

VANKOMİSİN DİRENÇLİ ENTEROKOKLARDA DİRENCİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

Engin KARAKEÇE¹, İhsan Hakkı ÇİFTÇİ¹, Gülşah AŞIK²

¹Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, SAKARYA

²Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR

ÖZET

Doğada yaygın olarak bulunan, insan ve hayvanların gastrointestinal florasının üyesi olan, sıklıkla kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirebilen enterokoklar, hastanede yatan riskli hasta grupları için önemli patojenlerdir. Bu çalışmada hastanemizdeki yoğun bakım hastalarında vankomisin dirençli enterokoklarda (VRE) direnç tiplerinin moleküler yöntemle araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya 417 rektal sürüntü örneği dahil edilmiştir. Konvansiyonel bakteriyolojik çalışmaların ardından tanımlama, antibiyotik duyarlılık ve minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) verileri otomatize sistemle (VITEK 2) elde edilmiştir. VRE suşlarında vanA ve vanB gen bölgesi varlığının araştırılmasında; 'Mag 16 bacterial DNA ekstraksiyon kiti' (Fluorion, Iontek) ve Fluorion VRE QLP 1.0 (Iontek) gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyon (q-PZR) kiti üretici firma önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.

Yoğun bakım hastalarından alınarak laboratuvara gönderilen rektal sürüntü örneklerinden % 11.5 (n=48) oranında VRE kolonizasyonu tespit edilmiştir. VRE suşlarının % 98'inin (n=47) E.faecium, % 2'sinin (n=1) E.faecalis olduğu belirlenmiştir. İzolatların duyarlılık oranları tetrasiklin, klindamisin, amikasin, siprofloksasin, moksifloksasin, imipenem, streptomisin, gentamisin ve tigesiklin için sırasıyla % 6.3, 16.7, 18.8, 20.8, 29.2, 29.2, 33.3, 45.8 ve 100 olarak saptanmıştır. Çalışma kapsamında incelenen 48 VRE suşunun qPZR ile moleküler direnç geni araştırmaları sonucunda tüm suşların van A tipi dirence sahip olduğu saptanmıştır.

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de VRE yayılımı ve direnç tiplerinin izlenmesi hastane infeksiyonlarının önlenmesi açısından önemlidir. Hastanemizde yapılan çalışmalarda diğer çalışmalarla uyumlu olarak, vanA tipi dirence sahip E.faecium izole edilmiştir. Ancak suşların klonal ilişkisi henüz ortaya konamamıştır. Bu ilişkinin gösterilmesi hastane infeksiyonlarının izlenmesi ve önlenmesine katkı sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: direnç, enterokok, kolonizasyon, PZR, vankomisin

SUMMARY

An Investigation of Resistance Using Molecular Methods in Vancomycin Resistant Enterococcus

Enterococci; extensively present in nature, and member of human and animal gastrointestinal flora are an important pathogen for the hospitalized risky patient groups and are capable of developing resistance to frequently used antibiotics. In this study, vancomycin resistance genotypes of enterococci (VRE) isolated from intensive care unit patients in our hospital was investigated by using molecular method.

A total of 417 rectal swab specimens were included to the present study. After conventional bacteriological studies; identification of bacteria at species level, as well as determination of antibiotic susceptibilities and minimal inhibitor concentrations (MIC) were done using an automated system (VITEK 2). Presence of vanA and vanB genes in VRE strains were studied using Mag 16 bacterial DNA extraction kit (Fluorion, Iontek) and real time polymerase chain reaction (qPCR) kit (Fluorion VRE QLP 1.0 – Iontek) according to manufacturer's instructions.

VRE colonization was determined among 11.5 % (n=48) of the rectal swab specimens collected from the intensive care unit patients and sent to our laboratory. It was found that 98 % (n=47) of VRE isolates were E.faecium and 2 % (n=1) was E.faecalis. The susceptibility rates of these isolates for tetracyclin, clindamycin, erithromycin, amikacin, ciprofloxacin, moxifloxacin, imipenem streptomycin, gentamycin and tigecycline were 6.3, 16.7, 18.8, 20.8, 29.2, 29.2, 33.3, 45.8 and 100 % respectively. Presence of vancomycin resistance gene tested by qPCR showed that all 48 VRE strains had vanA type resistance.

The spread of VRE and related resistance types' monitorization in our country and the entire world is important to prevent nosocomial infections. During the studies in our hospital, compatible to other studies, E.feacium having vanA type resistance was isolated. However, the strains' clonal relation could not be evaluated yet. The demonstration of this relationship will contribute to prevent and to observe hospital infections.

Keywords: colonisation, enterococci, PCR, resistance, vancomycin

İletişim adresi: Engin Karakeçe. Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, SAKARYA

Tel: (0264) 255 21 06/6224

e-posta: enginkarakece@gmail.com

Alındığı tarih: 13.05.2013, Yayına kabul: 20.09.2013

GİRİŞ

Gastrointestinal sistem normal florasının üyesi olan enterokoklar 1970'li yıllara kadar enfeksiyon etkeni olarak kabul edilmemiş, nadiren endokarditlerden sorumlu tutulmuştur⁽²⁷⁾. Öncelikle antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı kliniklerde çoklu ilaç direnci geliştirme kapasiteleri ile ciddi enfeksiyonlara neden olma olasılıkları önemlerini artırmıştır. Geçmiş yıllarda çoğunlukla üriner, abdominal ve pelvik sistem enfeksiyonlarından sorumlu tutulan enterokoklar şimdilerde hastane enfeksiyonlarının en önemli etkenlerinden biridir⁽²⁶⁾. İlk vankomisin dirençli enterokok (VRE) suşunun izolasyonundan sonra dikkatleri daha çok üzerine çekmiş ve geçtiğimiz 20 yıl boyunca dünyanın birçok bölgesinden VRE bildirimini artarak devam etmiştir. Ülkemizde ise 1998'deki ilk izolasyonun ardından çok sayıda VRE bildirimini gerçekleştirmiştir⁽²⁴⁾.

Bilindiği gibi *Enterococcus* cinsi içinde en sık enfeksiyon etkeni olarak izole edilen türler *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'dur. Önceleri daha çok *E.faecalis* enfeksiyon etkeni olarak izole edilirken VRE'ların ortaya çıkmasıyla *E.faecium* suşları ön plana çıkmıştır.

Enterokoklarda glikopeptid direnci; vankomisine direnç, hem vankomisine hem de teikoplanine direnç, indüklenebilen direnç ve aktarılabilen direnç olarak sınıflandırılır. Günümüze kadar VRE suşlarında *vanA-E*, *vanG*, *vanL*, *vanM* ve *vanN* olarak isimlendirilen dokuz farklı genotip tanımlanmıştır⁽¹⁴⁾ ve bunlardan *vanA*, *vanB* ve *vanC* en sık saptanan genotipler olarak bildirilmiştir. İndüklenebilen ve aktarılabilen direnç içinde en sık bildirilen *vanA* tip genotipe sahip enterokoklar teikoplanin ve vankomisine yüksek düzey direnç gösterirken, *vanB* tip genotip enterokoklar ise sadece vankomisine değişken düzeyde direnç gösterirler. Aktarılma özelliği olmayan *vanC* genotip enterokoklar vankomisine kromozomal olarak düşük düzeylerde, *vanD* içeren enterokoklar kromozomal olarak vankomisin ve teikoplanine direnç gösterirken, *vanG* ve *vanE* içeren enterokoklarda vankomisine düşük düzeyde dirençli ve teikoplanine duyarlıdır^(7,15,19).

Bu çalışmada yoğun bakımda tedavi gören

hastaların rektal sürüntü örneklerinden izole edilen VRE'da glikopeptid direncinin moleküler yöntemle araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Enterokok suşlarının izolasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri

Çalışmaya Ağustos 2011-Aralık 2012 tarihleri arasında yoğun bakımda tedavi gören hastalardan alınarak Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen 417 rektal sürüntü örneği dahil edilmiştir. Hastaların ardışık örneklerinden izole edilen suşlardan sadece biri çalışmaya alınmıştır. VRE için bakteriyolojik çalışmalarda selektif besiyeri olarak 6 µg/ml vankomisin eklenmiş D-Enterococcosel agar (Oxoid, İngiltere) kullanılmıştır. Konvansiyonel tanımlama amacıyla Gram morfolojisi, katalaz, hemoliz, % 6.5 NaCl'lü buyyonda üreme ve PYR hidrolizi irdelenmiştir. Enterokok olarak tanımlanan suşlar Vitek2 (BioMérieux, Fransa) otomatize sistemi Gram pozitif ID paneli ile doğrulanmış ve AST-592 paneli ile antibiyotik duyarlılık çalışmaları yapılmıştır. Vankomisin ve teikoplanin için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI) önerileri doğrultusunda belirlenmiştir⁽⁴⁾. Vankomisin için MİK sınır değerleri ≤ 4 µg/ml duyarlı, ≥ 32 µg/ml dirençli, teikoplanin için MİK sınır değerleri ≤ 8 µg/ml duyarlı, ≥ 32 µg/ml dirençli olarak kabul edilmiştir. Çalışmalarda *E.faecalis* ATCC 29212 kontrol suşu olarak kullanılmıştır.

Dirençle ilişkili gen bölgesinin varlığının araştırılması

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunda (qPZR) kullanılacak olan DNA'nın ekstraksiyonu Mag 16 (Iontek, Türkiye) otomatik izolasyon cihazında Mag 16 Bacterial DNA ekstraksiyon (Iontek, Türkiye) kiti ile üretici firmasının önerileri doğrultusunda yapılmıştır. qPZR çalışmaları Fluorion (Iontek, Türkiye) cihazında *vanA* ve *vanB* genlerine özgü primerler kullanılarak Fluorion QLP 1.0 (Iontek, Türkiye) kiti ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. Rektal sürüntü örneklerinde VRE pozitifliği.

Klinik	Örnek sayısı		VRE		E.faecium		E.faecalis		VRE (%)
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Cerrahi Yoğun Bakım	171	(41.0)	18	(10.5)	18	(10.5)	-	-	vanA
Dahili Yoğun Bakım	160	(38.4)	22	(13.8)	21	(13.1)	1	(0.7)	vanA
Genel Yoğun Bakım	86	(20.6)	8	(9.3)	8	(9.3)	-	-	vanA
Toplam	417	(100)	48	(11.5)	47	(11.3)	1	(0.2)	

BULGULAR

Cerrahi, Dahili ve Genel Yoğun Bakım Üniteleri'nden alınan rektal sürüntü örneklerinin dağılımının sırasıyla, 171 (% 41.0), 160 (% 38.4) ve 86 (% 20.6) olduğu gözlenmiştir. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen rektal sürüntü örneklerinin % 11.5'inde (n=48/417) VRE kolonizasyonu saptanmıştır. İzole edilen VRE suşlarının % 98'inin (n=47) *E.faecium*, % 2'sinin (n=1) *E.faecalis* olduğu belirlenmiştir. Dahili, Cerrahi ve Genel Yoğun Bakım Üniteleri'nde VRE kolonizasyonu sırasıyla % 13.1, % 10.5 ve % 9.3 oranında gözlenmiştir (Tablo 1).

Vankomisin ve teikoplanine yüksek düzey dirençli bulunan VRE suşlarının tigesikline % 100 duyarlı oldukları gözlenmiştir. Yüksek düzey gentamisin direnci (>500 µg/ml) için yapılan çalışmalarda da % 45.8 oranında duyarlılık gözlenmiştir. Karbapenem ve kinolonlar için duyarlılık oranı ise % 29.2 olarak hesaplanmış olup diğer duyarlılık verileri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. VRE suşlarında antibiyotik direnci.

Antibiyotikler	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%
Vankomisin	-	-	48	100.0
Teikoplanin	-	-	48	100.0
Tetrasiklin	3	6.3	45	93.7
Klindamisin	8	16.7	40	83.3
Eritromisin	9	18.8	39	81.2
Amikasin	10	20.8	38	79.2
Siprofloksasin	14	29.2	34	70.8
Moksifloksasin	14	29.2	34	70.8
İmipenem	14	29.2	34	70.8
*Streptomisin	16	33.3	32	66.7
**Gentamisin	22	45.8	26	54.2
Tigesiklin	48	100.0	-	-

*Yüksek düzey streptomisin direnci (>1000 µg/ml)

**Yüksek düzey gentamisin direnci (>500 µg/ml)

Direncin moleküler analizinde incelenen VRE suşlarının tümü qPZR ile *vanA* pozitif bulunmuştur. VRE suşlarında *vanB* pozitifliği saptanamamıştır. *vanA* qPZR çalışmalarında reaksiyondaki DNA yoğunluğuyla ilişkili olarak 9. döngüden itibaren pozitiflikler ifade bulmuş, erken pozitiflik saptanan örneklerde internal kontrol baskılanmıştır.

TARTIŞMA

Enterokok düşük virülanslı olmasına rağmen toplum kaynaklı infeksiyonların ve özellikle hastane infeksiyonlarının en önemli etkenlerinden birisidir⁽¹⁷⁾. Tüm hastane infeksiyon etkenleri gibi VRE infeksiyonlarının önlenmesinde de genel infeksiyon önlemleri ve akılcı antibiyotik kullanımı esastır. Uzun süre hastanede yatan hasta gruplarında VRE'lerin kolonizasyonu riski artıracığından erken tespiti yayılımının önlenmesinde önemlidir. Bu nedenle düzenli aralıklarla kolonizasyon taramaları önerilmektedir. VRE ilk izolasyonunun ardından National Nosocomial Infections Surveillance System (NNISS) verilerine göre klinik örneklerden izole edilen VRE oranı 1989'da % 0.3 olarak bildirilirken, 1993'de bu oranın % 7.9'a yükseldiği gözlenmiştir⁽²⁵⁾. Son yıllarda ise ülkemizde ve yurtdışında dışkı ve rektal sürüntü örneklerinde % 50-70 değişen oranlarda enterokok izole edildiği bildirilmiştir⁽¹⁸⁾.

Vankomisine dirençli enterokokların ortaya çıkmasındaki önemli nedenlerden biri de bu antibiyotik tedavide yoğun olarak kullanılmasıdır. Enterokoklarda yapısal ve genetik madde aktarımı yoluyla kazanılan direncin diğer suşlara aktarılması önemlidir.

Genellikle üriner infeksiyonlarda sıklıkla tedavi seçeneği olarak tercih edilen, ancak enterokoklarda etkinliği sınırlı olan siprofloksasin

direnci yurt içi yapılan çalışmalarda % 25.0-87.2 arasında değişen oranlarda rapor edilirken, bizim çalışmamızda da benzer olarak % 70.8 oranında saptanmıştır^(11,20). Plazmid ve transpozon aracılığıyla kazanılmış direnç gelişimi, yüksek düzey aminoglikozid direncinin (YDAD) ortaya çıkışına neden olduğu ve bu da tedavide beta laktam ile kombine sinerjik bakterisidal etkiyi ortadan kaldırdığı için YDAD bakılması önemlidir⁽²⁾. Ülkemizde yüksek düzey streptomisin direncinin (YDSD) % 18-54, yüksek düzey gentamisin direncinin (YDGD) % 9-65 arasında değiştiği bildirilmiştir^(8,12,18). Bizim çalışmamızda da benzer olarak YDSD % 66.7, YDGD % 54.2 olarak bulunmuştur. Türkiye ve Yunanistan'da yapılan iki çalışmada olduğu gibi bizim çalışmamızda da tigesiklin direncine rastlanmamıştır^(12,13,21).

Enterokoklarda glikopeptidlere direnç, ilk kez 1988 yılında Uttley ve ark.⁽²³⁾ tarafından bildirildikten sonra dünyada hızla yayılmıştır. Avrupa ülkelerinde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde VRE suşları arasında en sık rastlanan patern *vanA* genotip'dir^(9,16). Dünyada olduğu gibi ülkemizde de en sık gözlenen *vanA* tipi direnç paterni, mobil genetik elemanlarla aktarılması nedeniyle VRE infeksiyonların önemi artırmaktadır.

Ülkemizde VRE suşu ilk olarak Akdeniz Üniversitesi'nden daha sonra da Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisi'nden bildirilmiştir^(3,24). Sonraki dönemde giderek artan bildirimlerde izole edilen VRE'lerin hepsinin *E.faecium* olduğu saptanmıştır. Hastanemizde yapılan tarama çalışmalarında son zamanlarda VRE suş sayısında artış gözlenmektedir. Bizim çalışmamızda da VRE olarak tanımlanan suşlardan bir tanesi dışında kalanların *E.faecium* olduğu saptanmıştır.

Vural ve ark.⁽²⁴⁾ tarafından yapılan 1998'deki bildirimden beri VRE suşları için yalnızca *vanA* tipi direnç ifade edilmekteydi^(1,5,10,22). Ancak Coşkun ve ark.⁽⁶⁾ Nisan 2010'da üç farklı suşta *vanB* tipi direnç bildirmişler ve değişim sürecine vurgu yapmışlardır. Bizim çalışmamızda suşların tümünde *vanA* tipi direnç saptanmış, klonal ilişki mevcut imkanlarla araştırılamamıştır.

Sonuç olarak; hastanemizde VRE'lerin

sporadik infeksiyonlara neden olduğu gözlenmiş ve VRE'lerde direnç moleküler yöntemlerle bölgemizde ilk kez araştırılmıştır. Çalışma ile tanımlanan *E.faecalis* suşunun doğrulanması ve VRE suşları arasındaki klonal ilişkinin araştırılması planlanmıştır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de geliştirdiği direnç mekanizmaları ile artan dirençli enterokokların tür tayininin yapılması, direnç kaynaklarının genetik yapısının araştırılması; direncin önlenmesi, yeni tedavi protokollerinin ve alınacak infeksiyon önlemlerinin geliştirilmesine yararlı olacaktır. Suşlar arasında klonal ilişkinin gösterilmesi özellikle dirençli mikroorganizmaların oluşturduğu infeksiyonların izlenmesinde önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Altun B, Cengiz AB, Kara A, Ceyhan M, Unal S, Seçmeer G. First vancomycin-resistant blood isolate of *Enterococcus faecium* in a children's hospital and molecular analysis of the mechanism of resistance, *Turk J Pediatr* 2008;50(6):554-8. PMID:19227419
2. Başustaoğlu A, Aydoğan H. Enterokoklar, İnfeksiyon Hastalıkları Serisi 2002;5(2):45-60.
3. Başustaoğlu A, Özyurt M, Beyan C ve ark. Kan kültüründen izole edilen glikopeptid dirençli *Enterococcus faecium*, *Flora* 2000;5(2):142-7.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performans Standart for antimicrobial Susceptibility Testig. Twentieth Informational Supplement, M100- S20, Wayne, PA (2010).
5. Comert FB, Kulah C, Aktaş 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. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-006-0232-x> PMID:17200842
6. Coşkun FA, Mumcuoğlu İ, Neriman A ve ark. Bir Devlet Hastanesinde vankomisin dirençli enterokok suşlarının fenotipik ve genotipik olarak değerlendirilmesi: ilk *vanB*-pozitif *Enterococcus faecium* izolatları, *Mikrobiyol Bul* 2012;46(2):276-82. PMID:22639316
7. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall G. Vancomycin resistant enterococci, *Clin Microbiol Rev* 2000;13(4):686-707. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.13.4.686-707.2000>

- PMid:11023964 PMCID:PMC88957
8. Çınar T, Leblebicioğlu H, Sümbül M, Eroğlu C, Esen Ş, Günaydın M. Enterokoklarda yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direncinin araştırılması, *Flora* 1999;4(2):114-19.
 9. Descheemaeker P, Ieven M, Chapelle S et al. Prevalence and molecular epidemiology of glycopeptide resistant enterococci in Belgian renal dialysis units, *J Infect Dis* 2000;181(1):235-41. <http://dx.doi.org/10.1086/315182> PMid:10608772
 10. Güdücüoğlu H, Aktaş E, Beğendik F ve ark. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi pediatri servisinde vankomisin dirençli enterokokların ilk izolasyonu ve çoğul klonların tespiti, *Mikrobiyol Bul* 2009;43(4): 535-43. PMid:20084906
 11. Kaçmaz B, Akca G, Sultan N. Enterokokların antibiyotiklere direnç oranının araştırılması, *İnfeksiyon Derg* 2004;18(3):287-92.
 12. Kaçmaz B, Altan A. Antimicrobial resistance of enterococci in Turkey, *Int J Antimicrob Agents* 2005;25(6):535-38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.02.020> PMid:15908184
 13. Karacoğlan İ, Zer Y, Namıduru M. Vankomisine dirençli enterokok suşlarında tigesiklin in vitro etkinliği, *ANKEM Derg* 2008;22(3):153-5.
 14. Lebreton F, Depardieu F, Bourdon N et al. D-Ala-d-Ser VanN-type transferable vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*, *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(10):4606-12. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00714-11> PMid:21807981 PMCID:PMC3187002
 15. Malathum K, Murray BE. Vancomycin resistant enterococci: recent advances in genetics, epidemiology and therapeutic options, *Drug Resis Updat* 1999;2(4):224-43. <http://dx.doi.org/10.1054/drup.1999.0098> PMid:11504495
 16. Moellering RC Jr. Vancomycin-resistant enterococci, *Clin Infect Dis* 1998;26(5):1196-9. <http://dx.doi.org/10.1086/520283> PMid:9597252
 17. Murray BE. Diversity among multidrug resistant enterococci, *Emerg Infect Dis* 1998;4(1):37-43. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0401.980106> PMid:9452397 PMCID:PMC2627656
 18. Özkuyumcu C, Köseoğlu Ö, Günalp A. Hastanede yatan hastalarda vankomisin ve yüksek düzeyde aminoglikozid dirençli enterokok kolonizasyonunun araştırılması, *Mikrobiyol Bul* 1997;32(3):185-94.
 19. Perez-Hernandez X, Mendez-Alvarez S, Claverie-Martin F. A PCR assay for rapid detection of vancomycin resistant enterococci, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;42(4):273-7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893\(01\)00360-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0732-8893(01)00360-1)
 20. Ruhi MZ, Ayse D, Aksu G. AÜTF Çocuk Hastalıkları Kliniği'nden izole edilen enterokok suşlarının türlere göre dağılımı ve antimikrobiklere direnç durumu, VII.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı s.154, Antalya (1997).
 21. Souli M, Kontopidou FV, Koratzanis E et al. In vitro activity of tigecycline against multiple drug resistant, including pan-resistant gram negative and gram positive clinical isolates from Greek hospitals, *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(9): 3166-9. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00322-06> PMid:16940120 PMCID:PMC1563514
 22. Torun MM, Altınkum SM, Bahar H, Kocagöz S, Biçer P, Demirci M. Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* kökenlerinin genotipik ve fenotipik özelliklerinin araştırılması, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005;35(3):153-8.
 23. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin resistant enterococci, *Lancet* 1998;1(8575-6):57-8.
 24. Vural T, Şekercioğlu AO, Ögünç D. Vankomisin dirençli *Enterococcus faecium* suşu, *ANKEM Derg* 1999;13(1):1-4.
 25. Weinstein JW, Roe M, Towns M et al. Resistant enterococci: a prospective study of prevalence, incidence and factors associated with colonization in a university hospital, *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;17(1):36-41. <http://dx.doi.org/10.1086/647186> PMid:8789685
 26. Willey BM, McGeer AJ, Ostrowski MA, Kreiswirth BN, Low DE. The use of molecular typing techniques in the epidemiologic investigation of resistant enterococci, *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994;15(8):548-56. <http://dx.doi.org/10.1086/646976> PMid:7983351
 27. Winn WC Jr, Allen S, Janda W et al. Streptococci, enterococci and the streptococcus-like bacteria, "Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology, 6. baskı" kitabında s.673-754, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2006).