion, even though it isn't very high rates, in our region,there are VRE strain, and isolated enterococcusstrain have fairly high resistant to conventional medicine used in enterococcustreatment. In order for enterococcal infections to prevent, it is necessary to watch for its surveleince closely, to educate health stuff, antibiotics suitable for the treatment should be used wisely.

Key words: Enterococci, VRE, quinupristin/dalfopristine, tigecycline, daptomycin Antimicrobial susceptibility

GİRİŞ

İnsanlar da dâhil tüm yüksek organizasyonlu canlı grupları; bir diğer canlı grubu olan ve geniş bir çeşitlilik gösteren basit bir organizasyon yapısına sahip mikroorganizmaların bazılarından yarar görürken bazılarından ise küçük ya da yaşamına son verecek kadar büyük zararlar görebilmektedir. Bazı mikroorganizma türlerinin -aslında 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 edilebilmektedir.

Enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalar -doğada var oldukları tarihten itibaren- uzun bir süre, konakçısının herhangi bir dış müdehalesi olmaksızın oldukça özgür bir dönem geçirdiler. Onların bu mutlu dönemleri; ilki 1929 yılında Sir Alexander Fleming tarafından keşfedilen antibiyotiklerin yaklaşık 70 yıl önce (1940'lı yıllarda) kullanıma girmesiyle sona ermiştir [(1)]. Zaten konağın iç savunma mekanizması olan bağışıklık sistemiyle önceden beri savaşan bu küçük organizmalar bu tarihten sonra antibiyotiklerle de mücadele etmek zorunda kalmışlardır.

Ciddi enfeksiyonlara neden olan bakterilere karşı etkili antibiyotiklerin keşfedilmesi, insanların hijyenik koşullara daha önem vermesı ve buna bağlı olarak alt yapı koşullarını iyileştirme çabaları ve bağışıklamada etkili çalışmaların yapılması ile enfeksiyon hastalıklarının azaltılması başarılmıştır. Ancak yine de günümüzde bu hastalıklar tüm dünyada ama en çok gelişmekte olan ülkelerde önemli sağlık sorunlarının ilk sıralarında kalmaya devam etmektedir. Gelişmekte olan ülkelerin sağlık bütçelerinin % 35'ini sadece antibiyotikler için harcadığı; gelişmiş ülkelerden biri olan ABD'de bile hastane ilaç bütçesinin % 30'unun antibiyotiklere ayrıldığı ifade edilmektedir [(2)]. Ancak sık kullanılan ve oldukça pahalı ürünler olan antibiyotiklerin amacına uygun olarak kullanılmaması tedavide başarısızlığa; ülke ekonomisinin zarar görmesine ve bakterilerin direnç kazanmalarına neden olmaktadır.

Tedavide kullanılan ya da benzeri ilaçlara karşı dirençli bir bakterinin organizmadan uzaklaştırılması için savaşta manevra yeteneğimiz yeni ve etkili bir

antibiyotiğin keşfedilmesine kadar sınırlanmış olmaktadır. Bu durumda böyle bir bakterinin yaptığı enfeksiyonlarda mortalite oranlarının yüksek seviyelere çıkacağı beklenen bir sonuçtur.

Bu çalışmanın öznesi olan enterokoklara insanlar için zararsız bakteriler gözüyle bakılmış; uzun yıllar tıbbi önemi olmayan bakteriler grubunda incelenmiştir. Bakteriyosin üretmelerinden dolayı, *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 olmuştur [(3)]. İngiltere'de entrokok türleri nedeniyle ortaya çıkan bakteriyemi 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; CDC'ye 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 [(3)]. Enterokok türlerinin tüm dünyada gözlenen antibiyotik direncindeki bu dramatik artış enterokokların ekolojisi de dâhil olmak üzere epidemiyolojisi ve virulanslarının da daha kapsamlı olarak anlaşılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

İnsanın kolon ve ince bağırsağının kalıcı florasında yer alan fakültatif anaerob, mikroaerofilik koklardan *Enterococcus spp* (enterokok türleri) insanda en sık olarak nozokomiyal enfeksiyonlarda kendini gösterirler. Tüm nozokomiyal enfeksiyonların yaklaşık % 10'unun bu bakteriler tarafından oluşturulduğu ifade edilmektedir [(4)]. İnsanda yaptığı enfeksiyonların başında ise idrar yolları enfeksiyonları (İYE) ve bakteriyemi gelmektedir. Bu enfeksiyonlardan başka endokardit, periton boşluğunda enfeksiyonlar, silah, bıçak yaraları gibi derin yaralanmalar sonucu oluşan karın içi abseler, böbrek enfeksiyonları, prostat enfeksiyonları, cilt enfeksiyonları, diyabet ya da dekübit ülserleri, yanık ve cerrahi yaralar gibi pek çok enfeksiyonda diğer bakterilerle birlikte rol oynarlar [(3, 5-8)]. Enterokoklar gerek gelişmiş gerekse gelişmekte olan ülkelerde önemli bakteriyel patojenler arasında yerini almıştır. En gelişmiş ülkelerden olan ABD'de yılda 110.000 İYE, 40.000 yara ve 25.000 nozokomiyal bakteriyemiden sorumlu tutulmaktadırlar [(9)]. Sağlıklı kişilerdeki VRE kolonizasyonu enfeksiyon oluşturmasa da idrar yolu ve intravasküler uygulanan kateterler enterokok enfeksiyonları için en önemli risk faktörlerindendir [(10, 11)]. Özellikle vankomisin dirençli

enterokoklara (VRE) bağlı olarak ortaya çıkan enfeksiyonlar ciddi sorunlara neden olmaktadır. Ciddi bir hastalık nedeniyle hastanede uzun süre yatan; geniş spektrumlu antibiyotik kullanan olgularda VRE'ler sık görülmektedir.

Son yıllarda VRE Avrupa ve Amerika'da sorun olmaya başlamış; ilk kez 1986 yılında VRE suşu tanımlanmış, daha sonra 1989 yılında da ABD'de gösterilmiştir. Bu tarihten itibaren çoklu ilaç direnci gösteren türler tüm Avrupa ve Amerika'da yayılmıştır [12]. Yurdumuzda ilk VRE suşunun bildirimi (*Enterococcus casseliflavus*) Vural ve arkadaşları tarafından 1998 yılında Antalya'da düzenlenen 13. ANKEM kongresinde yapılmıştır [13].

Enterokoklarda vankomisin direncinin ciddi bir sorun olmasını engellemenin başlıca yolu bu bakerilerin neden olduğu enfeksiyonlarla ilişkili risk faktörlerinin iyi bilinmesi, bakterilerin tanımlanmasında kullanılacak yöntemlerin doğru seçilmesi, direnç paternlerinin saptanması ve kontrol önlemlerinin uluslararası ölçütlere göre yapılması gerekmektedir.

Enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kinupristin-dalfopristin, daptomisin, tigesiklin ve yeni glikopeptidler günümüzde kullanılan veya üzerinde çalışmaların devam ettiği antibiyotikler olarak öne çıkmaktadır [14]. Bu çalışmada, son yıllarda kullanıma giren daptomisin ve tigesiklinin ve diğer anti-enterokokkal antibiyotiklerin bölgemizdeki çeşitli enfeksiyonlardan izole edilen enterokok türlerine karşı etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

"Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Türlerinin Belirlenmesi ve Kinupristin/Dalfopristin, Tigesiklin ve Daptomisine Duyarlılığın Araştırılması" başlıklı tez çalışmamızla ilgili temel bilgiler, tarihçe ve güncel literatür bilgileri ışığında aşağıda sunulmuştur.

Enterokoklar

Güçlü hücre duvarı yapısına sahip bakterileri içerisinde barındıran *Firmicutes* şubesinde yer alan enterokoklar genellikle tek tek koklar; diplokoklar ya da kısa zincirli koklar şeklinde gözlenen Gram-olumlu 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.

İnsanın bağırsak ve genitoüriner florasında bulunan bu fakültatif anaerob organizmalar insan derisinde kolonize olabilmekte ve insan habitatlar dışında çok değişik ortamlarda da barınabilmektedir. Böcekler de dâhil diğer hayvanlardan, toprak su ve gıdalardan izole edilmektedirler. Yaşayabildikleri ısı ve pH dereceleri oldukça farklılıklar gösterebilmektedir. Spor oluşturmazlar. Bu bakterilerin tanımlanmasında önemli kriterler arasında yer alan en belirgin özellikleri tuzlu ortamlara toleranslı oluşu, safralı ortamlarda yaşamlarını sürdürmeleri, eskülini hidrolize etmeleri; çogunun L-pirolidonil-β-naftilamid (PYR) hidrolizinin olumlu oluşu; sitokrom enzimlerinin bulunmayışı ve katalaz olumsuz oluşlarıdır [15]. İnsanlarda birçok hastalığın sorumlusu olan ve uzun yıllar fekal streptokoklar olarak tanımlanan enterokoklar sadece klinik mikrobiyolojinin değil; gıda ve su mikrobiyolojisinin de önemli araştırma konularından biri olmuştur. İnsan dışkısından en sık olarak izole edilen tür *Enterococcus faecalis (E. faecalis)*'tir. Bu tür özellikle sularda fekal kontaminasyonun bir göstergesi olarak aranan bakteriler arasında yer almaktadırlar [16].

Sınıflandırılması ve Türler

Moleküler mikrobiyolojik yöntemlerin son yıllardaki hızlı gelişimi mikroorganizmaların sınıflandırılmasında pek çok değişiklikleri de beraberinde getirmiştir. 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 [17]. Günümüzde değişik ortamlardan izole edilen *Enterococcus* cinsine ait türlerin tanımlamasında ve sistematize edilmesimde DNA-DNA reasosiasyon deneyleri, 16S rRNA genlerinin sekanslaması gibi moleküler yöntemler kullanılmaktadır [18]. Bakterilerin yağ asit kompozisyonunun uzun zamandır kullanılan gaz-likit kromotografisi ile belirlenmesinin önemli tanısal değeri vardır [19, 20].

Bu bakterilere ilk kez 1902 yılında Thiercelin tarafından "enterocoques" ismi verilmiş; 1970 yılında Kalina bu ismi temel alarak *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium*'u *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* olarak yeniden adlandırmıştır [21, 22]. Ancak Kalina'nın bu adlandırması resmi olmayan bir adlandırma olarak kalmıştır. *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium* türlerininin 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.

Hardie ve Whiley [23] 1997 yılında streptokok ve enterokokların sınıflandırılması hakkında 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 Schlcifer ve Klipper Balz'dan bir yıl sonra 1985 yılında Schlcifer ve arkadaşları ve daha sonra 1987 yılında da yine Schlcifer ve Klipper Balz tarafından DNA-DNA ve DNA- rRNA hibridizasyon çalışmaları ile streptokoklardan ayrılmıştır. Bu ayrım Ludwig ve arkadaşları tarafından yapılan 16S rRNA sekans analizleri ile 1985 yılında da doğrulanmıştır. Böylece enterokokların *lactococcus* ve diğer Gram-olumlu 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, Aerococccus, Alloicoccus, Dolosigranalum, Facklamia, Globi catella* ve *Abiotrophia* cinsleri ile daha yakın ilişkisinin olduğu bildirilmektedir [24].

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 Ağustosu itibariyle tanımlanmış 43 türe yer verilmiştir. *Enterococcus* cinsinin bakteriler içindeki yeri ve içerdiği türler aşağıda görülmektedir:

FIRMICUTES (şube)
BACİLLİ (sınıf)
LACTOBACILLALES (takım)
ENTEROCOCCACEAE (aile)
***ENTEROCOCCUS* (cins)**

E. aquimarinus	*E. faecium*	*E. phoeniculicola*
E. asini	*E. gallinarum*	*E. Pseudoavium*
E. avium	*E. gilvus*	*E.raffinosus*
E. azikeevi	*E.haemoperoxidus*	*E.ratti*
E. caccae	*E. hawaiiensis*	*E.rattus* (kesinleşmemiş isim)
E.camelliae	*E. hermanniensis*	*E.rottae* (kesinleşmemiş isim)
E.canintestini	*E. hirae*	*E.saccharolyticus*
E.canis	*E. inustiatus*	*E.sanguinicola*
E. casseliflavus	*E. italicus*	*E.silesiacus*
E. cecorum	*E. lactis*	*E.sulfureus*
E. columbae	*E. malodoratus*	*E.termitis*
E. devriesei	*E. moraviensis*	*E.thailandicus*
E. dispar	*E.mundtii*	*E.villorum*
E.durans	*E.pallens*	
E. faecalis	*E.pernyi*	

Tanasupawat ve iki arkadaşı 2008 yılında Tayland'da fermente sucuklardan izole ettikleri yeni suşa *Enterococcus thailandicus sp. nov.* isminin verilmesini önermişlerdir [25]. Çin meşe ipekböceklerinde sıklıkla enfeksiyon yapan *Antheraea pernyi* daha sonra *Streptococcus* genusuna aktarılmıştır. Wang LL ve ark [26] 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. *E. lactis* türü Rusya'nın Stavropol bölgesinde 2006 yılında Botina ve Sukhododolets tarafından peynirden izole edilmişlerdir [27].

Genel Özellikleri

Yukarıda boyanma özelliklerinden ve morfolojisinden bahsettiğimiz enterokokların kanlı agarda 35-37 ^{o}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 aerop 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.

Bu fakültatif anaerob bakterilerin Embden-Meyerhof-Parnas yolunu izleyen homofermentatif metabolizmaları vardır, karbonhidrat fermentasyonunun sonucu olarak laktik asit üretirler. Bu özellikleri nedeniyle laktik asit bakterileri olarak değerlendirilirler. Karbonhidratlardan gaz oluşturmazlar. Optimum üreme için gereksindikleri ısı 35 ^{o}C'dir. Suşlarının büyük bir kısmı 10-45 ^{o}C'de üreyebilmektedir. Enterokokların 60 ^{o}C'lik sıcaklıkta yarım saat canlılığını koruduğu bilinmektedir. Ancak 5-65 ^{o}C arasında üreyebilen suşların da olduğu bildirilmektedir [3]. Türlerin büyük kısmı % 6,5 NaCl içeren sıvı ortamlarda üreyebilir ve safra tuzları varlığında eskulini hidrolize ederler. Lösin aminopeptidaz (LAPaz) oluştururlar ve lösin-α-naftilamid'i (LAP) hidrolize ederler. *E. cecorum, E. columbae, E. pallens, E. saccharolyticus* ve yeni tanımlanan türlerden *E. canintestini, E. devrieseni* ve *E. moraviensis* haricindeki enterokokların çoğu PYR'i hidrolize eder.

E. casseliflavus ve *E. gallinarum* 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.

Enterokoklar porfirinleri sentez edemedikleri için sitokrom enzimlerine sahip değillerdir. 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 [(28)].

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 [(29)]. Genom büyüklüğü yaklaşık 2000-3500 kb arasında olan enterokok türlerinin genomik çeşitliliğini araştıran bir çalışmada Oana ve ark [(30)] *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. 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 [31].

Enterococcaceae familyasında yer alan Gram-olumlu, katalaz-olumsuz diğer cinslerden *Leuconostoc* cinsi karbonhidratları gaz oluşturarak fermente eder. *Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus* ve *Aerococcus* cinsinde yer alan bakteriler safralı eskülinli besiyerlerinde ve % 6. 5'luk NaCl içeren besiyerlerinde üreyebilir, eskülini hidrolize ederler [31, 32]. Bu bakteriler içerisinde kok ya da kokokbasil morfolojisini göstermeyen tek cins *Lactobacillus* olup bu bakteriler isminden de anlaşılacağı gibi çomak morfolojisine sahiptirler. Çeşitli kaynaklardan yararlanılarak hazırladığımız tablo 1'de katalaz-olumsuz, Gram-olumlu kok ve kokobasil cinslerinin ayrımına olanak sağlayan testler verilmiştir [32-35].

Tablo 1. Katalaz-olumsuz, Gram-olumlu kok ve kokobasil cinslerinin ayrımında yardımcı testler

Test	***Enterococcus***	***Streptococcus***	***Lactococcus***	***Aerococcus***	***Leuconostoc***	***Pediococcus***	***Gemella***	***Lactobacillus***	***Vagococcus***	***Tetracoccus***
Morfoloji										
Kok	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Kokobasil	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
Çomak	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-
Morfolojik düzen										
Zincir	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-
Çiftler	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Küme	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+
Glikozdan gaz oluşturma	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Vankomisin	R-S	S	S	S	R	R	S	R-S	S	S
PYR	+	-1	+	Değ	-2	-	Değ	-	+	-
Streptokok grubu	D	A-V	N	-	-	D	-	-	-	-
Safra-eskülin	+	Değ	Değ	Değ	+	+	-	Değ	+	B
Lösin aminopeptidaz	+	+	+	-	-	+	+	Değ	+	+
Büyüme										
% 6.5 NaCl'de	+	-	Değ	+	Değ	Değ	-	Değ	+	+
45 ^{o}C'de	+	Değ	-	-	-	+	-	Değ	-	-
10 ^{o}C'de	+	-	+	-	+	-	-	Değ	+	-

Kısaltmalar: Değ = Değişken, S = Duyarlı, R = Dirençli, B = Belirlenmemiş

Enterokoklar mannitol, sorboz, sorbitol arabinoz ve rafinoz içeren buyyonlarda asit oluşturmalarına; arginini hidrolize etme; % 0.04 tellüriti indirgeme; sükroz ve

piruvatı kullanma; hareket, pigment özellikleri ve metil-α-D-glikopiranosid'ten asit oluşturma gibi fenotipik özelliklerine göre beş gruba ayrılmaktadır. Grup IV içerisindeki türlerinin ayrımında ise litmus milk besiyerinde asit ve pıhtı; hippurat ve glikozdan asit oluşturup oluşturmadıklarını da araştırmak gerekmektedir [36, 37].

Grup 1: *E. avium, E. malodoratus, E. raffinosus, E. pseudoavium, E.saccharolyticus, E. pallens, E. gilvus*'dan oluşur. Bu türler mannitol, sorbitol ve sorboz sıvı besiyerinde asit oluştururlar, ancak arginini hidrolize edemezler [36, 37].

Grup 2: *E. faecalis, E. faecium, E. casseliflavus, E. haemoperoxidus, E. mundtii* ve *E. gallinarum*'dan oluşur. Bu türler arginini hidrolize ederler, mannitollü sıvı besiyerinde asit oluştururlar, sorbozdan asit oluşturmazlar ve sorbitollü sıvı besiyerinde değişken reaksiyon verirler [36, 37].

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 besiyerlerinde asit oluşturmazlar [36, 37].

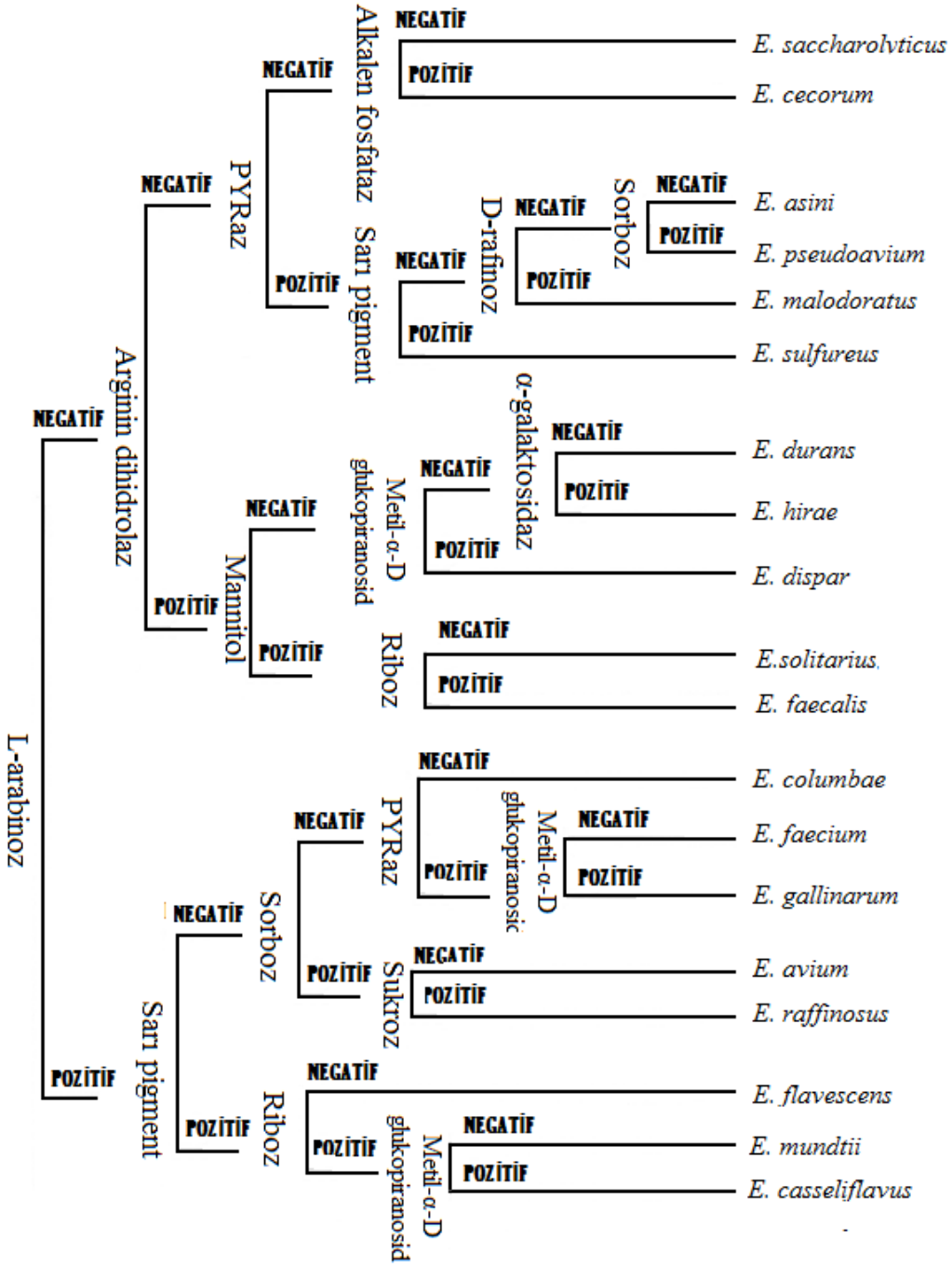
Grup 4: *E. sulfurens, E. asini, E. phoeniculicola* ve *E. cecorum* bu grupta bulunmaktadır. Bu gruptaki türler mannitol ve sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arginini hidrolize etmezler. Sorbitol içeren sıvı besiyerinde ise *E. cecorum* asit oluştururken, *E. sulfureus* asit oluşturmaz [36, 37].

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 [36, 37].

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 1'de Sıklıkla izole edilen enterokok türlerinin tanısında Manero A Blanch [38] kullanılan biyokimyasal testler ve sonuçlarının bir anahtarını vermiştir.

Şekil 1. Enterococcus türleri için tanı reheberi



Virülans Faktörleri

Enterokoklar düşük virülans özelliklerine sahip olmalarına rağmen çoklu antibiyotik direnci göstermeleri, süperenfeksiyonlara neden olmaları ile önem kazanan bakterilerdir. 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 [39] tarafından tanımlanmıştır [37]. Bu genin boyutu 150kb civarında ve 129 "open reading frames" (ORF)'i kodladığı ve kromozomdaki G+C içeriğinin % 32.2 olduğu bildirilmiştir. Virülansta potansiyel rol olarak bilinen transpozanları, transkripsiyonal regülâtörleri kodlayan genler vardır. Virulans 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 gasrointestinal bölgelerde kommensal olarak bulunmasına rağmen, bazı predispozan koşullar bu organizmaların intestinal bölgelerin dışındaki vücut bölgelerine geçmesine yol açabilir ve enfeksiyonlara neden olabilir.

Organizmanın konakta değişik bölgelerde de kolonize olmasını sağlayan yeni özellikler elde etmesi ile bakteri daha virülan bir yetenek kazanabilir. Organizmanın virulansından sorumlu pek çok faktör vardır. Bu faktörler ve temel özellikleri aşağıda verilmiştir.

a) 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 [40]. Hayvan modellerinde ve insan enfeksiyonlarında hemolizin üreten enterokok suşlarının enfeksiyonun artan şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [39]. Ancak hemolizin üretimi entorokokların 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 tespit edilebilir. Plaklar 37 °C'de karbon dioksitli ortamda bir gece inkübe edilir ve 24 ve 48 saat sonra değerlendirilir. At kanlı agar üzerinde koloni etrafında açık bir bölge α-hemoliz pozitif olarak kabul edilir.

b) Jelâtinaz

Enterokoklar tarafından üretilen ve *gelE* geni tarafından kodlanan jelâtinaz, kollajen, kazein, hemoglobin ve diğer peptidleri hidrolize etme yeteneğine sahip bir proteazdır. Hayvan modellerinde *E. faecalis*'in jelatinaz üreten suşlarının endokardit için daha virülan olduğu gösterilmiştir [(40)]. Yapılan farklı çalışmalarda kandan izole edilen *E. faecalis* suşlarının % 64'ünün, hatta endokardit olgularından izole edilen şuşların tamamının jelatinaz ürettiği bildirilmiştir [(39)]. Jelâtinaz üreten suşları belirlemek için taze hazırlanmış ve jelâtin içeren pepton-maya özütlü agara bakteri ekilir, 37 ºC'de bir gecelik inkübasyondan sonra plaklar soğuk ortamda tutularak kolonilerin etrafında bulanık bir hale ya da zon araştırılır.

c) Yüzey Adezyonları (Enterococcal Surface Protein = ESP)

Hem *E. faecalis* hem de *E. faecium*'da bir patojenite adası üzerinde bulunan *esp* geni tarafından (kromozomal olarak) kodlanan ESP hücre duvarı ile ilişkili bir proteindir [(38, 39)]. 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 [(41)]. Deneysel idrar yolu enfeksiyonlarında ESP'nin *E. faecalis* suşlarının üriner mesanede kalıcılığını arttırdığı gösterilmiştir. ESP kodlayan genler klinik izolatlarda kommensal izolatlara oranla daha yüksek oranda bulunmaktadır. Bu genlerin tespitinde PCR'de ESP11 ve ESP12 primerleri kullanılır [(39)].

d) Kümeleşme Maddesi (Agregasyon Faktörü)

E. faecalis'in bakteriyel konjugasyon sırasında kümeleşmesini indükleyen, bir çeşit çiftleşme feromonu olan ve plazmidler tarafindandan kodlanan yüzey proteinidir. Kümeleşme maddesi plazmid aktarımını kolaylaştırmak için etkili enterokokkal verici-alıcı temasına aracılık eder. İn vivo olarak, kümeleşme maddesinin, enterokok enfeksiyonunun patogenezine katkıda bulunan mekanizmalardan biri olduğu gösterilmiştir. Hücre-hücre temasına yardım etmesine ek olarak ekstraselüler matriks proteinleri ve artmış hücre yüzey hidrofobisi dâhil konak hücrelere tutunmada da işlev

görürler. Kümeleşme maddesi salgılayan enterokokların bu maddeyi salgılamayanlara oranla fagositoza önemli ölçüde daha dirençli oldukları görülmüştür [39]. Hastane kaynaklı enterokok bakteriyemileri için sentral venöz kateterler; ürogenital enfeksiyonlar için idrar yollarına uygulanan kateterler önemli risk faktörlerindendir. Özellikle kateter enfeksiyonlarında, *E. faecalis* izolasyonunun *E. faecium*'a oranla daha fazla olmasının nedeni, *E. faecalis* suşlarının taşıdığı kümeleşme faktörü sayesinde katetere tutunma özelliği göstermesidir [42-44].

e) Kollagen adezini (MSCRAMM Ace)

MSCRAMM Ace "Microbial surface component recognizing adhesive matrix molecule adhesin of collagen from Enterococci" ifadesinin kısaltmasıdır. Enterokoklardaki yapışkan kollagen matriks molekül adezini olan mikrobiyal yüzey bileşenidir [39].

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 (ECM) 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. Kollagen bağlayan protein (Cna), fibronektin bağlayan proteinler ve fibrinojen bağlayan proteinler gibi ECM proteinlerine bağlanmada aracılık yapan yapışkan matriks molekülleri tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenlerinin tümünü ifade eden MSCRAMM'ların moleküler ve işlevsel foksiyonları tanımlanmıştır. MSCRAMM'lar tipik olarak bazı ortak yapısal özelliklere sahiptirler. Bu moleküllerde çoğu durumda ECM 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 bulunmaktadır [45]. Bu madde *E. faecalis*'in hem kommensal hem de patojen izolatlarında bulunur; insanlardaki enfeksiyonları sırasında salgılanır. Ace'ye karşı oluşan antikorlar, Ace'nin ekstrasellüler matriks proteinlerine in vitro yapışmasını engeller. Anti-Ace antikorları enterokokkal endokarditli hastaların serumunda % 90

oranında tespit edilmiştir. *E. faecium*'da tanımlanan ve *Acm* olarak ifade edilen adezin, Ace ile benzer yapıdadır [39].

f) Kapsüler Polisakkarit ve Hücre Duvarı Karbonhidratı

E. faecalis'in klinik izolatlarından sıklıkla salgılanan maddedir. Hem *E. faecalis* hem de *E. faecium*'un yüzeyinde kimyasal olarak saflaştırılmış ikinci bir polisakkarit kapsül bulunmaktadır. Bu saflaştırılmış hücre duvarı bileşeninin gliserol fosfat, glikoz ve galaktoz kalıntılarından oluştuğu ifade edilmektedir [39]. *E. faecalis* A, B, C ya da D polisakkaritlerinden birini üretmektedir. Saflaştırılmış kapsüler karbonhidrat bileşenlerine karşı oluşan antikorların sistemik enterokokkal enfeksiyonlara karşı koruyucu rolü olduğu bildirilmektedir [46].

g) Ekstra-Sellüler Süperoksit

Süperoksit, oksidaz gibi enzimlerin etkisiyle moleküler oksijenin kimyasal bağ yapabilme özelliğini azaltarak oksidasyona neden olan bir serbest anyonik radikaldir. Negatif yüklü olması nedeniyle hücre membranına zayıf difüze olur ve intra ve ekstra yerleşimi kısıtlanır. Özelleşmiş ökaryotik hücreler oksijen duyarlılığında, inflamatuar işlemlerde ve hücrelerin uyarımında önemli rol oynayan multi-moleküler NADH-oksidaz kompleksi salgılarlar. Buna karşın aerotoleran ökaryot ve prokaryot hücrelerde her zaman görülen intrasellüler süperoksit üretiminin genellikle zararlı olduğu kabul edilmektedir [47]. 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 ve 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 [47, 48].

Epidemiyoloji

Enterokoklar insanlarda, gastrointestinal florada bulunması nedeni ile hastane ve hastane dışı ortamlarda endojen kaynaklı enfeksiyonlara yol açabilmektedirler. Bu bakteriler doğumdan hemen sonra infantlara kolonize olmaktadır. 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'nından *E. faecalis*'in sorumlu olduğu bildirilmektedir [49,50]. Bu bakterilerin steteskop, elektronik termometre, kapı kolları, yatak, mobilyalar dâhil hastane ortamındaki pek çok yerde bulunabileceği ve dirençli suşların hastanede yayılabileceği ifade edilmektedir [50, 51, 52]. Toprak, su, bitkiler, kuşlar, böcekler, memeliler gibi canlı ve cansız geniş habiatlarda bulunabilen bu bakterilerin hastalara taşınmasında sağlık personelinin de önemli bir rolü vardır [53]. Enterokok türleri idrar yolları enfeksiyonlarından, endokardit, cerrahi yara enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonu ve neonatal sepsise kadar değişen hastane enfeksiyonlarının sık rastlanan kaynaklarıdır. Enterokoklar nozokomiyal idrar yolu enfeksiyonlarının ikinci ve bakteriyeminin üçüncü sırada en yaygın etkenleri olarak bulunmuştur [54]. Enterokokkal enfeksiyonların en önemli etkilerini yenidoğan, çocuk yoğun bakım üniteleri ve hematoloji onkoloji ünitelerinde gösterdiği ifade edilmektedir [50]. *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 rapor edilmektedir [42, 49].

Enterokoklarda Antibiyotik Direnci

Enterokokkal enfeksiyonlarda mortalitenin yüksek olduğu ve enterokokların çok sayıda antibiyotiğe karşı belirgin bir direnç artışının olduğu belirtilmektedir [49]. Antibiyotiklere dirençli suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik seçeneği kısıtlanır. Endokardit ve menenjit gibi ciddi infeksiyonların 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 ifade edilmektedir [55].

Enteterokok türleri içinde en sık enfeksiyon yapan tür *E.faecalis* olsa da başta vankomisin olmak üzere, çoklu ilaç dirençlerinde ismi öne çıkan tür *E.faecium*'dur [56]. İlk kez Avrupa'da 1988 yılında vankomisine dirençli *E. faecium* klinik izolatlarının bildiriminin yapılmasının ardından ABD'de de bu bakterilerin epidemisinde bir artışın gözlendiği ifade edilmektedir. ABD hastanelerindeki yoğun bakım birimlerinde 1988 yılından 1993 yılına kadar olan süreçte VRE prevalansının 20 kat arttığı; yeni verilere

göre de glikopeptid direncinin *E. faecium* için yaklaşık % 70-80; *E. faecalis* için %10 oranında; total VRE prevalansının % 30 dolaylarında olduğu bildirilmektedir [41]. Enterekoklarda 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 daha çok dikkat çekmeye başladığı belirtilmektedir [42, 56]. Yurdumuzda, yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) de saptanan vankomisine dirençli ilk *E. faecium* suşu 1998 yılında Antalya ilinden bildirilmiştir [13]. Enterokokların antimikrobiklere direnci diğer anti-enterokkal 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 arkadaşları [57], 2002 yılında Auckland ve arkadaşları [58] ve Herrero ve arkadaşları [59], 2003 yılında Bassetti ve arkadaşları [60] tarafından rapor edilmiştir. Daha sonraki yıllarda dünyanın pek çok bölgesinden bu antibiyotiğe karşı dirençli suşlar rapor edilmiş; 2009 yılında da VRE dâhil linezolide dirençli bakterilerin yayıldığı belirtilmiştir [61]. Enterokoklarda β-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 alınamaz.

Enterokoklar ağır antibiyotik içeren ortamlarda hayatta kalmak için olağanüstü bir yeteneğe sahiptirler. Bu yeteneklerini çoklu antibiyotik direnci kazanarak sergilerler. Enterokoklarda antimikrobiyal direnç iki tiptir: Birincisi kendi doğasında olan, bakterinin kendi kromozomu üzerindeki genlerin kontrol ettiği doğal (içsel, intrensek), ikincisi plazmid ve transpozanlar aracılığıyla sonradan kazandığı edinsel dirençtir [56].

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; sadece *E. faecalis* suşlarında görülen kinupristin/dalfopristin direnci bu direnç şekillerindendir.

Enterokoklarda doğal penisilin direnci, β-laktam antibiyotiklere düşük bağlanma yatkınlığı olan ve hücre duvarı sentezinde görev yapan düşük molekül ağırlıklı penisilin bağlayan proteinlerden özellikle PBP5 enziminin varlığında gözlenir [62]. Enterokoklar β-laktamların etkisine karşı toleranslıdırlar. Yani bu antimikrobiklere maruz

kaldıklarında üremeleri durur ancak ölmezler. Bu özellik kazanılmış bir özelliktir. Enterokoklar 5 doz kadar az bir penisilinle karşılaştıklarında hızlı bir şekilde tolerans geliştirirler. Enterokokların çoğu penisilin ve glikopeptid gibi hücre duvarı üzerinde etkili olan ajanlara karşı toleran oldukları için endokardit ve menenjit gibi ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bu antibiyotiklerin etkisiz olma olasılığı ortaya çıkabilmektedir. Enterokok türlerinden yalnızca *E. faecalis* türünün β-laktamaz enzimi salgıladığı, yüksek seviyede penisilin ve ampisilin (MİK > 256 µgm/mL) direnci gösterdiği bildirilmektedir [56]. Enterokoklar hücre duvarlarındaki aminoglikozid geçirgenliğinin zayıf olmasından dolayı tüm aminoglikozidlere (MİK 8-256 µgm/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 tobramisinin yapısında değişiklik yaparak onları etkisiz hale getirdiği ancak gentamisine etkisinin olmadığı belirtilmiştir [52]. Enterokoklar folat sentezini inhibe ettikleri için suşların çoğu trimetoprim-sulfametoksazole in vitro olarak duyarlı ancak in vivo olarak dirençlidirler.

b) Edinsel (Ekstrensek, Kromozomal) Direnç

Edinsel direnç ya bakteri DNA'sının mutasyonu sonucu ya da bakteri kromozomuna yeni bir DNA parçasının entegrasyonu sonucu ortaya çıkar [56]. 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 [63].

Enterokoklarda edinsel direnç örnekleri: β–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.

Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Enterokokların KLORAMFENİKOL direnci en sık olarak ürettikleri asetil transferaz enzimi ile olmaktadır [64] 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 [65].

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

Enterokoklardaki TETRASİKLİN direnci plazmid veya transpozon aracılı konjugasyonla yayılmaktadır [63, 66]. 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 transpozanlar 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 atılır [67]. Bir tetrasikline dirençli olan bakterinin doksisiklin ve minosiklin dışında diğer tüm tetrasiklinlere de dirençli olduğu ifade edilmektedir [67]. 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 bildirilmektedir [68, 69]. Enterokoklarda tetrasiklin direnciyle ilşkili *tetM* geninin yanı sıra *tetL* ve *tetO* genleri de bulunmaktadır [69]. Bunlardan *tetL* geni tetrasiklinin hücre dışına atılmasında rol oynayan aktif pompa sisteminin kodlanmasında rol oynar.

AMİNOGLİKOZİT direnci de tetrasiklin ve glikopeptid direnci gibi plazmid veya transpozon aracılı konjugasyonla kazanılmaktadır [66]. Enterokoklar arasında YDAD'nin tüm dünyada hızlı bir şekilde yayıldığı ifade edilmektedir [70]. Enterokoklar gentamisin, amikasin, tobramisin ve streptomisine yüksek seviyede dirence aracılık eden aminoglikozid modifiye eden enzim (AME) salgılarlar. 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 [70,71]. 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 aminogikozitlerle ile sinerjistik etkisini ortadan kaldıran ve kromozomal olarak kodlanan aminoglikozid asetiltransferaz Aac(6′)-Ii üretirler. Bu suşlarda *aph(3')*-IIIa geni yüksek seviye kanamisin direncine neden olan aminoglikozid fosfotransferaz'ı; *ant(4')*-Ia geni de aminoglikozid nükleotidtransferazı kodlar [(72)].

Enterokokların BETA-LAKTAM antibiyotiklere direncinden, penisilin bağlayan proteinlerde (PBP'lerde) 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 ilşki vardır. *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının çok azı dışında enterokoklar beta-laktamaz üretmezler ve onların hücre duvarları beta-laktamlara karşı bir geçirgenlik bariyeri olamazlar. 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 dâhil olan ve beta-laktam antibiyotiklere kovalent bağlarla bağlanma özelliğindeki membran proteinleridir [(73)]. 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 [(74)]. Beta-laktamaz üreten enterokokların bildirimi ilk kez 1983 yılında yapılmıştır. İlk beta-laktamaz olumlu tespit edilen *E. faecalis* suşuna HH22 adı verilmiştir. 1990'lı yılların ortalarında yapılan çalışmalarda *E. faecalis* suşlarında betalaktamaz üretiminin *S. aures* suşlarında olduğu gibi indüklenebilir mekanizma ile değil yapısal olduğu ortaya konulmuştur [(75)]. Enterokoklarda beta-laktamaz enzimini kodlayan genler (*bla*), transfer edilebilen bir plazmid üzerindedir. Bazı *E. faecalis* suşlarında, bu genin kromozomlarda yerleştiği gösterilmiştir [(76)].

E. 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 µg/ml'lik konsantrasyonlarında inhibe olurken *E. faecium*

izolatlarının çoğu 16-64 µg/ml'lik miktarlarında inhibe olmaktadır. Enterokokların bir diğer sorun yaratan özelliği de tipik olarak beta-laktamlara toleran oluşlarıdır. Bu direncin temel mekanizması düşük afiniteli PBP üretimidir. Penisilin direnci üretilen özgün bir PBP olan PBP5 miktarı ile doğru orantılıdır. Beta-laktamaz üreten enterokoklar nadiren izole edilirler. İndüklenebilir beta-laktamaz üreten stafilokokların aksine enterokoklarda bu enzimin üretimi yapısal, düşük seviyede ve inokulum bağımlıdır [77]. 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 betalaktamaz inhibitörleri tarafından engellenir. Enterokokkal penisilinaz üretimi, klinik laboratuvarlarda MİK 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 [78].

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 pentapetidi oluşur. Bu pentapetit peptidoglikana transglikosilasyonla dâhil olur ve transpeptidasyonla karşı köprüler kurularak güçlü bir peptidoglikan tabakası oluşur. Vankomisin pentapeptidin "D-ala-D-ala" ucuna yüksek afiniteyle bağlanma özelliğindedir. Vankomisin bağlandığı pentapetidin bundan sonra oluşması beklenen molekülün karşılıklı bağlanmasını (transglikozilasyon aşamasını) engeller [77]. Enterokoklarda GLİKOPEPTİD direncinin temeli, D-ala-D-ala yerine D-ala-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 oluşumuna yol açmaktadırlar [66].

Vankomisin direncinin *VanA, VanB, VanC, VanD, VanE, VanG* ve *VanL* ile gösterilen tanımlanmış 7 fenotipi vardır. Xu X ve arkadaşları 2010 yılında Çin'den (Şangay) bir *E. faecium* suşunda *VanM* adını verdikleri yeni bir glikopeptid direnç gen kümesini bulduklarını bildirmişlerdir [79]. Glikopeptid direncinde rol oynayan genlerden *VanA* ve *VanB* enterokoklarda daha önce bulunmayan yeni gen kümelerinin kazanılmasına aracılık ederler. *VanA* ve *VanB* direnç fenotipleri öncelikli olarak *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında tanımlanmıştır [77].

VanA direnç tipine sahip suşlar yüksek seviye vankomisin (MİK değerleri, ≥64 μg/ml) ve teikoplanin (MİK değerleri, ≥16 μg/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 antibiyotiğin bu terminale düşük afinitesi nedeniyle bakterinin hücre duvarını sentezlemesine engel olamaz [77].

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, vankomisinin daha ılımlı seviyelerine (MİK değerleri 32-64 μg/ml) dirençli, ancak teikoplanine duyarlı olduğuna inanılıyordu. Şimdi V*anB* izolatlarının vankomisin direnç seviyelerinin 4 - ≥1,000 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 [77].

VanC direnç fenotipi vankomisine intrensek düşük seviye direnç gösteren (MİK 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 [77].

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 [77].

VanE direnç geni vankomisine düşük seviyede direnç (MİK: 16 µg/ml) gösteren teikoplanine duyarlı (MİK: 0.5 µg/ml) olan bir *E. faecalis* suşunda son yıllarda tanımlanmıştır. Bu yeni direnç fenotipi intrensek *VanC* ile benzerlik göstermektedir. [77]

VanG operonu D-Ala-D-Ser *VanG* ligaz enzimi aracılığıyla bakterinin vankomisine düşük seviyede (MİK: 16µg/ml) direnç kazanmasını sağlar. VanG direnç fenotipi teikoplanine duyarlıdır (MİK: 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 MİK: 16 µg/ml; teikoplanin MİK: 0.5 µg/ml) ayırıcı özelliğidir [80]. 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 [80, 81].

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

VanM direnç tipi'nin varlığı 2010 yılında bir *faecium* suşunda gösterilmiştir. Bu yeni glikopeptid direnç geni *VanA, VanB* ve *VanD* ile ilişkili D-ala-D-lak ligazını kodlayan konjugasyonla transfer olabilen bir gendir. *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 [79].

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 immün sistemi baskılanmış kişilerden, kemik iliği nakli yapılanlardan izole edildiğini bildiren çalışmalar mevcuttur [82]. Vankomisin bağımlılığı *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. avium* türlerinde rastlanmaktadır [82-85]. Bu fenotipler vankomisinin uyarımı sonucu hücre duvarının sentezi için gereken peptidoglikan prekürsörlerini oluşturur; vankomisin eksikliğinde ise peptidoglikan sentezinde gereken bu maddeleri sentezleyemezler [86].

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

Enterokok Enfeksiyonları

Enterokolar normal olarak intestinal bölgede kolonize olan organizmalar olmasına rağmen insanlarda septisemi, bakteriyemi, idrar yolları enfeksiyonları ve endokardit yapabilmektedir [3]. Bu bakterinin bakteriyel endokardit olgularının % 5-15'inden sorumlu olduğu bildirilmektedir [45]. Hastane enfeksiyonlarında 1970'li yılların ortalarından itibaren klinik önemleri giderek artmıştır. İntraabdominal enfeksiyonlar, cerrahi yara ve vasküler kateter enfeksiyonlarına da sıklıkla neden olmaktadır [87]. Enterokokal enfeksiyonların sıklığı immun-yetmezlikli, altta yatan hastalığı bulunan, damariçi kateter ya da üriner kateter uygulananlarda artmaktadır. Bu tür enfeksiyonların % 60 kadarının özellikle anti-enterokokal etkisi olmayan metronidazol, klindamisin gibi antianaerobik etkili ve sefalosporinler gibi geniş-spektrumlu antibiyotiklerin sıklıkla

kullanıldığı yoğun bakım ünitelerinde meydana geldiği ifade edilmektedir [88]. Kateterle-ilişkili kan dolaşımı infeksiyonları, menenjit, intraabdominal infeksiyonlara neden olan mikroorganizmalar arasında bu bakterilerin sıklıklarının artmasında en önemli rolü sefalosporinler, anti-stafilokokal penisilinler, klindamisin ve trimetoprim gibi antibiyotiklere karşı artmış intrensek dirençlerinin oynadığı bilinmektedir [88]. VRE'nin neden olduğu infeksiyonlarda sıklıkla gözlenen risk faktörleri; yüksek APACHE (Acute Physiology And Chronic Healty Evoluation I-II) skorları, yoğun antibiyotik kullanımı, hastanede uzun süre yatma ve invaziv girişimlerdir. Özellikle VRE'nin neden olduğu kan dolaşımı infeksiyonları sonrasında ise hastanede yatış süresi oldukça uzamakta, ek maliyet ve mortalite oranları önemli ölçüde artmaktadır [88]. Bu bakterilerin neden olduğu menenjit, pnömoni, kemik ve eklem enfeksiyonlarına nadir olarak rastlanmaktadır. Aşağıda enterokokların neden olduğu ve sık görülen enfeksiyonlar hakkında bazı literatür bilgileri verilmiştir:

Üriner sistem enfeksiyonlarında bakterinin virülans faktörlerinden biri olan ESP, bir kolonizasyon faktörü olarak rol oynar. Enterokokların insanın bu vücut bölgelerinde yaptığı enfeksiyonlar diğer enfeksiyonlarına oranla daha sık görülmektedir. Morrison AJ Jr ve Wenzel RP, [89] Virjinya Üniversitesi Hastanesinde 1975-1984 yılları arasında, nozokomiyal üriner enfeksiyonların % 6'dan % 16'a çıktığını ve enterokokların üriner hastane enfeksiyonlarına neden olan tüm bakteriler arasında ikinci sırada yer aldığını bildirmektedir. Bütün yaş gruplarında önemli bir morbidite gözlenen idrar yolları enfeksiyonlarının, hastane kaynaklı olanlarının (% 12-15) toplum kaynaklı olanlarına oranla (% 4.4-5.6) üç kat daha fazla çocuklarda görüldüğü ve en sık izole edilen türün de *E. faecalis* olduğu ifade edilmektedir [90]. Enterokokların neden olduğu idrar yolları enfeksiyonlarında en önemli risk faktörleri arasında, kalıcı üriner kateterler, bu bölgeye uygulanan invaziv işlemler, bu bölgedeki yapısal bozukluklar, bakteriyemi, uzun süre hastanede yatma yer almaktadır. Beş yılı aşkın bir süreyi içeren bir retrospektik çalışmada idrar yolları enfeksiyonu olan olgularda % 5.1 oranında izole edilen *E. faecalis*'in % 96.2'si anatomik anormalliği olan olgulardan izole edilmiştir [90].

Bakteriyemi olasılıkla altta yatan ciddi bir enfeksiyon sonrasında ortaya çıkar ve birden fazla bakteri saptanabilir. Genitoüriner bölge, enterokok bakteriyemisi için en önemli giriş yoludur. Çocuklarda nozokomiyal enterokokkal bakteriyeminin % 12'sinin ürosepsisli olduğu bildirilmektedir [91]. Enterokok bakteriyemisi üriner enfeksiyonların

yanısıra, intraabdominal enfeksiyonlar, hepatobiliyer sistem enfeksiyonları, diyabetik ayak ve dekübitis ülserleri gibi deri ve yumuşak doku infeksiyonlarında da gelişebilmektedir. Bakteriyeminin önemli kaynakları arasında intravasküler kateter ve yanık yaraları da önemli önemli bir yer tutmaktadır.

Enterokokkal endokarditleri viridan streptokoklar ve *S. aureus* endokarditlerinden sonra en sık görülen endokarditlerdir**.** Daha çok subakut bakteriyel endokardite neden olan enterokoklar, bakteriyel endokarditlerin % 5-18'ini oluşturur [92, 93, 94]. Bebeklerde enterokok endokarditi nadir olup, erkeklerde ve 50 yaşın üzerindeki olgularda daha sık gözlenir. Endokarditte en sık izole edilen tür *E. faecalis'*tir. Kalp kapağı hastalığı olan ve prostetik kapak takılmış olgular enterokokkal endokardit için riskli gruplardandır. Hastalığın sıklıkla gastrointestinal sistem ya da genitoüriner bölgeye uygulanan cerrahi ya da invaziv işlemler sonucu kaynaklandığı ifade edilmektedir [95].

Enterokokkal intra-abdominal enfeksiyonlar sık gözlenen enfeksiyonlardandır. Bağırsak florasındaki diğer bakterilerle birlikte abdominal ve pelvik abselerden izole edilmektedirler [96]. Enterokoklar siroz ya da nefrotik sendromlu hastalarda spontan peritonite ve peritoneal diyalizli hastalarda peritonite neden olmaktadırlar.

Nadiren menenjite yol açarlar. Daha çok kafa travması ya da merkezi sinir sistemi cerrahisi sonrasında ortaya çıkar. Ventriküloperitoneal şantlı olgularda menenjit gelişebilmektedir [97]. Bu olgularda vankomisin dirençli *E. faecium'*un ventrikülit oluşturduğu ve linezolide yanıt alındığı gösterilmiştir. Enteroklar nedeniyle gelişen menenjitler daha çok bir yaş altındaki bebeklerde görülmektedir.

Enterokokkal enfeksiyonlar immün sistemi baskılanmış olgularda sıklıkla rastlanılan enfeksiyonlardır. VRE kolonizasyonu ve enfeksiyonlarının prevalansı özellikle yoğun bakım, onkoloji ve transplantasyonla ilgili birimlerde yüksek oranlarda saptanmaktadır. Karaciğer nakli için bekleyen hastalarda % 3.4 olan VRE prevalansının karaciğer naklinden sonra % 44 gibi yüksek bir orana yükseldiği; böbrek nakledilecek hastalardaki fekal VRE kolonizasyon oranlarının, yoğun bakım ve hemodiyaliz hastaları gibi diğer yüksek risk grupları için bildirilen oranlar kadar yüksek olduğu bildirilmektedir [98]. Fırsatçı bir patojen olup insanlarda nadir görülen *Enterococcus raffinosus* immünosüpressif olgulardan izole edilebilmektedir [99].

Enterokoklara Etkili Klasik ve Yeni Antibiyotikler

Enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan beta laktamlara ve çeşitli aminoglikozidlere intrensek direnç göstereen enterokoklar diğer pek çok antibiyotiğe sonradan yüksek düzey direnç kazanabilmektedir. Antibiyotik duyarlılıkları diğer bakterilerden farklı özelliklere sahip olan bu organizmaların yaptığı enfeksiyonların tedavisinden her zaman olumlu sonuç alınamamaktadır. Bu nedenle tedavide yeni antibiyotiklerine gereksinim duyulmuştur [(100)]. Penisilin G, ampisilin, vankomisin ve teikoplanin gibi hücre duvarının sentezini engelleyerek bakterisidal etki eden antibiyotikler, normal tedavi dozlarında enterokokların çoğuna bakteriyostatik etki göstermektedir. Bakterisidal etkinin elde edilmesi için bu hücre duvarına etkili antibiyotikler streptomisin ve gentamisin gibi aminoglikozitlerle kombine edilerek tedavi yoluna gidilmektedir. Miks enfeksiyon söz konusu olduğunda üreidopenisilinler; penisilin alerjisi olanlarda, penisilin direnci yüksek olan suşların enfeksiyonlarının tedavisinde glikopeptidler kullanılmaktadır. Enterokokkal sistit, prostatit gibi üriner sistem enfeksiyonlarında nitrofurantoin; akut komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonlarında fosfomisin; çoğul direnç göstermeyen enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kinolonlar kullanılabilmektedir. Tedavide en sorunsal olan enfeksiyonlar endokardit ve menenjit gibi sistemik enfeksiyonlardır. Bu ciddi enfeksiyonlarda hücre duvarına etkili bir antibiyotikle bir aminoglikozidin kombinasyonu önerilir. VRE nedeniyle gelişen menenjitlerde BOS'a geçişi çok iyi olan linezolid tercih edilir [(52)].

Beta-laktamaz üreten enterokok enfeksiyonlarında imipenem ve ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulanik asit ve piperasilin-tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörleri ile penisilinlerin kombinasyonu, vankomisin ve teikoplanin gibi hücre duvarına etkili antibiyotikler kullanılabilir [(52)].

Yüksek seviyede penisilin direnci olan enterokok suşları için penisilin-aminoglikozid kombinasyonu tedavisi; serumda penisilin konsantrasyonu bu antibiyotiğin MİK değerinin iki katı olduğu zaman olumlu sonuç verir. Böyle olgularda vankomisin tercih edilebilir. Tedavide en büyük sorun ise hem penisilin hem de VRE suşlarının enfeksiyonlarında ortaya çıkar. VanB direncine sahip VRE fenotiplerinde teikoplanin etkili olan antibiyotiklerden olup, yüksek düzey aminoglikozid direnci söz konusu olmadığında bir aminoglikozidle kombinasyonu bakterisidal etki sağlar. Önemli sorunlardan biri de teikoplanine tedavi sırasında bakterinin direnç geliştirebilmesidir.

Enterokokkal enfeksiyonların tedavisinde son yıllarda kullanılmaya başlayan birçok antibiyotik vardır; linezolid, kinupristin-dalfopristin, everninomisin bunlardan bazılarıdır. Oksazolidinon sınıfından sentetik bir antibiyotik olan linezolid vankomisine dirençli *E. faecalis* ve *E. faecium*'a karşı bakteriyostatik etkilidir. Klinafloksasin ve sitafloksasin gibi kinolon grubundan yeni antibiyotikler VRE suşlarına karşı etkilidirler. Tedavi seçeneğinin sınırlandığı vankomisine dirençli enterokok enfeksiyonlarında kullanılabilecek yeni antimikrobiklerden biri olan tigesiklin, glisilsiklinler grubunun ilk üyesi ve tetrasiklinlerin semi-sentetik analoglarıdır. Bakterinin geliştirdiği ribozomal koruma ve efluks mekanizmalarından etkilenmez. Bir diğer yeni antibiyotik olan ve 2003 yılında kullanılmaya başlayan daptomisin aktinobakterilerin bir türü olan *Streptomyces roseosporus* tarafından sentezlenen bir lipopeptid antibiyotiktir [(101)]. Daptomisin Gram-olumlu bakteriler üzerinde etkili olup, bu bakterilerin sitoplâzma zarına yapışarak, bu yolla hücre içine potasyum girişini bozar, zarı depolarize eder, makromoleküllerin fonksiyonlarını, hücre zarının işlevini bozar ve bakteriyi öldürür.

Çoklu ilaca dirençli enterokok enfeksiyonlarının tedavisi klinisyenler için bir sorun olmaya devam etmektedir. *E. faecium* hastane izolatlarının glikopeptid ve beta-laktam direncinin yanısıra aminoglikozid, kinupristin-dalfopristin, linezolid ve daptomisin direnci bu sorunu ileri boyutlara taşımaktadır. Özel klinik durumlarda tigesiklin, lipoglikopeptidler (dalbavansin, oritavancin ve telavancin) ve sefalosporinler (seftarolin ve seftobiprol) gibi yeni ve ampisilin, kloramfenikol, doksisiklin, minosiklin ve nitrofurantoin gibi bazı eski antibiyotikler dirençli enterokok suşlarına karşı kullanılabilir. Ancak, endokardit gibi ciddi enfeksiyonların tedavisinde yeni antibiyotikler bile tedavi sorununu tam olarak çözmeye yetmemiştir. Bu enfeksiyonların uygun tedavisinin henüz tam olarak kurulduğunu söyleyemeyiz. Bu antibiyotiklerle ilişkili klinik çalışmalar daha çok olgu sunumları ile sınırlı kalmakta ve farklı sonuçlar bildirmektedir. Sorunun çözümü için in vivo ve in vitro araştırma sonuçları çok iyi değerlendirilerek bir tedavi politikası belirlenmelidir. [(102)]. Yaptığımız bu çalışmada enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan vankomisin, teikoplanin gibi klasik antibiyotiklerin yanı sıra tedavide kullanılmaya başlanan yeni antibiyotiklerden kinupristin-dalfopristin, linezolid, tigesiklin ve daptomisinin etkinlikleri araştırılmış ve bu antibiyotiklerin etkinliğini araştıran en güncel çalışma sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Enterokokların Antibiyotik Duyarlılığının Araştırılmasında Kriterler

Enterokokların duyarlılık testlerinde kullanılacak antibiyotiklerin seçimi vankomisin direnci, yüksek düzey aminoglikozid direnci dikkate alınarak yapılmalıdır. Sefalosporinler, YDAD taraması dışında aminoglikozidler, klindamisin, trimetoprim-sülfametoksazol in vitro olarak etkin görünseler de in vivo olarak enterokoklara etkisiz olduğundan antibiyogramda kullanılması önerilmez. Enterokoklarda en önemli tedavi sorunu vankomisin direnci ve YDAD durumunda ortaya çıkmaktadır. Klinisyen, sadece antibiyotiklerin duyarlılık sonuçlarına bakarak tedaviyi yönlendirmemelidir. Antibiyotik duyarlılık testlerinin klinik yorumlaması, izole edilen mikroorganizmanın enfeksiyon etkeni olup olmadığı, in vivo ve in vitro duyarlılık farklılıkları, enfeksiyon bölgesi, ilacın emilimi ve vücuttan atılımı gibi farmakokinetik ve antibiyotik ile antibiyotik konsantrasyonlarındaki değişikliklerin mikroorganizmanın çoğalma dinamiklerine ve ölümüne olan etkisi gibi farmakodinamik özellikler dikkate alınarak yapılmalıdır [(103)]. Tüm bunları değerlendirerek klinik laboratuvarlarda antibiyogram işlemlerini standardize eden "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" tarafından antibiyogram işleminde farklı mikroorganizmalar için test edilecek antibiyotikler ve rapor grupları Grup A, Grup B, Grup C, Grup U, Grup O ve Grup Inv ("investigational") olmak üzere altı kategoriye ayrılarak gruplandırılmıştır [(104)].

Grup A: Öncelikli olarak antibiyogram panelinde bulunması gereken, özgün bir organizma yönünden sonuçların rutin olarak raporlanması gereken antibiyotikleri içerir. Enterokoklar için antibiyogramında rutin olarak yer alması ve alınan sonuçların bildirilmesi gereken antibiyotikler penisilin ve ampisilindir.

Grup B: İlk sırada hastane kaynaklı enfeksiyonlar olmak üzere klinik açıdan önemli ve antibiyogramda yer alması gereken ancak sonuçları seçilerek bildirilmesi gereken antibiyotikleri içeren gruptur. Bu kategoride enterokoklar yönünden test edilmesi gerekenler bir glikopeptid olan vankomisin; lipopeptidlerden daptomisin; streptograminlerden kinupristin-dalfopristin; okzazolidinonlardan linezoliddir. Vankomisine kazanılmış direnci (*VanA*, *VanB*) olan suşları, intrensek ve orta seviye direnç gösteren (*VanC*) suşlardan ayrmak için vankomisin MİK değerleri ölçülür, hareket testi ve pigment üretimine bakılır. *E. gallinarum* ve *E.casseliflavus* tarama besiyerinde ürer. Diğer enterokokların MİK değerleri 8-16 μg/ml (orta) enfeksiyon kontrol amaçları yönünden diğer VRE'lerden farklıdır.

Grup C: Antibiyogramda öncelikli olarak kullanılması gereken antibiyotiklere direncin yüksek olarak saptanması ya da bu antibiyotiklere hastanın aşırı duyarlılık sorununun bulunması durumda antibiyogramda yer alması gereken antibiyotikleri içerir. Enterokoklar için gentamisin ve streptomisin bu grupta yer alan antibiyotiklerdir.

Grup U: Bir üriner sistem enfeksiyonu söz konusu olduğu zaman antibiyogram paneline dâhil edilmesi önerilen antibiyotikleri içerir. Eğer enterokokkal bir üriner sistem enfeksiyonu varsa siprofloksasin, norfloksasin, levofloksasin gibi kinolonlar ve nitrofurantoin ve tetrasiklin gibi antibiyotikler test edilmelidir.

Grup O ("other"): Rutin olarak test edilmeyen ve sonuçları rapor edilmeyen bir klinik duruma yol açan organizma grupları için önerilen antibiyotikleri içermektedir. Enterokoklar yönünden bu grupta yer alan antibiyotikler makrolidlerden eritromisin; tetrasiklinlerden doksisilin ve minosilin; florokinolonlardan gatifloksasin; rifamisinlerden rifampin; fosfomisinlerden fosfomisin; fenikollerden kloramfenikoldür.

Grup Inv ("investigational"): Henüz FDA tarafından onaylanmamış; bir organizma grubunun duyarlılığını araştırmak yönünden önerilen antibiyotikleri içeren gruptur. Enterokoklar yönünden bu grupta yer alan antibiyotik teikoplanindir.

Beta-laktamaz olumsuz suşlar için penisilin duyarlılığı ampisilin, amoksisilin, sulbaktam/ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, piperasilin ve piperasilin/tazobaktam için genelleştirilebilir. Beyin omurilik sıvısı ve kan izolatları için mutlaka nitrosefin hidrolizi ile beta-laktamaz üretimi değerlendirilmelidir. Beta-laktamaz olumlu suşlar, amino, karboksi ve üreidopenisilinlere dirençlidir. İzole edilen suş, penisiline veya ampisiline duyarlı bulunsa da endokardit gibi ciddi enfeksiyonlarda hücre duvarına etkili bir antibiyotik ve bir aminoglikozid kombinasyonu kullanılmalıdır. Böyle durumlarda yüksek düzey gentamisin direnci (YDGD) veya streptomisin direnci (YDSD) araştırılmalıdır [105] YDGD ve YDSD saptanmasında 0.5 McFarland eşeline göre bakteri süspansiyonunun yayıldığı Mueller-Hinton Agarda disk difüzyon (120 µg'lık gentamisin ve 300 µg'lık streptomisin içeren disklerle), buyyonda [beyin kalp infüzyon (BKİ)] mikrodilüsyon ya da agar dilüsyon yöntemleri ile araştırılır. Bu antibiyotiklere yüksek düzeyde direnç olması durumunda tedavide kullanılan kombinasyonunda sinerjik etki oluşmaz. Yüksek düzey direncin saptanması için sulandırım yöntemlerinde 200 µg/mL gentamisin, 1000 µg/mL streptomisin; agar dilüsyonda 500 mg/L gentamisin, 2000 µg/mL streptomisin kullanılır [104].

MATERYAL ve METOD

Atatürk Üniversitesi Yakutiye Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Rutin Laboratuvarlarına Mayıs 2009 – Nisan 2010 tarihleri arasında kabul edilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 enterokok suşu incelenmiştir. Bu suşların türleri tanımlanmış ve penisilin, ampisilin, eritromisin, linezolid, tetrasiklin, levofloksasin, kinupristin-dalfopristin, vankomisin, teikoplanine duyarlılıkları ile yüksek doz gentamisin ve streptomisin duyarlılıkları araştırılmıştır. HLAR varlığının araştırılmasında 120 µg'lık gentamisin ve 300 µg'lık streptomisin diskleri kullanılmıştır. Antibiyotiklere duyarlılık belirlenmesinde disk difüzyon yöntemi ve tigesiklin ile daptomisin MİK değerlerinin belirlenmesinde ise E test yöntemi kullanılmıştır.

A. Klinik Örnekler ve Enterokok İzolasyonu

Enterokoklar idrar, kan, yara-apse, BOS ve kulak örneklerinden kanlı agar, çikolatamsı agar, kan kültür şişelerinden izole edilmiştir.

Besiyerlerinde üreyen enterokok şüpheli 0,5-1 mm çapında gri, kenarları belirgin ve düz beyaz-yeşilimsi kolonilerden Gram boyama yapılarak Gram-olumlu koklar araştırılmış; Gram-olumlu kok olduğu tespit edilen kolonilere katalaz testi uygulanmıştır. Bu testin olumsuz sonuç alındığı suşlar iğne özeyle safra-eskülin agar besiyerine ekilmiş ve % 40 safralı ortamda üreyen ve eskülini hidrolize eden bakterilerin % 6.5'lik NaCl'de üreyip üremedikleri kontrol edilmiştir. Tuzlu ortamda üreme gösteren suşlara son olarak PYR testi yapılarak olumlu sonuç alınan bakteriler *Enterococcus spp*. olarak kabul edilmiştir. Enterokok tür ayrımı için Api 20 Strep (Bio-Merieux) sistemi kullanılmıştır. Uygulanan testlerin detayları aşağıda belirtilmiştir:

Katalaz Testi: Çikolatamsı agar besiyerinde üreyen bakteri kolonilerinin üzerine doğrudan; kanlı agar plağındaki koloniler ise lama aktarılarak 2-3 damla %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatılarak hava kabarcığının oluşması olumlu sonuç olarak değerlendirildi.

Safrada Üreme ve Eskülin Hidrolizi Deneyi: Safra-eskülinli agarda gerçekleştirilen testte besiyerinin yatık yüzeyine Enterokok şüpheli kolonilerden ekim

yapılmış; besiyerleri 35°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda besiyerinde siyahlık oluşması olumlu sonuç olarak değerlendirildi.

Tuz Tolerans Testi (%6,5'luk NaCl'de üreme): Enterokok şüpheli kolonilerden, hazırladığımız % 6.5'lik NaCl sıvı ortamına (2-3 koloni) ekimler yapılıp 3 saat 35°C'de inkübe edildi. Süre sonunda tuzlu ortamdan halka öze ile koyun kanlı agara pasaj yapıldı ve etüvde bir gece inkübe edildi. Süre sonunda kanlı agar besiyerinde üreme olması olumlu sonuç olarak değerlendirildi.

PYR Testi: Test için PYR emdirilmiş filtre kâğıtları kullanıldı. Filtre kâğıdı üzerine şüpheli koloniden (2-3 koloni) aktarılarak üzerine PYR broth damlatıldı ve 5 dakika beklendi. Süre sonunda PYR reaktifi damlatılıp 30-60 saniye içerisinde mor renk oluşması olumlu sonuç olarak değerlendirildi.

Enterokok Türlerinin Ayrımı (APİ 20 Strep Yöntemi): Yukarıda belirtilen tüm testlerden olumlu sonuç alınması ile izole edilen suşlara *Enterococcus spp*. tanısı konuldu. Bu bakterilerin tür ayrımı Api 20 Strep (Bio-Merieux) test kitleri ile yapıldı. Bu kit içerisinde bulunan süspansiyon ortamında koyun kanlı agarda taze üretilen enterokok kolonilerinden Mc Farland 4 eşeline denk olacak şekilde inokulum hazırlanıp test stripindeki her kuyucuğa otomatik dispenser ile 100µl'lik inokulum dağıtıldı ve 35-37^{o}C'de 4 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda ilgili ayıraçlar damlatılarak 10 dakika sonra reaksiyonlar okuma tablosuna (APİ WEB tanımlama programına) göre okundu ve bakterinin türü belirlendi.

B. Enterokok Suşlarının Saklanması

Enterokok tanısı konulan suşlar BKİ besiyerlerine aktarılarak buzdolabında (5°C'de) muhafaza edilmiş ve her ay yeni bir BKİ besiyerine bu suşların pasajları yapılmıştır. Bu suşların sayısı 100'e ulaşınca duyarlılık testleri 10'arlı gruplar halinde çalışılmıştır.

C. Uygulanan Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Enterokokların duyarlılık testleri ve kullanılan antibiyotikler CLSI önerilerine göre belirlenmiştir [104]. Buna göre Grup A kategorisinden penisilin ve ampisilin; Grup B'den vankomisin, kinupristin-dalfopristin ve linezolid; Grup C'den gentamisin ve

streptomisin, Grup U'dan levofloksasin ve tetrasiklin, Grup O'dan eritromisin ve Grup Inv'den teikoplanin duyarlılıkları araştırılmıştır.

Disk Difüzyon testi: Enterokok suşlarının antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile CLSI doküman M100-S20 önerilerine göre Mueller Hinton agar (Difco)'da araştırıldı. BKİ besiyerinde saklanan bakterilerin kanlı agar pasajlarında üretilen taze kültürlerinden serum fizyolojik içinde 0.5 Mc Farland süspansiyonu hazırlandı ve MHA yüzeyine yayıldı. Antibiyotik diskleri antibiyogram plağının kenarından 15 mm, birbirinden 10-30 mm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirildi. Besiyerlerinin 37^{o}C'de 16-18 saatlik inkübasyonu sonunda zon çapları ölçülerek bakterilerin denenen antibiyotiklere karşı duyarlılık sonuçları dirençli (S), orta derece duyarlı (I), veya duyarlı (S) olarak rapor edildi.

HLAR için difüzyon testinde 120 µgr'lık gentamisin ve 300 µgr'lık streptomisin diskleri kullanıldı. Çalışmada Oxoid ® marka antibiyotik diskleri kullanılmış olup bu disklerin içeriği ve inhibisyon zonları Tablo 2'de görülmektedir. Antibiyogram sonuçlarının yorumu bu tabloda verilen inhibisyon zon çaplarına göre yapılmıştır.

Tablo 2: Antibiyotiklerin disk içerikleri ve inhibisyon zon çapları

Antibiyotikler	**Disk içeriği**	**Zon çapı mm (yaklaşık mm)**		
		S	**I**	**R**
Penisilin	10 Ünite	≥15	-	≤ 14
Ampisilin	10 µgr	≥17	-	≤ 16
Eritromisin	15 µgr	≥23	14-22	≤ 13
Kinopiristin/dalfopiristin	15 µgr	≥19	16-18	≤ 15
Levofloksasin	5 µgr	≥17	14-16	≤ 13
Linezolid	30 µgr	≥23	21-22	≤ 20
Tetrasiklin	30 µgr	≥18	15-18	≤ 14
Teikoplanin	30 µgr	≥14	11-13	≤ 10
Vankomisin	30 µgr	≥17	15-16	≤ 14
Gentamisin (HLAR)	120 µgr	≥10	7-9	6
Streptomisin (HLAR)	300 µgr	≥10	7-9	6

Enterokokların Tigesiklin ve Daptomisine Duyarlılıklarının Saptanması: Çalışmamızda tigesiklin ve daptomisin etkinliği E Test Yöntemi (AB BIODISK ®) ile araştırılmıştır. Test, üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Buna göre BKİ agar hazır toz besiyerinden (Oxoid ®) 37 gr alınıp 1 litre distile su içinde eritilip 121^{O}C'de 15 dakika otoklavlandı. Besiyerleri 15 cm çaplı petrilere 4 mm kalınlıkta döküldü. Mc Farland nefelometresi ile triptik soy agar besiyerine pasaj yapılmış 24 saatlik taze bakteri kültürlerinden 0. 5 Mc Farland süspansiyon Triptik Soy Broth içinde hazırlandı. BKİ Agar plağı üzerine yayıldı. Plağın kuruması için 15 dakika beklendi ve E test aplikatörü ile tigesiklin ve daptomisin E Test stripleri plak üzerine yerleştirildi. Stripler 35^{O}C'de 24 saat inkübe edildi ve 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 tigesiklin MİK değerleri 1-4 μgr/ml arası duyarlı, 8-16 arası orta derecede duyarlı, $\geq$32 μgr/ml dirençli, daptomisin için MİK değeri ise $\leq$ 4 μgr/ml duyarlı olarak kabul edildi.

D. İstatistiksel analiz

Veriler sayı olarak verilmiştir, 100 enterokok suşunun dâhil olduğu tablolarda verilen sayılar aynı zamanda yüzde değerlerdir. Gruplararası değişkenlerin analizi X^2 (ki-kare) testi ile yapılmış, elde edilen $p<0.05$ değerleri önemli kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda çeşitli klinik ve poliklinik hastalarından Mayıs 2009 – Nisan 2010 tarihleri arasında 100 enterokok suşu izole edilmiş ve bu suşların tür düzeyinde tanısı yapılmıştır. En fazla sıklıkla izole edilen enterokok türü % 55 oranıyla *E. faecium* olmuş bunu % 42 oranıyla *E. faecalis* takip etmiştir. Çalışmamızda enfeksiyonlardan ender izole edilen türlerden *E. durans* (% 2) ve *E. avium* (%1) suşları da izole edilmiştir. Bu türlerin izolasyon sayıları (= oranları) Tablo 3'de görülmektedir

Tablo 3. İzole edilen enterokok türlerinin dağılımı (n = %)

Tür	**Sayı**
E. faecium	55
E. faecalis	42
E. durans	2
E. avium	1
Toplam	**100**

Suşlarının en yüksek sıklıkta izole edildiği klinik örnek idrar (% 59), kan (%21) ve yara (%13) olmuştur. Örnek tipine göre enterokok izolasyon sayıları (oranları) Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Örnek değişkenlerine göre enterokok dağılımı (n = %)

Örnek tipi	**Sayı**
İdrar	59
Kan	21
Yara	13
BOS	3
Vagen	2
Kulak	2
Toplam	**100**

Enterokok suşlarının yarısından fazlası (54 suş) Çocuk Hastalıkları kliniğinden gönderilen örneklerden izole edilmiştir. Bunu ikinci sırada 15 suşla İç Hastalıkları kliniği takip etmiştir. Yatarak tedavi gören hastalarda % 55, poliklinik hastalarında % 45 oranlarında enterokok suşu izole edilmiştir. Hastanede yatan/polikliniğe başvuran olgu sayıları *E. faecium* için 39/16; *E. faecalis* için 14/28; şeklinde dağılmıştır. Yatan hastalarda *E. faecium* oranı *E. faecalis*'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur [X^2: 13.567, P: 0.00023 ($p<0.05$)]. Enterokok türlerinin hastanede yatan ve poliklinik hastalarına göre kliniklerdeki dağılımı Tablo 5'de görülmektedir.

Tablo 5. Enterokok türlerinin kliniklere göre hastanede yatan hasta ve poliklinik hastalarında dağılımı (n = %)

Klinik	**Hastanede yatan hasta**		**Polikliniğe başvuran hasta**		**Genel toplam**
	Tür (sayı)	**Toplam**	**Tür (sayı)**	**Toplam**	
Çocuk Hastalıkları	*E. avium* (1) *E. durans* (1) *E. faecalis* (4) *E. faecium* (18)	24	*E. faecalis* (18) *E. faecium* (12)	30	54
İç Hastalıkları	*E. faecalis* (7) *E. faecium* (4)	11	*E. faecalis* (2) *E. faecium* (2)	4	15
Nöroloji	*E. faecium* (4)	4	-	-	4
Ortopedi	*E. faecium* (3)	3	*E. faecium* (1)	1	4
Plastik Cerrahi	*E. faecalis* (1) *E. faecium* (2)	3	*E. durans* (1)	1	4
Çocuk Cerrahi	*E. faecium* (3)	3	-	-	3
Göz	*E. faecium* (2)	2	*E. faecalis* (1)	1	3
Kadın H. ve Doğum	*E. faecium* (1)	1	*E. faecalis* (2)	2	3
Yoğun Bakım	*E. faecalis* (1) *E. faecium* (2)	3	-	-	3
KBB	*E. faecalis* (1)	1	*E. faecalis* (1)	1	2
Üroloji	-	-	*E. faecalis* (1) *E. faecium* (1)	2	2
Nöroşirurji	-	-	*E. faecalis* (1)	1	1
Acil	-	-	*E. faecalis* (1)	1	1
Cildiye	-	-	*E. faecalis* (1)	1	1
Toplam	*E. avium* (1) *E. durans* (1) *E. faecalis* (14) *E. faecium* (39)	**55**	*E. durans* (1) *E. faecalis* (28) *E. faecium* (16)	**45**	**100**

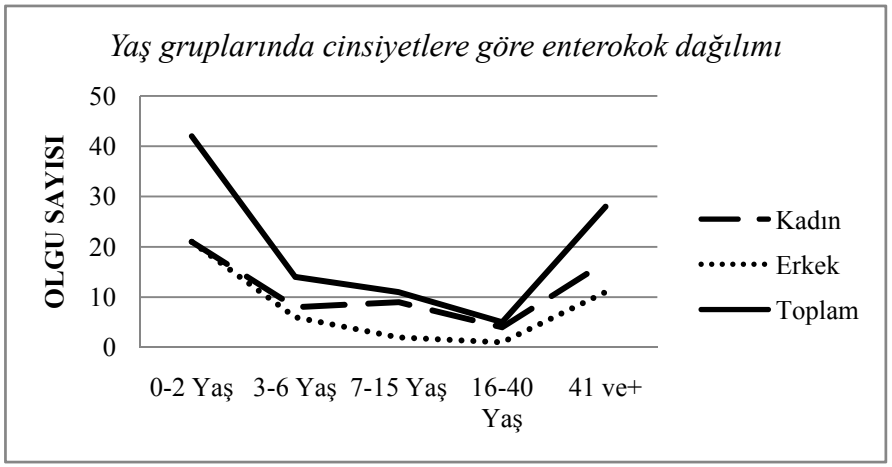
Enterokok suşlarının % 59'u kadın, % 41'i erkek hastalardan izole edilmiş; cinsiyetler arasında türlerinin izolasyon sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir [X^2: 6.07, P: 0.108 (P>0.05)]. İzole edilen enterokok türlerinin kadın ve erkeklerdeki dağılımı Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Enterokok türlerinin cinsiyet değişkenlerine göre dağılımı [n(%)]

Tür	**Kadın**	**Erkek**	**Toplam**
E. faecium	28 (51)	27 (49)	55 (100)
E. faecalis	29 (69)	13 (31)	42 (100)
E. durans	2 (100)	-	2 (100)
E. avium	-	1 (100)	1 (100)
Toplam	**59 (59)**	**41 (41)**	**100 (100)**

Enterokoklar 42 suşla en yüksek sıklıkta 0-2 yaş aralığından izole edilmiş bu suşların kadın/erkek cinsiyetlerinden izolasyon sayıları 21/21'dir. Bunu takip eden yaş grupları ve enterokokların (kadın/erkek olgulardaki) dağılımı ise 41 ve üzeri yaşlarda 28 (17/11); 3-6 yaşlarda 14 (8/6); 7-15 yaşlarda 11 (9/2) ve 16-40 yaşlarda 5 (4/1) şeklinde olmuştur. Enterokok izole edilen olguların % 67'sini 0-15 yaşlarındaki çocuklar, % 33'ünü ise 22 yaşın üzerindeki yetişkinler oluşturmaktaydı. Bu rakamlara göre çalışmamızda çocuklarda enterokok izolasyonu yetişkinlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir [X^2: 11.56, P: 0.0006 (P<0.05)]. Enterokoklar yetişkin genç yaşlarda az sayıda bulunmuş; 16-21 yaşlarında enterokok izole edilememiştir (Şekil 2).

Şekil 2. Farklı yaş gruplarında cinsiyetlere göre enterokok dağılımı



Enterokok izole edilen hastanede yatan 29 ve polikliniğe başvuran 13 olmak üzere toplam 42 olguda başka ciddi rahatsızlıkların varlığı tespit edildi. En sık gözlenen hastalıkların başında akut lenfoid lösemi, meme malignensi, akut myeloid lösemi, adrenal bez malignensi, karaciğer malignensi ve Hodgkin lenfoması gibi maligniteler gelmekteydi. *E. faecium* izole edilen 6 ile *E. faecalis* izole edilen 3 olgu bu hastalıklardan birini taşımaktaydı. En sık gözlenen diğer rahatsızlıklar koagülasyon bozukluğu, serebral infarkt ve kronik böbrek yetmezliği gibi durumlardı. Taşıdığı hastalık, rahatsızlık ve semptomların bu olgulardan izole edilen enterokok türüne göre dağılımı Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7. Enterokokkal enfeksiyonlara eşlik eden hastalık/sendromların dağılımı

Altta yatan hastalık	***E. faecium***	***E. faecalis***	***E. avium***	**Toplam**
Maligniteler	6	3	-	9
Koagülasyon bozukluğu	-	3	-	3
Serebral infarkt	3	-	-	3
Kronik böbrek yetmezliği	1	2	-	3
Nefrotik Sendrom	-	2	-	2
Down Sendromu	2	-	-	2
Doğuştan kalça çıkığı	2	-		2
Hidrosefali	2	-	-	2
Diyabet	1	1	-	2
Bağırsak obstrüksiyonu	1	-	-	1
Serebral palsi	1	-	-	1
Böbrek taşı	1	-	-	1
Hipoplastik sol kalp	-	1	-	1
Çölyak hastalığı	1	-	-	1
Retinopati	-	1	-	1
Hipotiroidi	-	-	1	1
Budd Chiari Sendromu	1	-	-	1
Raşitizm	1	-	-	1
Epilepsi	1	-	-	1
Demir eksikliği anemisi	1	-	-	1
Hepatit	1	-	-	1
Polikistik over	-	1	-	1
Vezikoüreteral reflü	-	1	1	1
Toplam	**26**	**15**	**1**	**42**

İzole ettiğimiz *E. faecium* suşlarının 3 (% 6)'ü hem vankomisine hem de teikoplanine dirençliydi. Bu VRE suşlarının biri adrenal bez malignensili, diğeri Down Sendromlu ve üçüncüsü ise cerrahi servisinde bağırsak obstrüksiyonu nedeniyle yatan 5 yaş ve altındaki kız çocuklarının idrar örneklerinden izole edilmiştir. Sadece eritromisine orta derecede olmak üzere 5 *E.faecalis* suşu ile sadece tetrasikline orta dercede duyarlı olan *E. avium* suşu tüm antibiyotiklere duyarlı idi. Suşların hiçbirinde linezolid direnci gözlenmedi. *E. faecium* suşlarından biri vankomisin, teikoplanin ve linezolid dışında diğer tüm antibiyotiklere dirençli; bu suş dâhil toplam 4 *E. faecium* suşunun ise vankomisin, teikoplanin kinupiristin/dalfopristin ve linezolid dışında diğer tüm antibiyotiklere dirençli olduğu tespit edildi. Toplamda enterokok suşlarının en yüksek dirençli olduğu antibiyotikler sırasıyla eritromisin (% 64), penisilin (% 63) ampisilin (% 56), gentamisin (% 49), tetrasiklin (% 38), streptomisin (% 37), levofloksasin (% 33) ve kinopiristin/dalfopristin (% 29) olmuştur. *E. faecalis* suşlarının 11 (% 26.2)'i penisiline; 5'(% 11.9)'i ampisiline; *E. faecium* suşlarının 52 (% 94.5)'si penisiline, 51 (% 92.7)'i ampisiline dirençliydi. Yüksek doz gentamisin/streptomisin direncinin (YDGD/YDSD) *E. faecium* suşlarında (%69/%44) *E. faecalis*'e (% 26/% 29) oranla daha yüksek olduğu görüldü. Yüksek doz streptomisin direnci 1 *E. durans* suşunda tespit edilmiştir. Enterokok türlerinin yüksek doz aminoglikozidler dâhil denenen antibiyotiklere karşı duyarlılık sonuçları Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 8. Enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılık oranları [n(%)]

	***E. faecium* (n: 55)**			***E. faecalis* (n: 42)**			**Diğer türler (n: 3)**			**Toplam (n: 100)**		
Antibiyotik	**S**	**I**	**R**	**S**	**I**	**R**	**S**	**I**	**R**	**S**	**I**	**R**
Vankomisin	52 (95)	-	3 (5)	42 (100)	-	-	3 (100)	-	-	97 (97)	-	3 (3)
Teikoplanin	52 (95)	-	3 (5)	42 (100)	-	-	3 (100)	-	-	97 (97	-	3 (3)
Kuinupr/dalfopr.	53 (96)	-	2 (4)	15 (36)	1 (2)	26 (62)	2 (67)	-	1 (33)	70 (70)	1 (1)	29 (29)
Penisilin	3 (5)	-	52 (95)	31 (74)	-	11 (26)	3 (100)	-	-	37 (37)	-	63 (63)
Ampisilin	4 (7)	-	51 (93)	36 (86)	1 (2)	5 (12)	3 (100)	-	-	43 (43)	1 (1)	56 (56)
Linezolid	55 (100)	-	0 (0)	42 (100)	-	-	3 (100)	-	-	100 (100)	-	-
Eritromisin	10 (18)	1 (2)	44 (80)	20 (48)	3 (7)	19 (45)	2 (67)	-	1 (33)	32 (32)	4 (4)	64 (64)
Tetrasiklin	42 (76)	1 (2)	12 (22)	16 (38)	2 (5)	24 (57)	-	1 (33)	2 (67)	58 (58)	4 (4)	38 (38)
Levofloksasin	27 (49)	-	28 (51)	37 (88)	-	5 (12)	3 (100)	-	-	67 (67)	-	33 (33)
Genta. (120 µg)	17 (31)	-	38 (69)	31 (74)	-	11 (26)	3 (100)	-	-	51 (51)	-	49 (49)
Strep. (300 µg)	31 (56)	-	24 (44)	30 (71)	-	12 (29)	2 (67)	-	1 (33)	63 (63)	-	37 (37)

Çalışmamızda ya tek başına gentamisin ve streptomisine ya da her iki antibiyotiğe birden toplamda 55 *E. faecium* suşunun 43 (% 78.2)'ünde; 42 *E faecalis* suşunun 17 (% 40.5)'sinde YDAD saptanmıştır. YDGD, YDSD ve her iki aminoglikozide dirençli enterokok suşlarının türlere göre dağılımları Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Enterokok türüne göre YDGD ve YDSD dağılımları

Direnç	***E. faecium***	***E. faecalis***	***E. durans***	***E.avium***	**Toplam**
YDGD (+)	19	5	-	-	24
YDSD (+)	5	6	1	-	12
YDSD + YDGD (+)	19	6	-	-	25
YDSD + YDGD (-)	12	25	1	1	39
Toplam	**55**	**42**	**2**	**1**	**100**

YDAD olan *E. faecium* suşlarında vankomisin, teikoplanin ve linezolid dışında kalan diğer antibiyotikler içinde en etkili antibiyotikler kinupristin/dalfopristin (41 duyarlı suş), tetrasiklin (34 duyarlı suş), levofloksasin (19 duyarlı suş) olmuştur. YDAD olan *E. faecalis* suşlarında ise en etkili antibiyotiklerin ampisilin (12 duyarlı ve 1 orta duyarlı suş), levofloksasin (12 duyarlı suş) ve penisilin (9 duyarlı suş) olduğu görülmüştür. YDAD gösteren suşlarda bu direnci göstermeyen suşlara oranla (*E. faecium* suşlarında tetrasiklin hariç) diğer antibiyotiklere *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarının daha dirençli oldukları saptanmıştır. Tablo 10'da gentamisin ya da streptomisine tek başına ya da her iki aminoglikozide dirençli suşlar YDAD olarak adlandırılmış ve YDAD varlığına göre *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarının diğer antibiyotiklere direnç oranları karşılaştırılmıştır. Buna göre *E. faecium* ve *E. faecalis* türlerinin YDAD gösteren ve göstermeyen suşlarında kinupristin/dalfopristin direnci farkı (X^2:33.516, P: 0.0001); penisilin direnci farkı (X^2: 22.473, P: 0.0001) ve ampisilin direnci farkı (X^2: 33.516, P: 0.0001) istatistiksel olarak çok önemli ve tetrasiklin dirençlerindeki farkın önemli olduğu görülmüştür (X^2: 10.506, P: 0.0012). Bu iki bakteri türünün gerek eritromisin (X^2: 2.774, P: 0.0958) gerekse levofloksasin (X^2: 3.401, P: 0.0652) dirençleri arasında bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 10. YDGD olumlu ve olumsuz enterokokların diğer antibiyotiklere dirençlerinin karşılaştırılması [n(%)]

Direnç durumu	Kuinop/Dalfop		Penisilin		Ampisilin		Eritromisin		Tetrasiklin		Levofloksasin	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
YDAD (+) *E. faecium* (n: 43)	2 (5)	41 (95)	42 (98)	1 (2)	41 (95)	2 (5)	38 (88)	5 (12)	9 (21)	34 (79)	24 (56)	19 (44)
YDAD (+) *E. faecalis* (n: 17)	13 (76)	4 (24)	8 (47)	9 (33)	4 (24)	13 (76)	12 (71)	5 (29)	11 (65)	6 (35)	5 (29)	12 (71)
Toplam (n: 60)	**15 (25)**	**45 (75)**	**50 (83)**	**10 (17)**	**45 (75)**	**15 (25)**	**50 (83)**	**10 (17)**	**20 (67)**	**40 (33)**	**29 (48)**	**31 (52)**
YDAD (-) *E. faecium* (n: 12)	0 (0)	12 (100)	11 (92)	1 (8)	10 (83)	2 (17)	6 (50)	6 (50)	3 (25)	9 (75)	4 (33)	8 (67)
YDAD (-) *E. faecalis* (n:25)	11 (44)	14 (56)	3 (12)	22 (88)	1 (4)	24 (96)	7 (28)	18 (72)	13 (52)	12 (48)	0 (0)	25 (100)
Toplam (n: 37)	**11 (30)**	**26 (70)**	**14 (38)**	**23 (62)**	**11 (30)**	**26 (70)**	**13 (35)**	**24 (65)**	**16 (43)**	**21 (57)**	**4 (11)**	**33 (89)**

E-test ile *E.faecium* suşlarının MİK aralığı tigesiklin için 0.023-1 µg/ml, daptomisin için 0.016-3 µg/ml olarak; *E. faecalis* suşlarının ise tigesiklin için 0. 047-3 µg/ml, *d*aptomisin için 0. 016-1 µg/ml bulunmuştur. Tigesiklin ve daptomisinin *E. faecalis* ve *E. faecium* için saptanan MİK değerleri Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. E.faecalis ve E.faecium için tigesiklin ve daptomisin MİK değerleri

	Tigesiklin (µg/ml)	**Daptomisin (µg/ml)**
E. faecium		
MİK aralığı	0.023-1.0	0.064-3.0
$MİK_{50}$	0.064	1.0
$MİK_{90}$	0.125	2.0
E. faecalis		
MİK aralığı	0.047–3.0	0.016–1.0
$MİK_{50}$	0.094	0.125
$MİK_{90}$	0.25	0.38

TARTIŞMA

Bir enfeksiyonun başarıyla tedavi edilmesi etken organizmanın izolasyonu, tanımlanması ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenip özgün tedavi seçeneklerinin ortaya konulması ve hekimin bu seçenekleri kendisine sunan laboratuvar sonuçlarına göre hareket etmesine bağlıdır. Gram-olumlu bakterilerin tedavisinde kullanılan pek çok antibiyotik, enterokoklara karşı etkili olamaması nedeniyle enterokokkal enfeksiyonların tedavisi diğer Gram-olumlu bakterilere göre daha sorunsal bir durum oluşturmaktadır. Bu durumdan enterokokların birçok antibiyotiğe doğal direnç göstermelerinin yanı sıra, yeni mekanizmalarla antibiyotik direnci oluşturmaları ve bu direnci aktarabilmeleri sorumlu tutulmaktadır [106]. Enterokoklar aynı zamanda dış ortam koşullarına karşı da dayanıklıdırlar. Tüm bu özellikleri onların hastane enfeksiyonlarında önemli etkenler olarak karşımıza çıkmasına neden olmaktadır. Bakterinin gastrointestinal sistemdeki kolonizasyonu; altta yatan ciddi bir hastalık, geçirilmiş bir cerrahi operasyon, böbrek yetmezliği, nötropeni, 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 [50, 107-109]. Bunların sonucu olarak da bu bakterilerin özellikle doğal dirençlerinde artış ortaya çıkmakta ve enfeksiyonlarının tedavisinde önemli sorunlar yaşanmaktadır.

Enterokok türlerinden *E. faecalis* ve *E. faecium,* enfeksiyonlardan en sık izole edilen türlerdir. Enterokokkal enfeksiyonların % 85-90 kadarından *E. faecalis,* % 5-10 kadarından da *E. faecium* sorumlu tutulmaktadır [52, 110, 111]. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda *E. faecium* izolasyonunun *E. faecalis*'den daha yüksek olduğunu rapor eden çalışmalar mevcuttur. Örneğin Arca ve arkadaşları [111] 2009 yılında yayınlanan makalelerinde *E. faecium* suşlarını % 55 oranında tespit etmişken *E. faecalis* suşlarını % 42.5 oranında izole ettiklerini bildirmektedirler. Aynı şekilde, Tok [52] 2006 yılında yayınlanan tez çalışmasında *E. faecium*'u % 85.7, *E.faecalis*'i % 14. 3 oranlarında izole ettiğini rapor etmiştir.

Çalışmamızda dört farklı enterokok türü tespit edilmiş olup en yüksek sıklıkta izole edilen tür % 55 oranıyla *E. faecium* olmuş, % 42 oranıyla *E. faecalis* ikinci sırada

yer almıştır (Tablo 3). Bu sonuçların özellikle Arca ve arkadaşlarının bildirdikleri oranlara benzer olduğu görülmüştür. Çalışmamızda ayrıca normalde süt ve kuru gıdalardan izole edilen, insan ve hayvanlarda ender olarak hastalıklardan sorumlu tutulan *E. durans* % 2; ender olarak kümes hayvanları ve memeli bağırsaklarından ve apandisit, otit ve beyin apselerinden izole edilen *E. avium* ise % 1 oranında izole edilmiştir. Bu bakterilerden *E. avium* hipotiroidisi olan bir erkek bebeğin idrarından; *E durans* suşlarından biri bir kız bebeğin kanından diğeri ise 46 yaşındaki bir erkek olgunun yarasından izole edilmiştir. İdrar yolları enfeksiyonlarından *E. avium* izolasyonunu bildiren makaleler mevcuttur [112].

Klasik bir bilgi olarak sunulan "enterokok enfeksiyonlarının % 90'lara ulaşan oranından *E. faecalis,* üst sınırı % 10'la sınırlanan kadarından da *E. faecium* türlerinin sorumlu olduğu" varsayımı belki de birkaç yıl sonra değişecektir. Yaptığımız bu çalışma gibi son yıllarda yapılan çalışmalarda, *E. faecium* klinik izolatlarının sayısal artışı dikkat çekici boyutlarda olup türlerin izolasyon oranlarının değişebileceği; en azından oranlar arasındaki büyük farkın bir miktar azalacağı sinyalini vermektedir.

En sık gözlenen enterokok enfeksiyonları sırasıyla; idrar yolları enfeksiyonları, intraabdominal ve pelvik enfeksiyonlar ve bakteriyemilerdir. Enterokokkal bakteriyemilerin daha çok yaşlı ve sağlık sorunları olan ya da immün yetmezliği olup uzun süre hastanede yatan ve antibiyotik tedavisi alanlarda görüldüğü ve mortalitesinin % 30'ları aştığı ifade edilmektedir [113]. Çelebi ve arkadaşları [114] çocuklarda nozokomial enterokokkal bakteriyemide mortalitenin %7.5-12 oranlarına ulaşabildiğini ve kendi çalışmalarında bu oranın % 3.6 olarak gözlendiğini bildirmektedirler.

Enterokokların nozokomial idrar yolları, cerrahi yara enfeksiyonları ve nozokomial bakteriyeminin en sık etkenlerinden olduğu bilinmektedir [115]. Çalışmamızda da izole edilen suşlar en sık olarak idrar yolları, ikinci sıklıkta kan ve üçüncü sıklıkta yara enfeksiyonlu olgulardan izole edilmiştir (Tablo 4). Alınan bu sonuç ile yöremizde de enterokokkal enfeksiyonlar yönünden benzer bir durum olduğu görülmektedir.

Önceleri enterokokal enfeksiyonların genellikle hastanın kendi florasından kaynaklandığı düşünülmekteydi. Ancak sonraki çalışmalarda, enterokokların sadece

endojen değil dış kaynaklarla da yayılabileceği gösterilmiştir. Dirençli enterokok türlerinin hastane ortamında ve sağlık çalışanlarının ellerinde uzun süre canlı kalabildiği ve el yıkama alışkanlığının iyi olmadığı birimlerde bu kişilerden hastane içine kolayca yayılabildiği belirtilmektedir [116]. Bu tür dirençli enterokoklar sağlık çalışanlarının ve hastaların gastrointestinal sisteminde kolaylıkla kolonize olabilmekte ve böylece hastane içinde veya hastaneler arasında kolaylıkla yayılabilmektedir. Yaptığımız çalışmada enterokok suşlarının % 55'i yatan hastalardan, % 45'i ise poliklinik hastalarından izole edilmiştir. Suşların yarıdan fazlası (% 54'ü) Çocuk Hastalıkları Kliniğinden gönderilen çocuk hastaların örneklerinden izole edilmiştir. İkinci sıklıkta (% 15) izolasyon İç Hastalıkları Kiniğinden gönderilen örneklerden sağlanmış diğer kliniklerdeki izolasyon sıklığı düşük oranlarda (% 4-1) olmuştur (Tablo 5). Yatan hastalarda *E. faecium* poliklinik hastalarına oranla (39/16) 2.4 kat daha fazla bulunmuş *E. faecalis* suşları ise poliklinik hastalarında daha yüksek oranlarda izole edilmiştir. Bu iki bakteri arasında yatan hasta ve poliklinik hasta dağılımındaki farkın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlara göre hastanemiz kliniklerinde enterokokkal enfeksiyonlar açısından risk faktörlerinin araştırılmasının önemi ortaya çıkmaktadır.

Çalışmamızda enterokoklar kadınlarda erkeklere oranla daha yüksek sayıda bulunmuş, ancak cinsiyet değişkenlerine göre izolasyon oranları (% 59/41) arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığı görülmüştür (Tablo 6). Kadın genital sisteminin normal florasında bulunan enterokokların özellikle bu cinsiyet grubunda genito-üriner enfeksiyonlar açısından bir risk olduğunu düşünebiliriz. Nitekim çalışmamızda erkek olguların idrarından izole edilen suş sayısı 21 olmasına karşın, enterokoklar 23'ü poliklinik hastası ve 15'i de yatan hasta olmak üzere (27'si çocuk olan) toplam 38 kadının idrar örneğinden izole edilmişlerdir. Bu sonuçlara göre kadınların erkek olgulara oranla neredeyse iki kat daha fazla idrar yolları enfeksiyonuna yakalanma riski altında olduğunu söylemek olasıdır.

Çalışmamızda enterokoklar 0-2 yaş grubunda % 42, 3-6 yaş grubunda % 14, 7-15 yaş grubunda % 11 ve 41 yaşın üzerindeki olgularda % 28 oranlarında izole edilmiştir. Bakterinin 0-6 yaşları arasındaki çocuklarda izolasyon sayısı diğer yaşlara oranla yüksek bulunmuş, yetişkin genç yaşlarda bu sayı önemli ölçüde azalmış ancak 51 ve üzeri yaşlarda (yaş ilerledikçe) arttığı görülmüştür (Şekil 2). Bu dağılımı, immün

sistem gelişiminin ve altta yatan ciddi rahatsızlıkların önemli ölçüde etkilemesi söz konusudur. Pek çok kaynak enterokokkal enfeksiyonların sıklıkla başka bir hastalık ya da predispozan bir faktörle birlikteliğini açıklamaktadır. Olgularımızın % 42'inde altta yatan bir hastalık veya predispozan bir faktörün varlığı tespit edilmiştir (Tablo 7). Neonatal sepsis ve menenjit olgularının %13'ünde enterokokların etken olduğu; yenidoğan yaş grubunda enterokokal sepsis gelişimi için düşük doğum ağırlığı ve erken doğumun risk oluşturduğu ifade edilmektedir. Aynı şekilde uzun süreli nonumbilikal santral venöz kateterizasyonun, bağırsak rezeksiyonu veya diğer abdominal cerrahi girişimlerin, uzun süreli hospitalizasyon ve sefalosporin grubu antibiyotik tedavilerinin önemli risk faktörleri olduğu bildirilmektedir [50, 95, 114, 117]. Çalışmamızda enterokok izole edilen olgularda en sık rastlanan enfeksiyonlara zemin hazırlayan faktörlerin (predispozan faktörler) başında % 9 oranında malignensiler tespit edilmiştir. Ayrıca koagülasyon bozuklukları, serebral infarktlar ve KRY gibi rahatsızlıklar % 3'er oranla ikinci sırada tespit edilen faktörler olmuştur.

Çoklu antibiyotik direnci gösteren enterokokların neden olduğu enfeksiyonlarda 1980'li yılların ortalarından bu yana artış görülmektedir. Bir glikopeptit olan vankomisin çok yakın döneme kadar çoğul direnç gösteren enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde güvenle kullanılabilen bir antibiyotik durumundaydı. Ancak antibiyotiklerin aşırı tüketimi, zaten yapısal olarak birçok antibiyotiğe dirençli olan enterokokların normalde duyarlı oldukları glikopeptid antibiyotiklere karşı da direnç geliştirmelerine neden olmuştur. Fransa'dan Leclercq ve arkadaşları [118], İngiltere'den Uttley ve arkadaşları [119] tarafından Avrupa'daki vankomisine dirençli enterokok suşlarının bildirilmesinden 10 yıl kadar sonra yurdumuzda da ilk vankomisine dirençli enterokok suşu Antalya'dan bildirilmiştir [13]. Daha sonra VRE suşlarının bildirimi 1999 yılında İstanbul'daki iki üniversite hastanesinden ve Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisinden yapılmıştır [120-122]. İzmir'de ise Arda ve arkadaşları [123] , 2001 yılında Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı yoğun bakım ünitesinde, karaciğer transplantasyonu uygulanmış bir hastada VRE (E.faecium) saptandığını bildirmişlerdir. Samsun'da yapılan bir çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 101 enterokok suşu içerisinde glikopeptid direnci tespit edilememiştir [124]. Tokat ilinde yapılan çalışmada ise 96'sı *E. faecalis* 41'i *E. faecium* olan toplam 137 enterokok suşunda aynı şekilde vankomisin ve teikoplanin direnci saptanamadığı bildirilmiştir [100]. Günümüzde

ülkemizin değişik illerinden bildirilen VRE enfeksiyon olgularının sayısının giderek arttığı görülmektedir. VRE'lerin çoğunluğunu *E. faecium* suşlarının oluşturduğu görülmektedir. Yaptığımız çalışmada 100 enterokok suşunun 3'ü VRE olarak tespit edilmiş olup VRE izole edilen olguların hepsi hastanede yatarak tedavi gören çocuk hastalar olup birinde adrenal bez malignensi, birinde bağırsak obstrüksiyonu ve diğerinde de Down Sendromu vardı.

Çalışmamızda kinupristin/dalfopristin ve tetrasiklin dışında diğer antibiyotiklere karşı *E. faecium* suşlarının *E. faecalis* suşlarına oranla daha dirençli oldukları gözlenmiştir (Tablo 8). *E. faecium* direnç kodlayan kromozomal genlerin yanı sıra plazmidler ve konjugatif transpozanlar aracılığı ile vankomisin, teikoplanin penisilin, gentamisin, tetrasiklin ve eritromisin gibi antibiyotiklere karşı oldukça direnç kazanabilmektedir. Enterokokların tedavisinde kullanılan çeşitli antibiyotiklere karşı direnç oranları hastaneden hastaneye, bölgeden bölgeye değişmektedir. Polonya'da, Rudy ve arkadaşları [125] çocukların idrar örneklerinden izole edilen 130 *E. faecalis* ve 41 *E. faecium* suşunun duyarlılık sonuçlarını verdikleri çalışmalarında *E. faecalis* suşlarının tümünün vankomisin, teikoplanin ve nitrofurantoine, % 96'sının penisiline, % 28'inin tetrasikline; *E. faecium* suşlarının ise aynı şekilde %100'ünün glikopeptidlere % 32'sinin penisiline, % 19'unun tetrasikline duyarlı olduğunu bildirmektedirler. Aynı çalışmada *E. faecalis* suşlarının % 17'sinin, *E. faecium* suşlarının ise % 29'unun yüksek doz aminoglikozid direnci gösterdiği; yüksek doz aminoglikozid direnci gösteren suşların aynı zamanda penisilin ve tetrasikline de dirençli oldukları rapor edilmiştir. Bu çalışmada *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının penisilin için bildirilen duyarlılık oranları bizim çalışmamızda gözlediğimiz oranlarla tamamen zıtlık göstermekte olup, çalışmamızda *E. faecalis* için % 74, *E. faecium* için % 5 oranında penisilin duyarlılığı saptanmıştır. Aynı şekilde tetrasiklin için bildirilen duyarlılık oranları ve YDAD oranları da bizim çalışmamıza göre düşük oranlardadır. İran'da yapılan bir çalışmada kinupiristin/dalfopristin direnci idrar örneklerinden elde edilen 86 *E.faecalis* için yüksek oranda (% 83) saptanmış, 17 *E. faecium* suşunun hiç birinin bu antibiyotiğe dirençli olmadığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada *E. faecium/E. faecalis*'in direnç oranları penisilin için 100/7.3; ampisilin için 85.7/7.3; linezolid için 0/0; tetrasiklin için 42.8/96.8; YDGD 71.4/65.8 olarak bildirilmiştir. Anlaşılacağı gibi bu çalışmada bildirilen direnç oranları ile bizim aynı antibiyotikler için saptadığımız direnç

oranlarında önemli farklar vardır [126]. İngiltere'de "Antibiotic Resistance Monitoring and Reference Laboratory"de yapılan bir çalışmada klinik örneklerden izole edilen enterokokların % 72.5'i *E. faecalis,* % 24.5'i *E. faecium* geri kalan kısmının da diğer türlerden oluştuğu; *E. faecium'*un % 18 ve *E. faecalis'*in % 3 oranında vankomisine dirençli olduğu ve hiçbir suşta linezolid direncinin olmadığı bildirilmiştir [127]. Yurdumuzda Tokat ilinde Yenişehirli ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada [100] *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının tümü linezolide duyarlı bulunmuş; *E. faecalis* suşlarının %21.9'unda, *E. faecium* suşlarının ise %26.8'inde YDGD gözlenmemiş ve *E. faecalis* suşlarının %16.7'si *E. faecium* suşlarının ise %73.2'si ampisiline dirençli olarak saptanmıştır. Malatya'da Ersoy ve arkadaşları [128] enterokokları penisiline % 25.9, ampisiline % 23.1, levofloksasine % 44.2, gentamisine % 31.3, streptomisine ise % 34.7 dirençli olarak bulmuştur. Çaylan ve arkadaşları [62] ise klinik izolatlarda penisiline direnç oranını % 68.4; klinik/fekal izolatlarda YDGD oranını % 13/25.3, YDSD oranını % 41/51.5 olarak bulmuş ve vankomisin ve teikoplanine direnç gözlemediklerini bildirmişlerdir. Berzeg [129] ise İstanbul'da yaptığı tez çalışmasında hastalardan izole edilen 50 enterokok suşu için direnç oranını penisiline % 34, gentamisine % 30, streptomisine % 16, siprofloksasine % 34, vankomisine % 2 olarak bildirmiş, teikoplanine ise dirençli suş bulunmadığını rapor etmiştir. Bu farklı oranlar, diğer birçok mikroorganizmada olduğu gibi enterokok suşlarında da direnç oranlarının coğrafi bölgelere göre önemli değişiklikler gösterdiğinin bir örneği olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda enterokok suşlarının tamamı değerlendirildiğinde en yüksek oranda direnç eritromisin (% 64) ve penisilin (% 63) için elde edilmiş; bu antibiyotikleri sırasıyla ampisilin (% 56), gentamisin (% 49), tetrasiklin (% 38), streptomisin (% 37), levofloksasin (% 33), ve kinupiristin/dalfopristin (% 29) takip etmiştir. İzole ettiğimiz suşların hiçbirinde linezolide ve *E.faecium* suşlarının üçü dışında vankomisin ve teikoplanine direnç saptanamamıştır. İdrardan izole edilen *E. avium* suşu, çalışılan hiçbir antibiyotiğe dirençli bulunmamış, sadece tetrasikline orta derecede duyarlı bulunmuştur. Kandan izole edilen *E. durans* suşu eritromisin, kinupiristin/dalfopristin ve tetrasikline dirençli, diğer antibiyotiklere duyarlı; yara örneğinden izole edilen diğer *E. durans* suşu ise tetrasikline orta derecede olmak üzere diğer antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. Ancak *E. avium* ve *E. durans* suş sayısı düşük olduğundan bu bakteriler

için verdiğimiz antibiyotik duyarlılık sonuçları bir epidemiyolojik veri olarak değerlendirilmemiş; bir bilgi olarak sunulmuştur.

Çalışmamızda 100 enterokok suşu için tek başına YDGD %24, YDSD % 12 ve YDGD+YDSD % 25 olarak tespit edilmiştir (Tablo 9). *E. faecium* suşlarında 19 YDGD, 5 YDSD ve 19 da her iki aminoglikozide olmak üzere toplam 43 (% 78.2) suşta YDAD direnci; *E faecalis* suşlarında ise 5 YDGD, 6 YDSD ve 6 YDGD+YDSD olmak üzere toplam 17 (% 40.5) suşta YDAD direnci saptanmıştır. YDAD olumlu *E. faecium* suşlarında linezolid, vankomisin, teikoplanin en etkili antibiyotikler olarak bulunmuş bunları sırasıyla kinupristin/dalfopristin, tetrasiklin, levofloksasin, eritromisin takip etmiştir (Tablo 10). YDAD suşlarına ampisilin ve penisilinin etkisi son derece düşük oranlarda kalmıştır. Eritromisinin her iki bakterinin YDAD olan suşlarına; levofloksasinin *E. faecium*'un YDAD olan, *E. faecalis*'in YDAD olmayan suşlarına daha etkili olduğu görülmüştür. Ancak YDAD'ne göre eritromisin ve levofloksasin dirençleri bu iki tür arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir (eritromisin için X^2: 2.774, P: 0.0958; levofloksasin için X^2: 3.401, P: 0.0652). Kinupristin/dalfopristine ise *E. faecium*'un YDAD olmayan 12 suşunun tamamı duyarlı olup; bu antibiyotiğe YDAD olan suşlarının duyarlılığı da oldukça yüksek; *E. faecalis*'in ise düşük bulunmuştur. Bu iki türün YDAD'ne göre kinupristin/dalfopristin direnci farkının istatistiksel olarak aşırı derecede önemli olduğu görülmüştür (X^2: 33.516, P<: 0.0001). YDAD olan *E. faecium* suşlarında YDAD olmayan suşlarına göre penisilin ve ampisiline çok yüksek oranda duyarlılık varken tetrasiklinde tamamen zıt bir sonuç alınmıştır. *E. faecalis* suşlarında ise ampisiline (4 suş) ve penisiline (8 suş) dirençli olanların sayısı YDAD saptananlarda daha fazla; tetrasikline de daha az bulunmuştur. YDAD'ne göre *E. faecium* ve *E. faecalis*'in penisilin ve ampisilin dirençli suş sayıları arasında istatistiksel olarak aşırı derecede anlamlı bir farkın olduğu görülmüştür (penisilin için X^2: 22.473, P<: 0.0001, ampisilin için X^2: 33.516, P<: 0.0001). Bu farkın tetrasiklin için de çok anlamlı olduğu tespit edilmiştir (P: 10.506, P: 0.0012).

Samsun'da yapılan çalışmada 101 *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatlarının %33'ü ampisiline, %52'sinin penisiline ve % 43'ünün de yüksek doz gentamisine dirençli olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada YDGD gösteren suşların % 56'sının aynı zamanda ampisiline dirençli olduğu da bildirilmiştir [124]. Yaptığımız çalışmada YDGD

saptanan 49 suşun 41 (83.7)'inin aynı zamanda ampisiline de dirençli olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada bildirilen yurdumuzda yapılan önceki çalışma sonuçlarına göre enterokoklarda YDGD % 8-65; YDSD % 15-54; YDGD+YDSD ise % 4-30.6 arasında değişmektedir. Çalışmamızda ise bu oranlar 100 enterokok suşu için YDSD düşük oranda olmak üzere diğerleri belirtilen oranlar arasında yer almıştır. Ancak çalışılan suşların sayılarının nispeten düşük olması nedeniyle, bu rakamların epidemiyolojik verilere bilimsel katkı değerlerinin sınırlı olacağını belirtmek gerekmektedir. YDAD gösteren suşlarda gözlenen yüksek oranlardaki ampisilin ve penisilin direnci tedavi seçeneklerini sınırlandırarak glikopeptit antibiyotikleri ilk seçenek ilaç haline getirmektedir. Yaptığımız çalışmada üriner sistem enfeksiyonlarında alternatif ilaç olarak kullanılan kinolonlardan levofloksasin direncinin YDAD gösteren *E. faecium* suşlarının yarısından fazlasında görülmesi, bu antibiyotiğin yöremizde ampirik tedavi amacıyla kullanılmasının doğru bir yaklaşım olmayacağı anlamını taşımaktadır.

Enterokokkal enfeksiyonların tedavisinde önerilen antibiyotikler arasında kinupristin/dalfopristin, linezolid, tigesiklin, daptomisin yer almaktadır [(130)]. Çalışmamızda linezolid için dirençli suş saptanamamış olması sevindiricidir. Kinupiristin/dalfopristin'in enterokoklar üzerindeki etkinliğinin linezolid ve glikopeptitlerin ardından en yüksek olduğu görülmüştür.

Enterokokkal enfeksiyonlar ve bu bakterilerin antibiyotik direnç oranlarındaki artış, tedavide son zamanlarda kullanılmaya başlayan linezolid, tigesiklin ve daptomisin gibi antibiyotiklerin enterokoklar üzerindeki etkinliğini araştırmayı zorunlu kılmaktadır. Linezolid VRE, metisiline dirençli *S. aureus* ve penisiline duyarlı pnömokok gibi Gram-olumlu bakterilere karşı etkilidir. Food and Drug Administration (FDA) tarafından linezolidin öncelikle bakteriyemi dâhil VR*E* enfeksiyonlarında; toplum kaynaklı ya da nozokomial penisiline duyarlı *S. pneumoniae* pnömonilerinde; metisiline dirençli ve duyarlı *S. aureus, Streptococcus pyogenes, S. agalactiae* türlerinin yaptığı komplike cilt enfeksiyonlarında; toplum kaynaklı metisiline duyarlı *S. aureus* bakteriyemilerinde kullanılması uygun görülmüştür [(131)]. Daha önce verdiğimiz linezolid ile ilişkili çalışmaların tümünde bu antibiyotiğin enterokok suşlarının tümüne etkili olduğunu belirtmiştik ancak 2001 yılından bu yana linezolide karşı dirençli suşların varlığını bildiren çalışmalarda mevcuttur. Bu çalışmaların birinde Gozales ve arkadaşları

linezolid ile tedavi edilen 45 hastadan birinde tedavi sırasında linezolide direnç geliştiğini bildirmişlerdir [57]. Rahim ve arkadaşları [132] ciddi tıbbi sorunları olan 76 ve 78 yaşındaki 2 hastada önceden linezolid kullanmadığı halde vankomisine ve bu antibiyotiğe dirençli *E. faecium* suşlarını bildirmişler ve bu direnci, 23S rRNA genindeki domain beş içindeki G2576 gen mutasyonu ile ilişkilendirmişlerdir. Yurdumuzda ise henüz linezolid direncini bildiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Elde edilen literatür bilgileri ve çalışmamızdan aldığımız sonuçlara göre Gram-olumlu bakterilerle oluşan hastalıkların tedavisinde linezolidin son derece etkili bir antibiyotik olduğu anlaşılmaktadır.

Streptogramin A ve B bileşiklerinden oluşan bir protein sentez inhibitörü olan Kinupristin/dalfopristin; 50S ribozomal alt birime bağlanarak protein sentezini durdurarak etki göstermekte ve vankomisine dirençli *E. faecium* suşları başta olmak üzere diğer çoklu antibiyotik direnci gösteren Gram-olumlu patojenlerin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır [100]. Bakteriyemili hastalarda kinupristin/dalfopristin yanıtının % 60-70 dolayında olduğu ifade edilmektedir [133]. Kinupristin/dalfopristin linezolid ile kombine edilerek dirençli Gram-olumlu bakteri enfeksiyonlarının tedavisi amacıyla üretilmiştir. En sık kullanıldığı enfeksiyonlar komplike olan ya da olmayan deri-yumuşak doku enfeksiyonları, pnömoniler, bakteriyemiler, kateterle ilişkili enfeksiyonlar ve yaşamı tehdit eden vankomisine dirençli *E. faecium* enfeksiyonlarıdır [134]. Yapılan çalışmalarda bu antibiyotiğe karşı enterokokların duyarlılık oranları türlere göre farklılık göstermektedir. Elazığ'da Doğanay ve Kizirgil *E. faecalis* suşlarının % 96.4, *E. faecium* suşlarının % 27.3'ünün; Tokat'ta Yenişehirli ve Bulut *E. faecalis* suşlarının % 72.9, *E. faecium* suşlarının % 7.3'ünün bu antibiyotiğe dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Tünger ve arkadaşları [135] İzmir'de yaptıkları çalışmada E-test ile Van A genotipi vankomisin direnci olduğu ifade edilen 96 *E. faecium* suşunun % 94.8'ini kinupristin/dalfopristin'e duyarlı bulmuşlardır [133, 135]. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar alınmış yeni kullanıma girmesine rağmen bu antibiyotiğe karşı enterokoklarda yüksek direnç oranları bildirilmiştir. Lee ve arkadaşları [136] Kore hastanelerinde çok sık kullanılmayan kinupristin/dalfopristine karşı 2005 yılında izole edilen VRE suşlarının büyük oranda dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda *E. faecium* suşlarının *E. faecalis* suşlarına oranla kinupristin/dalfopristin direncinin düşük olduğu görülmekte ve

bunun nedeni de *E. faecalis* suşlarının bu antibiyotiğe karşı kromozomal olarak dirençli olmasına ve ayrıca, streptogramin A ve B bileşiklerinden oluşan virginamisin gibi antibiyotiklerin hayvan besiciliğinde sık kullanılmasına bağlanmaktadır. Çiftlik hayvanlarının gastrointestinal sisteminde yer alan virginamisine dirençli enterokok suşlarının kinupristin/dalfopristine karşı da çapraz direnç gösterdiği; kinupristin/dalfopristin ve virginamisin direncinden sorumlu VatD ve VatE asetil transferazların varlığının farklı Avrupa ülkelerinden bildirildiği ifade edilmektedir [(100)]. Çalışmamızda da *E. faecalis* suşlarındaki kinupristin/dalfopristin direnç oranının (%26), *E. faecium* suşlarına göre (%2) yüksek olduğu gözlenmiştir.

Tigesiklin, yapısal olarak tetrasiklinlere benzeyen 2005 yılında FDA tarafından kullanımı onaylanan gerek Gram-olumlu gerekse Gram-olumsuz bakterilerde yüksek etkinlik gösteren geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Bu glisilsiklin bakterilerde 30S ribozomal alt ünitede A bölgesine bağlanarak aminoaçiltransfer RNA'nın ribozom içine girişini önleyerek protein sentezinde zincir uzaması engeller ve bakterinin üremesini durdurur [(137)]. Öksüz ve Gürler bazı bakterilerin çoklu ilaç transport sistemlerinin MİK değerlerinde dört kat artışa neden olmasına rağmen tigesikline karşı direnç sağlayamadıklarını ancak MATE efluks pompası ailesinin, toksik bileşiklerin ve yeni ilaçların hücre dışına atılmasında etkili olabileceğini ve *S. aureus* suşlarında tigesiklin duyarlılığında azalmaya yol açabileceğini ifade etmektedirler. Surveyans çalışmalarında klinik suşlar arasında glisilsikline doğal dirençli kökene rastlanmadığını belirten Öksüz ve Gürler [(138)] bu antibiyotiğin tedavide yaygın kullanımı sonucu direnç gelişebileceğini de belirtmişlerdir. Tigesiklin metisiline dirençli pnömokok, MRSA, glikopeptitlere dirençli enterokok gibi Gram-olumlu; genişlemiş beta-laktamaz üreten E. coli gibi Gram-olumsuz dirençli bakterilere karşı etkili olmaktadır [(139)]. Bu antibiyotiğin etki spektrumuna giren organizmalar arasında, cilt ve cilt altı enfeksiyonlarına neden olan MRSA, Streptokok türleri, vankomisine duyarlı ve dirençli *E. faecalis;* intraabdominal enfeksiyonlara neden olan vankomisine duyarlı *E. faecalis*, MSSA, *Citrobacter freundii, Enterobacter cloacae, Klebsiella oxytoca, K. pneumoniae, Bacteroides* spp, *Clostridium perfringens,* ve *Peptostreptococcus micros* gibi bakteriler de yer almaktadır [(140, 141, 142)]. Tetrasiklin direncininin önemli şekillerini kodlayan tet genlerini taşıyan bakterilere karşı tigesiklinin etkili olduğu gösterilmiştir; laboratuar ortamında tigesiklinin suboptimal konsantrasyonlarına maruz bırakılan *S. aureus*'larda bu

antibiyotiğe karşı direnç elde edilemediği iddia edilmiştir [143]. Ancak çok az sayıda da olsa bu antibiyotiğe karşı dirençli enterokokların bulunduğunu bildiren çalışmalara da rastlanmaktadır. Örneğin, Almanya'da Werner ve arkadaşları daha önce intraabdominal cerrahi operasyon öyküsü olan 65 yaşındaki bir hastadan izole edilen *E.faecalis* suşunun sıvı besiyerinde mikrodilüsyon (broth mikrodilüsyon = BMD) ve E-test yöntemiyle tigesikline dirençli olduğunu bildirmişlerdir [144].

Tigesiklinin, kinupristin/dalfopristin, linezolid ve daptomisine oranla VRE suşlarında daha etkili olduğu bildirilmektedir. Karaoğlan ve arkadaşları çeşitli klinik örneklerden izole edilen 57 si *E. faecium* ve 3'ü *E. gallinarum* olan 60 vankomisine dirençli enterokok suşunun hepsinin E-test yöntemiyle tigesiklinin düşük MİK konsantrasyonlarına (1 ≤ µg/ml) duyarlı olduğunu, *E. faecium* suşlarının MİK: 0.094-0.25 µg/ml arasında inhibe olduğunu bildirmişlerdir. Bradford ve arkadaşları [145] New York'ta cilt ve intraabdominal enfeksiyonlardan izole edilen 168 klinik *E. faecalis* izolatının tamamının tigesiklinin 0.5 µg/ml ya da daha düşük değerlerinde inhibe olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada bu *E. faecalis* için tigesiklinin $MİK_{90}$ değeri de 0.25 µg/ml olarak bildirilmiş; 61 *E. faecium* izolatı için de aynı etkinliği gösterdiği ve $MİK_{90}$ değerinin 0,12 µg/ml olduğu rapor edilmişdir. Souli ve arkadaşları [146] tigesiklinin çoklu direnç gösteren bakterilere karşı mükemmel aktivite gösterdiğini; 60 *E. faecium* suşunun hepsinin tigesikline duyarlı ($MİK_{50}$: 0. 03µg/ml, $MİK_{90}$: 0. 06 µg/ml) olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan pek çok çalışmada *E. faecium* ve *E. faecalis* suşlarında tigesiklinin aynı etkinliğe sahip olduğu, $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerlerinin çok düşük olduğu bildirilmektedir [147-150]. Ancak bazı çalışmalarda tigesiklin için VRE izolatlarına karşı elde edilen sonuçlar yukarıda verilen çalışmalar kadar olumlu olmamıştır. Lee ve arkadaşları [151] VRE izolatlarına karşı tigesiklinin aktivitesinin, kinupristin/dalfopristin, linezolid ve daptomisin arasında en yüksek etkinliğe sahip olduğunu (MİK: 0.05-3.1 µg/ml) rapor etmişler, ancak 2005 yılı VRE izolatlarından bazılarının tigesikline direnç gösterdiğini (MİK≥12. 5µg/ml); 2005 yılı izolatlarında, *E. faecium* suşlarının *E. faecalis'*e göre tigesiklin direncinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (*E. faecium*'da $MİK_{90}$: 12. 5µg/ml, *E. faecalis*'te ise $MİK_{90}$:6. 25 µg/ml).

Gerek daptomisin gerekse tigesiklin için, kullanılan çeşitli antibiyogram yöntemlerinin duyarlılıklarının farklı olmasının farklı sonuçların bildirilmesine yol

açabileceği, farklı sonuçların alınmasının da çalışmada kullanılan besiyerleri ile ilişkili olabileceğine vurgu yapılmaktadır [152, 153]. Tigesiklinin duyarlılığını araştırmada onaylanan test E test yöntemidir. Tigesiklinin antimikrobiyal duyarlılık ve MİK değerlerinin belirlenmesinde güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi ve geçerli olması, bu testlere göre tedavi seçeneklerini belirleyecek olan klinisyen ve uygun sürveyansın belirlenmesi yönünden önemlidir. Birbirlerine yakın değerlerde olsa bile E-test, BMD ve disk difüzyon duyarlılık sonuçlarının farklılığı, bazı hastaların tedavisinde sorun yaşanacağı anlamına gelmektedir. Bolmström ve arkadaşları [154] farklı bakteri gruplarından çok sayıda suşla yapılan kapsamlı bir çalışmada AB BIODISK (Solna, Sweden) E-testinin tekrarlanabilir güvenilir MİK sonuçları verdiğini bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızda tigesiklin MİK değerlerinin saptanması amacıyla Bolmström ve arkadaşları tarafından güvenilir olduğu saptanan AB BIODISK striplerini kullandık.

Tigesiklinin disk difüzyon yönteminde kullanılmak üzere 15 µg'lık diskleri geliştirilmiş birçok merkezde kullanılmaktadır. Behera ve arkadaşları [155] vankomisine duyarlı 14 enterokok suşunun 15 µg'lık disklerle yapılan disk difüzyon testi ve AB BIODISK striplerini kullandıkları E-test yöntemi ile tigesikline duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Somily ve arkadaşları [156] *E. faecium* suşları dâhil, klinik önemi olan toplam 83 Gram-olumlu bakterinin tigesiklin duyarlılığını disk difüzyon ve E-test yöntemleriyle araştırmışlar ve tümünün duyarlı olarak bulunduğunu; bu iki test arasında fark olmadığını rapor etmişlerdir. Rathe ve arkadaşlarının çalışmasında 124 enterokok suşunun linezolid, daptomisin ve tigesikline duyarlılığı disk difüzyon, BMD ve E-test ile araştırılmış ve bu antibiyoriklere karşı tümünün duyarlı olduğu rapor edilmiş; tigesiklinin E-test ile MİK:0.064-0.25 µg/ml arasında; BMD ile 0.016-3 µg/ml arasında suşları inhibe ettiği bildirilmiştir.

Çalışmamızda disk difüzyon yöntemiyle de tüm suşlara etkili olan tigesiklinin MİK değerleri E-test ile *E. faecalis*'te $MİK_{50}$ için 0.094 µg/ml, $MİK_{90}$ için 0.25 µg/ml; *E. faecium'*da ise $MİK_{50}$ için 0.064 µg/ml, $MİK_{90}$ için 0.125 µg/ml olarak tespit edilmiştir (Tablo 11). Anlaşılacağı gibi *E. faecium'*da tigesiklinin MİK değerleri *E. faecalis*'e göre daha düşük bulunmuş olup Lee ve arkadaşlarının yaptığı çalışma dışında diğer çalışmalarla benzer sonuç alınmıştır.

Akciğer dokusunda yüksek konsantrasyonlara ulaşan ve klinik araştırmalarda olumlu sonuçlar alınan, aynı şekilde vücütta metabolize edilmeden atılması nedeniyle özellikle böbrek ve karaciğer yetmezliği olan hastalarda kullanım kolaylığı getiren bu antimikrobiğin, idrarla değişmeden atılması ve hedef bölgede düşük konsantrasyonlarda bulunması nedeniyle idrar yolları infeksiyonlarında kullanılamayacağı ifade edilmektedir [157, 158]. Bu bilgiler dikkate alındığında idrar yolları enfeksiyonlarından izole edilen suşlarda tigesiklin duyarlılığının çalışılması sadece surveyans çalışmaları için yol gösterici bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

Enterokokların tedavisinde kullanılan bir diğer antibiyotik olan daptomisin siklik lipopeptit olarak adlandırılan grubun ilk üyesi olup 2003 yılında FDA tarafından komplike cilt ve yumuşak doku infeksiyonlarında kullanım onayı almıştır [159]. Gram-olumlu bakterilerin neden olduğu bazı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bu lipopeptit toprakta saprofit yaşayan aktinobakterilerden *Streptomyces roseosporus* türünde doğal olarak oluşan bir bileşik olup farklı mekanizmalarla diğer bakteriler üzerinde etki gösterir. Bakteri hücre zarına yapışarak hücreye potasyum girişini engellediği gibi, hücre membran yapısını bozarak, protein, DNA ve RNA sentezini engelleyerek bakterinin yıkımına neden olur. Daptomisinin bu farklı mekanizmalarla etki yapma özelliği onun dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yararlı olabileceği ve spektrumunun geniş olduğu anlamına gelmektedir. Bu antibiyotiğe karşı bakterilerde spontan direnç gelişiminin çok düşük hızda ortaya çıkabildiği; tedavide yüksek dozlarda uzun süreli kullanılması ile direncin çıkabileceği bildirilmektedir. Silverman ve arkadaşları [160] spontan direnç sıklığını, artan ilaç konsantrasyonları varlığında seri pasaj ve kimyasal mutasyon yöntemlerini kullanarak *S. aureus* ($<10^{10}$), *Staphylococcus epidermidis* ($<10^{9}$), *E. faecium* ($<10^{9}$), *E. faecalis* ($<10^{9}$), *Streptococcus pneumoniae* ($<10^{8}$) suşlarında in vitro daptomisin direncini araştırmışlar, bu üç yöntemle spontan dirençli mutant gözlenmediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada popülâsyon analizine göre daptomisine bakterilerin duyarlılıklarının heterojen olduğu; kalsiyum konsantrasyonu ve kültür yoğunluğunun bakteri direnç oranlarını etkilediği gösterilmiştir. Hem sıvı besiyerlerine yapılan seri sulandırımlar 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 belirtilmişdir. 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 hâlâ kolayca tedavi edilebileceğine vurgu yapmışlardır.

Daptomisini deasilation ile inaktive eden bir aktinomiçes (*Actinoplanes utahensis)* türünden de bahseden Montero ve arkadaşları [161] Gram-olumlu bakterilerde daptomisine direnç gelişiminin nadir olduğunu ancak bu antimikrobikle 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.

Canton ve arkadaşları [162] Amerikada yapılan 2002-2008 yıllarını kapsayan surveyans çalışmasında daptomisin duyarlılığını, 4496 *E. faecalis* suşu için % 99.9 ($MİK_{90}$: 1 mg/l), 2875 *E. faecium* suşu için % 99.5 ($MİK_{90}$: 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 $MİK_{90}$ değerlerinin *E. faecalis'*de 1 mg/l, *E. faecium'*da ise 2 mg/l olarak bulunduğunu bildiren surveyans çalışması ile uyumlu olduğunu bildirmişlerdir.

Rathe ve arkadaşları [153] izole edilen 124 enterokok suşunun daptomisin duyarlılığını disk difüzyon, BMD ve E-test ile araştırmışlar ve disk difüzyonla tamamının (% 100) duyarlı olduğunu; $MİK_{50}$ değerinin 1mg/l ve $MİK_{90}$ 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 MİK değerlerinin mikrodilüsyonla belirlenen değerlerden biraz daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Hsueh ve arkadaşları [150] daptomisinin vankomisine dirençli *E. faecium* suşlarının % 70'inde, *E. faecalis* suşlarının ise tamamında etkili olduğunu göstermişlerdir. USA'nın farklı bölgelerinde toplanan VRE suşlarını inceleyen bir çalışmada daptomisin MİK değerlerinin 8 µg/ml'e ulaştığı gösterilmiştir [163]. Fluit ve

arkadaşları [164] *E. faecalis*'de MİK değerlerini 0.5-4 µg/ml arasında, *E. faecium*'da ise 0.25-8µg/ml arasında bulmuş, *E. faecalis*'de $MİK_{50}$: 0.5, $MİK_{90}$: 4, *E. faecium* için $MİK_{50}$: 4, $MİK_{90}$: 4 olarak bulmuştur. Johnson ve arkadaşları [165] çalışmalarında bu çalışma ile son derece uyumlu souçlar almışlardır. Johnson ticari olarak hazır Müller Hinton Agar (MHA) yerine, İso Sensitif Agar (İSA) kullanıldığı zaman, daptomisine duyarlılığın daha fazla olduğunu bildirmiştir [165].

Daptomisinin in vitro aktivitesi katyonların varlığına bağlı olup, duyarlılık testinde kullanılacak Mueller-Hinton besiyerlerine final konsantrasyonu litrede 50 mg olacak şekilde kalsiyum ve 25 mg olacak şekilde magnezyum eklenmesi önerilmiştir [165]. E-test ve BMD ile yapılan çalışmalar, Ca^{+2} seviyesi 25-40 µg/ml arasında olan Mueller-Hinton besiyerinin 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 [153, 165, 167].

Rathe ve arkadaşlarının BMD ile yaptığı çalışmada $MİK_{50}$ değeri 1, $MİK_{90}$ değeri ise 2 bulunmuş, E-test ile yapılan çalışmada ise biraz daha yüksek bulunmuştur; Johnson ve arkadaşları ise agar dilüsyonda daptomisinin enterokoklardaki MİK değerlerini 0. 25-4 mg/l arasında bulmuşlardır. Fuchs ve arkadaşları ise *E. faecalis*'te E-test sonuçlarını ($MİK_{50}$: 1, $MİK_{90}$: 2) olarak, BMD sonuçlarını ise ($MİK_{50}$: 1.5, $MİK_{90}$: 2) olarak tespit etmişler *E. faecium*'da ise E-test ve BMD ile aynı sonuçları ($MİK_{50}$: 2, $MİK_{90}$: 4) bulmuşlardır.

Alternatif bir metot olarak AB Biodisk (Solna, Sweeden) tarafından yeni bir daptomisin E-test stribi geliştirilmiştir. Bu stripler daptomisin şeridi boyunca sabit miktarda kalsiyum içermektedir. Strip, NCCL'ın referans metodu (50mg/l kalsiyum içeren BMD) sonuçları ile iyi bir uyum sağlayacak şekilde geliştirilmiştir [165]. Yaptığımız bu tez çalışmasında da AB Biodiskin geliştirdiği bu şeritler kullanılmış ve daptomisinin MİK değerleri, *E. faecalis*te $MİK_{50}$: 0.125 µg/ml, $MİK_{90}$: 0.38 µg/ml; *E. faecium*da $MİK_{50}$: 1 µg/ml, $MİK_{90}$: 2 µg/ml olarak belirlenmiş ve tüm enterokok suşlarının daptomisine duyarlı olduğu bulunmuştur.

SONUÇLAR

Bu çalışmada hastalardan 100 enterokok suşu izole edilmiş, tür seviyesinde tanımlanmış, kullanıma yeni giren bazı antibiyotiklere ve klasik anti-enterokokkal antibiyotiklere duyarlılıkları CLSI önerilerine göre saptanmış ve elde edilen sonuçlar aşağıda sıralanmıştır:

1. Doğu Anadolu'da en büyük sağlık merkezlerinden biri olan kurumumuzda yatarak tedavi gören ve polikliniğe başvuran olgulardan *E. faecium*, *E. faecalis, E. durans* ve *E. avium* türleri izole edilmiş diğer türler izole edilememiştir. Enterokokkal hastalıklardan en yüksek sıklıkta sorumlu türün % 55 oranıyla *E. faecium* olduğu görülmüş % 42 oranıyla *E. faecalis* ikinci sırada yer almıştır.
2. Enterokoklar en sık olarak idrar yolları, ikinci sıklıkta kan ve üçüncü sıklıkta yara enfeksiyonlu olgulardan izole edilmiştir.
3. Suşlarının % 55'i yatarak tedavi gören hastalardan, % 45'i ise poliklinik hastalarından izole edilmiştir. Yatan hastalarda *E. faecium* izolasyonu poliklinik hastalarına oranla 2.4 kat daha fazla bulunmuş; *E. faecalis* suşları ise poliklinik hastalarında daha yüksek oranda izole edilmiştir. Hastanede yatan hastalarda bu iki bakterinin izolasyon oranları arasındaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlara göre hastanemizde enterokokkal enfeksiyonlar açısından risk faktörlerinin araştırılmasının önemi ortaya çıkmaktadır.
4. Enterokokkal enfeksiyonların sıklığı genç ve orta yaşlara oranla başta küçük yaşlarda olmak üzere ileri yaşlarda yüksek olarak bulunmuştur.
5. Enterokoklar kadınlarda erkeklere oranla daha yüksek sayıda bulunmuş olsa da cinsiyet değişkenlerine göre izolasyon oranları arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olmadığı görülmüştür. Ancak bu çalışmada erkek olguların idrarından izole edilen suş sayısı 21 olmasına karşın kadınlarda 38'dir. Bu sonuçlara göre kadınların erkek olgulara oranla idrar yolları enfeksiyonuna yakalanma riski neredeyse iki kat kadar fazladır.
6. Vankomisin direnci suşların tamamı dikkate alındığında % 3 oranında bulunmuş ancak sadece *E. faecium* suşlarında saptanmış olup bu türdeki izolasyon oranı %

5'tir. VRE suşları hastanede yatarak tedavi gören ve başka rahatsızlıkları da olan çocuklardan izole edilmiştir.

7. İzole edilen suşların hiçbirinde linezolid direnci saptanamamış; Kinupristin/dalfopristin ve tetrasiklin dışında diğer antibiyotiklere karşı *E. faecium* suşları *E. faecalis* suşlarına oranla daha dirençli bulunmuştur. Enterokok suşlarının tamamı dikkate alındığında neredeyse 2/3'ünde eritromisin ve penisiline, yarısını aşan sayıda da ampisiline, yarısına yakınında da gentamisine direnç saptanmıştır. Bu antibiyotiklerden sonra sırasıyla tetrasiklin, streptomisin ve levofloksasine karşı direnç saptanmış ve kinupiristin/dalfopristin % 29 direnç oranıyla takip etmiştir. Bu sonuçlara göre izole edilen enterokok türünün belirlenmemesi halinde linezolid, vankomisin ve teikoplanin dışında kalan bu antibiyotiklerin biriyle yapılacak olan ampirik tedavinin başarısız kalma olasılığı çok yüksek olacaktır.
8. YDAD olan suşlarda gözlenen yüksek oranlardaki ampisilin ve penislin direnci tedavi seçeneklerini sınırlandırarak glikopeptit antibiyotikleri ilk seçenek ilaç haline getirmektedir. Yaptığımız çalışmada üriner sistem enfeksiyonlarında alternatif ilaç olarak kullanılan kinolonlardan levofloksasin direncinin YDAD gösteren *E. faecium* suşlarının yarısından fazlasında görülmesi bu antibiyotiğin yöremizde ampirik tedavi amacıyla kullanılmasının doğru bir yaklaşım olmayacağı anlamını taşımaktadır.

Topraktan, sudan ve bitkilerden izole edilen, insan ve diğer memelilerin, çiftlik ve kümes hayvanlarının gastrointestinal sistemlerinde doğal florada ve daha pek çok habitatta bulunan enretokoklar eskiden virülansları düşük; hastalıklarda pek fazla yer almayan bakteriler olarak değerlendiriliyordu. Ancak son zamanlarda bu durum değişmiş; yaptığı enfeksiyonlarla yaşamsal tehtid unsuru haline gelen, tedavide en fazla sorun çıkaran mikroorganizmalar arasında yerini almıştır. Günümüzde onlarla mücadele amacıyla onların tanısı, tedavisi, epidemiyolojisi, kontrol ve sürveyansı gibi pek çok konularda yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Enterokoklar gerek kendi aralarında gerekse diğer bakterilere direnç taşıyan rezervuarlar gibi davranmakta, çoklu ilaç direnci gösterebilmektedir. Yaptığımız çalışmada da belirttiğimiz gibi gerek ülkemizde olsun gerek diğer ülkelerde olsun tüm dünyada bu bakterilerin antimikrobiyal direnç

özellikleri ve bunun yanı sıra morbidite ve mortalite oranları hastaneden hastaneye, bölgeden bölgeye, ülkeden ülkeye değişkenlik göstermektedir. Kimi çalışmalarda glikopepdid direnci saptanamazken, kimi yerlerde çok yüksek oranlar bildirilmektedir. Antibiyotik duyarlılık özellikleri enterokok türleri arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle izole edilen enterokok suşunun hangi türe ait olduğunun ve antimikrobiyal direç profillerinin belirlenmesi başta VRE suşları olmak üzere diğer enterokokların tedavisinde yaşanan sorunları çok büyük ölçüde azaltacaktır.

Enterokok türlerinin dış ortam koşullarına dayanıklı olması ve bu özelliğinin kendisine sağladığı uygunsuz koşullarda bile uzun süre canlılığını koruması ve yine gastrointestinal sistemde kolonizasyonu, onu özellikle bağışıklık sistemi henüz tam olarak gelişmemiş küçük çocuklarda, direnç kaybı olan yaşlılarda ve hastanede ciddi rahatsızlıkları nedeniyle yatan olgular arasında kolayca yayılması için risk oluşturmaktadır.

Enterokoklarda kısa zamanlarda değişen antibiyotik direnç profilleri ve çoklu ilaç direncinin artması, yeni antibiyotiklerin üretilmesine ve bu antibiyotiklerin zorunlu olarak kullanılmasına neden olmaktadır. Bu antibiyotiklerin klasik tedavi seçeneklerinin başarısız olduğu hastalarda kullanılması gerekmektedir. Anti-enterokokkal duyarlılığını denediğimiz tigesiklin ve daptomisin in vitro olarak çalışmamızda da tam etkinlik gösteren yeni antibiyotiklerdendir. Ancak ülkemizde yeni kullanıma giren bu antibiyotiklerin in vivo başarısı hakkında henüz çok fazla bir bilgiye sahip değiliz. Aynı şekilde son zamanlarda VRE enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotiklerden kinupristin/dalfopristin ve linezolid hakkında yeterli sayıda klinik çalışmanın yapılmasına gerek vardır.

Bir bakteriyel enfeksiyondan sorumlu etkenin duyarlı olduğu bilinen en uygun antibiyotiklerle tedavi edilmesi gerekir. İlgili etkenin antibiyotik duyarlılığını belirleme olanağının olmadığı durumunda ampirik tedavi için daha önce yapılmış çalışmaların sonuçları yol gösterici olabilmektedir. Yaptığımız çalışmanın sonuçlarının laboratuar olanaklarının sınırlı olduğu yerleşim bölgelerinde enterokokkal enfeksiyon düşünülen olgularda ampirik tedavi seçenekleri için yararlı olacağı inancındayız. Ancak çok zorunlu olmadıkça hekimin böyle bir tedavi yaklaşımından uzak durması gerekir.

Enterokokkal enfeksiyonların önlenmesi için -tüm hastanelerde- sürveyansı, yakından izlenmesi, sağlık personelinin eğitilmesi, mikrobiyoloji laboratuarının hızlı ve güvenilir sonuç vermesi, tedavide uygun antibiyotiklerin akılcı kullanımı gerekmektedir. Bu gerekliliğin göz ardı edilmesi, önemsenmemesi bakterinin taşıdığı direnç plazmidlerini özellikle Gram-olumlu bakterilere transfer edilmesine, *S. aureus* suşlarında vankomisin direncine neden olabilecektir. Bu karamsar tablonun ortaya çıkmaması dileğiyle…

KAYNAKLAR

1. Billiau A. Penicillin in Belgium 1945-1952. Verh K Acad Geneeskd Belg 2009; 71: 165-203.
2. Naz H, Aykın N, Çevik FÇ. Eskişehir Yunus Emre Devlet Hastanesi'nde yatan hastalarda antibiyotik kullanımına yönelik kesitsel araştırma. ANKEM Derg 2006; 20: 137-140.
3. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. Microbiology 2009; 155(Pt 6):1749-1757.
4. Magnussen CR, Cave J. Nosocomial enterococcal infections: association with use of third-generation cephalosporin antibiotics. Am J Infect Control 1988; 16: 241–245.
5. Moellering RC Jr. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. Clin Infect Dis 1992; 14: 1173-1176
6. Alshammary A, Hervas-Malo M, Robinson JL. Pediatric infective endocarditis: Has Staphylococcus aureus overtaken viridans group streptococci as the predominant etiological agent? Can J Infect Dis Med Microbiol 2008; 19: 63-68.
7. Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A. Enterococcal infections & antimicrobial resistance. Indian J Med Res 2008; 128: 111-121.
8. Mach KE, Du CB, Phull H, et al. Multiplex pathogen identification for polymicrobial urinary tract infections using biosensor technology: a prospective clinical study. J Urol 2009; 182: 2735-2741.
9. Norris JS, Westwater C, Schofield D. Prokaryotic gene therapy to combat multidrug resistant bacterial infection. Gene Ther 2000; 7: 723-725.
10. Sandoe JA, Witherden IR, Au-Yeung HK, Kite P, Kerr KG, Wilcox MH. Enterococcal intravascular catheter-related bloodstream infection: management and outcome of 61 consecutive cases. J Antimicrob Chemother 2002; 50: 577-582.
11. Barros M, Martinelli R; Rocha H. Enterococcal urinary tract infections in a university hospital: clinical studies. Braz J Infect Dis 2009; 13: 294-296.
12. Wegener HC, Aarestrup FM, Jensen LB, Hammerum AM, Bager F. Use of Antimicrobial Growth Promoters in Food Animals and *Enterococcus faecium* Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe. Emerg Infect Dis 1999; 5: 329-335.
13. Vural T, Şekercioğlu AS, Öğünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A ve ark. Vankomisine dirençli *Enterococcus casseliflavus* suşu. ANKEM Derg 1998; 12: 113
14. Arman D. Dirençli Gram pozitif kok infeksiyonları: Kullanımdaki tedavi seçenekleri. ANKEM Derg 2008; 22(Ek 2): 287-296.
15. 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.

16. 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.

17. Ruoff KL. Recent taxonomic changes in the genus *Enterococcus*. Eur J Clin Microbiol Dis 1990; 9: 75-79.

18. Carvalho Mda G, Steigerwalt AG, Morey R et al. 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.

19. 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 sauce. Int J Syst Bacteriol 1997; 47: 832-836.

20. Amstein CF, Hartman PA. Differentiation of some Enterococci by gas chromatography. J Bacteriol 1973; 113: 38-41.

21. Kalina AP. The taxonomy and nomenculature of enterococci. Int J Syst Bacteriol 1970; 20: 185-189.

22. 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, pp: 157-179.

23. Hardie JM, Whiley RA. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. J App Microbiol, Symposium Suppl 1997, 83: 1S-11S.

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

25. Tanasupawat S, Sukontasing S, Lee JS. *Enterococcus thailandicus sp. nov*., isolated from fermented sausage ('mum') in Thailand. Int J Syst Evol Microbiol 2008; 58(Pt 7): 1630-1634.

26. Wang LL, Qin F, Song C, Zhou ZY. Reclassification of the pathogen for empty-gut disease of Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*. JFAE 2010; 8: 156-158.

27. Botina SG, Sukhodolets VV. Speciation in bacteria: comparison of the 16S rRNA gene for closely related *Enterococcus* species. Genetika 2006; 42: 325-330.

28. Svec P, Devriese LA, Sedlácek I, et al. *Enterococcus haemoperoxidus sp. nov*. and *Enterococcus moraviensis sp. nov*., isolated from water. Int J Syst Evol Microbiol 2001; 51(Pt 4):1567-1574.

29. 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

30. Oana K, Okimura Y, Kawakami Y, 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.

31. Facklam R, hollis D, Collins MD. Identification of Gram-positive coccal and coccobacillary vancomycin-resistant bacteria. J Clin Microbiol 1989; 27: 724-730.

32. Faclklam 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.

33. Christensen JJ, Vibits H, Ursing J, Korner B. *Aerococcus*-like organism, a newly recognized potential urinary tract pathogen. J Clin Microbiol 1991; 29: 1049-1053.

34. Teixeira LM, Carvalho MG, Merquior VL, Steigerwalt AG, Brenner DJ, Facklam RR. Phenotypic and genotypic characterization of *Vagococcus fluvialis*, including strains isolated from human sources. J Clin Microbiol 1997; 35: 2278-2781.

35. Blackall LL, Rossetti S, Christensson C, et al. The characterization and description of representatives of 'G' bacteria from activated sludge plants. Lett Appl Microbiol 1997; 25: 63-69.

36. 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

37. Tyrrell GJ, Turnbull L, Teixeira LM, et al. *Enterococcus gilvus sp. nov*. and *Enterococcus pallens sp. nov*. isolated from human clinical specimens. J Clin Microbiol 2002; 40: 1140-1145.

38. Manero A Blanch AR. Identification of *Enterococcus* spp. with a Biochemical Key. Applied And Environmental Microbiology 1999; 65: 4425-4430.

39. Giridhara Upadhyaya PM, Ravikumar KL, Umapathy BL. Review of virulence factors of *enterococcus*: An emerging nosocomial pathogen. Indian J Med Microbiol 2009; 27: 301-305.

40. Drahovská H, Slobodníková L, Kocíncová D, et al. Antibiotic resistance and virulence factors among clinical and food enterococci isolated in Slovakia. Folia Microbiol (Praha) 2004; 49: 763-768.

41. Willems RJ, Bonten MJ. Glycopeptide-resistant enterococci: deciphering virulence, resistance and epidemicity. Curr Opin Infect Dis 2007; 20: 384-390.

42. 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

43. 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

44. Schlievert PM, Gahr PJ, Assimacopoulos AP, et al. Aggregation and binding substances enhance pathogenicity in rabbit models of *Enterococcus faecalis* endocarditis. Infect Immun 1998; 66: 218–223.

45. 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.

46. Kocha S, Hufnagela M, Theilackera C, Huebner C. Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. Vaccine 2004; 22: 822-830.

47. Huycke MM, Moore D, Joyce W, Wise P, Shepard L, Kotake Y, Gilmore MS. Extracellular superoxide production by *Enterococcus faecalis* requires demethylmenaquinone and is attenuated by functional terminal quinol oxidases. Mol Microbiol 2001; 42: 729-740.

48. Huycke MM, Joyce W, Wack MF. Augmented Production of Extracellular superoxide by blood Isolates of *Enterococcus faecalis*. J Infect Dis 1996; 173: 743-746.

49. Duprè I, Zanetti S, Schito AM, Fadda G, Sechi LA. Incidence of virulance determinants in clinical *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolates collected in Sardinia (Italy). J Med Microbiol 2003; 52(Pt 6): 491-498.

50. Çelik Ü, Alhan E. Pediatrik enfeksiyonlarda zorlu patojen: Enterokoklar. Çocuk Enf Derg 2008; 2: 58-66.

51. Çomoğlu S. Dirençli Gram Pozitif Bakterilerde Linezolid'in in vitro Aktivitesinin E-Test Yöntemiyle Belirlenmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2008.

52. Tok NÇ. Enterokoklarda Vankomisin Direnci. T.C. Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2006.

53. 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.

54. Goh SH, Facklam RR, Chang M, 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.

55. Alp Ş, Şardan YÇ. Vankomisine dirençli enterokokların epidemiyolojisi ve kontrolü. Hacettepe Tıp Derg 2008; 39: 89-95.

56. Marothi YA, Agnihotri H, Dubey D. Enterococcal resistance - An overview. Indian J Med Microbiol 2005; 23: 214-219.

57. 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.

58. 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.

59. Herrero IA, Issa NC, Patel R. Nosocomial spread of linezolid-resistant, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. N Engl J Med 2002; 346: 867–869.

60. 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.

61. 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.

62. 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

63. Bentorcha F, De Cespédès G, Horaud T. Tetracycline resistance heterogeneity in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 808–812.

64. 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.

65. Raycroft RE, Zimmerman LN. New mode of genetic transfer In *Streptococcus vaecalis Var. liquefaciens*. J Bacteriol 1964; 87: 799-801.

66. Durmaz R. Direnç gelişimini önlemede moleküler mikrobiyolojinin katkısı. ANKEM Derg 2009; 23 (Ek 2):111-115.

67. Yüce A. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. Klimik Derg 2001; 14: 41-46.

68. 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.

69. 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.

70. 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.

71. 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.

72. Chow JW. Aminoglycoside resistance in Enterococci. Clin Infect Dis 2000; 31: 586-589.

73. Fontana R, Canepari P, Lle61 MM, Satta G. Mechanisms of resistance of enterococci to beta-lactam antibiotics. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis 1990; 9: 103-105.

74. Güler Ö. Klinik Örneklerden İzole 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.

75. 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.

76. 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.

77. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhal CG. Vancomycin-Resistant Enterococci. Clin Microbiol Rev 2000; 13: 686–707.

78. Murray BE. Diversity among Multidrug-Resistant Enterococci. Emerg Infect Dis 1998; 4: 37–47.

79. Xu X, Lin D, Yan G, et al. VanM, a new glycopeptide resistance gene cluster found in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54: 4643-4647.

80. Boyd DA, Du T, Hizon R, et al. VanG-yype Vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* strains isolated in Canada. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 2217–2221.

81. Depardieu F, Bonora MG, Reynolds PE, Courvalin P. The vanG glycopeptide resistance operon from *Enterococcus faecalis* revisited. Mol Microbiol 2003; 50: 931-948.

82. Kirkpatrick BD, Harrington SM, Smith D, et al. An outbreak of vancomycin-dependent *Enterococcus faecium* in a bone marrow transplant unit. Clin Infect Dis 1999; 29: 1268-1273.

83. Tambyah PA, Marx JA, Maki DG. Nosocomial infection with vancomycin-dependent enterococci. Emerg Infect Dis 2004; 10: 1277-1281.

84. 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.

85. 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.

86. 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.

87. Aygün H, Memikoğlu OK, Tekeli A, Azap A, Yörük F. Hastanede yatan riskli hasta gruplarında vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonunun Sürveyansı. Türk Anest Rean Der Dergisi 2008; 36: 168-173.

88. Yalçın AN. Yoğun bakım ünitesinde antibiyotik kullanımı ve direnç sorununa genel bakış. ANKEM Derg 2009; 23(Ek 2): 136-142

89. Morrison AJ Jr, Wenzel RP. Nosocomial urinary tract infections due to enterococcus. Ten years' experience at a university hospital. Arch Intern Med 1986; 146: 1549-1551.

90. Bitsori M, Maraki S, Raissaki M, Bakantaki A, Galanakis E. Community-acquired enterococcal urinary tract infections. Pediatr Nephrol 2005; 20: 1583–1586.

91. Christie C, Hammond J, Reising S, Evans-Patterson J. Clinical and molecular epidemiology of enterococcal bacteremia in a pediatric teaching hospital. J Pediatr 1994; 125: 392-399.

92. Murray BE. The life and times of the enterococcus. Clin Microbiol Rev 1990; 3: 46–65.

93. Johnson AP, Warner M, Woodford N, et al. Antibiotic resistance among enterococci causing endocarditis in the UK: analysis of isolates referred to a reference laboratory. BMJ 1998; 317: 629-630.

94. Fowler VG, Scheld WM, Bayer AS: Endocarditis and intravascular infections. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 975-1022.

95. Butler KM. Enterococcal infection in children. Semin Pediatr Infect Dis 2006;17: 128-39.

96. Bonadio WA. Group D streptococcal bacteremia in children. A review of 72 cases in 12 years. Clin Pediatr (Phila) 1993; 32: 20-24.

97. Koorevaar CT, Scherpenzeel PG, Neijens HJ, Derksen-Lubsen G, Dzoljic-Danilovic G, de Groot R. Childhood meningitis caused by enterococci and viridans streptococci. Infection 1992; 20: 118-121.

98. Freitas MC, Pacheco-Silva A, Barbosa D, et al. Prevalence of vancomycin-resistant *Enterococcus* fecal colonization among kidney transplant patients. BMC Infect Dis 2006; 22: 133-139.

99. Freyaldenhoven BS, Schlieper G, Lutticken R, Reinert RR. *Enterococcus raffinosus* infection in an immunosuppressed patient: case report and review of the literature. J Infect 2005; 51: e121-e124.

100. Yenişehirli G, Bulut Y. Yoğun bakım ünitesinden izole edilen enterokok suşlarında antibiyotik direnci. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2006; 26: 477-482.

101. Miao V, Coëffet-Le Gal MF, Nguyen K, et al. Genetic engineering in *Streptomyces roseosporus* to produce hybrid lipopeptide antibiotics. Chem Biol 2006; 13: 269-276.

102. Arias CA, Murray BE. Emergence and management of drug-resistant enterococcal infections. Expert Rev Anti Infect Ther 2008; 6: 637-55.

103. Köksal İ. Antibiyotik duyarlılık testleri: Laboratuvardan kliniğe (in-vitro parametrelerin kliniğe yansımaları). ANKEM Derg 2010; 24(Ek 2): 159-161.

104. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI document M100-S20, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Instutue 2010; 3: 76-79.

105. Gülay Z. Antibiyotik testlerinin yorumu. Türk Toraks Derg 2002; 3: 75-88.

106. 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.

107. English BK, Shenep JL. Enterococcal and Viridans Streptococcal infections. In: Feigin RD, Cherry JD (eds). Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 5th edition. Philedelphia: WB Saunders Company, 2004: 1175-1192.

108. Boyce JM, Opal SM, Chow JW, et al. Outbreak of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with transferable vanB class vancomycin resistance. J Clin Microbiol 1994; 32: 1148-1153.

109. Livornese LL Jr, Dias S, Samel C, et al. Hospital-acquired infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* transmitted by electronic thermometers. Ann Intern Med 1992; 117:112-116.

110. Rahbar M, Hajia M, Farzanehkhah M. Activity of Nitrofurantoin Against Urinary Tract Infection (UTI) Isolates of Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE): A Three-Year Survey in an Iranian Hospital. Iranian Journal of Pathology 2007; 2: 171 -174.

111. Arca EA, Dinç BM, Karabiber N. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok türlerinin dağılımı. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2009; 66: 1-5.

112. Osawa K, Nakajima M, Kataoka N, Arakawa S, Kamidono S. Journal of Infection and Chemotherapy. 2002; 8: 353-357

113. Lautenbach E, Bilker WB, Brennan PJ. Enterococcal bacteremia: risk factors for vancomycin resistance and predictors of mortality. Infection control and hospital epidemiology 1999; 20: 318-323.

114. Çelebi S, Hacımustafaoğlu M, Demiral M, Sınırtaş M, Demirtaş F, İpek K, Bayram G. Çocuklarda enterokokkal enfeksiyonlar: Sekiz yıllık çalışma sonuçları. J Pediatr Inf 2010; 4: 148-51.

115. Huycke MM, Sahm DF, Gilmore MS. Multiple-drug resistant enterococci: The nature of the problem and an agenda for the future. Emerg İnfect Dis 1998; 4: 239-249.

116. Ulusoy S. Yoğun bakım ünitesinde Gram-pozitif mikroorganizmalar ve direnç sorunu. Yoğun Bakım Derg 2003;3: 118-128.

117. Yıldırım M. Enterokoklar ve enterokoklarla gelişen infeksiyonlar. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg 2007; 2: 46-52.

118. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. N Engl J Med 1988; 319:157–61.

119. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. Lancet 1988; 1: 57-58.

120. Torun MM, Bahar H, Altınkum S, Yüksel P. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozit ve vankomisin direnci araştırılması. ANKEM Derg 1999; 13: 105.

121. Özgen B, Gürler N, Esen F, Karayaz S, Töreci K. Glikopeptidlere ve denendiği bütün antibiyotiklere dirençli E.faecium suşu. ANKEM Derg 1999; 13: 501-505.

122. Başustaoğlu A, Özyurt M, Beyaz C, et al. Kan kültürlerinden izole edilen glikopeptid dirençli *E. faecium*. Flora 2000; 5: 142-147.

123. Arda B, Yamazhan T, Aydemir Ş, Alper Tünger A, Özinel MA, Ulusoy S. Vankomisine dirençli enterokok epidemisi Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi deneyimi. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2002; 6: 202-206.

124. Esen Ş, Sümbül M, Barut Ş, Eroğlu C, Saniç A, Leblebicioğlu H. Glikopeptid, beta-laktam ve aminoglikozid grubu antibiyotiklerin enterokoklara in-vitro etkinliği ANKEM Derg 2001; 15: 59-63

125. Rudy M, Nowakowska M, Wiechuła B, Zientara M, Radosz-Komoniewska H. Antibiotic susceptibility analysis of *Enterococcus spp*. isolated from urine. Przegl Lek. 2004; 61: 473-476.

126. Feizabadi MM, Sayadi S, Shokrzadeh L, Parvin M, Davood Yadegarynia D. Increase in prevalence of vancomycin resistant isolates of *Enterococcous faecium* at Labbafinejad hospital. Iranian Journal of Clinical Infectious Disease 2008; 3: 73-77.

127. Johnson AP, Henwood C, Mushtaq S, James D, Warner M, Livermore DM; ICU Study Group. Susceptibility of Gram-positive bacteria from ICU patients in UK hospitals to antimicrobial agents. J Hosp Infect 2003; 54: 179-187.

128. Ersoy Y, Bayraktar M, Fırat M, Yağmur M, Durmaz M. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Dergisi 2005; 19: 92-96.

129. Berzeg D. Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnci, Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci ve E Test ile Vankomisin MİK Değerlerinin Değerlendirilmesi. Haseki Eğitim Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Uzmanlı Tezi, İstanbul, 2005.

130. Heintz BH, Halilovic J, Christensen CL. Vancomycin-resistant enterococcal urinary tract infections. Pharmacotherapy 2010; 30: 1136-1149.

131. Ament PW, Jamshed N, Horne J. Linezolid: its role in the treatment of gram-positive, drug-resistant bacterial infections.. Am Fam Physician 2002; 65: 663-671.

132. Rahim S, Pillai SK, Gold HS, Venkataraman L, Inglima K, Press RA. Linezolid-resistant, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* infection in patients without prior exposure to linezolid. Clin Infect Dis 2003; 36: E146-8.

133. Köksal İ. Yoğun bakımda gram pozitif bakteri sorunu. ANKEM Derg 2009; 23: 143-147.

134. Küçükbayrak A, Özdemir D. İki yeni protein sentez inhibitörü: linezolit ve streptograminler (kinupristin/dalfoprustin). İnfeks Derg 2006; 20: 145-151.

135. Tünger A, Aydemir A, Uluer S, Cilli F. In vitro activity of linezolid quinupristin/dalfopristin against Gram-positive cocci. Indian J Med Res 2004; 120: 546-552.

136. Lee do K, Kim Y, Park KS, Yang JW, Kim K, Ha NJ. Antimicrobial activity of mupirocin, daptomycin, linezolid, quinupristin/dalfopristin and tigecycline against vancomycin-resistant enterococci (VRE) from clinical isolates in Korea (1998 and 2005). J Biochem Mol Biol 2007; 40: 881-887.

137. Ulusoy S. Tigesiklin. ANKEM Derg 2006; 20 (Ek 2): 117-119.

138. Öksüz L, Gürler N. Klinik örneklerden izole edilen metisiline dirençli stafilokok suşlarının son yıllarda kullanıma giren antibiyotiklere in-vitro duyarlılık sonuçları. ANKEM Derg 2009; 23: 71-77.

139. Karaoğlan İ, Zer Y, Namıduru M. Vankomisine dirençli enterokok suşlarında tigesiklinin in-vitro etkinliği. ANKEM Derg 2008; 22: 153-155.

140. Bhattacharya M, Parakh A, Narang M. Tigecycline. J Postgrad Med 2009;55:65-68),

141. da Silva LM, Nunes Salgado HR. Tigecycline: a review of properties, applications, and analytical methods. Ther Drug Monit 2010; 32: 282-288.

142. Jones CH, Tuckman M, Howe AY, et al. Diagnostic PCR analysis of the occurrence of methicillin and tetracycline resistance genes among *Staphylococcus aureus* isolates from phase 3 clinical trials of tigecycline for complicated skin and skin structure infections. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 505-510.

143. Projan SJ. Preclinical pharmacology of GAR-936, a novel glycylcycline antibacterial agent. Pharmacotherapy 2000; 20(9 Pt 2): 219S-223S

144. Werner G, Gfrörer S, Fleige C, Witte W, Klare I. Tigecycline-resistant *Enterococcus faecalis* strain isolated from a German intensive care unit patient. J Antimicrob Chemother 2008; 61: 1182-1183.

145. Bradford PA, Sands DTW, Petersen PJ. In vitro activity of tigecycline against ısolates from patients enrolled in phase 3 clinical trials of treatment for complicated skin and skin-structure ınfections and complicated ıntra-abdominal ınfections. Clin Infect Dis 2005; 41 (S5): S315-S332.

146. Souli M, Kontopidou FV, Koratzanis E, et al. In vitro activity of tigecycline against multiple-drug-resistant, including pan-resistant, gram-negative and gram-positive clinical isolates from Greek hospitals. Antimicrob Agent Chemother 2006; 50: 3166-3169.

147. Gales AC, Jones RN, Andrade SS, Pereira AS, Sader HS. In vitro activity of tigecycline, a new glycylcycline, tested against 1,326 clinical bacterial strains isolated from Latin America. Braz J Infect Dis 2005; 9: 348-356.

148. Garrison MW, Neumiller JJ, Setter SM. Tigecycline: an investigational glycylcycline antimicrobial with activity against resistant Gram-positive organism. Clinl Ther 2005; 27: 12-22.

149. Sader HS, Jones RN, Stilwell MG, Dowzicky MJ, Fritsche TR. Tigecycline activity tested against 26,474 bloodstream infection isolates: a collection from 6 continents. Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 52: 187-193.

150. 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.

151. Lee DK, Kim Y, Park KS, Yang JW, Kim K, Ha NJ. Antimicrobial activity of mupirocin, daptomycin, linezolid, quinupristin/dalfopristin and tigecycline against Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) from clinical ısolates in Korea (1998 and 2005). J Biochem Mol Biol 2007; 40: 881-887.

152. Tubau F, Linares J, Rodriguez MD, et al. Susceptibility to tigecycline of isolates from samles collected in hospitalized patients with secondary peritonitis undergoing surgery. Diagn Microbiol Infect Dis 2010; 66: 308-313.

153. 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.

154. Bolmström A, Karlsson A, Engelhardt A, Ho P, Petersen PJ, Bradford PA, Jones CH. Validation and Reproducibility Assessment of Tigecycline MIC Determinations by Etest. Clin Microbiol 2007; 45: 2474-2479.

155. Behera B, Das A, Mathur P, Kapil A, Gadepalli R, Dhawan B. Tigecycline susceptibility report from an Indian tertiary care hospital. Indian J Med Res 2009; 129: 446-450.

156. Somily AM, Al-Khattaf A, Kambal AM. Antimicrobial activity of tigecycline against bacterial isolates from intensive care units in a teaching hospital in Central Saudi Arabia Saudi Medical Journal 2010; 31: 18-24.

157. Kuşçu F, Öztürk DB, Tütüncü EE, Uslu M, Gürbüz Y, Gülen G, Şencan İ. Çoğul antimibiyotik dirençli *Acinetobacter baumani* izolatlarında tigesiklin duyarlılık oranlarının E-test yöntemiyle araştırılması. Klimik Dergisi 2009; 22: 48-51.

158. Çalık N, Akova M. Tigesiklin.ANKEM Derg 2007; 21: 29-33.

159. Ünal S. MRSA problemi. ANKEM Derg 2009; 23 (Ek 2):1-12.

160. Silverman JA, Oliver N, Andrew T, Li T. Resistance Studies with Daptomycin. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 1799-1802.

161. Montero CI, Stock F, Murray PR. Mechanisms of resistance to daptomycin in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 1167-1170.

162. 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: 1126–1136.

163. 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.

164. Fluit AC, Schmitz FJ, Verhoef J, Milatovic D. In vitro activity of daptomycin against Gram-positive Europen clinical isolates with defined resistance determinanats. Antimicrob Agent Chemother 2004; 48: 1007-1011

165. 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.

166. Bingen E, Doit C, Lambert-Zechovsky N, et al. Bactericidal activity of daptomycin against vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in an in vitro pharmacokinetic model. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1991; 10: 1062-1065.

167. 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.