

Vankomisine Dirençli *Enterococcus faecium* Kökenlerinde Genotipik ve Fenotipik Özelliklerin Araştırılması

Müzeyyen MAMAL TORUN*, Serdar M. ALTINKUM*, Hrisi BAHAR*,
Sesin KOCAGÖZ**, Pınar BİÇER*, Mehmet DEMİRCİ*

*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

ÖZET

Bu çalışmada İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nin yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere çeşitli kliniklerinden gönderilen hastaların muayene maddelerinden, bu hastalarla teması olan sağlık personelinin, refakatçılardan ve hastane ortamındaki çevre sürüntü örneklerinden vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) araştırılmıştır. Hastalara ait klinik örneklerden 3, kolonizasyon araştırılan gruptan 2 ve çevresel sürüntü örneklerinden 3 adet olmak üzere 8 VRE kökeni izole edilmiştir. *Enterococcus faecium* olarak tanımlanan bu kökenlerde beta-laktamaz aktivitesi saptanmamıştır. Ampisiline dirençli olan VRE kökenlerinin aynı zamanda yüksek düzey gentamisin, streptomisin ve teikoplanin direncine sahip oldukları görülmüştür. PCR ile Van A tipi dirence sahip oldukları belirlenen bu kökenlerin PFGE ile dört farklı klonu ait oldukları saptanmış, kökenler arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Anahtar kelimeler: *Enterococcus faecium*, vankomisin direnci, genotip, fenotip, klon

SUMMARY

Evaluation of Genotypic and Phenotypic Characteristics in Vancomycin Resistant Enterococcus faecium Strains

In this study, vancomycin resistant enterococci (VRE) were evaluated from clinical samples which were sent from patients of intensive care units and also from patients of different departments of Istanbul University Cerrahpaşa Medical Faculty, Turkey. Also medical staff, patient companions who were in contact with those patients were screened along with the hospital environment for the presence of VRE. Three of eight VRE were isolated from patient's clinical specimens, 2 were from the study group that colonization was screened and 3 were isolated from environmental smear samples. All VRE strains were identified as *Enterococcus faecium* and no beta-lactamase activity was determined. Strains resistant to ampicillin were found in the mean time resistant to high level gentamycin, streptomycin and teicoplanin. By PCR the vancomycin resistance was found to be as Van A type resistance. By PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) it was found that the VRE strains were from 4 different clones. There were no correlation between the VRE strains.

Key words: *Enterococcus faecium*, vancomycin resistance, genotype, phenotype, clon

GİRİŞ

Son yıllarda önemli hastane infeksiyonlarının etkenleri arasında yer alan enterokoklar, özellikle çeşitli nedenlerle immun sistemi baskılanmış veya hematolojik maligniteli hastalar ile intravasküler katater veya protez uygulanan hastalardan sıklıkla izole edilmeye başlamıştır (1, 2).

Enterokokların son yirmi yıldır antibiyotiklere giderek artan direnç göstermesi ve çoğul dirençli kökenlerin ortaya çıkması enterokok infeksiyonlarının tedavisini önemli bir sorun haline getirmiştir. Vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptit antibiyotikler çoklu dirençli Gram-pozitif bakterilerin oluşturduğu infeksiyonların tedavisi için çoğu kez son seçenek ilaçlardır (3). Ancak diğer antibiyotiklerde olduğu gibi glikopeptit antibiyotiklere de direnç gelişimi başlamış, ilk olarak 1988 yılında İngiltere ve Fransa'da vankomisine di-

İletişim: Müzeyyen Mamal Torun

e-posta: mmamorun@istanbul.edu.tr

rençli enterokoklar bildirildikten sonra diğer Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde dirençli kökenler ortaya çıkmaya başlamış ve sorun bütün dünyaya yayılmıştır(4-8).

Enterokok türlerinden, özellikle *E. faecium* yüksek düzey glikopeptit direncinin yayılmasından sorumlu tutulmaktadır. Van A en sık bildirilen fenotiptir. Konjugasyon ile transfer edilebilir. Özellikle olan bu direnç *S. aureus* gibi önemli bir patojende A.B.D.'de 2002 yılında bildirilmiştir (8-11).

Türkiye'den ilk VRE kökeni 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi'nden bildirilmiş bunu Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İstanbul Tıp Fakültesi ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nden bildirilen kökenler izlemiş ve ülkemizde de VRE sorunu giderek artmaya başlamıştır (12-17).

Buradan hareketle, hem hastanemizdeki vankomisin dirençli enterokok (VRE) kökenlerinin izlenmesi, hem de aktarılabilen direnç olması özelliği ile gelecek yıllarda *S.aureus* kökenleri için vankomisin direnci tehlikesi oluşturması nedeni ile Ocak 2000 tarihinde Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalımızda bu araştırma başlatılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Ocak 2000-Kasım 2004 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nin yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere çeşitli kliniklerinden gönderilen hastaların muayene maddelerinden, bu hastalarla teması olan sağlık personelinin ve refakatçilerinden, hastane ortamındaki çevre sürüntü örneklerinden VRE araştırılmıştır. VRE olarak saptanan kökenlerin antibiyotiklere direnç profili, beta-laktamaz üretimi ve genotipleri incelenmiştir.

Klinik örneklerden enterokokların ayırımı ve tanımı Gram morfolojisi, katalaz, hemoliz, eskülin hidrolizi, %6.5 NaCl'li buyyonda üreme ve PYR hidrolizi gibi özellikler incelenerek standart klinik laboratuvar yöntemleri ile yapılmış, gerekli durumlarda API 20 Strep (Bio Merieux) kitlerinden yararlanılmıştır (18).

Hastalardan üretilen ve VRE olarak tanımlanan kökenlerin kaynağının belirlenmesi amacıyla bu hasta-

larla teması olan sağlık personeli ve refakatçilerden birer hafta arayla 3 kez rektal sürüntü örnekleri alınmıştır. Bu örnekler seftazidim (64 µg/ml) ve vankomisin (6 µg/ml) içeren safra-eskülin besiyerine ekilerek VRE taraması yapılmıştır (18, 19).

Hastalardan üretilen VRE kökenlerinin hastane ortamından kaynaklanıp kaynaklanmadığını araştırmak amacıyla, hastaların bulundukları ortamlardaki eşya ve tıbbi cihazlardan (yatak başı, kapı kolları, musluk vanaları, telefon ahizeleri, tansiyon aletleri, stetoskop...) steril serum fizyolojik ile ıslatılmış eküvyonlar ile sürüntü örnekleri alınmıştır. Çevresel örnekler seftazidim (64 µg/ml) ve vankomisin (6 µg/ml) içeren safra-eskülin besiyerine ekilerek VRE taraması yapılmıştır (18,19).

Enterokokların vankomisin ve diğer antibiyotiklere direnç durumları National Committee for Clinical Laboratory Standarts (NCCLS, M100-S12)'in önerileri doğrultusunda katyon-ayarlı Mueller-Hinton buyyon (CAMHB) besiyeri kullanılarak sıvı dilüsyon testi (15) ve E testi (AB Biodisk) ile araştırılmıştır. Deneylerde kontrol kökeni olarak *E. faecalis* ATCC 29212 kullanılmıştır (20).

Enterokoklardaki beta-laktamaz varlığı kromojenik yöntem (Nitrosefin strip, Oxoid) ile araştırılmıştır. Bu testin kalite kontrolünde beta-laktamaz pozitif *S.aureus* ATCC 29213 ve beta-laktamaz negatif *S.aureus* ATCC 10211 kökenleri kullanılmıştır (21).

VRE kökenlerinin klonal ilişkileri ve ilişkili kökenlerde kaynağın belirlenmesi amacıyla, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları Ünitesinde genotipik tiplendirme yöntemleri uygulanmıştır. Direkt genotipleme için hem DNA karyotiplemesi hem de restriksiyon enzimi analizi yapabilen Pulsed Field Jel Elektroforezi (PFGE, LKB-Pharmacia 2015 Gene Navigator apparatus Pulsaphor system Pharmacia-LKB, Stockholm, Sweden), amplifikasyon bazlı genotipleme için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) kullanılmıştır (18,19, 22-24). PFGE ile elde edilmiş olan makrorestriksiyon bant paternleri görsel olarak Tenover ve ark tarafından belirlenen kriterler doğrultusunda değerlendirilmiştir (23).

BULGULAR

Kanlı jeloz besiyerinde hemoliz özellikleri incelenen bakteriler klasik mikrobiyolojik yöntemlerle Gram-pozitif zincir yapan kok şeklindeki morfolojileri, katalaz negatifliği, eskülini hidrolize etmeleri, %6.5 NaCl'li buyyonda üremeleri ve PYR pozitifliği ile enterokok olarak tanımlanmış, API 20 Strep kiti ile *Enterococcus* kökenlerinin tür tanımları yapılmıştır.

Antibiyotiklere duyarlılık testleri sonucunda hastalara ait klinik örneklerden 3, kolonizasyon araştırılan gruptan 2 ve hastane ortamından alınan çevresel sürüntü örneklerinden 3 adet olmak üzere 8 kökenin vankomisine dirençli olduğu tespit edilmiş ve bunların tümünün *E. faecium* oldukları gözlenmiştir. Vankomisine dirençli 8 *E. faecium* kökeninin hiçbirinde beta-laktamaz varlığı saptanmamıştır. VRE kökenlerinin tümü ampisilin, gentamisin (yüksek düzey), streptomisin (yüksek düzey) ve teikoplanine dirençli olarak bulunmuştur.

Genotipik tiplendirme yöntemlerinden PFEG sonuçlarına göre VRE kökenlerinin A, B, C ve D olarak tanımlanan dört farklı klona ait olduğu, PCR ile de tüm kökenlerin Van A direncine sahip olduğu saptanmış ve kökenler arasında bir ilişki kurulamamış ve farklı kökenler olduğuna karar verilmiştir.

E. faecium olarak tanımlanan 8 vankomisin dirençli kökenin üretildikleri kaynaklar ve antibiyotiklere duyarlılıkları Tablo 1; genotipik özellikleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Vankomisine dirençli enterokoklar ilk olarak 1988 yılında Uttley ve ark. tarafından İngiltere'den ve Leclercq ve ark. tarafından Fransa'dan bildirilmiş, bunu diğer Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nden bildirilen olgular izlemiş ve birçok hastanede sıklıkla diyaliz, transplantasyon, hematoloji ve yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere zaman zaman epidemilere de neden olan VRE'lar hastane infeksiyonlarının önemli etkenleri arasındaki yerini almıştır (1, 2, 4-6, 25).

Glikopeptit antibiyotiklerden vankomisin Gram pozitif bakterilerde peptidoglikan prekürsörlerine

Tablo 1. VRE kökenlerinin üretildikleri kaynaklar ve antibiyotiklere direnç durumları

VRE üretilen örnek	VRE üretilen klinik	Köken No	Antibiyotiklerin MİK değerleri (µg/ml)				
			Ampisilin	Gentamisin	Streptomisin	Teikoplanin	Vankomisin
İdrar	Göğüs Hastalıkları	1	32	512↑	2000↑	32	256
Cerahat	Çocuk Cerrahi YBÜ*	2	32	512↑	2000	32	32
Yara sürüntüsü	Plastik Cerrahi	3	32	512↑	2000	32	64
Rektal sürüntü	Anestezi YBÜ*	4	64	512↑	2000	64	128
Rektal sürüntü	Ortopedi	5	16	512↑	2000↑	32	32
Ortam (yatak başı)	Anestezi YBÜ*	6	32	512↑	2000↑	32	128
Ortam (yatak başı)	Anestezi YBÜ*	7	32	512↑	2000↑	32	256
Ortam (yatak başı)	Plastik Cerrahi	8	64	512↑	2000↑	32	32

*Yoğun bakım ünitesi

Tablo 2. VRE kökenlerinin genotipleme sonuçları

VRE üretilen kaynak	HASTALAR			TAŞIYICILAR		ORTAM		
Köken no	1	2	3	4	5	6	7	8
Klon tipi	A	B	B	A	B	C	D	A
Direnç fenotipi ve genotipi	Van A	Van A	Van A	Van A	Van A	Van A	Van A	Van A

bağlanarak etki eder. Pentapeptidin serbest karboks ucunda bulunan D-ala-D-ala terminal ucuna bağlanır ve peptidoglikan sentezini dolayısıyla hücre duvarı sentezini engeller. VRE'lerde ise ligaz enzimi ile D-ala-D-ala ucunun yapısını değiştirir ve uca vankomisinin bağlanma yeteneği azalır. Böylece hücre duvarı sentezi ve üreme devam eder. Günümüzde spesifik ligaz genlerinin varlığına göre yapılan sınıflandırmada Van A, Van B, Van C, Van D, Van E ve Van G olarak adlandırılan 6 farklı direnç fenotipi tanımlanmıştır. Van A direnci indüklenebilir ve aktarılabılır bir dirençtir. Direnç genleri Tn 1546 transpozonunda bulunan 7 gen tarafından kontrol edilir (10, 19, 25, 26).

Tablo 3. Türkiye'de hastalardan izole edilen VRE kökenleri

Araştırmacı, yer, tarih	Klinik örnek	VRE türü	Vankomisin direnç fenotipi	MİK değeri (µg/ml)	
				Vankomisin	Teikoplanin
Vural ve ark. Antalya, 1998 (12)	Plevra sıvısı	<i>E.faecium</i>	Van A	256	64
Başustaoğlu ve ark. Ankara, 2000 (13)	Kan	<i>E.faecium</i>	Van A	256	64
Öngen ve ark. İstanbul, 1999 (14)	Santral venöz katater	<i>E.faecium</i>	Van A	512	32
Mamal Torun ve ark. İstanbul, 1999 (15)	Cerahat	<i>E.faecium</i>	Van A	32	32
Akıncı ve ark. Ankara, 2002(16)	Kan	<i>E.faecium</i>	Van A	256	64
	Safra	<i>E.faecium</i>	Van A	256	128
	Kan	<i>E.faecium</i>	Van A	128	128
Aydoğan ve ark. Ankara, 2002 (17)	Yara sürüntüsü	<i>E.faecium</i>	Van A	256	64
Bu çalışma Mamal Torun ve ark. İstanbul,	İdrar	<i>E.faecium</i>	Van A	256	64
	Cerahat	<i>E.faecium</i>	Van A	32	32
	Yara sürüntüsü	<i>E.faecium</i>	Van A	64	32

Türkiye'de ilk VRE kökeni 1998 yılında Vural ve arkadaşları tarafından Akdeniz Üniversitesinden bildirilmiş ve bunu 1999 yılında Başustaoğlu ve arkadaşları tarafından Ankara Gülhane Askeri Tıp Akademisinden bildirilen kökenler izlemiş, VRE sorunu ülkemizde de giderek artmaya başlamıştır (12-17) (Tablo 3).

Cerrahpaşa Tıp Fakültesinde ilk VRE kökeni 1999 yılında Anabilim Dalımızda Mamal Torun ve arkadaşları tarafından bir abse cerahatinden izole edilmiştir API 20 strep kiti ile *E.faecium* olarak tanımlanan bu kökenin sıvı dilüsyon testi ile yapılan incelemesinde vankomisin MİK değerinin 32 µg/ml, teikoplanin MİK değerinin aynı şekilde 32 µg/ml olduğu bulunmuş ve sonuç E testi ile tekrarlanmıştır (15).

Bu araştırma sırasında göğüs hastalıkları, plastik cerrahi ve çocuk cerrahi yoğun bakım ünitesi olmak üzere üç farklı bölümdeki hastalardan vankomisin ve teikoplanine dirençli üç farklı *E.faecium* kökeni izole edilmiş, bu kökenler aynı zamanda ampicilin, gentamisin ve streptomisine yüksek düzeyde dirençli olarak bulunmuştur. Ülkemizde hastalardan izole edilen VRE kökenleri incelendiğinde hepsinin

E.faecium olduğu ve Van A tipi direnç taşıdıkları görülmektedir (Tablo 3). Ayrıca bizim olgularımızda olduğu ülkemizdeki diğer VRE kökenlerinde de henüz beta-laktamaz pozitifliği saptanmamıştır (12-17).

İnsanların gastrointestinal sistem florasının bir üyesi olan enterokoklar, hastane ortamında ve sağlık çalışanlarının ellerinde uzun süre canlı kalabilmekte ve dolayısıyla el yıkama alışkanlığının iyi olmadığı birimlerde bu kaynak kişilerden hastane içine kolayca yayılabilmektedir. Bu tür dirençli enterokoklar sağlık çalışanlarının, hatta hastaların gastrointestinal sisteminde kolaylıkla kolonize olabilmekte ve hastane içinde yayılımları için bir kaynak oluşturmaktadırlar (27-29). Bu nedenle araştırmamızda hastalardan VRE izole edildikten sonra, bunların kaynağı araştırılmaya çalışılmış, kolonize olan şahısların rektal sürüntülerinden 2, çevre sürüntülerden 3 olmak üzere toplam 5 VRE kökeni üretilmiştir. Ancak *E.faecium* olarak belirlenen ve Van A direncine sahip oldukları gözlenen bu kökenlerin moleküler tiplendirme yöntemleri ile farklı klonlara ait olduğu birbirleriyle ve hastalardan izole edilen kökenlerle ilişkili olmadıkları saptanmıştır.

Enterokoklarda bulunan ve yüksek düzey vankomisin direncinden sorumlu olan Van A geni plazmidlerle streptokoklar ve stafilokoklara transfer edilebilme özelliğindedir. 2002 yılında A.B.D.'nin iki ayrı bölgesinde iki hastadan vankomisine dirençli iki *S.aureus* kökeni izole edilmiş, bunların Van A geni taşıdığı saptanmıştır. Bu yüksek düzeydeki vankomisin direncinin *E.faecalis* 'den transpozonlar aracılığı ile nakledildiği düşünülmektedir (8, 28). Ülkemizde ilk olarak 1998 yılında VRE bildiriminden sonra değişik bölgelerden VRE infeksiyonları ile ilgili yayınlar artmaya başlamıştır (12-17). Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde 1999 yılında bildirdiğimiz ilk VRE infeksiyonundan sonra üç farklı hastada daha VRE infeksiyonu gelişmesi, kolonize kişilerin olması, hastane ortamında çevresel örneklerde VRE tespit edilmesi, bu taşınabilir direncin yıllar içinde daha yaygın bir şekilde karşımıza çıkacağının göstergesidir. Ayrıca ülkemizde, stafilokoklarda metisiline direnç oranlarının yüksek olması vankomisin kullanımını artırmaktadır. Birçok yayında vankomisin kullanımının infeksiyon ve kolonizasyon için bir risk faktörü olduğu bildirilmekte, *S.aureus* ve *S.epidermidis*'de vankomisin direnci riskini artırdığı vurgulanmaktadır (27, 28, 30-32). Bu nedenle bugün için tehlikeli boyutlarda görülmeyen bu vankomisin direnci zamanla hem enterokoklarda artarak, hem de henüz ülkemizde bildirilmemiş olmasına rağmen *S.aureus*'da vankomisin direnci ortaya çıkacaktır. Bu tehlikelerin önlenmesi için antibiyotiklerin kontrollü bir şekilde kullanılması, hem enterokoklarda hem de stafilokoklarda vankomisin direncinin sürekli olarak izlenmesi gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Montecalvo MA, Horowitz H, Gedris C, Carbonaro C, Tenover FC, Issah A, Cook P, Wormser GP: Outbreak of vancomycin, ampicillin, and aminoglycoside-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in an adult oncology unit. *Antimicrob Agents Chemother* 38:1363 (1994).
2. Tornieporth NG, Roberts RB, John J, Hafner A, Riley LW: Risk factors associated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* infection or colonization in 145 matched case patients and control patients. *Clin Infect Dis* 23: 767 (1996).
3. Ziglam HM, Finch RG: Limitations of presently available glycopeptides in the treatment of Gram-positive infection. *Clin Microbiol Infect* 7 (Suppl 4):53 (2001).
4. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC: Vancomycin resistant *Enterococcus*. *Lancet* 1:57 (1988).
5. Leclercq R, Derlot E, Weber M, Duval J, Courvalin P: Transferable vancomycin and teicoplanin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 10 (1989).
6. CDC. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin in United States, 1989-1993. *MMWR*. 42:597 (1993).
7. Reduced susceptibility of *Staphylococcus aureus* to vancomycin-Japan. 1996 *MMWR* 46:624 (1997).
8. Noble WC, Virani Z, Cree RG: Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 72: 195 (1992).
9. Çetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG: Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev* 13: 686 (2000).
10. Pootoolal J, Neu J, Wright GD: Glycopeptide antibiotic resistance. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 42:381 (2002).
11. Witte W: Antibiotic resistance in Gram-positive bacteria: Epidemiological aspects, *J Antimicrob Chemother* 44 (suppl 1):1 (1999).
12. Vural T, Şekerciöğlu AO, Ögünç D: Vankomisin dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *ANKEM Derg* 13: 1 (1999).
13. Başoğlu A, Özyurt M, Beyan C, Altun B, Aydoğan H, Haznedaroğlu T, Ünal S, Yalçın A: Kan kültüründen izole edilen glikopeptid dirençli *Enterococcus faecium*. *Flora* 5: 142 (2000).
14. Öngen B, Gürler N, Esen F, Karayay S, Töreci K: Glikopeptidlere ve denendiği bütün antibiyotiklere dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *ANKEM Derg* 13: 501 (1999).
15. Mamal Torun M, Bahar H, Altınkum S, Yüksel P: Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozid ve vankomisin direncinin araştırılması. *ANKEM Derg* 13: 105 (1999).

- 16. Akıncı E, Kılıç H, Karabiber M, Kocagöz S, Altun B, Ünal S, Gürbüz A:** İki hastanın kan kültüründen izole edilen Vankomisin dirençli *Enterococcus faecium* suşları. *Flora* 7: 126 (2002).
- 17. Aydoğan H, Beşirbellioğlu B, Alaca R, Başustaoglu A, Dizer U, Özyurt M:** GATA'da izole edilen ikinci glikopeptid dirençli *Enterococcus faecium*. *Gülhane Tıp Dergisi* 44: 82 (2002).
- 18. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC:** *Diagnostic Microbiology* p 597, 5th ed. Philadelphia (1997)
- 19. Teixeira LM, Facklam PR:** *Enterococcus*, "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds): *Manual of Clinical Microbiology*" 8th ed, p:422 ASM Press, Washington (2003.).
- 20. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twelfth Informational Supplement. NCCLS document M100-512.22:1 Pennsylvania, USA, 2002
- 21. Hindler J:** Beta-lactamase tests: Eds: "Isenberg HD (ed): *Essential Procedures for Clinical Microbiology*". Washington DC, ASM Press, p:224 (1998)
- 22. Chenoweth CE, Schaberg DR:** "Enterococcus species (ed): *Hospital Epidemiology and Infection Control*" C. Glen Mayhall. Lippincott Williams and Wilkins p:395, Philadelphia (1999).
- 23. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B:** Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol.* 33: 2233 (1995).
- 24. McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC:** Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: establishing a national database. *J Clin Microbiol* 41: 5113 (2003).
- 25. Henning K, Brown AE:** Vancomycin-resistant enterococci. *Infect Med* 12: 17 (1997).
- 26. Arthur M, Courvalin P:** Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 1563 (1993).
- 27. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance Recommendations of the hospital Infection Control Practice Advisory Committee:** *MMWR* 44:1 (1995).
- 28. Climo MW, Archer GL, Monroe S:** Vancomycin-resistant Gram positive pathogens: Potential approaches for prevention and control. "Wenzel RP (ed): *Prevention and Control of Nosocomial Infections*" 4th ed, p:169, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2003).
- 29. Stosor V, Noskin GA, Peterson LR:** The management and prevention of vancomycin resistant enterococci. *Infect Med* 13: 24 (1998).
- 30. Yıldız Seyrek F, Özbilge H, Uzala Mızraklı A:** *Stafilokok* suşlarında çeşitli antibiyotiklere direnç. *ANKEM Derg* 17: 10 (2003).
- 31. Mamal Torun M, Bahar H, Özcan N Yüksel P:** Deri ve yumuşak doku infeksiyonlarından izole edilen *Staphylococcus aureus* kökenlerinin çeşitli antibiyotiklere direnç durumları. *ANKEM Derg* 12:103 (1998).
- 32. Derbentli Ş:** Cerrahi infeksiyonlarda dirençli Gram pozitif bakteri sorunu. *ANKEM Derg* 18 (Ek 2): 215 (2004).