

Vankomisin dirençli enterokok suşlarının rep-PCR yöntemi ile klonal analizlerinin değerlendirilmesi

Evaluation of clonal analysis of vancomycin-resistant enterococci strains by rep-PCR method

Seyit Ahmet BAYIK¹, İpek MUMCUOĞLU¹, Şenol KURŞUN¹, Neriman AKSU¹

ÖZET

Amaç: Vankomisin dirençli enterokoklar (VRE), hızlı yayılımları, artan mortaliteri oranları, sınırlı tedavi seçenekleri ve vankomisin direncini daha virulan patojenlere transfer etme olasılıkları nedeniyle önemli nozokomiyal patojenler haline gelmişlerdir. VRE enfeksiyonlarını engellemek için hastanelerde aktif sürveyans yapılmalıdır. Moleküler tiplendirme, sürveyans boyunca bulaş yollarının gösterilmesi için en uygun yöntemdir. Ancak, uygulaması kolay ve tekrarlanabilirliği yüksek tiplendirme metodlarının eksikliği yaşanmaktadır. Hastane salgınlarının belirlenmesi ve kontrol önlemlerinin alınmasında, kullanım kolaylığı ve hızlı sonuç vermesi ile rep-PCR, hızlı bir tarama metodu sunmaktadır. Bu çalışmada, hastanemizde izole edilen VRE suşlarının rep-PCR (tekrarlanan palindromlara dayalı polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile klonal analizlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Dördü klinik örneklerden, 18'i hasta rektal sürüntü örneklerinden, 26'sı çevre kültürlerinden elde edilen toplam 48 VRE suşu alınmıştır. İzolatların tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testleri Vitek 2 otomatize sistemi (bioMérieux, Fransa) ile değerlendirilmiştir. Klonal analizleri rep-PCR yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Çalışılan 48 VRE suşunun tümü *Enterococcus faecium* olarak tanımlanmıştır.

ABSTRACT

Objective: Vancomycin resistant enterococci (VRE) has become an important nosocomial pathogens because of its rapid spread, accelerating mortality rates, limited options for therapy, and the possible transfer of vancomycin resistance to more-virulent pathogens. Active surveillance should be done to prevent VRE infections in hospitals. Molecular typing is most convenient method to show route of transmission during a surveillance. However, easy-to-perform, and reproducible typing methods are lacking. In detecting the hospital outbreaks and in taking the control measures, the rep-PCR presents a rapid screening method with its ease of use and rapid turnaround time. In this study, it was aimed to assess the clonal analysis of VRE strains isolated in our hospital with rep-PCR method (repetitive sequence based polymerase chain reaction).

Method: A total of 48 VRE strains obtained from four clinical specimens, 18 rectal swab samples and 26 environmental cultures. Identification and antibiotic susceptibility tests of isolates was evaluated by automated Vitek-2 system (bioMérieux, France). Clonal analysis was performed by using rep-PCR (DiversiLab, France) method.

Results: All the studied 48 strains were identified as *E. faecium*. The four clones which were determined by rep-PCR analysis, were named as A, B, C, D and in these groups sequentially the presence of 35, 3, 2, 2

¹ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : İpek MUMCUOĞLU

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, ANKARA

Tel : +90 312 508 44 77

E-posta / E-mail : ipekumcuoglu@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 12.01.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 30.09.2015

DOI ID : 10.5505/TurkJHijyen.2016.94809

Bayık SA, Mumcuoğlu İ, Kurşun Ş, Aksu N. Vankomisin dirençli enterokok suşlarının rep-PCR yöntemi ile klonal analizlerinin değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2016; 73(1): 1-8.

rep-PCR yöntemiyle belirlenen dört klon A, B, C, D grupları olarak isimlendirilmiş ve sırasıyla bu gruplarda 35, 3, 2, 2 suş olduğu tespit edilmiş ve altı izolatanın ise hiçbir klonla benzeşmediği görülmüştür.

Sonuç: Hastanemizde ilk VRE suşunun izole edildiği 2004 yılından beri hastane enfeksiyonlarını engellemek için riskli kliniklerde sürveyans yapılmaktadır. Ancak daha etkin enfeksiyon kontrolü için bulaş kaynaklarının ve geçiş yollarının kısa sürede gösterilmesi önemlidir. Bu çalışmada, rep-PCR yöntemi ile VRE suşlarının klonal yayılımı gösterilmiştir. Sonuç olarak rep-PCR yönteminin epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilir ve enfeksiyon kontrol önlemlerine yardımcı olabilecek, hızlı, uygulaması ve değerlendirmesi kolay bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Vankomisin direnci, *Enterococcus faecium*, rep-PCR, sürveyans

strains were determined and no clonic similarity were observed in the six isolates.

Conclusion: The surveillance of VRE in risky clinics has been performed to prevent hospital infection since the first isolation of VRE in our hospital in 2004. However, it is important to show sources of contamination and route of transmission in a short time for more effective infection control. In this study, the clonal spreading of VRE strains with rep-PCR method was demonstrated. As a result the rep-PCR method was considered as a rapid, easily applied and evaluated method that can be used in epidemiological studies and can help infection control measures.

Key Words: Vancomycin resistance, *Enterococcus faecium*, rep-PCR, surveillance

GİRİŞ

Gastrointestinal sistemin flora elemanlarından olan enterokoklar, 1970'li yıllara kadar nadiren endokardit gibi bazı hastalıkların etkeni olarak bildirilmiştir. Daha sonraki yıllarda antibiyotik kullanımındaki artışa bağlı olarak enterokokların toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyon hastalıkları etkenleri içindeki oranları artmıştır (1, 2). Çoklu ilaç direnci gösteren Gram pozitif bakteri enfeksiyonlarında kullanılan vankomisine karşı dirençli ilk enterokok suşunun 1986'da izole edilmesi hastane enfeksiyonu etkenleri arasında enterokokların önemini arttırmıştır (3). Geçen yirmi yıllık süreçte dünyanın hemen her ülkesinde çok sayıda hastanede vankomisin dirençli enterokok (VRE) suşları raporlanmıştır (4). Ülkemizde de ilk izolasyonun yapıldığı 1998 yılından günümüze çeşitli hastanelerde her geçen gün artan sayıda VRE kolonizasyon ve enfeksiyonu bildirilmektedir (5).

Özellikle çoklu ilaç direnci gösteren hastane kaynaklı bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede; doğru stratejilerin geliştirilmesi ve sağlıklı, ekonomik, etkin sonuçların alınabilmesi için enfeksiyon etkenlerinin epidemiyolojik özelliklerinin belirlenmesi zorunludur. Enterokokların hastane

epidemiyolojilerini araştırmada; bakteriyosin tiplendirmesi, faj tiplendirmesi, biyokimyasal reaksiyon profilleri, antimikrobiyal direnç paternleri ve serolojik yöntemler gibi klasik fenotipik tiplendirme yöntemleri kullanılabilir. Ancak yöntemler çoğunlukla enterokoklar için bu ayırımı yeterince yapamamış ve epidemiyolojik çalışmalar için yararı kısıtlı olmuştur. Moleküler tiplendirme; dirençli enterokokların araştırılmasında, yayılımın önlenmesinde ve kontrolünde daha etkin bir yöntemdir (6-8).

Moleküler tiplendirme amacıyla yarı otomatize olarak ticari kullanıma sunulmuş olan rep-PCR yöntemi yapılan çalışmalarda PFGE (pulsed field gel elektroforezis) yöntemine iyi bir alternatif olarak bildirilmektedir (9, 10).

Bu çalışmada, hastanemizde başta yoğun bakım üniteleri (YBÜ) olmak üzere çeşitli birimlerde yatan hastaların klinik örneklerinden, sürveyans amaçlı alınan rektal sürüntü ve çevre kültürlerinden izole edilen VRE suşları rep-PCR yöntemi ile çalışılmış ve epidemiyolojik yakınlıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesinin Enfeksiyon Kontrol Komitesi tarafından yürütülen süreyans programı kapsamında 09 Kasım 2011 - 14 Aralık 2011 tarihleri arasında çeşitli kliniklerde yatan hastalardan alınan klinik materyallerden, rektal sürüntü örneklerinden ve çevre kültürlerinden izole edilen 48 Vankomisin dirençli enterokok (VRE) suşu çalışmaya alınmıştır. Her hasta için aynı tip materyalden izole edilen tek suş değerlendirilmiştir.

Örneklerin alımı, ekimi ve değerlendirilmesi:

Hastanemizin riskli kliniklerinde yatan hastaların rektal sürüntü örnekleri 15 günde bir düzenli olarak VRE açısından değerlendirilmektedir. Taşıyıcıların artması ya da enfeksiyon oluşması durumunda çevre örnekleri de alınmaktadır. Rektal sürüntü örneklerinin Enterokokkosal agara (Oxoid, İngiltere) direkt ekimi yapılırken, çevre örnekleri 24 saat 37 °C'de VRE broth (Oxoid, İngiltere) besiyerinde zenginleştirme kültürü yapıldıktan sonra Enterokokkosal agara ekilmiştir. Klinik örnekler rutin olarak kanlı ve EMB (Oxoid) agara ekilmişlerdir. Kültürler aerop ortamda 37 °C'de maksimum 48 saat inkübe edilmiştir. Enterokokkosal agarda siyah renk oluşturarak üreyen koloniler ve klinik örneklerin koyun kanlı agarda görülen şüpheli kolonileri; hemoliz özelliği, Gram boyama, katalaz testi, %40 safralı eskülinli agarda üreme ve %6,5 NaCl'li buyyonda üreme testleri değerlendirilerek *Enterococcus* spp. olarak tanımlanmıştır. Enterokokların tür düzeyinde tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi, VITEK-2 otomatize sistemiyle (bioMérieux-Fransa) yapılmıştır.

Moleküler epidemiyolojik tiplendirme:

Çalışmada, moleküler epidemiyolojik tiplendirme amacıyla otomatize rep-PCR (Diversilab, bioMérieux, Fransa) yöntemi kullanılmıştır. DNA ekstraksiyonu, 'UltraClean®' mikrobiyal DNA izolasyon kitiyle (MOBIO Laboratories Inc, Kaliforniya, ABD) üretici firma önerileri doğrultusunda yapılmış ve ekstrakte edilen *E. faecium* DNA'ları DiversiLab Enterococcus DNA parmak izi kiti (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, Fransa) kullanılarak rep-PCR yöntemiyle amplifiye edilmiştir. Örneklerden çoğaltılan amplikonlara DiversiLabTM

DNA LabChip Kit'i kullanılarak mikro-akışkan elektroforez yapılmıştır. Yükleme yapılan çipler "Agilent 2100 Biyoanalizör" (Agilent Technologies, ABD) cihazına yüklenip VRE suşlarının rep-PCR tabanlı parmak izi kalıpları, internet tabanlı yorumlama ve yazılım programı olan '2100 expert software versiyon 3.4' ile değerlendirilmiştir. Bu yazılımda test edilen örnekler arasındaki benzerlik hesaplamasında Pearson Korelasyon Testi ile benzerlik matrisi oluşturularak sonuçlar analiz edilmiştir. İzolatlardan benzerliği >%97 olan, bant farkı olmayan suşlar "ayrıt edilemez"; benzerliği %95-97 olan, 1-2 bant farkı olanlar "benzer" ve benzerliği <%95, >2 bant farkı olanlar "farklı" olarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmada, 09 Kasım 2011- 14 Aralık 2011 tarihleri arasında hastanemiz yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ), plastik cerrahi servisi (PCS), nefroloji, hematoloji ve acil dahiliye servisinde (ADS) yatan hastalardan ve çevre kültürlerinden izole edilen 48 VRE suşu değerlendirilmiştir.

Konvansiyonel tanımlama yöntemleriyle ve VITEK-2 (bioMérieux) ile yapılan tür tayininde izolatların hepsi *E. faecium* olarak tanımlanmıştır. VITEK AST-534 (bioMérieux) duyarlılık kartları ile izolatların tamamının vankomisin ve teikoplanine dirençli oldukları belirlenmiştir. İzolatların kliniklere göre dağılımı Tablo 1'de görülmektedir.

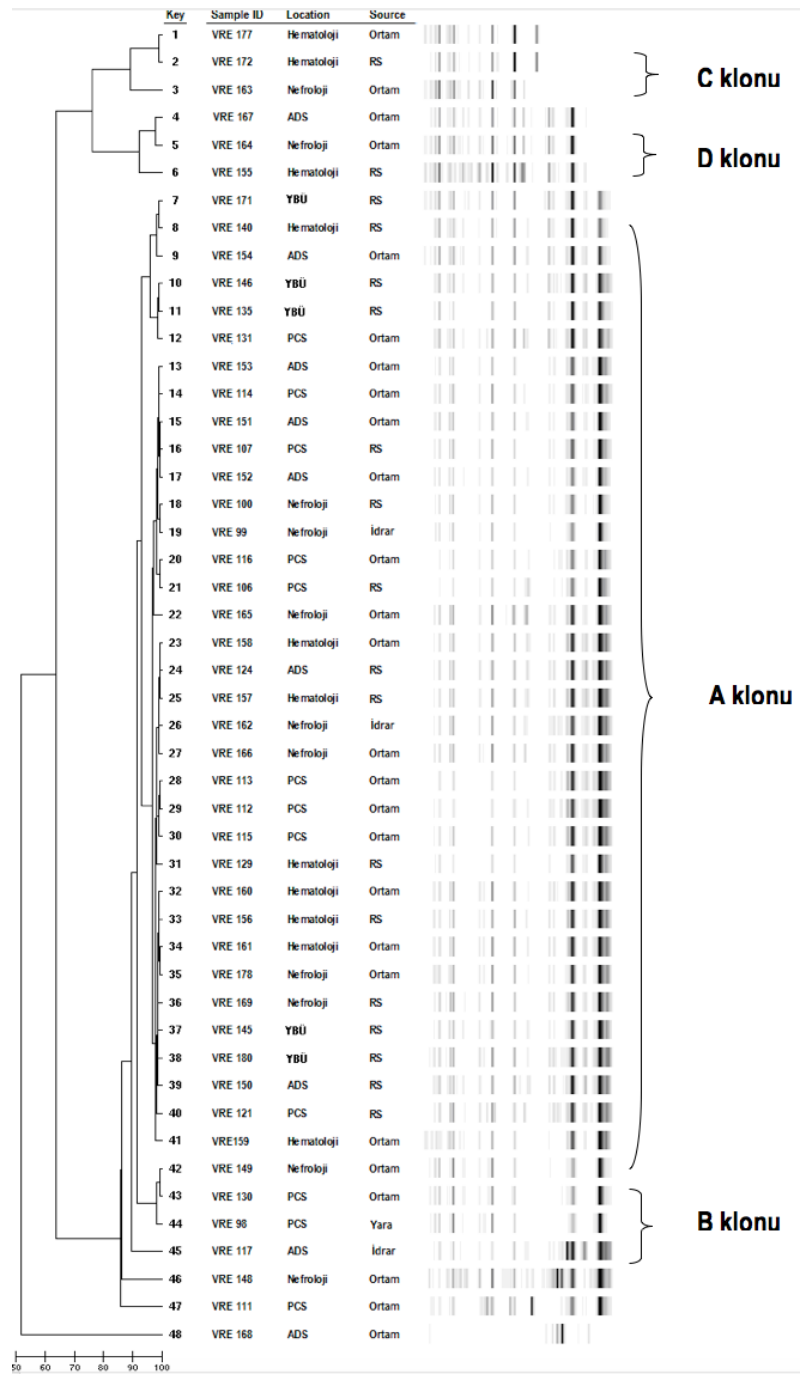
Tablo 1. VRE izolatlarının kliniklere göre dağılımı

Servis	Klinik örneklerden izole edilen VRE	Rektal sürüntüden izole edilen VRE	Çevreden izole edilen VRE
	n (%)	n (%)	n (%)
PCS	1 (%2,1)	3 (%6,3)	8 (%36,4)
Nefroloji	2 (%4,2)	2 (%4,2)	7 (%14,6)
Hematoloji	-	6 (%12,5)	5 (%10,4)
ADS	1 (%2,1)	2 (%4,2)	6 (%12,5)
YBÜ	-	5 (%10,4)	-
Toplam	4 (%8,3)	18 (%37,5)	26 (%54,2)

PCS: Plastik Cerrahi Servisi, ADS: Acil Dahiliye Servisi, YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi

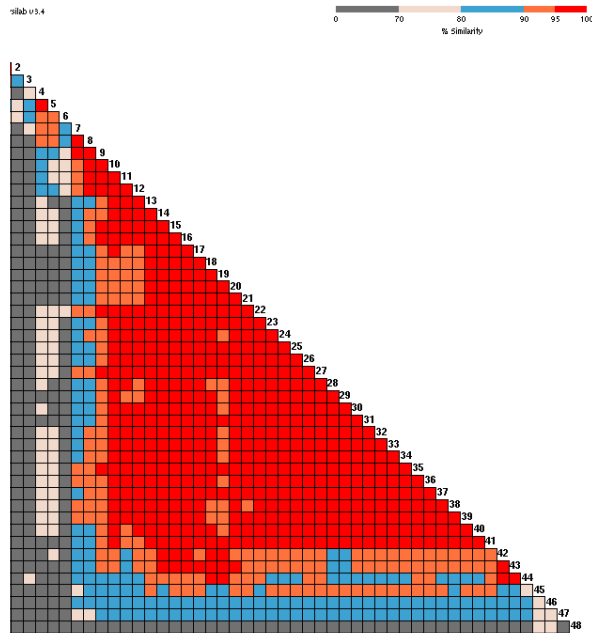
Çalışma sürecinde izole edilen dört klinik örneğin, biri PCS'de yatmakta olan hastanın yara kültüründen, ikisi nefroloji kliniğinde yatmakta olan hastanların idrar kültüründen ve biri ADS'de yatmakta olan hastanın idrar kültüründen izole edilmiştir. Örneklerin 18 (%37,5)'i hastalardan alınan rektal sürüntü örnekleri olup VRE izole edilen bu hastaların sekizi (%44,4) erkek, 10 (%55,6)'u kadın; yaş dağılımları 16-90 yıl arasında tespit edilmiştir (ortalama 60,3 yıl). Örneklerin 26 (%54,2)'sı VRE ile kolonize ve enfekte hastaların odalarından alınan ortam kültürlerinden elde edilmiştir. Bunların 17 (%65,4)'si yatak demirlerinden, dördü (%15,4) etejerlerden, ikisi (%7,7) dolaplardan, biri (%3,9) yatak başı masadan, biri (%3,9) pansuman arabasından ve biri (%3,9) mobil ultrason cihazından izole edilmiştir.

VRE izolatlarının genetik yakınlıklarını incelemek için rep-PCR (Diversilab, bioMérieux) ile yapılan değerlendirmede; toplam dört klon belirlenmiştir. A, B, C, D klonlarında sırayla 35, 3, 2, 2 VRE suşu bulunmuştur (Şekil 1). En fazla izolat içeren (35/48; %72,9) A klonu, çalışma için örnek alınan tüm servislerden izole edilmiştir. Bu klon YBÜ'den gönderilen hasta rektal sürüntü örneklerinin tamamından (5/5); plastik cerrahi servisinden gönderilen örneklerin %75'inden (3/12 rektal sürüntü; 6/12 çevre);



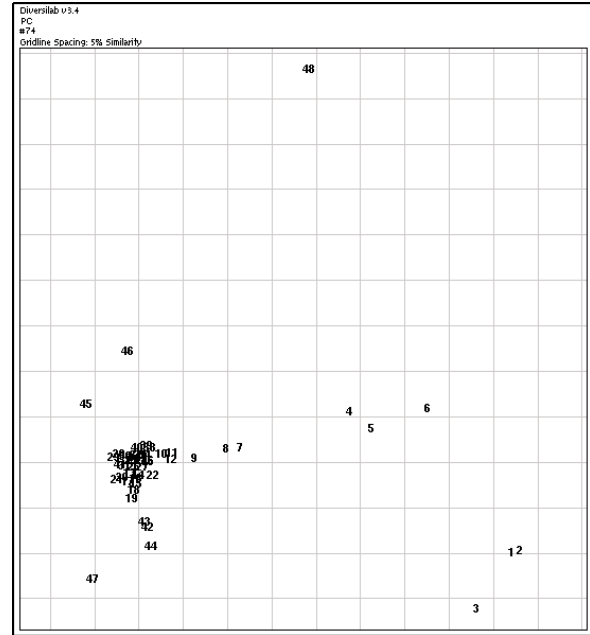
Şekil 1. VRE izolatlarının jel benzer görüntü dendrogramı. Dört klon görülmekte A (7-41); B (42-44); C (1,2); D (4,5). Altı izolatın hiçbir izolatla benzerliği saptanmamıştır (3, 6, 45-48). ADS: Acil Dahiliye Servisi, YBÜ: Yoğun Bakım Ünitesi, PCS: Plastik Cerrahi Servisi, RS: Rektal sürüntü örneği, Ortam: Ortam kültür örneği.

hematoloji servisinden gönderilenlerin %72,7'sinden (4/11 rektal sürüntü; 4/11 çevre); ADS'den gönderilenlerin %66,7'sinden (2/9 rektal sürüntü; 4/9 çevre) ve nefroloji servisinden gönderilen örneklerin %63,6'sından (2/11 idrar; 2/11 rektal sürüntü; 3/11 çevre) izole edilmiştir. A klonundaki örneklerin alım zamanı 11 Kasım - 14 Aralık 2011 tarihleri arasında yapılmıştır. B klonunda plastik cerrahi servisinde biri hasta yara örneğinden, diğeri çevre kültüründen ve biri nefroloji servisindeki çevre kültüründen olmak üzere toplam üç izolat bulunmuştur. Ayrıca diğeri suşlarla benzerlik oranları %95'ten küçük olan altı izolatin (%8,2) hiçbir klona ait olmadığı izlenmiştir. Bunlardan ikisi ADS'den (1/6 idrar; 1/6 çevre), ikisi nefroloji ortam kültürlerinden, birisi PCS ortam kültüründen ve sonucusu hematoloji servisinde yatmakta olan hasta rektal sürüntü kültüründen izole edilmiştir. C klonundaki iki izolatin benzerliği %99,2 olup bu izolatlardan bir tanesi hematoloji kliniğinde yatmakta olan hastanın rektal sürüntüsünden diğeri ise aynı hastaya ait yatağının demirinden izole edilmiştir. D klonunda bulunan izolattan biri ADS'deki etejerden; diğeri nefroloji servisinin yatak demirinden alınan



Şekil 2. VRE izolatlarının benzerlik matrisi

çevre kültür örneklerinden aynı günde izole edilmiş ve benzerlik oranları %97,9 olarak bulunmuştur. Tüm VRE suşlarının Diversilab v3.4 yazılım programıyla hesaplanan yüzde benzerlik matrisleri Şekil 2 ve Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 3. VRE izolatlarının scatter plot (serpme diagram) görünümü

TARTIŞMA ve SONUÇ

Vankomisin dirençli enterokok suşu ilk olarak 1986 yılında Uttley ve ark. tarafından İngiltere'den ve Leclercq ve ark. tarafından Fransa'dan bildirilmiştir (3, 8). Ülkemizde ise ilk bildirim 1998'de Akdeniz Üniversitesi'nden Vural ve ark. tarafından yapılmıştır (5). Geçen yirmi yıllık sürede VRE enfeksiyon ve kolonizasyon oranları hızla artmış ve pek çok hastanenin problemi haline gelmiştir.

Ülkemizde hastalardan izole edilen VRE kökenleri incelendiğinde, çoğunun *E. faecium* olduğu ve vana direnç geni taşıdıkları görülmektedir (9, 10).

Hastanemizde ilk kez 2004 Eylül ayında hematoloji kliniğinde yatmakta olan bir hastanın idrar kültüründe VRE tesbitinin ardından yapılan surveyans çalışmalarında, hematoloji-onkoloji kliniğinde yatan

hastalardan ve çevre sürüntülerinden, toplam 18 VRE suşu izole edilmiştir. Bu suşların tamamı *E. faecium* olarak tanımlanmıştır (11).

Alaca ve ark.'nın (12); 2009'da yine hastanemizde yaptığı bir çalışmada, izole edilen 38 VRE suşunun 30 (%78,95)'unda vanA, sekizinde (%21,05) vanB direnç geni tespit edilmiştir. Ayrıca vanB geni taşıyan suşların tamamının farklı kliniklerden izole edilmesine rağmen aynı klondan oldukları ve kaynağın sekiz hastanın da başvurduğu hemodiyaliz kliniği olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, 38 izolatta PFGE testine göre her birisinde üç ile on arasında izolat bulunan altı farklı bant paterni elde edilmiş ve VRE izolatlarının çalışmamıza benzer şekilde o dönemde de hastanemizde poliklonal yayılım gösterdikleri saptanmıştır.

PFGE; hastane kökenli salgınlara sürveyansında, salgın izolatlarının ilişkilendirilmesi ve salgın kaynağının tespit edilmesinde "altın standart" olarak kabul edilmektedir (6, 13). Ancak PFGE yoğun iş gücü gerektiren, zaman alıcı bir yöntemdir ve elde edilen sonuçların yorumlanması her zaman kolay değildir (14). Bu nedenle alternatif olabilecek genotiplendirme yöntemleri geliştirilmektedir. Diversilab rep-PCR (bioMérieux), PFGE'ye göre daha hızlı (3-4 güne karşın 4 saat) ve uygulaması kolay yarı otomatize bir sistemdir. Bu yöntemde; bakteri ve birçok mantar türünde, kromozomun farklı bölgelerinde bulunabilen, kısa, tekrarlayan ve konservatif yapıları hedef alan kısa primerler kullanılmaktadır. Genomda farklı uzaklıklarda yerleşmiş olan bu dizilerin boyutları her bakteri türü için özgüdür ve farklı türler arasında çeşitlilik göstermektedir. Tekrarlayan elementleri hedef alan primerlerin kullanıldığı amplifikasyon sonucunda değişik uzunluklarda DNA fragmentleri oluşur. Bu fragmentlerin polimorfizmi spesifik DNA fingerprinting -parmak izi- olarak değerlendirilir (8). VRE suşlarını tiplendirmede manuel rep-PCR ile PFGE yönteminin karşılaştırıldığı çalışmalarda bu iki metodun sonuçları uyumlu bulunmuştur (14-17).

Güler ve ark. (18); 2011 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yatmakta olan hastalardan izole ettikleri 100 MRSA suşunu rep-PCR yöntemiyle çalışmış, MRSA suşlarının klonal yayılım gösterdiğini ve yöntemin epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilecek kolay uygulanabilir, hızlı ve başarılı bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda, rep-PCR yöntemi ile VRE suşlarının klonal yakınlıkları incelendiğinde dört klon belirlenmiştir. A, B, C, D klonlarında sırayla 35, 3, 2, 2 VRE suşu bulunmaktadır. Ayrıca altı izolat ise hiçbir klona ait olmadığı görülmüştür (Şekil 1).

Salgında öne çıkan, sayıca en fazla izolat içeren (35/48) A klonundaki suşlar, çalışma için örnek alınan tüm servislerden izole edilmiştir. Bu klonda yer alan hastalar incelendiğinde; birkaçının klinikler arasında transfer edildiği (ADS'deki üç hastadan ikisi nefroloji kliniğine; birisi YBÜ'ye alınmıştır) ve birkaçının da diyaliz ünitesini kullandığı (nefrolojiden üç, ADS'den iki, hematoloji ve YBÜ'den birer hasta) tespit edilmiştir. Bu dört servis arasındaki monoklonal yayılımın nedeninin bu transferler olduğu düşünülmüştür.

C klonundaki iki izolat, hematoloji kliniğinde yatmakta olan bir hastanın rektal sürüntü örneğinden ve aynı hastaya ait yataktan izole edilmiştir. B ve D klonlarındaki izolatlar arasında bulaş ilişkisi gösterilememiş ancak konsültasyona giden hekimlerin ve taşıma görevinden sorumlu olan hastane personelinin bulaştan sorumlu olabileceği düşünülmüştür.

Moleküler çalışmalar; daha önce VRE izole edilmemiş hastanelerde ve salgının erken dönemde tespit edilebildiği durumlarda monoklonal yayılımın, VRE izolasyonunun uzun zamandır endemik olarak bulunduğu hastanelerde ise poliklonal yayılımın olduğunu göstermektedir (19). Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde, hastanemizde poliklonal bir yayılımın olduğu izlenmektedir.

Enterokok enfeksiyonlarının çoğunlukla vankomisin kullanımı sonucu, hastanın endojen florasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, çalışmalarda hastadan hastaya, doğrudan veya kontamine alet ve çevreden ya da çalışanların ellerinden geçişin de olduğu gösterilmiştir (20). Hastanemizde farklı kliniklerde benzer suşların bulunmuş olması hasta transferlerinin de yayılımda rol oynadığını göstermektedir.

Hastane Enfeksiyon Kontrol Uygulamaları Danışma Komitesi, VRE yayılımının kontrolü için en önemli basamağın her hasta için ayrı bir eldiven kullanmak olduğunu bildirmektedir (21). Hastanemizin şartları düşünüldüğünde çalışanların bu kurala uyamayabilecekleri düşünülmektedir. Öte yandan hastanemizde tedavi gören kişilerin ve yakınlarının genellikle sosyo ekonomik durumu düşük olduğu ve bu kişilerin çoğu zaman çevre ve kişisel hijyene dikkat etmedikleri izlenmektedir. Bu sonuçlar dikkate alındığında hastanemizde ekzojen VRE yayılımının; kontamine el, eşya ve yüzeyler nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir.

Ülkemizde VRE enfeksiyon ve kolonizasyon oranlarının ABD ve Avrupa ülkelerindeki kadar yüksek olmaması bizim açımızdan sevindirici olmakla birlikte, ilk VRE izolasyonundan bu yana geçen on yıllık süreçte hastanemizde oranın gittikçe artması endişe vericidir. Bu yayılımın önlenmesi için etkin sürveyans çalışmalarının yapılması, hastanedeki kaynağın belirlenmesi için izole edilen suşların benzerliklerinin moleküler analizlerle ortaya konulması ve yayılım yollarının kesilmesi gerekmektedir.

Bu amaçla çalışmamızda, diğer moleküler yöntemlerden daha kısa sürede sonuç veren ve web tabanlı sistemi ile yorumlama ve değerlendirme kolaylığı getiren rep-PCR yöntemi ile VRE suşlarının klonal analizi yapılmıştır.

Sonuç olarak, rep-PCR yönteminin epidemiyolojik çalışmalarda kullanılabilirlik ve enfeksiyon kontrol önlemlerine yardımcı olabilecek, hızlı, uygulaması ve değerlendirmesi kolay bir yöntem olduğu düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 2009; 155 (pt6): 1749-57.
2. Murray BE. The life and times enterococcus. *Clin Microbiol Rev*, 1990; 3: 45-65.
3. Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P. Plasmid mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Engl J Med*, 1988; 319: 157-61.
4. Arias CA, Murray BE. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol*, 2012; 10(4): 266-78.
5. Vural T, Şekercioğlu AO, Öğünç D, Gültekin M, Çolak D, Yeşilipek A ve ark. Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *ANKEM Derg*, 1999; 13(1): 1-4.
6. Teixeira LM, Carvalho MGS, Facklam RR. *Enterococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. Washington, DC: ASM Press, 2007: 430-42.
7. Werner G, Coque TM, Hammerum AM, Hope R, Hryniewicz W, Johnson A, et al. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill*, 2008; 13(47): pii:19046.

8. Durmaz R. Hastane enfeksiyonu salgınında moleküler biyolojik yöntemler. *Hast Enfek Derg*, 2005; 9: 196-212.
9. Ross TL, Merz WG, Farkosh M, Carroll KC. Comparison of an automated repetitive sequence-based PCR microbial typing system to pulsed-field gel electrophoresis for analysis of outbreaks of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 2005; 43: 5642-7.
10. Chuang YC, Wang JT, Chen ML, Chen YC. Comparison of an automated repetitive-sequence-based PCR microbial typing system with pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol*, 2010; 48(8): 2897-901.
11. Güven T. Vankomisin dirençli enterokok kolonizasyonu ve enfeksiyonunda risk faktörlerinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi, Ankara, 2006.
12. Alaca Coşkun F, Mumcuoğlu İ, Aksu N, Karahan ZC, Us E, Tekeli FA ve ark. Bir devlet hastanesinde vankomisine dirençli enterokok suşlarının fenotipik ve genotipik olarak değerlendirilmesi: İlk vanB-pozitif *Enterococcus faecium* izolatları. *Mikrobiyol Bul*, 2012; 46(2): 276-82.
13. Singh A, Goering RV, Simjee S, Foley SL, Zervos MJ. Application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Clin Microbiol Rev*, 2006; 19: 512-30.
14. Pounder JI, Shutt CK, Schaecher BJ, Gail LW. Clinical evaluation of repetitive sequence-based polymerase chain reaction using the Diversilab system for strain typing of vancomycin-resistant enterococci. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2006; 54: 183-7.
15. Malthum K, Singh KV, Weinstock GM, Murray BE. Repetitive sequence-based PCR versus pulse-field gel electrophoresis for typing *Enterococcus faecalis* at the subspecies level. *J Clin Microbiol*, 1998; 40: 868-76.
16. Shutt CK, Pounder JI, Page SR, Schaecher BJ, Woods GL. Clinical evaluation of the Diversilab microbial typing system using rep-PCR for strain characterization of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 2005; 43: 1187-92.
17. Tenover FC, Gay EA, Frye S, Eels SJ, Healy M, McGowan J. Comparison of typing results obtained of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with the Diversilab system and pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol*, 2009; 47: 2452-7.
18. Güler İ, Kılıç H, Atalay MA, Perçin D, Erçal BD. Klinik örneklerden izole edilen hastane kaynaklı metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının rep-PCR ile genotiplendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*, 2011; 45(4): 581-91.
19. Boyce JM, Mermel LA, Zervos MJ, Rice LB, Potter-Bynoe G, Giorgio C, et al. Controlling vancomycin resistance enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1995; 16: 634-7.
20. Clark NC, Cooksey RC, Hill BC, Swenson JM, Tenover FC. Characterization of glycopeptide-resistant enterococci from US hospitals. *Antimicrob Agents Chemoter*, 1993; 37: 2311-7.
21. Anonymous. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Recommendations of the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *MMWR Recomm Rep*. 1995; 44(RR-12): 1-13.