

*Genel Oturum 5 sunuları*

## **GÜNÜMÜZDE DİRENÇLİ GRAM POZİTİF BAKTERİ İNFEKSİYONLARI**

Yöneten: **Serhat ÜNAL**

- Gram pozitif bakteri infeksiyonları: Direnç ve epidemiyoloji  
**Zeynep GÜLAY**
- Dirençli Gram pozitif kok infeksiyonları: Kullanımdaki tedavi seçenekleri  
**Dilek ARMAN**
- Gram pozitif infeksiyonların tedavisinde yeni ajanlar  
**Serhat ÜNAL**

# GRAM POZİTİF BAKTERİ İNFEKSİYONLARI: DİRENÇ VE EPİDEMİYOLOJİ

Zeynep GÜLAY

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İZMİR  
gulay62@hotmail.com

## ÖZET

Gram pozitif bakteriler, özellikle de *Staphylococcus aureus*, koagülaz negatif stafilkokklar ve enterokokklar hastane kökenli kan ve dolaşım infeksiyonlarının çoğundan sorumlu olan önemli hastane kökenli patojenlerdir. *Streptococcus pneumoniae* ise toplum kökenli pnömoni etkenlerinin başında gelmektedir. Geçtiğimiz 20 yıl içerisinde bu bakteri türlerinin direnç özelliklerinde gerek düzey, gerekse çeşit açısından belirgin bir artış gözlenmektedir. Bu artış tedavi seçeneklerini kısıtlayarak hasta mortalite ve morbiditesini arttıracak boyutlara erişmiştir.

**Anahtar sözcükler:** antibiyotik direnci, *Enterococcus*, koagülaz negatif stafilkokklar, MRSA, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, VRE

## SUMMARY

### Gram Positive Bacterial Infections: Resistance and Epidemiology

Gram positive bacteria, specifically *Staphylococcus aureus*, coagulase negative staphylococci and enterococci are important causes of blood stream infections in the hospital setting. On the other hand, *Streptococcus pneumoniae* is still the leading cause of community acquired pneumonia. During the past 20 years antibiotic resistance of these species has increased both in prevalence and in the number of mechanisms used for different agents. This increment limits therapeutic options and affects patient mortality and morbidity.

**Keywords:** antibiotic resistance mechanisms, coagulase negative staphylococci, *Enterococcus*, MRSA, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, VRE

## GİRİŞ

Gerek dünyada gerekse ülkemizde hastane kökenli *Staphylococcus aureus* izolatlarının % 40-60'ı metisiline dirençlidir<sup>(5,31)</sup>. Bu oranlar özellikle yoğun bakım ünitelerinde daha da yüksektir<sup>(34)</sup>. Hastane kökenli izolatlar dışında, son 6-7 yıldır, ağır nekrotik infeksiyonlar yapan toplum kökenli MRSA suşları da insan sağlığını tehdit etmektedir. Gram pozitif bakteri infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan birçok antibiyotiğe doğal dirençli olan enterokok türlerinde glikopeptid direnci ve yüksek düzey aminoglikozit direnci hem bu bakterilerle gelişen infeksiyonların tedavisinde sorun yaratmaları hem de diğer Gram pozitif türlere (örneğin, stafilkokklar) aktarılabilmeleri nedeniyle önem taşımaktadır<sup>(2,9,23)</sup>. Benzer şekilde, penisiline duyarlı olmayan *Streptococcus pneumoniae* izolatlarının ül-

kemizdeki sıklığı son yıllarda artmış ve % 30'a ulaşmıştır. Ayrıca makrolid direnci de özellikle empirik pnömoni tedavisinde sorun oluşturmaktadır<sup>(1,19,40)</sup>.

Moleküler epidemiyolojik çalışmalar, bütün bu türlerde gözlenen direnç artışının, direnç genlerinin toplumda sık olarak bulunan epidemik klonlarca alınmasına bağlı olduğunu göstermektedir. Bu klonlar hastane ortamına girdiğinde de özellikle sağlık çalışanlarının elleriyle ortama ve hastadan hastaya yayılmaktadır<sup>(11,48)</sup>.

Bu yazıda, yukarıda sayılan patojenler ile ilgili direnç epidemiyolojisi ve mekanizmaları ele alınacaktır.

### *Staphylococcus aureus*

Antibiyotik çağının başlangıcından beri antibiyotik kullanımının oluşturduğu seçici bas-

kı stafilokoklarda çok kısa sürede direnç gelişmesine yol açmıştır<sup>(31)</sup>. Bu durum 1941'de penisilin G'nin tedaviye girmesi ile beta-laktamaz üretimine bağlı direnç gelişmesi ile başlamış, bundan sonra da her kullanıma giren antibiyotiğe karşı direnç gelişimi ile sürmüştür. Epidemik klonlar, henüz 1950'li yıllarda biribiri ardına penisilin G, streptomisin, kloramfenikol, oksitetrasiklin ve daha sonra da makrolidlere direnç kazanmıştır.

Çoklu dirençli *S.aureus* suşlarının o yıllardaki en önemli temsilcisi 80/81 (faj tipi) olarak adlandırılan izolatlardır. Bu izolatlar günümüzde kullanılan MLST (multilocus sequence typing) tekniği ile ST30 klonunda yer almaktadır. Bu izolatların bir kısmının Panton-Valentin Lökosidini (PVL) ürettiği de gösterilmiştir. 80/81 klonu hastaneler ve toplumda yayılmış ve özellikle deri ve derin yumuşak doku infeksiyonlarına yol açmıştır. *S.aureus* 80/81 1950'lerde tüm dünyaya yayılmıştır. 1959 yılında metisilinin tedaviye girmesi ile bu klonun izolasyon sıklığında düşme olmuştur, fakat son yıllarda 80/81 klonu özellikle Avrupa ülkelerinde toplum kökenli MRSA olarak tekrar karşımıza çıkmıştır<sup>(33)</sup>.

İlk MRSA olguları metisilinin kullanıma girmesinden iki yıl sonra 1961 yılında İngiltere'de bildirilmiştir. O zamandan günümüze MRSA klonları tüm dünyada, bu arada ülkemizde de yayılmıştır. Ülkemizden 11 laboratuvarın katıldığı ve Akdeniz ülkelerinde antibiyotik direncini izlemeyi hedefleyen ARMed çalışmasına göre kan kültürlerinden izole edilen *S.aureus* izolatları arasında MRSA oranı 2003, 2004 ve 2005 yılları için sırası ile % 43, % 40 ve % 35'dir<sup>(5)</sup>. Farklı laboratuvarlara göre oranlar % 21 ile % 70 arasında değişmektedir (ARMed raporu [www.earss.rivm.nl](http://www.earss.rivm.nl)). İzolatların % 35'i çoklu dirençlidir (>3 antibiyotiğe dirençli) ve bu oran ARMed'e katılan ülkeler arasında en yükseğidir. SENTRY çalışmasında da ülkemiz için MRSA oranı % 30.9 olarak bildirilmiştir<sup>(35)</sup>. MRSA izolatlarının prevalansı özellikle yoğun bakım ünitelerinde % 80'i geçmiştir (% 84)<sup>(34)</sup>. Dünyadaki oranlar da farklı değildir. SENTRY sürveyans programında 1997-1999 yılları arasındaki MRSA prevalansının Avustralya için

% 22.4, Japonya için % 66.8, Latin Amerika ülkeleri için % 34.9, ABD için % 32.4 ve Avrupa ülkeleri için % 26.5 olduğu görülmüştür<sup>(4,12)</sup>. Avrupa'da MRSA prevalansı ülkeler arasında değişmektedir. Kuzey Avrupa ülkeleri ve Hollanda'da prevalans % 1-2 iken, doğu ve güneye inildikçe prevalans artmaktadır (EARSS)<sup>(13)</sup>.

Stafilokoklarda metisilin direnci **PBP 2a (PBP 2')** olarak adlandırılan ve tüm beta-laktamlara afinitesi düşük olduğu için, bu ajanların varlığında hücre duvar sentezini sürdürebilen yeni bir PBP (Penisiline Bağlanan Protein) yapımına bağlıdır<sup>(11,32,48)</sup>. Beta-laktam antibiyotikler duyarlı suşlarda hücre duvarındaki PBP'lere (transpeptidaz ve karboksipeptidaz enzimleri) bağlanarak, peptidoglikanı sağlamlaştıracak çapraz bağların oluşumunu engeller. Ayrıca, otolizinleri uyararak hücre ölümünü sağlar. Ancak metisiline dirençli suşlarda beta-laktam antibiyotikler PBP 2'a bağlanmadığı için, tüm beta-laktam ajanlara karşı direnç görülür. *S.aureus*'da (ve diğer stafilokoklarda) PBP 2a, *mecA* adı verilen bir gen tarafından kodlanır. *mecA* ekspresyonu, baskılayıcı bir gen olan *mecI* ve membranda yer alan ve beta-laktam varlığını saptayan bir sinyal iletilici olan *mecR1*'in kontrolü altındadır. Antibiyotiksiz ortamda *mecI*, hem *mecA* hem de *mecR1-mecI*'nin transkripsiyonunu engeller. Beta-laktam antibiyotik varlığında ise, önce *mecR1* otokatalitik bir süreçle kesilir ve sitoplazmik kısmındaki bir metalloproteaz bölümü aktif hale gelir. Metalloproteaz, *mecA*'nın promoter bölgesine bağlanmış olan *MecI*'yi keser. Böylelikle *mecA* transkripsiyonu ve PBP 2a sentezi gerçekleşir. *mecR1-mecI* dışında, beta-laktamaz yapımı ile ilgili BlaI-BlaR1 sistemi de *mecA* transkripsiyonunu etkiler. MRSA popülasyonu içinde aslında küçük bir kısım yüksek düzey direnç eksprese eder (heterojen direnç özelliği). Bu nedenle metisilin direnç fenotipini saptamak güç olabilir. Laboratuvarda metisilin direncini açığa çıkaracak çeşitli teknikler [örneğin uzun süreli inkübasyon (24 saat); düşük ısı (35°C); tuz; oksasilin yerine *mecA*'yı daha iyi indükleyen sefoksitin kullanımı gibi] uygulanmaktadır. Son yıllarda, klasik fenotipik yöntemler yerine doğrudan *mecA*'yı veya PBP 2a'yı saptayacak yöntemler de rutin kullanıma girmiştir.

tir<sup>(32)</sup>.

PBP 2a aracılıklı beta-laktam direncini, *fem* ve *aux* olarak adlandırılan diğer genetik lokuslar ile otolizinlerin aktivitesi de etkiler. Örneğin pentaglisin köprülerinin oluşumundan sorumlu *fem* mutasyonlarında *mecA* varlığına karşın beta-laktam MİK düzeyleri yükselmez<sup>(32)</sup>.

PBP 2a, *S.aureus* için ancak antibiyotik varlığında başvuru, etkinlik açısından fazla başarılı olmayan bir enzimdir. MRSA suşları beta-laktam varlığında üretildiğinde çapraz bağ sayısının normal üreme koşullarına göre çok daha az olduğu görülür. Yine üreme hızı da MSSA suşlarına göre düşüktür. Bu durum, MRSA suşlarının dirence karşılık verdikleri bir "dayanıklılık ödünü"dür (fitness cost).

*mecA* geni, kromozomda **Stafilokok Kaset Kromozom mec (SCCmec)** olarak adlandırılan büyük bir hareketli eleman üzerinde yer alır. Günümüze kadar altı SCCmec tipi (Tip I-VI) bildirilmiştir<sup>(11,25,26)</sup>. Farklı tiplerdeki SCCmec elemanlarının büyüklüğü 20.9 kb'den 66.9 kb'ye kadar değişmektedir. SCCmec tip I (34.3 kb), IV (20.9-24.3 kb) ve V (28 kb), sadece beta-laktam direnci kodlarken, SCCmec tip II (53.0 kb) ve III (66.9 kb) çoklu dirence yol açar. Bunun nedeni, tip II ve III elemanların kaset içine entegre olmuş plazmidler (pUB110, pI258 ve pT181) ile bir transpozon (Tn 554) aracılığıyla ek direnç genleri taşımalarıdır. Plazmid pUB110, kanamisin, tobramisin, bleomisin direncinden sorumlu *ant(4')* genini; pI258 penisilin ve ağır metal direncini, pT181 tetrasiklin direncini taşırken, Tn 554 ise indüklenebilir MLSb tipi dirence yol açan *ermA* genini taşımaktadır. *S.aureus* SCCmec dışında kromozomun değişik bölümlerinde ya da plazmidler üzerinde de direnç elemanları içermektedir.

SCCmec içinde ayrıca insersiyon dizileri (ör. IS 431) ve *mecA* transkripsiyon düzenleyen genler [(ör *ΔmecR1* (SCCmec tip I, IV ve V) veya *mecR1* ve *mecI* (tip II ve III)] de bulunmaktadır. Bu genler *mec* gen kompleksi içinde yer alır. Günümüze kadar **mec gen kompleksleri** ile ilgili 5 temel sınıf (A-E) tanımlanmıştır<sup>(11)</sup>.

SCCmec elemanında ayrıca kromozomdaki spesifik bir bölgeye integrasyon ve bu bölgeden ayrılma için kaset kromozom rekombinaz-

larını kodlayan genler de (*ccr*) bulunmaktadır. SCCmec *S.aureus* kromozomunda spesifik bir bölge olan attB<sub>sc</sub> bölgesine integre olur. Bu bölge orfX olarak adlandırılan ve işlevi bilinmeyen bir açık okuma çerçevesinin 3' ucundadır. *ccr* genleri SCCmec tip I'de *ccrA1* ve *ccrB1*; SCCmec tip II ve tip IV'de *ccrA2* ve *ccrB2*; SCCmec tip III'de *ccrA3* ve *ccrB3*; SCCmec tip IV taşıyan HDE 288 MRSA suşunda *ccrA4* ve *ccrB4*; SCCmec tip V'de *ccrC* olarak adlandırılır.

SCCmec'de yer alan *mec* ve *ccr* komplekslerinin etrafındaki dizilere ise J ("junkyard") bölgeleri adı verilmektedir. Tüm SCCmec elemanları üç bölgeye ayrılır: J1 bölgesi kromozomun sağ yanından *ccr* genlerine kadar, J2 bölgesi *ccr* geninden *mec* kompleksine kadar uzanır. J3 bölgesi ise *mec* kompleksi ile SCCmec'in sol ucu arasında yer alır<sup>(26)</sup>. Temel SCCmec tipleri yanı sıra birçok varyant da tarif edilmiştir. Örneğin, I A, II (A- G), III (A ve B), IV (a/b, c,d,E, F, g).

MRSA yanı sıra koagülaz negatif stafilokoklar da SCCmec taşıyabilir. 1970'li yıllarda izole edilmiş olan metisiline dirençli *S.epidermidis* izolatlarının SCCmec tip I-IV taşıdığı gösterilmiştir<sup>(47)</sup>. 1990'lı yılların sonuna doğru izole edilmiş 106 MRSE suşunda SCCmec tip I-V saptanmış; kalan 21 izolatta ise SCCmec tipi tanımlanamamıştır. Hanssen ve ark.<sup>(20)</sup> ise, 39 MRKNS izolatının 22'sinde yeni bir SCCmec tipi bulmuştur.

*S.aureus* izolatlarındaki SCCmec elemanlarının kaynağı kesin bilinmemekle birlikte, bu kasetin G+C içeriğinin kromozomun geri kalanından farklı olması nedeniyle başka bir türden geldiğine inanılmaktadır. *S.sciuri* izolatlarının taşıdığı SCC kasetinin MRSA SCCmec elemanları ile % 87.8 uyumlu olduğunun gösterilmesi bu türün SCCmec elemanının kaynağı olabileceğini düşündürmüştür. Dolayısıyla, KNS'lardaki SCCmec elemanları veya *mecA* içermeyen diğer SCC kasetleri, *S.aureus*'un antibiyotik direnci için bir rezervuar oluşturuyor gibi gözükmektedir.

SCCmec kasetlerinin in-vivo ortamda aktarılabilmesine dair kanıtlar bulunmaktadır<sup>(46,50)</sup>. Bir yenidoğanda epidemik bir MSSA izolatı ile, bununla izogenik bir MRSA izolatı eş

zamanlı olarak saptanmış ve MRSA'daki *mecA* geninin yine aynı bebekte bulunan bir *S.epidermidis* suşundaki *mecA* ile identik olduğu gösterilmiştir<sup>(46)</sup>.

#### Moleküler tiplendirme ve MRSA izolatları arasındaki evrimsel ilişkiler

1990'lı yılların başlarından itibaren PFGE ile *SmaI* makrorestriksiyon patern analizi hem yerel ve uluslar arası epidemik suşların tanımlanmasını sağlamış hem de farklı *S.aureus* suşları arasında genetik ve evrimsel yakınlık bulunabileceğini göstermiştir<sup>(39)</sup>. Ancak suşların filogenetik ilişkilerinin tam olarak anlaşılması, dizi analizi tabanlı bir teknik olan MLST analizi ve SCCmec elemanlarının gruplandırılması ile mümkün olmuştur<sup>(15,28,30)</sup>. MLST analizinde, 7 farklı metabolik enzim geninde yaklaşık 450 bp'lik bir kısmın dizi analizi yapılarak suşun allelik profili belirlenmekte (=Sekans Tipi; ST) ve bir program yardımıyla bilinen dizilerle karşılaştırılmaktadır. Böylelikle ST'ler klonal soylar veya kompleksler (clonal complex; CC) içinde gruplandırılmaktadır. MLST, PFGE'den farklı olarak klon içerisindeki alt tipleri ve farklılıkları göstermez. PFGE ise bunları gösterdiği için salgın analizinde yararlıdır.

Bunun dışında bazı kromozomal genlerin tekrar bölgelerindeki dizi polimorfizmine göre de tiplendirme yapılabilir. Buna örnek, *spa* (Protein A'yı kodlayan gen) tiplendirmesidir. *spa* geninin polimorfik X bölgesindeki tekrarlar hem tekrar sayısı hem de dizi açısından farklı olduğu için tiplendirme amacıyla kullanılmakta ve klonal soyları saptama ve tekrarlanabilirlik açısından MLST'ye eşdeğer sonuçlar vermektedir.

Hastane ve toplum kökenli MRSA suşları, gerek epidemiyoloji gerekse evrimsel ilişkiler açısından birbirinden farklıdır.

1980'li yılların başlarından itibaren hastane kökenli MRSA (HM RSA), Hollanda ve Kuzey Avrupa ülkeleri hariç tüm dünyada artış göstermektedir. Bu artış hastanelerde bazı epidemik klonların ortaya çıkması ve yayılmasına bağlıdır. Tüm dünyada bildirilen HM RSA'lar 4 büyük klonal komplekste toplanan 11 klonun üyesidir. Bu klonlar arasında ST239, ST247, ST254, ST22, ST45 gibi bazıları kıtalararası yayı-

lım göstermiştir. Bu klonların üyeleri genellikle hep aynı SCCmec elemanı veya varyantlarını taşıdıkları için, bu klonların farklı zamanlarda birbirlerinden bağımsız olarak evrimleşmek yerine kıtalararası yayıldıkları düşünülmüştür. Buna karşın ST5 veya ST8 gibi bazı klonal soylar farklı SCCmec elemanları taşıdıkları için bu klonların farklı zamanlar ve yerlerde farklı SCCmec elemanları olarak evrimleştikleri öne sürülmektedir<sup>(11,15)</sup>.

Hastane kökenli izolatların hastane içinde veya hastaneler arasında yayılımı ise daha önce hastanede yatmış ve MRSA ile infekte/kolonize hastalar aracılığıyla olmaktadır. Hastaneye girdikten sonra ise sağlık çalışanlarının elleri ile hastadan hastaya çapraz bulaş olmaktadır.

Epidemik hastane kökenli MRSA suşlarının kolaylıkla yayılması bunların klonal soyları veya taşıdıkları genler ile ilişkilidir. Örneğin CC8 ve CC45 toplumda nazal kolonizasyon yapan MSSA izolatları arasında da sıktır. Buna karşın toplumda kolonizasyon yapan CC15 ve CC25 klonlarında hiç MRSA izolatu bildirilmemiştir. Günümüze kadar 9 MRSA izolatının tam genom analizi yapılmıştır. Buna göre *S.aureus* genomu; 1. Kor genom, 2. Değişken kısım (aynı klonal soy içerisinde değişebilen toksin genleri, hücre duvarında bulunan matriks adezinleri vb), 3. Virulans ve antibiyotik direnç genleri taşıyan hareketli elemanlar (plazmidler, profajlar, transpozonlar, kromozomal kasetler) olarak üç kısma ayrılabilir. Bir klonal soyun epidemik olup olmaması olasılıkla 3. grup genler ile ilişkilidir.

Ayrıca MRSA infeksiyonlarının MSSA infeksiyonlarına göre mortalitesinin daha yüksek olmasının yine bazı klonal soyların içerdiği genetik elemanlar ile ilgili olabileceği öne sürülmektedir. Örneğin TW olarak adlandırılan ST239 suşunun daha sık olarak septisemiye yol açtığı bildirilmiştir. Mikroarray teknolojisi ile TW suşunun diğer ST239'larda değişik olarak bulunabilen farklı hareketli elemanları içerdiği belirlenmiştir<sup>(14)</sup>.

HM RSA izolatları değişik direnç belirleyicileri taşımaları nedeniyle genellikle çoklu dirençlidir. Bunun suşun içerdiği SCCmec elemanı ile de ilişkisi vardır. Hastane kökenli suşlarda

en sık bulunan SCCmec tipleri tip II ve III'tür. Bunlar içerisinde daha fazla direnç elemanı bulunduğu için bunları taşıyan klonal soylar daha dirençlidir.

Bölümümüzde yaptığımız çalışmalarda 2004-2005 yıllarında hastanemizdeki dominant *S.aureus* suşunun SCCmec tip III taşıdığı, bu nedenle trimetoprim-sulfametoksazol ve glikopeptidler dışındaki tüm antibiyotiklere dirençli olduğu belirlenmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda suşun Brezilya klonu olarak bilinen ST239 klonunun bir üyesi olduğu da saptanmıştır.

#### MRSA izolatlarında vankomisin direncinin ortaya çıkması

MRSA izolatları tüm beta-laktamlar ve tedavide kullanılan diğer antibiyotik sınıflarına da dirençli olduğu için, yeni antibiyotiklerin devreye girmediği uzun yıllar boyunca glikopeptid antibiyotikler (vankomisin ve teikoplanin) tek tedavi seçeneği olarak kalmıştır.

Vankomisine duyarlılığı azalmış (vancomycin intermediate *S.aureus*; VISA) olan ilk izolatlar 1997 yılında Japonya'dan bildirilmiştir<sup>(22)</sup>. Bu ilk bildirim, çeşitli ülkelerde yapılmış ve benzer yöntemlerle azalmış duyarlılığı ortaya koyan diğer çalışmalar izlemiştir. VISA fenotipinin tam mekanizması bilinmemekle birlikte, *S.aureus* düzenleyici genlerindeki mutasyonlara bağlı olarak, bu suşlarda hücre duvarının kalınlaştığı, duvardaki çapraz bağ sayısının azaldığı ve bu kalınlaşan duvarın ortamdaki vankomisin moleküllerini sitoplazmik membranın iç yüzündeki esas hedefleri olan yeni prekürsörlere ulaşmadan tükettiği üzerinde durulmaktadır. Hücre duvarının katmanları arasında biriken vankomisin molekülleri ayrıca adeta bir tıkaç gibi davranarak yeni ilaç moleküllerinin geçişine de izin vermemektedir<sup>(23)</sup>. VISA fenotipi özellikle agr II varlığı ile ilişkili olarak CC5 klonal soyunda görülmektedir<sup>(15)</sup>. Ülkemizde de bu konuda çeşitli bildirimler vardır<sup>(29,36,42)</sup>. Oranlar % 0-6 arasında değişmektedir. Populasyon analizi ile % 18'e ulaşan azalmış duyarlılık bildirilmiştir. Ancak MİK değerleri 0.125-4 mg/L olarak bildirilen bu h-VISA suşlarının klinik önemine ait yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

VISA suşlarının klinik önemi tartışılabilir.

2002 yılında ABD'de bir VRE suşundan bir MRSA suşuna *vanA* operonunun aktarılmasıyla ilk klinik VRSA suşu bildirilmiştir. Günümüze kadar ilki Michigan, ikincisi Pennsylvania ve ikincisi New York'tan olmak üzere 4 VRSA suşu saptanmıştır. VRSA gelişmesi için *vanA* gen kümesini içeren Tn 1546'nın stabil olarak bir stafilokok plazmidine aktarılması gereklidir. Günümüze kadar bu tip raporların sayısı az olduğu için stabil aktarımın pek sık olmadığı söylenebilir.

#### Toplum kökenli MRSA

İlk kez 1998'de ABD'de<sup>(21)</sup>, ardından Avustralya'da yerli toplumunda<sup>(43)</sup> daha önce bilinen risk faktörleri ve hastanede yatış öyküsü bulunmayan çocuklarda MRSA infeksiyonları bildirilmiştir. Bu izolatlar toplum kökenli MRSA olarak adlandırılmaktadır. 2002 yılından itibaren toplum kökenli izolatların tüm dünyada büyüyen bir problem olarak karşımıza çıktığı görülmektedir. Toplum kökenli MRSA en sık nekrotik apselerle seyreden deri ve yumuşak doku infeksiyonları oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra nekrotizan pnömoni gibi yaşamı tehdit edici infeksiyonlar da yapabilmektedir. Benzer klinik bulgular oluşturan MSSA izolatlarında olduğu gibi, nekrotizan infeksiyonlar yapan toplum kökenli MRSA suşlarında da sıklıkla, faj  $\Phi$  Sa2 üzerinde taşınan *lukS* ve *lukF* genlerince kodlanan PVL toksini bulunmaktadır. PVL'nin toplum kökenli MRSA infeksiyonlarındaki rolü tam açıklanamamakla birlikte arada güçlü bir epidemiyolojik ilişki bulunmaktadır. Toplum kökenli MRSA izolatlarının bir diğer özelliği de hemen her zaman SCCmec tip IV taşımalarıdır. Bu suşların toplumda yaygın olarak bulunan ve PVL taşıyan MSSA izolatlarına (ör. ST30 gibi) SCCmec tip IV girmesi ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. Diğer hipotezler ve olası yollar arasında; hastane kökenli izolatların PVL sentez genleri kazanıp toplumda yayılımı (ör. toplum kökenli MRSA ST22 gibi) veya toplumda bulunan MSSA suşlarının hem faj  $\Phi$  Sa2 hem de SCCmec tip IV kazanması (ör. ST1, ST59, ST80, ST159 klonal soylarındaki toplum kökenli MRSA suşları gibi) bulunmaktadır. Toplum kökenli MRSA ST8 ayrıca *arc* gen kümesi yanısıra arjinin dekompozisyonunu sağlayan ikinci bir gen kümesi (ACME) daha kazanmış olmaları ile

karakterizedir.

Ülkemizde toplum kökenli MRSA yaygın değildir. Literatürde ülkemizde yapılmış SCCmec tipi, PVL saptanması ve MLST analizi ile tam bir çalışmaya rastlanmamaktadır. MRSA izolatlarının bu sayılan yöntemlerle incelenmesi toplum kökenli izolatların varlığını kanıtlayabilir. Yine bazı toplum kökenli izolatların metisilin MİK değerleri çok düşük olduğu için bunlar yanlışlıkla MSSA sanılabilir. Bu nedenle örneğin PVL üreten izolatlarda *mec* PZR de yapılması önerilebilir.

ABD'de toplum kökenli izolatlar arasında iki klonal soy çok yaygındır. Bunlar ST1 (USA 400) ve ST8 (USA 300) olarak adlandırılmaktadır. Öyle ki bazı bölgelerde deri ve yumuşak doku infeksiyonlarından en sık bu suşlar izole edilmektedir<sup>(37)</sup>.

Hastane kökenli MRSA'da olduğu gibi bazı toplum kökenli izolatlar da ülkeler ve kıtalar arasında yayılabilmektedir. Örneğin, toplum kökenli ST80 suşunun birçok Avrupa ülkesinde yayıldığı ve ACME ile makrolid direnç genleri *msrA-mph* taşıyan ST8 (USA 300) klonunun da Avrupa ülkelerinde görülmeye başlandığı bildirilmektedir<sup>(49)</sup>.

Avrupa'da 2004 yılında yapılmış bir çalışmada, risk faktörü olmayan bireylerde toplum kökenli MRSA prevalansının % 0.03-1.5 arasında değiştiği gösterilmiştir<sup>(41)</sup>.

### **Enterococcus türleri**

İnsanlarda 20'den fazla *Enterococcus* türü tanımlanmış olmasına rağmen, bunlardan ikisi infeksiyonların çoğundan sorumludur: *Enterococcus faecalis* klinik izolatların % 80-90'ını, *Enterococcus faecium* ise % 5-15'ini oluşturur. Diğer enterokok türleri (*E.gallinarum*, *E.casseliflavus*, *E.flavescens*, *E.durans*, *E.avium* ve *E.raffinosis* daha az sıklıkta görülürler. Enterokoklar toplumda önemli bir endokardit etkeni; hastanelerde ise hastane kökenli idrar yolu, yara ve kan dolaşım yolu infeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Eskiden flora bakterisi olarak bilinirken, günümüzde önemli bir hastane kökenli infeksiyon etkeni haline gelmeleri, en azından kısmen, enterokokların doğal dirençli oldukları sefalosporinlerin kullanımına bağlanabilir. Enterokoklar beta-laktamlar ve vankomisin bakterisidal etkisine toleran oldukları için, tedavi sı-

rasında bakterisidal etkinlik bu ajanların aminoglikozidlerle kombine edilmesi ile sağlanır.

Enterokoklar linkozamidler, aminoglikozidler, trimetoprim-sulfametoksazol ve sefalosporinlere doğal olarak dirençlidir. Ayrıca PBP'lerinin gerek penisiline gerekse diğer beta-laktam ajanlara afinitesi yüksek değildir. Bu nedenle beta-laktamların klinik etkinliği sınırlıdır. Bu durum özellikle penisiline karşı düşük afiniteli PBP 5'in aşırı üretildiği durumlarda ve *E.faecium* suşlarında daha belirgindir. *E.faecalis*'de nadiren beta-laktamaz üretimine bağlı penisilin direnci görülebilir<sup>(32)</sup>.

Direnç kazandıkları diğer antibiyotikler arasında aminoglikozidler (yüksek düzey), kloramfenikol, makrolid, linkozamid, streptograminler, florokinolonlar, tetrasiklin, rifampin ve en son olarak da glikopeptidler bulunmaktadır<sup>(9)</sup>. Glikopeptidler MRSA ve diğer Gram pozitif bakterilere etkili olduğu için, bu mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonlarda yaygın olarak kullanılmıştır. 1987 yılında ilk kez Fransa ve İngiltere'de vankomisine dirençli *E.faecium* ve *E.faecalis* izolatlarının varlığı bildirilmiştir. Kısa bir süre sonra da ABD'nin doğu kıyısındaki hastanelerden de VRE izolatları bildirilmiştir. Bu ilk bildirimleri izleyen yıllarda VRE beklenmedik bir hızla yayılmıştır. Günümüzde birçok ülkede özellikle hastanelerde saptanmaktadır. Bunda enterokokların antibiyotiklere, fiziksel etkilere, kuruluğa, ısı ve pH koşullarına dayanıklılığı da rol oynamaktadır. Glikopeptid direnci özellikle *E.faecium*'da yaygındır. *E.faecalis*'de ise daha az raslanmaktadır (>% 2). ABD'de kan dolaşım infeksiyonlarından soyutulan *E.faecium* izolatlarında vankomisin direnç prevalansı 2004 yılında % 30 olarak bildirilmiştir. Avrupa'daki durum ABD'den farklıdır. Avrupa'da VRE izolatları hayvancılıkta kullanılan bir glikopeptid olan avoparsinin seçici etkisi ile önce hayvanlarda başlamış, sonra besin zinciri yoluyla insanlara geçmiştir. Avoparsinin AB ülkelerinde yasaklanması ile hem hayvanlardaki hem de insanlardaki oran düşmüştür<sup>(48)</sup>. 2005 yılındaki SENTRY çalışmasında Fransa, İsviçre ve İsviçre'de VRE oranı % 0 iken, İngiltere'de % 66.7, İrlanda'da % 71.4'e ulaşmıştır. Aynı çalışmada Türkiye'den giden sonuçlara göre *E.faecalis*'teki oran % 0, *E.faecium*'da ise % 8.6'dır.

ARMed çalışmasında (2003-2004) ise kandan izole edilen *E.faecalis*'teki oran % 1, *E.faecium*'daki oran ise % 4'tür<sup>(2)</sup>. Yoğun bakımlarda 2002-2005 yılları arasında alet kaynaklı infeksiyon hızlarını inceleyen çok merkezli uluslar arası bir diğer çalışmada ise VAP ve kan dolaşım infeksiyonlarından hiç VRE saptanmazken, kateter kaynaklı idrar yolu infeksiyonlarında VRE oranı % 7 olarak bildirilmiştir<sup>(34)</sup>. Ülkemizden yapılan diğer bildirimler genellikle salgınları kapsamaktadır<sup>(3,7,8)</sup>. Salgın dışı dönemlerde rektal sürüntü ile yapılan taramalarda bildirilen oranlar genellikle % 1'in altındadır<sup>(27)</sup>.

Son yıllarda bazı Avrupa ülkelerinde özellikle hastane kökenli VRE infeksiyonlarında artış olduğu bildirilmiştir. Bu infeksiyon kümelermelerinden sorumlu suşlar hemen daima CC17 olarak adlandırılan bir klonun üyesidir. Literatürde bildirilen ve MLST analizi yapılmış 38 salgından sadece 4'ünde farklı bir klon bildirilmiştir<sup>(1,10)</sup>. Ülkemizdeki bir salgında da CC17 klonu saptanmıştır<sup>(16)</sup>. Hastane ortamlarında VRE'nin ortaya çıkışını vankomisin kullanımından çok, normal flora bakterilerini öldüren metronidazol ve/veya geniş spektrumlu sefalosporin kullanımının etkilediği bildirilmektedir.

Glikopeptid antibiyotikler glikan omurganın iki şeker molekülünden biri olan NAM'a

bağlı pentapeptid zincirinin ucunda yer alan Dalanil-Dalanin dipeptidine 5 hidrojen bağı ve yüksek afinite ile bağlanmaktadır. Bunun sonucunda hem disakkarit pentapeptid ünitenin varolan peptidoglikan zincirine transglikolizasyonla bağlanması hem de D-D transpeptidazlar aracılığıyla çapraz bağların oluşması engellenmektedir. Bunun sonucunda peptidoglikan prekürsörleri hücre içinde birikmektedir. Vankomisine dirençli enterokoklarda Dalanil-Dalanin yapısı, Dalanil-Dlaktat (ör. Van A, Van B ve Van D tipi direnç) veya D-alanil-D-serin (ör. Van C, Van G, Van E tipi direnç) olarak değişmekte bunun sonucunda glikopeptid hedefine bağlanamamaktadır<sup>(9)</sup>.

Enterokoklarda vankomisin direncine yol açan genetik elemanlar ligazların adlarıyla anılmalarına rağmen aslında kompleks operonlarda yer almaktadır. Örneğin Van A tipi direnç Tn 1546 veya benzeri hareketli elemanlarla taşınır. Bu transpozonda piruvatı, D-laktata çeviren bir dehidrogenaz (Van H), D-alanin ve D-laktatı bir ester bağı ile birleştiren bir ligaz (Van A), duyarlı hedef molekülleri (Dala-Dala) hidrolize eden bir DD-peptidaz (Van X) ve bir DD-karboksi-peptidaz (Van Y); ayrıca van HAXYZ kümesinin transkripsiyonunu düzenleyen Van R ve Van S proteinlerine ait genler bulunmaktadır.

**Tablo:** Glikopeptid direnç mekanizmaları<sup>(9)</sup>.

Direnç	Kazanılmış					Doğal	
	Yüksek düzey	Değişken	Orta	Düşük	Düşük	Düşük	Yüksek
Tip	Van A	Van B	Van D	Van G	Van E	Van C1/C2/C3	
MİK (mg/L)							
Vankomisin	64-1000	4-1000	64-128	16	8-32	2-32	>1000
Teikoplanin	16-512	0.5-1	4-64	0.5	0.5	0.5-1	>256
Konjugasyon	+	+	-	-	+	-	
Hareketli eleman	Tn1546	Tn 1547 Tn 1543					
Tür	<i>E.faecium</i> <i>E.faecalis</i> <i>E.gallinarum</i> <i>E.casseliflavus</i> <i>E.avium</i> <i>E.durans</i> <i>E.mundii</i> <i>E. raffinosus</i>	<i>E.faecium</i> <i>E.faecalis</i> <i>S.bovis</i>	<i>E.faecium</i> <i>E.faecalis</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>E.gallinarum</i> <i>E.casseliflavus</i> <i>E.flavescens</i>	<i>Leuconostoc</i> <i>Pediococcus</i> <i>Lactococcus</i>
Ekspresyon	İndüklenir	İndüklenir	Sürekli	İndüklenir	İndüklenir	Sürekli, indüklenebilir	Sürekli
Yerleşim	Plazmid, kromozom	Plazmid, kromozom	Kromozom	Kromozom	Kromozom	Kromozom	Kromozom
Değişmiş hedef	Dala-Dlak	Dala-Dlak	Dala-Dlak	Dala-Dser	Dala-Dser	Dala-Dser	Dala-Dlak



VRE'lerde fenotipik ve genotipik olarak tanımlanmış 6 mekanizma bulunmaktadır (Tablo). Bunlardan Van A, B, D, E, G kazanılmış direnç elemanı iken, Van C *E.gallinarum*, *E.casseliflavus*, *E.flavescens*'in doğal direnç özelliğidir.

#### Diğer direnç özellikleri

Enterokoklardaki intrinsik aminoglikozid direncinin nedeni membran enerji yükünün düşük olması nedeniyle aktif transportun zayıf olmasıdır. Yüksek düzey direnç ise aminoglikozit modifiye edici enzim varlığına bağlıdır.

Floorkinolonlar için ise Par C ve Gyr A mutasyonları dirençten sorumludur. Tetrasiklin direnci ribozomal korunma (tet M, tet O) ve aktif pompa sistemlerinden kaynaklanmaktadır

Oksazolidinon direncinde 23S rRNA V. bölgesindeki G 2576U mutasyonları önemlidir. 23S rRNA'yı kodlayan *rrl* genleri genellikle bakterilerde birçok kopya halinde bulunur. Mutasyon olan kopya sayısı arttıkça MİK düzeyi de yükselir<sup>(1)</sup>.

#### ***Streptococcus pneumoniae***

*S.pneumoniae*, insanda invazif enfeksiyonlardan sorumlu en önemli patojenlerden biridir. Yaptığı enfeksiyonlar arasında toplum kökenli pnömoni ilk sırada olmakla birlikte otit, sinüzit, menenjit ve bakteriyemi etkeni olarak da karşımıza çıkmaktadır. *S.pneumoniae*, enterokoklara kıyasla daha patojendir. Çok sayıda virulans faktörü içerir.

Antibiyotik çağının büyük bir kısmında penisilinlere duyarlı olan *S.pneumoniae*'de penisilin direnci 1980'li yıllarda başlayan ve giderek artan bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır<sup>(1)</sup>. Penisiline dirençli suşlar genellikle diğer ajanlara da direnç gösterirler. Penisilin direnci sıklığı ülkeden ülkeye değişmekle birlikte oldukça yüksektir. ABD'de 1998-2000 yılları arasında yapılan incelemede penisiline direnç oranı % 37.1 olarak bulunmuştur<sup>(17)</sup>. Bu oranın ancak % 2.5'i yüksek düzey dirençtir (MİK  $\geq$  2 mg/L). Asya, Doğu Avrupa ve Batı Avrupa'da bildirilen oranlar sırasıyla % 54.7, % 14.6 ve % 22.2'dir. Özellikle çocuk hastalardan izole edilen izolatlardaki direnç oranları daha yüksektir. Makrolid direnci % 25'e ve trimetoprim-sulfametoksazol

direnci % 40'a ulaşmış durumdadır. ARMed verilerine göre ülkemizde izole edilen *S.pneumoniae* izolatlarında penisiline düşük ve yüksek düzey direnç % 18 (yüksek düzey direnç % 5); makrolid direnci % 8'dir. Solunum yolu izolatlarındaki direnç oranları genellikle kan izolatlarından daha yüksektir. Otuzsekiz ülkede yürütülen PROTEKT çalışmasında 65 yaş üzeri hastalardan toplanan 6646 izolat incelendiğinde eritromisin ve penisilin (I+R) direnci, sırasıyla % 36.0 ve % 31.3 olarak bulunmuştur. Yüksek düzey penisilin direnci % 20.2 olarak saptanmıştır<sup>(6)</sup>. 2004 yılında İstanbul'da çocuklarda nazofarinks taşıyıcılığını araştıran bir çalışmada penisiline düşük ve yüksek düzey direnç % 39.3, trimetoprim direnci % 45.6, eritromisin direnci % 16.1, ofloksasin direnci % 3.6 olarak bulunmuştur<sup>(44)</sup>. Gür ve ark.<sup>(19)</sup>'nın 2002-2003 yıllarında izole edilen 260 pnömokok suşu ile yaptıkları çok merkezli e-Basket çalışmasında levofloksasin direncine rastlanmazken, penisilin direnci % 11.5, makrolid direnci % 17.3 olarak belirlenmiştir. Şener ve ark.<sup>(40)</sup>'nın 246 pnömokok suşunu ve klonal özelliklerini inceledikleri çalışmada ise penisilin direnci (I ve R) % 36.6, sefotaksim direnci % 4, siprofloksasin direnci % 2, eritromisin direnci % 27.6 olarak bulunmuştur. Ankara, İzmir, İstanbul, Trabzon, Antalya'daki 6 hastanenin katıldığı bir başka çok merkezli çalışmada ise 2004-2005 yıllarında toplanan 301 pnömokok suşu incelenmiş ve penisiline düşük ve yüksek düzey direnç oranı % 32.2; makrolid direnci % 17.2, siprofloksasin direnci % 2.7, trimetoprim-sulfametoksazol direnci % 43.2 olarak bulunmuştur<sup>(40)</sup>.

Pnömokoklarda penisilin direnci stafilokoklardan farklı olarak izolatlarda bulunan PBP genlerinin penisiline dirençli yakın *Streptococcus* türlerinden alınan gen dizilerinin rekombinasyon ile değişime uğraması ve bu "mozaik" PBP genlerince kodlanan PBP'lerin penisilinlere afinitesinin düşük olmasına bağlıdır<sup>(38)</sup>. Tüm dünyada pnömokok suşlarının penisilin duyarlılığındaki azalma 6B, 9V, 14, 19A, 19F, 23F gibi birkaç predominant serotipinin yayılımına bağlıdır. Günümüzde moleküler tiplendirme ile saptanmış 43 uluslar arası klon vardır<sup>(1)</sup>.

Makrolid direnci, 23S rRNA'nın metilas-

yonu (*ermB*) ve/veya aktif pompa sistemlerine (*mefA*) bağlıdır. Bunlar arasında hem dünyada hem de ülkemizde hakim mekanizma *ermB*'ye bağlı metilasyondur. Bu mekanizma ile makrolidler, linkozamidler ve streptogramin B grubu antibiyotiklere direnç meydana gelir. *mefA* geni tarafından kodlanan aktif pompa sistemleri ise sadece 14-16 üyeli makrolidlerin atılımını sağladığı için sadece makrolid direnci görülmektedir. Bunlar dışında daha nadir bir mekanizma 23S rRNA allelerinde görülen ribozomal mutasyonlardır. Bunlardan A2058G mutasyonu ülkemizden bir suşta da bildirilmiştir<sup>(18)</sup>.

Trimetoprim-sulfametoksazol direnci de yine bir mozaik gen tarafından kodlanan, değişime uğramış bir dihidrofolat redüktaz enzimine bağlıdır<sup>(45)</sup>.

Pulmoner infeksiyonların tedavisinde florokinolonlar da yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle 4. kuşak florokinolonlar Gram pozitif bakteri infeksiyonlarının tedavisi için geliştirilmiştir. Bu nedenle pnömokokların florokinolon direnci, özellikle ilgi çeken bir konudur. Pnömokoklarda florokinolon direnci primer hedef olan par C ve sekonder hedef olan *gyr A* genlerinde birbirini izleyen mutasyonlarla gelişir<sup>(1)</sup>. Her yeni mutasyonla MİK düzeyleri de basamak basamak artar. Siprofloksasine dirençli izolatlar halen levofloksasine duyarlı bile olsalar tedavi sırasında hızla direnç gelişmektedir. Bu nedenle duyarlılık testlerinde levofloksasin yerine siprofloksasin kullanılması daha doğrudur. Hong Kong'da yapılan bir çalışmada 23F ve 19F gibi ensık görülen klonlardaki florokinolon direnci % 1.6 düzeyindedir<sup>(24)</sup>.

Yedi serotipe karşı etkili pnömokok aşısı, aşının içeriğindeki serotiplerle infeksiyon sayısını azaltmakla birlikte, infeksiyonlardan aşıda bulunmayan yeni serotipler soyutulmaya başlamıştır<sup>(18)</sup>.

## KAYNAKLAR

1. Amyes SGB: Enterococci and streptococci, Int J Antimicrob Agents 2007;29(Suppl 3):S43-52.
2. ARMed-EARSS overall country report 2003-2004, www.earss.rivm.nl
3. Basustaoglu A, Aydoğan H, Beyan C, Yalcin A,

- Unal S: First glycopeptide resistant Enterococcus faecium isolate from blood culture in Ankara, Turkey, Emerg Infect Dis 2001;7(1):160-1.
4. Bell JM, Turnidge JD: High prevalence of oxacillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from hospitalized patients in the Asia-Pacific and South Africa: results from SENTRY antimicrobial surveillance program, 1998-1999, Antimicrob Agents Chemother 2002;46(3):879-81.
5. Borg MA, Kraker M, Scicluna E et al: Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in invasive isolates from southern and eastern Mediterranean countries, J Antimicrob Chemother 2007;60(6):1310-5.
6. Canton R, Unal S, Farrell DJ: Antibacterial resistance patterns in Streptococcus pneumoniae isolated from elderly patients: PROTEKT years 1-5 (1999-2004), Int J Antimicrob Chemother 2007;30(6):546-50.
7. Colak D, Naas T, Gunseren F, Oğunç D, Gultekin M, Nordmann P: First outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a tertiary hospital in Turkey, J Antimicrob Chemother 2002;50(3):397-401.
8. Comert FB, Kulah C, Aktas E, Ozlu N, Celebi G: First isolation of vancomycin-resistant enterococci and spread of a single clone in a university hospital in northwestern Turkey, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2007;26(1):57-61.
9. Depardieu F, Courvalin P: Glycopeptide resistance in enterococci, "White DG, Alekshun MN, McDermott PF (eds): Frontiers in Antimicrobial Resistance" kitabında s.101-23, ASM Press, Washington (2005).
10. Deplano A, Denis O, Nonhoff C et al: Outbreak of hospital-adapted clonal complex 17 vancomycin-resistant Enterococcus faecium strain in a haematology unit: role of rapid typing for early control, J Antimicrob Chemother 2007;60(4):849-54.
11. Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE: The molecular evolution of methicillin-resistant Staphylococcus aureus, Clin Microbiol Infect 2007;13(3):222-35.
12. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, SENTRY Participants Group: Survey of infections due to Staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999, Clin Infect Dis 2001;32(Suppl 2):S114-32.
13. EARSS 2005 Annual report, www.eurosurveillance.org
14. Edgeworth JD, Yadegarfar G, Pathak S et al: An

- outbreak in the intensive care unit of a strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sequence type 239 associated with increased rate of vascular access device related bacteremia, *Clin Infect Dis* 2007;44(4):493-501.
15. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spralt BG: The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(11):7687-92.
  16. Ergani-Ozcan A, Naas T, Baysan BO et al: Nosocomial outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a paediatric unit at a Turkish university hospital, *J Antimicrob Chemother* 2008; www.oupjournals.org [Epub ahead of print].
  17. Farrell DJ, Douthwaite S, Morrissey I et al: Macrolide resistance by ribosomal mutation in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT 1999-2000 study, *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(6):1777-83.
  18. Farrell DJ, Klugman KP, Pichichero M: Increased antimicrobial resistance among nonvaccine serotypes of *Streptococcus pneumoniae* in the pediatric population after the introduction of 7-valent pneumococcal vaccine in United States, *Pediatr Infect Dis* 2007;26(2):123-8.
  19. Gür D, Mulazımoğlu L, Unal S, e-BASKETT II Çalışma Grubu: In vitro susceptibility of respiratory isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* to telithromycin and 11 other antimicrobial agents: Turkish of e-BASKETT-II surveillance study, *Mikrobiyol Bült* 2007;41(1):1-9.
  20. Hanssen AM, Kjeldsen G, Sollid JU: Local variants of staphylococcal cassette chromosome mec in sporadic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci: evidence of horizontal gene transfer ?, *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(1):285-96.
  21. Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC et al: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk, *JAMA* 1998;279(8):593-8.
  22. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility, *J Antimicrob Chemother* 1997; 40(1):135-6.
  23. Hiramatsu K, Kapi M, Tajima Y, Cui L, Trakulsomboon S, Ito T: Advances in vancomycin resistance research in *Staphylococcus aureus*, "White DG, Alekshun MN, McDermott PF (eds): *Frontiers in Antimicrobial Resistance*" kitabında s.289-98, ASM Press, Washington (2005).
  24. Ip M, Chau SS, Chi F, Cheuk ES, Ma H, Lai RW, Chan PK: Longitudinally tracking fluoroquinolone resistance and its determinants in penicillin-susceptible and non susceptible *Streptococcus pneumoniae* isolates in Hong Kong 2000 to 2005, *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(6):2192-4.
  25. Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K: Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase ccrC, *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(7):2637-51.
  26. Ito T, Okuma K, Ma XX, Yuzawa H, Hiramatsu K: Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC, *Drug Resist Update* 2003;6(1):41-52.
  27. Kacmaz B, Aksoy A: Antimicrobial resistance of enterococci in Turkey, *Int J Antimicrob Agents* 2005;25(6):535-8.
  28. Kondo Y, Ito T, Ma XX et al: Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: rapid identification system for mec, ccr and major differences in junkyard regions, *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(1):264-74.
  29. Nakipoğlu Y, Derbentli S, Çağatay AA, Katranci H: Investigation of *Staphylococcus* strains with heterogeneous resistance to glycopeptides in a Turkish university hospital, *BMC Infect Dis* 2005;5(1):31.
  30. Oliveira DC, Lencastre H: Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(7):2155-61.
  31. Rice LB: Antimicrobial resistance in gram positive bacteria, *Am J Infect Control* 2006;34(5):S11-9.
  32. Rice LB, Bonomo RA: Mechanisms of resistance to antimicrobial agents, "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds): *Manual of Clinical Microbiology*" kitabında s.1114-45, ASM Press, Washington (2007).
  33. Robinson DA, Kearns AM, Holmes A et al: Re-emergence of early pandemic *Staphylococcus aureus* as a community-acquired methicillin-resistant clone, *Lancet* 2005;365(9466):1256-8.
  34. Rosenthal VD, Maki DG, Salomao R et al: Device-associated nosocomial infections in 55 intensive care units of 8 developing countries, *Ann Intern Med* 2006;145(8):582-91.
  35. Sader HS, Watters AA, Fritsche TR, Jones RN: Daptomycin antimicrobial activity tested against

- methicillin-resistant staphylococci and vancomycin resistant enterococci isolates in European Medical Centers (2005), *BMC Infect Dis* 2007;7(1):29.
36. Sancak B, Ercis S, Menemenlioglu D, Çolakoglu S, Hasçelik G: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital, *J Antimicrob Chemother* 2005;56(3):519-23.
  37. Seybold U, Kourbatova EV, Johnson JG et al: Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA 300 genotype as a major cause of health care associated blood stream infections, *Clin Infect Dis* 2006;42(5):647-56.
  38. Sibold C, Henrichsen J, König A, Martin C, Chalkey L, Hakenbeck R: Mosaic *pbpX* genes of major clones of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* have evolved from *pbpX* genes of a penicillin-sensitive *Streptococcus oralis*, *Mol Microbiol* 1994;12(6):1013-23.
  39. Struelens MJ, Bax R, Deplano A, Quint WG, Van Belkum A: Concordant clonal delineation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by macrorestriction analysis and polymerase chain reaction genome fingerprinting, *J Clin Microbiol* 1993;31(8):1964-70.
  40. Şener B, Tunçkanat F, Ulusoy S et al: A survey of antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* in Turkey 2004-2005, *J Antimicrob Chemother* 2007;60(3):587-93.
  41. Tiemersma EW, Bronzwaer SL, Lyytikäinen O, European Antimicrobial Resistance Surveillance System Participants: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe 1999-2002, *Emerg Infect Dis* 2004;10(9):1627-34.
  42. Torun MM, Bahar H, Demirci M et al: Two heterogeneously vancomycin-intermediate clinical isolates of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Turkish university hospital: brief report of a surveillance study, *Int J Antimicrob Agents* 2005;26(6):508-10.
  43. Turnridge JD, Bell JM: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* evolution in Australia over 35 years, *Microb Drug Resist* 2000;6(3):223-9.
  44. Uzuner A, İlki A, Akman M et al: Nasopharyngeal carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in healthy children, *Turk J Pediatr* 2007;49(4):370-8.
  45. van der Linden M, Al-Lahham A, Haupts S, Reinert RR: Clonal spread of *mef*-positive macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates causing invasive disease in adults in Germany, *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(5):1830-4.
  46. Wiolders CL, Vriens MR, Brisse S et al: In-vivo transfer of *mecA* DNA to *Staphylococcus aureus*, *Lancet* 2001;357(9269):1674-5.
  47. Wisplinghoff H, Rosato AE, Enright MC, Noto M, Craig W, Archer GL: Related clones containing SCCmce type IV predominate among clinically significant *Staphylococcus epidermidis* isolates, *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(11):3574-9.
  48. Witte W, Cuny C, Klare I, Nübel U, Strommenger B: Emergence and spread of antibiotic resistant Gram positive bacterial pathogens, *Int J Med Microbiology* (2008) ([www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)).
  49. Witte W, Strommenger B, Cuny C, Heuck D, Nübel U: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the Panton-Valentin Leukocidin gene in Germany in 2005-2006, *J Antimicrob Chemother* 2007;60(6):1258-63.
  50. Wu SW, de Lencastre H, Tomasz A: Recruitment of the *mecA* homologue of *Staphylococcus sciuri* into a resistance determinant and expression of the resistant phenotype in *Staphylococcus aureus*, *J Bacteriol* 2001;183(8):2417-24.