

# Vankomisine Dirençli Enterokok Taramasında Kültür Sonuçlarının BD GeneOhm VanR Test Sonuçları ile Karşılaştırılması

Reyhan YİŞ

Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İzmir

## ÖZ

**Amaç:** Kültür bazlı vankomisin dirençli enterokok (VRE) identifikasyon yöntemleri genellikle 24-72 saat gerektirmektedir. VRE kolonizasyonu saptanan hastaların hızla izole edilmesi, diğer hastaların kolonize olmalarını engellemek ve olası enfeksiyonların oluşumunu önlemesi açısından önemlidir. Bu çalışmanın amacı, VRE'yi daha kısa sürede saptayan BD GeneOhm VanR testinin sonuçlarının altın standart yöntem olan VRE kültürü ile karşılaştırılmasıdır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamızda yer alan toplam 704 perirektal sürüntü örneğinin VRE agara ekimi yapılmıştır. Eşzamanlı olarak tüm perirektal sürüntü örnekleri Real-time PCR yöntemi ile çalışılmıştır.

**Bulgular:** Değerlendirilen örneklerden 121'i (%17.2) VRE agar ile 162'si (%23.0) Real-time PCR yöntemi ile pozitif bulunmuştur. Yöntemlerinin her ikisi ile pozitif çıkan örnek sayısı 118'dir. Kırk dört örnek yalnızca Real-time PCR ile 3 örnek ise yalnızca kültür yöntemiyle pozitif bulunmuştur. Her iki yöntemle negatif bulunan örnek sayısı 539 (%76.6)'dur. VRE pozitif saptanan örneklerden 3 tanesi haricinde tümü, VanA fenotipi taşıyan *Enterococcus faecium* olarak, sözü edilen 3 örnek, hem kültür hem de Real-Time PCR yöntemi ile VanB fenotipi taşıyan *Enterococcus faecalis* olarak tanımlanmıştır. Bu sonuçlara göre, BD GeneOhm VanR testinin VRE kültürü ile karşılaştırılarak belirlenen duyarlılık, özgüllük, pozitif (PPD) ve negatif prediktif değerleri (NPD) sırasıyla %98, %92, %73 ve %99 olarak saptanmıştır.

**Sonuç:** VRE belirlenmesi için kullanılan kültür bazlı yöntemler ve nükleik asit amplifikasyon testleri genellikle 24-72 saat gerektirmektedir. BD GeneOhm VanR testi doğrudan örnekten çalışılan basit bir yöntem olup, sonuç alma aşamasına kadar geçen toplam süre 3.5 saatten daha kısadır. Bunun yanında farklı laboratuvarlarda ve hasta popülasyonlarında yinelenebilir sonuçlar veren, yüksek PPD ve NPD olan bir testtir. VRE direnç genini de belirliyor olması da diğer bir avantajdır.

**Anahtar kelimeler:** Vankomisine dirençli enterokok, kolonizasyon, Real-Time PCR, sürveyans

## ABSTRACT

**Comparison of the Results of BD GeneOhm VanR Assay with Those of the Culture for Screening of Vancomycin-Resistant Enterococci**

**Objective:** Culture-based vancomycin resistant enterococci (VRE) identification methods generally require 24-72 hours. Rapid isolation of VRE colonised patients is crucial to prevent colonisation of other patients and propable infections. The aim of this study is to compare the results of BD GeneOhm VanR test which identifies VRE in a short time with the gold standard which is VRE culture.

**Material and Methods:** A total of 704 samples in the study were cultivated on VRE agar. At the same time, all perirectal swab samples were evaluated with real-time PCR.

**Results:** Among the evaluated samples, 121 (17.2%) were positive with VRE agar and 162 (23.0%) were positive with real-time PCR. The number of samples which were positive with both diagnostic methods were 118. Of the samples, 44 were found to be positive only with real-time PCR and 3 with culture methods. The number of samples negative with both methods were 539 (76.6%). All VRE positive samples except 3 were *Enterococcus faecium* carrying VanA phenotype, and the 3 samples mentioned were identified as *E. faecalis* carrying VanB phenotype with both culture and real-time PCR. According to these results; sensitivity, specificity, positive predictive (PPV) and negative predictive values (NPV) of BD GeneOhm VanR test compared to VRE culture were 98, 92, 73, and 99%, respectively.

**Conclusion:** Culture-based methods and nucleic acid amplification tests require 24-72 hours for VRE identification. BD GeneOhm VanR test is a simple diagnostic method that is directly carried out on the sample and takes less than 3.5 hours to obtain results. On the other hand, it gives repeatable results in patient samples and in different laboratories, and it has high PPV and NPV. Its other advantage is the identification of the VRE-resistance gene.

**Keywords:** Vancomycin-resistant enterococcus, colonization, Real-Time PCR, surveillance

Alındığı tarih: 12.06.2017

Kabul tarihi: 12.09.2017

Yazışma adresi: Reyhan Yiş, Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Karabağlar / İzmir

Tel: (0232) 250 50 50 / 6133

e-posta: reyhanyis@yahoo.com

## GİRİŞ

Enterokok türleri, son zamanlarda yüksek ölüm oranına sahip olan ve en sık saptanan nozokomiyal patojenlerden biri hâline gelmiştir. İnsanlarda gastrointestinal sistem flora elemanı olan enterokoklar, üçüncü kuşak sefalosporinlerin kullanımının artışına paralel bir şekilde hastane enfeksiyonu etkeni olarak sıklıkla saptanmaya başlanmıştır. Enterokoklar genellikle hastane ortamında immun sistemi zayıflamış kişilerin endojen florasından kaynaklanan bakteriyemi, endokardit, peritonit, menenjit, neonatal sepsis, üriner sistem enfeksiyonları, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, intraabdominal veya pelvik enfeksiyonlar gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir<sup>(1-3)</sup>. İntrensek dirençli olmaları nedeniyle, 1970'li yılların ortalarından itibaren üçüncü kuşak sefalosporinlerin kullanımında artışa paralel olarak, enfeksiyon etkeni olarak daha sık saptanmaya başlamışlardır<sup>(4)</sup>.

Enterokokların, Gram pozitif etkinliği olan birçok antimikrobiyal ajana karşı kısmi veya tam direnç gösterdiği, birçok antibiyotiğe intrinsek dirençli olduğu, yeni mekanizmalarla antibiyotik direnci oluşturduğu ve bu direnci aktarabildiği de bilinmektedir<sup>(5,6)</sup>. Vankomisine dirençli enterokok enfeksiyonu ilk olarak 1988 yılında Uttley ve ark. tarafından İngiltere'den bildirilmiştir. Hemen ardından Fransa, Belçika, Almanya gibi diğer Avrupa ülkelerinden bildirilmiş, daha sonra Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde saptanmış ve çok hızlı bir yayılım göstermiştir<sup>(7-10)</sup>. Ülkemizde ilk dirençli suş Akdeniz Üniversitesi'nde izole edilmiş ve yıllar içinde bunu diğer olgular izlemiştir<sup>(11)</sup>. Nozokomiyal enfeksiyonlarda en önemli vankomisin dirençli enterokok (VRE) kaynağı hastanede yatan hastalardaki GİS kolonizasyonudur<sup>(12,13)</sup>. Hastanede yatış süresinin uzaması, antibiyotik kullanım öyküsü ve altta yatan ciddi hastalıklar kolonizasyon riskini artırmaktadır<sup>(14)</sup>. Özellikle dirençli enterokokların etken olduğu enfeksi-

yonlar hastane içinde hastadan hastaya kolaylıkla yayılım gösterebilmektedir<sup>(4,15)</sup>.

Başarılı bir VRE kontrol programının en önemli bileşenlerinden biri gastrointestinal kolonizasyonun hızlı ve doğru belirlenmesidir. Bu nedenle, VRE taşıyan hastaların VRE rezervuarları kendi gastrointestinal sistemleri olduğu için düzenli aralıklarla perirektal sürüntü örnekleri almak, VRE belirlenmesinde altın standarttır. VRE ile kolonize hastalar genellikle asemptomatik olduğu için yüksek risk grubuna giren hastalardan alınan sürveyans kültürlerinin mikrobiyoloji laboratuvarı tarafından en doğru ve en kısa zamanda sonuçlandırılması büyük önem taşımaktadır.

VRE belirlenmesi için kullanılan kültür bazlı yöntemler genellikle izolasyon, tanımlama ve duyarlılık testi için 24-72 saat gerektirmektedir<sup>(16)</sup>. Ancak, VRE kolonizasyonunu 24 saatten daha kısa sürede belirleyerek, VRE yayılmasını önleyecek olan bariyer önlemlerinin uygulanmasına olanak sağlayacak uygun bir tarama testinin kullanılması gerekmektedir. VRE belirlenmesi için çeşitli nükleik asit amplifikasyon testleri geliştirilmesine rağmen, bunlar komplike ekstraksiyon ve saptama rejimleri içerdikleri için veya kültür basamağına gereksinim duydukları için zaman kaybına neden olmaktadır<sup>(17-19)</sup>.

BD GeneOhm VanR testi doğrudan perianal veya rektal sürüntü örneklerinden VRE taraması için kullanılan basit bir yöntem olup, test Cepheid SmartCycler® üzerinde gerçekleştirilir. Ekstraksiyon aşamasından değerlendirme aşamasına kadar geçen toplam süre 3.5 saatten daha kısadır. Bu çalışmada, Gaziantep Çocuk Hastanesi'nde yoğun antibiyotik kullanımının olduğu servislerde yatan hastaların VRE taraması amacıyla alınan perirektal sürüntü örneklerinden VRE saptanması için kullanılan selektif besiyeri saptama sonuçları Real-Time PCR (BD GeneOhm VanR) test performansı ile karşılaştırıldı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya Gaziantep Çocuk Hastanesi'nde yoğun antibiyotik kullanımının olduğu servislerde yatan toplam 704 hastadan mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiş olan perirektal sürüntü örnekleri alınmıştır. Örneklerin gönderilen servislere göre dağılımı Tablo 1'de yer almaktadır.

**Tablo 1. Örneklerin gönderilen servislere göre dağılımı.**

	Hasta sayısı
Çocuk Cerrahi Servisi	87
Çocuk Cerrahi Yoğun Bakım	32
Yan Dallar Servisi	49
Yan Dallar Yoğun Bakım	98
Yeni Doğan Yoğun Bakım	178
Yoğun Bakım	242
Süt Çocuğu Servisi	18
TOPLAM	704

Çalışmamızda yer alan toplam 704 perirektal sürüntü örneğinin 6 µg/ml vankomisin içeren suplementli VRE Agar Base (Oxoid) ekimi yapılmış ve 35°C'de 24-48 saat inkübasyon sonrası değerlendirmeye alınmıştır. İdentifikasyonda konvansiyonel yöntemlerin yanında, API 20 Strep (BioMérieux, Fransa) bakteri identifikasyon kiti ve VITEK2 (BioMérieux, Fransa) tam otomatize identifikasyon sistemi kullanılmıştır. İzolatların vankomisin (30 µg) ve teikoplanin (30 µg) duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle CLSI kriterlerine uygun olarak araştırılmıştır. Bunun yanında, VITEK2 antibiyogram kartı AST-592 kullanılarak vankomisin ve teikoplanin duyarlılıkları belirlenmiştir.

**BD GeneOhm VanR:** Eşzamanlı olarak tüm perirektal sürüntü örnekleri BD GeneOhm VanR kiti (BD Diagnostics) kullanılarak Real-Time PCR cihazı SmartCycler® (Cepheid, ABD) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır.

**İstatistiksel analiz:** İstatistiksel analiz için tanımlayıcı-deskriptif istatistik yöntemi kullanılmıştır.

Kategorik değişkenler yüzde (%) değerlerle belirtilmiştir. BD GeneOhm VanR testinin özgüllük, duyarlılık, pozitif ve negatif prediktif değerleri (PPV ve NPV) perianal sürüntü örnekleri ile yapılan VRE kültürü ile karşılaştırılarak belirlenmiştir.

## BULGULAR

Değerlendirilen örneklerden 121'i (%17.2) VRE Agar ile, 162'si (%23.0) Real-Time PCR yöntemi ile pozitif bulunmuştur. Yöntemlerin her ikisi ile pozitif çıkan örnek sayısı 118 iken, 44 örnek yalnızca Real time PCR ile, 3 örnek ise yalnızca kültür yöntemiyle pozitif bulunmuştur. Her iki yöntemle negatif bulunan örnek sayısı 539 (%76.6)'dur. Yöntemler arası toplam uyum %93 (657/704) olarak belirlenmiştir. Pozitif saptanan örneklerden 3 tanesi haricinde tümü, VanA fenotipi taşıyan *E. faecium* olarak saptanmış, sözü edilen 3 örnek, hem kültür hem de Real-Time PCR yöntemi ile VanB fenotipi taşıyan *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır. Bu sonuçlara göre, BD GeneOhm VanR testinin perianal sürüntü örnekleri ile yapılan VRE kültürü ile karşılaştırılarak belirlenen duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri (PPV ve NPV) sırasıyla %98, %92, %73 ve %99 olarak saptanmıştır. Çalışmadaki kültür ve Real-Time PCR sonuçları Tablo 2'de yer almaktadır.

**Tablo 2. Kültür ve Real-Time PCR sonuçları.**

		Kültür		Toplam
		+	-	
Real-Time PCR	+	118	44	162
	-	3	539	542
Toplam		121	583	704

## TARTIŞMA

Özellikle son yıllarda hastane ortamındaki VRE kolonizasyonu ve enfeksiyonu, hastadan hastaya bulaş riski ve özellikle zor tedavi edilebilir

nozokomiyal enfeksiyonlar açısından önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalar arası geçişi engelleyecek olan tüm izolasyon çalışmaları laboratuvar sonuçlarına göre planlanacağı için, mikrobiyoloji laboratuvarı tarafından VRE tanımlamasının doğru ve hızlı bir şekilde yapılması, vankomisin direncinin saptanması, VRE kolonizasyon ve enfeksiyonunun belirlenmesi ve yayılmasının önlenmesi için önemlidir. Daha önce aynı çocuk hastanesinde yapılan bir başka çalışmada, nokta prevalans yöntemi ile yapılan VRE taramasında 6 µg/ml vankomisin içeren VRE Agara ekilmiş perirektal sürüntü örneklerinin VITEK2 (bioMérieux, Fransa) tam otomatize sistemiyle identifikasyonu sonucunda elde edilen %14.6'lık kolonizasyon oranının sıkı temas izolasyonu, hastane personelinin eğitimi ve kısıtlı antibiyotik kullanım politikaları sonucunda %3.3'e gerilemiş olduğu bildirilmiştir<sup>(4)</sup>. Bu açıdan nozokomiyal VRE kolonizasyonunun ve enfeksiyonlarının hızlı ve doğru olarak belirlenmesi, etkenlerin doğru tanımlanması, antibiyotik direnç profilinin belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması açısından önem taşımaktadır.

VRE'lerin izolasyonu için laboratuvarlar kendi koşullarına göre tarama metodları kullanmaktadırlar. Günümüzde ticari olarak mevcut olan veya in-house olarak hazırlanan sıvı veya katı birçok besiyeri kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalarda bu tarama metodlarının duyarlılık ve özgüllükleri birbiriyle karşılaştırılmaktadır<sup>(20)</sup>. Hazırlanan seçici besiyerlerinde düşük düzeyde glikopeptid direncinin saptanabilmesi için 6 µg/ml vankomisin konsantrasyonunun uygun olduğu belirlenmiştir<sup>(16,20-22)</sup>. Çalışmamızda da, 6 µg/ml vankomisin içeren suplementli VRE Agar kullanılmıştır. Enterokoklar, laboratuvarlarda genel amaçlı besiyerlerinde kolayca üretilseler de, özellikle VRE suşlarının, dışkı gibi normal flora üyesi olarak çok sayıda ve çeşitte bakterinin bulunduğu örneklerden izolasyonu sorun yaratabilmektedir<sup>(16,20,21)</sup>. Nükleik asit amplifi-

kasyon teknikleri, dışkı örneklerinde VRE suşlarının saptanması için günümüzde önem kazanmış olsa da, bu teknolojiyi kullanma olanağı olmayan klinik mikrobiyoloji laboratuvarları için hâlen güvenilir kültür yöntemlerine gereksinim vardır<sup>(16,20)</sup>. Ancak özellikle son yıllarda hızlı tanıda yaygın olarak kullanılan moleküler yöntemler, tanımlama süresini kısaltarak, önlemlerin daha erken dönemde alınmasında avantaj sağlamaktadır<sup>(23)</sup>.

VRE'nin saptanması için moleküler yöntemlerle klasik yöntemleri karşılaştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Marner ve ark.<sup>(24)</sup> tarafından, perianal sürüntü örneklerinin GeneXpert *VanA/VanB* PCR yöntemiyle incelenmesinin hızlı ve güvenilir bir yöntem olduğu bildirilmiştir. Diğer bir çalışmada, nozokomiyal sürveyans örneklerinin PCR ve konvansiyonel kültür sonuçları karşılaştırılmış, PCR yönteminin özgüllük, duyarlılık, PPD ve NPD sırasıyla %99.8, %95.4, %98.8 ve %99.3 olarak bulunmuştur. VRE'yi saptamak için gerekli zaman PCR ile 48 saat, konvansiyonel yöntem ile 96 saat olarak belirlenmiştir<sup>(25)</sup>. PCR'nin yoğun rutin iş yükü olan laboratuvarlarda VRE sürveyansı için kültüre bir alternatif olabileceği ve özellikle VRE prevalansının düşük olduğu hastanelerde maliyet-etkin olduğunu araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır<sup>(25,26)</sup>.

VRE taraması için hızlı moleküler tanı yöntemlerinden olan BD GeneOhm *VanR* testi (BD GeneOhm, San Diego, ABD) ABD Gıda ve İlaç Kurumu tarafından direkt perianal sürüntüden VRE taraması için kullanılabilir in vitro test olarak onaylanmıştır. Bu hızlı moleküler yöntem, sonuçlanması günlerce sürebilecek kültür temelli yöntemlerle karşılaştırıldığında VRE taşıyıcılarının kısa sürede saptanmasına yardımcı olmakta, bu şekilde bir hastadan diğerine yayılımı önlenmektedir.

BD GeneOhm *VanR* testi direkt olarak rektal

sürüntü ve gayta örneklerinden çalışılabilinen bir yöntemdir. Test standart VRE kültür teknikleri ile karşılaştırıldığında % 95 duyarlılık göstermektedir<sup>(27)</sup>. Üretici firmaya göre, *VanR* testinin saptama limiti hem *VanA* hem de *VanB* VRE için, yaklaşık olarak 2 CFU/reaksiyona denk gelen, reaksiyon başına 10 genom kopyadır. Bu saptama limiti testte yalancı negatifliklere yol açan faktörlerden biridir.

Werner ve ark.<sup>(28)</sup> selektif katı besiyerinde direkt kültür ile zenginleştirme sonrası PCR ve tarama örneklerinden direkt VRE tanımlanması için BD GeneOhm™ *VanR* testini karşılaştırmışlardır. Toplam 1786 örnek çalışılmış, genel duyarlılık % 93.1, özgüllük yalancı pozitif *VanB* sonuçlarına bağlı olarak %87.0 olarak saptanmıştır<sup>(28)</sup>.

Usacheva ve ark.<sup>(29)</sup> çok merkezli olarak perianal ve rektal örneklerden VRE türlerinin doğrudan, hızlı belirlenmesinde BD GeneOhm *VanR* testinin performansını değerlendirmişlerdir. ABD'nin farklı üç coğrafi bölgesinden 1027 perianal ve rektal sürüntü örnekleri BD GeneOhm *VanR* testi ile çalışılmış ve sonuçlar doğrudan kültür yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Testin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD değerleri %93, %82, %54 ve %98 olarak saptanmıştır. Yazarlara göre *VanB* yalancı pozitiflikleri nedeniyle testin özgüllüğü düşük olarak bulunmuştur. Testin, *VanA* genotip baskın olan çeşitli popülasyonların VRE taranması için basit, hızlı ve kabul edilebilir bir yöntem olduğu, yalancı pozitifliklerin belirgin yüksek saptanması nedeniyle *VanB* genotip pozitif saptanan sonuçların kültür ile doğrulanması gerektiği sonucu vurgulanmıştır<sup>(29)</sup>. Çalışmamızda BD GeneOhm *VanR* yönteminin performansı selektif besiyerinin sonuçları ile karşılaştırıldığında, duyarlılık %98, özgüllük %92 olarak saptanmıştır. PPD %73 ve NPD %99 olarak bulunmuştur. Hastanemizde *VanA* fenotip baskın olduğu için *VanB* fenotip pozitifliklerine bağlı yalancı pozitiflik nadirdir. Bu nedenle özgüllük diğer çalışmalara göre, çalış-

mamızda daha yüksek olarak bulunmuştur. Kullandığımız selektif besiyeri ile BD GeneOhm *VanR* kiti kullanımı ile elde edilen sonuçlar arası toplam uyum %93 (657/704) olarak belirlenmiş ve uyumun değerlendirilmesinde Cohen kappa değeri 0.68 (iyi düzeyde uyumlu) olarak saptanmıştır.

BD GeneOhm *VanR* testinin *VanB* genotipi ile ilgili yanlış pozitiflik oranlarının yüksekliği, son zamanlarda *Clostridium* spp, *Eggerthella lenta*, *Streptococcus* spp ve *Ruminococcus* spp gibi nonenterokokal anaerobik mikroorganizmaların *VanB* genetik elemanı taşıdığına kanıtlanmış olmasıyla açıklanabilir. Yanlış pozitiflik oranlarının büyük kısmından *VanB* sorumlu olsa da, ender olarak *VanA* yanlış pozitifliklerinin cansız VRE izolatları veya *Bacillus circulans*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Oerskovia turbata* ve *Staphylococcus aureus* gibi kazanılmış *VanA* sekansı bulunduran bakterilerden kaynaklandığı düşünülmektedir<sup>(17,30,31)</sup>.

Çalışmamızda, toplam olarak 704 izolatin 3 tanesinde (%0.43) her iki yöntem ile *VanB* genotipi taşıyan *E. fecalis* saptanmış olup, *VanA* genotipinin VRE'ler içinde baskın popülasyon olduğu söylenebilir. Ülkemizdeki durum değerlendirildiğinde çalışmalarda, *VanA* fenotip baskın olduğu görüleceği için testin ülkemizde kullanımının uygun olabileceği açıktır<sup>(4,32,33)</sup>.

Sonuç olarak, BD GeneOhm *VanR* Testi farklı laboratuvarlarda ve hasta popülasyonlarında yinelenebilir sonuçlar veren, özellikle *VanA* saptanması için yüksek NPD ve PPD olan bir testtir. Bununla birlikte, *VanB* pozitif sonuç, VRE varlığını doğrulamak için kültür ile doğrulanmalıdır. Ancak hasta izolasyonu için zamanla yarışılan kolonizasyon taramalarında, kar zarar hesabı iyi yapılarak karar verilmesi gerektiği için moleküler yöntemlerle çok kısa sürede saptanan pozitifliklerin bildirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Tüm hastaneler VRE ile kolonize olan has-

talari erken dönemde saptayarak gerekli izolasyon önlemlerini almak, hastane içi yayılımı ve klinik enfeksiyonların ortaya çıkışını önlemek amacıyla uygun izolasyon ve identifikasyon yöntemini belirlemeli, gerekli durumlarda moleküler yöntemlerden yararlanılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Arias AC, Murray BE. *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* group, and *Leuconostoc* species, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia, ABD: Churchill Livingstone; 2010: 2643-53.
2. Başustaoğlu A. Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu, In: Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (ed), Önemli ve Sorunlu Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2004; 141-58.
3. Berktaş, M, Çıkman, A, Parlak, M, et al. Kan kültürlerinden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik direnci. Sakaryamj. 2013;3(2):76-9.
4. Yiş R, Aslan S, Çıtak Ç, Değirmenci S. Gaziantep Çocuk Hastanesi'nde vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonunun değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2011;45(4):646-54.
5. Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A. Enterococcal infections and antimicrobial resistance. Indian J Med Res. 2008;128(2):111-21.
6. Werner G, Coque TM, Hammerum AM, et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. Euro Surveill. 2008;13(47):pii19046.
7. DeLisle S, Perl TM. Vancomycin-resistant enterococci: a road map on how to prevent the emergence and transmission of antimicrobial resistance. Chest. 2003;123(Suppl 5):S504-18. [https://doi.org/10.1378/chest.123.5\\_suppl.504S](https://doi.org/10.1378/chest.123.5_suppl.504S)
8. Friden TR, Munsiff SS, Low DE, et al. Emergence of vancomycin-resistant enterococci in New York City. Lancet. 1993;342(8863):76-9. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)91285-T](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)91285-T)
9. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. N Engl J Med. 1988;319(3):157-61. <https://doi.org/10.1056/NEJM198807213190307>
10. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. Lancet. 1988;1(8575-6):57-8.
11. Vural T, Şekercioğlu AO, Ögünç D, ve ark. Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu. ANKEM Derg. 1999;13(1):1-4.
12. Taşbakan MI. Vankomisine dirençli enterokok olguları. ANKEM Derg. 2010;24(Ek2):E82-4.
13. Kutlu M, Kutlu SS, Şardan YÇ, et al. Nozokomiyal vankomisin dirençli enterokok kolonizasyonunun araştırılması. Hastane Infeksiyon Derg. 2006;10(3):173-7.
14. Bowler IC, Storr JA, Davies GJ, Crook DW. Guidelines for the management of patients colonized or infected with vancomycin-resistant enterococci. J Hosp Infect. 1998;39(1):75-7. [https://doi.org/10.1016/S0195-6701\(98\)90247-X](https://doi.org/10.1016/S0195-6701(98)90247-X)
15. Edmond MB, Ober JF, Wienbaum DL, et al. Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia: risk factors for infection. Clin Infect Dis. 1995;20(5):1126-33. <https://doi.org/10.1093/clinids/20.5.1126>
16. Novicki TJ, Schapiro JM, Ulness BK, et al. Convenient selective differential broth for isolation of vancomycin resistant *Enterococcus* from fecal material. J Clin Microbiol. 2004;42(4):1637-40. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.4.1637-1640.2004>
17. Domingo MC, Huletsky A, Giroux R, et al. High prevalence of glycopeptide resistance genes vanB, vanD, and vanG not associated with enterococci in human fecal flora. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(11):4784-6. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.11.4784-4786.2005>
18. Palladino S, Kay ID, Flexman JP, et al. Rapid detection of vanA and vanB genes directly from clinical specimens and enrichment broths by Real-time multiplex PCR assay. J Clin Microbiol. 2003;41(6):2483-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.6.2483-2486.2003>
19. Paule SM, Trick WE, Tenover FC, et al. Comparison of PCR assay to culture for surveillance detection of vancomycin-resistant enterococci. J Clin Microbiol. 2003;41(10):4805-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.10.4805-4807.2003>
20. Gümüş D, Şelale DS, Nakipoğlu Y, Küçükler MA. Vankomisine dirençli enterokokların izolasyonunda değişik besiyerlerinin araştırılması. Turk Mikrobiyol Cem Derg. 2011;41(4):162-7.
21. Ieven M, Vercauteren E, Descheemaeker P, van Laer F, Goossens H. Comparison of direct plating and broth enrichment culture for the detection of intestinal colonization by glycopeptide-resistant enterococci among hospitalized patients. J Clin Microbiol. 1999;37(5):1436-40.
22. Brown DF, Walpole E. Evaluation of selective and enrichment media for isolation of glycopeptide resistant enterococci from faecal specimens. J Antimicrob Chemother. 2003;51(2):289-96. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg076>
23. Josko D. Molecular bacteriology in the clinical laboratory. Clin Lab Sci. 2010;23(4):237-41.
24. Marner ES, Wolk DM, Carr J, et al. Diagnostic accuracy of the Cepheid GeneXpert vanA/vanB assay ver. 1.0 to detect the vanA and vanB vancomycin resistance genes in *Enterococcus* from perianal specimens. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011;69(4):382-9. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.11.005>
25. Jayaratne P, Rutherford C. Detection of clinically relevant genotypes of vancomycin-resistant enterococci in nosocomial surveillance specimens by PCR. J Clin Microbiol. 1999;37(6):2090-2.
26. Atalay S, Ece G, Şamlıoğlu P, et al. İzmir'de üçüncü basamak bir hastanede görülen vankomisine dirençli enterokok olgularının değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2012;46(4):553-9.
27. Stamper PD, Cai M, Lema C, Eskey K, Carroll KC. Comparison of the BD GeneOhm VanR assay to culture for identification of vancomycin-resistant

- enterococci in rectal and stool specimens. J Clin Microbiol. 2007;45(10):3360-5.  
<https://doi.org/10.1128/JCM.01458-07>
28. Werner G, Serr A, Schütt S, et al. Comparison of direct cultivation on a selective solid medium, polymerase chain reaction from an enrichment broth, and the BD GeneOhm™ VanR Assay for identification of vancomycin-resistant enterococci in screening specimens. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011;70(4):512-21.  
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.04.004>
29. Usacheva EA, Ginocchio CC, Morgan M, et al. Prospective, multicenter evaluation of the BD GeneOhm VanR assay for direct, rapid detection of vancomycin-resistant *Enterococcus* species in perianal and rectal specimens. Am J Clin Pathol. 2010;134(2):219-26.  
<https://doi.org/10.1309/AJCPR1K0QFLBJSNH>
30. Mehta MS, Paule SM, Hacek DM, Thomson RB, Kaul KL, Peterson LR. Optimization of a laboratory-developed test utilizing Roche analyte-specific reagents for detection of *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus*, and vancomycin-resistant *Enterococcus species*. J Clin Microbiol. 2008;46(7):2377-80.  
<https://doi.org/10.1128/JCM.00230-08>
31. Dahl KH, Sundsfjord A. Transferable VanB2 Tn5382-containing elements in fecal streptococcal strains from veal calves. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(8):2579-83.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.47.8.2579-2583.2003>
32. 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;61(5):1033-9.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkn066>
33. Güdücüoğlu H, Aktaş E, Cömert FB, et al. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Pediatri Servisinde vankomisine dirençli enterokokların ilk izolasyonu ve çoğul klonların tespiti. Mikrobiyol Bul. 2009;43(5):535-43.