

Rezistencija enterokoka na antibiotike i preporuke za liječenje



Selma Pintarić* i Branka Šeol Martinec

Uvod

Bakterije iz roda *Enterococcus* su Gram-pozitivne bakterije kuglastog oblika koje su nekada pripadale rodu *Streptococcus*. Enterokoki su dio fiziološke mikroflore, osobito probavnog trakta životinja i ljudi, a nalaze se i u okolišu, tlu, vodama, biljkama, insektima (Hammerum, 2012.). Lako ih je izdvojiti iz uzorka, ali s obzirom da su dio fiziološke mikroflore, procijeniti značenje njihovog nalaza vrlo je često izazov. Enterokoki se najčešće navode kao uzročnici infekcija mokraćno-spilnog sustava, infekcija kože i rana, enteritisa te endokarditisa i meningitisa (Murray, 1990.). U životinja su opisani i mastitisi prouzročeni ovim bakterijama, a u humanoj medicini enterokoki su vrlo visoko na listi najčešćih uzročnika „bolničkih infekcija.“

Najznačajnije i najzastupljenije vrste roda su *Enterococcus faecium* i *Enterococcus faecalis* (Kristich i sur., 2014.). Međutim, u većini slučajeva identifikacija enterokoka do vrste nije potrebna. Primjerice, kod uroinfekcija ili infekcija rana, identifikacija enterokoka do roda, zajedno s određivanjem osjetljivosti na odgovarajuće antibiotike, u većini slučajeva je dovoljna. Ako je riječ o endokarditisu ili meningitisu, zbog

ozbiljnosti infekcije i mogućih neželjenih posljedica, identifikacija do vrste je nužna. Razlog tomu je što između ovih vrsta postoje urođene razlike u osjetljivosti na pojedine antibiotike te stjecanju novih mehanizama rezistencije (Murray, 1990.).

Enterokoki su urođeno rezistentni na cefalosporine, klindamicin i kombinaciju trimetoprima i sulfametoksazola, a smanjene su osjetljivosti (nizak stupanj rezistencije) na penicilin i ampicilin te aminoglikozide (Kristich i sur., 2014.). Osim toga, enterokoki imaju veliku sposobnost stjecanja novih mehanizama rezistencije pa nekontrolirana i česta uporaba antibiotika, osobito onih širokog spektra, rezultira selekcijom rezistentnih pa i multirezistentnih sojeva. To se posebice može vidjeti u bolnicama gdje je česta ekstenzivna uporaba svih antimikrobnih lijekova što rezultira selekcijom multirezistentnih Gram-negativnih bakterija, primjerice vrsta *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i multirezistentnih enterobakterija. Infekcije koje takvi sojevi prouzročuju uobičajeno se nazivaju hospitalnim, bolničkim ili nosokomialnim infekcijama. U posljednje vrijeme sve se češće u uzročnike ovih infekcija ubrajaju enterokoki rezistentni na vankomicin

Dr. sc. Selma PINTARIĆ*, dr. med. vet., docentica, (dopisni autor, e-mail: selma.pintaric@vef.hr), dr. sc. Branka ŠEOL MARTINEC, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

(*Vancomycin-Resistant Enterococci*, VRE). Izbor antibiotika prikladnih za liječenje ovih infekcija je iznimno malen te su se ovi multirezistentni izolati našli visoko na listi mikroba koji ugrožavaju ljudsko zdravlje i zbog kojih je potrebno razviti nove antibiotike, a koju je 2017. godine izdala Svjetska zdravstvena organizacija (*World Health Organization*, WHO).

Još jedan od važnih razloga selekcije multirezistentnih sojeva jest i uporaba subinhibitornih (subterapijskih) doza antibiotika u hrani za životinje s ciljem promocije rasta. Primjerice, uporaba avoparcina (glikopeptid) rezultira selekcijom sojeva rezistentnih na glikopeptide (vankomicin), dok uporaba virginiamicina (streptogramin A) rezultira selekcijom sojeva rezistentnih na kvinupristin/dalfopristin (McDonald i sur., 1997., McDonald i sur., 2001.).

Rezistencija enterokoka na antimikrobne lijekove

Rezistencija enterokoka na antimikrobne lijekove može biti urođena i stečena (Hollenbeck i Rice, 2012.). Urođena otpornost na antimikrobne lijekove karakteristika je pojedine vrste i prisutna je u svih ili većine sojeva te vrste, a temelji se na specifičnim osobinama same vrste (Šeol i sur., 2010.). Geni odgovorni za urođenu rezistenciju, kao i geni odgovorni za ostale karakteristike vrste, smješteni su na bakterijskom kromosomu.

Stečena otpornost specifična je karakteristika pojedinog soja, a posljedica je mutacija postojećih gena ili stjecanja novih gena odgovornih za rezistenciju (Murray, 1990.). Za razliku od urođene rezistencije, koja je specifična za sve pripadnike neke bakterijske vrste ili roda, stečena rezistencija pojavljuje se samo u nekih pripadnika, odnosno sojeva unutar vrste.

Enterokoki su, kao dio fiziološke mikroflore probavnog sustava, često izloženi djelovanju različitih antibiotika

koji se koriste za liječenje infekcija prouzročenih nekim drugim bakterijama. Takvo nenamjerno izlaganje enterokoka antibioticima rezultira selekcijom stanica otpornih na pojedine antibiotike. Stečena rezistencija kod enterokoka može biti posljedica mutacija već postojećih gena ili stjecanja novog genetskog materijala. Horizontalni prijenos gena među enterokokima, ali i drugim bakterijskim vrstama, posredovan je plazmidima i transposonima (Kristich i sur., 2014.).

Potpuno poznavanje i razumijevanje mehanizama odgovornih za rezistenciju na antibiotike, kako urođenih tako i stečenih, čini prvi korak u razvijanju strategije sprječavanja širenja multirezistentnih sojeva.

Mehanizmi rezistencije na inhibitore sinteze stanične stijenke

Beta-laktamski antibiotici

U beta-laktamske antibiotike ubrajamo peniciline i cefalosporine, a njihovo djelovanje temelji se na inhibiciji sinteze stanične stijenke tako što se vežu pa time i koče djelovanje enzima koji sudjeluju u završnoj fazi sinteze stanične stijenke (peptidoglikana). Ti enzimi poznati su kao proteini koji vežu peniciline (Engl. *Penicillin Binding Proteins*, PBP). Vezaenje beta-laktamskih antibiotika na PBP molekule rezultira propadanjem stanice. Stoga ovi antibiotici ne djeluju na mikrobe koje nemaju staničnu stijenku, primjerice mikoplazme. Za enterokoke je specifično da sintetiziraju molekule PBP5 niskog afiniteta za beta-laktamske antibiotike (Miller i sur., 2014.) te zbog slabe prijemljivosti na njih bakterija može preživjeti, odnosno sintetizirati staničnu stijenku. Iz tog su razloga, doze beta-laktamskih antibiotika za liječenje infekcija prouzročenih enterokokima značajno više od doza istih antibiotika koji se koriste za liječenje streptokoknih i

drugih infekcija prouzročeni enterokoka srodnim Gram-pozitivnim bakterijama koje nemaju gene za PBP molekule niskog afiniteta vezanja (Murray, 1990., Hollenbeck i Rice, 2012.). Razlika u osjetljivosti, odnosno otpornosti enterokoka na različite beta-laktamske antibiotike, rezultat je razlika u kemijskoj strukturi između pojedinih beta-laktamskih antibiotika i njihovom afinitetu za PBP molekule. Svi enterokoki urođeno imaju niski stupanj rezistencije na penicilin i ampicilin, ali su rezistentni na djelovanje gotovo svih polusintetskih penicilina i cefalosporina (Kristich i sur., 2014.). U visokom stupnju rezistencije na cefalosporine, uz PBP5 molekule, ulogu imaju i dva sustava staničnog signaliziranja, a to su sustav CroRS i sustav sastavljen od kinaze IreK i fosfataze IreP (Miller i sur., 2014.).

Niski stupanj rezistencije na penicilin i ampicilin (niski afinitet PBP molekula) iskazuje se kao tolerancija na baktericidno djelovanje penicilina. Tolerancija znači da uobičajenim dozama penicilina nećemo postići baktericidni učinak nego samo inhibicijski. Baktericidni učinak postiže se znatno višim dozama od propisanih za većinu bakterija osjetljivih na beta-laktame (Hollenbeck i Rice, 2012.). Spomenutu toleranciju enterokoka možemo uspješno zaobići primjenom kombinacije penicilina i aminoglikozida. Penicilin će kao beta-laktamski antibiotik dovoljno naštetiti sintezi stanične stijenke da omogućiti ulazak aminoglikozida u bakterijsku stanicu koji će potom inhibirati sintezu proteina i tako prouzročiti smrt bakterijske stanice (Zimmermann i sur., 1971.).

Stečena rezistencija na ampicilin i penicilin može biti posljedica djelovanja beta-laktamaza kodiranih od strane *bla* gena koji se nalaze na plazmidima. Takva rezistencija niskog je stupnja i ne može se dokazati uobičajenim postupkom određivanja osjetljivosti na antibiotike. Međutim, liječenje infekcija prouzročeni takvim sojevima uspješno je ako se rabi

kombinacija ampicilina i inhibitora beta-laktamaza kao što je primjerice ampicilinsulbaktam (Miller i sur., 2014.).

Stečena rezistencija visokog stupnja na peniciline posljedica je točkastih mutacija gena odgovornih za sintezu PBP molekula, ponajprije PBP5 molekula (Hollenbeck i Rice, 2012.).

Glikopeptidi

Glikopeptidni antibiotici (vankomicin, teikoplanin) su antibiotici baktericidnog djelovanja na većinu Gram-pozitivnih bakterija, za razliku od većine Gram-negativnih bakterija koje posjeduju vanjsku membranu koja sprječava ulazak glikopeptida u stanicu. Njihovo djelovanje temelji se na inhibiciji sinteze peptidoglikana, a najčešće se upotrebljavaju u liječenju bolničkih infekcija prouzročeni rezistentnim i multirezistentnim Gram-pozitivnim bakterijama kao što je primjerice meticilin-rezistentan *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Šeol i sur., 2010., Kristich i sur., 2014.). Sve češća uporaba vankomicina, posebice u bolnicama, rezultirala je rezistencijom koja je kod enterokoka prvi put opisana 1988. godine i od tada je broj vankomicin-rezistentnih izolata (VRE) u stalnom porastu. Pojava je zabrinjavajuća jer je izbor antibiotika za liječenje infekcija prouzročeni VRE-izolatima vrlo malen, a k tome je dokazan i prijenos rezistencije s VRE-izolata na druge bakterijske vrste, kao što je primjerice MRSA. Antibiotici novijih generacija, kvinupristin/dalfopristin, linezolid, daptomicin, tigecklin, koji djeluju na većinu VRE-izolata, malo su poboljšali situaciju, ali rezistencija na svaki od spomenutih antibiotika sve je češća.

Rezistencija na vankomicin pojavljuje se većinom kod vrste *E. faecium*, ali opisana je i u vrste *E. faecalis* (Hollenbeck i Rice, 2012.). Osim bolničkih, opisani su i VRE-izolati kao uzročnici izvanbolničkih infekcija. Razlog tome je najvjerojatnije uporaba glikopeptidnog antibiotika avoparcina u subterapijskim dozama kao promotora rasta farmakoloških životinja (McDonald i sur., 1997.).

Mehanizam rezistencije na vankomicin temelji se na promjenama ciljnih mjesta vezanja ovog antibiotika, a dosad je kod enterokoka opisano devet skupina gena odgovornih za rezistenciju na vankomicin: *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* i *vanN*. Razlikuju se, osim prema strukturi, i prema stupnju rezistencije na vankomicin te prema sposobnosti glikopeptida teikoplanina da inducira njihovu ekspresiju i pojavu rezistentnog fenotipa (Miller i sur., 2014.).

Daptomicin

Daptomicin je antibiotik iz skupine glikolipida baktericidnog djelovanja na Gram-pozitivne bakterije te multirezistentne sojeve stafilokoka i enterokoka (MRSA i VRE). Ugrađivanjem u citoplazmatsku membranu bakterijske stanice, daptomicin stvara pore u membrani zbog kojih stanica gubi kalijeve ione što prouzroči depolarizaciju citoplazmatske membrane i smrt stanice (Bedenić, 2009.). Rezistencija na daptomicin opisana je najprije kod stafilokoka, a posljedica je mutacije kromosomskih gena zbog terapije tim antibiotikom. Kod enterokoka rezistencija je također rezultat mutacije gena, ali ne gena homolognih onima kod stafilokoka kao što se očekivalo. Međutim, u obje vrste mutacije su rezultirale promjenama u strukturi fosfolipida i citoplazmatske membrane što rezultira promjenom polariteta membrane i rezistencijom na daptomicin (Arias i sur., 2011., Palmer i sur., 2011.).

Mehanizmi rezistencije na inhibitore sinteze bakterijskih proteina

Aminoglikozidi

Aminoglikozidi su antibiotici koji remete sintezu bakterijskih proteina djelujući na bakterijske ribosome, a da bi

iskazali svoje djelovanje moraju prodrijeti u bakterijsku stanicu (Šeol i sur., 2010.). Enterokoki urođeno očituju niski stupanj rezistencije na sve aminoglikozide, odnosno otporni su na koncentracije aminoglikozida koje je moguće postići u tkivu (Kristich i sur., 2014.). Ova je pojava posljedica smanjenog unosa antibiotika u bakterijsku stanicu što je vjerojatno rezultat fakultativno anaerobnog metabolizma enterokoka (aminoglikozidi mogu iskazati svoje djelovanje isključivo u aerobnim uvjetima). Vrsta *E. faecium* posjeduje još jedan mehanizam urođene rezistencije temeljen na enzimskoj modifikaciji aminoglikozida. Na kromosomu vrste *E. faecium* nalazi se gen odgovoran za sintezu enzima acetiltransferaze (AAC(6')-II) koji može inaktivirati tobramicin, sisomicin, kanamicin i netilmicin (Costa i sur., 1993.). Osim toga, mnogi izolati sintetiziraju i enzim fosfotransferazu APH(3')-IIIa koji djeluje na kanamicin i amikacin. Nadalje, vrsta *E. faecium* ima sposobnost promjene ciljnih mjesta na ribosomu pomoću rRNA metiltransferaze (EfmM) što ju čini otpornom na kanamicin i tobramicin (Galimand i sur., 2011.).

Obzirom na navedeno, na enterokoke mogu djelovati samo dva aminoglikozida, gentamicin i streptomycin (Miller i sur., 2014.). Međutim, da bi oni ušli u bakterijsku stanicu u koncentraciji koja će djelovati baktericidno, potrebno ih je aplicirati zajedno s antibioticima koji remete sintezu stanične stijenke kao što su beta-laktamski antibiotici (sinergija).

Mutacijama gena koje prouzročavaju promjene ciljnih mjesta djelovanja ovih antibiotika i/ili stjecanjem gena koji kodiraju aminoglikozid-modificirajuće enzime postiže se visoki stupanj rezistencije na aminoglikozide. Gene koji kodiraju aminoglikozid-modificirajuće enzime prenose mobilni genski elementi, najčešće transposoni i plazmidi. Spomenuti enzimi modificiraju molekulu aminoglikozida pa ona gubi

sposobnost vezanja na ciljno mjesto (30S ribosomska podjedinica), a time ujedno i antimikrobno djelovanje. Prema načinu djelovanja enzimi se dijele u tri skupine: acetiltransferaze (AAC), adeniltransferaze (AAD) ili nukleotidiltransferaze (ANT) i fosforiltransferaze (APH) (Shaw i sur., 1993.).

Kod enterokoka visoki stupanj rezistencije na gentamicin najčešće prouzroči bifunkcionalni enzim AAC(6')-Ie/APH(2'')-Ia. Sojevi koji nose gen za taj enzim rezistentni su na sve aminoglikozide osim streptomocina (Hollenbeck i Rice, 2012.). Rezistenciji na gentamicin posreduju i enzimi fosforiltransferaze iz porodice APH(2'')-I, ali ona nije tako visokog stupnja. Unatoč tome, bakterija koja proizvodi ovaj enzim rezistentna je na sinergijsko djelovanje gentamicina i antibiotika koji inhibiraju sintezu stanične stijenke (beta-laktami i glikopeptidi) (Chow, 2000.).

Visoki stupanj rezistencije na streptomycin najčešće je posljedica mutacija gena koje dovode do promjena na ciljnom mjestu vezanja aminoglikozida (Eliopoulos i sur., 1984.), a može biti i posljedica djelovanja stečenih gena za adeniltransferaze ANT(6')-Ia i ANT(3'')-Ia (Chow, 2000.).

Makrolidi, linkozamidi i streptogramini

Makrolidi, linkozamidi i streptogramini imaju sličan mehanizam djelovanja na osjetljive bakterije remeteći funkciju ribosoma čime inhibiraju sintezu bakterijskih proteina (Šeol i sur., 2010.).

Antibiotik kvinupristin/dalfopristin je kombinacija streptogramina B (kvinupristin) i streptogramina A (dalfopristin) koji zasebno imaju bakteriostatsko djelovanje, ali u kombinaciji iskazuju sinergijsko baktericidno djelovanje na većinu Gram-pozitivnih bakterija (Jones i sur., 1998.). Vrsta *E. faecalis* urođeno je rezistentna na streptogramin A pa time i na kombinaciju kvinupristin/

dalfopristin. Ova urođena rezistencija rezultat je ekspresije gena *lsa* koji kodira protein Lsa za kojeg se smatra da ima ulogu transportnog proteina unutar efluks pumpe. Efluks pumpa je mehanizam kojim se aktivno izbacuju tvari pa i antibiotici iz bakterijske stanice. Isti gen odgovoran je i za urođenu rezistenciju ove vrste na linkozamide (linkomicin, klindamicin) (Singh i sur., 2002.).

Za razliku od vrste *E. faecalis*, bakterija *E. faecium* nema gen *lsa* pa je osjetljiva na kombinaciju antibiotika kvinupristin/dalfopristin, ali je smanjene osjetljivosti na makrolide. Slabije djelovanje makrolida na vrstu *E. faecium* posljedica je djelovanja efluks pumpe koju kodira u te vrste urođeno prisutan gen *msrC* (Portillo i sur., 2000.). Osim toga, u većine sojeva vrste *E. faecium* prisutan je gen *ermB* pa se cijela vrsta smatra rezistentnom na makrolide i linkozamide. Taj gen kodira enzim eritromicin metilazu koji prouzroči promjenu ciljnog mjesta na ribosomu. To ciljno mjesto zajedničko je za makrolide, linkozamide i streptogramin B pa je posljedica djelovanja ovog enzima križna rezistencija na navedene antibiotike poznata pod nazivom MLS_B fenotip (Leclercq i Courvalin, 2002.). Ovakav fenotip javlja se u dva oblika. Prva je inducibilna rezistencija, što znači da je eritromicin metilaza aktivna tek u prisutnosti induktora, a to su makrolidi (ponajprije eritromicin). Drugi oblik je konstitutivna rezistencija koja je znatno višeg stupnja i prisutna je bez djelovanja induktora (Leclercq i Courvalin, 2002.). Rezistencija posredovana genom *ermB* kod enterokoka uglavnom je inducibilna što znači da su sojevi koji posjeduju ovaj gen rezistentni na makrolide *in vitro*, a vrlo često osjetljivi na linkozamide. Međutim, nakon izlaganja makrolidima, koji su snažni induktori sinteze i aktivacije eritromicin metilaze, enterokoki postaju rezistentni i na linkozamide te na streptogramin B. Osim toga, ni uporaba linkozamida u liječenju infekcija

prouzročeni sojevima enterokoka osjetljivim *in vitro*, nije preporučljiva zbog velikog rizika selekcije sojeva s konstitutivnim mehanizmom rezistencije zbog čega će liječenje biti neučinkovito (Leclercq i Courvalin, 2002.). Ukratko, liječenje makrolidima i linkozamidima ne preporuča se kod infekcija prouzročeni vrstom *E. faecium*.

Iako ekspresija gena *ermB* i promjena ciljnog mjesta na ribosomu utječe na djelovanje streptogramina B, ona ne utječe na streptogramin A. Stoga je kombinacija antibiotika kvinupristin/dalfopristin djelotvorna u liječenju infekcija prouzročeni bakterijom *E. faecium*, a posebice se koristi kod izolata rezistentnih na vankomicin (Fantin i sur., 1997.).

Međutim, zabilježena je pojava stečene rezistencije na streptogramine, a porast broja takvih rezistentnih sojeva osobito je zapažen kod bolničkih infekcija gdje su izolati često izloženi djelovanju različitih antibiotika što brzo dovodi do selekcije sojeva koji imaju jedan ili više stečenih mehanizama rezistencije. No zabrinjavajuća je činjenica da je velik broj izolata rezistentnih na streptogramine pa i druge antibiotike, izdvojen i iz okoliša, odnosno otpadnih voda u blizini farmi, te iz farmskih životinja (rezervoari VRE-izolata). Pojava okolišnih i životinjskih izolata rezistentnih na streptogramine je posljedica uporabe virginiamicina (streptogramin A) kao promotora rasta u hrani farmskih životinja (McDonald i sur., 2001.).

Stečena otpornost na streptogramine može biti posredovana djelovanjem acetiltransferaza, aktivnim izbacivanjem antibiotika iz bakterijske stanice pomoću efluks pumpi i/ili može biti rezultat promjena ciljnog mjesta djelovanja antibiotika (Hollenbeck i Rice, 2012.).

Rezistencija temeljena na djelovanju acetiltransferaza prenosi se plazmidima nosiocima gena *vatD*, *vatE* i *vatH* odgovornih za rezistenciju na streptogramin A

te gena *vgaA* odgovornog za rezistenciju na streptogramin B (Donabedian i sur., 2006., Jung i sur., 2010.). Osim spomenutih gena, na plazmidu se može nalaziti i gen *vgaD* odgovoran za izbacivanje streptogramina A iz bakterijske stanice putem ABC-efluks pumpe (Jung i sur., 2010.). Treći opisani mehanizam rezistencije na streptogramine ujedno je i najbolje istražen mehanizam, a on je posljedica promjene ciljnog mjesta za streptogramine unutar 23S rRNK na 50S podjedinici ribosoma. Promjena ciljnog mjesta prouzroči križnu rezistenciju na makrolide, linkozamide i streptogramine (MLS fenotip). Geni odgovorni za taj fenotip prenose se plazmidima, a to su gen *ermA* koji prouzroči rezistenciju na makrolide, linkozamide i streptogramin A (MLS_A fenotip) i gen *ermB* koji prouzroči rezistenciju na makrolide, linkozamide i streptogramin B (MLS_B fenotip) (Hollenbeck i Rice, 2012.).

Osim križne rezistencije, u enterokoka je opisana i stečena rezistencija specifična samo za linkozamide. Ona je posljedica stjecanja plazmidnog gena *lnuB* odgovornog za sintezu linkomicin nukleotidiltransferaze koja inaktivira linkomicin i klindamicin (Bozdogan i sur., 1999., Roberts i sur., 1999.).

Tetraciklini i glicilciklini

Tetraciklini su bakteriostatski antibiotici koji se ireverzibilno vežu za 30S podjedinicu ribosoma čime sprječavaju sintezu bakterijskih bjelančevina (Šeol i sur., 2010.). Stečena rezistencija posredovana je genima koji se prenose plazmidima ili transposonima, a dovode do rezistencije na dva načina. Prvi mehanizam je efluks, odnosno aktivno izbacivanje antibiotika iz bakterijske stanice. Geni *tetK* i *tetL* koji posreduju ovakvom obliku rezistencije prenose se plazmidima i prouzroče otpornost na tetraciklin i minociklin. Drugi mehanizam posredovan je genima *tetM*, *tetO* i *tetS* smještenim unutar transposona

na kromosomu te se lako prenose među bakterijama. Promjenom ciljnog mjesta vezanja antibiotika prouzročić rezistenciju na tetraciklin, minociklin i doksiciklin (Miller i sur., 2014.).

Predstavnik glicilciklina je tigeciklin, sintetski derivat minociklina, širokog spektra djelovanja na Gram-negativne i Gram-pozitivne bakterije, uključujući i multirezistentne sojeve kao što su meticilin-rezistentni stafilokoki (MRSA) i vankomicin-rezistentni enterokoki (VRE). Rezistencija enterokoka na tigeciklin zasad je rijetko opisana i uglavnom je prisutna u vrste *E. faecalis* (Werner i sur., 2008., Cordina i sur., 2012., Altun i sur., 2014.). Točan mehanizam otpornosti još uvijek je nedovoljno istražen, a jedan od mehanizama je mutacija u genu *rpsJ* zbog koje dolazi do promjene ciljnog mjesta djelovanja ovog antibiotika (Cattoir i sur., 2015.).

Kloramfenikol

Kloramfenikol je najčešće primjenjivani lijek iz skupine amfenikola, a dostupan je samo za lokalnu uporabu. Na bakterije djeluje bakteriostatski inhibirajući sintezu staničnih proteina na taj način što onemogućava pričvršćivanje rastućeg polipeptidnog lanca na 50S podjedinicu ribosoma (Bedenić, 2009., Šeol i sur., 2010.). Rezistencija je najčešće posljedica inaktivacije antibiotika djelovanjem enzima kloramfenikol acetiltransferaza kodiranih genima koji se prenose plazmidima (Murray, 1990.).

Linezolid

Linezolid iz skupine oksazolidina je antibiotik koji se upotrebljava za liječenje teških infekcija prouzročenih Gram-pozitivnim bakterijama, osobito multirezistentnim sojevima kao što su vankomicin-rezistentni enterokoki. Mehanizam njegovog bakteriocidnog djelovanja temelji se na inhibiciji sinteze proteina vezanjem na 50S podjedinicu ribosoma (Bedenić, 2009.). Rezistencija

enterokoka na linezolid zasad je iznimno rijetka, a uglavnom se pojavljuje kao posljedica točkastih mutacija u genima koji kodiraju 23S rRNK. S obzirom na to da vrsta *E. faecalis* ima četiri, a vrsta *E. faecium* čak šest kopija tog gena, rezistencija kao posljedica spontanih mutacija je malo vjerojatna stoga što nepromijenjeni geni prevladavaju, odnosno ne dopuštaju ekspresiju promijenjenog gena. Ipak, u sredini gdje takvi sojevi stalno dolaze u doticaj s linezolidom, kao što je to u bolnici, doći će do selekcije sojeva s višestrukim točkastim mutacijama što rezultira rezistencijom (Hollenbeck i Rice, 2012.).

Osim točkastih mutacija, u novije je vrijeme kod enterokoka dokazan i gen odgovoran za križnu rezistenciju na sve oksazolidine, linkozamide, streptogramin A, pleuromutiline i kloramfenikole koji se prenosi plazmidima (Liu i sur., 2012., Liu i sur., 2013.). To je gen *cfr* koji kodira enzim rRNK metiltransferazu koji modificira ciljno mjesto djelovanja ovih antibiotika sprječavajući tako njihovo vezanje.

Mehanizmi rezistencije na inhibitore sinteze bakterijskih nukleinskih kiselina

Trimetoprim-sulfametoksazol

Kombinacija antibiotika trimetoprim-sulfametoksazol iskazuje svoje bakteriocidno djelovanje kočeci sintezu folne kiseline u bakterijskoj stanici koja je nužno potrebna za sintezu nukleinskih kiselina. Enterokoki se odlikuju sposobnošću preuzimanja folne kiseline iz okoline u kojoj se nalaze i na taj način izbjegavaju djelovanje trimetoprim-sulfametoksazola. Ispitivanjem osjetljivosti *in vitro* na podlogama koje ne sadrže folnu kiselinu, a takve se rutinski koriste u bakteriološkim laboratorijima, enterokoki će biti lažno osjetljivi na trimetoprim-sulfametoksazol. Rezultate dobivene istraživa-

njem osjetljivosti na takvim podlogama bez folne kiseline treba zanemariti jer je poznato da ova kombinacija antibiotika ne može *in vivo* djelovati na enterokoke (Hollenbeck i Rice, 2012.).

Fluorokinoloni

Fluorokinoloni obuhvaćaju veliku skupinu sintetičkih antimikrobnih lijekova poznatih još pod nazivom kinoloni. Prvi predstavnik kinolona je nalidiksična kiselina s baktericidnim djelovanjem isključivo protiv Gram-negativnih bakterija. Dodatkom atoma fluora povećana je antibakterijska aktivnost cijele skupine koja je potom dobila naziv 'fluorokinoloni'. Prema mehanizmu djelovanja, fluorokinoloni pripadaju skupini antimikrobnih lijekova koji inhibiraju sintezu nukleinskih kiselina (Šeol i sur., 2010.). Ciljno mjesto djelovanja su bakterijski enzimi topoizomeraza II (DNK giraza) i topoizomeraza IV koji odmataju i zamataju DNK uzvojnici. Inhibicijom djelovanja ovih enzima, fluorokinoloni dovode do prestanka sinteze nukleinskih kiselina i smrti bakterijske stanice.

Fluorokinoloni slabo djeluju na enterokoke i njihova uporaba opravdana je samo u slučajevima urinarnih infekcija prouzročenih enterokokima koji su *in vitro* osjetljivi na neki od fluorokinolona (Weese, 2015.). Točan mehanizam smanjene osjetljivosti nije u potpunosti razjašnjen, ali potencijalnu ulogu u urođenoj rezistenciji ima gen *qnr* dokazan u genomu vrste *E. faecalis*. Nazvan je *qnr_{E.faecalis}*, a sličan je genu *qnr* dokazanom kod enterobakterija koji se prenosi plazmidima (Arsène i Leclercq, 2007.). Ovaj gen kodira proteine čija je uloga zaštititi DNK girazu i topoizomerazu IV od djelovanja fluorokinolona. Moguća je i pojava pojačane ekspresije gena *qnr_{E.faecalis}* što rezultira znatno višim stupnjem rezistencije (Arsène i Leclercq, 2007.).

Glavni nedostatak fluorokinolona jest taj što njihovom učestalom uporabom,

osobito subinhibitornih doza, nastaju rezistentni sojevi bakterija (Giguère i sur., 2013.).

Nekoliko je stečenih mehanizama odgovornih za pojavu rezistencije. Najčešći mehanizam opisan kod različitih bakterijskih vrsta pa tako i enterokoka, jest promjena ciljnog mjesta djelovanja fluorokinolona. To podrazumijeva mutacije u kromosomskim genima odgovornih za sintezu enzima DNK giraze i topoizomeraze IV. Drugi mehanizam jest pojačana aktivnost efluksnih pumpi koje mogu izbacivati i fluorokinolone i druge nesrodne antimikrobne lijekove što može rezultirati multirezistentnim fenotipom (Miller i sur., 2014.).

Preporuke za liječenje infekcija prouzročenih enterokokima

Porast broja infekcija prouzročenih sojevima enterokoka rezistentnih na gotovo sve antibiotike postao je vrlo zabrinjavajući pa je liječenje postalo jedan od najvećih izazova s kojim su suočeni liječnici pa i veterinari. Osobiti problem predstavlja vrsta *E. faecium* rezistentna na vankomicin koja se prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) nalazi visoko na listi bakterija za koje je nužno razviti nove vrste antibiotika koje će djelovati na multirezistentne izolate.

Jedan od osnovnih problema kod liječenja infekcija prouzročenih enterokokima je njihova urođena rezistencija i tolerancija na različite antimikrobne lijekove što već u startu značajno sužava izbor djelotvornih antibiotika. Rezistencija i mehanizmi odgovorni za njenu pojavu razlikuju se među vrstama stoga je u slučajevima za po život opasnih infekcija, kao što su meningitis ili endokarditis, nužno provesti identifikaciju do vrste. Ukoliko se radi o infekcijama kao što su infekcije mokraćnog mjehura, vagine ili infekcije

rana, identifikacija nije neophodna. Međutim, u oba navedena slučaja nužno je odrediti osjetljivost na antibiotike. Prema rezultatima antibiograma možemo enterokoke podijeliti u tri skupine: 1. enterokoki osjetljivi na peniciline i vankomicin bez visokog stupnja rezistencije na aminoglikozide, 2. enterokoki osjetljivi na peniciline i vankomicin, ali s visokim stupnjem stečene rezistencije na aminoglikozide i 3. multirezistentni enterokoki (Kristich i sur., 2014.). Kod liječenja infekcija prouzročenih osjetljivim izolatima iz prve skupine, ampicilin je prvi izbor koji se može primijeniti u kombinaciji sa sulbaktamom ako je kod izolata dokazana prisutnost beta-laktamaza. Osim njega, od penicilina u obzir dolaze amoksicilin te piperacilin. Međutim, monoterapija ovim antibioticima često nije zadovoljavajuća zbog urođene tolerancije enterokoka na uobičajene doze penicilina koji stoga ne iskazuju baktericidno nego inhibicijsko djelovanje. Iako enterokoki pokazuju niski stupanj rezistencije na aminoglikozide (gentamicin i streptomycin), zbog sinergijskog djelovanja, dobar su izbor za kombiniranu terapiju s penicilinima. Pri takvoj terapiji sinergija se postiže tako što penicilini oštete staničnu stijenku bakterije u dovoljnoj mjeri da omoguće ulazak aminoglikozidima koji potom prouzroče smrt stanice (Zimmermann i sur., 1971.).

Kada je riječ o visokom stupnju stečene rezistencije na aminoglikozide ili o pacijentima kod kojih je nužno izbjeći toksično djelovanje aminoglikozida (pacijenti s ugroženom bubrežnom funkcijom), za postizanje sinergijskog djelovanja potrebno je upotrijebiti drugi antimikrobni lijek. Za liječenje infekcija vrstom *E. faecalis*, kao dobar izbor pokazale su se kombinacije ampicilina s ceftriaksonom, odnosno cefotaksimom (Mainardi i sur., 1995., Gavalda i sur., 1999.). Iako oba spomenuta antibiotika slabo djeluju na enterokoke,

u kombinaciji s ampicilinom terapija daje zadovoljavajuće rezultate. Razlog tomu je taj što penicilini i cefalosporini imaju različit afinitet za PBP molekule. Ampicilin se veže za molekule PBP4 i PBP5, dok se cefalosporini vežu na molekule PBP2 i PBP3. Na taj način inhibirane su sve PBP molekule pa bakterijska stanica nema alternativnih enzima kojima bi završila sintezu stanične stijenke što dovodi do njene smrti (Hollenbeck i Rice, 2012., Kristich i sur., 2014.). Slično sinergijsko djelovanje zabilježeno je i s primjenom drugih kombinacija inhibitora sinteze stanične stijenke kao što su ampicilin-imipenem ili ceftriakson-fosfomicin (Brandt i sur., 1996., Farina i sur., 2011.).

U liječenju urinarnih infekcija prouzročenih osjetljivim izolatima enterokoka uspješno se koriste fluorokinoloni, iako oni slabo djeluju na enterokoke. Osim fluorokinolona, za liječenje urinarnih infekcija mogu se koristiti još i nitrofurantoin te fosfomicin (Weese, 2015.). U prilog tomu govore mnoga istraživanja provedena o osjetljivosti enterokoka na nitrofurantoin koja su dokazala da je postotak rezistencije vrlo nizak, čak i kod vankomicin-rezistentnih sojeva (Zhanell i sur., 2001., Zhanell i sur., 2003.).

Kod infekcija prouzročenih multirezistentnim sojevima, izbor antibiotika se drastično smanjuje. Američka Agencija za hranu i lijekove (*Food and Drug Administration*, FDA) je za liječenje infekcija prouzročenih vankomicin rezistentnom vrstom *E. faecium* (VRE) u ljudi odobrila samo dva antibiotika: linezolid i kvinupristin/dalfopristin (Kristich i sur., 2014.). Ako je infekcija prouzročena vankomicin rezistentnim izolatima vrste *E. faecalis*, izbor je ograničen samo na linezolid jer je ta vrsta urođeno rezistentna na kvinupristin/dalfopristin. Obzirom na to da je kod oba enterokoka zabilježena stečena rezistencija na linezolid, s

uporabom ovog antibiotika treba biti vrlo oprezan. Naime, ovi antibiotici nalaze se na listi iznimno važnih lijekova za uporabu u humanoj medicini pa ih u veterini treba primjenjivati samo u krajnjoj nuždi kako bi se spriječio razvoj rezistentnih sojeva bakterija.

Osim linezolida i kvinupristin/dalfopristina, u liječenju infekcija prouzročених VRE-izolatima djelotvorni su i daptomicin te tigeciklin koji se ne nalaze na listi preporučenih lijekova od strane FDA, ali dobro djeluju na vankomicin-rezistentne enterokoke (Hollenbeck i Rice, 2012.).

Sažetak

Enterokoki su Gram-pozitivne bakterije iz roda *Enterococcus* i dio su fiziološke mikroflore probavnog trakta životinja i ljudi. Karakteristika ovog roda je visoki stupanj urođene rezistencije na antibiotike koji se uobičajeno koriste u humanoj i veterinarskoj medicini kao što su cefalosporini, klindamicin i trimetoprim-sulfametoksazol. Osim toga, smanjene su osjetljivosti na peniciline i aminoglikozide. Zbog toga uspješno izbjegavaju djelovanje navedenih antibiotika kojima su često nenamjerno izloženi što im omogućava kolonizaciju i širenje na područja tijela koja za njih nisu uobičajeno stanište. U prikladnim uvjetima prouzroče infekcije, prije svega kože, mokraćnog i spolnog sustava, a u humanoj medicini navode se između ostalog i kao uzročnici meningitisa i endokarditisa. Osim urođene rezistencije, značajna karakteristika enterokoka je ta da vrlo lako stječu nove mehanizme rezistencije. Stečena rezistencija kod enterokoka posljedica je mutacija već postojećih gena ili stjecanja novog genskog materijala. Općenito govoreći, nekontrolirana i česta uporaba antibiotika rezultira selekcijom sojeva sa stečenim mehanizmima rezistencije što kao posljedicu može imati pojavu multirezistentnih sojeva otpornih na gotovo sve dostupne antibiotike. Najznačajnije i najzastupljenije vrste roda su *Enterococcus faecium* i *Enterococcus faecalis* između kojih postoje značajne razlike u urođenoj rezistenciji na antibiotike. U obje vrste opisani su i multirezistentni sojevi, a značajnu ulogu imaju izolati rezistentni

na vankomicin koji su vrlo česti uzročnici „bolničkih infekcija.“ Stoga je vankomicin rezistentan *E. faecium* vrlo visoko na listi Svjetske zdravstvene organizacije na kojoj se nalaze mikrobi za koje je nužno razviti nove antibiotike jer je izbor dostupnih djelotvornih antibiotika za liječenje infekcija prouzročених tim sojevima iznimno malen. Osim česte uporabe antibiotika u terapijske svrhe, jedan od uzroka nastanka i širenja rezistentnih i multirezistentnih izolata enterokoka jest uporaba antibiotika u subterapijskim dozama u svrhu promocije rasta životinja koje služe za prehranu ljudi. Tako je primjerice uporaba avoparcina u hrani za životinje dovela do selekcije sojeva rezistentnih na vankomicin. S obzirom na to da ti izolati izravno ugrožavaju ljudsko zdravlje, a infekcije njima iznimno je teško liječiti, uporaba avoparcina kao promotora rasta zabranjena je u Europskoj Uniji pa tako i u Republici Hrvatskoj.

Cljučne riječi: enterokoki, rezistencija, vankomicin-rezistentni enterokoki (VRE), liječenje

Literatura

1. ALTUN, S., H. U. ALTUN, Ç. A. HATIPOĞLU, C. BULUT, S. KINIKLI and A. P. DEMİRÖZ (2014): Daptomycin and tigecycline susceptibility of vancomycin resistant enterococci isolated from rectal swab cultures. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 4, 107-110.
2. ARIAS, C. A., D. PANESSO, D. M. MCGRATH, X. QIN, M. F. MOJICA, C. MILLER, L. DIAZ, T. T. TRAN, S. RINCON, E. M. BARBU, J. REYES, J. H. ROTH, E. LOBOS, E. SODERGREEN, R. PASQUALINI, W. ARAP, J. P. QUINN, Y. SHAMOO, B. E. MURRAY and M. WEINSTOCK (2011): Genetic basis for *in vivo* daptomycin resistance in *Enterococci*. *N. Engl. J. Med.* 365, 892-900.
3. ARSÈNE, S. and R. LECLERCQ (2007): Role of a *qnr*-Like Gene in the intrinsic resistance of *Enterococcus faecalis* to fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 51, 3254-3258.
4. BEDENIĆ, B. (2009): Antibakterijski lijekovi. In: *Medicinska mikrobiologija*. Štamparija Fojnica, Zenica (221-252).
5. BOZDOGAN, B., L. BERREZOUGA, M.-S. KUO, D. A. YUREK, K. A. FARLEY, B. J. STOCKMAN and R. LECLERCQ (1999): A New Resistance Gene, *linB*, conferring resistance to lincosamides by nucleotidylation in *Enterococcus faecium* HM1025. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 43, 925-929.
6. BRANDT, C. M., M. S. ROUSE, N. W. LAUE, C. W. STRATTON, W. R. WILSON and J. M. STECKELBERG (1996): Effective treatment of multidrug-resistant enterococcal experimental endocarditis with combinations of cell wall-active agents. *J. Infect. Dis.* 173, 909-913.
7. CATTOIR, V., C. ISNARD, T. COSQUER, A. ODHIAMBO, F. BUCQUET, F. GUÉRIN and J.-C. GIARD (2015): Genomic analysis of reduced

- susceptibility to tigeicycline in *Enterococcus faecium*. Antimicrob. Agents. Chemother. 59, 239-244.
8. CHOW, J. W. (2000): Aminoglycoside resistance in enterococci. Clin. Infect. Dis. 31, 586-589.
 9. CORDINA, C., R. HILL, A. DESHPANDE, J. HOOD and T. INKSTER (2012): Tigecycline-resistant *Enterococcus faecalis* associated with omeprazole use in a surgical patient. J. Antimicrob. Chemother. 67, 1806-1807.
 10. COSTA, Y., M. GALIMAND, R. LECLERCQ, J. DUVAL and P. COURVALIN (1993): characterization of the chromosomal *aac(6')-II* gene specific for *Enterococcus faecium*. Antimicrob. Agents. Chemother. 37, 1896-1903.
 11. DONABEDIAN, S. M., M. B. PERRI, D. VAGER, E. HERSHBERGER, P. MALANI, S. SIMJEE, J. CHOW, E. N. VERGIS, R. R. MUDER, K. GAY, F. J. ANGULO, P. BARTLETT and M. J. ZERVOS (2006): Quinupristin-dalfopristin resistance in *Enterococcus faecium* isolates from humans, farm animals, and grocery store meat in the united states. J. Clin. Microbiol. 44, 3361-3365.
 12. ELIOPOULOS, G. M., B. F. FARBER, B. E. MURRAY, C. WENNERSTEN and R. C. MOELLERING (1984): Ribosomal resistance of cloacal enterococcal to streptomycin isolates. Antimicrob. Agents Chemother. 25, 398-399.
 13. FANTIN, B., R. LECLERCQ, L. GARRY and C. CARBON (1997): Influence of inducible cross-resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramin B-type antibiotics in *Enterococcus faecium* on activity of quinupristin-dalfopristin in vitro and in rabbits with experimental endocarditis. Antimicrob. Agents. Chemother. 41, 931-935.
 14. FARINA, C., G. RUSSELLO, P. CHINELLO, M. B. PASTICCI, A. RAGLIO, V. RAVASIO, M. RIZZI, C. SCARPARO, F. VAILATI and F. SUTER (2011): In vitro activity effects of twelve antibiotics alone and in association against twentyseven *Enterococcus faecalis* strains isolated from Italian patients with infective endocarditis: high in vitro synergistic effect of the association ceftriaxone-fosfomicin. Chemotherapy 57, 426-33.
 15. GALIMAND, M., E. SCHMITT, M. PANVERT, B. DESMOLAIZE, S. DOUTHWAITE, Y. MECHULAM and P. COURVALIN (2011): Intrinsic resistance to aminoglycosides in *Enterococcus faecium* is conferred by the 16S rRNA m5C1404-specific methyltransferase EfmM. RNA 17, 251-262.
 16. GAVALDÀ, J., C. TORRES, C. TENORIO, P. LÓPEZ, M. ZARAGOZA, J. A. CAPDEVILA, B. ALMIRANTE, F. RUIZ, N. BORRELL, X. GOMIS, C. PIGRAU, F. BAQUERO and A. PAHISSA (1999): Efficacy of ampicillin plus ceftriaxone in treatment of experimental endocarditis due to *Enterococcus faecalis* strains highly resistant to aminoglycosides. Antimicrob. Agents. Chemother. 43, 639-646.
 17. GIGUÈRE, S., J. F. PRESCOTT and P. M. DOWLING (2013): Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 5th Edition, Wiley Blackwell.
 18. HAMMERUM, A. M. (2012): Enterococci of animal origin and their significance for public health. Clin. Microbiol. Infect. 18, 619-625.
 19. HOLLENBECK, B. L. and L. B. RICE (2012): Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. Virulence 3, 421-433.
 20. JONES, R. N., C. H. BALLOW, D. J. BIEDENBACH, J. A. DEINHART and J. J. SCHENTAG (1998): Antimicrobial activity of quinupristin-dalfopristin (RP 59500, Synercid) tested against over 28,000 recent clinical isolates from 200 medical centers in the United States and Canada. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 30, 437-451.
 21. JUNG, Y.-H., E. S. SHIN, O. KIM, J. S. YOO, K. M. LEE, J. I. YOO, G. T. CHUNG and Y. S. LEE (2010): Characterization of two newly identified genes, *vgaD* and *vatH* [corrected], conferring resistance to streptogramin A in *Enterococcus faecium*. Antimicrob. Agents. Chemother. 54, 4744-4749.
 22. KRISTICH, C. J., L. B. RICE and C. A. ARIAS (2014): Enterococcal infection - Treatment and antibiotic resistance. In: Gilmore, M. S., D. B. Clewell, Y. Ike and N. Shankar: Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary.
 23. LECLERCQ, R. and P. COURVALIN (2002): Resistance to macrolides and related antibiotics in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob. Agents. Chemother. 46, 2727-2734.
 24. LIU, Y., Y. WANG, C. WU, Z. SHEN, S. SCHWARZ, X.-D. DU, L. DAI, W. ZHANG, Q. ZHANG and J. SHEN (2012): First report of the multidrug resistance gene *cfr* in *Enterococcus faecalis* of animal origin. Antimicrob. Agents. Chemother. 56, 1650-1654.
 25. LIU, Y., Y. WANG, S. SCHWARZ, Y. LI, Z. SHEN, Q. ZHANG, C. WU and J. SHEN (2013): Transferable multiresistance plasmids carrying *cfr* in *Enterococcus* spp. from swine and farm environment. Antimicrob. Agents. Chemother. 57, 42-48.
 26. MAINARDI, J.-L., L. GUTMANN, J. F. ACAR and F. W. GOLDSTEIN (1995): Synergistic effect of amoxicillin and cefotaxime against *Enterococcus faecalis*. Antimicrob. Agents. Chemother. 39, 1984-1987.
 27. McDONALD, L. C., M. J. KUEHNERT, F. C. TENOVER and W. R. JARVIS (1997): Vancomycin-resistant Enterococci outside the health-care setting: prevalence, sources, and public health implications. Emerging Infect. Dis. 3, 311-317.
 28. McDONALD, L. C., S. ROSSITER, C. MACKINSON, Y. Y. WANG, S. JOHNSON, M. SULLIVAN, R. SOKOLOV, E. DEBESS, L. GILBERT, J. A. BENSON, B. HILL and F. J. ANGULO (2001): Quinupristin-dalfopristin-resistant *Enterococcus faecium* on chicken and in human stool specimens. N. Engl. J. Med. 345, 1155-1160.
 29. MILLER, W. R., J. M. MUNITA and C. A. ARIAS (2014): Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. Expert. Rev. Anti. Infect. Ther. 12, 1221-1236.
 30. MURRAY, E. (1990): The life and times of the Enterococcus. Clin. Microbiol. Rev. 3, 46-65.
 31. PALMER, K. L., A. DANIEL, C. HARDY, J. SILVERMAN and M. S. GILMORE (2011): Genetic basis for daptomycin resistance in enterococci. Antimicrob. Agents. Chemother. 55, 3345-3356.
 32. PORTILLO, A., F. RUIZ-LARREA, M. ZARAZAGA, A. ALONSO, J. L. MARTINEZ and C. TORRES (2000): Macrolide resistance genes in *Enterococcus* spp. Antimicrob. Agents. Chemother. 44, 967-971.
 33. ROBERTS, M. C., J. SUTCLIFFE, P. COURVALIN, L. B. JENSEN and J. ROOD (1999): Nomenclature

- for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 43, 2823-2830.
34. SHAW, K. J., P. N. RATHER, R. S. HARE and G. H. MILLER (1993): Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol. Rev.* 57, 138-163.
 35. SINGH, K. V., G. M. WEINSTOCK and B. E. MURRAY (2002): An *Enterococcus faecalis* ABC homologue (Lsa) is required for the resistance of this species to clindamycin and quinupristin-dalfopristin. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 46, 1845-1850.
 36. ŠEOL, B., K. MATANOVIĆ i S. TERZIĆ (2010): Antimikrobna terapija u veterinarskoj medicini. Medicinska naklada, Zagreb. (In Croatian).
 37. WEESE, J. S. (2015): Multidrug-resistant enterococcal infections. *Clinician's Brief.* March 2015, 35-38.
 38. WERNER, G., S. GFRÖRER, C. FLEIGE, W. WITTE and I. KLARE (2008): Tigecycline-resistant *Enterococcus faecalis* strain isolated from a German intensive care unit patient. *J. Antimicrob. Chemother.* 61, 1182-1183.
 39. ZHANEL, G. G., D. J. HOBAN and J. A. KARLOWSKY (2001): Nitrofurantoin is active against vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 45, 324-326.
 40. ZHANEL, G. G., N. M. LAING, K. A. NICHOL, L. P. PALATNICK, A. NOREDDIN, T. HISANAGA, J. L. JOHNSON and D. J. HOBAN (2003): Antibiotic activity against urinary tract infection (UTI) isolates of vancomycin-resistant enterococci (VRE): results from the 2002 North American Vancomycin Resistant Enterococci Susceptibility Study (NAVRESS). *J. Antimicrob. Chemother.* 52, 382-388.
 41. ZIMMERMANN, R. A., R. C. JR. MOELLERING and A. N. WEINBERG (1971): Mechanism of resistance to antibiotic synergism in Enterococci. *J. Bacteriol.* 105, 873-879.

Enterococcal resistance to antibiotics and recommendations for treatment

Selma PINTARIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Branka ŠEOL MARTINEC, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia

Enterococci are Gram-positive bacteria that are part of the normal intestinal flora of humans and animals. They are intrinsically resistant to many antimicrobial agents commonly used in human and veterinary medicine, such as cephalosporins, clindamycin and trimethoprim/sulfamethoxazole. Enterococci also exhibit low-level resistance to penicillins and aminoglycosides. As commensals, they are often accidentally exposed to antimicrobial agents in the course of therapy for infections caused by other bacteria. Under appropriate circumstances, due to their intrinsic resistance, enterococci can easily spread to other parts of the body and cause a range of infections, such as urinary tract infections, skin and wound infections. In human medicine, enterococci are the causative agents of serious and often life-threatening infections, including endocarditis and meningitis. In addition to intrinsic resistance, enterococci have a great ability to develop resistance to all currently available antibiotics, either by mutation or by receipt of foreign genetic material. In general, antibiotic pressure is the main cause for development of multiresistant strains. Among enterococci, there are two main pathogenic

species: *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. There are certain naturally occurring differences in the susceptibility of these species, though both are capable of becoming multiresistant. Such multiresistant strains have become increasingly prevalent in hospital-acquired infections (both humans and animals). The incidence of vancomycin resistance among enterococci, particularly *E. faecium*, is a particular cause of concern. The World Health Organization (WHO) has published a list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed, and vancomycin-resistant *E. faecium* is among them. An important factor associated with the occurrence of resistant and multiresistant enterococci are antimicrobials used at subtherapeutic doses as a growth promoter in food-producing animals. For example, the extensive use of avoparcin, a glycopeptide antimicrobial drug, as a growth promoter has created food animals as reservoirs of vancomycin resistant enterococci. Croatia, as a European Union Member State, has banned the use of avoparcin as a growth promoter in food animals.

Key words: *enterococci, resistance, vancomycin-resistant enterococci (VRE), therapy*