

# VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ PEDIATRİ SERVİSİNDE VANKOMİSİNE DİRENÇLİ ENTEROKOKLARIN İLK İZOLASYONU VE ÇOĞUL KLONLARIN TESPİTİ

## FIRST ISOLATION AND DETECTION OF MULTIPLE CLONES OF VANCOMYCIN-RESİSTANT ENTEROCOCCI IN THE PEDIATRIC UNIT OF VAN YUZUNCU YIL UNIVERSITY, TURKEY

Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU<sup>1</sup>, Elif AKTAŞ<sup>2</sup>, Füsun BEĞENDİK CÖMERT<sup>2</sup>, Kumru AYGÜL<sup>1</sup>,  
Nagihan ÖZLÜ<sup>2</sup>, Sanem BAYKAL<sup>1</sup>, Mustafa BERKTAŞ<sup>1</sup>, Abdullah CEYLAN<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van.

<sup>2</sup> Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak.  
(drelifaktas@yahoo.com)

<sup>3</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Van.

### ÖZET

Bu çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi pediatri servisinde dokuz aylık bir hastanın idrarından, bu hastane ve bölgedeki ilk vankomisine dirençli enterokok (VRE) suşunun izole edilmesi üzerine, bu serviste başka VRE izolatlarının varlığının araştırılması, direnç genotiplerinin tespiti ve izolatlar arasındaki klonal ilişkinin değerlendirilmesi planlanmıştır. Bu amaçla hastalardan 28 rektal sürüntü, 28 cilt sürüntüsü, hastaların bakımından sorumlu personelden 12 cilt sürüntüsü, hastaların annelerinden 15 cilt sürüntüsü ve servisten 96 çevre örneği alınmıştır. İzole edilen suşların antibiyotik duyarlılıkları ve direnç genotipleri tespit edilmiş; izolatların moleküler tiplendirmesi "pulsed-field" jel elektroforezi (PFGE) ile yapılmıştır. Birinci olgu dışında; biri başka bir hastanın idrarından, 12'si tarama örneklerinden (8 olgunun rektal sürüntü, bir olgunun cilt örneği ve üç hasta yatağı örneği) olmak üzere 13 izolat daha elde edilmiştir. Bütün izolatlar *Enterococcus faecium* olarak tanımlanmış ve benzer antibiyotik duyarlılık profillerine sahip oldukları gözlenmiştir. İzolatların hepsinde *vanA* geni tespit edilmiştir. PFGE sonuçları, iki majör klon ve bu klonlarla yakın ilişkili beş klonun varlığını ortaya koymuştur. Sonuç olarak; Van bölgesinden ilk VRE izolasyonunun ve birden fazla klonun yayılımının bildirildiği bu çalışma, ülkemizde çok yaygın gibi görünmese de, giderek artan izolasyon oranları ile VRE'lerin potansiyel önemini vurgulamaktadır.

**Anahtar sözcükler:** Vankomisine dirençli enterokok, nozokomiyal enfeksiyon, klonal ilişki, pulsed-field jel elektroforezi, Türkiye.

## ABSTRACT

Upon isolation of the first vancomycin resistant enterococcus (VRE) from the urine sample of a nine months old patient in pediatric unit of Van Yuzuncu Yil University Hospital (located in eastern part of Turkey), we aimed to search for the presence of VRE isolates in the unit, to determine the resistance genotypes and to evaluate the clonal relationships among isolates. A total of 28 rectal swabs and 28 skin swabs from the patients, 12 skin swabs from the staff giving care to the patients, 15 skin swabs from the mothers of the patients and 96 environmental samples from the pediatric unit were screened. Antibiotic susceptibilities were tested and the resistance genotypes were determined. Molecular typing of the isolates was performed using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Apart from the first case, 13 more VRE isolates, one being a clinical isolate from the urine of a patient and 12 isolates from the screening samples (8 rectal swabs, one skin swab and three swabs from patients' beds) were obtained. All of the isolates were identified as *Enterococcus faecium* with similar antibiotic susceptibility patterns. *VanA* gene was present in all of the isolates. PFGE demonstrated two major clones and five clones closely related with the major ones. This was the first VRE isolation and colonization reported in our region. The isolates belonged to more than one clone. Currently, VRE did not seem to be a significant pathogen in Turkey, however, there may be an underestimation of the problem and continuous surveillance studies should be undertaken in every region.

**Key words:** *Vancomycin resistant enterococcus, nosocomial infection, clonal relation, pulsed-field gel electrophoresis, Turkey.*

## GİRİŞ

Vankomisine dirençli enterokoklar (VRE) son zamanlarda önemli hastane patojenleri haline gelmiştir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde VRE'ye bağlı hastane enfeksiyonlarının oranı yüksek iken, bu oranlar Avrupa ve Türkiye'de henüz düşüktür<sup>1,2</sup>. Ülkemizde, 1998 yılındaki ilk izolasyonundan<sup>3</sup> sonra VRE enfeksiyonu ve kolonizasyonunu bildiren çalışmaların<sup>3-8</sup> yanı sıra, VRE prevalansının düşük olduğunu ya da VRE bulunmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur<sup>9-14</sup>.

VRE'ye bağlı enfeksiyonlar; hızlı yayılma riski, yüksek mortalite oranları, kısıtlı tedavi seçenekleri ve bakterinin vankomisin direncini diğer patojenlere aktarma riski nedeniyle önem taşımaktadır<sup>15,16</sup>. Hasta ve hastane çalışanlarının giysileri, tıbbi aletler ve çevre yüzeyleri VRE'nin tespit edilebildiği bölgelerdendir<sup>17,18</sup>.

Bu çalışmada Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi pediatri servisinde dokuz aylık bir hastanın idrarından, bu hastane ve bölgedeki ilk VRE'nin izole edilmesi üzerine, bu serviste başka VRE izolatlarının varlığının araştırılması, direnç genotiplerinin tespiti ve izolatlar arasındaki klonal ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi 12 yıllık, 600 yataklı bir araştırma ve uygulama hastanesidir. Pediatri servisi, yedisi pediatri yoğun bakıma ait olmak üzere 33 yatak kapasitesine sahiptir. Serviste, yedi hasta odası ve bir yoğun bakım ünitesi bulunmakta ve üç hemşire ve üç hasta bakıcı görev yapmaktadır.

Bu bölgeden ilk VRE izolatı pediatri servisinde yatmakta olan dokuz aylık kız bebeğin idrar kültüründen izole edildi ( $10^5$  CFU/ml, vankomisin ve teikoplanine dirençli *Enterococcus faecium*). Hastanın protein enerji malnütrisyonu, diyaresi, pnömonisi ve şüpheli idrar yolu enfeksiyonu mevcuttu. Hastanın 10 günlük hastanede yatış ve geniş spektrumlu antibiyotik (seftriakson) kullanım öyküsü vardı. Beş gün sonra aynı servisten beş aylık başka bir kız hastanın idrarında yine vankomisin ve teikoplanine dirençli *E.faecium* üremesi üzerine aynı gün pediatri servisinde başka VRE varlığını araştırmak üzere tarama çalışması planlandı. Bu amaçla pediatri servisinde yatan 28 hastanın her birinden; rektum, cilt ve hasta yatağından olmak üzere sürüntü örnekleme yapıldı. On iki personel ve 15 hasta yakınından VRE kolonizasyonunu araştırmak üzere cilt sürüntü örnekleri alındı. Toplam 96 adet çevre (kapılar, yatak ve yatak başındaki sandalyeler, yatak başındaki masalar, odadaki dolapların yüzeyleri) ve alet örnekleme yapıldı. Tarama kültürleri için 4 µg/ml vankomisin içeren safra-eskülin sıvı besiyeri kullanıldı. İzolatlar, safra varlığında üreme, eskülin hidrolizi, %6.5 NaCl içeren besiyerinde üreme, pirolidonil akrilamidaz reaksiyonu gibi geleneksel yöntemler ve Phoenix™ NMIC/ID (Becton Dickinson, ABD) sistemi ile tanımlandı. İzolatların vankomisin, teikoplanin, ampisilin, linezolid, rifampin, tetrasiklin, siprofloksasin ve levofloksasine duyarlılık durumları Phoenix™ NMIC/ID sistemi ile test edildi. Kontrol için *E.faecalis* ATCC 29212 kullanıldı. Aynı zamanda vankomisin, teikoplanin, ampisilin, linezolid, rifampin, tetrasiklin, siprofloksasin, levofloksasin, eritromisin, kloramfenikol, doksisisiklin ve gentamisin ile streptomisin (yüksek düzey aminoglikozid direnci için) diskleri kullanılarak "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)"<sup>19</sup> önerilerine göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile de duyarlılık testleri yapıldı. Vankomisin ve teikoplanin için minimum inhibitör konsantrasyonlar (MİK) E-test (AB Biodisk, İsveç) ile belirlendi.

Direnç genotiplerinin belirlenmesi için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) öncesinde, DNA ekstraksiyonu, lizozim ve proteinaz K kullanılarak ve fenol-kloroform ile presipitasyon yapılarak gerçekleştirildi<sup>20</sup>. *vanA* and *vanB* genlerini eş zamanlı olarak amplifiye etmek için Dutka-Malen ve arkadaşları<sup>21</sup> tarafından tanımlanan primerler kullanılarak PCR yapıldı; beklenen ürünler *vanA* geni için 732, *vanB* geni için 635 baz-çifti uzunluğundaydı.

İzolatların klonal ilişkisi, genomik DNA'nın "pulsed-field" jel elektroforezi (PFGE) ile değerlendirildi. Genomik DNA'nın izolasyonu Elliot ve arkadaşları<sup>22</sup> tarafından tanımlanan protokolle (mutanolizin yerine 5U/ml lizostafin kullanılarak) yapıldı. DNA'nın restriksiyonu, 24U Smal (Sigma, Steinham, Almanya) enzimi ile 24 saatte 25°C'de yapıldı. Elektroforez, CHEF-DR II sistemi (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belçika) ile başlangıç ve bitiş vuruş süreleri sırasıyla 5 ve 40 saniye olacak şekilde 10°C ısıda 22 saatte gerçekleştirildi. Sonuçlar, Tenover değerlendirme kriterlerine uygun şekilde yorumlandı<sup>23</sup>.

Direnç genotiplerinin tayini için DNA ekstraksiyonu ve PCR, moleküler epidemiyolojik değerlendirme için PFGE Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

## BULGULAR

Çalışmamızda, 9 hastaya ait 11 rektal ve cilt sürüntü örneği ile 3 çevresel örnekten olmak üzere toplam 14 VRE izolasyonu yapılmıştır (Tablo I). Birimde çalışan personel, hasta yakınları ve aletlerden VRE izole edilmemiştir. VRE izole edilen hastaların hepsinde geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, iki hastada yoğun bakımda yatış, bir hastada malignite öyküsü mevcuttur. İndeks olgunun hastaneye kabulünden önce başka bir hastanede 1.5 ay yatış hikayesi olduğu belirlenmiştir.

Kolonize olmayan 19 hasta çeşitli metabolik hastalıklar ve enfeksiyonlar nedeniyle servise yatmaktadır (Tablo II). Hepsinin geniş spektrumlu antibiyotik kullanma ve daha önce hastanede yatış, ikisinde yoğun bakımda kalma ve birinde malignite öyküsü mevcuttur.

Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre, bütün izolatlar vankomisin, teikoplanin, ampisilin, eritromisin ve rifampine dirençli iken linezolid ve tetrasikline duyarlı bulunmuştur. Bütün izolatlarda yüksek düzey aminoglikozid direnci saptanmıştır. Bunların dışında, ikinci hastaya ait izolatlar (izolat 2, 3, 4) kloramfenikole, yedinci hastaya ait izolatlar da siprofloksasin ve levofloksasine dirençlidir. E-test ile bütün izolatların vankomisin ve teikoplanin için MİK değerleri > 256 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Bütün izolatlarda *vanA* geni tespit edilmiştir. PFGE analizi ile 14 izolatın 9'unun iki major PFGE bant profili oluşturduğu gözlenmiş; A profilinde iki izolat, B profilinde yedi izolat bulunmuştur. Bunların dışında kalan izolatlardan 3'ü A profilindeki izolatlar ile yakın ilişkili (A1, A2, A3), 2'si de B profilindeki izolatlar ile yakın ilişkili (B1, B2) olarak değerlendirilmiştir (Resim 1, Tablo I).

Sonraki haftalarda pediatri servisindeki tüm kültürler VRE açısından negatif oluncaya dek haftalık tarama kültürleri alınmış, sonrasında tarama aralığı ayda bire düşürülmüştür. Kolonize olan tüm hastalar taburcu edildikten sonra devam eden taramalarda başka kolonizasyon veya enfeksiyon gözlenmemiştir.

## TARTIŞMA

VRE salgınlarıyla ilişkili olarak yapılan moleküler epidemiyolojik çalışmalarda, sıklıkla çoğul VRE klonlarının mevcudiyetinden söz edilmektedir. Bazı durumlarda, erken dönemde saptanan VRE izolatlarının tek bir klondan kaynaklandığı bulunmuştur<sup>1</sup>. Moleküler tiplendirme çalışmaları, VRE'nin bir hastanede veya toplumda uzun süreli varlığı durumunda, vankomisin direncinin, plazmidler veya transpozonlar aracılığıyla farklı klonlara yayıldığını kanıtlamaktadır<sup>1</sup>.

Bu çalışmada, indeks olgudan, hastaneye yatış sonrası birinci günde alınan idrar kültüründen VRE izole edilmesi, bakterinin toplumdan edinilmiş olabileceğini göstermiştir. VRE B klonu ile kolonize olan 2 no'lu hastanın, uzun süredir hastanemizde yatmakta olduğu ve başka bir hastanede daha önce yatış öyküsü bulunmadığı belirlenmiştir. B1 klonu ile kolonize olan 6 no'lu hastanın, hastanemizde daha önceden kısa süreli yatış öyküsü bulunduğu gözlenmiştir (Tablo I). Benzer VRE klonlarının farklı hasta odalarında mevcudiyeti; hastane odalarının yetersiz ve düzensiz temizliği, hastane personelinin aynı el-

**Tablo 1. İzolatların Elde Edildiği Hastalara Ait Epidemiyolojik Bilgiler**

İzolat	Hasta	Cinsiyet/ yaş	Kaynak	Hasta odası	Direnç genotipi	PFGE profili	Altta yatan hastalık	VA ile tedavi öyküsü	Kullandığı diğer antibiyotikler	Önceki yatış öyküsü: aynı hastane (a), başka hastane (b)	YBÜ yatış öyküsü	Malignite İY
1	1 (indeks olgu)	K/9 ay	idrar	a	VanA	A	PN, PEVI, DIY, İYE	-	CRO	b (1.5 ay önce)	-	-
2	2 (ikinci olgu)	K/5 ay	idrar	b	VanA	B	AG, ENS, İYE	+	CRO, IPM	-	-	-
3	2	K/5 ay	Cilt	b	VanA	B						
4	2	K/5 ay	RS	b	VanA	B						
5	3	E/21 ay	RS	c	VanA	B	ABY	-	CRO	-	+	-
6	3	E/21 ay	HY	c	VanA	B						
7	4	E/9 ay	RS	c	VanA	A <sub>1</sub>	ME	+	CMP, CTX, P	-	-	-
8	5	E/4 yaş	RS	d	VanA	B	PN, AOM	+	CMP, CTX, P	-	-	-
9	6	E/6 yaş	RS	d	VanA	B <sub>1</sub>	EP	-	CMP	a (20 gün önce)	-	-
10	7	E/9 ay	RS	b	VanA	A	ME, PN	+	CTX, IPM	a (1 hafta önce)	-	-
11	8	K/13 yaş	RS	e	VanA	B	HS	-	CTX, SAM	-	-	+
12	9	E/9 ay	RS	f	VanA	A <sub>2</sub>	DIK	+	IPM	a (1 ay önce)	+	-
13*	-	-	HY	e	VanA	A <sub>3</sub>	-	-	-	-	-	-
14*	-	-	HY	c	VanA	B <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-

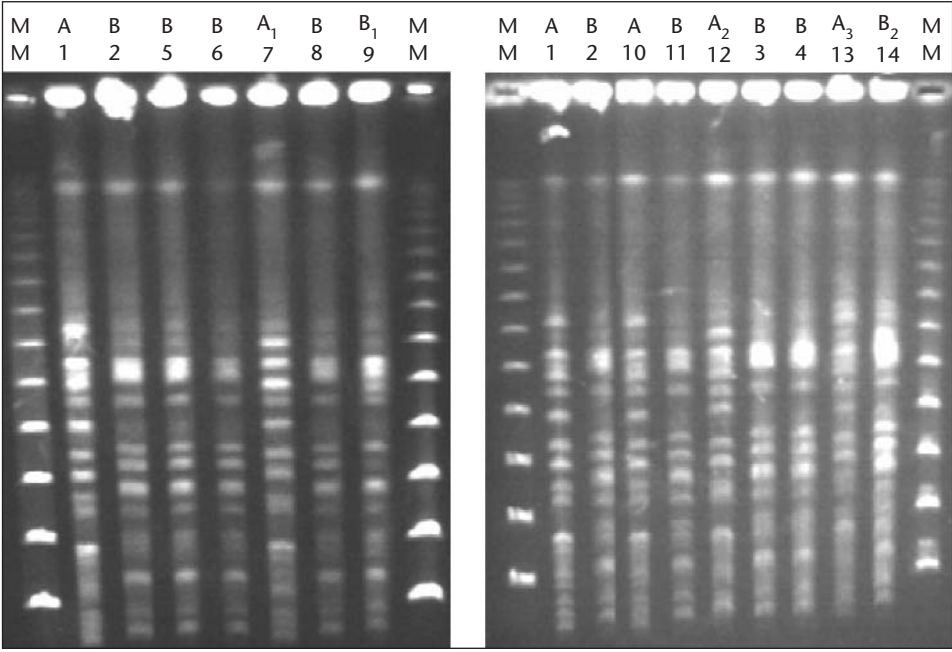
\* Hasta bilgileri Tablo II'de (hasta no: 10,11) verilmiştir.

K: Kadın, E: Erkek, PN: Pnömoni, PEVI: Protein enerji malnütrisyonu, RS: Rektal sürüntü, HY: Hasta yatağı, DIY: Diyare, İYE: İdrar yolu enfeksiyonu, AG: Akut gastroenterit, ENS: Ensefalit, ABY: Akut böbrek yetmezliği, ME: Menejit, AOM: Akut otit media, EP: Epilepsi, HS: Hemofagositik sendrom, DIK: Disemin intravasküler koagülasyon, YBÜ: Yoğun bakım ünitesi, İY: İmmün yetmezlik, CRO: Seftriakson, IPM: İmipenem, CMP: Kloramfenikol, P: Penisilin, CTX: Sefotaksim, SAM: Ampisilin/sulbaktam, MR: Metronidazol, VA: Vankomisin.

**Tablo II. Aynı Serviste Yatan ve Kolonizasyonu Olmayan Hastaların Epidemiyolojik Bilgileri**

Hasta no	Cinsiyet/yaş	Altta yatan hastalık	VA tedavisi öyküsü	Kullanılan diğer antibiyotikler	Önceki yatış öyküsü, aynı hastane (a), başka hastane (b)	YBÜ yatış öyküsü	Malignite/IY
10*	K/8 ay	Pnömoni	+	CMP, CTX, MR	b (15 gün önce)	-	-
11*	K/21 ay	Gastroenterit	-	SAM, CRO	b (12 gün önce)	-	-
12	K/2 yaş	Nefrotik sendrom	-	CTX, CRO	-	-	-
13	E/9 yaş	Pnömoni	-	CMP, SAM, CTX	a (2 ay önce)	-	-
14	E/12 yaş	Pnömoni	+	CTX	-	-	-
15	E/5 yaş	Veziköretal reflü, renal arter stenozu	-	AMC	-	-	-
16	K/9 yaş	Diyabet	-	-	-	-	-
17	E/2 ay	Menenjit, ventrikülit	+	CTX, IPM, ANS, MR	a (2 hafta önce)	-	-
18	E/4 yaş	Pnömoni	-	CTX, AM	a (2 ay önce)	-	-
19	E/1 ay	Sepsis	-	SAM, IPM	a (1 ay önce)	-	-
20	K/12 yaş	Kardit	-	CTX, SAM	-	-	-
21	K/14 yaş	Kronik renal yetmezlik, hipertansif ensefalopati	+	CTX	a (15 ay önce)	-	-
22	E/2 ay	Gastroenterit	-	SAM, CTX	-	-	-
23	E/4 yaş	Kwashioriker, sepsis, akut gastroenterit	-	SAM, CTX	b (3 yıl önce)	-	-
24	E/1 ay	Protein enerji malnütrisyonu	-	AM, ANS	-	-	-
25	E/18 ay	Hipotonisite	+	-	-	-	-
26	E/4 gün	Pnömoni, ileal atrezi	+	CTX	-	+	-
27	E/3 yaş	Akut miyeloid lösemi	-	SAM, CTX	a (1 ay önce)	+	+
28	E/9 ay	Ensefalit	-	SAM, CTX	-	+	-

\* Bu hastalara ait çevresel kolonizasyon bilgileri Tablo I'de gösterilmiştir.  
K: Kadın, E: Erkek, YBÜ: Yoğun bakım ünitesi, IY: İmmün yetmezlik, VA: Vankomisin, CRO: Seftriakson, IPM: İmipenem, CMP: Kloramfenikol, P: Penisilin, CTX: Sefotaksim, SAM: Ampisilin/sulbaktam, MR: Metronidazol, AMC: Amoksisilin-klavulanat, ANS: Amikasin sülfat, AM: Ampisilin.



**Resim 1.** *Smal* enzimi ile kesilen genomik DNA'nın PFGE analizi. 1-14; değerlendirilen 14 VRE izolatını, M; standart moleküler belirteci temsil etmektedir.

divenle birden fazla hasta ile teması ve hasta yakınlarının farklı odalardaki hastalarla teması ile ilişkilendirilmiştir<sup>24</sup>. Bununla birlikte, bu çalışmada, aynı odalardan, farklı VRE klonları ve ilişkili klonlar elde edilmiştir. Buna rağmen, sağlık personelinin ellerinde veya hasta yakınlarında VRE kolonizasyonu saptanamamıştır.

Hastanede uzun süreli yatışın, hastalarda çapraz bulaşa duyarlılığı artıracağı bilinmektedir<sup>25</sup>. Bu çalışmada, kolonize/enfekte hastalar ve kolonize olmayan hastalar arasında, hastanede yatış sürelerinin ortalama uzunlukları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Kolonize olan ve olmayan hastalar arasında, diğer epidemiyolojik özellikler (yaş, antibiyotik kullanımı, hastanede yatış uzunluğu, yoğun bakımda kalış, onkolojik rahatsızlıklar) açısından da anlamlı fark bulunmamıştır. PFGE analizi birden fazla klon ve çeşitli ilişkili klonların varlığını (Tablo I) ortaya koymuştur. Kolonize olan ve olmayan hastalar arasında hastanede yatış sürelerinin uzunlukları ve epidemiyolojik özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaması, VRE'nin hastanede veya toplumda uzun süreli varlığını düşündürmüştür.

Avrupa'da, VRE izolatlarında baskın olan direnç geni *vanA*'dır<sup>2</sup>. Bu çalışmada da saptanan tüm VRE izolatlarında *vanA* geni bulunmuştur. Bu çalışma ile VRE tespit edilmesiyle birlikte, Hastane Enfeksiyon Kontrol Komitesi ivedi olarak durumdan haberdar edilmiş, kolonize olan ve olmayan hastalar birbirinden ayrılmış, hastane personeline kontrol önlemleri ve uygulamaları ile ilgili eğitim toplantıları düzenlenmiştir. Pediyatrik hastalarda

VRE kolonizasyonu açısından tarama amaçlı bir süreyans çalışması planlanmıştır. Sonuç olarak; çalışmamızda Van Bölgesinde bilinen ilk VRE enfeksiyonu ve çoğul klonlarla kolonizasyonun varlığı gösterilmiştir. Ülkemizde VRE varlığı ve yayılımının bilinenden daha fazla olabileceği, bu nedenle bu izolatların tespiti ve uygun süreyans çalışmalarının yapılması önem arz etmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Microbiol Rev 2000; 13: 686-707.
2. Schouten MA, Hoogkamp-Korstanje JA, Meis JF, Voss A; European VRE Study Group. Prevalence of vancomycin-resistant enterococci in Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19: 816-22.
3. Colak D, Naas T, Gunseren F, et al. First outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a tertiary hospital in Turkey. J Antimicrob Chemother 2002; 50: 397-401.
4. Basustaoglu, A, Aydogan H, Beyan C, Yalcin A, Unal S. First glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* isolate from blood culture in Ankara, Turkey. Emerg Infect Dis 2001; 7: 160-1.
5. Cıtak EC, Oguz A, Karadeniz C, Okur V, Basustaoglu A, Arman D. First recurrent infection with vancomycin-resistant enterococcus from Turkey. J Infect 2006; 53: 147-50.
6. Inan D, Gunseren F, Colak D, Saba R, Kazan S, Mamikoglu L. First confirmed case of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* meningitis in Turkey: case report and literature review. J Chemother 2004; 16: 608-11.
7. Comert FB, Kulah C, Aktas E, Ozlu N, Celebi G. First isolation of vancomycin-resistant enterococci and spread of a single clone in a university hospital in northwest Turkey. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2007; 26: 57-61.
8. Tasdelen Fişgin N, Darka O, Sünbül M, et al. Case report: a nosocomial infection caused by vancomycin resistant enterococcus. Mikrobiyol Bul 2005; 39: 351-5.
9. Yüce A, Karaman M, Gulay Z, Yulug N. Vancomycin-resistant enterococci in neonates. Scand J Infect Dis 2001; 33: 803-5.
10. Kacmaz B, Aksoy A. Antimicrobial resistance of enterococci in Turkey. Int J Antimicrob Agents 2005; 25: 535-8 .
11. Ozkuyumcu C. Resistant enterococci: prevalence and factors associated with colonization in a Turkish university hospital. Acta Microbiol Pol 1999; 48: 203-7.
12. Kuzucu C, Cizmeci Z, Durmaz R, Durmaz B, Ozerol IH. The prevalence of fecal colonization of enterococci, the resistance of the isolates to ampicillin, vancomycin, and high-level aminoglycosides, and the clonal relationship among isolates. Microb Drug Resist 2005; 11: 159-64.
13. Yıldırım M, Sencan I, Ozdemir D, Oksüz Ş, Yılmaz Z, Sahin İ. Vancomycin and high-level aminoglycoside resistant *Enterococcus carriage* and the risk factors related to resistance in hospitalized patients. Mikrobiyol Bul 2007; 41: 271-7.
14. Özkuyumcu C, Köseoğlu Ö, Günalp A. Hastanede yatan hastalarda vankomisin ve yüksek düzey aminoglikozid dirençli enterokok kolonizasyonunun araştırılması. Mikrobiyol Bul 1998; 32:185-94.
15. Furtado GH, Martins ST, Coutinho AP, Wey SB, Medeiros EA. Prevalence and factors associated with rectal vancomycin-resistant enterococci colonization in two intensive care units in Sao Paulo, Brazil. Braz J Infect Dis 2005; 9: 64-9.
16. Christidou A, Gikas A, Scoulica E, et al. Emergence of vancomycin-resistant enterococci in a tertiary hospital in Crete, Greece: a cluster of cases and prevalence study on intestinal colonisation. Clin Microbiol Infect 2004; 10: 999-1005.
17. Slaughter S, Hayden MK, Nathan C, et al. A comparison of the effect of universal use of gloves and gowns with that of glove use alone on acquisition of vancomycin-resistant enterococci in a medical intensive care unit. Ann Intern Med 1996; 125: 448-56.
18. Hota B. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? Clin Infect Dis 2004; 39: 1182-9.



19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 15<sup>th</sup> Informational Supplement. CLSI/NCCLS Document M100-S15, 2005. CLSI, Wayne, Pennsylvania.
20. Welsh J, McClelland M. Characterization of pathogenic microorganisms by genomic fingerprinting used arbitrarily primed PCR, pp: 595-602. In: Persing DH, Smith TF, Tenover F, White TJ (eds), Diagnostic Molecular Microbiology. Principles and Applications. 1993. ASM Press, Washington, DC.
21. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. J Clin Microbiol 1995; 33: 24-7.
22. Elliott JA, Farmer KD, Facklam RR. Sudden increase in isolation of group B streptococci, serotype V, is not due to emergence of a new pulse field gel electrophoresis type. J Clin Microbiol 1998; 36: 2115-6.
23. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995; 33: 2233-9.
24. Bonten MJ, Willems R, Weinstein RA. Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from? Lancet Infect Dis 2001; 1: 314-25.
25. Furtado GH, Mendes RE, Pignatari AC, Wey SB, Medeiros EA. Risk factors for vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* bacteremia in hospitalized patients: an analysis of two case-control studies. Am J Infect Control 2006; 34: 447-51.