

Vankomisine Dirençli Enterokokların Sürveyansında GeneXpert® *vanA/vanB* PCR Sistemi ile Kültür Yönteminin Karşılaştırılması

Comparison of GeneXpert® *vanA/vanB* PCR System and Culture Methods in the Surveillance of Vancomycin-Resistant Enterococci

Hatice ULUDAĞ ALTUN¹, Çiğdem ATAMAN HATİPOĞLU², Cemal BULUT², Özgen KÖSEOĞLU ESER³, Ali Pekcan DEMİRÖZ²

¹ Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

¹ Turgut Özal University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

² Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara.

² Ankara Training and Research Hospital, Infectious Diseases and Clinical Microbiology Clinic, Ankara, Turkey.

³ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

³ Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 11.07.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 24.09.2014

ÖZET

Vankomisine dirençli enterokoklar (VRE), tüm dünyada önemli hastane enfeksiyonu etkenlerinden biridir. VRE kolonizasyonunun erken tespit edilebilmesi, oluşabilecek hastane enfeksiyonlarının kontrolünde önemlidir. Bu çalışmada, VRE kolonizasyonunun tespitinde gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Rt-PCR) ile kültür yönteminin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Ocak 2013-Eylül 2013 tarihleri arasında hastanemizin yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nde yatmakta olan hastalardan (142'si dahili, 68'i cerrahi YBÜ) alınan 210 perirektal sürüntü örneği dahil edilmiştir. Örnekler eşzamanlı olarak Rt-PCR (GeneXpert® *vanA/vanB*, Cepheid, ABD) ve kültür yöntemiyle değerlendirilmiştir. Kültür için örnekler enterokokosel agar besiyerine ekilerek 37°C'de inkübe edilmiş; kültürdeki üremeler üç gün boyunca günlük olarak değerlendirilmiştir. Üreyen koloniler konvansiyonel yöntemler ve otomatize Vitek 2.0 sistemi (BioMérieux, Fransa) kullanılarak tanımlanmıştır. İzolatların direnç durumu E-test (BioMérieux, Fransa) ile doğrulanmıştır. PCR yöntemi ile örneklerin 76 (%36.1)'sında VRE saptanmış; 70'i *vanA*, ikisi *vanB* ve dördü *vanA + vanB* pozitif olarak tespit edilmiştir. Kültür yöntemi ile aynı örneklerin 71 (%33.8)'inden VRE izolasyonu yapılmıştır. Yetmiş bir örneğin 39'unda birinci, 29'unda ikinci, üçünde ise üçüncü gün üreme izlenmiştir. PCR ile *vanB* pozitif tespit edilen iki örnek, kültürde üreyen kolonilerin Vitek 2 cihazı ile değerlendirilmesi sonucu vankomisine duyarlı enterokok olarak tanımlanmıştır. Enterokokosel agarda

İletişim (Correspondence): Yrd. Doç. Dr. Hatice Uludağ Altun, Turgut Özal Üniversitesi Beştepe Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Emek, Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 312 203 5555, **E-posta (E-mail):** haticeuludag80@yahoo.com

üreyen kolonilerin Vitek 2 ile değerlendirilmesi sonucu, vankomisine duyarlı enterokok olarak tanımlanan iki örnek PCR ile *vanB* pozitif tespit edilmiştir. Ancak bu örnekler E-test ile VRE olarak doğrulanmış ve PCR ile alınan sonucun doğru olduğuna karar verilmiştir. PCR ile iki kez çalışılmasına rağmen sonuç alınamayan (invalid) bir örnek kültür sonucunda negatif olarak saptanmıştır. Kültür ile negatif bulunan yedi örnekten beşi GeneXpert® ile *vanA*, ikisi *vanB* olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda GeneXpert® *vanA/vanB* PCR sisteminin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %97.4, %98.4, %97.4 ve %97.4 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, GeneXpert® *vanA/vanB* PCR yöntemi, kısa sürede sonuç alınabilmesi yönünden kültür yöntemine göre giderek daha cazip görünmekle birlikte, maliyetinin yüksek olması nedeniyle, her laboratuvarın kendi imkanlarına göre en uygun yöntemi seçmesi gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: *Vankomisine dirençli enterokok; GeneXpert®; PCR; kültür; vanA; vanB.*

ABSTRACT

Vancomycin-resistant enterococci (VRE) are important agents of hospital infections worldwide. Early recognition of VRE colonization is important in the control of hospital infections. The aim of this study was to compare a real-time PCR (Rt-PCR) system and culture methods in the detection of VRE colonization. A total of 210 perirectal swab samples obtained from the patients (142 were in internal and 68 were in surgical intensive care units) hospitalized at Ankara Training and Research Hospital, Turkey between January-September 2013 were included in the study. The samples were simultaneously evaluated with both Rt-PCR (GeneXpert®*vanA/vanB*, Cepheid, USA) and the culture methods. The samples were cultivated in enterococcosel agar and incubated at 37°C for culture. Culture plates were evaluated for three days on a daily basis. Bacterial identification was done by conventional methods and automated Vitek 2.0 system (BioMérieux, France). Antibiotic susceptibility testing was performed by the E-test. VRE was detected in 76 (36.1%) of the samples by the Rt-PCR method; of them 70 were positive for *vanA*, two for *vanB*, and four for *vanA + vanB*. On the other hand, VRE was detected in 71 (33.8%) of the samples by the culture method. Out of 71 samples, colony growth was observed on the first day in 39 cases, on the second day in 29 cases, and on the third day in three cases. The two strains identified as vancomycin-sensitive enterococci by the Vitek 2 Compact system were determined as *vanB* positive by PCR. These samples were also confirmed as VRE by E-test. The PCR result of a sample which was found to be invalid, also yielded negative result by culture. Five out of the seven culture-negative samples were positive for *vanA*, and two for *vanB* by the GeneXpert® system. In our study, the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of the GeneXpert *vanA/vanB* PCR system were determined as 97.4%, 98.4%, 97.4%, and 97.4%, respectively. Although the GeneXpert® *vanA/vanB* RT-PCR method seems to be more attractive regarding the turn around time, it has a higher cost than the culture method. Thus, it was concluded that all laboratories should choose the most appropriate method for screening VRE in the hospital setting according to their own capacities.

Key words: *Vancomycin-resistant enterococci; GeneXpert®; PCR; culture; vanA; vanB.*

GİRİŞ

Vankomisine dirençli enterokoklar (VRE), hastane enfeksiyonu etkenleri arasında günümüzde de önemini korumaktadır. VRE ilk olarak 1988 yılında tespit edilmesine rağmen, yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'nde hızla endemik hale gelmiştir¹. VRE'ler hastane ortamında hemen her yüzeyi kontamine ederek, sağlık çalışanları aracılığıyla hastalara bulaşa sebep olabilmektedir. VRE ile kolonizasyon durumunda immün kompetan hastalarda enfeksiyon riski düşük olmakla birlikte, hastanelerin yoğun bakım, hemodiyaliz

ve transplantasyon gibi üniteleri ve onkoloji servislerinde yatmakta olan hastalarda enfeksiyona dönüşme olasılığı artmaktadır². Dolayısıyla VRE ile kolonize olan hastaların, enfeksiyon gelişmeden önce saptanması ve izolasyonu, bu etkenlere bağlı hastane enfeksiyonlarının önlenmesinde temel rol oynamaktadır.

Vankomisin direncinden sorumlu olan genlerin, laboratuvar koşullarında *Staphylococcus aureus*'a konjugatif transferi ilk olarak 1992 yılında gösterilmiştir³. Bu durum VRE ile kolonize hastaların tespit edilmesinin önemini artırmıştır^{4,5}. Günümüzde VRE kolonizasyonunu, enfeksiyonlarını ve salgınlarını tespit etmek amacıyla standart kültür yöntemlerinin yanı sıra polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi moleküler teknikler de kullanılabilir. Ülkemizde kullanılmakta olan gerçek zamanlı PCR cihazlarının etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalar azdır. Bu çalışmada, VRE kolonizasyonunun tespitinde kullanılmakta olan Cepheid GeneXpert® vanA/vanB gerçek zamanlı PCR cihazının kültür yöntemine göre etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Klinik Örnekler

Çalışmaya, Ocak-Eylül 2013 tarihleri arasında 8 aylık süre içerisinde hastanemizin YBÜ'lerinde yatmakta olan hastalardan Amies transport besiyeri (Meus, İtalya) kullanılarak alınan 210 perirektal sürüntü örneği dahil edildi. Gerçek zamanlı PCR ve kültür yöntemleri ile VRE kolonizasyon varlığı değerlendirildi. Hastalar, başka bir hastaneden nakil gelen veya daha önce VRE enfeksiyonu veya taşıyıcılığı öyküsü olanlar arasından seçildi.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR yöntemi için otomatize gerçek zamanlı PCR (GeneXpert® vanA/vanB, Cepheid, ABD) cihazı kullanıldı. PCR çalışması için rektal sürüntü örnekleri firmanın önerileri doğrultusunda örnek reaktifi ile karıştırıldıktan sonra 1 dakika vortekslendi. Tek kullanımlık kartuşa bu karışım eklendi; kartuş cihaza yerleştirildi ve GeneXpert® Dx modülü seçildi ve yürütüldü. Sonuçlar vanA ve vanB pozitif veya negatif olarak rapor edildi. Firmanın önerileri doğrultusunda vanB pozitif sonuç veren örnekler tekrar çalışıldı.

Konvansiyonel Yöntemler ve Otomatize Sistemle Örneklerin Tanımlanması

Kültür için örnekler; 6 µg/ml vankomisin ve 1 µg/ml meropenem eklenen BBL Enterokokosel agar plaklarına (Becton Dickinson, ABD) ekildi; 37°C'de aerob koşullarda 72 saate kadar inkübe edildi. Kültürdeki üremeler 3 gün boyunca günlük olarak değerlendirildi. Üreyen eskülin pozitif, siyah renkli kolonilere Gram boyama, %6.5 NaCl içeren besiyerinde üreme, L-pyrolidonyl-β-naphthylamide (PYR; Remel, ABD) ve katalaz testleri yapıldı. Gram-pozitif boyanan, katalaz negatif, PYR pozitif, eskülini hidrolize eden ve %6.5 NaCl içeren ortamda üreyen kolonilerin saf kültürleri %5 koyun kanlı agara pasajlandı. Üreyen bakteriler konvansiyonel yöntemler ve Vitek 2.0 (BioMérieux, Fransa) ticari sistemi kullanılarak tür düzeyinde tanımlandı. Tanımlama testlerinde kalite kontrol suşu olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 kullanıldı. Üreyen enterokokların direnç durumu E-test (BioMérieux, Fransa) ile doğrulandı.

Tablo 1. Perirektal Sürüntü Örneklerinin PCR ve Kültür Sonuçları (n= 210)

Örnek sayısı	PCR Sonucu	Kültür sonucu	Açıklama
129	Negatif	Negatif	
65	<i>vanA</i>	Pozitif	
4	<i>vanA</i> + <i>vanB</i>	Pozitif	
5	<i>vanA</i>	Negatif	
2	<i>vanB</i>	Negatif	
2	Yanlış negatif	Pozitif	Vankomisin direnci E-test ile doğrulanmıştır
2	Yanlış pozitif	Negatif	Tekrarlanan örnekte PCR negatif saptanmıştır
1	Geçersiz	Negatif	PCR ile iki kez çalışılmasına rağmen sonuç alınamamıştır

BULGULAR

Çalışmaya alınan 210 perirektal sürüntü örneğinin 142'si dahili, 68'i cerrahi yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalardan alınmıştır. PCR yöntemi ile örneklerin 76 (%36.1)'sında VRE saptanmış; bunların 70'i *vanA*, 2'si *vanB*, 4'ü *vanA* + *vanB* pozitif olarak tespit edilmiştir. Kültür yöntemi ile aynı örneklerin 71 (%33.8)'inden VRE izolasyonu yapılmıştır. Kültürdeki örneklerin 39'unda birinci, 29'unda ikinci, 3'ünde ise üçüncü gün üreme olmuştur. PCR ile *vanB* olarak tespit edilen iki örnek, kültürde üreyen kolonilerin Vitek 2 cihazı ile değerlendirilmesi sonucu vankomisine duyarlı enterokok olarak tanımlanmıştır. Ancak bu örneklerin E-test ile vankomisine dirençli olarak doğrulanması üzerine, PCR ile alınan sonucun doğru olduğuna karar verilmiştir. PCR ile iki kez çalışılmasına rağmen, sonuç alınamayan (invalid; geçersiz) bir örnek kültürde negatif olarak saptanmıştır. Perirektal sürüntü örneklerinin PCR ve kültür sonuçları Tablo 1'de görülmektedir.

Kültür yöntemi referans olarak alındığında, GeneXpert® *vanA/vanB* PCR yönteminin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %97.4, %98.4, %97.4 ve %97.4 olarak belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde önemli bir sorun olan antibiyotik direnci ile ilgili olarak, 2012 yılında CDC ile birlikte 25 ulusal sağlık örgütü, antibiyotik direnciyle başa çıkmanın yolları konusunda bir açıklama yayınlamışlar ve bu çözümlerden biri olarak hızlı tanı testlerine geçmenin gerekli olduğunu belirtmişlerdir⁶. Nükleik asit amplifikasyon yöntemlerinin keşfi, kültüre gerek kalmaksızın mikroorganizmaları hızlı, özgül ve duyarlı olarak saptama, tanımlama ve direnç durumlarını belirleme imkanı sağlamıştır. Bu amaçla, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında VRE'lerin rutin tanısında PCR temelli yöntemlerin kullanımı giderek artış göstermektedir. VRE'lerin konvansiyonel tanı yöntemi olan kültür ile saptanabilmesi 2-4 gün sürmektedir. PCR yönteminin kültüre göre, VRE saptanması için gereken zamanı azaltması ve böylece enfeksiyon kontrol önlemleri

rinin daha kısa zamanda uygulanmasının sağlanması gibi avantajları vardır. GeneXpert® (Cepheid, ABD) lizis, ekstraksiyon, amplifikasyon ve saptama işlemlerinin tek kullanımlık bir kartuş ile gerçekleştirildiği gerçek zamanlı bir PCR cihazıdır⁷. Sonuç alma süresi 45 dakika sürmekte ve izolasyon açısından hızlı önlem alma olanağı sağlamaktadır. Gazin ve arkadaşları⁸ farklı PCR yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, GeneXpert® cihazının 10-100 cfu/ml gibi düşük konsantrasyonlarda VRE'leri saptamada daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

VRE'lerin tespiti için GeneXpert® *vanA/vanB* gerçek zamanlı PCR yöntemi (Cepheid, ABD) ile kültür yöntemini karşılaştıran çeşitli çalışmalar yapılmıştır^{4,5,9-11}. Çalışmamızda, kültür yöntemi altın standart olarak alındığında, bu sistemin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %97.4, %98.4, %97.4, %97.4 olarak bulunmuştur. Durmaz ve arkadaşları¹⁰ tarafından GeneXpert® *vanA/vanB* (Cepheid, ABD) ile 136 rektal sürüntü örneğinde yapılan bir çalışmada bu değerler, bizim çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde, sırasıyla %100, %94.5, %81.8 ve %100 olarak tespit edilmiştir.

Gerçek zamanlı PCR (Real-time PCR; Rt-PCR) yöntemi, kültürden izole edilen VRE'lerin tespitinde oldukça yararlı olmakla birlikte, direkt sürüntü örneklerinde farklı sonuçlar elde edilmektedir¹²⁻¹⁴. PCR'nin kültüre göre duyarlılığının düşük saptanmasına, gaitada bulunan polimeraz enzimini inhibe eden maddelerin sebep olabileceği belirtilmiştir^{13,14}. Yapılan çalışmalarda, *vanA* genotipi için %99.6 gibi yüksek özgüllük saptanmış olmasına rağmen, *vanB* genotipi için konvansiyonel ve Rt-PCR ile yalancı pozitiflikler saptanmıştır^{9-11,15-19}. *VanB* genotipi açısından kültür ile PCR arasındaki uyumsuzluğun, dışkı florasındaki anaerob bakterilerin direnç genleri ya da besiyerinde kullanılan 3 µg/ml vankomisin miktarı ile *vanB* taşıyan suşların inhibe olmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir^{11,18,19}. Mak ve arkadaşları²⁰ çalışmalarında, Rt-PCR ile saptanan *vanB* genotipinde yalancı pozitiflikler nedeniyle bu yöntemle tespit edilen *vanB* varlığının kültürle doğrulanmasını önermişlerdir. Çalışmamızda Rt-PCR ile *vanB* olarak saptanan suşların kültür ile konfirmasyonu yapılmıştır.

Altun ve arkadaşlarının²¹ yaptıkları çalışmada, enterokoklardaki vankomisin direnci Vitek 2.0 otomatize sistemi, disk difüzyon ve E-test yöntemleriyle araştırılmış, üç yöntem de %100 uyumlu bulunmuştur. Çalışılan 199 enterokok suşunun 25'i her üç yöntemle de vankomisine dirençli olarak saptanmıştır. Garcia ve arkadaşları²², Vitek 2.0 sistemi ile (AST-P516 kart) 57 *vanA* izolatından 2 (%3.5)'sinin, 16 *vanB* izolatından üçünün (%18.8) ve 26 *vanC1* izolatından 1 (%3.8)'inin tespit edilemediğini rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada, Vitek 2.0 sisteminin (versiyon 4.01 yazılımı), *vanA* suşlarının tespit edilmesi için %98.5'lik bir duyarlılığa ve *vanB*, *vanC1* ve *vanC2* enterokok tespiti için %100'lük bir duyarlılığa sahip olduğu bulunmuş ve bu sonuçların, önceki Vitek 2.0 veri tabanı kullanılarak elde edilenlerden daha iyi olduğu belirtilmiştir²³. Çalışmamızda PCR ile direnç fenotipi *vanB* olarak tespit edilen iki örnek, kültürde üreyen kolonilerin Vitek 2.0 cihazı ile değerlendirilmesi sonucu vankomisine duyarlı enterokok olarak tanımlanmıştır. Ancak bu örneklerin E-test ile vankomisine dirençli olarak doğrulanması üzerine, PCR ile alınan sonucun doğru olduğuna karar verilmiştir. Çalışmamızda Vitek 2.0 cihazının, *vanB* tipi direnç fenotipine sahip örnekleri saptamada yanlış sonuçlar verebildiği gözlenmiştir.

GeneXpert® *vanA/vanB* Rt-PCR yöntemi, yüksek duyarlılık ve özgüllükle, kısa zamanda sonuç vermesi ve 100 cfu/ml düzeyinde bakteriyi tanımlayabilmesi nedeniyle, özellikle VRE taşıyıcılığı yüksek riskli hastalarda rutin taramalarda önerilmektedir²⁴. Ancak rutin kullanıma karar verilebilmesi için, hastanelerin VRE taşıyıcılık oranlarının epidemiyolojik verilerle iyi değerlendirilmesi ve maliyet-etkinlik açısından araştırılması gereklidir. Çalışmamızda GeneXpert® *vanA/vanB* RT-PCR yöntemi, VRE'ların tespiti için, yalnız başka bir hastaneden nakil gelen veya daha önce VRE enfeksiyonu veya taşıyıcılığı öyküsü olan hasta grubunda kullanılmıştır.

Hızlı moleküler tekniklerin rutin bakteriyoloji laboratuvarında kullanımı, bu yöntemlerin doğrudan klinik örnekten bakteriyel patojenin saptanmasına yönelik hızlı ve duyarlı sonuç vermeleri nedeniyle, yeni bir çağın başlamasına yol açmıştır. Ancak, patojen tanımlamanın yanı sıra antimikrobiyal direnci yansıtan testlerin sayısı oldukça azdır. Günümüz koşullarında rutin klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında mevcut sistemlerin kullanımı yüksek maliyetleri, gerçek patojeni tespit edebilme güçlükleri, fenotipik ve genotipik direnç uyumsuzlukları nedenleriyle kısıtlıdır. Bu çalışmada, Rt-PCR yönteminin duyarlılık, özgüllük, negatif ve pozitif prediktif değerleri yüksek olarak saptanmıştır. GeneXpert® *vanA/vanB* (Cepheid, ABD) yöntemi, kısa sürede sonuç alınabilmesi nedeniyle kültür yöntemlerine göre giderek daha cazip görünmekle birlikte, maliyet açısından kültüre göre daha pahalıdır. Bu nedenle, her laboratuvarın kendi imkanlarına göre en uygun yöntemi seçmesi gerektiği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. 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.
2. Zirakzadeh A, Patel R. Vancomycin-resistant enterococci: colonization, infection, detection, and treatment. Mayo Clin Proc 2006; 81(4): 529-36.
3. Noble WC, Virani Z, Cree RG. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. FEMS Microbiol Lett 1992; 72(2): 195-8.
4. Yagci S, Ataman Hatipoğlu C, Altun Ş, et al. Evaluation of GeneXpert *vanA/vanB* assay for the detection of vancomycin-resistant enterococci in patients newly admitted to intensive care units. Turk J Med Sci 2013; 43(6): 1008-12.
5. Marner ES, Wolk DM, Carr J, et al. Diagnostic accuracy of the Cepheid GeneXpert *vanA/vanB* assay ver. 1.0 to detect the *vanA* and *vanB* vancomycin resistance genes in *Enterococcus* from perianal specimens. Diagn Microbiol Infect Dis 2011; 69(4): 382-9.
6. Bartlett JG, Gilbert DN, Spellberg B. Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. Clin Infect Dis 2013; 56(10): 1445-60.
7. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. N Engl J Med 2010; 363(11): 1005-15.
8. Gazin M, Lammens C, Goossens H, et al. Evaluation of GeneOhm VanR and Xpert *vanA/vanB* molecular assays for the rapid detection of vancomycin-resistant enterococci. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2011; 31(3): 273-6.
9. Esen Ş, Yıldız İE, Güney AK, Günaydin M. Cepheid Xpert *vanA/vanB* testinin rektal örneklerde vankomisin-dirençli enterokokların hızlı tespiti için değerlendirilmesi. 4. EKMUD Kongresi, 9-12 Mayıs 2012, İstanbul. Kongre Kitabı, s: 189, PS-078.

10. Durmaz S, Erçal BD, Alp E, Perçin D. Rektal sürüntü örneklerinde vankomisine dirençli enterokok saptanmasında GenXpert *vanA/vanB* rep-PCR yöntemi ile kültür yönteminin karşılaştırılması. 6. Ulusal Tanısal ve Moleküler Mikrobiyoloji Kongresi, 15-19 Haziran 2010, Ankara. Kongre Kitabı, s: 144, P1-9.
11. Bourdon N, Berenger R, Lepoutier R, et al. Rapid detection of vancomycin-resistant enterococci from rectal swabs by the Cepheid Xpert *vanA/vanB* assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 67(3): 291-3.
12. Patel R, Uhl JR, Kohner P, Hopkins MK, Cockerill FR III. Multiplex PCR detection of *vanA*, *vanB*, *vanC-1*, and *vanC-2/3* genes in enterococci. *J Clin Microbiol* 1997; 35(3): 703-7.
13. Palladino S, Kay ID, Flexman JP, et al. Rapid detection of *vanA* and *vanB* genes directly from clinical specimens and enrichment broths by real-time multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol* 2003; 41(6): 2483-6.
14. Satake S, Clark N, Rimland D, Nolte FS, Tenover FC. Detection of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples by PCR. *J Clin Microbiol* 1997; 35(9): 2325-30.
15. Paule SM, Trick WE, Tenover FC, et al. Comparison of PCR assay to culture for surveillance detection of vancomycin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 2003; 41(10): 4805-7.
16. Sloan LM, Uhl JR, Vetter EA, et al. Comparison of the Roche LightCycler *vanA/vanB* detection assay and culture for detection of vancomycin resistant enterococci from perianal swabs. *J Clin Microbiol* 2004; 42(6): 2636-43.
17. Koh TH, Deepak RN, Se-Thoe SY, Lin RV, Koay ES. Experience with the Roche LightCycler VRE detection kit during a large outbreak of vanB2/B3 vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60(1): 182-3.
18. Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR, Grayson ML. Comparison of three PCR primer sets for identification of *vanB* gene carriage in feces and correlation with carriage of vancomycin-resistant enterococci: interference by *vanB*-containing anaerobic bacilli. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(1): 77-81.
19. Al-Mohri HA, Tadros MA, Louie L, Vearncombe M, Simor AE. Utility of direct, real-time PCR in the management of a nosocomial outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (*vanB* genotype). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008; 27(4): 321-2.
20. Mak A, Miller MA, Chong G, Monczak Y. Comparison of PCR and culture for screening of vancomycin-resistant enterococci: highly disparate results for *vanA* and *vanB*. *J Clin Microbiol* 2009; 47(12): 4136-7.
21. Altun D, Erdem G, Çöplü N, Çağatay M. Klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının tür düzeyinde tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının çeşitli yöntemlerle araştırılması. *ANKEM* 2013; 27(3): 130-4.
22. Garcia-Garrote F, Cercenado E, Bouza E. Evaluation of a new system, VITEK 2, for identification and antimicrobial susceptibility testing of enterococci. *J Clin Microbiol* 2000; 38(6): 2108-11.
23. Abele-Horn M, Hommers L, Trabold R, Frosch M. Validation of VITEK 2 version 4.01 software for detection, identification, and classification of glycopeptide-resistant enterococci. *J Clin Microbiol* 2006; 44(1): 71-6.
24. Babady NE, Gilhuley K, Ciancimino-Bordelon D, Tang YW. Performance characteristics of the Cepheid Xpert *vanA* assay for rapid identification of patients at high risk for carriage of vancomycin-resistant Enterococci. *J Clin Microbiol* 2012; 50(11): 3659-63.