

## Pembentukan Cluster Gen Vancomisin Resisten Enterococcus

Donna Mesina Rosadini Pasaribu

Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana  
 Alamat Korespondensi Jl.Arjuna Utara No.6 Jakarta Barat 11510  
 E-mail: mesinapasaribu@yahoo.co.id

### Abstrak

Resistensi Vancomisin diekspresikan oleh kehadiran gen VanA pada transposon atau loncatan elemen genetik *Tn1546*. Ada lima fenotip Vancomisin resistensi yaitu VanA, VanB, VanC, VanD dan VanE. Mekanisme resistensi Enterococcus terhadap golongan glikopeptida karena ekspresi gen VanA menyebabkan sintesis terminasi prekursor peptidoglikan tidak normal, menjadi D-Ala-D-lactat yang seharusnya D-Ala-D-Ala. Selain itu ekspresi gen VanA, juga memengaruhi sintesis terminasi pentadepsipeptida dalam D-Ala-D-Lac dan aktivitas fungsi protein inti untuk menghasilkan ligase, asam D-hidroksi dehidrogenase, dan D-lactase.

**Kata kunci:** Elemen genetik *Tn1546*, Vancomisin Resisten Enterococcus, VanA

### Abstract

*Vancomisin resistance genes expressed by the presence VanA of the transposon or genetic element Tn1546. The five Vancomisin resistance phenotype are VanA, VanB, VanC, VanD and VanE. Enterococcus resistance mechanisms against glycopeptide class because VanA gene expression caused peptidoglycan synthesis prekursor abnormal termination, to be D-Ala-D-lactat should D-Ala-D-Ala. VanA gene expression, also affects the synthesis termination pentadepsipeptide in D-Ala-D-Lac and activace functions to generate core protein ligase, D-hydroxy acid dehydrogenase, and D-lactase.*

**Key words:** Genetic element *Tn1546*, Vancomycin Resistance Enterococcus, VanA

### Pendahuluan

Enterococcus dikenal sebagai penyebab endokarditis dan dalam pertengahan tahun 1970-an, dikenal sebagai penyebab kasus umum infeksi nosokomial. Hal ini diduga berhubungan dengan peningkatan penggunaan antibiotikaa *Cephalosporin* generasi ketiga yang menyebabkan kejadian resistensi Enterococcus secara alami. Saat ini telah terjadi peningkatan infeksi Enterococcus sebagai patogen nosokomial pada infeksi saluran urin, saluran gastrointestinal, infeksi luka bakar atau pasca operasi dan penyebab bakterimia nosokomial. Kemampuan organisme ini bertahan dalam lingkungan rumah sakit karena terjadinya resistensi intrinsik strain Enterococcus terhadap beberapa antibiotikaa yang umum digunakan dan

kemampuan bakteri meningkatkan pola resistensi terhadap semua antibiotikaa yang ada saat ini, terjadi akibat mutasi atau pemindahan bahan genetik asing melalui plasmid dan transposon.<sup>1</sup>

Dalam tinjauan pustaka, Vancomisin Resistance Enterococcus (VRE) ini, penulis bertujuan memberikan informasi tentang mekanisme terjadinya VRE secara spontan ataupun melalui bantuan transposon, sehingga terjadi perubahan struktur genetik pada bakteri yang membawa gen VRE dan terbentuknya beberapa cluster VRE yang baru.<sup>1</sup>

### Klasifikasi Enterococcus

Enterococcus awalnya diklasifikasi sebagai kokus enterik Gram positif, kemudian digolongkan dalam genus *Streptococcus*. Pada

tahun 1903-an berdasarkan sistem tipe serologi Lancefield, *Enterococcus* diklasifikasikan sebagai *Streptococcus* Grup D dan didiferensiasikan dari *Streptococcus* Grup D Nonenterokokal seperti *Streptococcus bovis* dengan karakteristik biokimia. Rekomendasi uji spesifikasi enterik *Streptococcus* dengan karakteristik tambahan yaitu tumbuh pada suhu 10°C dan 45°C, pH 9.6, dalam 6.5% NaCl, menghidrolisis eskulin dalam cairan empedu, dan dapat bertahan pada 60°C selama 30 menit.<sup>1</sup> Kemudian pada tahun 1980-an, berdasarkan perbedaan genetik, *Enterococcus* dipindahkan dari genus *Streptococcus* dan ditempatkan dalam genusnya sendiri *Enterococcus*. Spesies *Enterococcus* yang menginfeksi manusia adalah *Enterococcus faecalis*, ditemukan 80–90% isolat klinik, dan *E. faecium* 5–15%.<sup>1</sup>

### Vancomisin

Vancomisin adalah suatu glikopeptida dengan Berat Molekul 1450, yang dihasilkan oleh *Streptococcus orientalis*. Senyawa ini sulit diserap oleh usus. Vancomisin bersifat bakterisidal terhadap *Staphylococcus* dan beberapa *Clostridia*. Strain yang resisten dengan antibiotika Vancomisin tidak muncul dengan cepat. Efek samping yang tidak diinginkan adalah tromboflebetis, ruam kulit, tuli syaraf dan kadang-kadang kerusakan ginjal, bila digunakan secara sinergis dengan Aminoglikosida.<sup>1</sup>

### Sejarah VRE

Kesulitan pengobatan terhadap *Enterococcus* diketahui sejak tahun 1950-an saat tingkat respon *Enterococcal* endocarditis dengan Penicillin lebih rendah dibandingkan terhadap *Streptococcus endocarditis*. Pada saat itu sebagian besar *Enterococcus* toleran terhadap aktivitas bakterisidal beta-laktam dan antibiotika glikopeptida, sinergi bakterisidal salah satu antibiotika ini dengan aminoglikosida digunakan untuk mengatasi infeksi *Enterococcal* seperti endocarditis dan meningitis. Penggunaan antibiotika kombinasi dalam waktu lama sebagai obat untuk terapi menyebabkan timbulnya toksisitas yang meningkat. Akibatnya efek sinergi bakterisidal antara Aminoglikosida dan beta-laktam atau antibiotika Glikopeptida hilang, sehingga timbul resistensi tingkat tinggi terhadap obat.<sup>1,2</sup>

Resisten terhadap konsentrasi tinggi antibiotika Aminoglikosida biasanya dimediasi oleh enzim Aminoglikosida modifikasi, dan menyebar diantara *Enterococcus*, lebih dari 50% isolat *E. faecium* sangat resisten terhadap Penisilin (Protein Binding Penicillin/PBP mempunyai afinitas rendah terhadap Penisilin). Sampai saat ini golongan Glikopeptida seperti Vancomisin masih merupakan obat pilihan terhadap infeksi *Enterococcus* multiresisten seperti di AS dan di Eropa, selain Vancomisin golongan Glikopeptida lainnya yang digunakan adalah Teikoplanin. Antibiotika ini juga telah digunakan secara luas untuk terapi dan profilaksis, seiring dengan terjadinya peningkatan aktivitas MRSA (*Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin) dan bakteri gram positif lainnya.<sup>1,2</sup>

Penemuan isolat Vancomisin resisten *E. faecalis* dan *E. faecium* pertama kali dilaporkan di Inggris oleh Uttley pada tahun 1988, kemudian berkembang dengan penemuan di Prancis dimana strain isolat VRE mirip dengan isolat yang dideteksi dari rumah sakit Amerika Serikat. Sedangkan di Jepang, VRE strain VanA tipe *E. faecium* ditemukan bersamaan dengan kegagalan terapi Vancomisin oleh Kyoto tahun 1996.<sup>2,3</sup> Saat ini VRE telah menyebar dengan tidak terantisipasi secara cepat di rumah sakit di beberapa Negara di dunia. Di Indonesia strain *Enterococcus* yang diisolasi dari pasien masih sensitif terhadap beberapa jenis antibiotika golongan beta-laktam dan mempunyai sensitivitas yang tinggi terhadap golongan Glikopeptida seperti Vancomisin, Teikoplanin dan Linesolid.<sup>4</sup> Sampai saat ini belum ada data yang valid, berapa prevalensi VRE yang terjadi di Indonesia.

### Mekanisme Resistensi Vancomisin

#### Deskripsi Fenotip

Ada lima fenotip Vancomisin resistensi yaitu VanA, VanB, VanC, VanD dan VanE. Terjadinya resistensi pada fenotipe tersebut dimediasi oleh masuknya gen asing yang sebelumnya tidak ditemukan dalam *Enterococcus* (Tabel 1). Fenotip resistensi VanA dan VanB ditemukan dalam *E. faecalis* dan *E. faecium*. Strain resisten VanA mempunyai induksibel resistensi tingkat tinggi terhadap Vancomisin (MIC > 64 µg/ml).<sup>5</sup> Resistensi dapat diinduksi oleh golongan Glikopeptida

(Vancomisin, Teikoplanin, Avoparsin, Restosetin) dan nonglikopeptida seperti Basitrasin, Polimiksin B, Robenidin, atau obat

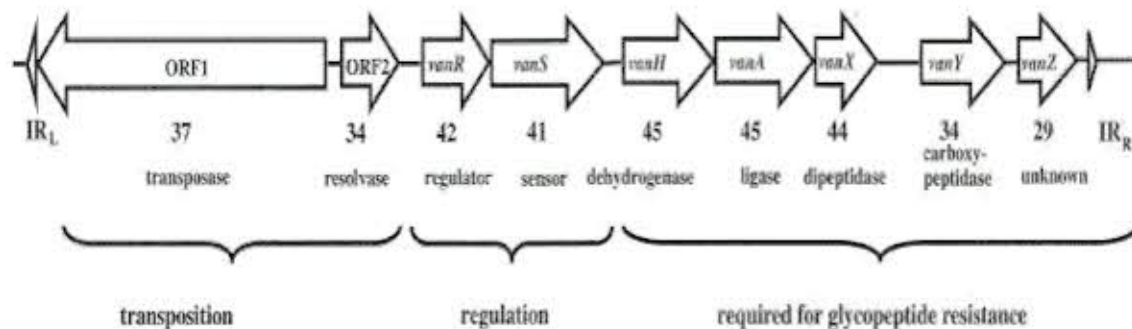
yang digunakan untuk menangani infeksi coccus dan clostridial pada ternak.

Tabel 1. Karakteristik Fenotipe Resistensi Enterococcus terhadap Golongan Glikopeptida.<sup>5</sup>

Karakteristik	Fenotipe				
	VanA	VanB	VanC	VanD	VanE
Vancomisin MIC (µg/ml)	64 - >100	4 - 1.024	2 - 32	128	16
Teikoplanin MIC (µg/ml)	16 - 512	≤ 0.5	≤ 0.5	4	0.5
Spesies Enterococcus	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> , <i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i> , <i>E. casseliflavus</i> , <i>E. flaveszens</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
Perbedaan genetik	di dapat	di dapat	intrinsik	di dapat	di dapat
Ditransfer	ya	ya	tidak	Tidak	tidak

Penelitian molekuler membuktikan resistensi Vancomisin diekspresikan oleh kehadiran gen VanA pada transposon atau loncatan elemen genetik *Tn1546*, sedangkan isolat VanB mempunyai kemampuan menginduksi pola resistensi terhadap Vancomisin dan antibiotika generasi baru (MICs 32-64 µg/ml).<sup>5</sup> Resistensi VanB juga menempati elemen loncat yang dapat ditransfer dari satu strain Enterococcus ke strain lain.<sup>3,5,6</sup>

Fenotip resistensi VanC ditemukan pada *E. casseliflavus* dan *E. gallinarum*, dengan kemampuan tingkat resistensi yang rendah terhadap Vancomisin (MICs 2-32 µg/ml) dan sensitif terhadap Teikoplanin. Penelitian menunjukkan bahwa strain mutan VanB ada yang resistensi terhadap Teikoplanin dan secara fenotip tidak berbeda dari strain VanA.



Gambar 1. Struktur Transposon Tn1546 (10.851 bp) Pembawa Cluster Gen VanA. Transkripsi Gen Resistensi Van dimulai Kerangka Baca (ORF1 dan ORF2) oleh Transposase dan Revolvase.<sup>6</sup>

**Klasifikasi Genotipe Berdasarkan Mekanisme**

**Resistensi**

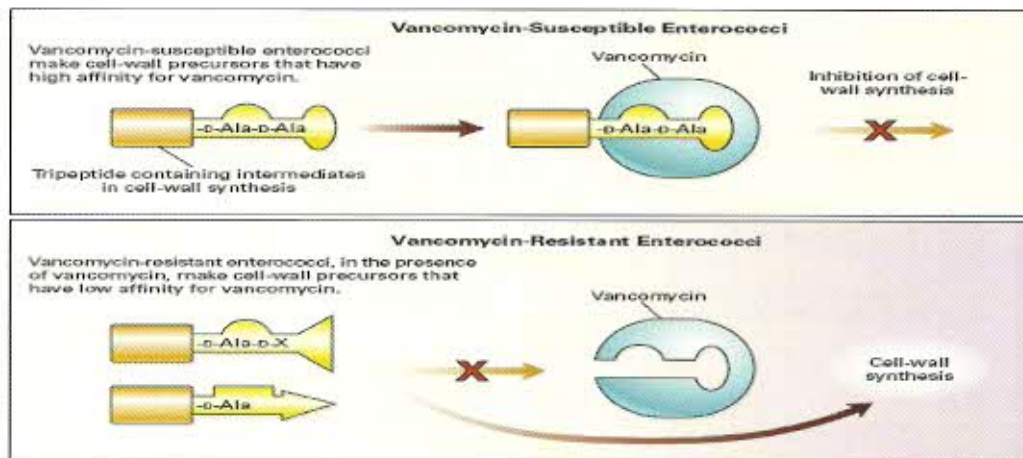
**Aksi Vancomisin pada Sintesis Peptidoglikan**

Secara normal sintesis peptidoglikan dimulai dengan dua molekul D-alanin dengan bantuan enzim ligase menjadi D-Ala-D-Ala,

yang kemudian menjadi UDP-N-asetilmuramil-tripeptida membentuk EDP-N-asetilmuramil-pentapeptida. UDP-N-asetilmuramil-pentapeptida akan bergabung ke dalam nascent

peptidoglikan (transglicosilasi), sehingga membentuk jembatan silang (transseptidasi) dan membuat lapisan peptidoglikan. Vancomisin mempunyai afinitas yang tinggi terhadap ikatan

D-Ala-D-Ala terminal dari unit prekursor pentapeptida, sehingga memblokir pertumbuhan rantai peptidoglikan dan mencegah terjadinya ikatan silang (Gambar 2).



Gambar 2. Mekanisme Vancomisin Resisten *Enterococcus*.<sup>7</sup>

### Resistensi Glikopeptida VanA

Gen VanA dan gen lain yang terlibat dalam pengaturan dan penampilan resistensi Vancomisin (VanR, VanS, VanH, VanX, dan VanZ) dilokasikan oleh sebuah transposon 10.581bp (Tn1546) pada plasmid dalam ekstrakromosom *E. Faecium* (Gambar 1 dan Gambar 3). Ekspresi gen VanA menyebabkan sintesis terminasi prekursor peptidoglikan tidak normal, menjadi D-Ala-D-lactat yang seharusnya D-Ala-D-Ala (Gambar 2). Selain karena ekspresi gen VanA, sintesis terminasi pentadepsipeptida dalam D-Ala-D-Lac juga dipengaruhi oleh aktivitas fungsi protein inti, dengan cara sebagai berikut:<sup>1,6,7</sup>

- i) protein VanA merupakan ligase spesifik terhadap substrat dalam menghasilkan D-Ala-D-Lac saat pembentukan D-Ala-D-Ala.
- ii) Protein VanH adalah asam D-hidroksi dehidrogenase yang menciptakan sebuah *pool* D-laktase untuk kegunaan dalam reaksi di atas. Jadi VanH bertanggung jawab untuk sintesis D-laktat.
- ii) Protein VanX adalah D,D-dipeptidase berperan dalam membantu penurunan aktivitas D-Ala-D-Lac. Enzim ini mengurangi *pool* D-Ala-D-Lac yang

diproduksi oleh ligase enterococcal asing, sehingga meminimalisasi persaingan sintesis bersaing pentapeptida normal.

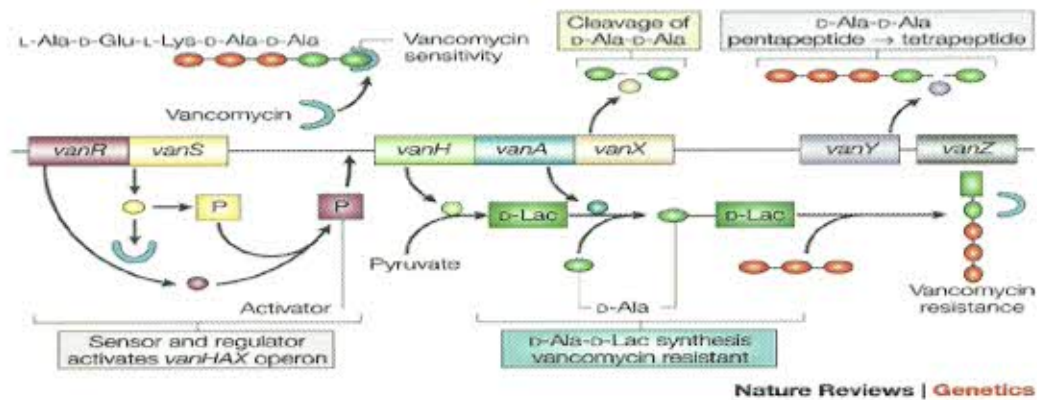
Eksresi resistensi VanA tidak dapat bertahan sebab asam D-hidroksi seperti D-Lac bukan suatu produk alami dalam lingkungan *Enterococcus* dan tidak diproduksi secara normal oleh *Enterococcus*. Jadi untuk mensintesis D-laktat, *Enterococcus* harus merusak gen dalam operon VanA, dimana VanA tersebut dibutuhkan untuk menghasilkan substrat yang diperlukan.

Protein VanR dan VanS membangun dua sistem komponen regulasi transkripsi gen VanHAX (Gambar 3). VanS berfungsi sebagai deteksi kehadiran Vancomisin atau beberapa efek dari Vancomisin pada sintesis dinding sel. VanS kemudian memberi sinyal ke VanR sehingga respon regulasinya menghasilkan aktivasi sintesis beberapa protein lain (VanH, VanA, VanX) yang terlibat dalam resistensi. VanY dan VanZ tidak penting untuk resistensi. Protein VanY adalah D,D-karboksipeptidase yang memecah peptida terminal D-Ala dari setiap peptida normal yang telah dibuat, kontribusinya menimbulkan resistensi tahap paling akhir.<sup>6</sup>

Pemetaan gen VanA dari beberapa isolat, menunjukkan adanya heterogenitas *strain* yang ditandai dengan munculnya Tn1546, tetapi juga

memunyai kemiripan sekuens insersi dengan VanS dan VanH.<sup>3</sup> Kluster gen resistensi Vancomisin ini dapat bergabung ke dalam

elemen loncat yang lebih besar yang mengandung insersi tambahan.



Gambar 3. Sistem Regulasi Komponen Cluster Gen VRE.<sup>8</sup>

### Resistensi Glikopeptida VanB

Resistensi glikopeptida VanB pada Enterococcus dimediasi oleh ligase VanB yang secara struktural berhubungan dengan ligase VanA (76% asam amino).<sup>5</sup> Protein VanB juga mendukung produksi terminasi pentapeptida dalam D-Ala-D-Lac. Gen resistensinya analog dengan gen resistensi klas A seperti: VanH<sub>B</sub>, VanX<sub>B</sub>, VanY<sub>B</sub>, VanR<sub>B</sub>, dan VanS<sub>B</sub>.<sup>6,7</sup> Tingkat aktivitas D-D dipeptidase VanX<sub>B</sub> berhubungan dengan tingkat resistensi Vancomisin. VanY<sub>B</sub> tidak ditemukan dalam semua strain, dan posisinya dalam kluster gen berbeda dari Tn1546 VanY.

Penelitian menunjukkan adanya heterogenitas sekuens DNA, yang dibagi menjadi tiga sub tipe gen ligase VanB: VanB-1, VanB-2, dan VanB-3. Sistem pengaturan dalam strain klas B berdasarkan sensitivitas terhadap Teikoplanin.<sup>6,7</sup> Teikoplanin mampu menginduksi sintesis protein VanA, tetapi tidak menginduksi produksi VanB. Sebaliknya, Vancomisin menginduksi sintesis protein resistensi dari kedua sistem, untuk memastikan Teikoplanin resisten Enterococcus, cluster gen VanB harus dibuktikan deteksi uji resistensi. Beberapa mutan dapat juga muncul selama terapi *in vivo*. Mekanisme resistensi Teikoplanin pada mutan ini disebabkan hilangnya induser dan kemampuan Teikoplanin bertindak sebagai induser.

Penyebaran resistensi VanA di seluruh dunia lebih luas daripada tipe VanB, hal ini membuktikan VanA lebih unggul dari tipe VanB. Laporan beberapa rumah sakit menunjukkan strain VanB lebih kecil dari VanA. Gen ligase VanA juga telah ditemukan dalam spesies Nonenterococcal seperti *Corynebacterium spp*, *Arcanovacterium haemolyticum*, dan *Lactobacoccus spp*, sementara VanB saat ini hanya ditemukan pada *E. faecium* dan *E. faecalis*.<sup>1,6</sup>

Perbedaan dalam penyebaran resistensi ini berkaitan dengan kluster gen VanA yang sering dilokasikan transposon yang mirip dengan Tn1546, atau juga melalui konyugasi plasmid melalui regulasi genetik. Kluster VanB sering dilokasikan pada kromosom induk dan awalnya diduga tidak dapat berpindah ke bakteri lain, tetapi hal tersebut juga dapat terjadi pada plasmid, dan bahkan secara kromosomal, kluster gen ini telah ditransfer sebagai bagian dari elemen loncat, atau mungkin berhubungan dengan konyugasi transposon besar.

### Resistensi Glikopeptida VanC

Sekuens nukleotida VanC-1 dan gen VanC-3 telah dibuktikan ada pada *E. flavescens*.<sup>6</sup> Prevalensi resistensi Vancomisin pada strain *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, dan *E. flavescens* adalah rendah. Ligase VanC *E. gallinarum* mendorong terbentuknya terminasi pentapeptida dalam D-Ala-D-Ser. Substitusi D-

Ser untuk D-Ala diasumsikan memerlemah ikatan Vancomisin pentapeptida baru.<sup>1,6,7</sup>

Jumlah relatif antara D-Ala-D-ala menjadi D-Ala-D-Ser akan menentukan tingkat resistensi Vancomisin pada isolat VRE pembawa fenotip VanC, dimana bila MIC lebih rendah berarti jumlah D-Ala-D-Ala memungkinkan Vancomisin untuk menghambat sintesis dinding sel, dan bila MIC lebih tinggi berarti jumlah D-Ala-D-Ser lebih tinggi.

Gen VanC-2 *E. casseliflavus* 66% sekuens nukleotidanya homolog dengan VanC-1. Pada *E. gallinarum* gen VanC2 dan VanC3 mempunyai homologi sekuens 98%. Gen VanA telah diidentifikasi dalam strain *E. gallinarum* dan *E. casseliflavus* dengan tingkat resistensi yang tinggi terhadap Vancomisin (MIC > 256 µg/ml).<sup>5,7</sup>

### Resistensi Glikopeptida VanD

Gen resistensi Vancomisin terbaru adalah VanD, ditemukan tahun 1991 di salah satu rumah sakit di AS. Strain dibawa oleh *E. faecium* yang menghambat Vancomisin pada 64 µg/ml dan Teikoplanin pada 4 µg/ml.<sup>5,9</sup> Sekuens gen ligase menunjukkan kemiripan dengan gen ligase VanA dan VanB. Di Boston telah ditemukan tiga isolat klinik *E. faecium* resisten Vancomisin pembawa resisten VanD dan sekuens 67% homolog dengan VanA dan VanB.<sup>10</sup> VanD merupakan gen yang lokasinya terletak pada kromosom dan tidak mudah berpindah (*transferable*) ke *Enterococcus* lain.

### Resistensi Glikopeptida VanE

Gen resisten Vancomisin VanE dapat dideteksi dalam *E. faecalis* BM4405, tingkat resistensinya rendah terhadap Vancomisin (MIC 16 µg/ml) dan sensitif terhadap Teikoplanin (MIC 0.5 µg/ml).<sup>5,9</sup> Fenotip resistensi VanE secara intrinsik tipe resistensinya mempunyai kemiripan dengan VanC. Hal ini disimpulkan berdasarkan homologi rangkaian asam amino, dimana VanE (55%) identik dengan VanC, VanA (45%), VanB (43%), atau VanD (44%).<sup>9</sup>

### Resistensi Organisme Lain

Beberapa strain bakteri selain *Enterococcus* seperti *Lactobacillus casei*, *Pediococcus pentosaceus*, dan *Lauconostoc*

*mesenteroides* secara alamiah resisten terhadap glikopeptida. Gen pembawa VRE pada strain bukan *Enterococcus* tersebut sama dengan gen yang terdapat pada fenotip VanA atau VanB.

Penelitian di laboratorium membuktikan transfer gen pembawa VRE dapat diterima oleh strain bakteri *Streptococcus* grup A, *Streptococcus viridan*, *Listeria monocytogenes*, dan *Staphylococcus aureus*.<sup>6</sup> Transfer gen VRE terhadap *S. aureus* melalui jaringan bawah kulit tikus, menghasilkan resistensi tingkat tinggi, hal ini membuktikan bahwa dalam kondisi alamiah transfer gen resistensi tersebut dapat terjadi ke manusia juga. Gen resistensi Vancomisin telah ditemukan dalam isolat manusia dari organisme nonenterococcal *Streptococcus bovis*, yaitu gen VanB (ditandai VanB3).<sup>6</sup>

### Enterococcus Vancomisin-dependent

Suatu fenomena dimana *Enterococcus* hanya dapat tumbuh bila media mengandung Vancomisin, hal ini ditemukan pada strain VanA maupun VanB. Ketergantungan terhadap Vancomisin menunjukkan bahwa *Enterococcus* tidak memproduksi D-Ala-D-Ala, tetapi dapat tumbuh jika struktur dipeptida pengganti dibuat.<sup>6,7,10</sup>

### Kesimpulan

Vancomisin adalah antibiotika golongan glikopeptida, yang secara umum digunakan dalam lingkungan rumah sakit. Kemampuan *Enterococcus* bertahan dalam lingkungan, menunjukkan terjadinya peningkatan pola resistensi terhadap Vancomisin. Resistensi Vancomisin diekspresikan oleh kehadiran gen VanA pada transposon atau loncatan elemen genetik *Tn1546*. Ada lima fenotip Vancomisin resistensi yaitu VanA, VanB, VanC, VanD dan VanE.

Sintesis peptidoglikan dimulai dengan dua molekul D-alanin dengan bantuan enzim ligase menjadi D-Ala-D-Ala, yang kemudian menjadi UDP-N-asetilmuramil-tripeptida membentuk EDP-N-asetilmuramil-pentapeptida. UDP-N-asetilmuramil-pentapeptida akan bergabung ke dalam nascent peptidoglikan (transglikosilasi) sehingga membentuk jembatan silang (transpeptidasi) dan membuat lapisan peptidoglikan.



Mekanisme resistensi *Enterococcus* terhadap golongan glikopeptida karena ekspresi gen VanA menyebabkan sintesis terminasi prekursor peptidoglikan tidak normal, menjadi D-Ala-D-laktat yang seharusnya D-Ala-D-Ala. Selain itu ekspresi gen VanA, juga memengaruhi sintesis terminasi pentadepsipeptida dalam D-Ala-D-Lac dan aktivitas fungsi protein inti untuk menghasilkan ligase, asam D-hidroksidehidrogenase, dan D-laktase.

Aktivitas sinergi bakterisidal beta-laktam atau glikopeptida, dengan aminoglikosida yang digunakan untuk mengatasi infeksi *Enterococcal* dalam waktu lama, menyebabkan timbulnya toksisitas yang meningkat, akibatnya efek sinergi bakterisidal antara aminoglikosida dan beta-laktam atau glikopeptida hilang, sehingga timbul resistensi tingkat tinggi terhadap antibiotika. Resistensi terhadap konsentrasi tinggi aminoglikosida dimediasi oleh enzim aminoglikosida modifikasi, dan menyebar diantara *Enterococcus*.

#### Daftar Pustaka

1. Centinkaya, Y., Pamela F., C. Glen Mayhall. Vancomisin resistant *Enterococci*. *Clinical Microbiology Reviews*. 2000. 686-707.
2. Arakawa Y., Yosuyoshi I., Mitsuaki N. *et al*. Trends in antimicrobial-drug resistance in Japan. *Current Issue*. 2000. Vol 6:No 6.
3. Bonilla, HF., Zervos, MA., Lyons, MJ. *et al*. Colonization with Vancomisin resistant *E. faecium*: comparison of a long term care unit with an acute hospital. *Inf. Control Hosp. Epidemiol*. 1997.18:333-9.
4. Latre. 2003. Symposium update in bacterial and fungal infections: Suseptibility pattern of *Enterococcus* in RSAB Harapan Kita, 2002.
5. Gold, H. Antimicrobiol drug resistance. *N.Engl.J.Med*. 1996. 335:1445-53.
6. Haruyoshi Tomita, Koichi Tanimoto, Satoshi Hayakana. *at al*. Highly Conjugative pMG1-Like Plasmids Carrying Tn1546-Like Transposons That Encode Vancomisin Resistance in *Enterococcus faecium*. *Journal of Bacteriology*, December 2003. Vol. 185, No. 23: p. 7024-8.
7. Alastair J.J.Wood. Drug Therapy: Vancomisin resistant *Enterococcal* infections. *The New England Journal of Medicine*. 2000. March 9:710-21.
8. Sader HS . Results of the 1997 SENTRY Antimicrobial surveillance program in three Brazilian medical centers. *Braz J Infect Dis*. 1999. Apr;3(2):63-79.
9. Cunha BA. Elsevier Science USA. Strategies to control antibiotic resistance. *Semin Respir Infect*. 2002. Sep;17(3):250-8.
10. Boyce, J.M. VRE:detection,epidemiology and control Measures. *Infect.Dis.Clin.North Am*. 1997. 11:367-84.