

Adana Çukurova Üniversitesi Hastanesinde Hastane İnfeksiyonuna Yol Açan Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Suşlarının Pulsed Field Jel Elektroforezi Yöntemi ile Genotiplendirilmesi

Genotyping of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Causing Nosocomial Infections by Pulsed Field Gel Electrophoresis in Adana Çukurova University Hospital

Dr. Beril AKÇİMEN,^a
Dr. Toğrul NAĞİYEV,^a
Dr. Aygül TURAÇ BIÇER,^a
Dr. Erkan YULA,^a
Dr. Akgün YAMAN,^a
Dr. Fatih KÖKSAL^a

^aMikrobiyoloji AD,
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Adana

Geliş Tarihi/Received: 15.10.2009
Kabul Tarihi/Accepted: 22.07.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Toğrul NAĞİYEV
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Mikrobiyoloji AD, Adana,
TÜRKİYE/TURKEY
tnagiyev@cu.edu.tr

ÖZET Amaç: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) hastane infeksiyonuna yol açan en önemli patojenlerden birisidir. Epidemiyolojik olarak ilişkili olan MRSA suşlarının genotiplenmesi, infeksiyona yol açan patojenlerin kaynağının, muhtemel taşıyıcılarının, yayılma yollarının ve çevresel faktörlerin belirlenmesi ve böylece hastane infeksiyonlarının önlenmesi veya azaltılması açısından önemli yararlar sağlamaktadır. Genotipik ilişkinin incelenmesinde kullanılan moleküler yöntemler arasında pulsed field jel elektroforezi (PFGE) altın standart olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda, hastane infeksiyonu etkeni olan MRSA suşlarının genotipik ilişkisinin PFGE yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmada 2005-2007 yılları arasında hastanemizin farklı kliniklerinde hastane infeksiyonuna yol açan 46 MRSA izolatının genotipik ilişkisi, genomik DNA'nın SmaI enzimi ile kesildiği PFGE yöntemi ile incelendi. PFGE bant profilleri Gel Compar II programı ile %80 ve üzeri benzerlik gösteren izolatlar klonal ilişki olarak değerlendirildi. **Bulgular:** Kırk altı suşun 42'sinin yakın ilişkili olduğu ve aynı major "A" kümesi içinde yer aldığı ve dört suşun ise ilişkisiz olduğu bulundu. Reanimasyon kliniğinde izole edilen 12 MRSA suşunun tamamının "A" kümesi içinde yer aldığı ve bunlardan sekizinin %100 bant benzerliği gösterdiği tespit edildi. **Sonuç:** PFGE analizi sonuçlarına göre üç yıllık çalışma süresince hastane ortamına tek bir MRSA genotipinin hakim olduğu ve hastane infeksiyonlarına yol açtığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*; elektroferez, puls ortamlı; çapraz enfeksiyon

ABSTRACT Objective: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most important pathogens causing nosocomial infections. Genotyping epidemiologically related MRSA strains is useful in terms of determining the sources of infectious pathogens, potential carriers, ways of spread and environmental factors and thus preventing and decreasing nosocomial infections. Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) is accepted as the gold standard among the molecular methods used for investigation of genotypic relation. In our study, we aimed to genotype MRSA causing nosocomial infections by pulsed field gel electrophoresis. **Material and Methods:** In the study, genotypic relationship of 46 MRSA isolates that caused nosocomial infections in different clinics of our hospital between 2005 and 2007 were evaluated using PFGE method which genomic DNA cut by SmaI enzyme. Isolates with PGFE band profiles resembling to each other 80% and above with Gel Compar II program were accepted as clonally related. **Results:** Forty two strains out of 46 were found to be closely related and took place in the same major "A" group while four strains were found to be unrelated. All of 12 MRSA strains isolated from reanimation clinic were found to take place in group "A" and 100% resemblance was found in eight of them. **Conclusion:** A single MRSA genotype was found to dominate and cause nosocomial infections in the three year period according to PFGE analysis results.

Key Words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; electrophoresis, pulsed-field; cross infection

Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de hastane kökenli infeksiyonlara neden olan patojenler arasında önemli bir yer tutmaktadır.¹⁻⁴ Hastane infeksiyonları genellikle çoklu ilaç direnci olan mikroorganizmalarla gelişmesi, pahalı ve toksik antibiyotiklerin uzun süre kullanımını gerektirmesi, hastanede yatış süresini uzatması, morbidite ve mortaliteyi arttırması gibi sebeplerden dolayı üzerinde titizlikle durulması gereken bir sorundur.^{1,5,6} Bu nedenle, infeksiyona yol açan patojenin antibiyotik direncinin tespit edilmesinin yanı sıra, kaynağının, rezervuarının, bulaşma ve yayılma yollarının, konak ve çevre faktörlerinin incelenmesi, epidemiyolojik ve genotipik ilişkilerinin belirlenmesi hastane infeksiyonlarının önlenmesi veya azaltılmasında önemli faydalar sağlayacaktır. İzolatların genotip düzeyinde incelenmesinde polimeraz zincir reaksiyonu-restriction fragment length polimorphism (PCR-RFLP), Spa tiplmesi, random amplification of polymorphic DNA (RAPD), multi-locus sequence typing (MLST) ve Pulsed field jel elektroforezi (PFGE) gibi çeşitli moleküler yöntemler kullanılmaktadır.^{2,3,7-10} Bunlar arasında PFGE tekrarlanabilirlik, yorumlanabilirlik ve ayırım gücü yönünden en iyi olan yöntemdir ve bu nedenle de moleküler tanıda altın standart olarak kabul edilmektedir.^{3,7,8} Bu çalışmada, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi'nde yatan hastalara ait klinik örneklerden izole edilen MRSA izolatları arasındaki genotipik ilişkinin PFGE yöntemiyle araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada 2005-2007 yılları arasında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi'nin farklı kliniklerinde izole edilen, Vitek 2 (BioMérieux, Durham, North Carolina, USA) otomatize sistemi ve mecA-PCR ile MRSA olduğu doğrulanan ve hastanemizin İnfeksiyon Kontrol Komitesi'nce hastane infeksiyonu etkeni olduğu belirlenerek genotipik ilişkilerinin araştırılması için laboratuvarımıza gönderilen 46 izolat kullanıldı. İzolatlardan 12'si (% 26) Reanimasyon ünitesinden elde edildi (Tablo 1). Çalışmada kullanılan suşların her biri farklı hastalara ait idi. Örneklerin toplanması bit-

tikten sonra, objektif sonuç alınabilmesi için izolatlar geliş tarihine göre değil de rastgele seçilerek çalışıldı ve sonradan izolat sırasına göre numaralandırıldı (AYSa1-46).

Çalışmaya dahil edilen MRSA suşlarından Kanada standardize protokolüne uygun olarak elde edilen DNA, SmaI restriksiyon enzimi ile kesildi ve % 1.1'lik pulsed field certified agarose (Bio-Rad, Hercules, California, USA) ile, CHEF DR II (Bio-Rad Laboratories, Nazareth, Belgium) cihazında, 0.5x TBE (44.5 mM Trisma base, 44.5 mM Borik asit, 1 mM EDTA, pH= 8.4) süspansiyonu içerisinde, başlangıç ve final pulse süreleri 5.4 ve 34.9 saniye, voltaj gradienti 6 V/cm, elektroforez süresi 20 saat olmak üzere, 14°C'de elektroforeze tabi tutuldu.¹¹ Etidyum-bromür solüsyonu (5 µg/ml) içinde 10 dakika boyanan jel, Kodak Gel Logic 1500 imaging sistemi (Kodak Company, 1392 x 1040 pixel, NY, USA) ile görüntülendi (Şekil 1).

Elde edilen PFGE bant profillerinin, Gel Compar II version 5.1 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) yazılım programı kullanılarak, "Unweighted pair group method with mathematical averaging (UPGMA)" yöntemi ile dendrogramı oluşturuldu (Şekil 2). Suşlar arasındaki ilişki bantlara dayalı "Dice" benzerlik katsayısına göre, bant ve profil toleransı %1.5 alınarak hesaplandı^{11,12} ve %80 bant benzerliği olan suşlar klonal ilişkili bir küme olarak değerlendirildi ve kümeler büyük harf (A, B, C ve s.) ile isimlendirildi.¹³

BULGULAR

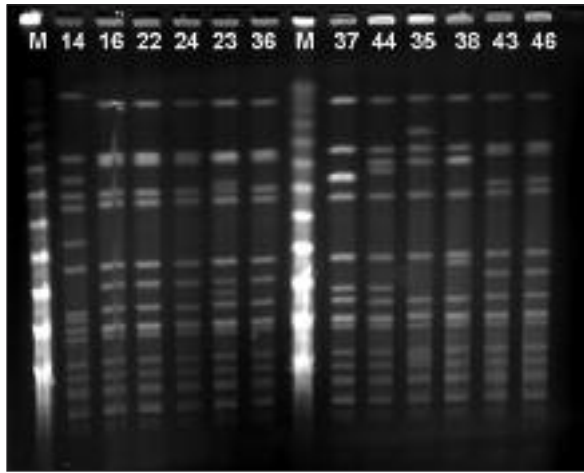
Çalışmamızda PFGE ile yapılan inceleme sonunda, 46 izolattan 42'sinin "A" kümesini oluşturduğu, dördünün ise birbirleri ile ilişkisiz farklı klonlara ait oldukları (B, C, D, E) görüldü. "A" kümesi içindeki izolatların 23 subtipi (A1-23) dağılım gösterdiği ve en sık görülen subtipin 13 üyesi olan A15 olduğu tespit edildi. Yoğun bakım servislerinden izole edilen toplam 15 izolatın tamamının "A" kümesi içinde yer aldığı gözlemlendi (Tablo 1, Şekil 2).

Ayrıca reanimasyon ünitesinde 2005-2007 yılları arasında izole edilen 12 MRSA suşundan sekizinin bronko-alveolar lavaj sıvısı, dördünün ise kandan izole edildiği ve tamamının "A" kümesi

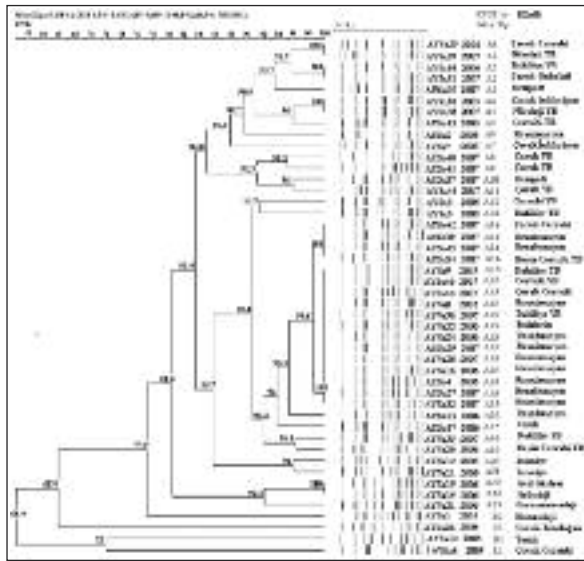
TABLO 1: PFGE ile incelenen 46 MRSA izolatının dağılımı.

İzolat adı	İzolasyon tarihi	Klinik	Materyal	PFGE'YE göre tip
AYSa1	21.4.2005	Hematoloji	Kan	B1
AYSa2	6.8.2005	Reanimasyon	Kan	A6
AYSa3	8.8.2005	Cerrahi YB ¹	Kan	A12
AYSa4	8.8.2005	Reanimasyon	BAL ²	A15
AYSa5	10.8.2005	Dahiliye YB	Kan	A13
AYSa6	12.8.2005	Çocuk cerrahi	Kan	E1
AYSa7	26.8.2005	Çocuk enfeksiyon	Kan	A7
AYSa8	12.9.2005	Reanimasyon	Kan	A15
AYSa9	16.9.2005	Dahiliye YB	Kan	A15
AYSa10	19.9.2005	Çocuk enfeksiyon	Kan	A4
AYSa11	23.9.2005	İntaniye	Kan	A21
AYSa12	23.9.2005	İntaniye	Kan	A20
AYSa13	4.10.2005	Cerrahi YB	Kan	A5
AYSa14	21.10.2005	Yanık	Kan	D1
AYSa15	12.2.2006	Nefroloji	Asit mayi	A22
AYSa16	6.3.2006	Reanimasyon	BAL	A15
AYSa17	7.3.2006	Yanık	Kan	A17
AYSa18	7.3.2006	Dahiliye YB	Kan	A2
AYSa19	7.3.2006	Acil gözlem	Asit mayi	A22
AYSa20	10.3.2006	Beyin cerrahi YB	BOS ³	A19
AYSa21	10.3.2006	Gastroenteroloji	Plevra mayi	A23
AYSa22	8.10.2006	Endokrin	Mediasten mayi	A15
AYSa23	19.10.2006	Reanimasyon	Kan	A16
AYSa24	30.10.2006	Reanimasyon	BAL	A15
AYSa25	21.11.2006	Çocuk cerrahi	Kan	A1
AYSa26	26.11.2006	Çocuk yenidoğan	Kan	C1
AYSa27	4.1.2007	Reanimasyon	BAL	A15
AYSa28	19.2.2007	Reanimasyon	BAL	A15
AYSa29	26.2.2007	Reanimasyon	BAL	A15
AYSa30	2.4.2007	Reanimasyon	BAL	A14
AYSa31	28.4.2007	Çocuk onkoloji	BAL	A2
AYSa32	30.4.2007	Reanimasyon	BAL	A15
AYSa33	14.5.2007	Dahiliye YB	Kan	A18
AYSa34	27.6.2007	Beyin cerrahi YB	BOS	A14
AYSa35	29.6.2007	Ortopedi	Kan	A3
AYSa36	4.8.2007	Dahiliye YB	Kan	A15
AYSa37	24.8.2007	Ortopedi	Kan	A10
AYSa38	25.8.2007	Nöroloji YB	Kan	A4
AYSa39	27.8.2007	Nöroloji YB	BOS	A1
AYSa40	12.11.2007	Çocuk YB	Kan	A8
AYSa41	19.11.2007	Çocuk YB	Kan	A9
AYSa42	19.11.2007	Çocuk cerrahi	Kan	A14
AYSa43	20.11.2007	Çocuk cerrahi	Kan	A15
AYSa44	22.11.2007	Çocuk YB	Kan	A11
AYSa45	25.11.2007	Reanimasyon	Kan	A14
AYSa46	1.12.2007	Cerrahi YB	Kan	A15

¹YB: Yoğun bakım servisiç²BAL: Bronko-alveolar lavaj sıvısı.³BOS: Beyin-omurilik sıvısı.



ŞEKİL 1: MRSA izolatlarının PFGE ile elde edilen jel görüntüsü. M harfi ile Lambda Ladder PFG Marker (New England Biolabs, Ipswich, MA, ABD), rakamlar ile de izolat numaraları gösterilmiştir.



ŞEKİL 2: MRSA izolatlarının PFGE ile elde edilen dendrogramı.

içinde yer aldığı belirlendi. Bu izolatlardan sekizinin PFGE ile % 100 bant profil benzerliği gösterdiği ve en büyük subtip olan A15 içinde yer aldığı tespit edildi. Reanimasyon servisinde bronko-alveolar lavaj sıvısından izole edilen sekiz izolatın (AY-Sa4,16,24,27-30,32) incelenmesinde AYSa30 (SubtipA14) hariç diğerlerinin aynı subtip (A15) olduğu görüldü (Tablo 1, Şekil 2).

TARTIŞMA

Dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi Türkiye’de de hastane infeksiyonlarına yol açan MRSA suşla-

rının klonal ilişkisini ve major klonu tespit amacı ile, ayırım gücü yüksek, güvenilir, tekrarlanabilir ve kolay yorumlanabilir olan PFGE yönteminin kullanıldığı çok sayıdaki çalışmada farklı sonuçlar elde edilmiştir.^{2,3,9,10,14-16}

Cookson ve ark. 11 Avrupa ülkesindeki hastanelerden 1981-1998 yılları arasında izole edilen 98 MRSA ile yaptıkları çalışma sonucunda PFGE yöntemi ile üç veya daha az bant farklılığı gösteren 34 tip tespit etmiş ve en sık görülen Tip 3’ü oluşturan 24 izolatın yedi farklı ülkeden elde edildiğini bildirmişlerdir.⁹ Murchan ve ark. da yedi farklı ülkedeki hastanelerden izole edilen 36 MRSA suşunun PFGE yöntemi ile üç kümede toplandığını, “A” ve “B” klonlarının aynı anda birkaç Avrupa ülkesinde görüldüğünü bildirmişlerdir.³ İspanya’da bir hastaneden 1998-2002 yılları arasında izole edilen 375 MRSA suşunun genotipik ilişkisini moleküler yöntemlerle inceleyen Pérez-Roth ve ark. ise PFGE yöntemi ile beş klon bulduklarını, çalışmaya başladıkları ilk yılda hastane ortamına “Iberian” olarak tanımlanan “A” klonunun hakim olduğunu (%97), ancak beş yıl boyunca yerini “EMRSA-16” olarak tanımlanan “B” klonuna bırakarak prevalansının %1’e düştüğünü ve son iki yılda aynı hastane ortamına “B” klonunun hakim olduğunu (sırası ile %74 ve %65) bildirmişlerdir.¹⁰ Farklı Avrupa ülkelerinde yapılan bu çalışmaların sonucunda özellikle bir veya iki majör MRSA klonunun Avrupa’da yaygın olarak hastane infeksiyonlarına neden olduğu görülmektedir. Cookson ve ark.⁹ ile Murchan ve ark.’nın çalışmalarına benzer, Pérez-Roth ve ark.’nın çalışmasından ise farklı bir şekilde, bizim hastanemizde üç yıl boyunca major bir MRSA klonu hakim idi, ancak uygulanan PFGE protokollerindeki farklılıklar sebebiyle hakim suşların bant paternlerinin karşılaştırılması mümkün olmamıştır.

Malezya’da iki hastanede izole edilen 56 MRSA suşunu PFGE ile inceleyen Norazah ve ark. bir hastanede yedi farklı tip (A, B, C, D, E, F, G), diğer hastanede ise iki tip (B ve C) bulduklarını ve her iki hastanede de en yaygın görülen tipin “B” olduğunu bildirmişlerdir (sırası ile %46 ve %89).¹⁴ Birbirine 800 km uzaklıkta iki hastanede ortak bir tipin görülmesi, hastane içinde ve hastaneler arası

yayılım olduğunu ve suşların genetik olarak ilişkili olduğunu göstermektedir.

Alp ve ark.nın Türkiye’de yaptığı bir çalışmada bir yıllık dönemde altı farklı bölgede bulunan seviz üniversite hastanesinde izole edilen 54 MRSA izolatı PFGE yöntemi ve Spa tiplendirme ile incelenmiş, çalışma sonunda PFGE yöntemi ile 23 tip bulunmuştur.² Araştırmacılar bu tiplerin çoğunun tek bant farklılığı gösterdiğini, böylece farklı bölgelerde izole edilmesine rağmen tek bir predominant klonun çok az değişikliğe uğrayarak bütün ülkede yayıldığı sonucuna vardıklarını bildirmişlerdir. Türkiye’de yapılan başka bir çalışmada da, Oztop ve ark. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi hastanesinde nozokomiyal enfeksiyona yol açan 43 MRSA izolatını PFGE ve rep-PCR yöntemleri ile genotipik olarak incelemiş, PFGE ile bir major tip ve 8 subtip tanımlamışlardır.¹⁵ Zarakolu ve ark. da Hacettepe Üniversitesi Erişkin Hastanesinde 2002-2004 yılları arasında hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen 109 MRSA izolatı ile yaptıkları çalışmada, PFGE ile 13 farklı klon bulduklarını, ve izolatların %80’inin “A” klonuna ait olduğunu bildirmişlerdir.¹⁶ Suşlar arasındaki ilişkinin PFGE yöntemi ile tespit edilmesinde bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de belirli bir standardizasyonun olmamasından dolayı, bu çalışmaların her üçünde ve bizim çalışmada farklı protokoller uygulanmıştır. Bu sebeple, bu major suşların aynı bant paternine sahip olup olmadığı anlaşılamamaktadır. Ancak, Türkiye’de daha önce yapılan bu üç çalışmanın ve bizim çalışmamızın sonuçlarına göre ülkemizin hastanelerinde bir veya birkaç major MRSA klonunun yayıldığı ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin bu klo-

nun veya klonların yayılmasına yönelik alınması gerektiği anlaşılmaktadır.

Durmaz ve ark.nın Türkiye’deki beş üniversite hastanesinde yaptıkları ve bizim de dahil olduğumuz ortak bir çalışma sonucunda, Türkiye’de Gram(-) bakterilerin tiplendirilmesinde kullanılabilir hızlı bir PFGE protokolünün optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.¹⁷ Ancak yukarıda da bahsedildiği gibi, Türkiye’deki MRSA suşlarının tiplendirilmesi için ortak bir PFGE protokolü henüz geliştirilmemiştir.¹⁷

Sonuç olarak, çalışmamızda hastane kaynaklı MRSA suşlarının önemini sürdürdükleri, MRSA’lara bağlı hastane enfeksiyonlarından genellikle tek bir suşun sorumlu olduğu ve bu suşun zaman içinde hastanedeki bütün riskli birimlere egemen olduğu, özellikle reanimasyon servisinde aynı suşun ağırlıklı olarak bronko-alveoler lavaj örneklerinden izole edildiği, bunun da MRSA için solunum yolları enfeksiyonlarının önemli bir lokalizasyon alanı olduğu ve bu ilişkinin ventilatör kullanımı ile olan muhtemel birlikteliğinin sorgulanmasını gerekli kıldığı belirlenmiştir. Bu sebeple, reanimasyon başta olmak üzere hastanenin bütün kliniklerinde kullanılan invaziv enstrümanlar ile personelin “A” klonuna ait MRSA suşları yönünden taranarak kaynak tespitine gidilmesinin, ayrıca bu taramaların Türkiye geneli için ortak bir PFGE protokolü geliştirilerek gerçekleştirilmesinin hastane enfeksiyonlarını kontrol altına almak, hastanede verilen hizmetin kalitesini yükseltmek ve hastane enfeksiyonlarının hasta, hasta yakını ve kamuoyunda yarattığı olumsuz izlenimi yok etmek adına faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Kampf G, Kramer A. Epidemiologic background of hand hygiene and evaluation of the most important agents for scrubs and rubs. *Clin Microbiol Rev* 2004;17(4):863-93.
2. Alp E, Klaassen CH, Doganay M, Altoparlak U, Aydın K, Engin A, et al. MRSA genotypes in Turkey: persistence over 10 years of a single clone of ST239. *J Infect* 2009;58(6):433-8.
3. Murchan S, Kaufmann ME, Deplano A, de Ryck R, Struelens M, Zinn CE, et al. Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains. *J Clin Microbiol* 2003;41(4):1574-85.
4. Vançelik S, Özden K, Özkurt Z, Altoparlak Ü, Aktaş E, Savcı AB. [Hospital infections in Atatürk University Medical Faculty Hospitals: results of year 2005]. *TAF Prev Med Bull* 2006;5(3):159-65.
5. Jarvis WR. Selected aspects of the socioeconomic impact of nosocomial infections: morbidity, mortality, cost and prevention. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996;17(8):552-7.

6. Plowman R, Graves N, Griffin MA, Roberts JA, Swan AV, Cookson B, et al. The rate and cost of hospital-acquired infections occurring in patients admitted to selected specialties of a district general hospital in England and the national burden imposed. *J Hosp Infect* 2001;47(3):198-209.
7. Strandén A, Frei R, Widmer AF. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Can PCR replace pulsed-field gel electrophoresis? *J Clin Microbiol* 2003;41(7):3181-6.
8. Sener K, Saraçlı MA, Açıkel CH, Doğançlı L. [Evaluation of three methods for genotyping of nosocomial methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates]. *Mikrobiyol Bul* 2004;38(4):363-75.
9. Cookson BD, Robinson DA, Monk AB, Murchan S, Deplano A, de Ryck R, et al. Evaluation of molecular typing methods in characterizing a European collection of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains: the HARMONY collection. *J Clin Microbiol* 2007;45(6):1830-7.
10. Pérez-Roth E, Lorenzo-Díaz F, Batista N, Moreno A, Méndez-Alvarez S. Tracking methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones during a 5-year period (1998 to 2002) in a Spanish hospital. *J Clin Microbiol* 2004;42(10):4649-56.
11. Mulvey MR, Chui L, Ismail J, Louie L, Murphy C, Chang N, et al. Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 2001;39(10):3481-5.
12. Seifert H, Dolzani L, Bressan R, van der Reijden T, van Strijen B, Stefanik D, et al. Standardization and interlaboratory reproducibility assessment of pulsed-field gel electrophoresis-generated fingerprints of *Acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol* 2005;43(9):4328-35.
13. Struelens MJ, Deplano A, Godard C, Maes N, Serruys E. Epidemiologic typing and delineation of genetic relatedness of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by macrorestriction analysis of genomic DNA by using pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 1992;30(10):2599-605.
14. Norazah A, Liew SM, Kamel AG, Koh YT, Lim VK. DNA fingerprinting of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE): comparison of strains from 2 Malaysian hospitals. *Singapore Med J* 2001;42(1):15-9.
15. Oztop AY, Pinarbasi H, Kocagöz S, Bakici MZ, Bakir M. Molecular genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in a teaching hospital in Turkey. *Microb Drug Resist* 2004;10(2):154-9.
16. Zarakolu P, Metan G, Altun B, Hasçelik G, Ünal S. Antimicrobial susceptibility, inducible macrolide-lincosamide-streptogramin B, and clonal diversity patterns of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in Hacettepe University adult hospital. *Turk J Med Sci* 2009;39(5):783-9.
17. Dumaz R, Otlu B, Koksall F, Hosoglu S, Öztürk R, Ersoy Y, et al. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Jpn J Infect Dis* 2009;62(5):372-7.