

# VİRİDANS STREPTOKOKLARIN LABORATUVAR TANISINDA KLASİK VE YENİ YAKLAŞIMLAR

## CLASSICAL AND NEW APPROACHES IN LABORATORY DIAGNOSIS OF VIRIDANS STREPTOCOCCI

Alper ERGİN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hacettepe Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Programı, Ankara. (aergin@hacettepe.edu.tr)

### ÖZET

Viridans grubu streptokoklar (VGS), koyun kanlı agarda alfa-hemolitik koloniler oluşturan, gram-pozitif kok şeklinde mikroorganizmalardır. Oral kavitede, üst solunum yollarında, gastrointestinal sistemde, ürogenital bölgede ve deride normal flora olarak yer alırlar. Diş ile ilgili girişimlerden sonra bakteriyemi, endokardit, menenjit ve sepsisemi yapabilirler. Taksonomik sınıflandırılmaları ve tür isimlerinin değişmesi nedeniyle VGS'lerin tanımlanması güçlük yaratmaktadır. Biyokimyasal reaksiyonlar ve 16S rDNA dizilerine göre VGS'ler 5 grupta (Sanguinis, Mitis, Mutans, Salivarius, Anginosus) incelenmektedir. Mitis grubunda *Streptococcus pneumoniae*'nin yer alması, bu gruptaki VGS'ler ile ilgili çalışmaları önemli kılmıştır. Aynı anatomik bölgede yer aldıkları için, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* ve *S.pneumoniae* arasında gen alışverişi, transformasyon ve lizis mekanizması ile her zaman devam etmektedir. Bu mekanizmalar kapsül ve antibiyotik direnç genlerinin değişiminde önemli rol oynamaktadır. VGS'lerin tanımlanmasında kültür yöntemi ilk basamak olup, çeşitli hasta örneklerinin koyun kanlı besiyerine ekilmesi ve burada özellikle alfa-hemolitik koloniler görülmesiyle ileri incelemeler başlamaktadır. Gram-pozitif kokların mikroskopta görülmesi, istisnalar olsa da optokine dirençli ve safrada çözünmeyen koloniler, ileri tanımlama için ipuçları vermektedir. Daha sonra biyokimyasal testler, otomatize tanı sistemleri ve moleküler yöntemlerle VGS izolatlarının tür adı konulmaktadır. VGS tanı basamakları, gittikçe artan penisilin ve eritromisin direnci nedeniyle antibiyotik duyarlılık testleriyle son bulmaktadır. Bu derleme yazıda, VGS'lerin sınıflandırılması, mitis grubu streptokokların *S.pneumoniae* ile olan benzerliklerinin ve viridans streptokokların laboratuvar tanı yöntemlerinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Viridans streptokoklar, sınıflandırma, alfa-hemolitik streptokoklar, mitis grubu streptokoklar, tanımlama.

### ABSTRACT

Viridans group streptococci (VGS) are gram-positive microorganisms that can form alpha-hemolytic colonies on sheep blood agar. They reside as normal flora in oral cavity, respiratory, gastrointestinal, urogenital tract and on skin. They can cause bacteremia, endocarditis, meningitis and septicemia following dental procedures. The diagnosis of VGS are difficult since the taxonomic classification and species na-

mes may change due in time. Viridans group streptococci are classified into 5 groups (Sanguinis, Mitis, Mutans, Salivarius, Anginosus) according to biochemical reactions and 16S rRNA sequencing. Since *Streptococcus pneumoniae* is a member of the Mitis group, the other important species in this group deserves investigation. Genetic exchange between *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* and *S.pneumoniae* by transformation and lysis mechanisms occur continuously as they share the same anatomical region. These mechanisms play role in exchanging capsular and antibiotic resistance genes between these species. The cultivation of VGS usually starts with the inoculation of various patient specimens into sheep blood agar and the detection of alpha-hemolytic colonies. Observation of gram-positive cocci microscopically, the detection of optochin-resistant and bile insoluble colonies with few exceptions are the further important steps in laboratory diagnosis. VGS are then identified at species level by using biochemical reactions, automated diagnostic systems and molecular methods. The last step in the laboratory diagnosis of VGS is antibiotic susceptibility testing which is of outmost importance as penicillin and erythromycin resistance are on rise. In this review article, classification of VGS, similarities between *S.pneumoniae* and Mitis group streptococci and the laboratory diagnosis of VGS have been discussed.

**Key words:** *Viridans streptococci, classification, alpha-hemolytic streptococci, mitis group streptococci, identification.*

## GİRİŞ

Viridans grubu streptokoklar (VGS), koyun kanlı agarda alfa-hemolitik koloniler oluşturan, gram-pozitif kok şeklinde mikroorganizmalardır. Oral kavitede, üst solunum yollarında, gastrointestinal sistemde, ürogenital bölgede ve deride normal flora olarak yer alan önemli bir bakteri grubunu oluştururlar. Buna karşın VGS'lerin fırsatçı enfeksiyonlarla ilişkileri de iyi bilinmektedir. Özellikle diş ile ilgili girişimlerden sonra immün sistemi yetersiz olan kişilerde bakteriyemi, endokardit, menenjit ve septisemi yapabilirler<sup>1</sup>. Endokardit olgularının %30-40'ının viridans streptokoklara bağlı olduğu ve en sık görülen türler arasında *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus vestibularis* ve *Streptococcus sinensis*'in bulunduğu ifade edilmektedir. Etken türler genellikle birden fazla kan kültüründen izole edilir. Endokardit sıklıkla, damar hastalığı ve prostetik kalp kapakçığı olanlarda ortaya çıkmakta ve çoklu kapak enfeksiyonu, mitral kapak anevrizması, apseler ve glomerülonefrit gibi komplikasyonlara neden olabilmektedir<sup>2</sup>. Viridans streptokoklar ayrıca, nötropenik çocuk ve yetişkin hastalarda da bakteriyemi oluşturmaları nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Bu durumun risk faktörleri arasında; lösemi, tümörler ve kemik iliği transplantasyonu için verilen sitotoksik kemoterapi, özellikle sitarabinin yüksek dozlarda verilmesi, kemoterapi/radyoterapiye bağlı mukozal ülserasyon varlığı (oral mukozit) ve ağır nötropeni sayılabilir<sup>3</sup>.

Bu derleme yazıda, viridans streptokokların sınıflandırılması, Mitis grubu streptokokların *Streptococcus pneumoniae* ile olan benzerliklerinin irdelenmesi ve laboratuvar tanı yöntemlerinin güncel kaynaklar ışığında tartışılması amaçlanmıştır.

## SINIFLANDIRMA

Streptokokların hemolitik özellikleri ilk olarak 1903 yılında Shottmuller tarafından tanımlanmış ve kanlı agarda beta-hemoliz yapan streptokoklar gösterilmiştir. 1933 yılında

**Tablo I. Viridans Grubu Streptokokların Sınıflandırılması**

Sanguinis grubu	Mitis grubu (Smit grup)	Anginosus grubu	Mutans grubu	Salivarius grubu
<i>S.sanguinis</i>	<i>S.mitis</i>	<i>S.anginosus</i>	<i>S.mutans</i>	<i>S.salivarius</i>
<i>S.parasanguinis</i>	<i>S.oralis</i>	<i>S.constellatus</i>	<i>S.sobrinus</i>	<i>S.vestibularis</i>
<i>S.gordonii</i>	<i>S.pneumoniae</i>	<i>S.intermedius</i>	<i>S.cricetus</i>	<i>S.infantarius</i>
<i>S.sinensis</i>	<i>S.pseudopneumoniae</i>		<i>S.downei</i>	<i>S.thermophilus</i>
	<i>S.cristatus</i>		<i>S.ratti</i>	<i>S.hyointestinalis</i>
	<i>S.peroris</i>		<i>S.macacae</i>	
	<i>S.infantis</i>		<i>S.ferus</i>	

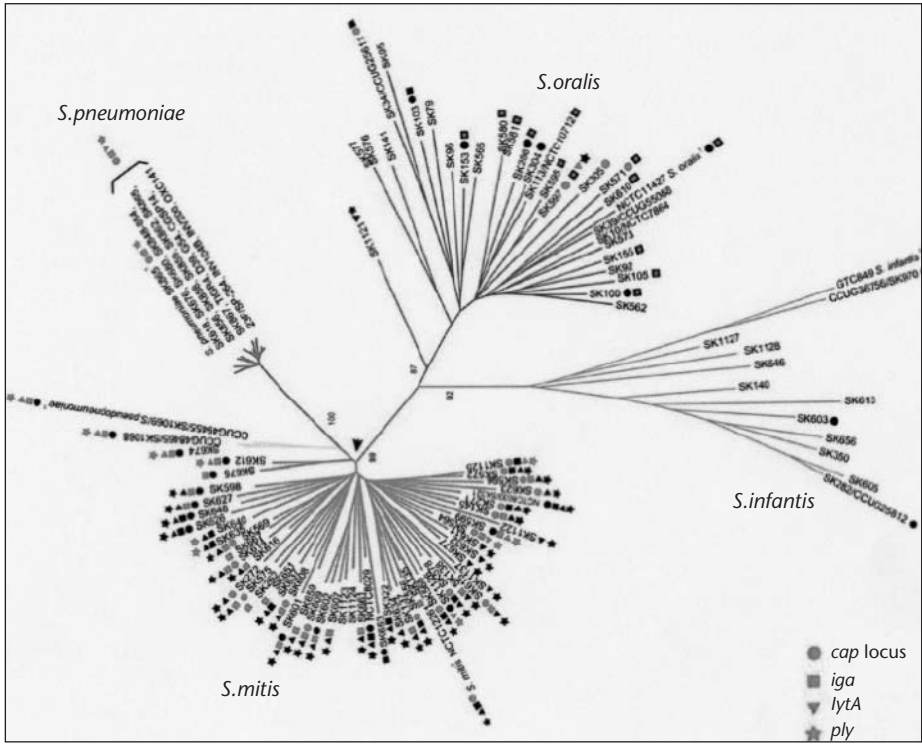
Lancefield, streptokokların özgül karbonhidrat antijenlerinin varlığını göstererek alfabetik olarak grup adı konulmasını sağlamıştır. 1937 yılında Sherman, streptokokları 4 gruba ayırarak, bugün de kabul edilen grupları oluşturmuştur ki, bu gruplar piyojenik streptokoklar grubu [beta-hemolitik grup (A-H)], viridans streptokoklar grubu, laktik streptokoklar grubu ve enterokoklar grubudur<sup>4</sup>.

Viridans grubu streptokoklar, taksonomik sınıflandırılmaları ve tür isimlerinin değişmesi sebebiyle tanısı güç mikroorganizmalardır. Biyokimyasal reaksiyonları ve 16S rDNA dizilerine göre VGS'ler 5 grupta incelenmektedir. Bu gruplar Sanguinis, Mitis, Mutans, Salivarius ve Anginosus gruplarıdır<sup>4</sup>. Viridans streptokokların önemli türleri Tablo I'de görülmektedir.

### S.PNEUMONIAE İLE MİTİS GRUBU ARASINDAKİ İLİŞKİ

*S.pneumoniae*'nin Mitis grubunda yer alması, bu gruptaki VGS'ler ile ilgili çalışmaları önemli kılmıştır. Aynı anatomik bölgede yer aldıkları için, *S.mitis*, *S.oralis* ve *S.pneumoniae* arasında gen alışverişi transformasyon ve lizis mekanizması ile her zaman devam etmektedir. Kompetansa bağlı lizis mekanizması *S.mitis*, *S.oralis* ve *S.pneumoniae* arasındaki gen alışverişini artırmaktadır. Bu mekanizma antibiyotik direnç ve kapsül genlerin değişiminde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle özellikle Mitis grubunda *S.pneumoniae* ile benzer özellikler gösteren türler ortaya çıkmaktadır. Bu türlerin ayrımı için moleküller hedeflere ihtiyaç duyulmaktadır. *S.pneumoniae* bilinen en patojenik ve tehlikeli mikroorganizmalar arasında yer almaktadır. Mitis grubundaki diğer viridans streptokokları özellikle *S.pneumoniae*'dan laboratuvar şartlarında ayırt etmek çok önemlidir<sup>5</sup>.

Genetik açıdan çok benzerlik göstermelerine rağmen pnömokok ve diğer Mitis grubu streptokoklar farklı patojenik özellikler göstermektedir. Genom dizi analizi ve DNA-DNA hibridizasyon analizlerine göre *S.pneumoniae*, *S.mitis* ve *S.pseudopneumoniae*'dan genetik olarak farklı olmayan kökenden gelmektedir. *S.pneumoniae*, *S.mitis*, *S.pseudopneumoniae*, *S.oralis* ve *S.infantis*'in akrabalık ilişkilerini gösteren filogenetik ağaç Şekil 1'de gösterilmiştir<sup>6</sup>.



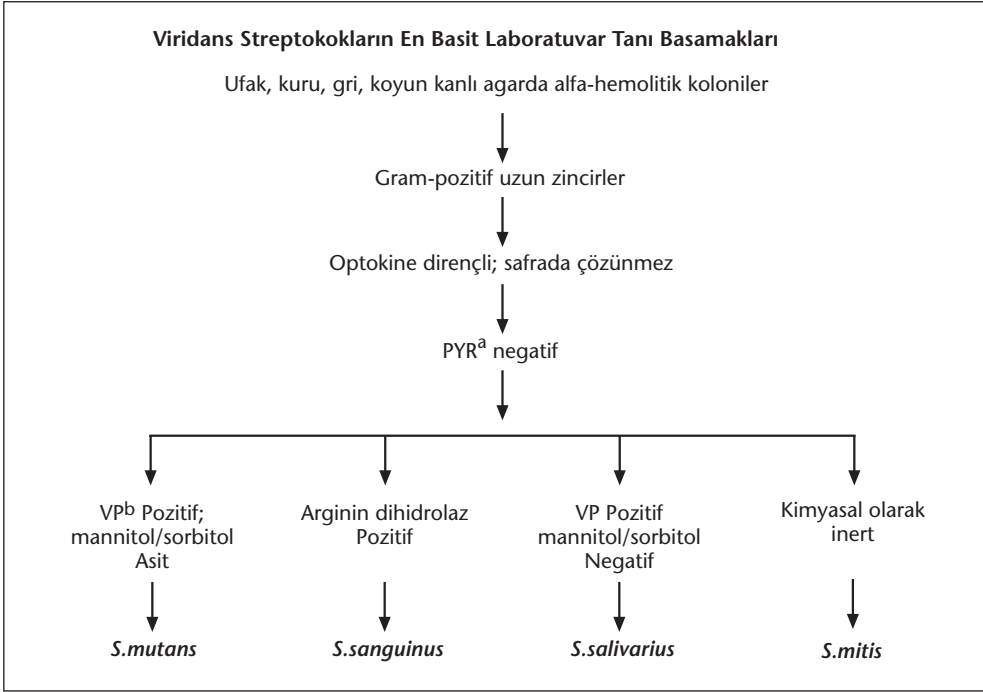
Şekil 1. *S. pneumoniae* ile Mitis grubu streptokoklar arasındaki filogenetik ilişki<sup>6</sup>.

Patojenite farklılığını, iki farklı kanıtlanmamış evrim senaryosu ile açıklamak mümkün olmaktadır. Birinci senaryoya göre patojenik bakteri, *S. pneumoniae* virülans genleriyle evrimleşmiştir ve bu genleri paylaşarak *pneumoniae-mitis-pseudopneumoniae* grubunu oluşturmuştur. İkinci senaryoya göre daha az patojen veya kommensal olan *S. mitis*, virülans genlerini kaybederek *S. pneumoniae*'dan gelişmiştir<sup>6</sup>. Kilian ve arkadaşlarının<sup>6</sup> bulgularına göre birinci senaryo geçerlidir; yani *S. pneumoniae* genom kaybederek kommensal streptokokların oluşumuna yol açmıştır.

*S. pneumoniae*'nın *S. mitis*, *S. pseudopneumoniae*, *S. oralis* ve *S. infantis* ile benzer özellikler taşıması, laboratuvar tanısında sorun oluşturmaktadır. Bu sayede, VGS'lerin bazı izolatlarda optokin ve safraya duyarlı suşlar ve hatta uygun diziler seçilmediği zaman otolizin geni (*lytA*), pnömölizin geni (*ply*) gibi gen varlığına sahip *S. mitis* ve *S. oralis* türleri görülebilmektedir<sup>7</sup>. VGS'lerin *S. pneumoniae*'dan kesin olarak ayırt edilmesi için tavsiye edilen son teknoloji, özellikle sorunlu izolatlarda yapılan "housekeeping" gen tayini yöntemidir<sup>8</sup>.

## LABORATUVAR TANI YÖNTEMLERİ

VGS'lerin tanımlanması, ilk basamakta kültür ile, yani çeşitli hasta örneklerinin koyun kanlı agar besiyerine ekilmesi ve burada özellikle alfa-hemolitik koloniler görülmesiyle



Şekil 2. VGS'lerin tanı basamakları (a: Pyrrolidonyl arylamidase; b: Voges-Proskauer).

başlamaktadır. Anginosus grubunun türleri beta-hemoliz yaptıkları veya antiserumlarla reaksiyon verebildikleri için tanıda karışıklığa neden olabilmektedir. Gram-pozitif kokların mikroskopta görülmesi, istisnalar olsa da optokine dirençli ve safrada çözünmeyen koloniler, ileri tanımlama için ipuçları vermektedir. Daha sonra mutlaka biyokimyasal testler yapılarak tür tayini yönünde ilerleme ve varsa otomatize tanı sistemleri ve moleküler yöntemlerle tür adı konulmaktadır<sup>9</sup>. VGS türlerinin tanımlanmasında izlenebilecek basit bir algoritma Şekil 2'de görülmektedir.

### Biyokimyasal Testler

Viridans streptokokların laboratuvar tanısında biyokimyasal testler kullanılarak tür adı verilmektedir. Biyokimyasal testlerde birincil olarak klinik izolatlara Voges-Proskauer (asetoin üretimi) ve arjinin hidrolizi testleri yapıldıktan sonra, ikincil olarak eskülin hidrolizi, grup D antijen (D-Ag) tayini, melibiyoz, sorbitol fermentasyonu ve üre hidrolizi testleri uygulanmaktadır<sup>10</sup>. Ancak bu testlerin çok duyarlı olmaması ve değişken sonuçlar vermesi nedeniyle, günümüzde çok sayıda biyokimyasal reaksiyon sonucuna dayanan ve daha doğru tanımlama yaptığı düşünülen otomatize testler kullanılmaktadır. Kesin tanı ise daha ziyade moleküler testler ile yapılmaktadır. VGS'leri temsil eden türlere ait önemli biyokimyasal test sonuçları Tablo II'de görülmektedir<sup>2</sup>. Üre hidrolizi sadece Salivarius grubundan *S.vestibularis* için pozitif olarak bulunmaktadır. D-Ag negatifliği ise *Streptococcus bovis* grubundan ayırt etmek için kullanılmaktadır.

**Tablo II.** VGS Temsilci Türlerinin Önemli Bazı Biyokimyasal Reaksiyonları

VGS	Arjinin	VP	Eskülin	Mannitol	Sorbitol	Üre	D-Ag
<i>S.mutans</i>	-	+	+	+	+	-	-
<i>S.salivarius</i>	-	+	+	-	-	v	-
<i>S.anginosus</i>	+	+	+	-	-	-	-
<i>S.sanguinis</i>	+	-	+	-	v	-	-
<i>S.mitis</i>	-	-	-	-	v	-	-

VP: Voges-Proskauer, D-Ag: Grup D antijeni.

### Otomatize Yöntemler

Viridans streptokokların tanımlanması için ticari olarak geliştirilen birçok otomatize test bulunmaktadır. Çeşitli çalışmalarda, en çok kullanılan sistemlerden, BD Phoenix (Becton Dickinson, ABD) sisteminin VGS'ler için doğru tanımlama oranları yaklaşık olarak %85-100 arasında bulunmuştur. Vitek 2 (BioMerieux, Fransa) için ise bu oran yaklaşık %40-80 olarak tespit edilmiştir. Birçok araştırmacı otomatize testlerin VGS'lerin tür tayini tanısında güvenle kullanılabileceğini belirtmiştir<sup>11-13</sup>.

### Moleküler Yöntemler

Moleküler tanımlama için DNA-DNA hibridizasyonu ve 16S rDNA dizilemesi etkili yöntemler olmasına rağmen rutin laboratuvarıda uygulanması zor testlerdir. Bu yöntemlerde "housekeeping" genler tanı için önemli hedeflerdir. Bu genler, hücrelerin en temel metabolik olaylarından sorumludur ve türler arasında korunmuş yapılarıdır<sup>9</sup>. Buna göre, bakteri hücre duvarının peptidoglikan kısmının sentezinde yer alan enzimi kodlayan *ddl* geni, VGS tanısında kullanılmak üzere Garnier ve arkadaşları tarafından bulunmuş ve 6 VGS türünü (*S.mitis*, *S.oralis*, *S.sanguinis*, *S.gordonii*, *S.salivarius*, *S.mutans*) ayırt edebildiği bildirilmiştir<sup>14</sup>. Teng ve arkadaşları ise bu amaçla ısı şok (heat shock) proteinini kodlayan *groES* ve *groEL* genlerini kullanmış; ancak birbirine benzer türlerin ayırımında sorunlar yaşandığı için bu gen bölgelerini tanıda etkin bulmamışlardır<sup>15</sup>. Poyart ve arkadaşları *sodA* (süper oksit dismutaz) genini kullanmışlar ve bu gen bölgesinin birbirine yakın türlerde daha iyi ayırım yapabildiğini gözlemlemişlerdir<sup>16</sup>. Kirasitin ve arkadaşlarının özellikle Mitis-Sanguinis grubu ayırımı üzerine yaptıkları çalışmada, türleri ayırt edebilmek için glukoz-6-fosfat dehidrogenazı kodlayan *zwf* ve glukoz kinazı kodlayan *gki* "housekeeping" genleri dizileme için kullanılmış ve *gki* gen dizisinin tanıda daha doğru sonuçlar verdiği saptanmıştır<sup>17</sup>. "Housekeeping" genler konusundaki bir diğer çalışma, Simmon ve arkadaşlarının, endokardit tanısı alan hastaların kan kültürü izolatlarında, 16S rRNA, *tuf* (uzama faktörü Tu) ve *rpoB* (RNA polimeraz beta alt ünitesi) genlerini kullandıkları çalışmadır<sup>18</sup>. Bu çalışmada, DNA dizilemesine göre en fazla *S.mitis* (n= 29), *S.sanguinis* (n= 15) ve *S.gordonii* (n= 14) grupları tanımlanmış; bunları altışar adet ile *S.mutans* ve *S.salivarius* grubu ve birer adet ile *S.anginosus* ve *S.sinensis* izlemiştir. Konvansiyonel yöntem ile bu izolatların 24'ü *S.mitis*, 16'sı *S.bovis*, 14'ü *S.sanguinis*, 6'sı *S.anginosus*, 2'si *S.mutans* ve 1'i *S.salivarius* olarak belirlenmiştir<sup>18</sup>.

## Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Viridans streptokoklarda penisilinler, sefalosporinler, makrolidler ve kinolonlara karşı gelişen direnç oranları, duyarlılık testlerinin önemini gündeme getirmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri, CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)'nin M2-A9, M7-A7 ve M100-S18 dokümanları kurallarına göre yapılmalıdır. Buna göre minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) testi, lizis uygulanmış at kanı (%2.5-5 v/v) içeren Mueller-Hinton (MH) sıvı besiyerinde yapılmaktadır. Disk difüzyon testi için ise %5 koyun kanlı MH agar kullanılmaktadır<sup>19</sup>. CLSI'ya göre penisilin duyarlılığı, beta-laktamlara da duyarlılığı göstermektedir. Steril vücut sıvılarından elde edilen VGS izolatlarının penisilin duyarlılığının mutlaka MİK yöntemi ile çalışılması gerekmektedir. Kandan izole edilen klinik olarak anlamlı VGS'lerde penisilin veya ampicilin, sefepim veya sefotaksim veya seftriakson, vankomisin, kloramfenikol, klindamisin, eritromisin ve linezolid duyarlılığına bakılması önerilmektedir. Eritromisine karşı duyarlılık veya direnç durumu, azitromisin, klaritromisin ve diritromisin sonucunu da göstermektedir. Klindamisin tedavisi düşünülüyorsa, eritromisine dirençli klindamisine duyarlı suşlarda, ayrıca indüklenebilen klindamisin direnci de D testi ile gösterilmektedir. VGS'lerde görülen beta-laktam direnci penisilin bağlayan proteinlerdeki değişime, makrolid direnci ise 23S rRNA hedefindeki (*erm*'e bağlı metilazlar) veya efluks pompası (*mefA*) değişimlerine bağlıdır. Kinolon direnci ile ilgili (QRDR) gende mutasyon olması sonucu da kinolonlara karşı direnç gelişmektedir<sup>19</sup>.

Geçmiş yıllarda viridans streptokoklar penisilin, ampicilin ve diğer birçok antibiyotiğe duyarlı kabul edilirken, günümüzde penisilinler, sefalosporinler, aminoglikozidler ve diğer bazı antibiyotik gruplarına karşı direnç geliştirdikleri izlenmektedir. 1990'lı yılların sörveyanslarına göre kan izolatlarında azalan penisilin direnci %14-64 arasında değişirken, 2000'li yılların sörveyanslarına göre %4-14 oranlarında yüksek penisilin direnci (MİK  $\geq$  4  $\mu$ g/ml) tespit edilmiştir<sup>20-22</sup>. Potgieter ve arkadaşları<sup>23</sup> tarafından 1992 yılında kan kültürlerinden izole edilen 211 viridans streptokok üzerinde yapılan çalışmada, penisilin direnci %38 ve eritromisin direnci %41 olarak bulunmuştur. Suşlar sefalosporinlere, imipenem ve vankomisine duyarlı olarak belirlenmiştir<sup>23</sup>. Ergin ve arkadaşlarının<sup>24</sup> 2006 yılında yaptıkları çalışmada ise, 85 VGS kan izolatında agar dilüsyon metodu ile, penisilin orta direnci %54 ve eritromisin direnci %27 olarak tespit edilmiş; levofloksasin, linezolid, kinupristin/dalfopristin ve vankomisine karşı ise direnç bulunmamıştır. Bu çalışmada eritromisin direncine en fazla *ermB* ve *mefA* genlerinin neden olduğu belirlenmiştir<sup>24</sup>. Paulus ve arkadaşlarının<sup>25</sup> 2009 yılındaki çalışmasında da, çocuk onkoloji hastalarından alınan kan kültürlerinden elde edilen VGS'lerde penisilin orta direnci %20, direnç ise %13 olarak bildirilmiştir. Brown ve arkadaşlarının çok merkezli olarak bakteriyemili hastalarda yaptıkları sörveyans çalışmasında, 5 yıllık bir sürede VGS'lerde penisilin direncinin %13'ten %17'ye yükseldiği, eritromisin direncinin ise yıllar içerisinde iniş çıkışlar göstermekle birlikte %23-58 arasında olduğu ifade edilmiştir<sup>26</sup>. VGS'lerde antibiyotik direnç oranları, ülkelere, çalışılan klinik materyale ve kullanılan antibiyotik duyarlılık yöntemine göre değişiklik gösterdiğinden, dünya çapındaki sonuçları yorumlamak zor olacaktır.

## SONUÇ

Viridans streptokoklar, gittikçe artan tanımlanmış tür sayıları, Mitis grubunda yer alan *S.pneumoniae* gibi önemli bir patojenin bu gruptaki VGS türlerinden ayrımının zor olması ve giderek artan penisilin ve eritromisin direnci sorunuyla önem arz eden bir mikroorganizma topluluğudur. Bu gruptaki mikroorganizmaları tanımlayacak en basit fenotipik laboratuvar yönteminden, bugün için var olan dizi analizi yöntemine kadar kullanılabilir bütün laboratuvar tanı yöntemleri toplum sağlığı açısından en doğruya ulaşmayı sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Shenep JL. Viridans-group streptococcal infections in immunocompromised hosts. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 14: 129-35.
2. Bruckner L, Gigliotti F. Viridans group streptococcal infections among children with cancer and the importance of emerging antibiotic resistance. *Semin Pediatr Infect Dis* 2006; 17: 153-60.
3. Paganini H, Staffolani V, Zubizerrata P, et al. Viridans streptococci bacteremia in children with fever and neutropenia: a case-control study of predisposing factors. *Eur J Cancer* 2003; 39: 1284-9.
4. Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 613-30.
5. Balsalobre L, Hernandez-Madrid A, Lull D, et al. Molecular characterization of disease-associated streptococci of the mitis group that are optochin susceptible. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 4163-71.
6. Kilian M, Poulsen K, Blomqvist T, et al. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* and its close commensal relatives. *PLoS One* 2008; 3: e2683.
7. Arbiq JC, Poyart C, Trieu-Cuot P, et al. Accuracy of phenotypic and genotypic testing for identification of *Streptococcus pneumoniae* and description of *Streptococcus pseudopneumoniae* sp. nov. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4686-96.
8. Berkiten R. *Streptococcus pneumoniae*: Klasik ve moleküler tanıda karşılaşılan sorunlar. *ANKEM* 2006; 20: 180-6.
9. Kiratisin P. The role of gene analysis for species determination of viridans streptococci. *Clin Microbiol Newsletter* 2003; 25: 169-73.
10. Johnson CC, Tunkel AR. Viridans streptococci, Groups C and G streptococci and *Gemella morbillorum*, pp: 2433-40. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 2005, 6<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
11. Donay JL, Mathieu D, Fernandes P, et al. Evaluation of the automated Phoenix system for potential routine use in the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1542-6.
12. Brigante G, Luzzaro F, Bettaccini A, et al. Use of the Phoenix automated system for identification of *Streptococcus* and *Enterococcus* spp. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3263-7.
13. Gavin PJ, Warren JR, Obias AA, Collins SM, Peterson LR. Evaluation of the Vitek 2 system for rapid identification of clinical isolates of gram-negative bacilli and members of the family *Streptococcaceae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21: 869-74.
14. Garnier F, Gerbaud G, Courvalin P, Galimand M. Identification of clinically relevant viridans group streptococci to the species level by PCR. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2337-41.
15. Teng LJ, Hsueh PR, Tsai JC, et al. groESL sequence determination, phylogenetic analysis, and species differentiation for viridans group streptococci. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3172-8.
16. Poyart C, Quesne G, Coulon S, Berche P, Trieu-Cuot P. Identification of streptococci to species level by sequencing the gene encoding the manganese-dependent superoxide dismutase. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 41-7.



17. Kiratisin P, Li L, Murray P, Fischer SH. Use of housekeeping gene sequencing for species identification of viridans streptococci. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 51: 297-301.
18. Simmon KE, Hall L, Woods WC, et al. Phylogenetic analysis of viridans group streptococci causing endocarditis. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 3087-90.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 18<sup>th</sup> Informational Supplement. M100-S18. 2008. CLSI, Wayne, PA.
20. Ondrusova A, Liskova A, Miklosko J, et al. Resistance to penicillin and erythromycin in viridans streptococcal bloodstream isolates from cancer and non-cancer patients within 10 years. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25: 365-7.
21. Smith A, Jackson MS, Kennedy H. Antimicrobial susceptibility of viridans group streptococcal blood isolates to eight antimicrobial agents. *Scand J Infect Dis* 2004; 36: 259-63.
22. Lyytikäinen O, Rautio M, Carlson P, et al. Nosocomial bloodstream infections due to viridans streptococci in haematological and non-haematological patients: species distribution and antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 631-4.
23. Potgieter E, Carmicheal M, Koornhof HJ, Chalkley LJ. In vitro antimicrobial susceptibility of viridans streptococci isolated from blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11: 543-6.
24. Ergin A, Ercis S, Haşçelik G. Macrolide resistance mechanisms and in vitro susceptibility patterns of viridans group streptococci isolated from blood cultures. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 139-41.
25. Paulus S, Dobson S, Rassekh S, Blondel-Hill E. In vitro inferiority of ceftazidime compared with other beta-lactams for viridans group *Streptococcus* bacteremia in pediatric oncology patients. *J Pediatr Hematol Oncol* 2009; 31: 267-9.
26. Brown DFJ, Hope R, Livermore D, et al. Non-susceptibility trends among enterococci and non-pneumococcal streptococci from bacteraemias in the UK and Ireland, 2001-06. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62 (Suppl 2): ii75-85.