

## DİRENÇLİ BAKTERİ SUŞLARI ARASINDAKİ KLONAL İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ

Rıza DURMAZ

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, MALATYA  
rdurmaz@inonu.edu.tr

### ÖZET

*Dirençli bakteriler nozokomiyal ve toplum kaynaklı infeksiyonlardan gittikçe artan oranlarda izole edilmektedir. Oluşturulan infeksiyonun tipi, rezervuarı, kaynağı ve bulaş yollarının bilinmesi, dirençli klonların yayılmasını kontrol etmek için gereklidir. DNA parmak izi olarak adlandırılan moleküler tiplendirme yöntemleriyle kökenler arasındaki klonal ilişki ortaya konularak, infeksiyonların epidemiyolojisi hakkında oldukça yararlı bilgiler elde edilmektedir. Ayrıca, moleküler tiplendirme yöntemleri dirençli klonların tarihsel gelişimi, direncin spektrumu, epidemik klonların ülkeler arası yaygınlığı ve tekrarlayan infeksiyonların özellikleri hakkında da bilgi vermektedir. Klonal ilişkinin bilinmesiyle daha etkili kontrol önlemleri geliştirilmekte, uygulanan kontrol yöntemlerinin etkinliği denetlenebilmekte ve infeksiyonların görülme sıklığında önemli derecede azalma kaydedilmektedir.*

**Anahtar sözcükler:** dirençli bakteri, klonal ilişki, MLST, moleküler tiplendirme, PFGE

### SUMMARY

#### Investigation of Clonal Relationship among Resistant Bacterial Strains

*Resistant bacterial pathogens have been isolated in both nosocomial and community infection with increasing incidences. Information regarding to type of the infection, reservoirs, source and transmission ways are necessary to control the spread of resistant clones. Molecular typing methods called DNA fingerprinting determine clonal relationship among the strains and provide very useful data for epidemiology of the infections. Moreover, molecular typing methods can provide data regarding to historical evolution of the resistant strains, resistance spectrum, international dissemination of the epidemic clones and characteristics of the repeated infections. By the determination of clonal relatedness, more effective control measurements can be developed, effectivity of the control measurements can be checked and the rates of infections have been decreased significantly.*

**Keywords:** clonal relationship, MLST, molecular typing, PFGE, resistant bacteria

Aynı türden izolatlar arasındaki klonal ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapılan moleküler tiplendirme yöntemlerinde; tür içinde değişken, ancak suşlarda stabil olan, belirli bir genetik gösterge kullanılarak, izolatların DNA parmak izleri (DNA fingerprinting) belirlenmektedir. Böylece, epidemiyolojik bilgiler eşliğinde, aynı tür içindeki izolatların klonal bakımdan birbirleriyle olan ilişkileri değerlendirilmekte, izolatların aynı veya farklı kaynaktan geldiklerine karar verilmektedir. DNA parmak izi aynı olan suşların, klonal yönden ilişkili oldukları ve bu izolatların ortak bir kaynaktan köken aldıkları kabul edilmektedir<sup>(9)</sup>. Dirençli suşlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesiyle epidemik

izolatlar, sporadik veya endemik olanlardan ayrılmakta; salgınla ilişkili suşlar belirlenmekte; salgının kapsamı, kaynak ve rezervuarı hakkında bilgi edinilebilmekte; halk sağlığı kontrolünde kullanmak üzere ulusal ve uluslararası salgınlara ait veri bankaları oluşturulabilmekte; herhangi bir yer ve zaman içindeki infeksiyonun özellikleri (lokal infeksiyonun reaktivasyonu veya yeni bir infeksiyonun kümeleşmesi gibi) tanımlanabilmektedir<sup>(17,26)</sup>. Bu bilgiler, hastanelerde ve toplumda dirençli klonların yayılma derecesini anlamak ve kontrol altına almada yararlı olmakta, bunun sonucu olarak infeksiyon kontrol stratejilerinin etkinliği artırılmaktadır<sup>(15,16,22,23)</sup>.

## Moleküler tipleme yöntemleri

Dirençli ve çoğunlukla nozokomiyal patojen olan bakterilerin tiplendirilmesinde en iyi yöntemler, kromozomal DNA polimorfizmine dayalı olanlardır. Ribotipleme, PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), PZR-RFLP (polimeraz zincir reaksiyon-restriction fragment length polymorphism), rep-PZR (repetitive extragenic palindromic element-PZR), RAPD (random amplified polymorphic DNA), ARDRA (amplified ribozomal DNA restriction analysis), AFLP (amplified fragment length polymorphism) ve MLST (multilocus sequence typing) yaygın olarak kullanılan kromozomal DNA bazlı tipleme yöntemleridir<sup>(1,16)</sup>. Çok sayıda moleküler tipleme yöntemi bulunmasına rağmen, bugün itibarıyla, tekrarlanabilirlik, ayırt edicilik, kolayca uygulanabilirlik, ekonomik ve karşılaştırılabilir sonuçlar verme bakımından mükemmel olan bir yöntem henüz bulunmamaktadır. Hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın, klasik epidemiyolojik veriler olmadan yapılan moleküler tipleme boşa harcanmış zaman ve masraftan başka bir şey değildir. Bu yazıda birçok bakterinin tiplendirmesinde standart yöntem olan PFGE ve son zamanlarda, başta Gram pozitif koklar olmak üzere birçok bakterinin tiplemesinde giderek daha fazla kullanılmaya başlanan MLST yöntemleriyle dirençli bakteriler üzerinde yapılmış çalışmalara ağırlık verilecektir.

Makro-restriksiyon endonüklez enzimleriyle oluşturulmuş kromozomal DNA parçalarının, PFGE ile ayrıştırılmasından elde edilen DNA parmak izi, birçok bakterinin (>38 patojen bakteri) klonal ilişkisini analiz etmede yaygın olarak kullanılan referans yöntemidir<sup>(1)</sup>. Bu yöntemle lokal salgınlara değerlendirilmesi yanında, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomisine dirençli *Enterococcus* (VRE) türleri, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* üyeleri ve çoğul ilaca dirençli *Salmonella enterica* serovar *Typhimurum* (set DT104) kökenlerinin ülkeler arası yaygınlık derecesi de araştırılabilir<sup>(1,25)</sup>.

MLST, çok sayıda bakteriyel patojenin moleküler analizinde yaygın olarak kullanılır hale gelmiştir. Bu yöntemle virülen veya antibiyotik-

lere dirençli klonların tiplendirilmesi yanında, klonların evrimsel gelişimi de izlenebilmektedir<sup>(10)</sup>. MLST prensip olarak, multilokus enzim elektroforez (MLEE) sistemine benzemektedir. Farklı olarak, bunda, temel metabolik fonksiyonu kodlayan "housekeeping" genlerdeki değişiklik doğrudan DNA dizi analizi ile gösterilmektedir. Yedi "housekeeping" genin yaklaşık 500 baz çiftlik internal fragmentlerinin dizi analizi çıkarılmakta, her bir lokus için, her farklı dizilim farklı bir alel numarası ile gösterilmekte ve böylece suşa ait bir alelik profil tanımlanmaktadır<sup>(12)</sup>. Her bir alelik profil, dizi tipi (sequence type=ST) olarak ifade edilmektedir. Örneğin 4-4-2-4-4-1-1 (MLST lokusundaki aleller) alelik profile sahip olan *Streptococcus pneumoniae* izolatları, antibiyotiklere dirençli, yaygın klon olan ST81'e aittir. Belirlenen alelik profiller, MLST veri bankasındaki (<http://www.mlst.net>) bilinen alellerle karşılaştırılarak, saptanan alel profilinin diğer ülkelerdeki yaygınlık derecesi hakkında bilgi edinmek mümkün olabilmektedir. MLST'deki 7 lokusun her birinde çok sayıda alel bulunmaktadır ve bunların sayısı MLEE'dekinden daha fazladır. Böylece MLST'de kullanılan yedi lokusla, MLEE'dekine benzer oranda ayırım gücü elde edilebilmektedir. MLST sonuçlarının elektronik ortama aktarılabilmesi, kolayca saklanabilmesi ve tiplendirilen herhangi bir suşun sonucunu daha önceden var olanlarla kıyaslama olanağının bulunması, bu yöntemin MLEE'e üstünlükleridir. MLST, *S.pneumoniae*, *S.aureus*, *Enterococcus* türleri ve *Neisseria meningitidis* gibi birçok patojenik bakterinin virülen ve/veya dirençli klonlarının tanımlanmasında kullanılan ana yöntem haline gelmiştir<sup>(1)</sup>.

## Moleküler tiplemin dirençli bakteriler üzerinde kullanıldığı alanlar

İnfeksiyon etkenleri arasındaki klonal ilişkinin ortaya konulmasına en fazla gereksinim duyulan alanlardan birisi, dirençli bakterilerin moleküler epidemiyolojisidir. Moleküler tipleme yöntemleriyle MRSA, VRE, penisiline dirençli *S.pneumoniae*=PRSP, GSBL üreten *Enterobacteriaceae*, glikopeptidlere dirençli *S.aureus*, karbapenem ve/veya florokinolonlara dirençli

*Pseudomonas aeruginosa* gibi bakterilerin herhangi bir hastane, toplum, bölge, ülke ve hatta dünya genelindeki yayılma derecelerinin değerlendirilmesi mümkün olabilmektedir.

**Dirençli bakterilerce oluşturulan hastane infeksiyonlarının izlenmesi:** Dirençli bakterilerce oluşturulan hastane infeksiyonlarının büyük bir kısmı yoğun bakım birimlerindeki immün sistemi bozulmuş olan hastalarda gözlenmektedir. Uygulanmakta olan invaziv işlemler, sağlık personellerinin elleri ve nadiren doğrudan temas dirençli bakterilerin yayılmasına sebep olmaktadır. Moleküler tiplemeyle dirençli bakterilere bağlı infeksiyonların özellikleri belirlenerek, kimin nerede, ne zaman, ne ile ve nasıl etkilendiği, muhtemel bulaş yolları, potansiyel kaynak ve vektörlerin tanımı yapılabilmektedir. Böylece daha etkin korunma ve kontrol önlemleri alınabilmektedir. Moleküler tiplemeye dayalı olarak uygulanan hastane infeksiyon kontrol yöntemleriyle, infeksiyon oranlarının önemli derecede azaltıldığı ve moleküler yöntemlerin infeksiyon kontrol programlarına eklenmesinin maliyet etkin olduğu vurgulanmıştır<sup>(1,17,20)</sup>.

Bir üniversite hastanesinin pediatri ve ortopedi kliniklerinde salgınlara sebep olan ve karbapenem ve kolistin dışındaki antibiyotiklere değişik derecelerde direnç gösteren *Acinetobacter baumannii* izolatlarının, PFGE ve AP-PCR yöntemleriyle tiplendirilmesinde; epidemiyolojik verilere uygun olarak salgın izolatları kendi içinde klonal yönden ilişkili bulunmuştur. Fakat farklı klinik ve değişik zamanlarda aynı klinik içinde gözlenen salgın suşlarının ilişkisiz oldukları saptanmıştır. Moleküler tipleme yöntemleriyle doğrulanmış olan salgınlara kontrolü için mevcut hastane infeksiyon yöntemleri revize edilmiş, daha sıkı antisepsi ve dezenfeksiyon yöntemleri uygulanarak yeni salgınlara önüne geçilebilmiştir<sup>(2)</sup>. Yine bir üniversite hastanesinin yoğun bakım ünitesinde gözlenen karbapenem ve tobramisin dışında test edilen ilaçlara % 90'ın üzerinde direnç gösteren *A.baumannii* infeksiyonlarının klonal ilişkisi ve kaynağa yönelik moleküler tipleme çalışmalarında; klinik örnekler ve tarama kültürlerinden tek tip PFGE profili saptanmış ve infeksiyona neden olabile-

cek kaynaklar belirlenebilmiştir<sup>(11)</sup>.

İtalya'da bir üniversite hastanesinin yenidoğan yoğun bakım ünitesinde GSBL üreten *Klebsiella pneumoniae* infeksiyonlarının moleküler epidemiyolojisini irdeleme amacıyla PFGE ile izolatlar arasındaki klonal ilişki araştırılmıştır. Sağlık personellerinin elleri, lavabolar, hasta odaları gibi yerlerden tarama kültürleri yapılarak muhtemel kaynaklar tanımlanmıştır. Moleküler tipleme sonuçları yardımıyla daha etkin el yıkama, önlük giyme, temizlik ve dezenfeksiyon kuralları uygulanarak yeni infeksiyonların önüne geçilebilmiştir. Araştırmacılar, hastanelerinde yüksek oranda saptadıkları GSBL pozitif *K.pneumoniae* nedeni olarak; dirençli klonların selektif yayılması ve ayrıca *blaSHV-12* geninin farklı klonlar arasında horizontal yayılmasını göstermişlerdir<sup>(3)</sup>.

Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde gözlenen MRSA'ya bağlı kan dolaşımı infeksiyonunun kaynağına yönelik yapılan araştırmada; kaynağın, sevrise çalışan ve MRSA'un etken olduğu kronik orta kulak iltihabı olan bir sağlık personeli olduğu ve çalışanın servisten uzaklaştırılması sonucunda servisteki MRSA'ların önüne geçilebildiği vurgulanmıştır<sup>(4)</sup>. Tayvan'da bir üniversite hastanesindeki MRSA infeksiyonlarının kaynağı ve kontrol önlemlerinin etkinliğini denetlemek amacıyla sağlık personeli ve hastalardan üretilen MRSA suşlarının PFGE ile tiplemesi yapılmış, iki baskın genotip saptanmış, taşıyıcıların topikal mupirosin ile tedavi edilmesiyle, nozokomiyal MRSA infeksiyonlarında yarıdan daha fazla azalma kaydedilmiştir<sup>(23)</sup>.

Bir kulak burun boğaz servisinde 10 gün içinde ortaya çıkan ve 7 kişiyi etkileyen PRSP salgını, PFGE yöntemiyle doğrulanmış ve uygulanan etkili kontrol önlemleriyle salgın kontrol altına alınabilmiştir<sup>(19)</sup>. PFGE yöntemi kullanılarak AIDS hastalarının bulunduğu klinikte salgına yol açan, çoğul ilaca dirençli PRSP klonunun üç yıl süreyle kalabildiği gösterilebilmiştir<sup>(7)</sup>.

**Dirençli bakteri klonlarının ülke içi veya ülkeler arası dağılımlarının değerlendirilmesi:** Avrupa'nın farklı ülkelerinden toplanan epidemik MRSA suşlarının, MLST ve PFGE tipleme yöntemleriyle, birçok Avrupa ülkesinde ortak

klonların olduğu görülmüştür<sup>(25)</sup>. MLST yöntemiyle uluslar arası yayılım gösteren nozokomial MRSA klonlarını bulduran beş klonal kompleks (CC) tanımlanmıştır. Bunlardan ST5 ve ST8, en yaygın olan iki tiptir<sup>(10)</sup>. ST36, İngiltere’de saptanan epidemik klon olan EMRSA-klon 16’yı işaret etmektedir. Farklı ülkelerde bildirilmiş olan toplum kaynaklı MRSA’ların MLST tipleri de değişiklik göstermektedir. Amerika’da ST8; Kanada ve Batı Avustralya’da ST1; Brezilya, Çin-Hong Kong, Yeni Zelanda, Uruguay, İsveç, Singapur ve Letonya Cumhuriyeti’nde ST30; Danimarka, Fransa, Almanya, Yunanistan, Hollanda, İngiltere ve İsviçre’de ST80 yaygın MLST tipleridir<sup>(24)</sup>. Ancak, MLST tiplerinin toplum içindeki dağılımında zaman içinde değişiklikler olabileceği bilinmelidir. Zaman içinde birçok antibiyotiğe direnç gösteren MRSA klonları (örneğin; ST247) daha nadir görülürken, daha dar direnç profiline sahip, yeni saptanan MRSA tipleri (ST45 ve ST22 gibi) sıkça saptanmaya başlamıştır<sup>(25)</sup>.

Avustralya, Hollanda ve İngiltere’de hastane salgınlarına yol açan vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* (VREF) suşlarının AFLP yöntemiyle yapılan tiplemesinde, epidemik izolatların ortak bir alttip profili oluşturdukları gösterilmiştir<sup>(5)</sup>. İtalya’da üç yıl içinde 19 hastanede kan kültürlerinden üretilen 39 VRE izolatı, PFGE ve MLST yöntemleriyle analiz edilmiş; *E.faecium* olarak tanımlanan 31 izolatın 28’i benzer PFGE profili göstermiştir. MLST analizi ile hastane salgınlarından sorumlu olan tipin ST78 olduğu tanımlanmıştır. Aynı araştırmacılar, İtalya’daki kan dolaşımı enfeksiyonlarından izole edilmiş olan VRE’lerin uluslararası yayılım gösteren ve hastane adaptasyonu olan bir çoğul dirençli VREF klonu olduğunu kaydetmişlerdir<sup>(18)</sup>. *E.faecium* izolatlarının MLST analizi sonucunda saptanmış olan CC17 (ST17) tipinin birçok ülkedeki hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu olan ve genellikle kinolon ve ampisilin dirençli köken olduğu vurgulanmıştır<sup>(6,14)</sup>.

PFGE yöntemi kullanılarak SPM-1 metallo-beta-laktamaz üreten karbapenemlere dirençli bir *P.aeruginosa* klonunun, Brezilya’da birçok hastanede gözlenen epidemik klon oldu-

ğu doğrulanmıştır<sup>(8)</sup>.

**Dirençli bakteri klonlarının evrimsel gelişimlerinin değerlendirilmesi:** MLST ve “staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec)” tiplendirme yöntemleri kullanılarak, MRSA klonunun tarihsel gelişimi aydınlatılabilmektedir. 1960’ların başlarındaki MRSA klonlarının MLST analizi, bu izolatların çoğunun ST250-MRSA-I olduğunu göstermiştir. Yine bu izolat ile, 1950’lerde Danimarka’da epidemik olan MSSA suşunun aynı MLST profili gösterdikleri ortaya konulmuş ve ilk MRSA suşlarının, SCCmec-I (SCC, mecA genini taşıyan bir mobil DNA elementi) kazanan MSSA suşlarından köken aldıkları önerilmiştir. MSSA suşları çoğunlukla ST30 (CC30), MRSA suşları ise ST36 ve ST38 MLST profillerinde bulunmaktadır. MRSA suşlarını içeren ST36’nın, SCCmec-II kazanmış olan ST30 MSSA suşundan geliştiği kabul edilmektedir. ST38, ST36’nin “tek lokuslu varyantı (single locus variant=SLV) olup, ortak bir SCCmec elementi bulundurmaktadır<sup>(10)</sup>. MLST tiplerinin BURST (based upon related sequence types) analizleri de, epidemik MRSA klonlarının, geniş yayılım gösteren MSSA atasal kökenden gelişmiş olabileceğini desteklemektedir<sup>(25)</sup>. Benzer şekilde, herhangi bir ülkedeki VRE izolatlarının MLST profillerinin uluslararası veri bankasıyla karşılaştırılması ile VRE’ların evrimi hakkında varsayımlar yapılabilmektedir<sup>(21)</sup>.

**Dirençli klonlardaki antibiyotiklere direnç spektrumunun belirlenmesi:** SCCmec tipleme yöntemiyle, *S.aureus* izolatlarındaki direncin spektrumu hakkında bilgi edinilebilmektedir. Bugüne kadar saptanmış olan beş SCCmec tip (tip I-V)’inden tip I, IV ve V, *mecA* geni dışında herhangi bir direnç determinantı bulundurmazken; tip II ve III diğer birçok antibiyotiğe de direnç oluşumundan sorumlu direnç elemanları (makrolit direncinden sorumlu olan Tn554 gibi) bulundurabilmektedir<sup>(24)</sup>.

**Dirençin yayılma şekli ile ilgili hipotezlerin değerlendirilmesi:** Dirençli bakteriler arasındaki klonal ilişkinin ortaya konulmasıyla, direncin yayılma şekli ile ilgili hipotezlerin doğrulanması yapılabilmektedir. Temel olarak bakterilerdeki antibiyotik direnci iki yolla yayılmaktadır: a) dirençli soyların klonal yayılmasıyla,

b) direnç geninin horizontal aktarılmasıyla<sup>(25)</sup>. Herhangi bir hastane veya toplumdaki dirençli suşların oranı yüksek, buna karşın dirençli suşlar arasındaki klonal ilişki düşük ise, direnç nedeni olarak suşların klonal yayılması değil, direnç geninin horizontal aktarılması düşünülmelidir. Hastalardaki gastrointestinal enterokok taşıyıcılık oranı, antibiyotiklere direnç ve kökenler arasındaki klonal ilişkinin araştırıldığı bir üniversite hastanesinde; yüksek seviyede aminoglikozit (% 40) ve ampisilin (% 56) direnç oranları oldukça fazla oranlarda bulunmuş olmasına karşın, dirençli kökenler arasındaki klonal benzerlik, duyarlı olanlardan anlamlı derecede yüksek bulunmamıştır. Bu bulgular, hastanede saptanmış olan yüksek direnç oranlarının klonal yayılmaya bağlı olmadığı şeklinde yorumlanmıştır<sup>(13)</sup>. Ancak, klonal olarak aynı olan suşların antibiyotik direnç profillerinin her zaman aynı olması da beklenmemelidir. Direnç genlerinin veya mutasyonlarının farklı zamanlarda kazanılmış olması olasıdır<sup>(25)</sup>.

**Kontrol önlemlerinin etkinliğinin değerlendirilmesi:** Direncin klonal ya da horizontal yayılma ile olduğunun belirlenmesi, kontrol önlemlerinin etkinliğini değerlendirme bakımından önemlidir. Etkin kontrol önlemlerinin uygulandığı sağlık kuruluşları veya toplumlarda, dirençli bakterilerin yayılması sınırlandırılmakta, bunun sonucu olarak dirençli kökenler arasındaki klonal heterojenlik artmaktadır. Ters durumda, kontrol önlemleri yetersiz olduğunda, çoğunlukla tiplendirilen suşlar arasında bir veya birkaç baskın klonun varlığı dikkat çekmektedir. Buradan hareketle, dirençli kökenler arasındaki klonal ilişkinin saptanması, dirençli kökenlerin yayılmasını engellemek için olabilecek en etkili kontrol önlemlerinin alınması ve alınan önlemlerin etkinliklerinin denetlenmesi bakımından katkıda bulunmaktadır.

**Dirençli bakterilerce oluşturulan, tekrarlayan ve birden çok anatomik bölgeyi tutan enfeksiyonların irdelemesi:** Dirençli bakteriler arasındaki klonal ilişkinin ortaya konulmasıyla; dirençli bakteriler tarafından oluşturulan tekrarlanan enfeksiyonların ve aynı ya da farklı zamanlarda oluşan ve değişik yerleşim yerlerini tutan enfeksiyonların irdelemesi yapılabilir.

tedir. Rölaps-yeniden enfeksiyon ayrımı yapılabilmektedir. Rölapsa bağlı olarak gelişen enfeksiyonlarda, hastanın primer enfeksiyondaki izolatı ile tekrarlayan enfeksiyon dönemindeki izolatı aynı klonal özellik göstermektedir. Aynı türden bakterinin yeniden alınmasına bağlı tekrarlanan enfeksiyonlarda ise primer enfeksiyondaki suş ile ikinci enfeksiyondaki suş farklı genotipik profil oluşturmaktadır. Aynı anatomik bölgeyi ilgilendiren tekrarlayan enfeksiyonlarda kökenler arasındaki klonal ilişki, farklı anatomik bölgelerde görülen tekrarlanan enfeksiyonlarda saptanandan daha yüksek oranda bulunmaktadır<sup>(27)</sup>. Klonal ilişkinin araştırılmasıyla; bir konakta enfeksiyon oluşturan aynı türden, fakat farklı klonlardan iki ya da daha fazla dirençli suşun ayrımı yapılabilen, aynı konanın farklı anatomik bölgelerinden üretilen bakterilerin aynı olup olmadığı gösterilebilmektedir.

Sonuç olarak; bakteriler arasındaki klonal ilişkiyi ortaya çıkarmayı hedefleyen moleküler tiplendirme yöntemleri, özellikle, tedavideki zorluklar nedeniyle kontrol edilmesinde özel çabalar gerektiren dirençli bakterilere bağlı enfeksiyonların kontrolünde, önemli yararlar sağlamaktadırlar. Moleküler tiplendirme yöntemini uygulayan hastaneler, dirençli bakterilere bağlı enfeksiyonları önemli oranlarda azaltmışlardır. Bakteriler arasındaki klonal ilişkiyi ortaya koymak amacıyla geliştirilmiş birçok yöntem vardır. PFGE ve özellikle Gram pozitif bakteriler için MLST yaygın olarak kullanılan moleküler metodlardır. Ancak, hangi tiplendirme yöntemi kullanılırsa kullanılsın, tiplendirme sonuçlarının arzu edilen amaca hizmet edebilmesi için mutlaka klasik epidemiyolojik bulgular eşliğinde değerlendirilmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Andrei A, Zervos MJ: The application of molecular techniques to the study of hospital infection, Arch Pathol Lab Med 2006;130(5):662-8.
2. Ayan M, Durmaz R, Aktas E, Durmaz B: Bacteriological, clinical and epidemiological characteristics of nosocomial Acinetobacter baumannii infections in a teaching hospital, J Hosp Infect 2003;54(1):39-45.
3. Bagattini M, Crivaro V, Di Popolo A et al: Molecular

- epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit, *J Antimicrob Chemother* 2006;57(5):979-82.
4. Bertin ML, Vinski J, Schmitt S et al: Outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and infection in a neonatal intensive care unit epidemiologically linked to a healthcare worker with chronic otitis, *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006;27(6):581-5.
  5. Bruinsma N, Willems RJ, van den Bogaard AE et al: Different levels of genetic homogeneity in vancomycin-resistant and -susceptible *Enterococcus faecium* isolates from different human and animal sources analyzed by amplified-fragment length polymorphism, *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(9):2779-83.
  6. Camargo IL, Gilmore MS, Darini AL: Multilocus sequence typing and analysis of putative virulence factors in vancomycin-resistant and vancomycin-sensitive *Enterococcus faecium* isolates from Brazil, *Clin Microbiol Infect* 2006;12(11):1123-30.
  7. Carter RJ, Sorenson G, Heffernan R et al: Failure to control an outbreak of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in a long-term-care facility: emergence and ongoing transmission of a fluoroquinolone-resistant strain, *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26(3):248-55.
  8. Carvalho AP, Albano RM, de Oliveira DN, Cidade DA, Teixeira LM, Marques Ede A: Characterization of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM-1 metallo-beta-lactamase in a hospital located in Rio de Janeiro, Brazil, *Microb Drug Resist* 2006;12(2):103-8.
  9. Durmaz R: Moleküler epidemiyolojinin prensipleri, "Durmaz R (ed): Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji, 2. basım" kitabında s.139-47, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul (2001).
  10. Feil EJ, Enright MC: Analyses of clonality and the evolution of bacterial pathogens, *Curr Opin Microbiol* 2004;7(3):308-13.
  11. Guducuoglu H, Durmaz R, Yaman G, Cizmeci Z, Berktaş M, Durmaz B: Spread of a single clone *Acinetobacter baumannii* strain in an intensive care unit of a teaching hospital in Turkey, *New Microbiol* 2005;28(4):337-43.
  12. Hanage WP, Feil EJ, Brueggemann AB, Spratt BG: Multilocus sequence typing: Strain characterization, population biology, and patterns of evolutionary descent, "Persing DH, Tenover FC, Versalovic J, Tang Y-W, Unger ER, Relman DA, White TJ (eds): *Molecular Microbiology. Diagnostic Principles and Practice*" kitabında s.235-43, ASM Press, Washington, DC (2004).
  13. 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(2):159-64.
  14. Leavis HL, Bonten MJ, Willems RJ: Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance, *Curr Opin Microbiol* 2006;9(5):454-60.
  15. Pfaller MA: Molecular approaches to diagnosis and managing infectious diseases: practicality and costs, *Emerg Infect Dis* 2001;7(2):312-8.
  16. Pfaller MA: Molecular epidemiology in the care of patients, *Arch Pathol Lab Med* 1999;123(11):1007-10.
  17. 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(3):512-30.
  18. Stampone L, Del Grosso M, Boccia D, Pantosti A: Clonal spread of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strain among bloodstream-infecting isolates in Italy, *J Clin Microbiol* 2005;43(4):1575-80.
  19. Subramanian D, Sandoe JA, Keer V, Wilcox MH: Rapid spread of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* among high-risk hospital inpatients and the role of molecular typing in outbreak confirmation, *J Hosp Infect* 2003;54(2):99-103.
  20. Tansel O, Kuloglu F, Mutlu B et al: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a new University hospital due to a strain transferred with an infected patient from another city six months previously, *New Microbiol* 2003;26(2):175-80.
  21. Titze-de-Almeida R, Van Belkum A, Felipe MS, Zanella RC, Top J, Willems RJ: Multilocus sequence typing of hospital-associated *Enterococcus faecium* from Brazil reveals their unique evolutionary history, *Microb Drug Resist* 2006;12(2):121.
  22. Tompkins LC: Molecular epidemiology in infectious diseases, "Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds): *Infectious Diseases*, 2nd ed." kitabında s.28-35, W.B. Saunders Company, Philadelphia (1998).
  23. Wang JT, Lin SF, Chiu HL et al: Molecular epidemiology and control of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in a teaching hospital, *J Formos Med Assoc* 2004;103(1):32-6.
  24. Wijaya L, Hsu L-Y, Kurup A: Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: overview and local situation, *Ann Acad Med Singapore* 2006;35(7):479-86.
  25. Witte W: International dissemination of antibiotic resistant strains of bacterial pathogens, *Infect Genet Evol* 2004;4(3):187-91.
  26. Wu F, Della-Latta P: Molecular typing strategies, *Semin Perinatol* 2002;26(5):357-66.
  27. Yetkin G, Otlu B, Cicek A, Kuzucu C, Durmaz R: Clinical, microbiologic, and epidemiologic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a University Hospital, Malatya, Turkey, *Am J Infect Control* 2006;34(4):188-92.