

ARAŞTIRMA

**Klinik enterokok izolatlarının tür düzeyinde tanımlanmasında yarı otomatize BBL Crystal, otomatize VITEK, API Rapid ID 32 Strep ve API 20 Strep tanımlama sistemlerinin uyumlarının karşılaştırılması**

**Comparison of the compliances of semi-automated BBL Crystal, automated VITEK, API Rapid ID 32 Strep and API 20 Strep identification systems in the identification of clinical enterococcus isolates**

**Emel Sesli Çetin, Esra Çiftçi, Tuba Öztürk, Buket Cicioğlu Arıdoğan**

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta

**Özet**

**Amaç:** Enterokokların tür düzeyinde tanımlanması hastaların uygun tedavisi ve enfeksiyon kontrolü açısından önemlidir. Bu çalışmada, klinik örneklerden izole edilen enterokokların tanımlanmasında, yarı otomatize BBL Crystal (Becton Dickinson, ABD), otomatize VITEK (BioMerieux, Fransa), API Rapid ID 32 Strep ve API 20 Strep (BioMerieux, Fransa) tanımlama sistemlerinin uyumlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metot:** Her biri farklı hastaya ait kan kültürü örneklerinden izole edilmiş 52 enterokok izolatının BBL Crystal, VITEK, API Rapid ID 32 Strep ve API 20 Strep, tanımlama sistemleri ile üretici firmaların önerileri doğrultusunda tanımlanmaları yapıldı. Belirlenen Enterococcus türleri, tanımlama düzeyleri ve kullanılan yöntemlerin Enterococcus türlerini tanımlamada birbirleriyle olan uyumları değerlendirildi.

**Bulgular:** BBL Crystal ile 52 suşun tamamı, VITEK ile %84.6'ü, Rapid ID 32 Strep ile %75'i, API 20 Strep ile %63.5'i iyi, çok iyi ya da mükemmel düzeyde (test reaksiyon profili ile organizma profili arasındaki uyum değerlendirildiğinde %85-99 olasılıkla tek bir tür adı konabilmesi) tanımlanmıştır. BBL Crystal ve API 20 Strep sistemi ile tanımlanamayan izolat bulunmazken VITEK ile 1, Rapid ID 32 sistemi ile 2 izolat tür düzeyinde tanımlanamamıştır. Tanımlama sistemleri arasında en yüksek uyum oranı (%92.3) BBL Crystal ve VITEK sistemleri arasında elde edilmiştir.

**Sonuç:** BBL Crystal ve VITEK sistemleri ile tanımlama düzeylerinin ve bu sistemlerin birbiriyle uyumunun daha yüksek olduğu, API 20 Strep sisteminin tanımlama sonuçlarının düşük tanımlama düzeyleri yanında diğer sistemlerle en düşük uyum oranları gösteren sonuçlar verdiği belirlenmiştir. E. faecalis tanımlanmasında sistemlerin birbirleriyle uyumu yüksek iken, uyum sorununun E. faecalis ve E. faecium dışındaki enterokok türlerinin tanımlanmalarında öne çıktığı belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Enterococcus tür tanımlanması, BBL Crystal, VITEK, API Rapid ID 32 Strep API 20 Strep

**Abstract**

**Objective:** Identification of Enterococcus spp. at the species level is of great importance, for appropriate treatment of patients and infection control management. The aim of this study was to evaluate the compliances of BBL Crystal (Becton Dickinson, USA), VITEK (BioMerieux, France), API Rapid ID 32 Strep and API 20 Strep (BioMerieux, France) identification systems in the identification of clinical enterococcus isolates.

**Material-Method:** A total of 52 enterococci, isolated from blood cultures of different patients were identified by BBL Crystal, VITEK, API Rapid ID 32 Strep and API 20 Strep identification systems according to manufacturers' instructions. Identified Enterococcus species, identification levels and compliances of the systems were evaluated.

**Result:** 100%, 84.6%, 75% and 63.5% of 52 strains were identified to species level with an identification level of good, very good or excellent (one species identification with a probability rate of 85-99%), respectively with BBL Crystal, VITEK, Rapid ID 32 Strep and API 20 Strep systems. While there were no unidentified strains with BBL Crystal, and API 20 Strep, 1 and 2 strains were unidentified with VITEK and Rapid ID 32 systems, respectively. The highest compliance rate (92.3%) was detected between BBL Crystal and VITEK systems.

**Conclusion:** Identification levels and compliances of BBL Crystal and VITEK systems were higher and identification results of API 20 Strep system displayed not only low identification levels but also the lowest compliance rates with other systems. While compliance of identification systems were high for identification of E. faecalis, it was lower at identifying non-faecalis and non-faecium Enterococcus.

**Keywords:** Enterococcus species identification, BBL Crystal, VITEK, API Rapid ID 32 Strep API 20 Strep

## Giriş

İnsan gastrointestinal ve genitouriner sistem floralarının doğal elemanı olan enterokok türleri, özellikle geniş spektrumlu antibiyotikler ile tedavi edilen hastanede yatmakta olan hastalarda hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli sebeplerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır (1). Son yıllarda enterokokların klinik önemindeki artış, çeşitli antibiyotiklere yapısal direnç göstermelerinin yanında başta vankomisine karşı olmak üzere yeni direnç geliştirme özelliklerinden kaynaklanmaktadır (2, 3). Enterokok türleri, hastadan hastaya veya kolonize hastane personeli tarafından hastalara bulaştırılabilmekte ve hastane içinde kolaylıkla yayılıp özellikle immün sistemi baskılanmış kişilerde hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilmektedirler (1, 4). Tüm klinik enterokok izolatlarının %80-90'ını *Enterococcus faecalis*, %10-15'ini ise *Enterococcus faecium* oluşturmaktadır. İntestinal sistemde az sayıda kolonize oldukları bilinse de diğer enterokok türlerinin hastalıklardaki prevalansları bilinmemektedir. *Enterococcus gallinarum* ve *Enterococcus casseliflavus* ise insan intestinal sistemini kolonize ettiği ve yapısal olarak vankomisine dirençli olduğu bilinen enterokok türleridir (1,4). Bu türlerin virülansları nispeten daha düşük olup insan hastalıkları ile nadiren ilişkili olsalar da vankomisine yapısal olarak dirençli olmaları ve enfeksiyon kontrolü açısından daha önemli olan *E. faecium* ve *E. faecalis* izolatları ile karışabileceklerinden dolayı doğru tanımlanmaları önemlidir (4). Çünkü, *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarında karşılaşılabilecek aminoglikozid ve vankomisin direnci plazmid ilişkili olup bakteriler arasında aktarılabilir özellik gösterirken *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* izolatlarında gözlenen yapısal direnç transfer edilmeyen özelliktedir (1,4). Bu nedenle hastane enfeksiyonlarının kontrolünde ve hastane içerisinde yayılmanın önlenmesi amacıyla alınacak önlemlerin doğru bir şekilde düzenlenebilmesinde özellikle enterokokların tür düzeyinde doğru tanımlanması önem taşımaktadır.

Enterokok türlerinin konvansiyonel yöntemlerle tür düzeyinde tanımlanması zor ve zaman alıcı bir süreçtir (5). Bu nedenle klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında saptanan enterokok izolatlarının tanımlanmasında konvansiyonel yöntemlerin yerini zaman içerisinde yarı otomatik veya otomatik tanımlama yöntemleri ve son yıllarda moleküler yöntemler almıştır. Bu çalışmada, klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının tür düzeyinde tanımlanmasında, yarı otomatize BBL Crystal (Becton Dickinson, ABD), otomatize VITEK (BioMerieux, Fransa), API Rapid ID 32 Strep (BioMerieux, Fransa) ve API 20 Strep (BioMerieux, Fransa) tanımlama sistemlerinin uyumlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## Materyal-Metot

Süleyman Demirel Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında her biri farklı hastaya ait kan kültürü örneklerden izole edilmiş 52 enterokok izolatı çalışmaya alındı. Koloni morfolojileri, Gram boyanma özellikleri, katalaz, L-pirolidonil- $\beta$ -naftilamidi (PYR) ve eskülini hidrolize edebilme, %6.5 NaCl ve safra tuzları varlığında üreyebilme özellikleri test edilerek

*Enterococcus* spp. olduğu belirlenen izolatların API Rapid ID 32 Strep, API 20 Strep, VITEK otomatize sistemi ve BBL Crystal tanımlama sistemleri ile üretici firmaların önerileri doğrultusunda tanımlanmaları yapıldı.

Tanımlama sürecinin bir parçası olarak, ilgili tanımlama sistemlerinin yazılımları tanımlama sistemi ile elde edilen reaksiyon profillerini sistem tarafından tanımlanabilen her bir organizma veya organizma grubuna ait beklenen reaksiyon seti ile karşılaştırmaktadır. Sistemin yazılımı tarafından sayısal bir değer olan olasılık yüzdesi hesaplanır, bu yüzde gözlenen reaksiyonların her bir organizmanın tipik reaksiyonlarıyla ne ölçüde ilişkili olduğunu bildirir. Buna göre; test reaksiyon profili ve tek bir organizmanın veya bir organizma grubunun reaksiyon profili arasındaki tam eşleşme %99'luk bir olasılık yüzdesi vermekte ve mükemmel tanımlama olarak sınıflandırılmaktadır. Tam eşleşme elde edilemese de, reaksiyon profilinin organizma tanımlanması hakkında net bir kararın verilmesini sağlayacak ölçüde, beklenen reaksiyon profiline yeterince yakın olması da ihtimal dahilindedir. Tek bir mikroorganizma türü ya da grubunun tanımlanabildiği durumdaki olasılık yüzdeslerinin aralığı 85 ile 99 arasındadır ve iyi/çok iyi tanımlama olarak belirtilmektedir. Reaksiyon profili iki ya da üç organizma arasında ayırım yapmaya yetmediğinde şüpheli/düşük ayırım, 3'den fazla tür elde edilen sonuç ile benzer biyopatren gösteriyorsa kabul edilemez, hiçbir tür elde edilen paternle uyum göstermiyorsa tanımlanamayan şekilde belirtilmiştir. Her bir tanımlama sistemi ile belirlenen enterokok türleri, tanımlama düzeyleri (iyi/çok iyi/mükemmel; şüpheli/düşük ayırım; kabul edilemez; tanımlanamayan) ve kullanılan yöntemlerin enterokok türlerini tanımlamada birbirleriyle olan uyumları değerlendirildi. Tanımlama sistemleri arasında uyumsuzluk gösteren suşların tanımlanmaları her bir yöntemle ayrı ayrı tekrarlanmış, en yüksek tanımlama oranları elde edilen sonuçlar değerlendirmeye alınmıştır. Kalite kontrol suşu olarak *E. faecalis* ATCC 29212 kullanılmıştır.

## İstatistik değerlendirme

Bu çalışmada, kullanılan otomatize ve yarı otomatize tanımlama sistemlerinin sonuçlarının birbirleri ile uyumları değerlendirilmiş olup referans bir yöntem kullanılarak karşılaştırma yapılmamış olduğu için pozitif ya da negatif prediktif değerlerden bahsedilmemiştir. Veri analizinde yöntemlerin birbirleriyle uyumları karşılaştırılırken iki testin elde ettiği sonuçların birbiriyle ne ölçüde uyumlu olduğunu değerlendirmek için tutarlılık hesaplanmıştır. Bu amaçla her iki yöntemin de aynı sonucu verdiği örnek sayısı, toplam çalışılan örnek sayısına bölünmüştür (6). Ayrıca enterokok izolatlarının tür düzeyinde tanımlama sonuçları için her bir yöntemin birbirleriyle uyumlarını değerlendirmek için SPSS 17.0 programı ile kapa değerleri hesaplandı. Buna göre  $\kappa < 0$  ise uyum yok;  $0.00 < \kappa < 0.20$  ise zayıf uyum;  $0.21 < \kappa < 0.40$  ise hafif uyum;  $0.41 < \kappa < 0.60$  ise orta uyum;  $0.61 < \kappa < 0.80$  ise iyi uyum;  $0.81 < \kappa < 0.92$  ise çok iyi uyum;  $0.93 < \kappa < 1.00$  ise mükemmel uyum olarak değerlendirildi (7).

## Bulgular

BBL Crystal, VITEK ve Rapid ID 32 sistemleri ile tanımlanan türler sırasıyla *E. faecalis* (27;28;25), *E. faecium* (18;17;14), *E. gallinarum /casseliflavus* (5;4;5), *Aerococcus viridans* (1;1;2), *Enterococcus spp.* (1;1;3) ve *E. avium* (0;0;1), iken, API 20 Strep ile *E. faecalis*(20), *A. viridans* (18), *E. faecium*, *E. avium*, *Enterococcus spp.*(1) idi. Her bir tanımlama sistemi ile belirlenen klinik enterokok izolatlarının tür dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir (6-7).

**Tablo 1.** Her bir tanımlama sistemi ile belirlenen klinik *Enterococcus* izolatlarının dağılımı

	BBL Crystal	VITEK	Rapid ID 32	API 20 Strep
1	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
2	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
3	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>A. viridans</i>
4	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>G.sanguinis*</i>
5	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>A. viridans</i>
6	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	Tanımlanamayan	<i>A. viridans</i>
7	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
8	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium*</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium*</i>
9	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>A. viridans</i>
10	<i>E.raffinosisus</i>	<i>E.raffinosisus*</i>	<i>E.avium</i>	<i>E.avium</i>
11	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis*</i>	<i>E.avium</i>
12	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>A. viridans*</i>
13	<i>E. faecium</i>	<i>E.gallinarum/casseliflavus*</i>	<i>E. faecium**</i>	<i>E.avium*</i>
14	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium*</i>	<i>E.durans</i>	<i>A. viridans**</i>
15	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium**</i>	<i>E. faecium</i>
16	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis*</i>	<i>E. faecalis</i>
17	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis*</i>
18	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
19	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
20	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
21	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
22	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
23	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>Le.lactis lactis**</i>	<i>A. viridans</i>
24	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium**</i>	<i>A. viridans</i>
25	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
26	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E.avium</i>
27	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium*</i>	<i>E. faecium</i>	<i>A. viridans*</i>
28	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium*</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>
29	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
30	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>A. viridans*</i>
31	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E.avium</i>
32	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	Tanımlanamayan	<i>E. faecalis</i>
33	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis*</i>
34	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
35	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>E.gallinarum/casseliflavus*</i>	<i>E.gallinarum/casseliflavus**</i>	<i>E.avium</i>
36	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
37	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium*</i>
38	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis*</i>
39	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
40	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>A. viridans</i>	<i>A. viridans</i>
41	<i>A. viridans</i>	<i>A. viridans</i>	<i>A. viridans</i>	<i>A. viridans</i>
42	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>E. faecium**</i>
43	<i>E. faecium</i>	Tanımlanamayan	<i>E. faecium</i>	<i>A. viridans*</i>
44	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>A. viridans**</i>
45	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>
46	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>A. viridans*</i>
47	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis*</i>	<i>E. faecium</i>
48	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium*</i>	<i>E. faecium*</i>
49	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis**</i>	<i>E. faecalis*</i>
50	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>G. sanguinis**</i>	<i>A. viridans*</i>
51	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E.gallinarum/casseliflavus</i>	<i>A. viridans*</i>
52	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i>	<i>A. viridans</i>

\*. Şüpheli / düşük ayırım düzeyinde tanımlama \*\*:. Kabul edilemez düzeyde tanımlama

BBL Crystal ile 52 suşun tamamı (%100), VITEK ile 44'ü (%84.6), Rapid ID 32 ile 39'u (%75), API 20 Strep ile 33'ü (%63.5) iyi, çok iyi ya da mükemmel düzeyde tanımlanmış, BBL Crystal ve API 20 Strep sistemi ile tanımlanamayan izolat bulunmazken VITEK ile 1, Rapid ID 32 sistemi ile 2 izolatın tür düzeyinde tanımlanması yapılamamıştır. Kullanılan tanımlama sistemleri ile elde edilen tanımlama düzeylerinin dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Kullanılan tanımlama sistemleri ile elde edilen tanımlama düzeylerinin dağılımı.

	BBL Crystal n (%)	VITEK n (%)	Rapid ID 32 n (%)	API 20 Strep n (%)
İyi /çok iyi / mükemmel	52 (100)	44 (84.6)	39(75)	33(63.4)
Şüpheli / düşük ayırım	-	7 (13.5)	4(7.7)	16 (30.8)
Kabul edilemez	-	-	7(13.5)	3 (5.8)
Tanımlanamayan	-	1 (1.9)	2(3.8)	-

Tanımlama sistemleri arasındaki uyum değerlendirildiğinde en yüksek tutarlılık oranı (%92.3) BBL Crystal ve VITEK sistemleri arasında elde edilmiş, API 20 Strep sistemi ile diğer sistemlerle elde edilen sonuçlar arasındaki tutarlılık oranlarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3.** Kullanılan tanımlama sistemleri ile belirlenen uyumlu / uyumsuz tanımlama sonuçları (n) ve tutarlılık oranları (%)

	BBL Crystal uyumlu/uyumsuz n(%)	VITEK uyumlu/uyumsuz n(%)	Rapid ID 32 uyumlu/uyumsuz n(%)	API 20 Strep uyumlu/uyumsuz n(%)
BBL Crystal	-	48 / 4 (92.3)	41 / 11 (78.8)	26 / 26 (50)
VITEK	48 / 4 (92.3)	-	39 / 13 (75)	27 / 25 (52)
Rapid ID 32	41 / 11 (78.8)	39 / 13 (75)	-	27 / 25 (52)
API 20 Strep	26 / 26 (50)	27 / 25 (52)	27 / 25 (52)	-

ile VITEK arasında çok iyi uyum ( $\kappa = 0.87$ ), BBL Crystal ile Rapid ID32 arasında iyi uyum ( $\kappa = 0.73$ ), VITEK ile Rapid ID32 arasında orta uyum ( $\kappa = 0.59$ ), BBL Crystal, VITEK ve Rapid ID32 ile API 20 Strep arasında ise hafif uyum tespit edilmiştir ( $\kappa$  değerleri sırasıyla 0.36, 0.38, 0.36). *E. gallinarum/casseliflavus* tanımlanmasında BBL Crystal ile VITEK arasında iyi uyum ( $\kappa=0.64$ ), BBL Crystal ile Rapid ID32 arasında orta uyum ( $\kappa$  değeri 0.56), VITEK ile Rapid ID32 arasında hafif uyum ( $\kappa$  değeri 0.39), tespit edilirken API 20 strep ile hiç *E. gallinarum/casseliflavus* tanımlanması yapılmamış olduğu için *E. gallinarum/casseliflavus* tanımlanmasında diğer sistemlerle uyumsuz bulunmuştur.

## Tartışma

Bu çalışmada, yarı otomatize BBL Crystal ve otomatize VITEK sistemlerinin enterokokların tür düzeyinde tanımlanmasında yüksek tanımlama düzeyleri gösterdiği ve bu iki sistemin *E. faecalis* tanımlanmasında mükemmel, *E. faecium* tanımlanmasında çok iyi, *E. gallinarum/casseliflavus* tanımlanmasında ise iyi uyum gösterdiği tespit edilmiştir. Son yıllarda antibiyotik direnç oranlarında görülen artışla birlikte enterokokların tür düzeyinde doğru ve hızlı bir şekilde tanımlanması hastaların uygun tedavisi, enfeksiyon kontrolü ve epidemiyolojik açıdan daha da önemli hale gelmiştir. Nitekim günümüze kadar enterokokların tanımlanmasında kullanılabilen çeşitli tanımlama sistemlerini konvansiyonel yöntemler ve birbirleri ile çeşitli açılardan karşılaştıran birçok çalışma yapılmıştır. Farklı çalışmalarda farklı tanımlama oranları bildiriliyor olmasının nedeni çok açık olmamakla birlikte kullanılan çalışmalarda kullanılan suşların farklı dağılımları, tanımlama kartlarının içerik farklılıkları, kolorimetrik veya fluorometrik değerlendirme sistemleri gibi farklı yöntemlerle değerlendirme, tanımlama sistemlerinin veri tabanlarında bulunan tür dağılımlarının çeşitliliği gibi faktörlerin etkili olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Hamilton-Miller'in bir referans laboratuvar tarafından vankomisine dirençli *E. faecium* olarak tanımlanmış 28 izolatın o dönem yeni bir sistem olan iki BBL Crsytal sistemi (Gram pozitif ve Rapid Gram pozitif) ile API Rapid ID32 ve API20 Strep sistemleri ile tanımlanma sonuçlarını karşılaştırdığı çalışması sonucunda API Rapid ID32 ile sadece 2 suş, API 20 Strep kitleri ile ise 16 suş *E. faecium* olarak tanımlanırken, BBL Crystal Gram pozitif kiti ile 26 suş, BBL Crystal Rapid Gram pozitif kiti ile 27 suş *E. faecium* olarak tanımlanmıştır (8).



Diğer taraftan, iki API kitinin sadece 10 suş için benzer sonuç verdiği tespit edilirken BBL Crystal sisteminin iki kitinin 28 suşun 25'inde ortak sonuç verdiği belirlenmiştir. Araştırmacılar bu bulgularına dayanarak vankomisin dirençli enterokokların tanımlanmasında API kit sistemlerinin uygun bulunmadığını, BBL Crystal kitlerinin bu konuda daha başarılı bulunduğunu bildirmişlerdir. API kitleri ile ilgili *E. faecium* için bildirilen tutarsızlık bu çalışmada yeni bir bulgu olarak ortaya konulmuş, bu durum geçmişte az sayıda *E. faecium* izolatu ile çalışılmış olmasına ve API kitlerinin özellikle vankomisin dirençli *E. faecium* tanımlanmasındaki etkinliğini araştıran spesifik çalışmalar yapılmamış olmasına bağlanmıştır (8-10). Bizim çalışmamızdaki suşların vankomisin duyarlı suşlar olması ve herhangi bir yöntemin referans yöntem olarak kabul edilmemiş olması verilerimizi bu çalışmanın verileri ile karşılaştırmamızı zorlaştırıyor olsa da bizim çalışmamızda da enterokokların tür düzeyinde tanımlanmasında iki API sistemi arasında tutarlılık oranının diğer sistemler arasındaki tutarlılık oranlarından daha düşük bulunmuş olması bu çalışma bulgularına benzerlik göstermektedir. Diğer taraftan çalışmamızda kullanılan tüm sistemler arasında en tutarsız sonuçların API 20 Strep sistemi ile elde edilmiş olması ise farklı bir bulgu olarak dikkatimizi çekmiştir.

Eisner ve ark., VITEK 2 sistemi ile multipleks ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temelli 2 moleküler yöntemin glikopeptid dirençli enterokok türlerinin tanımlanmasındaki tutarlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında farklı direnç fenotiplerine sahip 80 enterokok izolatu ile çalışmış, VITEK 2 sisteminin izolatların %39'unu tür düzeyinde doğru tanımladığını, doğru tanımlanamayan ya da tanımlanamayan 51 izolatu 49'unun *E. faecium* olduğunu bildirmişlerdir (11). Diğer taraftan vankomisin direncinin tüm izolatlarda ortaya konulabildiğini ancak teikoplanin direnci ile ilgili tutarsız sonuçlar alındığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar özellikle gerçek zamanlı PZR yönteminin klinik örneklerden glikopeptid dirençli enterokok tanımlanmasında hızlı ve güvenilir olduğunu, ancak vanC tipi direnci gösteremediğini vurgulamışlardır. Eisner, çalışmada kullanılan üç yöntemle elde edilen tanımlama sonuçlarını konvansiyonel yöntemler ve Rapid ID32 Strep ve API 20 Strep sistemleri ile daha önce yapmış oldukları tanımlamalarla karşılaştırdıklarını bildirmiştir (11). Bu durumda araştırmacıların VITEK 2 sistemi için bildirmiş olduğu %39 doğru sonuç aslında diğer API sistemleri ile olan uyum oranını gösteriyor gibi görünmektedir. Bu oran bizim çalışmamızda elde ettiğimiz VITEK 2 ile API sistemleri arasındaki tutarlılık oranlarının altında bulunmuştur. Ayrıca bizim çalışmamızda *E. faecium* tanımlanmasında VITEK 2 sistemi BBL Crystal ve Raid ID32 ile çok iyi, ve orta uyumlu sonuçlar verirken API 20 Strep sistemi ile *E. faecium* tanımlanmasının diğer sistemlerle hafif uyum gösterdiği görülmektedir. Çekin ve ark., klinik örneklerden izole edilen 90 vankomisine duyarlı enterokok suşunun tür düzeyinde tanımlanmasında, Phoenix otomatize sistemi, API Rapid ID 32 Strep sistemi ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PZR) kiti olan LightCycler

*Enterococcus* MGRADE sistemini konvansiyonel tanımlama yöntemleri referans alınarak karşılaştırdıkları çalışmalarında API Rapid ID 32 Strep sisteminin konvansiyonel yöntemle uyumunu %98.9 gibi yüksek oranda bulduklarını bildirmiş, *E. faecium* ya da *E. faecalis* tanımlanması ile ilgili hiçbir tanımlama sorunu bildirmemişlerdir (12). Bizim çalışmamızda da API Rapid ID 32 Strep sistemi *E. faecalis* ve *E. faecium* tanımlanmasında BBL Crystal ve VITEK ile uyumlu bulunmuştur.

Tür spesifik PZR, MALDI-TOF MS ve VITEK 2 sistemlerinin enterokok türlerinin tanımlanmasındaki etkinliğini karşılaştırmak için 132 klinik enterokok izolatu ile gerçekleştirilen çalışmada Fang ve ark., VITEK 2 sisteminin özellikle non-*faecalis* ve non-*faecium* enterokok türlerinin tanımlanmasında daha yetersiz olduğunu ortaya koymuştur (13). Bizim çalışmamızın verileri *E. faecium* ve *E. faecalis* tanımlamaları arasındaki uyum açısından değerlendirildiğinde API 20 Strep sistemi dışında önemli bir tutarsızlık göze çarpmazken tanımlama sistemleri arasındaki tutarsızlığın en belirgin olduğu tür olarak *E. casseliflavus* / *gallinarum* göze çarpmaktadır. Ayrıca *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum* / *casseliflavus*, *Aerococcus viridans* türleri kullanılan tüm tanımlama sistemleri ile gösterilirken, *E. avium* tanımlanmasının sadece Rapid ID 32 ve API 20 Strep sistemleri ile ortaya konulduğu da dikkati çeken diğer bir bulgudur.

Jin ve ark., VITEK2, MicroScan ve Phoenix sistemlerinin Gram pozitif ve negatif çeşitli klinik izolatlar ve referans suşları yanında 26 klinik ve 3 referans enterokok suşunu (*E. casseliflavus* (M0505), *E. casseliflavus* (M0711), *E. faecium* (M0109)) tanımlamaları açısından uyumlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında bu üç otomatize tanımlama sisteminin farklı bakteri grupları için farklı uyum oranları gösterdiklerini bildirmişlerdir. Klinik enterokok izolatları için VITEK 2 ve Phoenix ile tanımlama oranları eşit (%92.3) bulunurken MicroScan sistemi ile daha düşük bulunmuştur (%76.9). Referans suşların tanımlanmaları karşılaştırıldığında ise sadece Phoenix sistemi ile 3 suşda da tür düzeyinde doğru tanımlama yapıldığı, MicroScan ile 2, VITEK ile 3 suşda farklı tanımlama sonucu elde edildiği *E. casseliflavus*'un VITEK 2 ve MicroScan ile *E. faecium* olarak tür düzeyinde yanlış tanımlandığı bildirilmiştir (14). Bu bulgu da çalışmamızda farklı sistemler arasında tespit edilen tanımlama farklılıklarının özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium* dışındaki enterokok türlerinde gözlemlendiği bulgusu ile örtüşmektedir.

## Sonuç

BBL Crystal ve VITEK sistemleri ile tanımlama düzeylerinin ve bu sistemlerin birbiriyle uyumunun daha yüksek olduğu, özellikle API 20 Strep sisteminin enterokok türlerinin tanımlanmasında diğer sistemlerle hafif uyumlu ve uyumsuz sonuçlar verdiği ve tanımlama düzeylerinin de daha düşük olduğu görülmüştür. Çalışmamızın bulguları dikkate alındığında klinik enterokok izolatlarının tanımlanmasında

BBL Crystal ve otomatize VITEK sistemlerinin konvansiyonel yöntemlerle kıyaslandığında uygulamalarının daha kolay oluşu ve daha hızlı sonuç almayı sağlıyor olmalarına da dayanılarak rutin klinik mikrobiyoloji laboratuvar uygulamalarında öncelikle tercih edilebilecekleri sonucuna varılmıştır.

Teşekkür: Çalışmamızın sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesinde yaptığı değerli katkılarından dolayı Süleyman Demirel Üniversitesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Yonca Sönmez'e teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

1. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC (eds). The gram-positive cocci: Part II: Streptococci, Enterococci, and the "Streptococcus-like" bacteria. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia; 2006: 674-745.
2. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. Microbiology 2009; 155(6): 1749-1757.
3. Gazi H, Kurutepe S, Sürücüoğlu S, Ecemiş T, Özbakkaloğlu B. Hastane kökenli Enterococcus faecalis ve Enterococcus faecium suşlarında antimikrobiyal direnç, ANKEM Derg 2004; 18(1): 49-52.
4. Kılıç A. Bakteriyoloji: Enterokok ve Diğer Gram pozitif koklar. Çeviri Editörü: Başustaoğlu AC. Tıbbi Mikrobiyoloji. 6. Baskı. Bölüm 5/23. Atlas Kitapçılık Ankara; 2010: 243-246.
5. Facklam RR, Collins MD. Identification of Enterococcus species isolated from human infections by a conventional test scheme. J Clin Microbiol 1989; 27(4): 731-734.
6. Aksakoğlu G. Araştırmada elde edilen hızlar. Sağlıkta araştırma teknikleri ve analiz yöntemleri. 5. Bölüm. D.E.Ü. Rektörlük Matbaası, İzmir; 2001: 89-90.
7. Hayran O. İki gruptan elde edilen verilerin analizi için önemlilik testleri. Sağlık bilimlerinde araştırma ve istatistik yöntemler. 10. Bölüm. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul; 2012: 94-96.

8. Hamilton-Miller JM, Shah S. Identification of clinically isolated vancomycin-resistant enterococci: comparison of API and BBL Crystal systems. J Med Microbiol 1999; 48(7): 695-696.
9. Bascomb S, Manafi M. Use of enzyme tests in characterization and identification of aerobic and facultatively anaerobic gram positive cocci. Clin Microbiol Rev 1998; 11: 318-340.
10. Freney J, Bland S, Etienne J, Desmonceaux M, Boeufgras JM, Fleurette J. Description and evaluation of the semiautomated 4-hour rapid ID 32 Strep method for identification of streptococci and members of related genera. J Clin Microbiol. 1992; 30: 2657-2661.
11. Eisner A, Gorkiewicz G, Feierl G, Leitner E, Köfer J, Kessler HH, Marth E. Identification of glycopeptide-resistant enterococci by VITEK 2 system and conventional and real-time polymerase chain reaction. Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 53(1): 17-21.
12. Cekin Y, Ozhak Baysan B, Mutlu D, Özen NS, Öngüt G, Dönmez L, Ögünç D, Çolak D. Comparison of Phoenix Automated System, API ID 32 Strep System and LightCycler Enterococcus MGRADE System in the Identification of Clinical Enterococcus Isolates. Mikrobiyol Bul 2013; 47(1): 141-146.
13. Fang H, Ohlsson AK, Ullberg M, Ozenci V. Evaluation of species-specific PCR, Bruker MS, VITEK MS and the VITEK 2 system for the identification of clinical Enterococcus isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2012; 31(11): 3073-3077.
14. Jin WY, Jang SJ, Lee MJ, Park G, Kim MJ, Kook JK, Kim DM, Moon DS, Park YJ. Evaluation of VITEK 2, MicroScan, and Phoenix for identification of clinical isolates and reference strains. Diagn Microbiol Infect Dis 2011; 70(4): 442-447