

Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Vankomisine Direçli Enterokok (VRE) Suşlarının Fenotipik ve Genotipik Değerlendirilmesi

Phenotypic and Genotypic Evaluation of Vancomycin-Resistant Enterococcus (VRE) Strains Isolated from Various Clinical Specimens

Semra Bilen*[Ⓜ], Mehmet Parlak*[Ⓜ], Yusuf Yakupoğulları**[Ⓜ], Hüseyin Güdücüoğlu*[Ⓜ], Yasemin Bayram*[Ⓜ]
Cennet Rağbetli***[Ⓜ], Arzu Uyanık Parlak****[Ⓜ], Şevin İrden*[Ⓜ]

*Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye

**İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

***SBÜ Van Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Van, Türkiye

****Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

Atf/Cite as: Bilen S, Parlak M, Yakupoğulları Y, Güdücüoğlu H, Bayram Y, Rağbetli C, Uyanık Parlak A, İrden Ş. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen vankomisine direçli enterokok (VRE) suşlarının fenotipik ve genotipik değerlendirilmesi, Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(2):143-9.

Öz

Amaç: Enterokoklar, birçok antibiyotiğe doğal dirençli olmaları, özellikle glikopeptidlere (vankomisin, teikoplanin) karşı oluşturdıkları kazanılmış direnç mekanizmaları nedeniyle dünya genelinde önemli mikroorganizma grubu içerisinde yer alır. Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden elde edilen Vankomisine dirençli Enterokok suşlarında fenotipik olarak vankomisin ile teikoplanin direnci belirlenmiş ve moleküler yöntemlerle VanA, VanB ve VanC varlığı araştırılmıştır.

Yöntem: 2015-2018 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 30 adet Vankomisine dirençli Enterococcus ssp. suşu çalışmaya dâhil edilmiştir. Suşların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık sonuçlarının belirlenmesi için MicroScan WalkAway 96 Plus (Beckman Coulter, ABD) otomatize sistem kullanılmıştır. Vankomisin ve teikoplanin direnci ayrıca gradient test yöntemi ile çalışılmıştır. Direnç genleri, uygun primerler kullanılarak in-house PCR yöntemi ile araştırılmıştır. PCR testleri İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Moleküler Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

Bulgular: İdentifikasyon testleri sonucunda suşların 29'u Enterococcus faecium, bir tanesi Enterococcus faecalis olarak tanımlanmıştır. Otomatize identifikasyon sistemi ile suşların tümü vankomisin ve teikoplanine karşı dirençli bulunurken gradient test yöntemi izolatların üç tanesi her iki antibiyotiğe de duyarlı olarak bulunmuştur. Bu üç suşta VanA, VanB ve VanC genlerinin hiçbirisine rastlanmamıştır. Moleküler yöntemle 27 suşta VanA, bir suşta VanB geni saptanırken, hiçbir suşta VanC genine rastlanmamıştır. Enterokok izolatlarında glikopeptid direncinin belirlenmesinde gradient test yöntemi ile moleküler yöntemin %100 uyumlu olduğu görülmüştür.

Sonuç: Gradient test yöntemi, klinik mikrobiyoloji laboratuvarında enterokok izolatlarının glikopeptid direncini saptamada güvenilir sonuç vermektedir.

Anahtar kelimeler: Vankomisine dirençli Enterokok, Gradient test, VanA, VanB, VanC

ABSTRACT

Objective: Enterococci are among the important microorganism group worldwide due to their natural resistance to many antibiotics, especially their acquired resistance mechanisms against glycopeptides (vancomycin, teicoplanin). In this study, vancomycin and teicoplanin resistance were phenotypically determined in Vancomycin-resistant Enterococci strains obtained from various clinical specimens, and the presence of VanA, VanB and VanC was investigated by molecular methods.

Method: A total of 30 VRE strains isolated from various clinical specimens at Microbiology Laboratory of Van Yuzuncu Yil University Faculty of Medicine Hospital between 2015 and 2018 were included in the study. MicroScan WalkAway 96 Plus (Beckman Coulter, USA) automated system was used for the identification of strains and determination of antibiotic resistance. Antimicrobial resistance to vancomycin and teicoplanin were also determined by gradient test method. Resistance genes were investigated by in-house PCR method performed in Inonu University Faculty of Medicine, Molecular Diagnostics Laboratory of The Department of Medical Microbiology using appropriate primers.

Results: Identification tests revealed 29 strains as Enterococcus faecium and 1 as Enterococcus faecalis. While all strains were resistant to vancomycin and teicoplanin in the automated identification system, three isolates tested by gradient test method were found to be susceptible to these antibiotics. Molecular method of these three strains showed that there were no VanA, VanB and VanC genes. While VanA gene was detected in 27 strains, VanB gene was detected in one strain, and VanC gene was not detected. Resistance detection by gradient test and molecular method were found to be 100% compatible in the identification of vancomycin-resistance in enterococci isolates.

Conclusion: Gradient test method is reliable in determining glycopeptide resistance of enterococcal isolates in clinical microbiology laboratory.

Keywords: Vancomycin resistant Enterococci, Gradient test, VanA, VanB, VanC

Alındığı tarih / Received:
14.11.2020 / 14.November.2020

Kabul tarihi / Accepted:
09.01.2021 / 09.January.2021

Yayın tarihi / Publication date:
01.06.2021 / 01.June.2021

ORCID Kayıtları

S. Bilen 0000-0003-1322-5017
M. Parlak 0000-0001-6030-2244
Y. Yakupoğulları 0000-0002-5545-3467
H. Güdücüoğlu 0000-0003-1101-9017
Y. Bayram 0000-0001-6083-5550
C. Rağbetli 0000-0001-5876-5215
A. Uyanık Parlak 0000-0001-7137-7356
Ş. İrden 0000-0002-8387-1738

✉ mehmetparlak65@hotmail.com

GİRİŞ

Enterokoklar, insan ve hayvanların gastrointestinal sisteminin flora elemanı olarak bulunmakla beraber, doğada (toprak, su, yiyecek vb.) çok yaygın olarak bulunmaktadır. Bununla birlikte, bakteriyemi, endokardit, yara enfeksiyonları, safra kesesi enfeksiyonları, menenjit, nozokomiyal pnömoni ve çoğunlukla üriner sistemi enfeksiyonları gibi çeşitli hastalıklara neden olabilirler⁽¹⁾. Enfeksiyon etkeni olarak %80-90 oranında birinci sırada *Enterococcus faecalis* sorumlu tutulurken, ikincil en sık etken ise %5-15 oranında *Enterococcus faecium*'dur⁽²⁾. Enterokoklar nadiren endokardite neden olurken, nozokomiyal enfeksiyonların en sık etkenleri arasında ikinci veya üçüncü sırada yer alırlar⁽³⁾.

Enterokokların hastane enfeksiyonu olarak bilinmesinin ve hastane enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir sorun olmasının nedeni son zamanlarda birden fazla antibiyotige direnç gösteren enterokokal enfeksiyonların sayıca artmasıdır⁽⁴⁾. Özellikle glikopeptidlere karşı kazandıkları direnç mekanizmaları nedeniyle (VRE) enterokoklar, dünya genelinde önemi artan mikroorganizma grubu içerisinde yerini almıştır⁽⁵⁾. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve uzun süreli hastane yatışı VRE kolonizasyon riskini arttıran faktörlerden bazılarıdır⁽⁶⁾.

VRE ilk olarak 1988 yılında İngiltere'den ve sonrasında da Fransa'dan bildirilmiştir^(7,8). Ülkemizde ilk VRE izolatu 1998 yılında Akdeniz Üniversite'sinden bildirilmiş olup, ardından birçok merkezden bildirim yapılmaya başlanmıştır⁽⁹⁾. VRE enfeksiyonlarının yatan hastalarda yayılmasının önlenmesi için kolonize hastaların saptanması ve bu hastaların izole edilmeleri gerekmektedir⁽¹⁰⁾. VRE ile enfeksiyon sıklığı düşük olmasına rağmen, mortalitesi daha yüksektir⁽¹¹⁾. Bu nedenle enterokoklarda glikopeptid grubu antibiyotik direncinin saptanması, tarama yöntemleri ve alınacak önlemler büyük önem taşımaktadır.

Çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden izole edilen Vankomisine dirençli olduğu belirlenen 30 adet enterokok suşunda fenotipik ve genotipik yöntemlerle *VanA*, *VanB* ve *VanC* varlığı araştırılmıştır.

pik yöntemlerle *VanA*, *VanB* ve *VanC* varlığı araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hasta Örneklerinden VRE Suşlarının İzole Edilmesi: 2015-2018 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden izole edilen vankomisine dirençli olduğu belirlenen 30 adet enterokok (VRE) suşu çalışmaya dâhil edildi.

Çalışmada kullanılan izolatlar gradient testleri ve moleküler testler çalışılincaya kadar %20 gliserollü buyyonda -80°C'de saklandı. Laboratuvara gönderilen örnekler %5 koyun kanlı agar ekimi yapıldıktan sonra 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üreme saptanan ve uygun koloni morfolojisine sahip, Gram pozitif, pyrolidonyl arylamidaz (PYR) testi pozitif, katalaz testi negatif koklar enterokok olarak tanımlandı.

Suşların tür düzeyinde identifikasyonu ile antibiyotik duyarlılık testlerinin belirlenmesi, üretici firmanın önerileri doğrultusunda MicroScan WalkAway 96 Plus (Beckman Coulter, ABD) kullanılarak EUCAST kriterlerine göre değerlendirildi. Ayrıca izolatlar İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Matris Aracılı Lazer Desorbsiyon İyonizasyon-Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) temelli bir sistem olan VITEK MS (BioMerieux, Fransa) (database v2.0) ile tanımlandı.

Gradient test ile Vankomisin ve Teikoplanin direncinin saptanması: Çalışma zamanına kadar %20 gliserollü buyyonda -80°C'de saklanan VRE izolatları iki kez pasajlandıktan sonra gradient test yöntemi ile fenotipik olarak vankomisin ve teikoplanin direnci araştırıldı. Bu amaçla bakteriden 0.5 McFarland bulaıklığında hazırlanan süspansiyonlar Müeller-Hinton agar besiyeri yüzeyine steril eküvyon çubuğu yardımıyla sürüntü ekimi yapıldı. Daha sonra vankomisin ve teikoplanin gradient test stripleri yerleştirilerek plaklar 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda üremenin görülmediği hattın gradient testi üzerindeki MİK değeri ile keşiştiği nokta kaydedildi.

Moleküler Yöntemle Direnç Genlerinin Tespiti: DNA ekstraksiyonu kaynatma yöntemiyle uygulanmıştır. Koyun kanlı agar plaklarında üreyen bakterilerden eküvyon çubuğu yardımı ile toplanarak 1 ml steril serum fizyolojik içerisinde 1-2 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Mikrosantrifüj tüplerine alınan bu süspansiyon 15000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant aspire edilerek pellet 100 µl TE tamponu ile resüspanse edilmiştir. Isı bloğunda 100°C'de 5 dakika kaynatılarak -20°C derin dondurucuda saklanmıştır.

PCR karışımı, primerleri, 2X Master Mix ve H₂O içeriyordu. 0.2 ml PCR tüpünde hazırlanarak PCR cihazına yerleştirildi. Her amplifikasyon örneği için 2X Master Mix ve primer karışımına 5 µl kalıp DNA eklenerek amplifikasyon döngüleri uygulandı [94°C'de 5 dakika başlangıç denatürasyon adımı; 30 döngü amplifikasyon (45 saniye süreyle 95°C'de denatürasyon, 30 saniye süreyle 56°C'de bağlanma ve 2 dakika için 65°C'de uzatma) ve 65°C'de son uzatma 10 dakika]. PCR işleminden sonra örneklerden 10 µl alınarak agaroz jele yüklendi. Jel 150 voltta üç saat elektroforez işlemine tabi tutuldu. Daha sonra görüntüleme sistemine aktarılmıştır. Kullanılan primerler Tablo 1'de verilmiştir.

İstatistik Yöntem: Oranlar arası fark için Z testi ile oran karşılaştırması yapılmıştır. Hesaplamalarda ista-

tistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için Minitab v14 (Köln, Almanya) istatistik paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya çeşitli kliniklerden gönderilen materyallerden izole edilen 30 enterokok suşu dâhil edildi. Gönderilen materyallerin dağılımı ise 15'i idrar, 9'u kan, 3'ü beyin omurilik sıvısı (BOS), 2'si kateter ve 1'i yara örneği şeklindedir. Enterokok izolatlarının MicroScan WalkAway 96 Plus (Beckman Coulter, ABD) kullanılarak yapılan identifikasyon işlemi sonucu 29'u *E. faecium* ve bir adedi *E. faecalis* olarak belirlendi. VITEK MS sistemi ile de (BioMérieux, Fransa) suşlar aynı şekilde tanımlandı. Çalışılan enterokok suşlarının MicroScan WalkAway 96 Plus (Beckman Coulter, ABD) kullanılarak yapılan vankomisin ve teikoplanine karşı duyarlılık test sonuçlarına göre tüm izolatlarda vankomisin ve teikoplaninin her ikisi için MİK değerleri >16 mg/L bulundu.

Vankomisin ve Teikoplanin için yapılan gradient testi sonuçlarına göre 3 suş için (9-11-20 numaralı suşlar) elde edilen MİK değerleri, EUCAST kriterlerine göre kıyaslandığında vankomisin ve teikoplanine karşı duyarlı olarak saptandı. Diğer suşların tamamı vankomisin ve teikoplanine dirençli belirlendi (MİK > 256). Vankomisin ve teikoplanin için elde edilen MİK değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Moleküler yöntemlerle yapılan direnç genlerinin belirlenmesinde 30 suşun 27'sinde *VanA*, 1'inde (23 No.lu suş) *VanB* geni saptandı. Hiçbir suşta *VanC* genine rastlanmadı. Direnç genlerinin jel görüntüleri Şekil 1 ve 2'de verilmiştir.

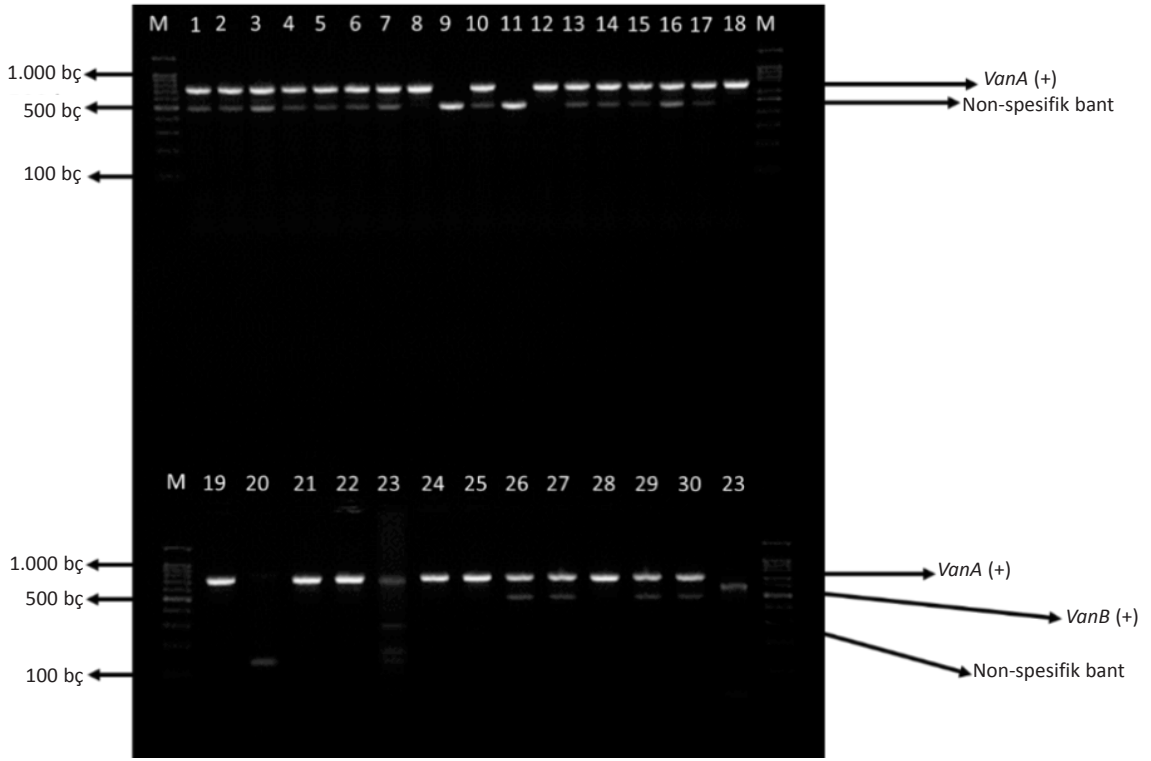
Tablo 1. Çalışmada kullanılan primerler.

Amplified gene	Sequence (5' - 3')
<i>Enterococcus faecalis</i>	F: ATCAAGTACAGTTAGTCT R: ACGATTCAAAGCTAACTG
<i>Enterococcus faecium</i>	F: TAGAGACATTGAATATGCC R: TCGAATGTGCTACAATC
<i>vanA</i>	F: GGGAAAACGACAATTGC R: GTACAATGCGGCCGTTA
<i>vanB</i>	F: ACGGAATGGGAAGCCGA R: TGCACCCGATTTCTGTC
<i>vanC</i>	F: ATGGATTGGTAYTKGTAT* R: TAGCGGGAGTGMCMYMGTA*

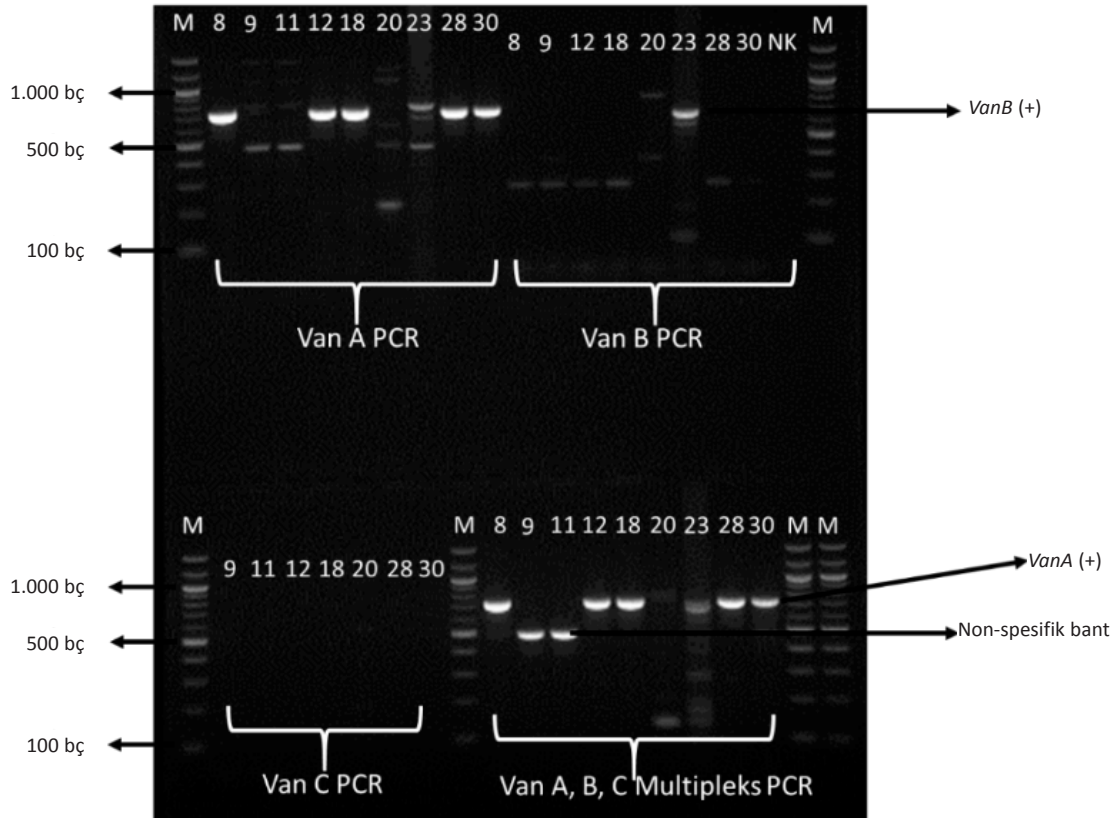
* K = G veya T; M = A veya C; Y = C veya T

Tablo 2. Vankomisin ve teikoplanin için gradient testi sonuçları.

Suş No	Suş Adı	Antibiyotikler	
		Vankomisin	Teikoplanin
9	<i>E. faecium</i>	0.5	0.25
11	<i>E. faecium</i>	0.5	0.25
20	<i>E. faecalis</i>	0.5	0.5
Diğer suşlar	<i>E. faecium</i>	>256	>256



Şekil 1. PCR yöntemi ile direnç genlerinin jel görüntüsü.



Şekil 2. PCR yöntemi ile direnç genlerinin jel görüntüsü.

Tablo 3. Yöntemlerin birbirleriyle karşılaştırılması.

Yöntem Adı	Dirençli (R)	Duyarlı (S)	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Otomatize Sistem				
Vankomisin	30	0	100	0*
Teikoplanin	30	0	100	0*
Gradient Test				
Vankomisin	27	3	100	100
Teikoplanin	27	3	100	100
Moleküler Yöntem				
VanA				
VanB	27	3		
VanC				

*: Duyarlı suş sayısı az olduğu için değerlendirme yapılamadı.

Otomatize sistem ve moleküler yöntemle suşların identifikasyonu uyumlu olarak belirlendi. Her iki yöntemle de toplam 30 suşun 29'u *E. faecium*; bir adedi *E. faecalis* olarak izole edildi. Otomatize sistemle tüm suşlar vankomisin ve teikoplanine karşı dirençli bulundu. Gradient test yöntemi ile 3 adet suş vankomisin ve teikoplanine duyarlı olarak saptandı. Moleküler yöntemle de bu suşlarda *VanA*, *VanB* ve *VanC* direnç genlerinin hiçbirisine rastlanmadı. Buna göre moleküler yöntem standart olarak kabul edildiğinde otomatize sistemin ve gradient test yönteminin duyarlılık ve özgüllükleri Tablo 3'te verilmiştir.

TARTIŞMA

Enterokoklar, direnç sorunu nedeniyle son yıllarda hastane enfeksiyonu etkeni olarak giderek artan oranlarda görülmektedir⁽¹²⁾. Bunun sonucunda tedavi maliyetleri ve hastanede yatış oranları artmaktadır⁽¹³⁾. Enterokokal enfeksiyonların tedavisinde büyük öneme sahip glikopeptidlere dirençli bakteri oluşumları çok daha ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır⁽¹⁴⁾. Enterokok enfeksiyonları arasında *E. faecalis*'in oranı diğer türlere göre fazla olmasına rağmen, VRE'lerin ortaya çıkmasıyla birlikte bu oran gittikçe düşmüş ve *E. faecium* izolatları daha ön plana çıkmaya başlamıştır⁽¹⁵⁾. Yıllık EARS-NET raporunda *E. faecium* izolatlarında VRE oranının %14.9, *E. faecalis* izolatlarında ise %0-5 arasında olduğu bildirilmiştir⁽¹⁶⁾. ABD'de 1995-2002 yılları arasında yapılan bir çalışmada, *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatları karşılaştırıldığında bütün glikopeptid türevlerine karşı *E. faecium* izolatlarında ciddi bir direnç artışı

saptanmıştır⁽¹⁷⁾. Ülkemizde de Ankara ve İstanbul'da yürütülen çalışmalarda, 467 hastanın %1.9'unda VRE kolonizasyonu belirlenmiş ve bunların tamamının vankomisin ve teikoplanine dirençli *E. faecium* olduğu saptanmıştır⁽¹⁸⁾. Bizim çalışmamızda ise, çalışmaya dâhil edilen 30 VRE suşunun 29 (%96,6)'u *E. faecium* ve 1 tanesi (% 3,3) *E. faecalis* olarak bulunmuştur.

Glikopeptidlere dirençli ilk enterokok olgusu 1988 yılında Uttley ve ark.⁽⁷⁾ tarafından tanımlandıktan sonra dünyada sıklıkla gözlenmiştir. Avrupa ülkelerinde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde VRE izolatları arasında en çok rastlanan genotip *VanA* tipidir. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de en sık gözlenen tip *VanA* olarak belirlenmiştir⁽¹⁹⁾. Bourdon ve ark.'nın⁽²⁰⁾ Fransa'da yaptığı bir çalışmada, 2006-2008 arasında 902 VRE suşu incelenmiş, bu suşların %95'inin *E. faecium*, %4.5'i *E. faecalis* olduğu bildirilmiştir. *E. faecium* suşlarının %66'sında *VanA* ve %34'ünde *VanB* geni saptanmıştır. *E. faecalis* suşlarında ise %83 oranında *VanA* ve %17 oranında *VanB* geni belirlenmiştir. Çalışmamızda tanımlanan 29 *E. faecium* suşunun 27'sinde *VanA* geni saptanırken, yalnızca bir *E. faecium* suşunda *VanA* ve *VanB* geni birlikte saptanmıştır. Hiçbir suşta *VanC* geni saptanmamıştır.

Dombrádi ve ark.'nın⁽²¹⁾ yapmış olduğu bir çalışmada, 17 VRE izolatı Vitek 2 otomatize sistem ve gradient test ile çalışılmıştır. Otomatize sistemle çalışılan örneklerin 10'u hata vermiş ve yanlış fenotiple sonuçlanmıştır. Bu nedenle en güvenilir testin gradient test olduğu saptanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada da

enterokoklarda vankomisin direnci Vitek 2 otomatize sistem ve gradient test yöntemleriyle araştırılmış, iki yöntemin %100 uyumlu olduğu bulunmuştur. Çalışılan 199 enterokok suşunun 25'i her iki yöntemle de vankomisine dirençli olarak saptanmıştır⁽²²⁾. Vitek 2 otomatize sistem ve E-test yönteminin kullanılarak enterokoklarda glikopeptid direncinin araştırıldığı bir çalışmada, 536 enterokok suşunun 79'u (%14.7) her iki yöntemle de vankomisine dirençli olarak belirlenmiştir⁽²³⁾. Shalaby ve ark.⁽²⁴⁾ tarafından 112 hastadan alınan örneklerde Vitek 2 otomatize sistem ile enterokok türleri tanımlanmıştır. Vankomisin direnci E test ile belirlenmiş ve moleküler yöntemle (PCR) *VanA* geninin varlığı saptanmıştır. PCR referans olarak alınmış ve hem E-test hem de Vitek 2 için duyarlılık ve özgüllük %100 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda, vankomisin ve teikoplanin direncini belirlemede moleküler yöntem standart olarak kabul edildiğinde gradient testin hem duyarlılığı hem özgüllüğü %100'dür. Çalışmamızda otomatize sistem duyarlı olması gereken 3 suşun tamamını dirençli olarak saptamıştır.

Sonuç olarak, Gradient test yöntemi, klinik mikrobiyoloji laboratuvarında enterokok izolatlarının glikopeptid direncini saptamada güvenilir sonuç vermektedir.

Teşekkür

Katkılarından dolayı Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Proje Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

Etik Kurul Onayı: Çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun, 31.03.2015 tarih ve 13 numaralı kararı ile onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Proje Başkanlığı (BAPB) tarafından 2015-SBE-YL292 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Van Yüzüncü Yıl University Ethics

Committee (03.31.2015-13).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: Van Yüzüncü Yıl University Scientific Research Projects Unit (Project No. 2015-SBE-YL292).

KAYNAKLAR

1. Başustaoğlu A. Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu. Ulusoy S, Usluer G, Ünal S (Eds). Gram Pozitif Bakteri enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 5. Baskı, 2002:141-58.
2. Aktepe OC, Aşık G, Çiftçi İH, Çetinkaya Z. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının antibiyotik direnç oranları. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2011;41(2):86-90. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2011.086>
3. Güldemir D, Karagöz A, Dal T, Tekin A, Özekinci T, Durmaz R. Hastane kaynaklı enterokok izolatlarının pulsed-field jel elektroforezis yöntemiyle moleküler tiplendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg. 2015;72(1):1-10. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2015.94695>
4. Herman DJ, Gerding DN. Antimicrobial resistance among enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 1991;35(1):1-4. <https://doi.org/10.1128/aac.35.1.1>
5. Courvalin P. Vancomycin resistance in gram positive cocci. Clin Infect Dis. 2006;42(Suppl1): S25-34. <https://doi.org/10.1086/491711>
6. Robert C, Moellering RC. *Enterococcus* species bovis and *Leuconostoc* species. Principles and Practise of Infectious Disease; Churchill-Livingstone; 5th edition. 2000;2147-53.
7. Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin resistant enterococci. Lancet. 1988;1(8575-6):57-8. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(88\)91037-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(88)91037-9)
8. 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>
9. Vural T, Şekercioğlu AS, Öğünç D. Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu. Ankem Derg. 1999;13(1):1-4.
10. Ural O. Nozokomiyal enterokok bakteriyemisi. Hastane İnfeksiyon Derg. 1998;2(4):217-23.
11. Ulusoy S. Çoğul Dirençli Gram Pozitif Bakteriler. In: Doğanay M, Ünal S (Eds) Hastane Enfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Kitapevi, 2003:247-67.
12. Demirtürk N, Demirdal T. Antibiyotiklerde direnç sorunu. Kocatepe Tıp Derg. 2004;5(2):17-21.

13. Ergani-Özcan A, Naas T, Özhak Baysan B, et al. Nosocomial outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a pediatric unit at a Turkish university hospital. J Antimicrob Chemother. 2008;61(5):1033-9. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn066>
14. Aktaş G, Derbentli Ş. Vankomisine dirençli enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri. Infeksi Derg. 2009;23(4):201-9.
15. Çelik C, Uysal EB, Gözel MG, Bakıcı MZ, Elaldı N. Kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* bakterilerinin antimikrobiyal direnç paterni. Flora. 2013;18(2):83-9.
16. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. 2017. [<https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/EARS-Net-report-2017-update-jan-2019.pdf>]. (Erişim Tarihi: 04.01.2020)
17. Rudy M, Zientara M, Bek T. Occurrence of antibiotic resistant enterococci in clinical specimens from a pediatric hospital. Pol J Microbiol. 2005;54(1):77-80.
18. Aygün H, Memikoğlu OK, Tekeli A, Azap A, Yörük F. Hastanede yatan riskli hasta gruplarında vankomisine dirençli enterokok kolonizasyonunun süreyansı. Turk Anest Rean Der. 2008;36(3):168-73.
19. Kılıç A, Şenses Z, Aydoğan H, Başustaoğlu A. Klinik örneklerden izole edilen vankomisin dirençli enterokokların moleküler analizi. Mikrobiyol Bul. 2006;40(4):295-9.
20. Bourdon N, Fines-Guyon M, Thiolet JM, et al. Changing trends in vancomycin resistant enterococci in French hospitals. J Antimicrob Chemother. 2011;66(4):713-21. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq524>
21. Dombrádi Z, Bihari Z, Horváth KI, Szabó J. Comparison of the VITEK 2 system with the E-test for the determination of glycopeptide susceptibility of *VanA* and *VanC* positive enterococci. Acta Microbiol Immunol Hung. 2010;57(3):157-63. <https://doi.org/10.1556/AMicr.57.2010.3.1>
22. Uludağ Altun H, Ataman Hatipoğlu Ç, Bulut C, Köseoğlu Eser Ö, Demiröz AP. Vankomisine dirençli enterokokların süreyansında GeneXpert® *VanA/VanB* PCR sistemi ile kültür yönteminin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bul. 2014;48(4):538-44. <https://doi.org/10.5578/mb.8848>
23. Etiz P, Kibar F, Ekenoğlu Y, Yaman A. İdrar kültüründen izole edilen enterokok türlerinin antibiyotik direnç profillerinin değerlendirilmesi. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2014;44(3):107-13. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2014.107>
24. Shalaby MM, Eshra KA, El-Naghy WS, El-Sharaby RM. Comparative study between molecular and non-molecular methods used for detection of Vancomycin Resistant Enterococci in Tanta University Hospitals, Egypt. Life Scien J. 2016;13(1):71-8. <https://doi.org/10.7537/marslsj1301s1608>