

# Yoğun Bakım Hastalarının Trakeal Aspirasyon Örneklerinden İzole Edilen *Corynebacterium striatum* Suşları(\*)

Çağrı ERGİN(\*\*), İlknur KALELİ(\*\*), Simay SERİN(\*\*\*), Nural CEVAHİR(\*\*), Melek DEMİR(\*\*), Hüseyin TURGUT(\*\*\*\*\*)

(\*) XXX.Türk Mikrobiyoloji Kongresi (Antalya 2002) 'de sunulmuştur.

(\*\*) Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli

(\*\*\*) Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anestezi/Reanimasyon Anabilim Dalı, Denizli

(\*\*\*\*) Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Denizli

## ÖZET

Korineform bakteriler genellikle yoğun bakımlarda hastalar arasında yayılan infeksiyon etkenlerindedir. İnsanda nazofarenks ve cilt florası üyesi bakterilerden kabul edilmekle birlikte antibiyotiklere dirençli olmaları ve bu direnç özelliğini başka Gram pozitif bakterilere aktarabilmeleri nedeniyle önemlidirler. Bu çalışmada, altı aylık sürede üniversite hastanesi yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edilen *Corynebacterium striatum* suşları incelenmiştir. Eritromisin ve klindamisine karşı direnç, fenotipik olarak benzer üç bakteri arasında saptanmış, aminoglikozid ve siprofloksasine direnci belirlenmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Yoğun bakım, *Corynebacterium striatum*, antibiyotiklere duyarlılık

## SUMMARY

*Corynebacterium striatum* Strains Isolated from Tracheal Aspirate Specimens obtained from Patients in Intensive Care Unit

Coryneform bacteria are the infectious agents which usually spread by patient-to-patient transmission in intensive care units. That is considered to be an avirulent member of human nasopharyngeal and skin flora bacteria however coryneform bacteria have critical role in transmission of antibacterial resistance among gram positive bacteria. In this report, isolated *Corynebacterium striatum* strains in six months period from tracheal aspiration specimens of patients in tracheal aspiration specimens of patients in university hospital intensive care unit were evaluated. Erythromycin and clindamycin resistance were detected in three phenotypic similar strains, no resistance to aminoglycoside and ciprofloxacin was observed.

Key Words: Intensive Care Unit, *Corynebacterium striatum*, antibiotic susceptibility

## GİRİŞ

Korineform bakteriler; infeksiyona predispozisyon yaratan hastalıkların artması ile birlikte hasta örneklerinden daha sık izole edilmeye başlanmışlardır. Rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında korineform bakterileri tanımlama imkanlarının artması bu bakteriler ile bildirilen infeksiyonların daha sık rapor edilmelerine neden olmuştur. Yoğunlukla difteroid olarak adlandırılan korineform bakteriler genellikle cilt ve müköz membranların normal florasında bulunurlar (1,2). Yaptıkları fırsatçı infeksiyonların genellikle endojen kaynaklı olduğu şeklinde önyargı bu-

lunmaktadır. Ancak *Corynebacterium striatum*'un da *Corynebacterium jeikeium* gibi özellikle yoğun bakım ünitelerinde çalışan personel ile hastadan hastaya aktarıldığı moleküler çalışmalar ile gösterilmiş ve hastane infeksiyonu etkeni olarak kabul edilmiştir (3). Bu çalışmada hastanemiz yoğun bakım ünitesindeki hastalardan alınarak gönderilen trakeal aspirasyon örneklerinden üretilen *Corynebacterium striatum* suşları ve bu suşların biyokimyasal özellikleri ile antibiyotiklere duyarlılıkları incelenmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Pamukkale Üniversitesi Araştırma ve Uygulama has-

tanesi reanimasyon yoğun bakım ünitesindeki iki hastaya ait trakeal aspirasyon örneklerinden saf kültür olarak *Corynebacterium striatum* izole edilmesi üzerine Kasım 2001 tarihinden itibaren aynı bölümden gönderilen örneklerden üreyen *Corynebacterium striatum* suşları prospektif olarak takibe alınmıştır. Mikrobiyolojik tanımlama Gram boyama, katalaz varlığı, hareket testi, üreaz aktivitesi, eskülin hidrolizi, lipotrofizm varlığı, oksidasyon ve fermentasyon testleri yardımı ile Hollis ve Weaver tarafından belirtilen tanımlama şemasından modifiye edilen von Graevenitz ve Funke'nin tanımlama tablosu kullanılarak yapılmıştır (4). BBL Crystal GramPositive Panel ise, tanımlamada yardımcı veriler elde etmek amacıyla kullanılmıştır(5).

Antimikrobiyal maddelere duyarlılıkları %5 koyun kanı ilave edilmiş Mueller Hinton agar besiyerlerinde dilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Eritromisin, tetrasiklin, doksisisiklin, gentamisin, amikasin, klindamisin, siprofloksasinin 0.03 ile 256 mg/ml arasında ikişer kat artan dilüsyonları ayarlanmış ve inokulum olarak mL'de  $10^5$  bakteri kullanılmış, besiyerleri aerobik ortamda 24 saat 37°C'da inkübe edilmiştir. Göz ile görülen üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon o antibiyotik için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Yoğun bakım ünitesinden Kasım 2001-Haziran 2002 tarihleri arasında gönderilen 205 trakeal aspirasyon

örneğinin altısından (%2.9) *Corynebacterium striatum* izole edilmiştir. İzolasyonların yapıldığı hastalar en az bir ay süre ile yoğun bakımda yatan hastalardır. Bu hastalardan ikisinde *Corynebacterium striatum* saf kültür olarak elde edilmiştir (Tablo 1). Suşlardan üçünün eritromisin için MİK değeri  $\leq 0.3$  mg/ml, bir suşun 0.06 mg/ml, iki suşun ise 8 mg/ml olarak belirlenmiştir. Klindamisin için suşlardan ikisinde MİK değeri  $\geq 256$  mg/ml, dördünün ise  $\leq 0.03$  mg/ml'dir. Siproflaksasin için suşlardan ikisinde MİK değerinin 0.06 mg/ml, dördünün ise  $\leq 0.03$  mg/ml olduğu saptanmıştır. Tetrasiklin, doksisisilin, amikasin ve gentamisin için tüm izolatların MİK değerleri  $\leq 0.03$  µg/ml olarak belirlenmiştir. Hastaların aldıkları geniş spektrumlu antibiyotik tedavilerinde herhangi bir değişim yapılmamıştır.

İzole edilen suşların biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri, antibiyotiklere duyarlılık özellikleri ile birlikte SPSS Ver8.0 bilgisayar programı ile incelenmiş, 4, 5 ve 6 no'lu izolatların aynı suş olabileceği (farklılık oranı  $<0.05$ ) düşünülmüştür. Bu üç izolatın hepsinin en son izole edilen suşlar olduğu ve 15 gün süre içinde izole edildiği belirlenmiştir.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

*Corynebacterium striatum* yoğun bakımlarda hastalar arasında yayılma eğilimi gösteren korineform bir bakteridir. Diğer infeksiyöz etkenlerce oluşturulan infeksiyonlara göre korinebakteri infeksiyonları yay-

Tablo 1. *Corynebacterium striatum* suşlarının izole edildiği hastalara ait kültür özellikleri

Suş No	Hasta özelliği	Kültür şekli
1	Politravma – 3 aydır yoğun bakımda	Saf kültür
2	Politravma – 1 aydır yoğun bakımda	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ile birlikte
3	Politravma – 2 aydır yoğun bakımda	Saf kültür
4	KOAH+SVH – 15 gündür yoğun bakımda	<i>Staphylococcus aureus</i> ile birlikte
5	Multiple skleroz – 6 aydır kesintili yoğun bakımda	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ile birlikte
6	KOAH+Kalp Yetmezliği – 1 aydır yoğun bakımda	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ile birlikte

KOAH:Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı  
SVH:Serebro Vasküler Hastalık

gın olmamakla birlikte çoğunlukla immünsistemi bozulmuş veya protezli hasta gruplarında ortaya çıkmaktadır (1, 2). Genel olarak korineform bakterilerin izolasyonu ve tanımlanmasındaki çekingenlik bu bakteriler ile meydana gelen infeksiyonlar için sağlıklı verilere ulaşmayı engellemektedir. Geniş spektrumlu antibiyotik alan yoğun bakım hastaları, organ nakil hastaları, sürekli granülositopenik hastalar ve uzun süre hastanede kalan hastalarda bu bakteriler ile meydana gelen infeksiyonlar daha sık görülmektedir. Lipofilik korinebakteri türleri (örneğin *C.jejikeum*) yetişkin ve erkekler hastalardan daha sık kültürden izole edilirler. Nonlipofilik türlerden *C.striatum* ise normal florada sıklıkla burun ön kanatları iç yüzünden, alından ve yanaklardan izole edilmektedirler (7,8).

Korineform bakterilerin tanımlanması laboratuvarında çalışan personele ve teknik ekipman yeterliliğine bağlıdır (1). Kontaminasyondan ve kolonizasyondan ayrılabilen infeksiyon etkeni şüpheli korineformların tanımlanması için en sık kullanılan yöntem Hollis-Weaver ve von Graevenitz-Funke tanımlama şemalarıdır (4). Ancak bu şemaların ortak olan zorlukları önerilen testlerin rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kolaylıkla yapılamamalarıdır. Bu nedenle ticari olarak satılan tanımlama kitleri kullanılabilir ve önerilmektedir. Ancak bu ticari kitlerin pahalı olmaları, bazı testlerin zamanla ve stoklama ile bozulabilmeleri, el ile tekrar ve tek olarak test edilememeleri ve korineform bakterilerin taksonomisindeki hızlı değişime uyum zorlukları önemli dezavantajlarıdır (1,4). Sunulan çalışmada kullanılan BBL-Crystal tanımlama panelinde temel testlerin (fermentasyon, üre ve eskülin hidrolizi vb) yanısıra 4-metilyum belliferon veya 7-amino-4-metil kumarin bileşikler kullanılmaktadır. Bu bileşikler bakterinin enzimatik aktivitesi ile hidrolize olarak floresan verirler. Bu tanımlama yönteminde en önemli sorun substratın spontan hidrolizine bağlı yanlış pozitif değerlendirmedir. Bu ve buna benzer florijen testlerin konvansiyonel yöntemler ile birlikte değerlendirilmesinin gerektiği belirtilmektedir (9). von Graevenitz ve Funke çalışmalarında korineform bakteri tanımlamada ilk aşamanın katalaz varlığı, hareket testi, oksidasyon ve fermentasyon özellikleri olması gerektiğini belirtmektedir (4). Korineform bakterilerin

kesin tanısı hücre duvar lipid analizi ve nükleik materyal G+C oranının saptanması ile yapılmaktadır (1).

Korineform bakteriler yoğun bakım gibi sürekli bakım gerektiren hastane ortamlarında personel aracılığı ile yayılan bakterilerdir (3). Bu nedenle hastane infeksiyon takip programlarında zaman zaman rastlanmakta ancak taşıdığı düşük infeksiyöz potansiyel ve nadir antibiyotik direnci bulunması nedeni ile önemsenmemektedir. *C.striatum*'un antibiyotik duyarlılıklarını bildiren çok sayıda çalışmada  $\beta$ -laktam antibiyotiklere dirençli olma-dıkları görülmektedir. Siprofloksasin, eritromisin, rifampin ve tetrasikline direnç bildirilmiştir (8,10-15). Bu durum uzun süre geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi alan hastalarda dirençli bakterilerin kolonizasyonu oluşturması şeklindeki kurama göre açıklanmaktadır (1). Ancak *C.striatum*'un bulunduğu cilt florası özellikle Gram pozitif bakteriler arasındaki antibiyotik direnci ile ilgili genetik madde aktarımı için uygun bir alandır.

*C.striatum* suşlarının aynı yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar arasında görevli personel ile hastalardan hastalara yayıldığı gösterilmiştir (3). Çalışmamızda izole edilen suşların en az üçünün aynı köken olabileceği düşünülmüştür. Aynı köken olduğu düşünülen bu izolatların 15 günlük süre içinde izole edilmesi de bunu desteklemektedir. Bu izolatlar arasındaki yakınlık antibiyotiklere duyarlılık özelliklerinde de görülmektedir. Son zamanlarda *C.striatum*, *C.jejikeum* ve bazı korineform bakteri türlerinde özellikle makrolid direncini taşıyan ve yayılmasında rol aldığı saptanan transpozon Tn5432 varlığı gösterilmiştir (16,17). Bu transpozon alıılmamış ve açıklanamayan direnç varlığında özellikle Gram pozitif flora bakterilerinin bulunduğu ortamlarda makrolid direncinin ortaya çıkması nedenlerinden kabul edilmektedir. Hastalarımızdan izole etmiş olduğumuz suşlar arasında aynı kabul ettiğimiz iki suşta da makrolid direnci bu yönden ilgi çekicidir. Bu suşlara en yakın suş olan 4 no'lu suş ise klindamisine karşı dirençli ve eritromisine karşı yüksek MİK değerine sahiptir. Bu suşun biyokimyasal ve fizyolojik karakterleri ile benzerlik bulunduğu gözönüne alındığında, saptanan MİK değerlerine göre makrolid-linkozamid-streptogramin B grubu direnç varlığı düşünülebilir. Bu tip direnç kimyasal yapıları farklı olan bu

antibiyotiklerin ribozomda yakın bağlanma noktalarında meydana gelen hedef değişikliği ile oluşmaktadır. Bundaki en büyük neden direnç genlerinin flora bakterileri arasında yayılmasıdır. Bu nedenle kolay izole edilebilen hastane kökenli korineform bakterilerin taşıdıkları ve aktara-bilecekleri direnç genlerinin varlığının MİK saptanması gibi nispeten kolay ve ucuz yöntemler ile taranması, mümkünse saptanması ve hastane ilaç kullanım protokollerinde bu özelliklerin gözönünde bulundurulmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz.

#### KAYNAKLAR

1. Funke G, vonGraevenitz A, Clarridge III JE, Bernard KA: Clinical microbiology of coryneform bacteria. Clin Microbiol Rev 10: 125 (1997).
2. Martinez-Martinez L, Suarez AI, Rodriguez-Bano J, Bernard K, Muniain MA: Clinical significance of Corynebacterium striatum isolated from human samples. Clin Microbiol Infect 3: 634 (1997).
3. Leonard RB, Nowowiejski DJ, Warren JJ, Finn DJ, Coyle MB: Molecular evidence of person-to-person transmission of a pigmented strain of Corynebacterium striatum in intensive care units. J Clin Microbiol 32: 164 (1994).
4. von Graevenitz A, Funke G: An identification scheme for rapidly and aerobically growing Gram-positive rods. Zentralbl Bacteriol 284: 246 (1996).
5. BBL Crystal Identification Systems Gram-Positive ID Kit 88-0970-1. Revised July 1999 (1999).
6. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 2nd Ed. Villanova, Pennsylvania. Approved Standard, M7-A2 (1990).
7. Coyle MB, Lipsky BA: Coryneform bacteria in infectious diseases: Clinical and laboratory aspects. Clin Microbiol Rev 3: 227 (1990).
8. Watkins DA, Chahine A, Creger RJ, Jacobs MR, Lazarus HM: Corynebacterium striatum: A diptheroid with pathogenic potential. Clin Infect Dis 17: 21 (1993).
9. Kämpfer P: Differentiation of Corynebacterium spp., Listeria spp., and related organisms by using fluorogenic substrates. J Clin Microbiol 30: 1067 (1992).
10. Martinez-Martinez L, Suarez AI, Winstanley J, Ortega MC, Bernard K: Phenotypic characteristics of 31 strains of Corynebacterium striatum isolated from clinical samples. J Clin Microbiol 33: 2458 (1995).
11. Balcı İ, Ekşi F, Bayram A: Coryneform bacteria isolated from blood cultures and their antibiotic susceptibilities. J Int Med Res 30: 422 (2002).
12. Martinez-Martinez L, Joyanes P, Suarez AI, Perea EJ. Activities of gemifloxacin and other antimicrobial agents against Listeria monocytogenes and coryneform bacteria isolated from clinical specimens. Antimicrob Agents Chemother 45: 2390 (2001).
13. Roberts MC, Leonard RB, Briselden R, Schoenkecht FD, Coyle MB: Characterization of antibiotic resistant Corynebacterium striatum strains. J Antimicrob Chemother. 30: 463 (1992).
14. Soriano F, Zapardiel J, Nieto E: Antimicrobial susceptibilities of Corynebacterium species and other non-spore-forming gram-positive bacilli to 18 antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother. 39: 208-214 (1995).
15. Soriano F, Fernandez-Roblas R, Calvo R, Garcia-Calvo G: In vitro susceptibilities of aerobic and facultative non-spore-forming gram-positive bacilli to HMR 3647 (RU 66647) and 14 other antimicrobials. Antimicrob Agents Chemother. 42: 1028 (1998).
16. Ross JL, Eady EA, Carnegie E, Cove JH: Detection of transposon Tn5432-mediated macrolide-lincosamide-streptogramin B (MLSB) resistance in cutaneous propionibacteria from six European cities. J Antimicrob Chemother 49: 165 (2002).
17. Rosato AE, Lee BS, Nash KA: Inducible macrolide resistance in Corynebacterium jeikeium. Antimicrob Agents Chemother 45: 1982 (2001).