flora

KLİNİK ÇALIŞMA/RESEARCH ARTICLE

FLORA 2023;28(1):87-93 • doi: 10.5578/flora.20239908

Enterokokların MALDI-TOF MS'de Slanetz ve Bartley ve Kanlı Agar Besiyeri ile Karşılaştırılarak Tanımlanması

Identification of Enterococci in MALDI-TOF MS by Comparison with Slanetz and Bartley and Blood Agar Media

Elif AYDIN[1](İD), Özkan YENER[2](İD)

[1] Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Anabilim Dalı, Kütahya, Türkiye
[2] İnönü Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

Makale atıfı: *Aydın E, Yener Ö. Enterokokların MALDI-TOF MS'de Slanetz and Bartley ve kanlı agar besiyeri ile karşılaştırılarak tanımlanması. FLORA 2023;28(1):87-93.*

ÖZ

Giriş: *Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS), son on yılda mikroorganizmaların tanımlanması için hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak sık kullanılmaktadır. Bu yöntemde sadece bir gram-negatif seçici besiyerinin önerilmiş olması tanıda sorunlara neden olmaktadır. Çalışmada kullanılan Slanetz and Bartley (SB) agarın, bakterilerini tanımlama açısından MALDI-TOF MS'de kullanılabileceğine dair bilimsel literatürlerde herhangi bir bilgi yoktur.*

Materyal ve Metod: *Bu çalışmada, Van ve çevresindeki içme-kullanma ile göl sularından izole edilen enterokokların MALDI-TOF MS yöntemi ile SB agar besiyerinde üreyen enterokok bakterileri tanımlama performansının kanlı agar ile birlikte karşılaştırılarak yapılması ve bu performansı arttırıcı basit ve hızlı bir örnek hazırlama yönteminin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla altı ay süresince 60 şebeke ve 30 göl suyu numunesi incelemeye alınmıştır.*

Bulgular: *Numuneler membran filtrasyon yöntemi ile çalışılmıştır. İzole edilen enterokoklar, MALDI-TOF MS yöntemi ile hem kanlı agardan hem de selektif besiyeri olan SB besiyerinden direk olarak alınan izolatlar ile karşılaştırmalı tanımlama yapılmıştır. Her iki besiyerinde yapılan tür tayininde aynı sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre şebeke suyu izolatların %35'i Enterococcus casseliflavus, %30'u Enterococcus faecalis, %26.7'si Enterococcus faecium, %6.6'sı Enterococcus hirae, %1.7'si Enterococcus columbae olarak, göl suyu izolatların ise %20'si E. casseliflavus, %40'ı E. faecalis, %36.7'si E. faecium, %3.3'ü E. hirae olarak tanımlanmıştır. Şebeke suyunda E. casseliflavus, göl suyunda E. faecalis en sık izole edilen enterokok türleridir.*

Sonuç: *Kütle spektrometrik tanımlamaya uygunluğu hakkında bugüne kadar herhangi bir veri bulunmayan SB agar gibi selektif besiyerinden de alınabileceğinin saptanması, MALDI-TOF MS'nin mikrobiyoloji laboratuvarlarında daha etkin ve hızlı kullanımına katkı sağlayacaktır. Ayrıca incelenen tüm suların önemli sayılabilecek düzeyde mikrobiyal kontaminasyona maruz kaldığı ve halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike arz ettiği kanaatine varılmıştır. Bu suların tüketiminin immün sistemi baskılanmış, hasta ve yaşlılar ile çocuklarda potansiyel sağlık riski oluşturabileceği ortaya koyulmuştur.*

Anahtar Kelimeler: *Enterokok; Slanetz and Bartley agar; MALDI-TOF MS; İçme-kullanma suyu; Göl suyu*

Geliş Tarihi/Received: 29/12/2021 - Kabul Ediliş Tarihi/Accepted: 13/04/2022

©Telif Hakkı 2022 Flora. Makale metnine www.floradergisi.org web adresinden ulaşılabilir.

Çevrim içi Yayın Tarihi: 03.03.2022

ABSTRACT

Identification of Enterococci in MALDI-TOF MS by Comparison with Slanetz and Bartley and Blood Agar Media

Elif AYDIN[1], Özkan YENER[2]

[1] Department of Medical Services and Techniques, Kütahya Health Sciences University, Kütahya, Türkiye
[2] Department of Medical Microbiology, İnönü University, Malatya, Türkiye

Introduction: *Matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) has been used frequently in the last decade as a fast and reliable method for the identification of microorganisms. The fact that only one gram-negative selective medium is recommended in this method causes problems in the diagnosis. There is no information in the scientific literature that Slanetz and Bartley (SB) agar used in the study can be used in MALDI-TOF MS to identify bacteria.*

Materials and Methods: *In this study, it was aimed to compare the identification performance of enterococci isolated from drinking-use and lake waters in Van and its surroundings with blood agar by using MALDI-TOF MS method and to develop a simple and fast sample preparation method that increases this performance. For this purpose, 60 mains and 30 lake water samples were examined for six months.*

Results: *The samples were studied by the membrane filtration method. The isolated enterococci were identified by MALDI-TOF MS method with the isolates taken directly from both blood agar and SB medium, which is a selective medium. The same results were obtained in the species determination in both media. According to these results, 35% of the mains water isolates were Enterococcus casseliflavus, 30% Enterococcus faecalis, 26.7% Enterococcus faecium, 6.6% Enterococcus hirae, 1.7% Enterococcus columbae, and 20% of lake water isolates E. casseliflavus, 40% E. faecalis, 36.7% E. faecium, 3.3% E. hirae, E. casseliflavus in mains water and E. faecalis in lake water are the most frequently isolated enterococci species.*

Conclusion: *Determining that it can also be obtained from selective media such as SB agar, for which there is no data on its suitability for mass spectrometric identification, will contribute to the more effective and rapid use of MALDI-TOF MS in microbiology laboratories. In addition, it has been concluded that all the waters examined are exposed to a significant level of microbial contamination and pose a potential danger to public health. It has been revealed that the consumption of these waters may pose a potential health risk for immunocompromised patients and the elderly, as well as children.*

Key Words: *Enterococcus; Slanetz and Bartley agar; MALDI-TOF MS; Potable water; Lake water*

GİRİŞ

İnsan yaşamının en önemli ihtiyaçlarından olan su tüm toplumsal faaliyetlerimizi yürütmemiz açısından kritik bir öneme sahiptir[1]. Su, insan sağlığı açısından en önemli çevresel etkenlerden birisidir[2]. Sağlıklı ve güvenli bir içme suyunun temin edilip, tüketiciye ulaştırılması her birey için temel bir sağlık hakkıdır[3].

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verileri, dünya nüfusunun yarısının güvenli suya ulaşamadığını belirtmiş olup, gelişmekte olan ülkelerde ortaya çıkan tüm hastalıkların %80'inin içme suyundan kaynaklandığını göstermiştir[4-5]. İçilen suyun kalitesi ile sağlıklı yaşam arasında yakın bir ilişki mevcuttur. Hijyenik olmayan sulardan pek çok hastalık etkeni insanlara bulaşabilmekte ve önemli sağlık sorunlarına sebep olabilmektedir[6-7]. Su kaynaklarının kirliliği yalnızca sağlık açısından değil aynı zamanda ekolojik denge açısından da önem taşımaktadır. Endüstri atıkları, kanalizasyon suları, tarım amaçlı gübreleme, taşmalar, seller ve diğer kirletici etmenler ile meydana gelen su kirliliği çevre sağlığının bozulmasında önemli role sahiptir[8].

Sağlık Bakanlığı tarafından 2005 yılında Avrupa Birliği'ne üyelik müzakereleri kapsamında çıkartılan "İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik"; kaynak suları, içme suları ve içme-kullanma suları ile ilgili hükümleri kapsamaktadır. Bu yönetmelikte insani tüketim amaçlı sular; orijinal haliyle veya işlendikten sonra dağıtım ağı, tanker, şişe veya kaplar ile tüketime sunulan içme, pişirme, gıda hazırlama ya da diğer evsel amaçlar için kullanılan bütün sular olarak tanımlanmaktadır[9].

Enterokoklar, insan ve sıcakkanlı hayvanların bağırsak florasında bulunan bakterilerdir. Sularda enterokok varlığı uzun süre önce oluşan fekal kirliliğin göstergesidir. Bu bakteriler, 10-45°C sıcaklıkta, 9.6 pH'da %6.5 NaCI'de üreyebilen, 60°C'de 30 dakika canlılığını koruyabilen ısıya dayanıklı mikroorganizmalardır. İnsan sağlığını olumsuz etkileyebilen ve kirli sularda en çok izole edilen türler; *E. faecalis*, *E. faecium ve E. durans*'tır[10].

Membran filtrasyon sistemi (MFS), içme suyu analizi için kullanılan yaygın bir analiz yöntemidir. Bu yöntem, belirli hacimdeki (100 mL, 250 mL, 500 mL) su örneğinin, çeşitli por çaplarında (0.45 µm, 0.20 µm veya 0.65 µm), selüloz asetat veya selüloz nitrattan oluşan bir membran filtre üzerinden süzme esasına dayanır. Filtrasyon sonrası su içerisinde mevcut olan bakteri membran filtrede kalır. Membran filtre analizi istenen besiyerine uygun sıcaklık ve sürede inkübe edilir. İnkübasyon sonunda membran filtre yüzeyinde gelişen koloniler değerlendirilir[11].

SB besiyeri, Slanetz and Bartley tarafından enterokokların izolasyonu için tasarlanmıştır. Bakteriler bu besiyerinde 2,3,5-Trifeniltetrazolium-Klorür formazona indirgeyerek ürerler. Besiyerinde organizmaların büyümesi için gerekli olan triptoz, maya ekstraktı, azot, karbon, vitamin ve mineraller vardır. SB besiyeri yüksek sıcaklıklardaki (44-45°C) inkübasyonda üreyen kırmızı veya bordo renkli kolonilerin olası enterokok olarak kabul edildiği selektif bir besiyeridir[12-13].

Üreticiler tarafından MALDI-TOF MS ile tanımlanacak mikroorganizmalar için referans olarak kanlı agar besiyeri önerilmektedir[14]. Bu durum mikrobiyologları besiyeri kullanımı açısından kısıtlamakta ve besiyeri tercihlerini değiştirmek zorunda bırakmaktadır. Aynı zamanda farklı besiyerinde üreyen mikroorganizmalar için tür tayini yapılmak istendiğinde, üreyen bakterinin kanlı agara tekrar ekimi yapılarak inkübasyon için bir gece daha beklenilmektedir. Bu durum da MALDI-TOF MS'nin en önemli avantajı olan hızlı tanı özelliğini kaybetmesine neden olabilmektedir. MALDI-TOF MS için referans besiyerlerine alternatif olarak farklı seçici besiyerlerinin de kullanılabilmesi hem mikrobiyolojik tekniklerin geliştirilmesi hem de bu yöntemin kullanım potansiyelinin arttırılması ve hızlı tanı açısından önemlidir.

Bu çalışmada, Van bölgesinde içme-kullanma suları ile göl sularından TS EN ISO 7899-2 yöntemi ile SB agar besiyerinde izole edilen enterokokların MALDI-TOF MS yöntemi ile tiplendirilmesi ve aynı bakterilerin kanlı agar besiyerine de ekimi yapılarak MALDI-TOF MS yöntemi ile tiplendirilmesinin karşılaştırılması amaçlanmıştır[12].

MATERYAL ve METOD

Bu çalışma Şubat 2019-Temmuz 2019 tarihleri arasında 60 adet şebeke ve 30 adet göl suyundan izole edilen toplam 90 enterokok izolatından yapılmıştır.

Numune Alım ve Ekim: Örnekler numune alma kriterlerine uygun şekilde 6 mg tiyosülfat içeren steril 300-500 mL'lik plastik şişelere alınmıştır. Şişelerinin ağızları sıkıca kapatılmış ve soğuk zincirde sekiz saat içinde laboratuvara ulaştırılmıştır. Alınan 500 mL'lik su örnekleri membran filtre cihazında 0.45 µm'lik (Sartorius, Gottingen, Almanya) filtreler yardımıyla süzülmüştür. Var olabilecek bakteriler 0.45 µm por çaplı membran filtre üzerinde toplanmıştır. Bu filtre steril pens ile alınarak SB besiyeri (Liofilchem, İtalya) üzerine bırakılarak, 37°C inkübatörde 48 saat bekletilmiştir.

Bakterilerin İdentifikasyonu: SB besiyerinde kırmızı, mor ve pembe renkte olan tüm bombeli koloniler muhtemel enterokok olarak kabul edilip doğrulamaya alınmıştır. Tipik kolonilerin olduğu membran filtre steril pens yardımı ile ters çevrilmeden önceden inkübatörde ısıtılmış Safra eskülin azid (SEA) agar (Merck, Almanya) üzerine konularak 44°C'de iki saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda sarı olan besiyeri renginin koloni etrafında koyu kahverengi zon oluşturması pozitif olarak değerlendirilmiştir. Sayılmış ve doğrulanmış karakteristik koloni sayısına bakılarak, filtre edilmiş hacmin içerisindeki fekal enterokok sayısı "kob/100 mL" olarak ifade edilmiştir. İzole edilen bakteriler tür tayinine kadar %16 gliserollü broth besiyerinde -20°C'de muhafaza edilmiştir.

İzolatların MALDI-TOF MS ile Tür Tayini: SB agardaki kolonilerden direkt olarak MALDI-TOF MS tanımlaması yapılmıştır. İzolatların 24 saat kültürü yapılmıştır. İzole edilen enterokok bakteri izolatları kanlı agarda (Oxoid) ve SB besiyerinde (Liofilchem) 24 saat 36°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Besiyerinde gelişen koloniden öze ile örnek alınarak MALDI-TOF çelik hedef plak halkasına sürülmüştür. Her bakteri izolatı ayrı plaktaki ayrı kuyucuğa sürülmüştür. Üzerine %70'lik formik asitten 1'er µL eklenerek oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruduktan sonra matriks solüsyonundan (α-cyano-4-hydroxycinnamic acid; CHCA) 1'er µL eklenerek tekrar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Plak daha sonra cihaza yerleştirilmiştir. Her izolat 100 lazer atışı ile Vitek MS (Bio Mérieux, Fransa) cihazı ile In Vitro Diagnostic (IVD) modülü V3.0 veri tabanı ile tanımlanmıştır.

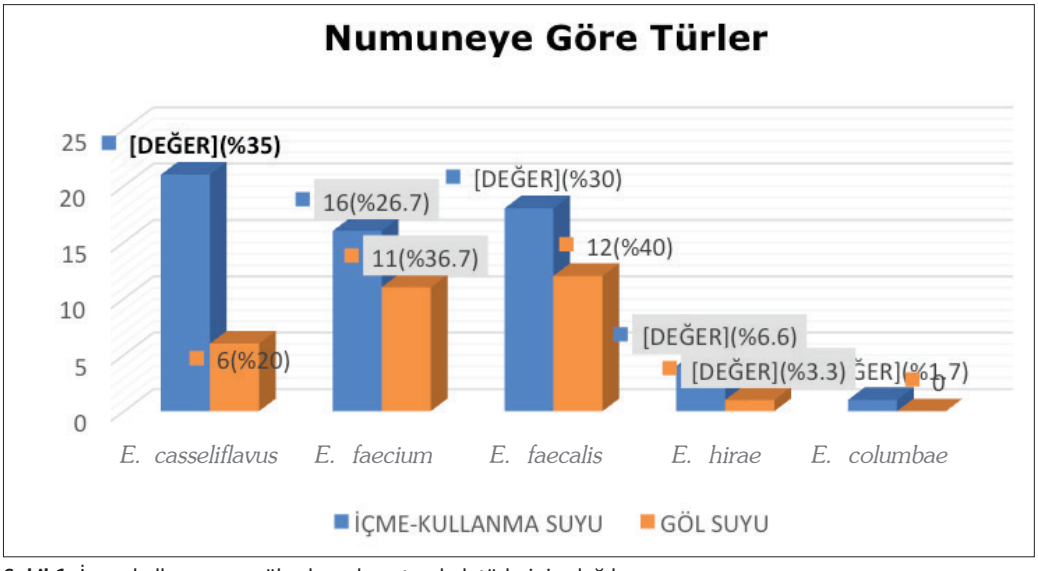
BULGULAR

Analize enterokok cinsine ait 90 izolat alınmıştır. Bu izolatların MALDI-TOF MS ile tür tayininde hem kanlı agar hem de Slanetz and Bartley agar ile yapılan çalışmada iki besiyeri arasında uyumluluk %100 çıkmıştır. Tür tayini sonucu elde edilen veriler Tablo 1'de verilmiştir.

Şebeke suyunda *E. casseliflavus* %35'i (21/60), göl suyunda ise *E. faecalis* %36.7 (11/30) oranlarıyla en sık izole edilen enterokok türü olarak saptanmıştır. Şebeke ve göl suyu örneklerinden izole edilen enterokok türleri ve sayısal oranları Şekil 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. MALDI-TOF MS ile tür dağılımı

	Örnek			
	Şebeke		Göl	
Tür	**n**	**%**	**n**	**%**
E. casseliflavus	21	**35**	6	**20**
E. faecalis	18	**30**	12	**40**
E. faecium	16	**26.7**	11	**36.7**
E. hirae	4	**6.6**	1	**3.3**
E. columbae	1	**1.7**	0	**0**
Toplam	**60**		**30**	



Şekil 1. İçme-kullanma ve göl sularında enterokok türlerinin dağılımı.

Tablo 2. Enterokok türlerinin antibiyotik direnç oranları [n (%)]

	E. casseliflavus n (27)		*E. faecalis* n (30)		*E. faecium* n (27)		*E. hirae* n (5)		*E. columbae* n (1)		Toplam n (90)	
Antibiyotikler	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**
Tigesiklin	6	22.2	9	30	9	33.3	0	0	0	0	24	26.6
Ampisilin	1	3.7	4	13.3	6	22.2	0	0	0	0	11	12.2
Linezolid	8	29.6	6	20	8	29.6	1	0.2	1	100	24	26.6
Nitrofurantoin	3	11.1	15	50	16	59.2	5	100	1	100	40	44.4
Trimetoprim/Sulfametoksazol	15	55.5	23	76.6	27	100	4	80	1	100	70	77.7
Vankomisin	2	7.4	0	0	2	7.4	1	0.2	0	0	5	5.5
Gentamisin	7	25.9	0	0	7	25.9	2	40	0	0	16	17.7
Teikoplanin	7	25.9	8	26.6	9	33.3	2	40	1	100	27	30

TARTIŞMA

Enterokoklar insan ve hayvan gastrointestinal sistemlerinde saprofit yaşarlar. Yaşamlarını sürdürebilmeleri için diğer mikroorganizmalarla rekabet halindedirler[16,17].

Enterokok ile ilgili çalışmalar, genelde klinik izolatları, direnç durumları ve mekanizmaları üzerinedir. Oysaki çevresel izolatlarla yapılan bu tür çalışmalara daha az rastlanmaktadır. Küresel olarak bu bakterilerde artış olması, direnç mekanizmaları geliştiriyor olmaları, kaynakları farklı da olsa halk sağlığı açısından önem arz etmektedir.

Çalışmamızda analize alınan her iki besiyeri sonucunda izolasyonu en fazla olan enterokok türleri şebeke suyu izolatlarında *E. casseliflavus* (%35) ve *E. faecalis* (%30), göl suyu izolatlarında ise *E. faecalis* (%40) ve *E. faecium*'dur (%36.7). Oryaşın ve arkadaşları yaptığı çalışmada *E. faecium* (%76) ve *Enterococcus gallinarum* (%14) olarak bulmuşlardır[18]. Bu çalışmada şebeke suyu izolatlarında en sık *E. casseliflavus* (%35), göl suyu izolatlarında ise, *E. faecalis* (%40) tespit edilmiştir. Bizim izolatlarımızda *E. gallinarum* ve *E. durans* türüne rastlanılmamıştır[18].

Torun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 111 enterokok suşundan; %77 *E. faecalis*, %23 oranında ise *E. faecium* bulunmuştur. Bu sonuçlar da bizim çalışmamız ile uyumluluk göstermektedir[19]. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, *E. faecium*'un daha sık izole edildiği belirtilmektedir[20]. Bizim çalışmamızda ise *E. casseliflavus* ve *E. faecalis* en sık izole edilen türlerdir.

Klinik örneklerde enterokoklar üzerinde yapılan birçok çalışma literatürde bulunmasına rağmen, çevresel su örneklerinde enterokoklar ve enterokokların tür tayininin yapıldığı çalışmalara pek rastlanılmamıştır. İnsan sağlığını olumsuz etkileyebilen salgın hastalıklarında ve solunum yolu infeksiyonlarında önemli rol oynayan enterokokların önemi antibiyotiklere karşı geliştirdiği dirençlerden dolayı son yıllarda daha da artmıştır. Direnç gelişimi tedaviyi zorlaştırmaktadır. Bu nedenle insanlarda, hayvanlarda ve doğadaki kaynaklarda enterokok patojeninin varlığı, geliştirdikleri antibiyotik dirençleri ve bunları aktarabilme yetenekleri gibi konularda daha fazla çalışmaya ve bilgiye ihtiyaç vardır.

Çevresel örneklerde diğer patojen bakteriler gibi enterokokların da erken ve doğru tanısı halk sağlığı açısından önemlidir. MALDI-TOF MS'nin son yıllarda mikrobiyologların hayatına girmesi ile günler sürecek tanı işlemini yaklaşık beş dakika gibi kısa bir sürede, daha az iş gücü ve kimyasal malzeme kullanarak yapılmasına olanak sağlamıştır. MALDI-TOF MS gram-pozitif bakteriler için seçici besiyeri önermemiştir. Bizim izolatlarımızı tiplendirmek amacı ile MALDI-TOF MS'de hem kanlı agar hem de SB agar kullanılarak paralel çalışma yapılmıştır.

Slanetz and Bartley agar, su ve gıda maddelerinde enterokokların izolasyonu ve sayımı için kullanılan seçici bir besiyeridir. Ayrıca bu besiyeri, ISO 7899-2 ve APHA tarafından verilen spesifikasyonlara uygundur. İçeriğinde bulunan triptoz, organizmaların büyümesi için amino asitler, azot,

karbon, vitaminler ve mineraller sağlarken maya özütü, özellikle B grubu bir vitamin kaynağı, glikoz ise, karbon ve enerji sağlayan fermente olabilen karbonhidrattır. Bileşiminde bulunan sodyum azid, gram-negatif bakterileri inhibe eder. 2,3,5-Triphenyltetrazolium Chloride (TTC) ise, enterokoklar tarafından formazana indirgenir. Bu reaksiyon, kırmızıdan bordoya kolonilerin oluşumu ile görülür[21].

Gram-pozitif bakteriler için MALDI-TOF MS'de sadece kanlı agar kullanılmaktadır. Kanlı agar ve SB agar besiyerlerinin MALDI-TOF MS için kıyaslama yapılan bilimsel çalışma bulunmamaktadır. Fakat, Froböse ve arkadaşları Columbia kanlı agar (CKA), çikolata agar ve Mac Conkey agar karşılaştırdıkları çalışmadan CKA'nın gram-pozitif koklar için en hızlı sonuç verdiğini bulmuşlardır[22]. Feng ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise kanlı agar, tripton soya agar ve LB broth besiyerleri ile karşılaştırılmış ve en yüksek performansı kanlı agar olarak gözlemlemişlerdir[23]. MALDI-TOF MS'ye ait teknoloji, yazılım ve veri tabanları zamanla iyileştirilmiş olmasına rağmen gram-pozitif bakteriler için seçici besiyerlerinde de performans sağlayabileceğine dair çok fazla araştırma yapılmamış olup SB agar hakkında hiçbir veri mevcut değildir.

Bu çalışmada, SB agarda ve kanlı agara eş zamanlı olarak ekimi yapılan enterokok suşlarını MALDI-TOF MS'de %100'ünde doğru olarak tanımlayabildiği saptanmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; önemli bir patojen topluluğu olan gram-pozitif bakterilerin MALDI-TOF MS ile tanısında pratikte karşılaşılan sınırlı besiyeri sorununa karşı mikrobiyolojik olarak diğer seçici besiyerlerinin de alternatif bir çözüm olabileceği ve farklı seçici besiyerleri üzerinde de çalışmalar yapılabileceği vurgulanmıştır.

ETİK KURUL ONAYI

Çalışma için, Van Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan Etik kurul onayı gerektirmeyen araştırma projeleri için başvuru yapıldı ve onay alındı.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

YAZAR KATKISI

Anafikir/Planlama: EA

Analiz/Yorum: Tüm yazarlar

Veri sağlama: EA

Yazım: EA

Gözden Geçirme ve Düzeltme: Tüm yazarlar

Onaylama: Tüm yazarlar

KAYNAKLAR

1. *TÜBİTAK Bilim Teknoloji ve Yenilik Politikaları Daire Başkanlığı, Su Alanı Ulusal Ar-Ge ve Yenilik Stratejisi Hazırlanmasına İlişkin Bilgi Notu, Ek 6 (Ankara, 2010). https://www.tubitak.gov.tr/sites/default/files/ek2_ulusal_su_arge_yenilik_stratejisi.pdf*
2. *Bora D. Zonguldak merkez ilçeye bağlı köylerde suların fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizi (tez). Zonguldak: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2006.*
3. *Akın M, Akın G. Suyun önemi, Türkiye'de su potansiyeli, su havzaları ve su kirliliği. Ankara Üniversitesi Dil Tarih Coğrafya Fakültesi Derg 2007;47:105-118. https://doi.org/10.1501/Dtcfder_0000000992*
4. *Balkaya N, Açıkgöz A. İçme suyu kalitesi ve Türk içme suyu standartları. Standart Derg 2004;29-37 .*
5. *WHO. (2017). Guidelines for Drinking-water Quality. fourth edition incorporating the first addendum. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950*
6. *Cartwright RY. Food and waterborne infections associated with package holidays. J Appl Microbiol 2003;94:12-24. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.94.s1.2.x*
7. *Hunter PR. Climate change and waterborne and vector-borne disease. J Appl Microbiol 2003;94:37-46. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.94.s1.5.x*
8. *Akhan M. Bir kaynak suyu tesisindeki mikrobiyal kontaminasyon kaynaklarının incelenmesi (tez). İstanbul: İstanbul Üniversitesi; 2007.*
9. *Sağlık Bakanlığı (Türkiye Halk Sağlığı Kurumu) (2013). İnsani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmelik. Resmî Gazete, 7 Mart 2013, Sayı: 28580 https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2013/03/20130307-7.htm*
10. *Özgür M. Edirne ilindeki çevresel sularda kirlilik indikatörü mikroorganizmaların ve yeni çıkan bakteriyel patojenlerin moleküler yöntemlerle saptanması (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2013.*
11. *Alişarlı M, Ağaoğlu S, Alemdar S. Van bölgesi içme ve kullanma sularının mikrobiyolojik kalitesinin halk sağlığı yönünden incelenmesi. YYU Vet Fak Derg 2007;18:67-77.*
12. *Su kalitesi-Bağırsak enterokokların tespiti ve sayımı-Bölüm2: Membran Süzme yöntemi. (2005). Türk Standardı, TSE EN ISO 7899-2, Ankara.*

13. *Mikrobiyolojinin ABC'si. Available from: http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx? (Erişim tarihi: 02.03.2022).*
14. *Vitek MS V3.0 Database for clinical usage. BioMérieux SA, France, 2016.*
15. *Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-fifth informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute M100-S25.*
16. *Lorenzelli P. Gram-positive cocci isolated from slaughtered poultry. Microbiol Res 1994;149:203-13. https://doi.org/10.1016/S0944-5013(11)80120-5*
17. *Turtura GC, Giraffa G. Enterococcal bacteriocins: Their potencial as anti-Listeria factors in dairy technology. Food Microbiol 1995;12:291-9. https://doi.org/10.1016/S0740-0020(95)80109-X*
18. *Oryaşın E. Çeşitli çevresel kaynaklardan izole edilen enterokokların disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarının tespiti (tez). Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi; 2008.*
19. *Torun MM, Bahar H, Altınkum S, Yüksel P. Enterokoklarda yüksek düzey aminoglikozit ve vankomisin direnci araştırılması. Ankem Derg 1999;13:105.*
20. *Sümerkan B, Günaydın M, Esen Ş, Saniç A, Leblebicioğlu H. Vankomisine dirençli enterokoklar. Samsun İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Araştırmaları Derneği 2002;329-34.*
21. *Burkwall MK, Hartman PA. Comparison of direct plating media for the isolation and enumeration ofenterococci in certain frozen foods. Appl Microbiol 1964; 12(1): 18-23. https://doi.org/10.1128/am.12.1.18-23.1964*
22. *Froböse NJ, Idelevich EA, Schaumburg F. Short incubation of positive blood cultures on solid media for species identification by MALDI-TOF MS: Which agar is the fastest? Microbiol Spectr 2021;9:e0003821. https://doi.org/10.1128/Spectrum.00038-21*
23. *Feng B, Shi H, Xu F, Hu F, He J, Yang H, et al. FTIR-assisted MALDI-TOF MS for the identification and typing of bacteria. Anal Chim Acta 2020;1111:75-82. https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.03.037*

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Dr. Elif AYDIN

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Anabilim Dalı,
Kütahya-Türkiye

E-posta: elif.aydin@ksbu.edu.tr