



**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI  
ANKARA ŞEHİR HASTANESİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOĞİ EĞİTİM KLİNİĞİ**

***CORYNEBACTERIUM STRIATUM* İZOLATLARININ  
ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARININ, BİYOFİLM  
ÜRETİMLERİNİN VE KLONAL ANALİZLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Fatma Öcalan**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**ANKARA/2020**





**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI  
ANKARA ŞEHİR HASTANESİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ EĞİTİM KLİNİĞİ**

***CORYNEBACTERIUM STRIATUM* İZOLATLARININ  
ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARININ, BİYOFİLM  
ÜRETİMLERİNİN VE KLONAL ANALİZLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. Fatma Öcalan**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. İpek Mumcuoğlu**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**ANKARA/2020**



## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimin sonlarında tanışabildiğim, tanıştığım günden itibaren desteğini ve katkısını esirgemeyen değerli hocam Ankara Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Eğitim ve İdari sorumlumuz Doç. Dr. Bedia Dinç'e, asistanlık eğitimi boyunca desteğini ve katkısını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Altan Aksoy'a, tezimin gerçekleşmesinde gerekli bütün yardım, tavsiye ve yönlendirmeleri yapan, bilgi ve güler yüzünü sakınmayan tez danışmanım Doç. Dr. İpek Mumcuoğlu'na, asistanlığım süresince bize destek olan hocalarım Doç. Dr. Irmak Baran, Doç. Dr. Gülşen Hazırolan, Uzm. Dr. Alparslan Toyran, Uzm. Dr. Ayşegül Altuğ, Uzm. Dr. Feride Alaca, Uzm. Dr. Şenol Kurşun'a, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarım Yasemin Genç, Ayşe Nuriye Varışlı, Gamze Altan, Özlem Aytaç, Fatih Alkoç, Ayşenur Sarıkaya, Esra Yartaşı, İpek Omay, Ahmet Murat Yavaş, Tuğcan Başyigit, Pınar Gün'e, birlikte çalışmaktan keyif aldığım biyolog arkadaşım Mehtap Barlı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin gerçekleşmesinde katkısı büyük olan Ankara Şehir Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Eğitim Kliniği'ne ve Doç. Dr. Adalet Aypak'a; Halk Sağlığı Laboratuvarı'na, Özlem Ünal ve Zekiye Bakkaloğlu'na; Hacettepe Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı'na ve Prof. Dr. İncilay Lay'a ayrıca teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>CORYNEBACTERIUM SPECIES</i>	3
2.2. <i>CORYNEBACTERIUM STRIATUM</i>	4
2.2.1. Laboratuvar Tanısı	4
2.2.1.1. Konvansiyonel Testler	4
2.2.1.2. Ticari Testler	4
2.2.1.3. Moleküler Testler	5
2.2.2. Epidemiyoloji ve Klinik Özellikler	5
2.2.3. Virulans faktörleri	6
2.2.4. Tedavi	8
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	10
3.1. HASTALAR VE KLİNİK VERİLER	10
3.2. ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTLERİ	10
3.3. BİYOFİLM OLUŞUMU	11
3.4. PULSED FIELD GEL ELECTROPHORESIS	12
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	12
4. BULGULAR	14
4.1. HASTALARIN DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLERİ	14
4.2. GRUPLARIN DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLERİ	16
4.3. İZOLATLARIN BİYOFİLM ÜRETİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	19

	<b>Sayfa No</b>
4.4. İZOLATLARIN ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTLERİ	19
4.5. PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS SONUÇLARI	21
5. TARTIŞMA	24
6. SONUÇLAR	30
7. KAYNAKLAR	31
8. ÖZGEÇMİŞ	34
9. EKLER	35
Ek 1. TEZ ONAYI FORMU	35



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>ANC card</b>	: Vitek 2 Anaerob/ <i>Corynebacterium</i> Card
<b>ATCC</b>	: American Type Culture Collection
<b>BHI</b>	: Brain-heart infüzyon
<b>CFU</b>	: Colony forming unit
<b>CLSI</b>	: Clinical&Laboratory Standards Institute
<b>ÇİD</b>	: Çok İlaça Dirençli
<b>DNA</b>	: Deoksiribo nükleik asit
<b>EDTA</b>	: Etilen diamin tetra asetik asit
<b>EUCAST</b>	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
<b>MALDI-TOF MS</b>	: Matrix assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry
<b>MH-F</b>	: Mueller-Hinton Fastidious
<b>MİK</b>	: Minimum inhibitör konsantrasyon
<b>MLST</b>	: Multilocus sequence typing
<b>NAD</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>OD</b>	: Optik dansite
<b>PFGE</b>	: Pulsed-field gel electrophoresis
<b>RFLP</b>	: Restriction fragment-length polymorphism
<b>SS</b>	: Standart Sapma
<b>ST</b>	: Sekans tipi
<b>UPGMA</b>	: Unweighted pair group method with mathematical averaging

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> Hastaların demografik ve klinik özellikleri	15
<b>Tablo 2.</b> Grupların yaş ve hastanede yatış günü dağılımı	16
<b>Tablo 3.</b> Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon grupları arasında demografik ve klinik özelliklerin karşılaştırılması	18
<b>Tablo 4.</b> Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon gruplarından seçilen klinik örneklerin materyal türü	19
<b>Tablo 5.</b> Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon grupları arasında biyofilm oluşumunun karşılaştırılması	19
<b>Tablo 6.</b> Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon kabul edilen izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları	20
<b>Tablo 7.</b> Etken olarak kabul edilen izolatların MİK değerleri	21
<b>Tablo 8.</b> Kontaminasyon-kolonizasyon olarak kabul edilen izolatların MİK değerleri	21
<b>Tablo 9.</b> Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon izolatlarının PFGE gruplarında dağılımı	22

## ŞEKİL LİSTESİ

**Sayfa No**

**Şekil 1.** Tüm izolatların PFGE bant profilleri ve grup dağılımları

23



## ÖZET

**Öcalan F. *Corynebacterium striatum* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının, biyofilm üretimlerinin ve klonal analizlerinin değerlendirilmesi. Ankara Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, 2020.**

**Amaç:** Bu çalışmada tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gelen örneklerden izole edilen ve etken ya da kontaminant olarak değerlendirilen *C. striatum* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık testleri, biyofilm üretme kabiliyetleri, genotipleri karşılaştırılmış, hastaların demografik özellikleri incelenmiş ve *C.striatum*'un klinik önemini etkileyen faktörlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına 1 Kasım 2018 - 30 Nisan 2019 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 58 *C. striatum* izolatı dahil edilmiştir. Klinisyen tarafından bu izolatların 29'u enfeksiyon etkeni olarak, diğer 29'u kontaminasyon-kolonizasyon olarak değerlendirilmiştir. Hastaların kültür alındığı anda hastanede yatış günü, altta yatan hastalık varlığı (diabetes mellitus, nörolojik hastalık, iskemik kalp hastalığı, kronik böbrek hastalığı, solid tümör), son bir ay içerisinde geçirilen cerrahi, daha önceki antimikrobiyal kullanımı incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilen 58 *C. striatum* izolatından 13 tanesi etken gruptan, 13 tanesi kontaminasyon-kolonizasyon grubundan seçilerek 26 izolatın antimikrobiyal duyarlılık testleri yapılmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık testleri, gradient strip yöntemiyle yapılmıştır ve EUCAST standartlarına göre değerlendirilmiştir. Çalışmaya alınan tüm suşlarda biyofilm oluşumu negatif yüklü polistren yüzeylerde 96 kuyucuklu mikrotitre plaklarında belirlenmiştir. Klonal analiz için izolatlar PFGE yöntemiyle Xba1 enzimi kullanılarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Çalışmaya alınan iki hasta grubunda demografik özellikler açısından fark olmadığı izlenmiştir. Nörolojik hastalığı olanlarda *C.striatum* etken olarak daha sık izlenirken ( $p=0,025$ ), diğer komorbiditelerin iki grup arasında farklı olmadığı görülmüştür. Poliklinik hastalarından izole edilen suşların kontaminasyon veya

kolonizasyon kabul edilme oranının daha yüksek olduğu anlaşılmıştır ( $p=0,034$ ). Antimikrobiyal duyarlılık testlerinde her iki grupta da yaygın çoklu ilaç direnci olduğu izlenmiştir. Gruplar arasında antimikrobiyal duyarlılık açısından anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Biyofilm üretiminin etken grupta anlamlı şekilde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p=0,015$ ). Genotipik değerlendirmede, izolatların çok farklı PFGE paternleri gösterdiği ve klonal olarak birbiriyle ilişkili olmadığı belirlenmiştir.

**Sonuç:** *C. striatum* cilt ve mukoz membranların normal florasında bulunmakla birlikte, son yıllarda artan sıklıkta enfeksiyon etkeni olarak da bildirilmektedir. Kültürde *C. striatum* izole edildiğinde, enfeksiyon etkeni, kontaminasyon veya kolonizasyon olduğunu belirlemek sıklıkla çoklu ilaç direnci olan bu mikroorganizmanın tedavisinde çok önemlidir. Bu çalışmada, enfeksiyon oluşumunda *C.striatum* izolatlarının genotipleri ve direnç paternlerinden ziyade, bakteriye ait virulans faktörlerinin ve hastaya özgül değişkenlerin önemli olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *C. striatum*, antimikrobiyal direnç, biyofilm

## ABSTRACT

**Öcalan F. Evaluation of antimicrobial susceptibility, biofilm production and clonal analysis of *Corynebacterium striatum* isolates. Ankara City Hospital, Medical Microbiology Clinic, Ankara, 2020.**

**Aim:** In this study, antimicrobial susceptibility tests, biofilm production ability, genotypes of *C. striatum* strains isolated from medical microbiology laboratory samples were compared, demographic characteristics of patients were investigated and the aim of this study was to determine the factors that affect the clinical importance of *C. striatum*.

**Material and Methods:** Fifty eight *C. striatum* isolates isolated from various clinical samples sent to Ankara Numune Training and Research Hospital Medical Microbiology Laboratory between November 1, 2018 and April 30, 2019 were included in the study. The clinician evaluated 29 of these isolates as infectious agents and 29 of them as contamination-colonization. Patient's hospitalization day, presence of underlying disease (diabetes mellitus, neurological disease, ischemic heart disease, chronic kidney disease, solid tumor), surgery in the last month and previous antibiotic use were examined. Antimicrobial susceptibility tests were performed for 26 isolates, 13 of which were selected from the infection agent group and 13 from the contamination-colonization group. Antimicrobial susceptibility tests were performed by gradient strip method and evaluated according to EUCAST standards. Biofilm formation in all strains included in the study was determined on 96-well microtiter plates on negatively charged polystyrene surfaces. For clonal analysis, isolates were evaluated by PFGE method using Xba1 enzyme.

**Results:** There was no difference in demographic characteristics in the two patient groups included in the study. While *C. striatum* was observed more frequently as a causative agent in patients with neurological disease ( $p=0.025$ ), it was observed that other comorbidities were not different between the two groups.

It was found that strains isolated from outpatient setting were more frequently accepted as contamination or colonization ( $p=0.034$ ). Antimicrobial susceptibility

testing showed widespread multidrug resistance in both groups. There was no significant difference between the groups in antimicrobial susceptibility. Biofilm production was found to be significantly higher in the infection agent group ( $p=0.015$ ). In our study, it was found that the strains showed very different PFGE patterns and were not clonally related to each other.

**Conclusion:** Although *C. striatum* is found in normal flora of skin and mucous membranes, it has been reported to be an increasing cause of infection in recent years. When *C. striatum* is isolated in culture, it is often important to determine whether there is an infection agent, contamination or colonization for the treatment of this multidrug-resistant microorganism. In this study, it was determined that bacterial virulence factors and patient specific variables were important for infection rather than genotypes and resistance patterns of *C.striatum* isolates.

**Key words:** *C. striatum*, antimicrobial resistance, biofilm

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

*Corynebacterium* türleri; aerobik, katalaz pozitif, çoğunlukla hareketsiz ve spor oluşturmeyen gram pozitif basillerdir. *Corynebacterium* spp.; *Corynebacterium diphtheriae* ve non-difterial *Corynebacterium* olmak üzere iki ana gruba ayrılır [1].

Non-difterial *Corynebacterium* cilt ve mukoz membranların normal florasında bulunur. Bu bakteriler klinik örneklerden izole edildiğinde genellikle kontaminasyon ya da kolonizasyon olarak kabul edilirler [2, 3]. *Corynebacterium jeikeium* ve *Corynebacterium urealyticum* gibi bazı non-difteroidal *Corynebacterium* türleri özellikle immunsupresif veya intavasküler kateteri olan hastalarda fırsatçı patojen olarak tanımlanmışlardır [4].

Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık izole edilen korineform bakterilerden biri *Corynebacterium striatum*'dur. Bu bakterinin klinik örneklerden izolasyonu genellikle kontaminasyon olarak kabul edilir. Bunun nedeni, insan deri ve mukoz membran florasının doğal üyesi olmalarıdır. Bununla birlikte son on yılda artan sayıda *C.striatum*'a bağlı çeşitli klinik enfeksiyonlar bildirilmiştir. Bunlar hem immunsuprese hem immun sağlam kişilerde görülen septisemi, artrit, vertebral osteomyelit, menenjit, endokardit, meme absesi, peritonit, yara enfeksiyonları, prostetik eklem enfeksiyonları gibi enfeksiyonlardır. Ayrıca tek bir *C.striatum* izolatının hastadan hastaya geçerek oluşturduğu salgınlar da bildirilmiştir [5, 6].

Bir *C. striatum* izolatu klinik örnekten izole edildiğinde bunun enfeksiyon mu yoksa kolonizasyon veya kontaminasyon mu olduğunu belirlemek esas olarak klinik değerlendirmeye dayanmaktadır. *C.striatum*'a bağlı enfeksiyonlarda spesifik tedavi yapılması için antimikrobiyal duyarlılık testi gereklidir. Yapılan ilk çalışmalarda *C. striatum* klinik izolatlarının geniş bir duyarlılık paterni gösterdiği görülse de, son raporlarda artan sıklıkta çoklu ilaç direnci (ÇİD) bildirilmiştir [7].

Son zamanlarda yapılan bir çok çalışmada ÇİD olan *C. striatum*'a bağlı enfeksiyonlar bildirilmiştir. ÇİD *C. striatum*'un genomik çalışmaları ise bu mikroorganizmaların sağlık kurumları içinde klonal yayılım kapasitesi olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalar sağlıklı ilişkili enfeksiyonlarda *C. striatum*'un önemli bir unsur olabileceğini göstermektedir [5].

Bazı araştırmalar invazif enfeksiyonu olan hastalardan izole edilen *C. striatum* izolatlarında biyofilm oluşturma yeteneği olduğunu göstermiştir. Bu da bu organizma

için biyofilm oluşturma kabiliyetinin virulans faktörü olduğunu göstermektedir. Ancak *C. striatum*'un biyofilm oluşturma kabiliyeti ile klinik enfeksiyonun ilişkili olup olmadığı halen net değildir [5].

Bu çalışmada klinik mikrobiyoloji laboratuvarına örnekleri gelen ve örneklerinde *C. striatum* izole edilen hastaların klinik değerlendirmeleri, etken olarak mı kontaminasyon veya kolonizasyon olarak mı değerlendirildikleri hastayı muayene eden klinisyenle görüşerek incelenmiş; klinik ve mikrobiyolojik özellikler, antimikrobiyal duyarlılık testleri, biyofilm üretme kabiliyeti, izolatların genotipleri karşılaştırılarak *C.stiatum*'un klinik önemini etkileyen faktörleri bulmak amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.CORYNEBACTERIUM SPECIES

*Corynebacterium* türleri aerobik, gram pozitif, spor oluşturmeyen, çoğunlukla hareketsiz basillerdir [8]. *Corynebacterium* türlerinin çoğu hücre duvarında arabinoz, galaktoz, meso-diaminopimelik asit ve kısa zincirli mikolik asitler içerir. *Corynebacterium* cinsi aside dirençli değildir, çünkü orta ve uzun zincirli mikolik asit içeren mikroorganizmalar aside dirençli boyanır. Bakteriler Gram boyama yöntemiyle pleomorfik, lobut şekilli, gram pozitif basil olarak görülürler. Türlerin büyük bir kısmı karbonhidratları fermente eder ve laktik asit oluşturur, ancak birkaç tür non fermentatiftir ve/veya karbonhidratları oksidasyon yoluyla metabolize eder. Bir çok tür basit besiyerlerinde iyi ürer, ancak bazı türler optimal büyüme için lipitlere ihtiyaç duyar (lipofilizm). Lipofilizm lipit içeren ortamdaki büyüme ve ticari olarak temin edilen ve hemin tozu içeren çikolata agarda zayıf veya hiç üreme olmaması ile gösterilebilir. Lipofilizm en iyi %0,1 ila %1 Tween-80 içeren besiyerinde Tween-80 içermeyen aynı besiyerine kıyasla büyüme gösterilmesi ile ortaya çıkar [9, 10].

*Corynebacterium*, 100'den fazla heterojen tür ve alt türe sahip olan geniş bir cinstir. Korinebakterilerin bütün türleri fırsatçı patojen olarak rol oynasa da az bir kısmı insanlarda hastalık etkenidir. Difteri etkeni olan *Corynebacterium diphtheriae* bunların en iyi bilinenidir. Bu türe bağlı enfeksiyonlar etkili aşılama programları sayesinde yok denecek kadar azalmıştır. Son yıllarda diğer bazı türler de artan sıklıkta enfeksiyon etkeni olarak bildirilmiştir. Bu türler başta *C. striatum* olmak üzere *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium amycolatum*, *Corynebacterium urealyticum*, *Corynebacterium afermentans*, *Corynebacterium ulcerans*, *Corynebacterium minutissimum*, *Corynebacterium propinquum* ve *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*'dur [9, 11].

## **2.2. C. STRIATUM**

*C. striatum* non-lipofiliktir. Koyun kanlı agarda gri-beyaz, nemli, pürüzsüz, hemolitik olmayan koloniler halinde büyür (koagülaz negatif stafilokok kolonilerini andırır). 24 saat inkübasyon sonunda koloni çapı yaklaşık 1-2 mm kadardır. Üreyi ve eskülini hidrolize etmez. Glukoz ve sükrozu fermente eder; maltoz, mannitol ve ksilozu fermente etmez. CAMP pozitifliği değişkendir. Pirazinamidaz ve alkalın fosfataz üretir [10, 12].

### **2.2.1. Laboratuvar Tanısı**

*C. striatum* ve diğer *Corynebacterium* türlerinin tanısı başlangıçta fenotipik testlerle yapılır. Moleküler metodların uygulanması *Corynebacterium* cinsi içerisindeki türlerin sayısını hızlı bir şekilde artırmıştır, bu da tanı için yapılması gereken fenotipik testlerin sayısını artırmıştır.

#### **2.2.1.1. Konvansiyonel testler**

Konvansiyonel testler bazı modifikasyonlarla diğer mikroorganizmalara uygulandığı gibi uygulanır. Gram boyama *Corynebacterium* cinsinin diğer mikroorganizmalardan ayrılması için oldukça önemlidir. Gram boyamada lobut şekilli basillerin görölmesi sadece *Corynebacterium* cinsinin üyelerinde görölür. Ayrıca koloni boyutu, pigmentasyon, kolonilerin kokusu, hemoliz varlığı da tanımlamada önemlidir [10, 12].

#### **2.2.1.2. Ticari testler**

Korinebakterilerin tanısında kullanılan ticari kitler de mevcuttur.

API-Coryne 11 enzimatik test, 8 karbonhidrat fermentasyon testi ve bir fermentasyon kontrol testinden oluşan tanımlama testidir.

Vitek 2 Anaerob/*Corynebacterium* Card (ANC card) Vitek 2 ile kullanılan 64 kuyucuklu biyokimyasal test kartıdır. Genellikle inokulasyondan altı saat sonra tanımlama yapılır. ANC card veritabanı *Corynebacterium*, bazı *Actinomyces* ve

*Arcanobacterium* türleri, klinik olarak önemli gram pozitif ve gram negatif anaerob bakterileri içerir.

Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) *C. diptheriae* dahil *Corynebacterium* türlerinin tanımlanmasında kullanılan başka bir yöntemdir [10].

### 2.2.1.3 Moleküler Testler

*Corynebacterium* türlerini tanımlamak için çeşitli moleküler yöntemler de kullanılır. Bunlar 16S rRNA sekans analizi, rpoB gen sekans analizi, restriction fragment-length polymorphism (RFLP), DNA-DNA hibridizasyon ve *real time* PCR yöntemleridir [13].

*C. striatum*'un insan patojeni olarak tanınması klinik laboratuvarların mikroorganizmayı tür düzeyinde tanımlayamaması nedeniyle gecikmiş olabilir [3]. Her geçen gün gelişen tıbbi tedavilerin sonucu olarak antimikrobiyal kullanımının artması, hastanede yatış sürelerinin uzaması, immunsuprese hasta sayısının artması ile *C. striatum* enfeksiyonlarının sıklığında da artış bildirilmektedir. Her klinik mikrobiyoloji laboratuvarı için bu bakterileri doğru ve hızlı tanımlayan teknikleri kullanmak önemlidir. *Corynebacterium* türlerinin konvansiyonel yöntemlerle tanımlanması yetersizdir ve patojen veya non-patojen olarak gerçek prevalansları bilinenden daha fazladır [14] .

### 2.2.2 Epidemiyoloji ve Klinik Özellikler

*C. striatum* insan deri ve mukoz membran florasında ve çevrede yaygın olarak bulunmaktadır. Klinik örneklerden izole edilen *C.striatum* genel olarak kontaminant olarak kabul edilir. İlk kez 1980'de kronik lenfositik lösemi olan bir hastada plöropulmoner enfeksiyon etkeni olarak rapor edilmiştir. O zamandan beri çeşitli enfeksiyonlar ve hastane salgınları ile ilişkilendirilmiştir. Bu enfeksiyonlar sepsis, solunum yolu enfeksiyonu, enfektif endokardit, artrit, selülit, kateter ilişkili kan

dolaşımı enfeksiyonu, menenjit, deri enfeksiyonu, osteomyelit, abse ve yara enfeksiyonudur [3, 13].

*C. striatum* ile ilişkilendirilen olguların önemli bir yönü bir nozokomiyal risk faktörü bulunmasıdır. Cilt bariyerinin bozulması, tıbbi cihaz varlığı, geniş spektrumlu antimikrobiyal kullanımı, altta yatan hastalık olması ve immun sistemin zayıf olması enfeksiyon oluşumunu etkileyebilir. *C. striatum* sıklıkla malignansi veya organ transplantasyonu olan hastalarda nozokomiyal patojen olarak kabul edilmiştir. İmmünesupresif hastaların klinik örneklerinde *C. striatum* ile karşılaşan klinisyenler izolatu sıklıkla gerçek bir patojen olarak görmektedir [13, 15].

Son yıllarda uygulanan invazif işlemlerin, geniş spektrumlu antimikrobiyal kullanımının ve immünesupresif hasta sayısının artması *Corynebacterium* cinsi bakterilere bağlı enfeksiyon ve salgınların sayısında artışa neden olmuştur. İmmünesupresif, hastanede uzun süredir yatan, uzamış geniş spektrumlu antimikrobiyal kullanımı olan hastalarda ve yoğun bakım ünitelerinde *C. striatum* izolatlarının nozokomiyal salgınları bildirilmiştir. Ayrıca kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalarda *C. striatum*'a bağlı nozokomiyal solunum yolu enfeksiyonu salgınları bildirilmiştir [13, 16]. Moleküler biyoloji temelli tekniklerin yardımıyla, nozokomiyal salgınlarda izolatların klonal doğası kesin olarak belirlenmiştir [17].

*C. striatum*'a bağlı enfeksiyonların genellikle endojen kaynaklı olduğu kabul edilmiştir. Ancak *C. striatum*'un sağlık çalışanları vasıtasıyla hastadan hastaya geçtiği gösterilmiştir [13, 18].

Bir klinik örnekten *C. striatum* izole edildiğinde bunun enfeksiyon etkeni mi kontaminasyon/kolonizasyon mu olduğuna karar vermek esas olarak klinik değerlendirmeye dayanır. *C. striatum* izolatının klinik önemine karar vermek mikrobiyolog için sıklıkla güç bir durumdur. Steril bölgelerden alınan örneklerde üremişse, örnekte predominant üreme saptanmışsa, saf üreme varsa, gram boyamada korineform bakteri görülmüş ve çok sayıda lökosit varsa etken olabileceği düşünülmelidir [15, 16].

### **2.2.2. Virulans faktörleri**

*Virulence Factors Database* veritabanında *Corynebacterium* cinsinde iki adet virulans faktörü tanımlanmıştır. Bunlardan birisi adherensde rol oynayan pili, diğeri

ise difteri toksinidir. Bu veritabanı bir dizi pilus proteini ve onların ilgili sortazlarını kodlayan spaDEF operonunun varlığını göstermiştir. Bu gen ilk olarak *C. diphtheriae*'da tanımlandı ve farklı konak dokulara yapışmada önemli roller oynayabildiği gösterildi. Konak dokulara yapışma enfeksiyon sırasında çok önemli bir süreçtir. Konak dokuda kolonizasyon, immun sistemden kaçma ve biyofilm oluşumu için gram pozitif bakterilerde yüzey pilisi önemlidir. *C. striatum* izolatlarında spaDEF gen kümesinin varlığı gösterilmiştir. Sortase A, sortase C, sortase E ve pilin subunitesi spaE varlığı gösterilmiştir. Toksin varlığı *C. striatum*'da gösterilememiştir [19, 20].

Biyofilm oluşturma yeteneği bir mikroorganizmanın stres koşulları altında hayatta kalabilmek için oluşturduğu bir stratejidir. Çünkü biyofilm içinde büyüyen hücreler insan immun sistemi bileşenlerine ve bir çok antimikrobiyal maddeye karşı oldukça dirençlidir. Ayrıca biyofilm toplulukları içerisinde bakterilerin genleri horizontal olarak transfer edebilme yeteneği artırılarak antimikrobiyal direncinin yayılması kolaylaşır [21].

Biyofilm üreten *C. striatum* suşları diğer patojenik biyofilm üreten mikroorganizmalara benzer özellikler gösterir. Biyofilm oluşumunun gelişimi, ilk bağlanma, mikrokoloni formasyonunun gelişimi ve ayrılma olarak üç aşamada tanımlanabilir. *C. striatum* suşları, *C. diphtheriae* ve diğer nondifteroidal *Corynebacterium* suşları gibi bağlanmayı ve biyofilm oluşumunun işareti olan mikrokoloni formasyonunu oluşturabilir. *C. striatum* hidrofilik ve hidrofobik abiyotik yüzeylerde gösterildiği gibi invitro biyofilm oluşturma yeteneği ile invivo biyofilm oluşturabilir. *C. striatum*'un insan fibrinojenine olan afinitesinin ilave bir potansiyel virülans özelliği olduğu belirlenmiştir [21].

Genel olarak cilt flora elemanları göreceli olarak düşük virulansa sahiptir ancak çoklu ilaca dirençli *C. striatum* izolatlarının biyofilm ürettiği gösterilmiş ve biyofilm üretiminin bu mikroorganizmada yeni bir virülans faktörü olduğu bildirilmiştir. İnvazif enfeksiyonu olan hastalardan izole edilen *C. striatum* izolatlarında biyofilm üretme kabiliyetinin gösterilmesi, biyofilm üretiminin bu mikroorganizma için virülans faktörü olduğunu gösterir. Ancak biyofilm oluşumunun klinik enfeksiyon ile ilişkili olup olmadığı halen açık değildir [5, 22].

Biyofilm oluşturabilen *C. striatum* suşları antimikrobiyal kullanımı ile seçilebilir veya bunun tersine biyofilm içerisindeki *C. striatum* suşları çoklu ilaç direnci kazanabilir. Her iki durumda da *C. striatum*'un yüksek kolonize etme kapasitesi çoklu ilaç direnci ile birlikte hayatta kalma ve hastane ortamına daha fazla yayılmasını sağlamaktadır [21].

Biyofilm üretimini tespit etmek için çeşitli yöntemler vardır. Bunlar mikroplak yöntemi, tp yöntemi, kongo red agar metodu, piezoelektrik sensörler, biyolminesan metod, floresan mikroskop incelemesi ve taramalı elektron mikroskop incelemesidir [23].

Bunlar arasında en sık kullanılan tp testi ve mikroplak testidir. Tp testinde bakteriyel biyofilm bir kültür tüpünü kaplar, tp katyonik boya ile boyanır ve görsel olarak ölçeklendirilir. Mikroplak testinde ise boyanan bakteriyel biyofilmin optik dansitesi spektrofotometrik olarak belirlenir[24].

#### **2.2.4 Tedavi**

*C. striatum* izolatlarının antimikrobiyal direnç paternleri incelendiğinde ilk yapılan çalışmalarda birçok antimikrobiyal ajana duyarlı olduğu görülmüştür. Bunlar arasında penisilin, sefazolin, imipenem ve vankomisin de bulunmaktadır [12]. Ancak son zamanlarda yapılan birçok çalışmada çoklu ilaca dirençli izolatların arttığı görülmüştür [13]. Hastaneler antimikrobiyal yönünden zengin ortamlardır ve bu ortam direnç genlerini duyarlı bakterilere transfer edebilen dirençli bakterilerin hayatta kalması konusunda seçici bir baskı yaratır. Bu selektif basınç *C. striatum*'un aşırı büyümesini ve immunsuprese hastalarda sekonder kolonizan olarak ortaya çıkmasını sağlar [6].

*C. striatum* genel olarak penisiline dirençli ama diğer  $\beta$ -laktam antibiyotiklere ve vankomisine duyarlıdır. *Corynebacterium* türlerinin ciddi enfeksiyonlarında vankomisin ampirik tedavi olarak önerilmektedir. Vankomisine in vitro direnç raporlanmamıştır. *C. striatum* tedavisinde kullanılan bir diğer ilaç da linezolidir. *Corynebacterium* türlerinde linezolid direnci bildirilmemiştir. Ancak uzun süreli kullanımda tedaviyi kesmeye sebep olan yan etkileri bulunmaktadır. Tigesiklinin de in vitro duyarlılık testlerinde bu mikroorganizmalara karşı aktif olduğu

görülmektedir. Ancak günümüzde *Corynebacterium* türlerinin tedavisi için bir altın standart veya rehber bulunmamaktadır [1, 6, 13, 22, 25].

The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2006 yılında seyrek olarak izole edilen veya zor üreyen bakterilerde antimikrobiyal dilüsyon ve disk duyarlılık testi metodları rehberini yayımlamıştır. Bu rehber *Corynebacterium* türlerinin sıvı mikrodilüsyon testi için bilgi ve yorumlama kriteri sağlamıştır. Ancak disk difüzyon testi için yorumlayıcı bir kriter yoktur.

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) *Corynebacterium* türleri için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) ve zon çaplarının yorumlanması için sınır değer tablosu oluşturmuştur. CLSI'nın aksine EUCAST rehberinde disk difüzyon yöntemi için yorumlayıcı kriterler bulunmaktadır [13].

Son yıllarda *C. striatum* klinik örneklerden sıklıkla izole edilmektedir ve ÇİD olan suşlar yaygındır. Bir çok çalışmada ÇİD *C. striatum* suşlarında artış olduğu bildirilmektedir [13]. Poliklinik ortamında klinik olarak anlamlı olmadığı düşünülen izolatlarda bile ÇİD'nin yaygın olduğu görülmüştür. Böylece bu dirençli suşların antimikrobiyal kullanımı ile seçilmekten ziyade toplumda dolaştığı da düşünülmektedir [15]

### 3. GEREÇLER ve YÖNTEMLER

Çalışmamız Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına 1 Kasım 2018 - 30 Nisan 2019 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *C. striatum* izolatları kullanılarak yapılmıştır. Tüm *C. striatum* izolatları tür düzeyinde MALDI-TOF MS Biotyper (Bruker, Almanya) ile tanımlanmıştır. İzolatlar çalışma yapılana kadar %16 gliserollü brain-heart buyyonda -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen tüm izolatların klinik anlamı hastayı muayene eden klinisyenle görüşerek ve hastane veritabanı taranarak incelenmiştir. Çalışmaya toplam 58 izolat dahil edilmiştir. Bunların 29'u klinisyen tarafından etken kabul edilen, kalan 29'u klinisyen tarafından kolonizasyon veya kontaminasyon olduğu düşünülen izolatlardır.

#### 3.1. HASTALAR VE KLİNİK VERİLER

Klinik örneklerinde *C. striatum* izole edilen ve çalışmaya alınan tüm hastaların tıbbi kayıtları gözden geçirilmiştir. Hastaların kültür alındığı anda hastanede yatış günü, altta yatan hastalık varlığı (diabetes mellitus, nörolojik hastalık, iskemik kalp hastalığı, kronik böbrek hastalığı, solid tümör), bir ay içerisinde geçirilen cerrahi, daha önceki antimikrobiyal kullanımı incelenmiştir.

#### 3.2. ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTLERİ

Çalışmaya dahil edilen 58 *C. striatum* izolatından 13 tanesi etken gruptan, 13 tanesi kontaminasyon-kolonizasyon grubundan seçilerek 26 izolata antimikrobiyal duyarlılık testi gradiyent test yöntemi ile Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) saptanarak yapılmıştır. Öncelikle saklanmış *C. striatum* izolatlarının %5 koyun kanlı agara art arda iki gün 24 saatlik taze kültür pasajları yapılmıştır. Saf olarak elde edilen kolonilerden doğrudan koloni süspansiyonu yöntemiyle 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Steril eküvyon ile önceden yüzeyi kurutulmuş, güç üreyen organizmalara yönelik besiyeri olan % 5 oranında mekanik yöntemlerle defibrine edilmiş at kanı ve 20 mg/L  $\beta$ -NAD (nikotinamid

adenin dinükleotid) eklenmiş Mueller-Hinton Fastidious (MH-F) plaklarına yayılmıştır. Bakteri süspansiyonunun absorbe olması için birkaç dakika beklendikten sonra her bir bakteri için, -20 °C'de saklanan penisilin, siprofloksasin, gentamisin, vankomisin, klindamisin, linezolid gradiyent test şeritleri oda sıcaklığına getirilerek 15 dk bekletildikten sonra agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Kapakları alta gelecek şekilde 35±1°C, %4-6 CO<sup>2</sup> içeren atmosferde 16-20 saat inkübasyonun ardından değerlendirilmiştir. Üreticilerin önerileri doğrultusunda inkübasyondan sonra oluşan elips şeklindeki inhibisyon zonunun gradiyent test şeridiyle kesiştiği nokta MİK değeri olarak okunmuştur. Sonuçlar EUCAST standartlarına göre değerlendirilmiştir [26].

### 3.3. BİYOFİLM OLUŞUMU

Biyofilm oluşumu negatif yüklü polistren yüzeylerde 96 kuyucuklu mikrotitre plaklarında belirlenmiştir [5]. Brain-heart infüzyon (BHI) broth içerisinde hazırlanmış 0,5 McFarland (1-2X10<sup>8</sup> colony forming unit (CFU)/mL) bakteri içeren süspansiyondan 200 µL 96 kuyucuklu plakanın kuyucuklarına eklenmiş ve 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Sonra her kuyucuk iki kere 200 µL fosfat tamponlu salin ile yıkanmıştır. Biyofilmler 200 µL %99 metanol ile beş dakika fikse edilmiş ve 200 µL %2 kristal viyole ile beş dakika boyanmıştır. Her aşamada süre sonunda kuyucuk içindeki reaktif boşaltılarak ters çevrilen mikropalak kurutulmuştur. Son olarak 160 µL %95 etanol her kuyucuğa eklenmiş ve bu aşamada etanol dökülmeden en kısa sürede okumaya geçilmiştir. Optik dansite (OD) 595nm'de (OD<sub>595</sub>) SpectraMax i3x Multi-mode Microplate Reader ile üç kez ölçülmüştür (Molecular Devices, USA). Negatif kontrol sadece BHI içermektedir. Pozitif kontrol olarak biyofilm ürettiği bilinen *S. epidermidis* ATCC 35984 suşu kullanılmıştır.

Sonuçların değerlendirilmesi literatürde tanımlandığı şekilde yapılmıştır [27]. OD<sub>595</sub>'de üç kez ölçüm yapıldıktan sonra test edilen tüm suşlar ve negatif kontrol için ortalama OD değeri hesaplanmıştır. Daha sonra cut-off değeri (OD<sub>c</sub>) oluşturulmuştur. OD<sub>c</sub>, negatif kontrolün ortalama OD'sinin üç standart sapma (SS) üstü olarak tanımlanmıştır:

$$OD_c = \text{negatif kontrolün ortalama OD'si} + (3 \times \text{negatif kontrolün SS})$$

Test edilen bir izolatin ortalama OD değeri OD<sub>c</sub>'den büyük ise biyofilm oluşumu var, küçük ise biyofilm oluşumu yok olarak yorumlanmıştır.

### **3.4. PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS (PFGE)**

PFGE yöntemi daha önce literatürde tanımlandığı şekilde uygulanmıştır [28]. Bakteri hücre süspansiyonu %1'lik SeaKem® Gold Agarose (Lonza Rockland, USA) ile karıştırılarak pluglar hazırlanmıştır. Hazırlanan pluglar lizis solüsyonunda 37°C'de bir gün bekletilmiş ve ardından 55°C'de bir gün proteinaz K solüsyonunda bekletildikten sonra yıkama işlemlerine geçilmiştir. Pluglar her biri 30 dakika olmak koşuluyla dört kez TE (Tris-HCl, EDTA) ile yıkanmıştır. Yıkamanın ardından kromozomal DNA 30 U XbaI (Fermantas Corporation, USA) enzimi ile kesilmiştir. Oluşan DNA parçaları %1'lik agaroz jelde, 0.5 X TBE (Trisma base, Borik asit, EDTA) tamponunda CHEF-DR III sistemi (Bio-RadLaboratories, Belgium) kullanılarak başlangıç vuruş süresi 10 sn, bitiş vuruş süresi 40 sn, vuruş açısı 120°, akım 6 V/cm<sup>2</sup>, sıcaklık 15°C, süre 24 saat olarak elektroforez yapılmıştır. Jeller 0,5 µg/ml etidyum bromür ile boyanıp Gellogic 2200 görüntüleme sistemi (Kodak Company, NY, USA) kullanılarak DNA bantlarının fotoğrafı çekilmiştir. BioNumerics version 7.5 yazılımı (AppliedMaths, SintMaartenLatem, Belgium) kullanılarak bant profilleri analiz edilmiştir.

### **3.5. İSTATİKSEL ANALİZ**

Verilerin analizi SPSS 25 programı ile yapılmış ve %95 güven düzeyi ile çalışılmıştır.

Çalışmada nitel değişkenler için frekans ve yüzde değerleri, nicel değişkenler için ise minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma gibi değerler verilmiştir. Test tekniklerinden Kikare testi kullanılmıştır. Kikare testi; bağımsız iki kategorik değişken arasındaki ilişkinin belirlenmesinde kullanılan test tekniğidir. Değişkenler ile grup arasındaki ilişki Kikare testi ile analiz edilmiştir.

UPGMA (Unweighted pair group method with mathematical averaging) metodu ve Dice benzerlik katsayısı kullanılarak PFGE profillerinin dendrogramı oluşturulmuş ve kümelenme analizi yapılmıştır. Benzerlik katsayısının

hesaplanmasında tolerans %1.5, optimizasyon %1 olarak alındı. İzolatlar arasındaki ilişki Tenover ve ark. tarafından geliştirilmiş kriterler kullanılarak değerlendirilmiştir [29].



## 4. BULGULAR

### 4.1. HASTALARIN DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Çalışmaya 58 *C. striatum* izolatu dahil edilmiştir. Bunlardan 29(%50)'u etken grubunda, 29(%50)'u kontaminasyon-kolonizasyon grubunda yer almaktadır.

Ellisekiz hastanın 33 (%56,9)'ü 60 yaşından büyük, 42(%72,4)'si erkektir. Kültür alındığı anda hastanede 20 günden daha az yatmış olan hasta sayısı 26(%44,8)'dir.

Hastaların 23'ünde (%39,7) diabetes mellitus, 19'unda (%32,7) nörolojik hastalık, 13'ünde (%22,4) iskemik kalp hastalığı, 8'inde (%13,8) kronik böbrek hastalığı, 6'sında (%10,3) solid tümör bulunmaktadır. Hastaların 9'u (%15,5) bir ay içerisinde cerrahi geçirmiş, 54'ü (%93,1) daha önce herhangi bir antimikrobiyal kullanmıştır.

Ellisekiz hastanın gönderilen klinik örneklerinden 21(%36,2)'inde *C. striatum* izolatu saf koloni olarak üremiştir.

Çalışmaya dahil ettiğimiz 58 klinik örnekten 23(%37,9)'ü yara, 23(%39,6)'ü trakeal aspirat, 6(%10,3)'sı balgam, 3(%5,1)'ü kan, 2(%3,4)'si abse, 1'i idrardır.

Hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 1'de verilmektedir.

Tablo 1. Hastaların demografik ve klinik özellikleri

		n (%)
Grup	Etken	29(50)
	Kontaminasyon-kolonizasyon	29(50)
Yaş	60 yaş ve altı	25(43,1)
	60 yaş üstü	33(56,9)
Cinsiyet	Erkek	42(72,4)
	Kadın	16(27,6)
Kültür alındığı anda hastanede yatış günü	Ayaktan	12(20,7)
	20 gün ve daha az	26(44,8)
	20 günden fazla	20(34,5)
Diabetes mellitus	Var	23(39,7)
	Yok	35(60,3)
Nörolojik Hastalık	Var	19(32,8)
	Yok	39(67,2)
İskemik Kalp Hastalığı	Var	13(22,4)
	Yok	45(77,6)
Kronik Böbrek Hastalığı	Var	8(13,8)
	Yok	50(86,2)
Solid Tümör	Var	6(10,3)
	Yok	52(89,7)
1 ay içerisinde cerrahi	Var	9(15,5)
	Yok	49(84,5)
Daha önce herhangi bir antimikrobiyal kullanımı	Var	54(93,1)
	Yok	4(6,9)
Kültürde saf koloni üremesi	Var	21(36,2)
	Yok	37(63,8)

Etken grupta yer alan hastalarda ortalama yaş 64.52; kontaminasyon-kolonizasyon grubunda yer alan hastalarda 60.48 olarak bulundu.

Etken grupta yer alanların kültür alındığı anda ortalama yatış günü 28,17; kontaminasyon-kolonizasyon grubunda yer alan hastaların kültür alındığı anda hastanede yatış günü ortalaması 15,86'dır. (Tablo 2)

Tablo 2. Grupların yaş ve hastanede yatış günü dağılımı

	Etken		Kontaminasyon-kolonizasyon	
	Min-Maks	Ort±ss	Min-Maks	Ort±ss
Yaş	36-83	64,52±13,65	31-86	60,48±14,39
Kültür alındığı anda hastanede yatış günü	0-150	28,17±36,72	0-114	15,86±24,06

#### 4.2. GRUPLARIN DEMOGRAFİK VE KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Hastalardan 60 yaş ve altında olanların %60'ı kontaminasyon-kolonizasyon grubunda yer almakta; 60 yaş üzerinde olanların çoğunluğu %57,6'sı etken grubunda yer almaktadır. Ancak yaş ile etken kabul edilme arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,289).

Erkeklerin çoğunluğu (%54,8) etken grubunda yer almakta; kadınların çoğunluğu (%62,5) kontaminasyon-kolonizasyon grubunda yer almaktadır. Ancak cinsiyet ile etken kabul edilme arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,378).

Kültür alındığı anda 20 gün ve daha kısa süreli hastanede yatanların %57,7'si ve 20 günden uzun süreli yatanların %60'ı etken olan grupta yer alırken, poliklinik hastalarının %83,3'ü kontaminasyon/kolonizasyon grubunda yer almıştır. Kültür alındığı andaki hastanede yatma süresi ile etken kabul edilme arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,034). Kültür alındığı anda hastanede yatmamış olan yani poliklinik hastalarından izole edilen *C. striatum* suşlarının kontaminasyon/kolonizasyon olarak kabul edilmesi istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,034).

Diabetes mellitus olanların %65,2'si kontaminasyon-kolonizasyon grubunda yer alırken olmayanların %60,0'ı etken grubunda yer almaktadır. Ancak diabetes mellitus olan hastaların kontaminasyon-kolonizasyon olarak kabul edilmesi istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,107).

Nörolojik hastalığı olanların %73,7'si etken grubunda yer alırken olmayanların %61,5'i kontaminasyon-kolonizasyon grubunda yer almaktadır. Nörolojik hastalığı olma durumu ile etken kabul edilme arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,025).

İskemik kalp hastalığı olanların %61,5'i etken grubunda yer alırken olmayanların %53,3'ü kontaminasyon-kolonizasyon grubunda yer almaktadır. İskemik kalp hastalığı olma durumu ile etken kabul edilme arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p=0,529$ ).

Kronik böbrek hastalığı olanların %75'i etken grubunda yer alırken olmayanların %54'ü kontaminasyon-kolonizasyon grubunda yer almaktadır. Kronik böbrek hastalığı olma durumu ile etken kabul edilme arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p=0,253$ ).

Solid tümörü olanların %66,7'si etken grubunda yer alırken olmayanların %51,9'u kontaminasyon-kolonizasyon grubunda yer almaktadır. Solid tümörü olma durumu ile etken kabul edilme arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p=0,666$ ).

Bir ay içerisinde geçirilmiş cerrahi öyküsü olanlarda etken olma oranı %55,6 iken cerrahi öyküsü olmayanlarda bu oran %49 olarak bulunmuştur. Bir ay içerisinde geçirilmiş cerrahi öyküsü ile etken kabul edilme arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p=0,717$ ).

Daha önce herhangi bir antimikrobiyal kullanımı olanların %51,9'u etken grubunda yer almakta iken olmayanlarda bu oran %25 olarak bulunmuştur. Daha önce herhangi bir antimikrobiyal kullanımı ile etken kabul edilme arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p=0,3$ ).

Kültürde saf koloni üremesi olanların %81'i etken grubunda yer alırken olmayanlarda bu oran %32,4 olarak bulunmuştur. Kültürde saf koloni üremesi olan hastaların etken kabul edilme durumu istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,001$ ). (Tablo 3)

Tablo 3. Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon grupları arasında demografik ve klinik özelliklerin karşılaştırılması

		Etken	Kontaminasyon- kolonizasyon	p
		n (%)	n (%)	
Yaş	60 yaş ve altı	10(40)	15(60)	0,289
	60 yaş üstü	19(57,6)	14(42,4)	
Cinsiyet	Erkek	23(54,8)	19(45,2)	0,378
	Kadın	6(37,5)	10(62,5)	
Kültür alındığı anda hastanede yatış günü	Yatmamış	2(16,7)	10(83,3)	0,034*
	20 gün ve daha az	15(57,7)	11(42,3)	
	20 günden fazla	12(60)	8(40)	
Diabetes mellitus	Var	8(34,8)	15(65,2)	0,107
	Yok	21(60)	14(40)	
Nörolojik Hastalık	Var	14(73,7)	5(26,3)	0,025*
	Yok	15(38,5)	24(61,5)	
İskemik Kalp Hastalığı	Var	8(61,5)	5(38,5)	0,529
	Yok	21(46,7)	24(53,3)	
Kronik Böbrek Hastalığı	Var	6(75)	2(25)	0,253
	Yok	23(46)	27(54)	
Solid Tümör	Var	4(66,7)	2(33,3)	0,666
	Yok	25(48,1)	27(51,9)	
1 ay içerisinde cerrahi	Var	5(55,6)	4(44,4)	0,717
	Yok	24(49)	25(51)	
Daha önce herhangi bir antimikrobiyal kullanımı	Var	28(51,9)	26(48,1)	0,300
	Yok	1(25)	3(75)	
Kültürde saf koloni üremesi	Var	17(81)	4(19)	0,001*
	Yok	12(32,4)	25(67,6)	

\*p<0,05 anlamlı ilişki var, p>0,05 anlamlı ilişki yok ; Kikare testi

Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon gruplarından seçilen klinik örneklerin materyal türü Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon gruplarından seçilen klinik örneklerin materyal türü

Materyal türü	Etken	Kontaminasyon-kolonizasyon	Toplam
Yara	9	14	23
Trakeal aspirat	15	8	23
Balgam	3	3	6
Kan	1	2	3
Abse	1	1	2
İdrar	0	1	1
Toplam	29	29	58

#### 4.3. İZOLATLARIN BİYOFİLM ÜRETİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmaya dahil edilen 58 *C. striatum* suşunun ortalama OD değerleri hesaplandı, bunlardan 36 (%62,1)'sının ortalama OD değeri OD<sub>c</sub>'den büyüktü ve biyofilm oluşumu var olarak değerlendirildi. Biyofilm oluşumu olan izolatların 23 (%63,9)'ü etken grubunda yer almaktadır. Biyofilm oluşumu ile etken grupta olma arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,015). (Tablo 4)

Tablo 5. Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon grupları arasında biyofilm oluşumunun karşılaştırılması

		Etken	Kontaminasyon-kolonizasyon	p
		n (%)	n (%)	
Biyofilm oluşumu	Var	23(63,9)	13(36,1)	0,015*
	Yok	6(27,3)	16(72,7)	

#### 4.4. İZOLATLARIN ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTLERİ

Çalışmaya dahil edilen 26 *C. striatum* izolatından 23'ünde çoklu ilaç direnci saptanmıştır. Tüm izolatlar vankomisine ve linezolide duyarlı olarak bulunmuştur. Yirmi altı izolattan üçü penisiline duyarlı, biri siprofloksasine duyarlı, üçü gentamisine duyarlı, üçü klindamisine duyarlı olarak bulunmuştur.

Etken kabul edilen gruptan 13 izolatın 12'sinde çoklu ilaç direnci gösterilmiştir. Bir izolat ise penisilin, gentamisin, vankomisin ve linezolidde duyarlı; siprofloksasin ve klindamisine dirençli ve ÇİD değildir. Bu izolat dermatoloji polikliniğinden başvuran bir hastanın yara kültüründen üretilmiştir.

Kontaminasyon-kolonizasyon olarak kabul edilen gruptan 13 izolatın 11'i çoklu ilaca dirençli olarak bulunmuştur. Bir izolat penisilin, gentamisin, vankomisin, klindamisin, linezolidde duyarlı, siprofloksasine dirençli; bir izolat test edilen tüm antimikrobiyallere duyarlı bulunmuştur.

Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon kabul edilen izolatların antimikrobiyal ajanlara duyarlılıkları Tablo 6'da verilmiştir.

Etken olarak kabul edilen izolatların MİK değerleri Tablo 7'da verilmiştir.

Kontaminasyon-kolonizasyon olarak kabul edilen izolatların MİK değerleri Tablo 8'de verilmiştir.

Tablo 6. Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon kabul edilen izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları

	Etken n(%)	Kontaminasyon-kolonizasyon n(%)
Penisilin	1 (%7)	2 (%15)
Siprofloksasin	0 (%0)	1 (%7)
Gentamisin	1 (%7)	2 (%15)
Vankomisin	13 (%100)	13 (%100)
Klindamisin	1 (%7)	2 (%15)
Linezolid	13 (%100)	13 (%100)
Toplam	13	13

Tablo 7. Etken olarak kabul edilen izolatların MİK değerleri

Örnek numarası	Penisilin	Siprofloksasin	Gentamisin	Vankomisin	Klindamisin	Linezolid
1	32	>32	4	0,5	>256	0,25
2	32	>32	4	0,5	>256	0,25
3	32	>32	16	0,5	>256	0,12
4	16	>32	4	0,5	>256	0,12
5	64	>32	>256	1	>256	0,25
6	0,06	2	0,06	1	>256	0,25
7	>256	>32	16	1	>256	0,25
8	>256	>32	16	1	>256	0,25
9	>256	>32	32	1	>256	0,25
10	>256	>32	8	1	>256	0,25
11	16	>32	8	1	>256	0,25
12	>256	>32	16	0,5	>256	0,25
13	16	>32	8	0,5	0,5	0,25

Tablo 8. Kontaminasyon-kolonizasyon olarak kabul edilen izolatların MİK değerleri

Örnek numarası	Penisilin	Siprofloksasin	Gentamisin	Vankomisin	Klindamisin	Linezolid
1	>256	>32	8	0,5	>256	0,25
2	32	>32	4	0,5	>256	0,25
3	0,06	>32	0,06	0,5	0,25	0,5
4	>256	>32	8	1	>256	0,25
5	>256	>32	4	1	>256	0,25
6	>256	>32	16	1	>256	0,25
7	>256	>32	16	0,5	>256	0,25
8	32	>32	8	0,5	>256	0,25
9	0,12	0,25	0,06	0,5	0,25	0,25
10	>256	>32	16	0,5	>256	0,25
11	>256	>32	8	0,5	>256	0,25
12	>256	>32	16	0,5	>256	0,25
13	>256	>32	16	0,5	>256	0,12

#### 4.5. PULSED-FIELD GEL ELECTROPHORESIS (PFGE) SONUÇLARI

Çalışmaya dahil edilen 58 suş üzerinde PFGE yöntemi gerçekleştirilmiş ve 20 farklı PFGE grubu tanımlanmıştır. Bunlardan 8'i yalnızca birer suş içermektedir. Kalan 12 grup ise küme oluşturan suşları içermekte olup küme genişliği 2-13 arasında değişmektedir. Kümeleşme oranı %89,6 olarak saptanmıştır. PFGE profilleri arasındaki benzerlik oranı  $\geq$ %85 olarak ele alındığında; 58 suşun 8'i özgül

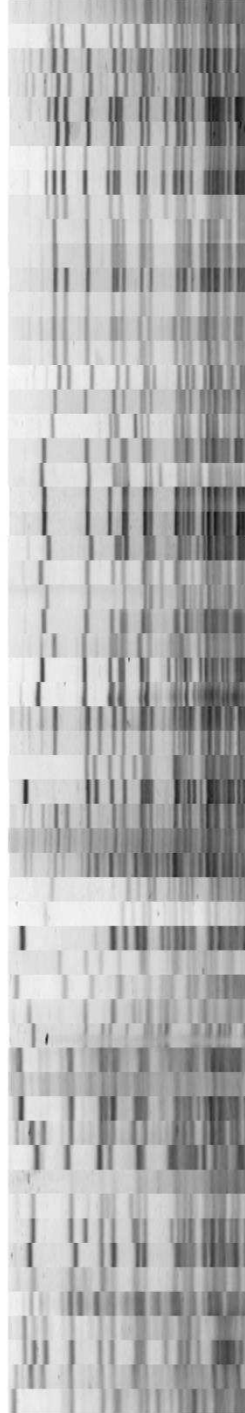
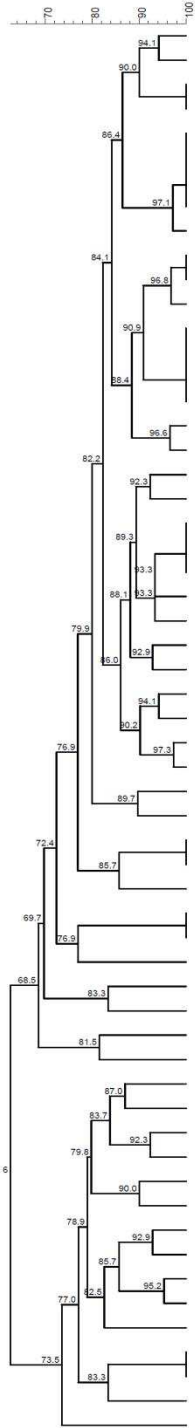
profil gösterirken, kalan 50 suş epidemiyolojik olarak ilişkili olan 12 grup içinde sınıflandırılmıştır.

Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon gruplarında PFGE dağılımının benzer olduğu gösterildi. Bu iki gruptaki hastaların belirli bir PFGE grubunda yoğunlaşmadığı ve gruplara homojen dağıldığı gözlemlendi. Aynı PFGE gruplarında hem etken gruptaki izolatların hem de kontaminasyon/kolonizasyon grubundaki izolatların bulunduğunu gördük (Tablo 8).

Tüm izolatların PFGE bant profilleri ve grup dağılımı Şekil 1’de verilmiştir.

Tablo 9. Etken ve kontaminasyon-kolonizasyon izolatlarının PFGE gruplarında dağılımı

<b>Grup</b>	<b>Etken</b>	<b>Kontaminasyon-kolonizasyon</b>	<b>Toplam</b>
1	5	4	9
2	5	4	9
3	7	6	13
4	1	1	2
5	1	2	3
6	2	0	2
7	0	1	1
8	0	1	1
9	0	1	1
10	1	0	1
11	0	1	1
12	1	1	2
13	1	1	2
14	2	0	2
15	2	0	2
16	0	2	2
17	0	1	1
18	1	1	2
19	0	1	1
20	0	1	1
<b>Toplam</b>	<b>29</b>	<b>29</b>	<b>58</b>



Örnek türü	Servis/Poliklinik	Etken/Değil	PFGE Grup
Yara	Servis	Etken	1
Yara	Poliklinik	Etken değil	1
Balgam	Yoğun Bakım	Etken değil	1
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	1
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	1
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken değil	1
Balgam	Yoğun Bakım	Etken	1
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	1
Kan	Servis	Etken değil	1
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	2
Abse	Yoğun Bakım	Etken değil	2
Yara	Servis	Etken	2
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken değil	2
Abse	Servis	Etken	2
Yara	Servis	Etken değil	2
Yara	Poliklinik	Etken değil	2
Yara	Servis	Etken	2
Yara	Servis	Etken	2
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken değil	3
Yara	Poliklinik	Etken değil	3
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	3
T.Aspirat	Servis	Etken	3
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	3
Yara	Yoğun Bakım	Etken	3
Yara	Servis	Etken değil	3
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken değil	3
Yara	Yoğun Bakım	Etken değil	3
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	3
T.Aspirat	Servis	Etken	3
Kan	Servis	Etken değil	3
Kan	Yoğun Bakım	Etken	3
Yara	Poliklinik	Etken değil	4
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	4
Yara	Poliklinik	Etken değil	5
Yara	Servis	Etken değil	5
Balgam	Yoğun Bakım	Etken	5
Yara	Poliklinik	Etken	6
Yara	Servis	Etken	6
Yara	Poliklinik	Etken değil	7
İdrar	Servis	Etken değil	8
Yara	Poliklinik	Etken değil	9
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	10
Yara	Poliklinik	Etken değil	11
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	12
Balgam	Servis	Etken değil	12
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken değil	13
Yara	Yoğun Bakım	Etken	13
Yara	Poliklinik	Etken	14
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	14
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	15
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken	15
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken değil	16
Balgam	Yoğun Bakım	Etken değil	16
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken değil	17
Balgam	Yoğun Bakım	Etken	18
T.Aspirat	Yoğun Bakım	Etken değil	18
Yara	Poliklinik	Etken değil	19
Yara	Servis	Etken değil	20

Şekil 1. Tüm izolatların PFGE bant profilleri ve grup dağılımları

## 5. TARTIŞMA

*C. striatum* klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık izole edilen korineform bakteri türlerinden biridir. İnsanların normal cilt ve mukoz membran florasında bulunduğu için bu bakterilerin klinik örneklerden izolasyonu genellikle kontaminasyon olarak kabul edilir. Ancak son yıllarda *C. striatum*'un pnömoni, endokardit, septisemi, menenjit, osteomyelit, artrit, sinüzit, yara enfeksiyonları, intrauterin enfeksiyonlar gibi çeşitli klinik enfeksiyonlara ve salgınlara yol açtığı rapor edilmiştir [5,21].

Diğer birçok çoklu ilaç direnci (ÇİD) gösteren non-difteroid *Corynebacterium* türünde olduğu gibi, *Corynebacterium striatum* da nozokomiyal enfeksiyonların bir patojeni olarak artan sıklıkla bildirilmiştir. Başka bir predispozan faktör bulunmayan bir poliklinik hastasında komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonunda *C. striatum* izolasyonu ilk kez yakın zamanda bildirilmiştir [16]. *C. striatum*'un neden olduğu salgınlar uzun süre hastanede yatan, geniş spektrumlu antimikrobiallere uzun süre maruz kalan hastalarda ve yoğun bakım ünitelerinde bildirilmiştir [17].

İlk çalışmalar *C. striatum* izolatlarının  $\beta$ -laktamlar, tetrasiklin ve florokinolonlar dahil olmak üzere birçok antimikrobiyal ilaca sıklıkla duyarlı olduğunu tespit ederken, son yıllarda yapılan çalışmalarda artan çoklu ilaç direnci gösterilmiştir [15].

Bizim çalışmamızda klinik örneklerinde *C. striatum* üreyen hastaları muayene ve takip eden klinisyenle iletişime geçilerek klinik örnekte üreyen *C. striatum* izolatının etken veya kontaminasyon/kolonizasyondan hangisi kabul edildiği öğrenilmiştir. Etken kabul edilen gruptan 29 hasta, kontaminasyon veya kolonizasyon kabul edilen gruptan 29 hasta rastgele seçilerek toplam 58 hasta ve bunlardan izole edilen 58 *C. striatum* suşu incelenmiştir.

Çalışmamızda incelenen hastaların demografik ve klinik özelliklerine hastane veritabanı incelenerek ulaşılmıştır. Çalışmamızda *C. striatum*'un etken olarak değerlendirilen grupta yaş ortalaması 64,52 iken, kontaminasyon/kolonizasyon olarak değerlendirilen grupta 60,48 olduğu görülmüştür. Erkeklerin çoğunluğunun (%54,8) etken grupta olduğu görülmüştür. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı bir fark görülmemiştir.

Çalışmamızda hastaların kültür alındığı sırada hastanede yatış durumları incelendiğinde poliklinik hastalarının kontaminasyon/kolonizasyon grubunda bulunması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,034).

Çalışmamızda hastaların komorbiditelerine baktığımızda tüm diabetes mellitus hastalarının %65,2'sinin kontaminasyon veya kolonizasyon grubunda bulunduğu görülmüştür ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bunun sebebi olarak diabetes mellitusa bağlı kronik yarası olan hastalardan alınan kültürlerde üreyen *C. striatum* izolatlarının klinisyen tarafından çoğunlukla kontaminasyon/kolonizasyon olarak değerlendirilmesi olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda nörolojik hastalığı olan tüm hastaların %73,7'sinin etken grupta olduğu görülmüştür ve nörolojik hastalığı olan hastaların klinik örneklerinde *C. striatum* üremesinin etken kabul edilmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (0,025). Nörolojik hastalığı olan hastaların hastanede yatış süresi uzun, öz bakımı azalmış, immünitesi zayıflamış düşkün hastalar olmasının *C. striatum* enfeksiyonlarına yatkın olmalarını sağladığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda iskemik kalp hastalığı olan hastaların %65,5'inin, kronik böbrek hastalığı olan hastaların %75'inin, solid tümörü olan hastaların %66,7'sinin etken grupta olduğu görülmüştür. Bu hastalıkların varlığı ile *C. striatum* üremesinin etken olarak değerlendirilmesi anlamlı olarak ilişkili değildir.

Çalışmamızda incelenen hastalardan son bir ay içerisinde cerrahi geçirmiş olanların %55,6'sının etken grupta olduğu görülmüş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda incelenen hastalardan daha önce antimikrobiyal kullanımı olan hastaların %51,9'unun etken grupta olduğu görülmüştür. Çalışmamızda incelenen 59 hastanın sadece 4'ünde daha önce antimikrobiyal kullanımı olmadığı görülmüştür. Hem etken hem kontaminasyon veya kolonizasyon grubundaki hastaların çoğunluğunun daha önce antimikrobiyal kullanma öyküsü bulunmaktadır. Daha önce herhangi bir antimikrobiyal kullanımı olması ile etken grupta olma arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Kang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kan kültürlerinde *C. striatum* üreyen hastalar incelenmiştir. Hastalar tek pozitif kan kültüründe *C. striatum* üreyen hastalar ve çoklu pozitif kan kültürlerinde *C. striatum* üreyen hastalar olarak iki

gruba ayrılmıştır. *C. striatum*'un tek pozitif kan kültüründe üretildiği hastalarda kontaminasyon, çoklu pozitif kan kültüründe üretildiği hastalarda gerçek bakteriyemi etkeni olduğu düşünülmüştür. Çalışmaya alınan hastaların yaş ortalaması gerçek bakteriyemi olduğu düşünülen hastalarda bizim çalışmamıza benzer şekilde daha yüksektir. Bu çalışmada erkek hastaların dağılımı bizim çalışmamızdan farklı olarak kontaminasyon olan grupta daha fazladır. Ancak yine bizim çalışmamızda olduğu gibi yaş ve cinsiyet gruplar arasında anlamlı değildir. Bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak gerçek bakteriyemi olan hastalarda diabetes mellitus ve solid tümör prevalansı kontaminasyon olan hastalardan anlamlı olarak fazla bulunmuştur. Bizim çalışmamıza benzer şekilde iskemik kalp hastalığı, kronik böbrek hastalığı, son bir ay içerisinde cerrahi öyküsü gruplar arasında anlamlı bulunmamıştır. Bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak daha önce antimikrobiyal kullanma öyküsü gerçek bakteriyemi olan grupta anlamlı olarak fazla çıkmıştır [5]. Bizim çalışmamızda daha önce antimikrobiyal kullanma öyküsü olan hastaların hem etken grubunda hem kontaminasyon-kolonizasyon grubunda oldukça fazla olduğu görülmüş ve gruplar arasında fark bulunmamıştır. Bunun sebebinin ülkemizde ampirik antimikrobiyal tedavisinin sıklıkla kullanılması olduğunu düşünmekteyiz.

Jin Woong Suh ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada klinik örneklerinde *C. striatum* üreyen hastaları antibiyotik tedavisi alan ve sadece klinik gözlem yapılan hastalar olarak iki grupta incelemişlerdir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde gruplar arasında yaş, cinsiyet açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. Bizim çalışmamızdan farklı olarak çalışmada gruplar arasında kardiyovasküler sistem hastalıkları, santral sinir sistemi hastalıkları, renal, hepatik, respiratuvar sistem hastalıkları, hematolojik hastalıklar, malignansi, transplantasyon ve diabetes mellitus açısından da anlamlı bir fark görülmemiştir. Gruplar arasında toplum kaynaklı enfeksiyon ve hastane kaynaklı enfeksiyon olması açısından da anlamlı bir fark görülmemiştir [18].

Çalışmamızda incelenen klinik örneklerden saf koloni *C. striatum* üreyen örneklerin %81'inin etken grupta olduğu görülmüştür. Kültürde saf koloni üremesi olan örneklerde *C. striatum*'un etken olarak kabul edilmesi anlamlı bulunmuştur (p=0,001).

Funke ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada korineform bakterilerin tür düzeyinde tanımlanmasının güç olduğunu ancak kültürde saf veya predominant üreme varsa tür düzeyinde tanımlamanın gerekliliğini bildirmişlerdir [12].

Tanrıverdi ve arkadaşlarının ülkemizde yaptığı bir çalışmada ise abse, balgam, trakeal aspirat, idrar ve yarada saf veya baskın üremesi olan izolatlar etken olarak kabul edilip çalışmaya alınmıştır [16].

Çalışmamızda 58 *C. striatum* suşunun biyofilm oluşumu negatif yüklü polistren yüzeylerde 96 kuyucuklu mikrotitre plaklarında belirlendi. Etken kabul edilen suşların %63,9'unda, kontaminasyon veya kolonizasyon kabul edilen suşların %36,1'inde biyofilm oluşumunun varlığı belirlendi. Etken gruptaki suşlarda biyofilm oluşumu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,015$ ).

De Souza ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada Rio de Janeiro'da bir nozokomiyal salgın sırasında izole edilen dört farklı PFGE tipini temsil eden *C. striatum* suşlarının in vitro biyofilm oluşum kapasitelerini araştırmışlardır. Çalışmada yoğun bakım servisi veya cerrahi servislerde yatan ve endotrakeal entübasyonu olan hastalardan nozokomiyal salgın sırasında ÇİD olan PFGE tip I ve II *C. striatum* ağırlıklı olarak izole edilmiştir. Bu PFGE tiplerinin klinik izolatlarının, poliüretan (pozitif yüklü) kateter yüzeyleri dahil olmak üzere hidrofilik (cam; pozitif yüklü) ve hidrofobik (polistiren; negatif yüklü) abiyotik yüzeylerde daha fazla biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olduğunu görmüşlerdir [21].

Bizim çalışmamıza benzer şekilde Kang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada çoklu pozitif kan kültürü olan hastalardan izole edilen *C. striatum* izolatları tek pozitif kan kültürü veya kan dışı örnekleri olan hastalardan elde edilen izolatlarla karşılaştırıldığında daha fazla biyofilm üretimi olduğunu görmüşlerdir [5].

Çalışmamıza aldığımız 58 izolattan 26'sına antimikrobiyal duyarlılık testi çalışılmıştır. Bunların 23'ü ÇİD olarak bulunmuştur. Etken olarak düşünülen ve kontaminasyon veya kolonizasyon olarak düşünülen suşların antimikrobiyal duyarlılıkları arasında bir fark görülmemiştir. Her iki grupta da ÇİD yüksek oranda görülmektedir. Tüm suşlar vankomisin ve linezolide duyarlı bulunmuştur.

Bizim çalışmamıza benzer şekilde Hahn ve arkadaşları yaptıkları çalışmada poliklinik ortamında anlamlı olmadığı düşünülen izolatlarda bile ÇİD suşların yaygın olduğunu göstermişlerdir. *C. striatum*'un bu dirençli suşlarının nozokomiyal basınç

altında ortaya çıkmadığı ve toplumda dolaşmakta olduğu hipotezini ortaya atmışlardır. Bununla birlikte ÇİD *C. striatum* suşlarının ekolojik nişini belirlemek için daha fazla çalışma yapılması gerekliliğini vurgulamışlardır [15].

Kang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, çoklu pozitif kan kültüründe üreyen ve tek pozitif kan kültüründe üreyen *C. striatum* suşlarının hepsinin vankomisin, linezolid ve daptomisine duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Çoğu suşun penisilin, sefotaksim, klindamisin, eritromisin ve levofloksasine yüksek düzey dirençli olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamıza benzer şekilde çoklu pozitif kan kültürlerinde üreyen suşlarla tek pozitif kan kültüründe üreyen suşlar arasında antimikrobiyal duyarlılık yönünden anlamlı bir fark olmadığını görmüşlerdir [5].

Jin Woong Suh ve arkadaşları yaptıkları çalışmada çalışmaya aldıkları tüm suşların eritromisin, vankomisin, linezolid ve daptomisine duyarlı olduğunu görmüşlerdir. Ancak çoğu suşun penisilin, ampisilin, sefotaksim ve levofloksasine orta-yüksek düzey dirençli olduğunu görmüşlerdir. Tüm suşların ÇİD olduğunu görmüşlerdir. ÇİD izolatların sıklığında tedavi alan ve gözlem yapılan gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermişlerdir.

Çalışmamıza aldığımız 58 suş için klonal analiz PFGE ile çalışılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre klinik örneklerden izole ettiğimiz suşların tek bir kaynaktan yayılmadığını gördük. Ayrıca etken kabul edilen suşlar ile kontaminasyon veya kolonizasyon olarak düşünülen suşların PFGE paternlerinde bir fark olmadığını gördük. Aynı PFGE paternindeki izolatların hem enfeksiyon etkeni hem kontaminasyon veya kolonizasyon olarak kabul edilebilmesi, enfeksiyon oluşumunda asıl önemli olan faktörlerin hastaya özgül değişkenler ve bakteriye ait virulans faktörleri olduğunu düşündürmektedir.

Kang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada multilocus sequence typing (MLST) yöntemini kullanarak çalışmaya aldıkları tüm *C. striatum* suşlarını sekanslamışlardır. Toplam 64 *C. striatum* suşu için dört gen kullanarak 19 farklı sekans tipi (ST) tanımlamışlardır. Çoklu pozitif kan kültürleri olan hastalardan izole edilen *C. striatum* suşları arasında 12 ST tanımlamışlar ve en sık olanın ST20 olduğu görülürken, tek pozitif kan kültürü olan hastalardan izole edilen *C. striatum* suşları arasında yine 12 farklı ST tanımlamışlar ve en sık olanın ST2 olduğunu

görmüşlerdir. Pozitif kan kültürü seti sayısı ve sekans tipi arasında herhangi bir ilişki olmadığını görmüşlerdir [5].

Alibi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 63 *C. striatum* suşunda 22 farklı PFGE paterni görülmüştür. PFGE paternleri ile antimikrobiyal direnç profilleri arasında ilişki kurulamamıştır. En yaygın PFGE paternlerinin (E ve A) temel olarak ÇİD izolatlarını içerdikleri görülmüştür [7].



## 6. SONUÇLAR

Çalışmamızda klinik örneklerden izole edilen etken kabul edilen ve kontaminasyon veya kolonizasyon olarak düşünülen iki ayrı grupta *C. striatum* suşları incelenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde iki hasta grubunda demografik özellikler açısından fark görülmemiştir. Komorbiditelerine baktığımızda nörolojik hastalığı olanların etken grubunda daha fazla bulunması anlamlı olarak değerlendirilse de daha önce yapılan çalışmalarda böyle bir ilişki görülmemiştir. Poliklinik hastalarından izole edilen suşların daha çok kontaminasyon veya kolonizasyon kabul edildiği gözlemlendi. Kültürde saf koloni ürettiğinde karışık üreme olmasına göre daha çok etken kabul edildiği gözlemlendi. Bu bulgularımız daha önce yapılan çalışmalar ile uyumluydu.

Çalışmamızda antimikrobiyal duyarlılık testlerinde her iki grupta da yaygın ÇİD olduğu gözlemlendi. Son zamanlarda yapılan çalışmalar bizim çalışmamızla uyumlu olarak *C. striatum*'da artan direnci göstermektedir.

Çalışmamızda her iki grupta da biyofilm üretimi gösterilmiştir. Ancak etken grupta biyofilm üretiminin anlamlı olarak fazla olduğu gözlemlendi.

Çalışmamızda suşların çok farklı PFGE paternleri gösterdiği ve klonal olarak birbiriyle ilişkili olmadığı gözlemlendi.

Sonuç olarak, *C. striatum*'un klinik değerlendirmesinde hastaların demografik özellikleri ve komorbiditelerinin yol gösterici olmadığı gözlemlendi. Ancak yatan hastalarda poliklinik hastalarına göre *C. striatum*'un daha fazla enfeksiyon etkeni olarak düşünüldüğü gözlemlendi. Ayrıca kültürde saf koloni üremesinin de klinisyen açısından daha anlamlı olduğu gözlemlendi. *C. striatum* suşlarında yaygın ÇİD olduğu gözlemlendi. Virülans faktörü olarak biyofilm üretiminin yaygın olduğu gözlemlendi. Çalışmamızın artan *C. striatum* enfeksiyonlarına yaklaşım, artan direnç ve virülans faktörlerine dikkat çekmek açısından katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Daisuke U, Oishi T, Yamane K, Terada K. *Corynebacterium striatum* Bacteremia Associated with a Catheter-Related Blood Stream Infection. *Case Rep Infect Dis.* 2017;2017:2682149.
2. Sierra JM, Martinez-Martinez L, Vázquez F, Giralt E, Vila J. Relationship between mutations in the *gyrA* gene and quinolone resistance in clinical isolates of *Corynebacterium striatum* and *Corynebacterium amycolatum*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(5):1714–1719.
3. Martinez-Martinez L, Suarez A, Rodriguez-Bano J, Bernard K, Muniain MA. Clinical significance of *Corynebacterium striatum* isolated from human samples. *Clin Microbiol Infect.* 1997;3(6):634-639.
4. Brandenburg AH, van Belkum A, van Pelt C, Bruining HA, Mouton JW, Verbrugh HA. Patient-to-patient spread of a single strain of *Corynebacterium striatum* causing infections in a surgical intensive care unit. *J Clin Microbiol.* 1996;34(9):2089-94.
5. Kang SJ, Choi SM, Choi JA, et al. Factors affecting the clinical relevance of *Corynebacterium striatum* isolated from blood cultures. *PLoS One.* 2018;13(6):e0199454.
6. Navas J, Fernández-Martínez M, Salas C, Cano ME, Martínez-Martínez L. Susceptibility to Aminoglycosides and Distribution of *aph* and *aac(3)-XI* Genes among *Corynebacterium striatum* Clinical Isolates. *PLoS One.* 2016;11(12):e0167856.
7. Alibi S, Ferjani A, Boukadida J, et al. Occurrence of *Corynebacterium striatum* as an emerging antibiotic-resistant nosocomial pathogen in a Tunisian hospital. *Sci Rep.* 2017;7(1):9704.
8. Severo CB, Guazzelli LS, Barra MB, Hochhegger B, Severo LC. Multiple pulmonary nodules caused by *Corynebacterium striatum* in an immunocompetent patient. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2014;56(1):89–91.
9. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Çev. Ed. Başusatoğlu A, Us AD. *Tıbbi Mikrobiyoloji. Corynebacterium ve Diğer Gram-Pozitif Basiller.* 7. Baskı. Elsevier. Ankara: Pelikan Yayıncılık. 2016;222-227.

10. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. *Corynebacterium* Species. 7. Edition. Wolters Kluwer Health. 2017;1284-1312.
11. Mumcuoğlu İ, Hazırolan G, Kurşun Ş, Aksu N. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde artan sıklıkta izole edilen *Corynebacterium striatum* izolatlarının değerlendirilmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg.* 2015;72(4):281-8.
12. Funke G, von Graevenitz A, Clarridge III JE, Bernard KA. Clinical Microbiology of Coryneform Bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10(1):125–159.
13. Song SA, Shin JH. Microbiological Characteristics of *Corynebacterium striatum*, an Emerging Pathogen. *Hanyang Med Rev* 2018;38(2):93-98.
14. Verroken A, Bauraing C, Deplano A, Bogaerts P, Huang D, Wauters G, et al. Epidemiological investigation of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* at one Belgian university hospital. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(1):44-50.
15. Hahn WO, Werth BJ, Butler-Wu SM, Rakita RM. Multidrug-Resistant *Corynebacterium striatum* Associated with Increased Use of Parenteral Antimicrobial Drugs. *Emerg Infect Dis.* 2016;22(11):1908–1914.
16. Çaycı YT, Korkmaz F, Birinci A. Hastanemizde 2014-2017 Yıllarında Üreyen *Corynebacterium* İzolatlarının Değerlendirilmesi. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2017;3(2):6-8.
17. Baio PV, Mota HF, Freitas AD, Gomes DL, Ramos JN, Sant'Anna LO, et al. Clonal multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* within a nosocomial environment, Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013;108(1):23-9.
18. Suh JW, Ju Y, Lee CK, Sohn JW, Kim MJ, Yoon YK. Molecular epidemiology and clinical significance of *Corynebacterium striatum* isolated from clinical specimens. *Infect Drug Resist.* 2019;12:161–171.
19. Nudel K, Zhao X, Basu S, Dong X, Hoffmann M, Feldgarden M, et al. Genomics of *Corynebacterium striatum*, an emerging multidrug-resistant pathogen of immunocompromised patients. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24(9):1016.e7-1016.e13
20. Ramos JN, Rodrigues IDS, Baio PVP, Veras JFC, Ramos RTJ, Pacheco LG, et al. Genome sequence of a multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* isolated from

- bloodstream infection from a nosocomial outbreak in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2018 Jul 10;113(9):e180051.
21. Souza Cd, Faria YV, Sant'Anna Lde O, Viana VG, Seabra SH, Souza MC, et al. Biofilm production by multiresistant *Corynebacterium striatum* associated with nosocomial outbreak. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110(2):242-8.
  22. Yanai M, Ogasawasa M, Hayashi Y, Suzuki K, Takahashi H, Satomura A. Retrospective evaluation of the clinical characteristics associated with *Corynebacterium* species bacteremia. *Braz J Infect Dis*. 2018;22(1):24-29.
  23. Hassan A, Usman J, Kaleem F, Omair M, Khalid A, Iqbal M. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz J Infect Dis*. 2011;15(4):305-11.
  24. Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic-Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods*. 2000;40(2):175-9.
  25. Chen FL, Hsueh PR, Teng SO, Ou TY, Lee WS. *Corynebacterium striatum* bacteremia associated with central venous catheter infection. *J Microbiol Immunol Infect*. 2012;45(3):255-8.
  26. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 8.0.
  27. Stepanovic S, Vukovic D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukic S, Cirkovic I, et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. 2007;115(8):891-9.
  28. Garcia-Crespo D, Navas J, Gradillas G, Juste RA. Technical note: molecular typing of *Corynebacterium bovis* isolates by pulsed-field gel electrophoresis. *J Dairy Sci*. 2005;88(5):1705-7.
  29. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. Molecular Typing Working Group of the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1997;18(6):426-39.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

### Bireysel bilgiler

Adı, soyadı : Fatma Öcalan  
Doğum yeri ve tarihi :  
Uyruğu : T.C.  
Medeni durumu : Evli  
İletişim adresi ve telefonu : Ankara Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji  
Kliniği  
E-mail :  
Yabancı dili : İngilizce

### Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

Ankara Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği (2019-2020)  
Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği  
(2016-2019)  
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi (2009-2015)  
Adana Fen Lisesi (2005-2009)

### Mesleki deneyim

Pratisyen hekim, Reşadiye Toplum Sağlığı Merkezi (2015-2016)  
Asistan doktor, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi  
Mikrobiyoloji Kliniği (2016-2019 ), Ankara Şehir Hastanesi Tıbbi  
Mikrobiyoloji Kliniği (2019-2020)

## 9. EKLER

### Ek 1. TEZ ONAYI FORMU

#### SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

#### TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

#### TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

Tıpta uzmanlık öğrencimizin kimlik bilgileri, tez danışmanı, planlanan tez hakkındaki bilgiler aşağıda/ekte sunulmuştur.

Tez konusunun akademik kurulda onaylanmasını arz ederim.

Program yöneticisi/Eğitim sorumlusu

Doç. Dr. Altan Aksoy

<b>Uzmanlık Öğrencisinin Adı Soyadı: Telefon: E-Posta:</b>	<b>Fatma Öcalan</b>
<b>Uzmanlık Dalı:</b>	<b>Tıbbi Mikrobiyoloji</b>
<b>Eğitim Kurumu:</b>	<b>Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi</b>
<b>Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi:</b>	<b>17.02.2016</b>
<b>Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi:</b>	<b>17.02.2020</b>
<b>Program Yöneticisinin Adı Soyadı:</b>	<b>Doç. Dr. Altan Aksoy</b>
<b>Tez Danışmanının Adı Soyadı: Telefon: E-Posta:</b>	<b>Doç. Dr. İpek Mumcuoğlu</b>

\*Araştırma/Tez Konusu (Study Title)

Bu tezde, *Corynebacterium striatum* enfeksiyonlarına yol açan risk faktörlerinin belirlenmesi, antibiyotik duyarlılıklarının ve klonal benzerliklerinin araştırılması, etken ve kontaminant olarak değerlendirilen suşlarda virulans faktörlerinin karşılaştırılması, amaçlanmıştır.

Son yıllarda otomatize tanımlama sistemlerinin kullanımındaki artışa bağlı olarak daha önce coryneform bakteri olarak tanımlanan grupta tür düzeyinde tanımlamalar kolaylaşmıştır. Bunun sonucunda *C.striatum* suşlarının diğer türlerden çok daha sık izole edildiği izlenmiştir. *C.striatum* deri ve muköz membranların normal florasında yaygın şekilde bulunur. Bu nedenle klinik örneklerden izolasyonu genellikle kontaminasyon olarak kabul edilir. Ancak son yıllarda, *C. striatum*'a bağlı pnömoni, endokardit, septisemi, artrit, menenjit gibi klinik enfeksiyonlar ve hastane salgınları artan sıklıkta bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında *C.striatum* enfeksiyonlarının risk faktörlerini belirlemek amacıyla; hastanın altta yatan hastalıkları, antibiyotik kullanımı, hastanede yatış süresi, vb belirlenecektir. Antibiyotik duyarlılıkları gradient test ile değerlendirilecek ve suşların benzerliklerini göstermek amacıyla klonal analiz yapılacaktır. Ayrıca, kolonizasyon veya kontaminasyon ayırımı yapılmış bakterilerin virulans faktörü olarak biyofilm üretme kabiliyeti, değerlendirilecektir.

#### 1-Araştırma Sorusu /Soruları (Research problem)

*Corynebacterium striatum* enfeksiyonlarında risk faktörleri nelerdir?

Bu suşların antimikrobiyal direnci nasıldır?

Farklı kaynaklardan izole edilen suşların klonal benzerlikleri nedir?

Etken ve kontaminant olarak değerlendirilen suşlarda biyofilm üretiminde farklılık var mıdır?

#### 2-Arka Plan ve Gerekçe (Background/rationale)

Son yıllarda yapılan çalışmalarda *C.striatum* türlerine bağlı pnömoni, endokardit, septisemi, artrit, menenjit enfeksiyonları ve özellikle yoğun bakım ünitelerinde salgınlar artan sıklıkta bildirilmektedir. Halen sıklıkla kontaminant kabul edilen bu bakterilerin enfeksiyonlarının göz ardı edilmesini engellemek bu çalışmanın gerekçesidir.

#### 3-Araştırma amacı (Objectives)

Bu araştırmanın amacı *Corynebacterium striatum* enfeksiyonlarına yol açan risk faktörlerini belirlemek, bu suşların antibiyotik duyarlılıklarını ve klonal benzerliklerini araştırmak, etken ve kontaminant olarak değerlendirilen suşlarda virulans faktörlerini karşılaştırmaktır.

#### 4-Hipotez (Hypothesis)

*C.striatum* enfeksiyonları; artan antibiyotik kullanımı , altta yatan hastalıklar ve benzeri risk faktörleri nedeniyle, giderek artan sıklıkta enfeksiyonlara neden olmaktadır. Etken olarak seğerlendirilen suşlar oldukça dirençlidir, biyofilm üretimi daha fazladır. ve benzer kökenlerdir.

#### 5-Araştırma türü/tasarım (Study Design)

Deneysel, analitik ve prospektif araştırmadır.

#### 6- Araştırma yeri (Study Setting/ Location)

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi

#### 7- Araştırmaya katılanlar/denekler (Study Population)

<p>Araştırmaya Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi klinik ve polikliniklerinden gönderilen örneklerde üretilen tüm <i>C. striatum</i> suşları dahil edilecektir.</p>
<p>8- Araştırmanın birincil sonuç değişkenleri (Primary and Secondary Outcome)</p> <p>Hastaya ait risk faktörleri, Suşların virulans faktörleri, Antibiyotik duyarlılık sonuçları, Klonal analiz sonuçları</p>
<p>9- Araştırma Süreçleri (Study procedures)</p> <p>İlk 3 aylık süreçte suşlar toplanacak, eş zamanlı olarak etken/kontaminant ayırmaları yapılacak, hasta bilgileri kaydedilecek, risk faktörleri belirlenecektir. Sonraki 3 aylık süreçte, antibiyotik duyarlılıkları, klonal analizleri ve virulans çalışmaları yapılacaktır.</p>
<p>10- Örnek büyüklüğü ve istatistiksel güç (Sample size and statistical power)</p> <p>İstatistik birimiyle yapılan çalışmada, minimum olarak, 40 adet etken ve 40 adet kontaminant olmak üzere 80 izolatin toplanması hedeflenmiştir.</p>
<p>11- İstatistiksel yöntemler (Statistical methods)</p> <p>Elde edilen veriler IBM SPSS istatistik paket programı kullanılarak bilgisayara girilecek ve analiz edilecektir. Çalışmada frekans ve yüzde dağılımları değerlendirilecektir.</p> <p>İki değişkenli analizlerde gruplar arasındaki farkın istatistiksel yönden anlamlılığı ki kare veya Fisher's exact test ile değerlendirilecektir. Verilerin analizinde anlamlılık düzeyi <math>p \leq 0,05</math> olarak kabul edilecektir.</p>
<p>12- Etik Öngörü (Ethical Considerations)</p> <p>Hastalardan enfeksiyon tanısına yönelik olarak gönderilen örneklerden izole edilen mikroorganizmalar çalışılacaktır. Hastaya hiçbir invaziv ya da ekstra işlem uygulanmayacaktır. Çalışmamız denek araştırma etik kuralları ile çelişmemektedir.</p>
<p>13- Anahtar kelimeler (Key words)</p> <p><i>Corynebacterium striatum</i>, biyofilm, antimikrobiyal direnç, klonal analiz, risk faktörleri</p>

