



T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
CORYNEBACTERIUM TÜRLERİNDE BİYOFİLM
OLUŞUMUNUN, ANTİ-QUORUM SENSİNG AKTİVİTESİNİN
VE ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ DURUMUNUN
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
BANU HÜMEYRA KESKİN

DÜZCE-2023



T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
CORYNEBACTERIUM TÜRLERİNDE BİYOFİLM
OLUŞUMUNUN, ANTİ-QUORUM SENSİNG AKTİVİTESİNİN
VE ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ DURUMUNUN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. BANU HÜMEYRA KESKİN
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Prof. Dr. İDRİS ŞAHİN
TEZ DANIŞMANI

DÜZCE-2023

ÖNSÖZ

Tıp fakültesi ikinci sınıfta mikrobiyoloji dersleri ile başlayan, benim gibi birçok kişinin mikrobiyolojiyi sevmesinde ve seçmesinde büyük katkısı olan, derslerini severek dinlediğim, Tıpta Uzmanlık Sınavı'na çalışırken, uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmamda bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren ve ilham veren, yoğun çalışma temposuna rağmen tezimle ilgili her konuda ve her ihtiyacım olduğunda bana ilgiyle zaman ayıran, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. İdris ŞAHİN'e,

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, her zaman destek olan, hayatın her alanında nasihat ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, en ufak sıkıntımızda bile her zaman yanımda olan, bizleri bir baba gibi koruyup kollayan değerli hocam Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Şükrü ÖKSÜZ'e,

Tıp fakültesinde mikrobiyoloji dersleriyle tanıyıp çok sevdiğim, eğitim hayatım boyunca emeğini, bilgisini ve desteğini benimle ilgiyle ve sevgiyle paylaşan, eğitimci kişiliği ve akademik katkılarıyla beni teşvik eden, bizlere her konuda anne şefkati ile yaklaşan değerli hocam sayın Prof. Dr. C. Elif ÖZTÜRK'e,

Uzmanlık eğitimim süresince her konuda bilgi ve tecrübesiyle bana destek olan, sadece mikrobiyoloji değil akademik çalışmalarla ilgili konularda da birçok şey öğrendiğim, iyi niyeti ve sevgisiyle hep yanımda olan, çalışma disiplini örnek aldığım, tezimin istatistiksel değerlendirmesinde emeği geçen değerli hocam sayın Doç. Dr. Emel ÇALIŞKAN'a,

Tez çalışmalarım boyunca bilgi, tecrübe ve desteklerini esirgemeyen, içtenlikle yardımcı olan sayın Doç Dr. Görkem DÜLGER'e,

Asistanlığım süresince pek çok şey paylaştığım, sevgi, saygı ve huzur içinde birlikte çalıştığım, tezimin her aşamasında bana destek olan, tüm değerli asistan, biyolog, laborant ve bölümümüzde görev yapan çalışma arkadaşlarıma,

Beni yetiştirip bu günlere getiren, yaşadığım zorluklarda, aldığım tüm kararlarda daima yanımda olan, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, sabır ve sevgileriyle beni yüreklendiren annem Emine KESKİN, babam Kemal KESKİN, kardeşim Handan KESKİN ve dayım Emin AYMAZ' a çok teşekkür ederim.

ÖZET

Korinebakteriler için son on yılda artan sayıda çeşitli klinik enfeksiyonlar bildirilmiştir. Çalışmamızda izolatlar kültürdeki üreme şekline göre gruplara ayrılarak saf olarak üremeyen korinebakterilerin patojenik potansiyeli hakkında fikir sahibi olunabileceği düşünülmüştür.

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve İstanbul Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Haziran 2021 ile Haziran 2022 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 240 adet *Corynebacterium spp.* izolatu kültürdeki üreme şekillerine göre saf, başka bir etken ile birlikte ve polimikrobiyal olarak üç grupta sınıflandırıldı. Antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon ve vankomisin için sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile belirlendi. İzolatların biyofilm oluşumları kantitatif olarak belirlendi. Güçlü biyofilm yapan 17 izolatın biyoaktif bileşen ekstraksiyonu yapıp agar difüzyon yöntemi ile anti-quorum sensing aktivitesine bakılmış sonrasında viyolasin pigment üretimi kantitatif olarak ölçüldü.

Çalışmaya alınan 240 adet *Corynebacterium spp.* izolatının; 138'i (%58) saf, 52'si (%22) etken ile birlikte ve 50'si (%20) polimikrobiyal grupta yer almıştır. İzolatların 140'ı *C. striatum*, 34'ü *C. amycolatum*, 24'ü *C. afermentans* olarak tanımlanmıştır.

Corynebacterium izolatlarının antibiyotik direnç oranları gruplara göre incelendiğinde rifampisin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı direnç oranı polimikrobiyal grupta diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olarak saptanmıştır. İzolatlarda penisilin, klindamisin, siprofloksasin, moksifloksasin, rifampisin, tetrasiklin ve linezolid karşı sırasıyla; %96,7, %88,3, %86,3, %73,8, %62,5, %59,2 ve %0,8 oranında direnç görülmüştür. Tüm izolatlar vankomisine karşı duyarlı iken iki adet *C. afermentans* izolatında linezolid direnci görülmüştür.

Biyofilm oluşturma kapasiteleri incelendiğinde 87 (%36,3) izolat biyofilm oluşturmıştır. Polimikrobiyal gruptaki izolatların biyofilm oluşturma oranı diğer iki gruptan daha düşük oranda bulunmuştur. Biyofilm oluşturma kapasitelerine göre güçlü biyofilm oluşturan 17 adet izolatın anti-quorum sensing aktivitesine bakılmış, hiç bir *Corynebacterium* ekstraktının anti-quorum sensing aktivitesi bulunmamışken beş adet izolat ekstraktının antimikrobiyal etkisi görülmüştür. Antimikrobiyal etki gözlenen bakteri ekstraktlarının dört tanesi *C. amycolatum* bir tanesi ise *C. afermentans* 'a ait olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak hem antibiyotik direnç oranlarına hem de biyofilm oluşturma oranlarına bakıldığında kültürde etken ile birlikte üreyen korinebakterilerin saf kültür olarak üreyen korinebakteriler ile benzer özellikler gösterdiği, ayrıca korinebakterilerin antimikrobiyal

etkilerinin olması nedeniyle bu etkinin flora bakterilerini baskılayarak virulansını artırmada mı yoksa patojen bakterileri baskılayarak enfeksiyon oluşumunu önlemede mi rolünün olduğunun belirlenmesi için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, biyofilm, korinebakteri, quorum sensing.



ABSTRACT

An increasing number of various clinical infections for *Corynebacterium* have been reported in the last decade. In our study, it was thought that by dividing the isolates into groups according to the reproduction type in culture, it was thought that an idea about the pathogenic potential of *Corynebacterium* that did not grow purely could be obtained.

240 *Corynebacterium spp.* isolates isolated from various clinical specimens sent to Düzce University Faculty of Medicine Hospital and İstanbul Başakşehir Çam and Sakura City Hospital Medical Microbiology Laboratory between June 2021 and June 2022 were classified into three groups as pure, combined with another agent and polymicrobial according to their growth patterns in culture. Antibiotic susceptibility was determined by disc diffusion and liquid microdilution methods for vancomycin. The biofilm formation of the isolates was determined quantitatively. Bioactive component extraction of 17 strong biofilm-forming isolates was performed and anti-quorum sensing activity was checked by agar diffusion method, and then violacin pigment production was measured quantitatively.

Of the 240 *Corynebacterium spp.* isolates included in the study; 58% were pure, 22% were in combination with another agent and 20% were in the polymicrobial group. Of the isolates, 140 were identified as *C. striatum*, 34 as *C. amycolatum*, and 24 as *C. afermentans*.

When the antibiotic resistance rates of *Corynebacterium* isolates were examined according to the groups, the resistance rate against rifampicin and tetracycline antibiotics was found to be statistically significantly lower in the polymicrobial group compared to the other groups. In isolates, against penicillin, clindamycin, ciprofloxacin, moxifloxacin, rifampicin, tetracycline and linezolid, respectively; resistance rates were %96.7, 88.3%, 86.3%, 73.8%, 62.5%, 59.2% and 0.8%. While all isolates were susceptible to vancomycin, linezolid resistance was observed in two *C. afermentans* isolates.

When their biofilm forming capacities were examined, 87 (36.3%) isolates formed biofilm. The biofilm formation rate of the isolates in the polymicrobial group was found to be lower than the other two groups. According to their biofilm forming capacities, the anti-quorum sensing activity of 17 isolates that formed strong biofilms was examined, while none of the *Corynebacterium* extracts had anti-quorum sensing activity, the antimicrobial effect of five isolate extracts was observed. It was determined that four of the bacterial extracts with antimicrobial effect belonged to *C. amycolatum* and one of them belonged to *C. afermentans*.

As a result, when both antibiotic resistance rates and biofilm formation rates are considered, *Corynebacterium* grown together with the agent in culture show similar

characteristics to *Corynebacterium* grown as pure cultures, in addition, due to the antimicrobial effects of cornebacteria, further studies are required to determine whether this effect has a role in increasing the virulence by suppressing the flora bacteria or in preventing the formation of infection by suppressing the pathogenic bacteria.

Key Words: Antibiotic resistance, biofilm, *Corynebacterium*, quorum sensing.



Önsöz.....	i
Özet.....	ii
İngilizce Özet.....	iv
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	vii
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	2
2.1. Korinebakteriler.....	2
2.1.1. Taksonomi.....	2
2.1.2. Mikrobiyolojik, kültürel ve biyokimyasal özellikler.....	3
2.1.3. Virülans faktörleri.....	5
2.1.4. Antibiyotik duyarlılık testleri.....	6
2.1.5. Korinebakterilerin sınıflandırılması ve bazı türlerin özellikleri.....	6
2.2. Biyofilm.....	10
2.2.2. Yapısı.....	11
2.2.3. Oluşumu.....	11
2.2.4. Klinik önemi.....	13
2.2.5. Biyofilm ve quorum sensing.....	13
2.3. Quorum-Sensing.....	14
3. Gereç ve Yöntem.....	16
3.1. Antibiyotik Duyarlılığın Belirlenmesi.....	16
3.1.1. Besiyerlerinin hazırlanması.....	16
3.1.2. Vankomisin çözeltisinin hazırlanması.....	17
3.1.3. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılığın belirlenmesi.....	17
3.1.4. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile vankomisin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerinin belirlenmesi.....	18
3.2. Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi.....	19
3.3. Anti-Quorum Sensing Aktivitesinin Belirlenmesi.....	19
3.3.1. Bakteriyel biyoaktif bileşen ekstraksiyonu.....	19
3.3.2. Anti-quorum sensing aktivitesinin agar difüzyon yöntemi ile belirlenmesi.....	21
3.3.3. Viyolasin pigment üretiminin kantitatif olarak ölçülmesi.....	21
3.4. İstatistiksel Analiz.....	21
4. Bulgular.....	22
5. Tartışma.....	33
6. Sonuçlar.....	47
7. Kaynaklar.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

AGR :	Aksesuar gen regülatör
AHL :	Açıl homoserin lakton
AIP :	Oligopeptid sinyal molekülleri
AI-2 :	Otoindüktör-2
ATCC :	American Type Culture Collection
BAL :	Bronkoalveolar lavaj
β-NAD :	Nikotinamid 11 adenin dinükleotid
CAMP :	Christie-Atkins-Munch-Petersen
CLSI :	Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CFU :	Colony forming unit
DNA :	Deoksiribo nükleik asit
DMSO :	Dimetil sülfoksit
DTA :	Derin trakeal aspirat
ECM :	Ekstraselüler matriks
EPS :	Ekzopolisakkarit
EUCAST :	Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi
HCl :	Hidroklorik asit
LB :	Luria Bertani
MDR :	Çoklu ilaç dirençli
MH-F :	Mueller-Hinton Fastidious
MHB :	Mueller-Hinton sıvı besiyerinden
MİK :	Minimum inhibitör konsanstrasyon
MRSA :	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
OD :	Optik dansite
rRNA :	Ribozomal RNA
SVS :	Steril vücut sıvısı
QS :	Quorum-sensing

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Korinebakteriler; *Corynebacterium diphtheriae* ve non-difterial *Corynebacterium* olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Non-difterial *Corynebacterium* cilt ve mukoz membranların normal florasında bulunur. Bu bakteriler klinik örneklerden izole edildiğinde genellikle kontaminasyon ya da kolonizasyon olarak kabul edilirler. Bunun nedeni, insan deri ve mukoz membran florasının doğal üyesi olmalarıdır. Bununla birlikte son on yılda artan sayıda çeşitli klinik enfeksiyonlar bildirilmiştir. Bunlar hem immunsuprese hem immun sağlam kişilerde görülen sepsisemi, artritis, vertebral osteomyelitis, menenjit, endokarditis, meme absesi, peritonitis, yara enfeksiyonları, prostetik eklem enfeksiyonları gibi enfeksiyonlardır. Ayrıca tek bir *C. striatum* izolatının hastadan hastaya geçerek oluşturduğu salgınlar da bildirilmiştir (1–4).

İzole edildiğinde sıklıkla kontaminant olarak düşünülen korinebakterileri mikrobiyoloji laboratuvarlarında değerlendirmeye alırken her zaman klinisyen ile iletişim kurulamayabilir ve bunun sonucunda kültür özelliği, mikroskopik incelemeler ön plana çıkabilmektedir. Böyle durumlarda genelde kültürde saf ve baskın olarak üreyen izolatlar daha çok işleme alınmaktadır. Ancak başka bir etken olduğu düşünülen bakteri ile birlikte üreyen *Corynebacterium* izolatları sıklıkla kontaminant olarak düşünülüp işleme alınmamaktadır.

Çalışmamızda izolatlar kültürdeki üreme şekline göre saf, etken ile birlikte ve polimikrobiyal gruplara ayrılarak saf olarak üremeyen korinebakterilerin patojenik potansiyeli hakkında fikir sahibi olunabileceği düşünülmüş olup, izolatların antibiyotik direnç oranları, biyofilm oluşum kapasitelerini değerlendirmek ve anti-quorum sensing aktivitesini araştırmak amaçlanmıştır.

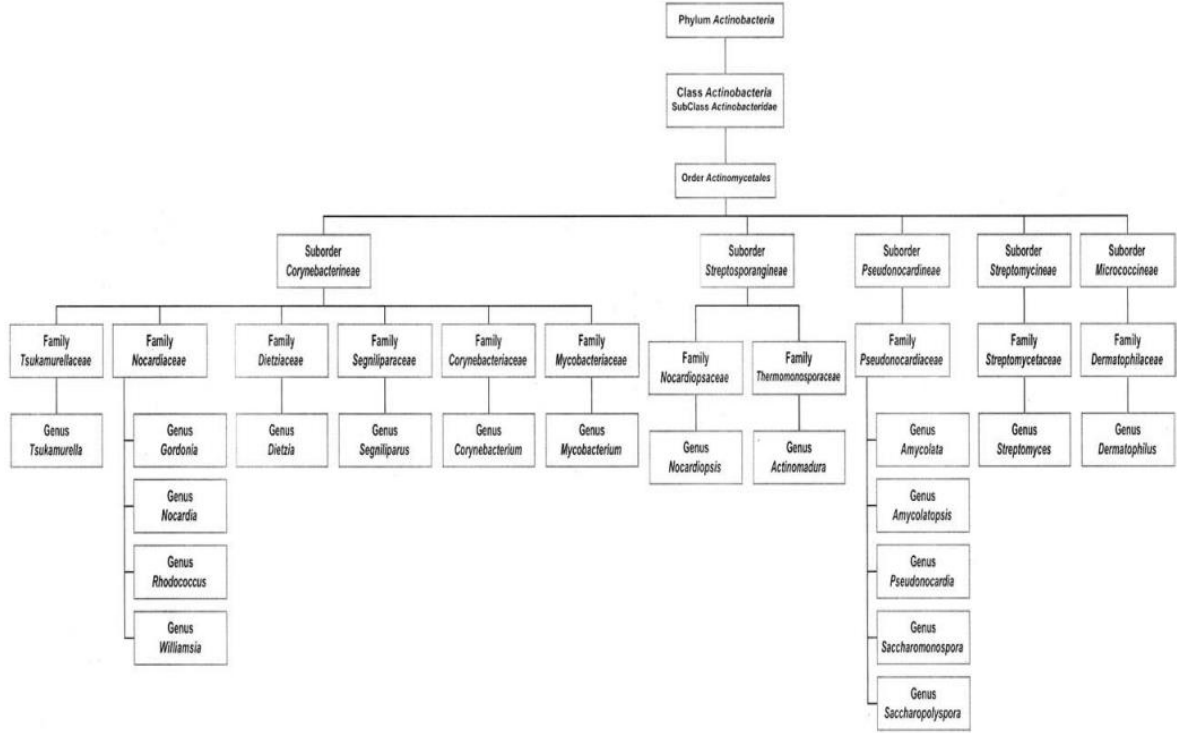
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Korinebakteriler

Corynebacterium 1896'da Lehmann ve Neumann tarafından bir cins olarak tanımlanmış ve adını yunanca "lobut" anlamına gelen koryne ve "küçük çubuk" anlamına gelen bacterion kelimesinden almıştır. Korineform bakteriler olarak da bilinen, korinebakterilerinkine benzer morfoloji gösteren bakteriler arasında *Corynebacterium*, *Arcanobacterium*, *Brevibacterium*, *Dermabacter*, *Microbacterium*, *Rothia*, *Turicella*, *Arthrobacter* ve *Oerskovia* cinsleri bulunur. Korineform bakteriler pleomorfiktir, yaşam döngüsünün çeşitli aşamalarında farklı biçimler gösterir, aerobik, spor oluşturmeyen ve aside dayanıklı olmayan düzensiz şekilli gram pozitif çubuklardır. Başlıca toprak ve suda olmak üzere saprofit olarak çevrede yaygın bir şekilde bulunurlar. İnsanların ve hayvanların deri ve mukoza zarlarında kolonize olan kommensallerdir. Hastanede tıbbi ekipman ve yüzeylerden izole edilebilirler. *C. diphtheriae* dışındaki korineform bakteriler, klinik örneklerde sıklıkla izole edilmiştir ve genellikle klinik önemi olmayan kontaminantlar olarak kabul edilmiştir. Özellikle hastanede yatan ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda nozokomiyal enfeksiyonun bir nedeni olarak, korineform bakterilerin patojenitesine dair artan sayıda kanıt vardır (4).

2.1.1. Taksonomi

Korineform bakterilerin taksonomisinde aminoasitler, şekerler, yağ asitleri ve mikolik asitler gibi hücre duvar bileşenleri yanında izoprenoid kinonlar, sitokromlar ve nükleik asitlerden de faydalanılmıştır (5). Taksonomide kullanılan son yaklaşım ise binden fazla nükleotidin dizilenmesine olanak sağlayan 16S rRNA dizi analizidir (6). *Corynebacterium* cinsinin hücre duvarı mezo-diaminopimerik asit ve arabinogalaktan yanında kısa zincirli mikolik asit, dihidrojene menokinonlar (8-9 izopren ünitesi) ve yaklaşık %51-%63 G+C (guanin+sitozin) aralığında DNA baz bileşimi ile karakterizedir (7). *Corynebacterium* cinsi, *Mycobacterium*, *Nocardia* ve *Rhodococcus* gibi cinsleri de içeren Actinomycetales sınıfına dahil edilmiştir (8). Sınıflandırılması Şekil 1' de gösterilmiştir. Son verilere göre *Corynebacterium* cinsi 100'den fazla heterojen tür ve alt tür içermektedir (9).



Şekil 1. Thermoactinomycetaceae familyasının üyeleri hariç, insan patojenleri olarak kabul edilen aerobik aktinomiset cinslerinin sınıflandırılması (2).

2.1.2. Mikrobiyolojik, kültürel ve biyokimyasal özellikler

Corynebacterium cinsi, pleomorfik, hareketsiz, kapsülsüz, katalaz pozitif, spor yapmayan, aside dirençli olmayan, bazı türleri metakromatik granül oluşturma özelliğine sahip, 2-6 µm uzunluğunda ve 0,5 µm çapında gram pozitif basillerden oluşmaktadır (10). Bu cinsin klasik mikroskopik görüntüsü, tek başlarına ya da çiftler halinde dizilim göstererek birbirine paralel olmayan, bazen uçları biraz daha geniş, “bahçe çiti” veya “Çin harfi” şeklini oluşturma eğiliminde olan tokmak benzeri basiller şeklinde tasvir edilmektedir (11).

Corynebacterium türleri, 35-37°C’de CO₂’li veya CO₂’siz ortamda, çikolatamsı ve %5 koyun kanlı agarda genellikle 18-24 saatte belirgin S tipi koloniler oluştururlar (12). Bir çok tür basit besiyerlerinde iyi ürer, ancak bazı türler optimal büyüme için lipitlere ihtiyaç duyar. Lipofilizm en iyi %0,1 ila %1 Tween-80 içeren besiyerinde Tween-80 içermeyen aynı besiyerine kıyasla büyüme gösterilmesi ile ortaya çıkar (1,3).

Corynebacterium türlerinin, üreme süresi ve miktarı, koloni morfolojisi ve kokusu, hemoliz varlığı, motilite ve pigmentasyon ile Gram boyama morfolojisi tanımlamada kullanılan temel özelliklerdir (13,14). Fermentatif veya oksidatif metabolizma, lipid gereksinimi, nitrat redüksiyonu, katalaz ve üreaz üretimi, eskülin hidrolizi, pirazinamidaz ve alkalen fosfataz varlığı ile karbohidratlardan (glukoz, sukroz, maltoz, laktoz, mannitol, mannoz ve ksiloz) asit

üretimi *Corynebacterium* türlerinin identifiye edilmesinde kullanılan önemli biyokimyasal özelliklerdir (Tablo 1). β -hemoliz yapan *Staphylococcus aureus* suşu (ATCC 25923) ile Christie-Atkins-Munch-Petersen (CAMP) reaksiyonu ise bazı *Corynebacterium* türlerini ayırmada kullanılan başka bir testtir (2).

Tablo 1. *Corynebacterium* türlerinin biyokimyasal özellikleri (14)

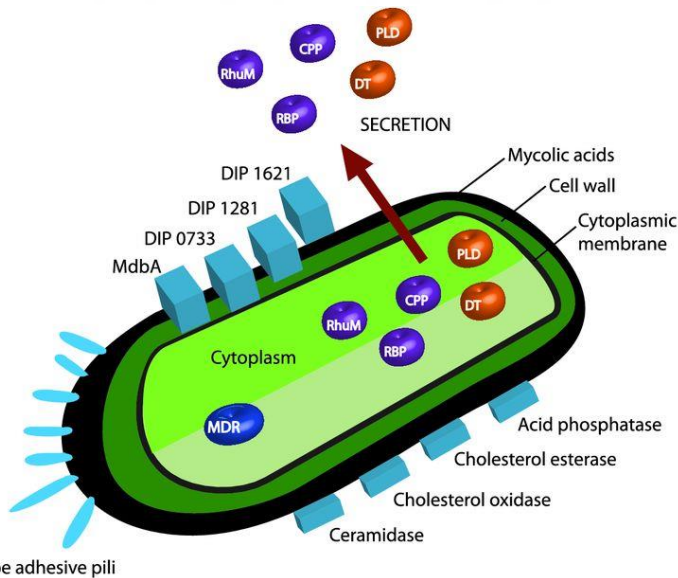
Tür Adı	Fermentasyon/ Oksidasyon(O/F)	Lipofilit	Nitrat İndirgenmesi	Üre Hidrolizi	Eskülin Hidrolizi	Pirazinamidaz	Alkalen Fosfataz	CAMP testi	Asit Üretimi		
									Glikoz	Maltoz	Sükroz
<i>C. accolens</i>	F	+	+	-	-	D	-	-	+	-	D
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i>	O	-	-	-	-	+	+	D	-	-	-
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>lipophilum</i>	O	+	-	-	-	+	+	D	-	-	-
<i>C. amycolatum</i>	F	-	D	D	-	+	+	-	+	D	D
<i>C. argentoratense</i>	F	-	-	-	-	+	D	-	+	-	+
<i>C. auris</i>	O	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
<i>C. diphteria gravis</i>	F	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>C. diphteria intermedius</i>	F	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>C. diphteria mitis</i>	F	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>C. diphteria belfanti</i>	F	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
<i>C. glucuronolyticum</i>	F	-	D	D	D	+	D	+	+	D	+
<i>C. jeikeum</i>	O	+	-	-	-	+	+	-	+	D	-
<i>C. macginleyi</i>	F	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+
<i>C. matruchotii</i>	F	-	+	D	D	+	-	-	+	D	+
<i>C. minitissimum</i>	F	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
<i>C. mucifaciens</i>	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	D
<i>C. propinquum</i>	O	-	D	-	-	D	D	-	-	-	-
<i>C. pseudodiphtericum</i>	O	-	+	+	-	+	D	-	-	-	-
<i>C. pseudotuberculosis</i>	F	-	D	+	-	-	D	T(+)	+	+	D
<i>C. striatum</i>	F	-	+	-	-	+	+	D	+	-	D
<i>C. ulcerans</i>	F	-	-	+	-	-	+	T(+)	+	+	-
<i>C. urealyticum</i>	O	+	-	+	-	+	D	-	-	-	-
<i>C. xerosis</i>	F	-	D	-	-	+	+	-	+	+	+
CDC Grup F-1	F	+	D	+	-	+	-	-	+	+	+
CDC Grup G	F	+	D	-	-	+	+	-	+	D	D

D: Değişken T: Ters CAMP testi

2.1.3. Virülans faktörleri

Virulence Factors Database veritabanında *Corynebacterium* cinsinde iki adet virülans faktörü tanımlanmıştır. Bunlardan birisi adezyonda 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 tanımlanmıştır. Konak dokuda kolonizasyon, immun sistemden kaçma ve biyofilm oluşumu için gram pozitif bakterilerde yüzey pilisi oldukça önemlidir (15,16).

Bir konakçının başarılı bir şekilde kolonizasyonu için, patojenik bakteriler, genellikle virülans faktörleri olarak adlandırılan çok sayıda protein ve diğer bileşenlerle donatılır. Bununla birlikte, bu faktörlerin çoğu, bir bakteriyel patojenin farklı bir konakçı ile etkileşimine özgü olmaktan ziyade, ekolojik nişlere genel adaptasyonla ilgilidir. Tauch ve Burkovski (17) çalışmalarında *Corynebacterium* türlerinin konakçı organizmalarla etkileşimi için önemli olduğu gösterilen birçok bileşimin, patojenik olmayan korinebakterilerde de mevcut olduğunu ve sonuç olarak bu bileşenlerin virülans faktörlerinden ziyade niş faktörler olarak tanımlanmasını önermişlerdir. Korinebakteriler için niş ve virülans faktörleri Şekil 2'de gösterilmiştir.



Factor	Species
Acid phosphatase	Cj
Ceramidase	Cj, Cr
Cholesterol esterase	Cj
Cholesterol oxidase	Cj, Cr
CPP	Cu
DIP 0733	Ca, Cd, Cg
DIP 1281	Cd, Ce, Cg, Cj
DIP 1621	Cd, Cg, Ch, Cj, Cu, Cva
DT	Cd, Cu, Cp
MdbA	Cd
MDR	Cj, Cr
Mycolic acids	Ca, Cc, Cd, Ce, Cg, Ch, Cj, Cp, Cr, Cu, Cva, Cvi
PLD	Cu, Cp
RBP	Cu
RhuM	Cu
Spa-type adhesive pili	Cc, Cd, Ce, Cg, Cp, Cu, Cvi

Spa-type adhesive pili

Şekil 2. Korinebakterilerin niş ve virülans faktörleri. Niş faktörler proteinler için açık mavi ve mikolik asitler için koyu yeşil, turuncu ile gerçek virülans faktörleri, mor ile aday virülans faktörleri ve koyu mavi ile belirsiz vakalar gösterilmiştir. Bileşenlerin farklı türlerde bulunması şu şekilde belirtilmektedir: Ca, *C. ammoniagenes*; Cc, *C. casei*; Cd, *C. diphtheriae*; Ce, *C. efficiens*; Cg, *C. glutamicum*; Ch, *C. halotolerans*; Cj, *C. jeikeium*; Cp, *C. pseudotuberculosis*; Cr, *C. resistens*; Cu, *C. ulcerans*; Cva, *C. variabile*; Cvi, *C. vitæruminis*; kalın harflerle gösterilen patojenik türlerdir. Kullanılan diğer kısaltmalar: CPP, EndoE ailesinden endoglikosidaz; DT, difteri toksini; MdbA, tiol-disülfid oksidoredüktaz; MDR, çoklu ilaç direnci; PLD, fosfolipaz D; RBP, ribozom bağlayıcı protein/Shiga benzeri toksin; RhuM, RhuM benzeri protein.

2.1.4. Antibiyotik duyarlılık testleri

Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) tarafından yayınlanan klavuzda *Corynebacterium* türlerinin antibiyotik duyarlılık testi için bilgi ve yorumlayıcı kriterler belirtilmiştir. *Corynebacterium* gibi güç üreyen bakterilerin antibiyotik duyarlılık testlerinde; disk difüzyon metodunda mekanik yöntemlerle defibrine edilmiş %5 at kanı ve 20 mg/L beta -NAD içeren Mueller-Hinton agar, sıvı mikrodilüsyon yönteminde ise %5 hemolizli at kanı ve 20 mg/L beta -NAD eklenmiş Mueller-Hinton sıvı besiyeri kullanılması önerilmiştir. Test yapılması önerilen ilaçlar; penisilin, siprofloksasin, moksifloksasin, klindamisin, vankomisin, linezolid, tetrasiklin ve rifampisin antimikrobiyal ajanları için MİK ve zon çaplarının yorumlanmasında duyarlı ve dirençli kategorilerini tanımlayan sınır değerler verilmiştir. Besiyerlerinin hazırlanması ve testlerin okunması ile ilgili klavuzlar yayınlanmıştır (18–20).

Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI), korineform bakterilerin antimikrobiyal duyarlılık testini, ilk kez 2005 yılında, ikinci baskısı da 2010 yılında yayınlanan standartta korinebakteriler için antimikrobiyal duyarlılık testini ele almıştır. Bu rehber *Corynebacterium* türlerinin sıvı mikrodilüsyon testi için bilgi ve yorumlama kriteri sağlamıştır. Ancak disk difüzyon testi için yorumlayıcı bir kriter yoktur. Onaylı standart, parçalanmış at kanıyla katyonu ayarlanmış Müeller-Hinton sıvı besiyeri kullanan bir sıvı mikrodilüsyon prosedürüdür. Daptomisin testi için besiyerine kalsiyum (50 µg/mL) eklenmelidir. Doğrudan bakteri kolonisinden 0,5 McFarland bulanıklık standardına eşdeğer süspansiyon hazırlanır. Sıvı mikrodilüsyon panelleri 35°C'de 24 ila 48 saat süreyle inkübe edilir. Direnç gösteren antimikrobiyal ajanların sonuçları 24 saat sonra bildirilebilirken, β-laktamlara duyarlı sonuçlar gösteren izolatlar, sonuçları bildirmeden önce 24 saat daha inkübe edilmelidir. Birincil test için önerilen ajanlar arasında penisilin, eritromisin, gentamisin ve vankomisin, belirli sefalosporinler, karbapenemler, gentamisin, eritromisin, siprofloksasin, tetrasiklin, doksisiklin, klindamisin, trimetoprim sülfametoksazol, rifampin, kinupristin-dalfopristin ve linezolid bulunur. Test edilmesi gerekenler; steril vücut bölgelerinden, derin doku örneklerinden ve protezlerle ilişkili enfeksiyonlardan izole edilen suşlar olarak belirtilmiştir (3).

2.1.5. Korinebakterilerin sınıflandırılması ve bazı türlerin özellikleri

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 aşılama programları sayesinde yok denecek kadar

azalmıştır. Son yıllarda 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 (1,21). Temelde nonlipofilik-fermentatif korinebakteriler, nonlipofilik-nonfermentatif korinebakteriler ve lipofilik korinebakteriler olarak üç grupta incelenmişlerdir (Tablo 2).

Tablo 2. Korinebakterilerin sınıflandırılması (4)

Nonlipofilik, Fermentatif	Nonlipofilik, Nonfermentatif	Lipofilik
<i>C. ulcerans</i>	<i>C. afermentans afermentans</i>	<i>C. jeikeum</i>
<i>C. pseudotuberculosis</i>	<i>C. auris</i>	<i>C. urealyticum</i>
<i>C. xerosis</i>	<i>C. pseudodiphthericum</i>	<i>C. afermentans lipophilum</i>
<i>C. striatum</i>	<i>C. propinquum</i>	<i>C. accolens</i>
<i>C. minutissimum</i>		<i>C. tuberculostearicum</i>
<i>C. amycolatum</i>		<i>C. bovis</i>
<i>C. glucuronolyticum</i>		<i>C. macginleyi</i>
Diğerleri: <i>C. argentoratense</i> , <i>C. matruchotii</i> , <i>C. riegelii</i> , <i>C.</i> <i>simulans</i> , <i>C. aurimucosum</i>		<i>CDC korineform grup F-1 ve</i> <i>G</i>

Corynebacterium diphtheria

Orofarinkste veya deride asemptomatik taşıyıcılık görülebilir. Solunum damlacıkları yolu ile veya deriye temas sonucu yayılır. Daha sonra basiller müköz membranların üzerinde veya derideki sıyrıkların içinde ürer ve toksijenik suşlar toksin üretmeye başlar. Toksijenik olmayan suşlar klasik difteri tablosu oluşturmaz, farenjit, septisemi, endokardit, septik artritis, osteomiyelit, ve abse oluşumu ile ilişkilidir (3). Difteri hastalığı etkeni olan bakteri koloni morfolojisi ve biyokimyasal özellik bakımından birbirlerinden farklı özellikler göstermeleri nedeniyle dört biyotipe ayrılmıştır; gravis, mitis, belfanti, intermedius (14). Bakteri Tinsdale agarda (potasyum tellürit içeren besiyeri) sistinaz aktivitesine bağlı olarak, kahverengi halosu olan gri-siyah koloniler oluşturur. *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* ve *C. pseudotuberculosis* türlerinin hepsi faj kaynaklı difteri toksini taşıyabilme, sistinaz pozitifliği ve pirazinamidaz negatifliği gibi pek çok biyokimyasal özellik açısından benzerlerdir. *C. ulcerans* ve *C. pseudotuberculosis* üreaz pozitif olmaları ve ters CAMP reaksiyonu vermeleriyle *C.*

diphtheriae'dan ayrılabilirler (14,22). Tedavide antitoksin uygulaması ve penisilin ya da eritromisin kullanır (3).

Corynebacterium ulcerans* ve *Corynebacterium pseudotuberculosis

C. diphtheria, *C. ulcerans* ve *C. pseudotuberculosis* beraber “*Corynebacterium diphtheria* grubu” nun üyeleridir (23). *C. ulcerans* kolonileri kuru, gri-beyaz iken *C. pseudotuberculosis* kolonileri opak, konveks ve sarımsı beyaz renktedir (1). Hem *C. ulcerans* hem de *C. pseudotuberculosis*, difteri toksini geliştirebilir. İnsanlarda hastalık zoonotik bir enfeksiyon olarak bildirilmiş olmasına rağmen, başlıca hayvan patojenleri olarak bilinirler. *C. ulcerans*, öncelikle sığır mastitisinin bir nedeni olarak bilinir, ancak difteri toksini oluşturma ve insanlarda difteriden ayırt edilemeyen eksüdatif farenjite neden olma potansiyeline sahiptir. *C. ulcerans*'ın neden olduğu cilt enfeksiyonu, *C. diphtheriae*' ninkini taklit eder. Alt solunum yolu enfeksiyonu meydana gelebilir, zatürree ve pulmoner nodüllere neden olabilir. *C. ulcerans*'ın neden olduğu farenjitin tedavisi (eritromisin ve difteri antitoksini) difteri tedavisine benzer. *C. pseudotuberculosis* hayvanlarda, özellikle koyunlarda kazeöz lenfadenite neden olan önemli bir patojendir. İnsan hastalığı nadirdir, kendini granülomatöz lenfadenit olarak gösterir ve esas olarak enfekte hayvanlara maruz kalan çiftlik işçilerinde ve veteriner hekimlerde görülür. Tedavi; lenf düğümlerinin çıkarılmasını ve beta laktam antibiyotikler, makrolidler veya tetrasiklinleri içerir (4).

Corynebacterium striatum

C. striatum, klinik mikrobiyoloji laboratuvarında en sık izole edilen korineform bakterilerden biridir. *C. striatum* her yerde bulunur, insan derisini ve mukoza zarlarını kolonize eder. Koyun kanlı agarda gri-beyaz, nemli, pürüzsüz, hemolitik olmayan koloniler halinde büyür (3,14). 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 (24,25). *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 immün sistemin zayıf olması enfeksiyon oluşumunu etkileyebilir. İmmünsüpresif hastaların klinik örneklerinde *C. striatum* ile karşılaşan klinisyenler izolatu sıklıkla gerçek bir patojen olarak görmektedir (25,26).

C. striatum penisiline dirençli olabilir ancak diğer β -laktamlara ve vankomisine duyarlıdır. Siprofloksasin, eritromisin, rifampin ve tetrasiklinlere karşı direnç gösterilmiştir; aminoglikozitlere karşı değişken duyarlılık vardır (4).

Corynebacterium minutissimum

İnsan derisinin, özellikle de nemli intertriginöz bölgelerin kolonizatörüdür (4). Eritrazma etkeni olarak bildirilmiştir (27). Kolonileri konveks, parlak yüzeyle, nemli görünümündedir (28). Kolonileri Wood's lambası (365 nm) altında mercan kırmızısı-turuncu renkte floresans verir. *C. minutissimum*'a atfedilen diğer nadir enfeksiyonlar arasında, bağışıklığı baskılanmış hastalarda ve kalıcı santral venöz kateterleri olan hastalarda septisemi ve endokardit, sürekli ayaktan periton diyalizi uygulanan hastalarda peritonit ve pyelonefrit yer alır (4).

Corynebacterium amycolatum

C. amycolatum, ilk olarak sağlıklı insan derisinden izole edilmiştir. Hücre duvarında mikolik asit içermemesiyle dikkat çeken tür, 37°C'de kültürlendiğinde 1 mm ila 1,5 mm arasında küçük kuru hemolitik olmayan koloniler oluşturur. Son tanımlama tekniklerine göre, klinik örneklerden en sık izole edilen nonlipofilik korineform bakterilerdir. (4). *C. amycolatum* septisemi, endokardit, menenjit, septik artrit ve idrar yolu enfeksiyonları ile ilişkilidir (29). *C. amycolatum* en yaygın olarak yara sürüntülerinden, idrardan, dren sürüntülerinden izole edilir (30). Endokardite neden olan *C. amycolatum*'un birden fazla antibiyotiğe dirençli olduğu bulunmuştur (31). Başarılı tedavi raporları arasında vankomisin ve rifampin kullanımı yer alır (4).

C. afermentans subsp. afermentans

İnsan deri mikrobiyomunun bir parçasıdır ve şimdiye kadar esas olarak kan kültürlerinden izole edilmiştir. Koloniler beyazımsı, düzgün kenarlı dışbükey, kremi ve 24 saatlik inkübasyondan sonra yaklaşık 1 ila 1,5 mm çapındadır. Oksidatif metabolizmaya sahiptir ve bu taksonun tüm suşlarının yaklaşık %60'ı CAMP reaksiyonu pozitifdir. *C. afermentans subsp. afermentans* genellikle β -laktam antibiyotiklere duyarlıdır, ancak eritromisin, klaritromisin, azitromisin ve klindamisine direnç bildirilmiştir (2).

C. afermentans subsp. lipophilum

C. afermentans subsp. lipophilum türüne ait suşlar çoğunlukla kan kültürlerinden ve yüzeysel yaralardan izole edilmiştir. Koloniler, tipik olarak lipofilik korinebakteriler gibi dışbükey, pürüzsüz ve 24 saat sonra çapı <0,5 mm'dir. *C. afermentans subsp. lipophilum* oksidatif bir metabolizmaya sahiptir ve genellikle test edilen karbonhidratların hiçbirinden asit üretmez. Pozitif bir CAMP reaksiyonu sergileyebilen, fermente olmayan, lipofilik korinebakterilerin tek türüdür. Suşlar genellikle β -laktam antibiyotiklere duyarlıdır (2).

Corynebacterium jeikeum

C. jeikeum hastanede yatan hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olur. Enfeksiyon için predispozan faktörler; malignite, nötropeni ve AIDS gibi bağışıklık sistemi baskılanmış durumlar, merkezi venöz kateterler, periton diyaliz kateterleri, protez kapaklar ve BOS şantları gibi kalıcı tıbbi cihazların varlığıdır. Uzun süreli hastanede kalış, geniş spektrumlu antibiyotiklerle tedavi ve bozulmuş cilt bütünlüğü, *C. jeikeum* enfeksiyonu gelişimi için iyi tanımlanmış risk faktörleridir. Enfeksiyöz süreçler, enfekte intravasküler cihazlardan kaynaklanan sepsis, doğal ve protez kapak endokarditi, BOS şant enfeksiyonları, menenjit ve transvers miyelit ve protez eklem enfeksiyonlarını içerir (4). *C. jeikeum*, klinik örneklerde sık rastlanan bir *Corynebacterium*'dur ve nozokomiyal bulaşma tanımlanmıştır. Bir *C. jeikeum* suşunun tam genom dizisi belirlendi ve lipofilik fenotipinin yağ asidi sentazının yokluğundan kaynaklandığı gösterilmiştir. *C. jeikeum* genellikle birden çok antibiyotığe (penisilin ve gentamisin dahil) dirençlidir. *C. jeikeum* kolonileri küçük, alçak, tam ve grimsi beyazdır. *C. jeikeum* oksidatif olarak glikozdan ve bazen maltozdan asit üretebilen ancak fruktozdan üretemeyen katı bir aerobdur (2).

2.2. Biyofilm

2.2.1. Tarihçesi ve tanımı

Leeuwenhoek'un 17. yüzyılda mikroskopu keşfi ve kendi diş plaklarında ilk defa mikroskopik canlıları görmesinin ardından 1943 yılında Zobelli, daha sonrasında Characklis ve Costerton bugün bildiğimiz şekliyle biyofilm yapısından söz etmiştir (32). Bakteri tarafından üretilen ve bakterinin canlı veya cansız yüzeylere yapışmasını sağlayan polisakkarid yapısında "glikokaliks" olarak da adlandırılan biyofilm; mikroplar tarafından oluşturulan, herhangi bir yüzeye, ara yüzeye veya birbirlerine yapışmalarını sağlayan, büyüme oranları ve gen transkripsiyonuna bağlı olarak farklı fenotip gösterebilen ve oluşturan mikroorganizmanın

içinde gömülü olarak bulunduğu ekstrasellüler polimerik maddeden oluşmuş matriks olarak tanımlanır (33).

Biyofilm yapısı, birbirleriyle haberleşerek ve belli bir yapısal bütünlük içerisinde yaşayarak devamlılığını sağlayan hücresel organizasyon olarak tanımlanmış ve biyofilm yapısını oluşturan bakterilerin “quorum sensing” özelliğine dikkat çekilmiştir (34).

2.2.2. Yapısı

Biyofilmler, öncelikli olarak, mikrobiyal hücrelerden ve ekstraselüler matriksden (ECM) oluşmaktadır. ECM, mikrobiyal biyofilmlerin toplam karbon içeriğinin %50 - 90'ını oluşturmaktadır ve temel bileşen polisakkaritlerdir. Farklı mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilmlerin farklı kimyasal içerikleri bulunmasına karşın bazı özelliklerin korunduğu bilinmektedir (35,36). Biyofilmlerin yapısında hücreler yüzeye ve birbirlerine kuvvetli bir şekilde tutunmakta ve ekstraselüler matriks içinde mikrokoloniler şeklinde bulunmaktadır. Hücrelerin oluşturduğu mikrokoloniler arasında besin alımını ve toksik maddelerin uzaklaştırılmasını sağlayan su kanalları bulunur (35).

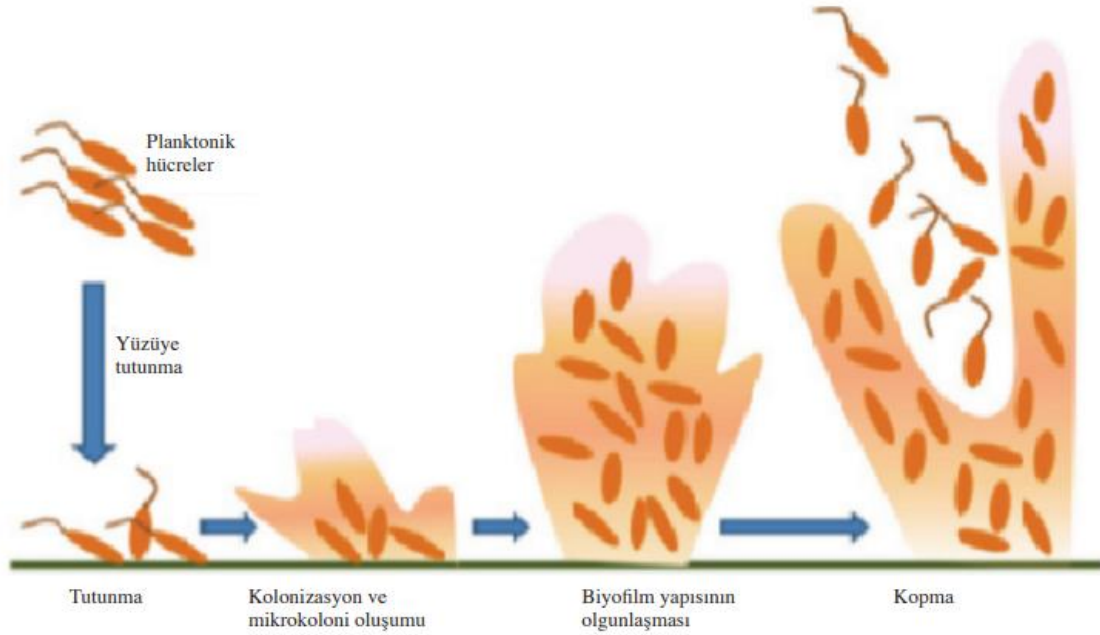
Biyofilmin yoğun ve kompleks yapısı, ortamdaki organik ve inorganik moleküllerin ekstrasellüler yapısında toplanmasıyla oluşur. Biyofilmin gelişme oranı yakın çevredeki besinlerin hücre içine alınımı, atık maddelerin ise hücreden uzaklaştırılması ile yakından ilişkilidir. Ayrıca quorum-sensing sinyal moleküllerinin salınımı, ortam pH'ı, O₂ perfüzyonu, karbon kaynağı ve ozmolarite de gelişimde çok etkilidir (37,38).

Son yıllarda bakteriler tarafından salınan ve hücreler arası sinyal iletimini sağlayarak bakterinin gen ekspresyonunu düzenleyen moleküller aracılığı ile biyofilm yapımının düzenlenebileceğinin gösterilmesi biyofilmin patojenite ve çevreye adaptasyonunda önemini artırmıştır (37).

2.2.3. Oluşumu

Biyofilm yapısı, mikroorganizmanın kolonizasyonunu destekleyen, pH değişikliği, besin yetersizliği gibi olumsuz dış ortam koşullarına, antibiyotiklere, dezenfektanlara karşı dayanıklı olmasını sağlayan önemli bir virülans faktörüdür. Polisakkaritler, protein, ekstraselüler DNA, su ve iyonlar gibi farklı bileşenleri içeren kompleks bir yapı olan biyofilm yapısının oluşumu dinamik bir süreçtir (39,40).

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmanın bir yüzeye tutunması, geri dönüşümsüz bağlanma, kolonizasyon ve mikrokoloni oluşumu, kopma evreleri olmak üzere dört basamakta meydana gelmektedir. Şekil 3’de gösterilmiştir (41).



Şekil 3. Biyofilm Oluşum Aşamaları

1) Tutunma: Bakterinin yüzeye tutunması ile başlayan biyofilm oluşumu dinamik bir olaydır. Tutunma sonucu bir dizi genetik işlem ile biyofilmin fenotipi ortaya çıkmaya başlar (42). Planktonik yapıda mikroorganizma yüzeye geri dönüşümlü olarak bağlanır. Bakteri, flagella hareketi ve tutunduğu yüzeyle arasındaki elektrostatik ve fiziksel etkileşimler sonucu kısa sürede yüzeye tutunur (43).

Tutunma işleminden sonra biyofilm oluşturmak yönünde farklılaşma işleminin başlaması, ‘quorum-sensing’ sistemi denilen haberleşme sisteminden gelen yanıtla bağlıdır. Bu sistem ile bakteriler çevresindeki bakteri popülasyonunun yoğunluğunu belirler ve ortama “ben buradayım” mesajı veren bir molekül salgılar. Yüzeye tutunan bakteri sayısı arttıkça sinyalin yoğunluğu artmaktadır. Bu sinyal molekülünün yoğunluğunda ki artış ile birlikte, biyofilm oluşumuna yönelik bir dizi işlem başlatılmış olur (42).

2) Geri dönüşümsüz bağlanma: Tutunma işleminin ardından planktonik bakterilerdeki quorum sensing mekanizmasıyla fenotipik değişiklikler ve yüzeye geri dönüşümsüz tutunma başlar. Bakteri hücresi, ekstraselüler polimerik maddeler sentezlemeye başlar ve böylece hem yüzeye hem de birbirlerine geri dönüşümsüz bağlanma artar (32,35). Bakterinin türüne ve

çevresel koşullara göre değişik yapıda olabilen bu maddeler biyofilm matriksinin ana bileşenleri olup çoğunlukla ekzopolisakkaritler, ekstraselüler DNA ve proteinlerden oluşmaktadır (35).

3) Kolonizasyon ve mikrokoloni oluşumu:

Yüzeye yapışan bakterilerin giderek çoğalmasıyla mikrokoloniler oluşur (32,44). Ortamdaki planktonik bakterilerin de mikrokolonilere yapışmasıyla kolonizasyon desteklenir ve bakteri popülasyonu gittikçe büyür (45).

4) Kopma: Bakteri veya bakteri kümeleri biyofilm tabakasından koparak ortama yayılır. Bu ayrılma işlemi EPS miktarında azalış gibi dış kuvvetlerin etkisiyle olabileceği gibi, biyofilm oluşum süresinin bir parçası olarak meydana gelebilir (46). Bu durum biyofilmin yayılımına ve bazen yerel enfeksiyonların sistemik hâle geçişine neden olabilmektedir (41).

2.2.4. Klinik önemi

Biyofilm oluşturan bakteriler doğal kapak endokarditi, otitis media, kronik bakteriyel prostatit, kistik fibrozis, periodontit gibi doğal seyirli hastalıklar ve bunun dışında santral venöz katater, üriner katater, ortopedik protez, kontakt lens ve rahim içi araç (RİA) cihazları gibi yabancı cisim enfeksiyonlarına sebep olmaktadır (47).

Günümüzde implantlar, yapay kalp kapakçıkları, protezler gibi kalıcı tıbbi cihazların kullanımındaki artışa paralel olarak biyofilm enfeksiyonlarının görülme sıklığı artış göstermektedir. İnsanlarda gelişen yumuşak ve sert doku enfeksiyonlarının %80'inin biyofilm ilişkili enfeksiyonlar olduğu belirtilmektedir. Kalıcı tıbbi cihazlarda gelişen biyofilm enfeksiyonlarında, etken mikroorganizma normal flora üyesi veya nozokomiyal bir patojen olabilmektedir (41). Çalışmalarda nazokomiyal enfeksiyonların %60'dan fazlası biyofilm oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (48).

Biyofilm, fagositoza ve antibiyotiklere karşı koruyucu bir yapı oluşturup bakterinin direnç kazanmasını sağlamaktadır. Bakteride bulunan direnç genleri plazmidlerin biyofilmlere konjugasyonu ile türler arasında aktarılabilmektedir (49). Biyofilm yapısı içerisindeki bakterilerin aynı zamanda dezenfektanlara karşı da daha dirençli olabildikleri saptanmıştır (50).

2.2.5. Biyofilm ve quorum sensing

Katı bir yüzeye tutunmuş mikroorganizmaların oluşturduğu her yapı biyofilm demek değildir. Biyofilm yapısında olmayan mikroorganizmaların oluşturduğu bu topluluklar geri

dönüşümsüz bağlanma ve direnç gibi özellikleri taşımazlar. Bu mikroorganizmalar ekstraselüler polimerik bir matriks içerisinde gömülü olarak bulunmazlar ve biyofilm yapısı içerisindeki bakterilerin ürettiği genlerin transkripsiyonunu yapamazlar (33)

Biyofilm yapısının rasgele bir araya gelmiş bakteri topluluklarından ayrılmasını sağlayan temel mekanizma quorum sensing yani sinyal molekülleri vasıtasıyla hücrelerarası iletişim sistemidir. Quorum sensing sisteminde yer alan sinyal molekülleri ile bakterinin bir odakta toplanması sağlanabilmekte ve böylece biyofilm yapısının temeli oluşmaktadır (41). Bakteriler, quorum sensing sayesinde çevrelerindeki mikrobiyal yoğunluk ve hücre sayılarından haberdar olabilmekte ve birçok virulans özelliğini (biyofilm, anti-mikrobiyal direnç, patogenez vb.) gerçekleştirebilmektedir. Quorum sensing sayesinde üreme hızı ve koloni oluşumu kontrol edilir, toksin üretimi ve invaziv özellikler belirlenir (51,52).

2.3. Quorum-Sensing

Bakterilerde hücreler arası iletişim sinyal molekülleri aracılığıyla sağlanır. Bakteri sayısı arttıkça hücre dışına salınan bu sinyal moleküllerinin sayısı da artmakta ve bu artış sayesinde bakteri popülasyonunun büyüklüğü diğer hücreler tarafından algılanabilmektedir. Bakterilerin, belli bir yoğunlukta bu sinyalleri algılayarak çeşitli davranışlar sergilemesine “quorum-sensing” (QS) adı verilir. Bu tanım; salt çoğunluk anlamına gelen “quorum” ve algılama anlamına gelen “sensing” sözcüklerinden oluşur (53).

Quorum sensing mekanizması ile ilgili çalışmalara, ilk olarak deniz bakterileri *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi*’nin hücre yoğunluğuna bağlı biyoluminesans ifadesi araştırılırken başlanmıştır. Her iki mikroorganizmanın da ışık üretiminden sorumlu enzimlerinin, çevredeki popülasyon yoğunluğuna bağlı olarak ortamda biriken otoindükleyici moleküllere yanıt olarak ışık ürettiği saptanmıştır (54).

Bakteriler genellikle çeşitli otoindüktör moleküller kullanarak tür içi ve türler arası iletişimi sağlamaktadır. Gram-negatif bakteriler tür içi sinyal molekülü olarak genellikle “Açıl homoserin lakton”(AHL) molekülünü kullanmakta ve Gram-pozitif bakterilerde ise oligopeptid sinyal molekülleri (AIP) kullanılmaktadır. (55). Ayrıca hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakteriler türler arası iletişimi otoindüktör-2 (AI-2) adı verilen moleküller ile sağlamaktadırlar (41,56).

QS mekanizmasında sinyal molekülünün sentezlenmesi, salgılanması ve diğer bakteri hücreleri tarafından algılanması sonucunda türe özgü davranışlar ortaya çıkar. *Vibrio* türlerinde biyoluminesans oluşumu, *Pseudomonas aeruginosa*’da biyofilm oluşumu, birçok bakteride virulens faktör üretimi, *Bacillus subtilis*’te sporulasyon, *Agrobacterium tumefaciens*’de Ti

plazmidinin taşınması, *Chromobacterium violaceum*'da viyolasin üretimi bunlara örnek olarak verilebilir (53).

Kistik fibrozisli hastalarda, hastalığın erken döneminde akciğerlerde görülen *Staphylococcus aureus* kolonizasyonu ilerleyen dönemde yerini *Pseudomonas aeruginosa*'ya bırakmaktadır (41). Yapılan bir çalışmada bu durumun *P. aeruginosa*'nın sinyal moleküllerinin, *S. aureus*'un efektör molekülü olan RNAIII ekspresyonunu inhibe etmesi ve *S. aureus*'un virülans faktörlerinin oluşumunu engellemesinden kaynaklandığını gösterilmiştir. Sinyal molekülleri aracılığıyla gerçekleşen bu tür çapraz etkileşimlerin, mikroorganizmaların biyofilm oluşumu başta olmak üzere farklı virülans faktörleri üzerinde etkili olduğu ileri sürülmektedir (57).

Mikroorganizmalarda virülans faktörlerden kaynaklı hastalık oluşumuna QS mekanizması sebep olmaktadır. Bakteriyi öldürmek yerine QS mekanizmasını inhibe ederek aralarında kurdukları iletişimi engellemek, kullanılan antimikrobiyal tedavilere yeni bir yaklaşım oluşturmaktadır. QS inhibisyonu, antibiyotik direncini kontrol altına alabilmek açısından önemlidir. Virülans faktörlerin ortaya çıkmasını engelleyerek, hastalıkların tedavi sürelerini azaltıp maliyeti düşürecek çalışmalar önem arz etmektedir (58).

3. GEREÇ YÖNTEM

Bu çalışma, 2022.04.01.1353 protokol numaralı proje olup Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklendi. Etik kurul onayı Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2022/132 karar no ile 04.07.2022 tarihinde alındı.

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve İstanbul Başakşehir Çam ve Sakura Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Haziran 2021 ile Haziran 2022 tarihleri arasında gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 240 adet *Corynebacterium spp.* izolatu çalışmaya dahil edildi. Korineform bakteri üremesi tespit edilen örneklerin tanımlama işlemleri dış merkezde MALDI-TOF MS Biotyper (Bruker, Almanya) ile yapılmıştır. *Corynebacterium* dışındaki diğer korineform bakteriler çalışmaya dahil edilmedi. Bir hastanın farklı türdeki örnekleri ayrı klinik örnek olarak değerlendirilirken, tekrarlayan aynı türdeki örnekler tek bir klinik örnek olarak değerlendirildi. İzolatlar çalışma yapılana kadar brain-heart buyyon içeren eppendorf tüpü içerisinde -20°C'de saklandı.

Hastaların yaş, cinsiyet, bulundukları servis/yoğun bakım/poliklinik ve örnek türü bilgisi kaydedildi. Tüm izolatlar kültürdeki üreme şekillerine göre saf, etken ile birlikte ve polimikrobiyal olmak üzere üç grupta sınıflandırıldı. Saf; sadece *Corynebacterium* üremesi olan örnekler, etken ile birlikte; bulunduğu örnek için etken sayılan bir bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* vb.) ile birlikte üreyenler, polimikrobiyal; bulunduğu petride üç ve daha fazla bakteri türü olan, genellikle flora elemanlarının görüldüğü örneklerdir.

3.1. Antibiyotik Duyarlılığın Belirlenmesi

Corynebacterium gibi güç üreyen bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri için besiyeri olarak EUCAST (18) tarafından Mueller-Hinton Fastidious (MH-F) agar ve Mueller-Hinton Fastidious (MH-F) sıvı besiyeri önerilmektedir. Rehberde *Corynebacterium* türleri için disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testleri için sınır değerler belirtilmiştir.

3.1.1. Besiyerlerinin hazırlanması

Mueller-Hinton Fastidious (MH-F) Agar

MH-F agar, mekanik yöntemlerle defibrine edilmiş %5 at kanı ve 20 mg/L β -NAD (nikotinamid 11 adenin dinükleotid) içeren Mueller-Hinton agardan (MHA) oluşmaktadır. Steril deiyonize su içerisinde konsantrasyonu 20 mg/ml olacak şekilde β -NAD (Biosynth Carbosynth, Birleşik Krallık) stok çözeltisi hazırlandı. Çözelti 0.2 μ m membran filtreden

geçirerek steril edildi ve -20°C’de saklandı. MHA (Condalap, Spain) bir litre besiyeri için 38 gram tartılarak hazırlandı ve otoklavlandı. Besiyeri 42-45°C’ye kadar soğuduğunda MH-F için, aseptik olarak besiyerinin her bir litresine defibrine edilmiş 50 mililitre (ml) at kanı ve 1 ml β -NAD stok çözeltisi eklendi. Besiyeri petri plaklarına dağıtıldı ve 4°C’de saklandı (19).

Mueller-Hinton Fastidious (MH-F) Sıvı Besiyeri

MH-F sıvı besiyeri, %5 hemolizli at kanı ve 20 mg/L β -NAD eklenmiş katyonu ayarlanmış Mueller-Hinton sıvı besiyerinden (MHB) oluşmaktadır. Steril deiyonize su içerisinde konsantrasyonu 20 mg/mL olacak şekilde β –NAD stok çözeltisi hazırlandı. At kanı eşit miktarda steril deiyonize su ile sulandırıldı. Bir gece -20°C’de dondurulmuş ve ardından çözöldü. Tüm hücreler tamamen hemoliz olana kadar beş defa dondurulup çözöldüröldü. %50 hemolizli at kanını santriföjleyerek berrak bir görünüm alması sağlandı. Stok çözöltisi -20°C’de saklandı. Katyonu ayarlanmış MHB (Condalap, Spain) bir litre besiyeri için 21 gr tartıldı, hemolizli at kanı ekleneceğinden her bir litre için 100 mL az deiyonize su kullanılarak hazırlandı ve otoklavlandı. Besiyerini 42-45°C’ye soğuduğunda 100 ml %50 hemolizli at kanı ve 1 ml ü β -NAD stok çözöltisi bir litre besiyerine eklendi. Steril tüplere dağıtılarak 4-8°C’de saklandı (19).

3.1.2. Vankomisin çözöltisinin hazırlanması

Çalışmada kullanılan antibiyotik olan vankomisin HCl (Biosynth Carbosynth, Birleşik Krallık) çözöltisinin hazırlanmasında çözöcü olarak steril distile su kullanıldı. Hassas terazi ile tartılarak 320 μ g/ml konsantrasyonda stok çözölti hazırlandı ve -20°C’de saklandı.

3.1.3. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılığın belirlenmesi

Çalışmaya alınan tüm izolatlara disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapıldı. Taze kültür pasajları yapılan izolatlardan 0,9 NaCl izotonik solüsyon içeren tüplerde $1-2 \times 10^8$ CFU/mL (0,5 McFarland) standardına eşdeğer bakteri süspansiyonu hazırlandı. Oda ısısında bulunan, % 5 oranında defibrine at kanı ve 20 mg/L β -NAD eklenmiş Mueller-Hinton Fastidious agarların her tarafına eşit bir şekilde bakteri süspansiyonu yayıldı. EUCAST önerileri doğrultusunda penisilin (1 ünite), siprofloksasin (5 μ g), moksifloksasin (5 μ g), klindamisin (2 μ g), tetrasiklin (30 μ g), rifampisin (5 μ g), vankomisin (5 μ g) ve linezolid (10 μ g) diskleri (Bioanalyse, Türkiye) yerleştirildi. Ayrıca, indüklenabilir klindamisin direncinin bakılması amacıyla eritromisin (15 μ g) diski de yerleştirildi. Tüm petriler $35 \pm 1^\circ\text{C}$, %4-6 CO₂ içeren atmosferde 16-20 saat inkübasyonun ardından EUCAST sınır değeri doğrultusunda

değerlendirildi. Bu süre sonunda zayıf üreme gösteren izolatlar için inkübasyon süresi 40-48 saate uzatıldı (18).

3.1.4. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile vankomisin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerinin belirlenmesi

Çalışmada 132 adet saf, 58 adet etken ile birlikte üreyen olmak üzere toplam 190 corynebacterium izolatında sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile vankomisin MİK değeri belirlendi. Taze kültür pasajları yapılan izolatlardan 0,9 NaCl izotonik solüsyon içeren tüplerde 0,5 McFarland standardına eşdeğer bakteri süspansiyonu hazırlandı. Steril distile su içinde 320 µg/ml konsantrasyonda vankomisin stok solüsyonu 1/10 oranında sulandırılıp 32 µg/ml konsantrasyonu elde edildi. U tabanlı plaklar kullanıldı. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi aşağıdaki şekilde uygulandı:

1. Mikroplağın A'dan H'ye kadar olan dikey kuyucukların ilk yedisine 50 µl MH-F sıvı besiyeri (%5 hemolizli at kanı ve 20 mg/L β -NAD eklenmiş Mueller-Hinton sıvı besiyeri) eklendi. Sekizinci kuyucuğa 100 µl MH-F sıvı besiyeri eklendi ve negatif kontrol olarak kullanıldı.
2. 32 µg/ml konsantrasyonda vankomisinden 50 µl alınarak ilk kuyucuğa konuldu. Birinci kuyucuktan 50 µl alınıp ikinciye, oradan aynı miktar alınıp üçüncüye ve bu şekilde altıncı kuyucuğa kadar seri dilüsyon yapıldı. Yedinci kuyucuk pozitif kontrol olarak kullanıldı ve bu kuyucuğa antibiyotik eklenmedi. Böylece ilk altı kuyucukta vankomisin konsantrasyonları 0,25–8 µg/ml olarak elde edildi.
3. 0,5 McFarland bakteri süspansiyonu MH-F sıvı besiyeri ile 1/100 oranında sulandırılıp bu süspansiyondan 50 µl alınıp ilk yedi kuyucuğa ilave edildi. Sekizinci kuyucuğa negatif kontrol olarak bakteri eklenmedi.
4. Mikroplağın üzeri steril bir plakla kapatıldıktan sonra $35\pm1^{\circ}\text{C}$, %4-6 CO_2 içeren atmosferde 16-20 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda zayıf üreme gösteren izolatlar için inkübasyon süresi 40-48 saate uzatıldı.
5. Her bir suşa ait üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon MİK olarak değerlendirildi. Kalite kontrol için *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 kullanıldı. EUCAST önerileri doğrultusunda vankomisin MİK değeri ≤ 2 mg/L olan izolatlar duyarlı olarak değerlendirildi ve MİK değerleri kaydedildi (18)(20).

3.2. Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi

Çalışmaya alınan tüm izolatların biyofilm oluşumları kantitatif olarak 96 kuyucuklu U tabanlı mikropaklarda çalışıldı. Biyofilm oluşumu şu şekilde belirlendi (59):

1. Brain-heart sıvı besiyeri içerisinde hazırlanmış 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri içeren süspansiyondan 200 µL kuyucuklara konuldu ve 37 °C’de 48 saat inkübe edildi.
2. Kuyucuklar otomatik elisa yıkama cihazı (Robonik, India) ile iki kere 200 µL fosfat tamponlu salin kullanılarak yıkandı. Plaka kurutuldu.
3. Daha sonra 200 µL %99 metanol ile beş dakika biyofilmler fikse edildi. Kuyucuk içindeki reaktif boşaltılarak ters çevrilen mikropak kurutuldu.
4. 200 µL % 0.3’ lük kristal viyole ile 15 dakika boyandı.
5. Mikropaklar otomatik elisa yıkama cihazı ile iki kez distile su kullanılarak yıkanıp kurutuldu.
6. Son olarak 200 µL %95 etanol her kuyucuğa eklendi ve okumaya geçildi.

Optik dansite (OD) 560nm’de mikropak okuyucusunda (Robonik, India) üç kez ölçüldü. Negatif kontrole sadece sıvı besiyeri eklendi. Pozitif kontrol olarak biyofilm ürettiği bilinen *S. aureus* ATCC 25923 suşu kullanıldı. İki tekrarlı çalışıldı.

Üç kez ölçüm yapıldıktan sonra test edilen tüm suşlar ve negatif kontrol için ortalama OD değeri hesaplandı. Daha sonra cut-off değeri (OD_c) oluşturuldu. OD_c, negatif kontrolün ortalama OD’sinin üç standart sapma üstü olarak tanımlandı. OD değerlerinin ortalaması sınır değerin üzerinde olan suşlar biyofilm pozitif olarak kabul edildi. OD değeri sınır değerle bunun 2 katı arasında olanlar zayıf (+), 2-4 katı arasında olanlar orta (++), 4 katı üzerinde olanlar ise güçlü biyofilm pozitif (+++) olarak sınıflandırıldı (60).

3.3. Anti-Quorum Sensing Aktivitesinin Belirlenmesi

Biyofilm oluşumu belirlendikten sonra güçlü biyofilm yapan 17 izolatın anti-quorum sensing aktivitesine bakıldı. Ayrıca kontrol amacıyla iki adet biyofilm negatif izolatın da anti-quorum sensing aktivitesine bakıldı. Anti-quorum sensing çalışmalarında bakteriyel ekstraktlar kullanıldı.

3.3.1. Bakteriyel biyoaktif bileşen ekstraksiyonu

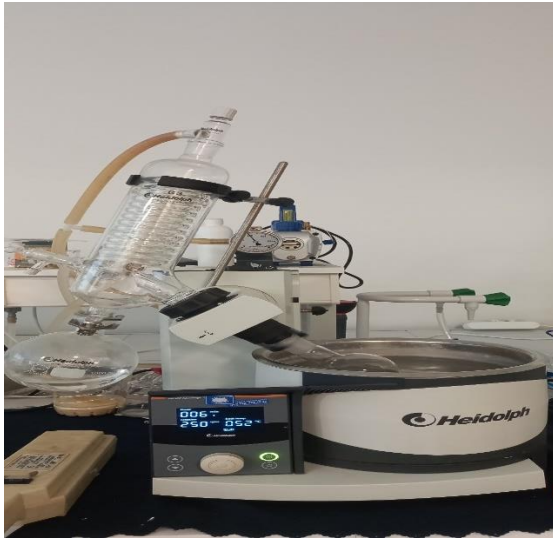
1. Bakteri kültürleri 100 ml Brain-heart sıvı besiyerinde 48-72 saat süre ile 35-37°C’ de çalkalanarak inkübe edildi.
2. Daha sonra bakteri hücrelerini uzaklaştırmak için 6.000 g, 4°C’ de 20 dakika santrifüjlendi ve süpernatantlar toplandı.

3. Elde edilen süpernatant eşit hacimde etil asetat kullanılarak 15-20 dk. çalkalama cihazında karıştırıldı. Ekstraksiyon iki kez tekrarlandı. Sulu ekstrakt fraksiyonları atıldı. Organik ekstrakt fraksiyonları (etil asetat ekstraksiyonu ile elde edildi) birleştirildi.
4. Elde edilen karışım döner vakum evaporatörüyle (Heidolph, Almanya) 45°C’ de buharlaştırıldı (Şekil 4).
5. Elde edilen ekstrakt %1’lik DMSO’da çözüldükten sonra 0.22 um membran filtreler kullanılarak sterilize edildi (61)(62).

Her bakteri için evaporatör öncesi ve sonrası hassas terazide tartımlar yapıp ekstrakt miktarı kaydedildi. Her ekstrakt için 4 adet seri dilüsyon yapılmış olup konsantrasyonları Tablo 3’de gösterildi.

Tablo 3. Dilüsyonlara göre bakteriyel ekstrakt miktarları

Bakteri No	Ekstarkt Konsantrasyonu (mg/ml)			
	1. Dilüsyon	2. Dilüsyon	3. Dilüsyon	4. Dilüsyon
3b	100	50	25	12,5
28b	85	42,5	21,25	10,625
445b	75	37,5	19,75	9,875
460b	60	30	15	7,5
509b	80	40	20	10



Şekil 4. Döner vakum evaporatörüyle etil asetat buharlaştırılması

3.3.2. Anti-quorum sensing aktivitesinin agar difüzyon yöntemi ile belirlenmesi

100 ml Luria Bertani (LB) besiyerine (Condalap, Spain) %1 oranında agar eklenerek hazırlandı ve otoklavlandı. Yaklaşık 45°C' ye kadar soğuduğunda 1 ml 18 sa.'lik *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 suşu 0.5 McFarland bulanıklığında ayarlandıktan sonra eklendi ve petrilere dağıtıldı. Besiyeri katılaştığında kuyucuklar açıldı ve 100 µL farklı konsantrasyonlardaki bakteriyel ekstraktlar eklendi. Petriler 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Çözücü olarak kullanılan DMSO kontrol olarak kullanıldı. Üremenin olduğu ancak viyolasin pigment üretiminin olmadığı opak zonlar anti-quorum sensing etki, üremenin olmadığı şeffaf zonlar ise antibakteriyel etki olarak değerlendirildi. Zon çapları kaydedildi (63).

3.3.3. Viyolasin pigment üretiminin kantitatif olarak ölçülmesi

18 saatlik *C. violaceum* 12472 sıvı kültürü 0.5 McFarland ayarlandı ve taze LB sıvı besiyerine eklenerek küçük test tüpüne aktarıldı. Bakteri ekstraktları çözeltiye ilave edildi. Aynı hacimdeki çözücü DMSO, negatif kontrol olarak sunuldu. 24-48 saat boyunca 150 rpm'lik rotasyonla 30 °C'de inkübe edildi. 10.000 rpm'de 30 dk santrifüjleme işlemi yapıldı. Daha sonra üst sıvı uzaklaştırılarak 0.5 ml DMSO eklendi. Tüpler kısa süreli olarak vortekslendi ve viyolasinin iyice çözünmesi sağlandı. Bu aşamadan sonra yeniden 10.000 rpm'de 10 dk santrifüjleme yapıldı. Viyolasin içeren üst sıvıdan 200 µl alınarak mikropilaya okuyucu ile OD585 değerleri okundu (64).

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi "IBM SPSS Statistics 23" programı kullanılarak yapıldı. Veriler sayı ve yüzde olarak belirtildi. Sonuçların analizinde "Ki-Kare Testi", "Fisher's Exact" ve "Fisher-Freeman-Halton" testleri kullanılmış olup $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 240 adet *Corynebacterium* izolatu dahil edilmiştir. İzolatlar üredikleri kültür özelliğine göre; 138'i (%58) saf, 52'si (%22) etken ile birlikte ve 50'si (%20) polimikrobiyal grupta yer almıştır. *Corynebacterium* izolatu saptanan örneklerin 125'i (%52) kadın, 115'i (%48) erkek hastalardan alınmıştır. Hastaların yaş ortalaması $56,86 \pm 25,41$ olup, yaş aralığı 0 ile 101 yaş arasında idi.

İzolatlar sıklık sırasına göre; 140'ı *C. striatum*, 34'ü *C. amycolatum*, 24'ü *C. afermentans*, 8'i *C. argentoratense*, 5'i *C. aurimucosum*, 5'i *C. propinquum*, 4'ü *C. coyleae*, 4'ü *C. imitans*, 3'ü *C. pseudodiphtheriticum*, 3'ü *C. riegelii*, 2'si *C. accolens*, 2'si *C. phoceense*, 1'i *C. glucuronolyticum*, 1'i *C. mucifaciens*, 1'i *C. simulans*, 1'i *C. singulare*, 1'i *Corynebacterium spp.*, olarak MALDI-TOF MS Biotyper ile tanımlanmıştır (Şekil 5).

6	G2 (+++)(B)	g2 (standard)	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	2.23	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	2.23
8	G3 (+++)(C)	g1 (standard)	<i>Microbacterium paraoxydans</i>	2.05	<i>Microbacterium paraoxydans</i>	2.05
460	G4 (+)(C)	g1 (standard)	<i>Corynebacterium afermentans</i>	1.79	<i>Corynebacterium afermentans</i>	1.77
306	G5 (+++)(B)	g2 (standard)	<i>Corynebacterium striatum</i>	2.35	<i>Corynebacterium striatum</i>	2.39
469	G6 (+++)(A)	g3 (standard)	<i>Corynebacterium singulare</i>	2.08	<i>Corynebacterium singulare</i>	1.96
79	G7 (+++)(A)	g4 (standard)	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	2.30	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	2.11
21	G8 (+++)(A)	g5 (standard)	<i>Microbacterium paraoxydans</i>	2.27	<i>Microbacterium paraoxydans</i>	2.25
9	G9 (+++)(A)	g6 (standard)	<i>Dermabacter hominis</i>	2.18	<i>Dermabacter hominis</i>	2.03
331	G10 (+++)(A)	g7 (standard)	<i>Corynebacterium striatum</i>	2.39	<i>Corynebacterium striatum</i>	2.28
0	G11 (+++)(A)	g8 (standard)	<i>Corynebacterium phoceense</i>	2.13	<i>Corynebacterium phoceense</i>	2.00
61	G12 (+++)(A)	g9 (standard)	<i>Corynebacterium striatum</i>	2.39	<i>Corynebacterium striatum</i>	2.29
6	H1 (+++)(A)	g10 (standard)	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	2.31	<i>Corynebacterium amycolatum</i>	2.12

Resim 5. İzolatların MALDI-TOF MS ile tanımlama sonuçlarından örnekler

Corynebacterium izole edilen örneklerin 68'i (%28,2) derin trakeal aspirat, 50'si (%20,7) idrar örneği olup, bu iki örnek türü diğer örnek türlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0,001$). Örneklerin 110'unu (%45,6) solunum örnekleri oluşturmuştur. Bunların 68'i (%28,2) derin trakeal aspirat (DTA), 32'si (%13,3) balgam, 8'i (%3,3) bronkoalveolar lavaj (BAL), 2'si (%0,8) burun örneği idi. Örneklerin dağılımı Tablo 4' de gösterilmiştir.

Tablo 4. *Corynebacterium* izole edilen örneklerin dağılımı

Örnek Türü	Sayısı		P değeri
	n	%	
Apse	5	2,1	<0,001
BAL	8	3,3	
Balgam	32	13,3	
Burun	2	0,8	
Doku	6	2,5	
DTA	68	28,2	
İdrar	50	20,7	
Kan	37	15,4	
Katater	7	2,9	
SVS	3	1,2	
Yara	22	9,1	

BAL: Bronkoalveolar Lavaj, DTA: Derin Trakeal Aspirat, SVS: Steril Vücut Sıvısı

Çalışmaya dahil edilen *Corynebacterium* izolatlarının 101'i (%42,3) yoğun bakım, 61'i (%25,3) servis, 61'i (%25,3) poliklinik, 17'si (%7,1) acil hastalarından gönderilen örneklerden izole edilmiş olup çoğunluğu yoğun bakım üniteleri oluşturmaktadır. Kliniklerin 69'unu (%28,6) dahili yoğun bakım, 49'unu (%20,3) dahili servisler oluşturmakta olup, bu iki klinikte diğer kliniklerden istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla sayıda izolat saptanmıştır ($p<0,001$). Kliniklerin dağılımı Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5. *Corynebacterium* izole edilen örneklerin kliniklere göre dağılımı

Klinik	Sayısı		P değeri
	n	%	
Acil servis	17	7,1	<0,001
Dahili yoğun bakım	69	28,6	
Cerrahi yoğun bakım	9	3,7	
Anestezi yoğun bakım	23	9,5	
Dahili servisler	49	20,3	
Cerrahi servisler	12	5	
Dahili poliklinikler	41	17	
Cerrahi poliklinikler	20	8,3	

Corynebacterium türlerinin izole edildiği örnekler incelendiğinde en fazla sayıda izole edilen tür olan *C. striatum* izolatlarının 57'si (%40) derin trakeal aspirat, 18'i (%13) balgam, 19'u (%13) idrar, 16'sı (%11) kan, 16'sı (%11) yara, 6'sı (%4) doku, 5'i (%4) bronkoalveolar lavaj, 2'si (%2) apse, 1'i (%1) yara, 1'i (%1) steril vücut sıvısı örneklerinde üremiştir. *C. amycolatum*'un steril vücut sıvılarında, apse ve yara örneklerinde üremesi değerli olup sıklık sırasına göre izolatların 10'u (%29) idrar, 5'i (%14) katater, 4'ü (%12) kan, 4'ü (%12) yara, 3'ü (%9) balgam, 3'ü (%9) derin trakeal aspirat, 2'si (%6) apse, 2'si (%6) steril vücut sıvısı

örneklerinde üremiştir. *C. afermentans*'ın 13'ü (%52) kan, 1'i (%4) katater örneklerinde üremiştir. Kan kültürlerinden sonra *C. afermentans*'ın en sık izole edildiği örnek türü idrardır. *C. argentoratense* izolatlarının çoğu solunum yollarından, *C. coyleae*, *C. phoceense* ve *C. riegelii*'nin ise tamamı idrar örneklerinden izole edilmiştir. *C. mucifaciens* ve *C. singulare* izolatlarından birer adet olup iki türde kan örneğinde üremiştir. Genel toplam incelendiğinde kadın ve erkek cinsiyetlerdeki pozitiflik oranları arasında istatistiksel fark olmamakla birlikte *C. amycolatum* kadınlarda erkeklerden anlamlı olarak yüksek oranda saptanmıştır ($p=0,017$). Türlerin izole edildiği örneklere göre dağılımı, hastaların yaş ortalaması ve cinsiyet oranları Tablo 6' de gösterilmiştir.



Tablo 6. *Corynebacterium* türlerinin izole edildiği örneklerle göre dağılımı, hastaların yaş ortalaması ve cinsiyet oranları

Bakteri Adı	Bulunduğu örnek türü n(%)											Yaş ort.	Cinsiyet	
	Apse	Bal*	Balgam	Burun	Doku	Dta*	İdrar	Kan	Katater	SVS*	Yara		Kadın	Erkek
<i>C. accolens</i>	-	-	1(50)	-	-	-	1(50)	-	-	-	-	43	1(%0)	1(50)
<i>C. afermentans</i>	-	-	2(8)	-	-	3 (12)	6(24)	13(52)	1(4)	-	-	53,2	13(52)	12(48)
<i>C. amycolatium</i>	2(6)	1(3)	3(9)	-	-	3(9)	10(29)	4(12)	5(14)	2(6)	4(12)	49,6	24(71)	10(29)
<i>C. argentoratense</i>	1(12)	1(12)	4(52)	-	-	1(12)	-	1(12)	-	-	-	61,7	6(75)	2(25)
<i>C. aurimucosum</i>	-	-	-	-	-	-	2(50)	-	-	-	2(50)	63,7	1(25)	3(75)
<i>C. coyleae</i>	-	-	-	-	-	-	4(100)	-	-	-	-	13,5	4(100)	-
<i>C. glucuronolyticum</i>	-	-	-	-	-	-	1(100)	-	-	-	-	32	-	1(100)
<i>C. imitans</i>	-	-	1(25)	-	-	1(25)	1(25)	1(25)	-	-	-	58,5	-	4(100)
<i>C. mucifaciens</i>	-	-	-	-	-	-	-	1(100)	-	-	-	64	-	1(100)
<i>C. phoceense</i>	-	-	-	-	-	-	1(100)	-	-	-	-	55,5	-	2(100)
<i>C. propinquum</i>	-	1(20)	3(60)	1(20)	-	-	-	-	-	-	-	62,2	1(20)	4(80)
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	-	-	-	1(33)	-	2(67)	-	-	-	-	-	72,3	2(67)	1(33)
<i>C. riegelii</i>	-	-	-	-	-	-	3(100)	-	-	-	-	15	2(67)	1(33)
<i>C. simulans</i>	-	-	-	-	-	1(100)	-	-	-	-	-	57	-	1(100)
<i>C. singulare</i>	-	-	-	-	-	-	-	1(100)	-	-	-	66	1(100)	-
<i>Corynebacterium spp.</i>	-	-	-	-	-	-	1(100)	-	-	-	-	30	1(100)	-
<i>C. striatum</i>	2(2)	5(4)	18(13)	0(0)	6(%4)	57(40)	19 (13)	16(11)	1(1)	1(1)	16(11)	60,8	69(49)	72(51)

BAL: Bronkoalveolar lavaj, DTA: Derin trakeal aspirat, SVS: Steril Vücut Sıvısı

Corynebacterium türleri kültürde üreme şekillerine göre saf, etken ile birlikte ve polimikrobiyal olarak gruplandırıldığında; *C. coyleae*, *C. glucuronolyticum*, *C. mucifaciens*, *C. simulans*, *C. singulare* sadece saf kültür olarak üremiştir. *C. accolens* ve *C. phoceense*'nin ise sadece polimikrobiyal örneklerde üremesi görülmüştür. *C. afermentans* izolatlarının %68'i, *C. amycolatum* izolatlarının %53'ü saf kültürde, *C. striatum* izolatlarının ise %55'i saf kültürde üremiştir. *C. argentoratense* ve *C. propingum* izolatlarının ise çoğunluğu polimikrobiyal örnekte üremiştir. Türlerin gruplara göre dağılımı Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7. *Corynebacterium* türlerinin gruplara (saf/etken ile birlikte/polimikrobiyal) göre dağılımı

Bakteri Adı	Sayısı n(%)			Toplam
	Saf (n=132)	Etken ile birlikte (n=58)	Polimikrobiyal (n=50)	
<i>C. accolens</i>	-	-	2(100)	2(100)
<i>C. afermentans</i>	17(68)	4(16)	4(16)	24 (100)
<i>C. amycolatum</i>	18(53)	6(17)	10(30)	34(100)
<i>C. argentoratense</i>	1(12,5)	2(25)	5(62,5)	8(100)
<i>C. aurimucosum</i>	2(50)	2(50)	-	5(100)
<i>C. coyleae</i>	4(100)	-	-	4(100)
<i>C. glucuronolyticum</i>	1(100)	-	-	1(100)
<i>C. imitans</i>	2(50)	-	2(50)	4(100)
<i>C. mucifaciens</i>	1(100)	-	-	1(100)
<i>C. phoceense</i>	-	-	2(100)	2(100)
<i>C. propinqua</i>	2(40)	-	3(60)	5(100)
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	2(67)	1(33)	-	3(100)
<i>C. riegelii</i>	1(33,3)	1(33,3)	1(33,3)	3(100)
<i>C. simulans</i>	1(100)	-	-	1(100)
<i>C. singulare</i>	1(100)	-	-	1(100)
<i>Corynebacterium spp.</i>	1(100)	-	-	1(100)
<i>C. striatum</i>	78(55)	42(30)	21(15)	140(100)

Çalışmaya dahil edilen *Corynebacterium* izolatlarının antibiyotik direnç oranları gruplara (saf/etken ile birlikte/polimikrobiyal) göre incelendiğinde rifampisin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı direnç oranı polimikrobiyal grupta diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olarak saptanmıştır (sırasıyla, $p=0,003$, $p<0,001$). Diğer antibiyotiklere karşı direnç oranlarına bakıldığında (penisilin, siprofloksasin, moksifloksasin, klindamisin, linezolid) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (sırasıyla, $p=0,490$, $p=0,203$, $p=0,175$, $p=0,345$, $p=0,503$). Tüm izolatlarda en yüksek direnç oranı %96,7 ile penisiline karşı görülürken, klindamisine karşı %88,3, siprofloksasine karşı %86,3, moksifloksasine karşı %73,8, rifampisine karşı %62,5, tetrasikline karşı %59,2 ve linezolide karşı %0,8 oranında direnç görülmüştür. Saf gruptaki iki izolatta linezolid direnci görülürken,

tüm izolatlar vankomisine karşı duyarlı bulunmuştur. İzolatların antibiyotik direnç oranlarının dağılımı Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8. *Corynebacterium* izolatlarının antibiyotik direnç oranlarının gruplara (saf/etken ile birlikte/polimikrobiyal) göre dağılımı

Antibiyotikler	Saf (n=132)		Etken ile birlikte (n=58)		Polimikrobiyal (n=50)		P değeri	Toplam	
	n	%	n	%	n	%		n	%
Penisilin	129	97,7	56	96,6	47	94	0,490	232	96,7
Siprofloksasin	112	84,8	54	93,1	41	82,0	0,203	207	86,3
Moksifloksasin	99	75,0	46	79,3	32	64,0	0,175	177	73,8
Rifampisin	84	63,6	44	75,9	22	44	0,003	150	62,5
Klindamisin	116	87,9	54	93,1	42	84	0,345	212	88,3
Tetrasiklin	84	63,6	41	70,7	17	34	<0,001	142	59,2
Linezolid	2	1,5	-	0	-	0	0,503	2	0,8
Vankomisin	-	0	-	0	-	0	-	-	0

İzolatların vankomisin MİK değerlerine göre dağılımı incelendiğinde tüm izolatlar vankomisin duyarlı olup ($MİK \leq 2 \mu g/ml$) saf ve etken ile birlikte grupları arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır ($p=0,132$). Saf gruptaki izolatlar değerlendirildiğinde MİK değeri $<0,25 \mu g/ml$ olan izolat sayısı daha yüksek MİK değeri olan izolatlardan anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Etken ile birlikte olan izolatların MİK değeri $0,5 \mu g/ml$ ve $<0,25 \mu g/ml$ olanlarının miktarı arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,457$). Polimikrobiyal gruptaki izolatlar için sıvı mikrodilüsyon yöntemi uygulanmamıştır. İzolatların vankomisin MİK değerlerine göre dağılımı Tablo 9’de gösterilmiştir.

Tablo 9. *Corynebacterium* izolatlarının vankomisin MİK değerlerinin gruplara (saf/etken ile birlikte) göre dağılımı

Vankomisin MİK($\mu g/ml$)	Saf(n=132)		Etken ile birlikte(n=58)		P değeri	Toplam(n=190)	
	N	%	n	%		n	%
<0,25	82	62,1	29	50	0,132	111	58,4
0,5	47	35,6	25	43,1		72	37,9
1	1	0,8	3	5,2		4	2,1
2	2	1,5	1	1,7		3	1,6

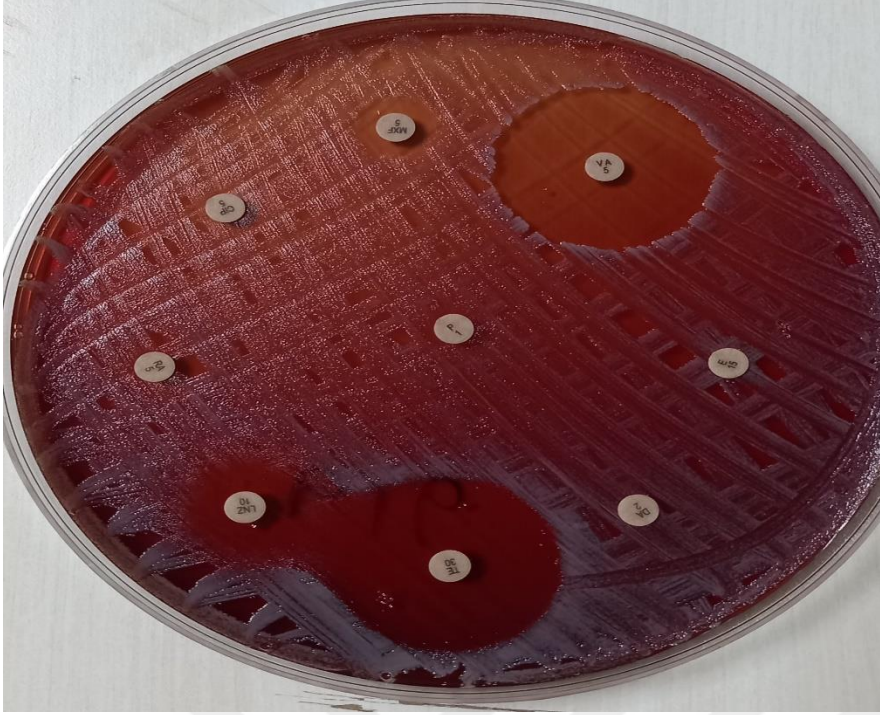
MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon

Türlere göre antibiyotik direnç oranlarına bakıldığında iki adet *C. afermentans* izolatında linezolid direnci görülmüştür (Şekil 6), diğer tüm izolatlar vankomisin ve linezolide karşı duyarlı bulunmuştur. *C. striatum* izolatlarında antibiyotik direnç oranları penisiline karşı %99, klindamisinine karşı %95, siprofloksasine karşı %88, moksifloksasine karşı %86, rifampisine karşı %84, tetrasikline karşı %82 olarak bulunmuştur. *C. amycolatum* izolatlarında penisilin

(%97), siprofloksasin (%94), klindamisin (%73), moksifloksasin (%47), rifampisin (%21), tetrasiklin (%15) antibiyotiklerine karşı direnç görülmüştür. *C. afermentans* için ise direnç oranları sıklık sırasına göre; penisilin ve klindamisine karşı %100, siprofloksasine karşı %92, moksifloksasine karşı %88, rifampisine karşı %72, tetrasikline karşı %44, linezolid karşı %0,8 idi. *C. imitans*, *C. propingum* ve *C. pseudodiphtheriticum* izolatlarında penisilin direnç oranı istatistiksel olarak anlamlı şekilde diğer izolatlardan düşük oranda saptanmıştır (p<0,001). Türlerin antibiyotik direnç oranları Tablo 10'de gösterilmiştir.

Tablo 10. *Corynebacterium* türlerine göre antibiyotik direnç oranları n(%)

Bakteri Adı	Penisilin	Siprofloksasin	Moksifloksasin	Rifampisin	Klindamisin	Tetrasiklin	Linezolid	Vankomisin
<i>C. accolens</i>	2(100)	2(100)	1(50)	0(0)	1(50)	0(0)	0(0)	0(0)
<i>C. afermentans</i>	25(100)	23(92)	22(88)	18(72)	25(100)	11(44)	2(8)	0(0)
<i>C. amycolatum</i>	33(97)	32(94)	16(47)	7(21)	25(73)	5(15)	0(0)	0(0)
<i>C. argentoratense</i>	8(100)	4(50)	2(25)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
<i>C. aurimucosum</i>	4(100)	3(75)	2(50)	2(50)	4(100)	4(100)	0(0)	0(0)
<i>C. coyleae</i>	4(100)	3(75)	3(75)	0(0)	4(100)	0(0)	0(0)	0(0)
<i>C. glucuronolyticum</i>	1(100)	1(100)	1(100)	0(0)	1(100)	1(100)	0(0)	0(0)
<i>C. imitans</i>	3(75)	3(75)	2(50)	0(0)	4(100)	0(0)	0(0)	0(0)
<i>C. mucifaciens</i>	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	0(0)	0(0)
<i>C. phoceense</i>	2(100)	2(100)	1(50)	1(50)	2(100)	0(0)	0(0)	0(0)
<i>C. propinquum</i>	2(40)	3(60)	1(20)	0(0)	3(60)	1(20)	0(0)	0(0)
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	1(33)	1(33)	1(33)	1(33)	3(100)	1(33)	0(0)	0(0)
<i>C. riegelii</i>	3(100)	2(67)	1(33)	0(0)	3(100)	0(0)	0(0)	0(0)
<i>C. simulans</i>	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	0(0)	0(0)
<i>C. singulare</i>	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	0(0)	0(0)
<i>Corynebacterium spp.</i>	1(100)	1(100)	1(100)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
<i>C. striatum</i>	140(99)	124(88)	121(86)	118(84)	134(95)	116(82)	0(0)	0(0)
P değeri	<0,001	0,034	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,164	-

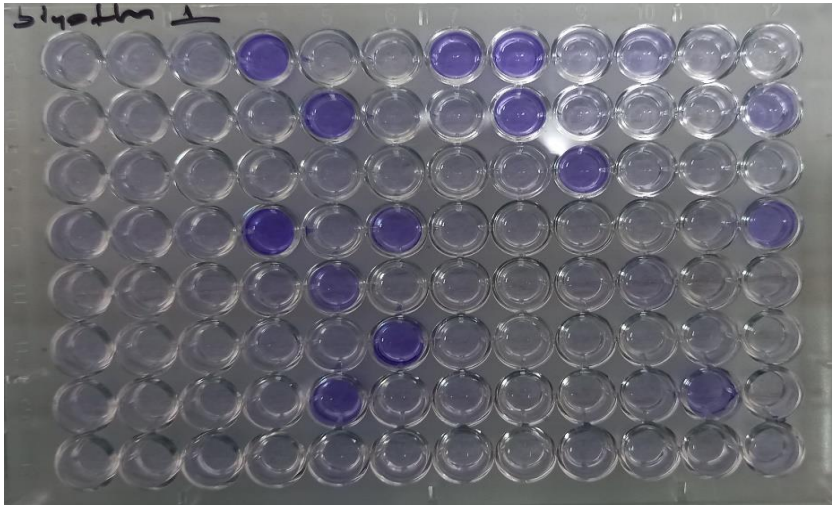


Şekil 6. Disk difüzyon yönteminde linezolid dirençli *C. afermentans* görüntüsü

Corynebacterium 'ların biyofilm oluşturma kapasiteleri incelendiğinde izolatların 45'i (%18,8) zayıf, 25'ü (%10,4) orta, 17'i (%7,1) güçlü biyofilm oluşturma özelliğine sahip olup toplamda 87 (%36,3) izolat biyofilm oluşturmuştur (Şekil 7). Biyofilm oluşturma kapasitelerinin gruplara göre dağılımına bakıldığında polimikrobiyal gruptaki izolatların biyofilm oluşturma oranı istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte diğer iki gruptan daha düşük oranda bulunmuştur ($p=0,077$). Güçlü biyofilm oluşturan izolatların çoğu saf grupta yer almaktadır. İzolatların biyofilm oluşturma kapasitelerinin gruplara göre dağılımı Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. *Corynebacterium* izolatlarının biyofilm oluşturma kapasitelerinin gruplara (saf/etken ile birlikte/polimikrobiyal) göre dağılımı

Biyofilm	Saf(n=132)		Etken ile birlikte(n=58)		Polimikrobiyal (n=50)		P değeri	Toplam(n=240)	
	n	%	n	%	n	%		n	%
Zayıf	18	13,6	19	32,8	8	16		45	18,8
Orta	20	15,2	3	5,2	2	4		25	10,4
Güçlü	11	8,3	4	6,9	2	4		17	7,1
Toplam	49	37,1	26	44,9	12	24	0,077	87	36,3



Şekil 7. 96 kuyucuklu U tabanlı mikropiplaklarda biyofilm oluşumu

Biyofilm oluşturma oranları *C. striatum*, *C. amycolatum* ve *C. afermentans* izolatları için sırasıyla; %42,6, %35,3, %28 olup, *C. imitans*, *C. propinquum*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. simulans*, *C. singulare*, *Corynebacterium* spp., izolatlarında da biyofilm oluşumu gözlenmiştir. *C. amycolatum* izolatlarının %20,6'sı güçlü biyofilm oluşturmıştır. Güçlü biyofilm oluşturan 17 izolatın sekizi *C. striatum*, yedisi *C. amycolatum*, biri *C. afermentans*, biri ise *C. pseudodiphtheriticum*'dur. *Corynebacterium* türlerine göre biyofilm oluşturma kapasiteleri Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 12. *Corynebacterium* türlerinin göre biyofilm oluşturma kapasiteleri

Bakteri Adı	Biyofilm							
	Zayıf		Orta		Güçlü		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>C. accolens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. afermentans</i>	5	20	1	4	1	4	7	28
<i>C. amycolatum</i>	1	2,9	4	11,8	7	20,6	12	35,3
<i>C. argentoratense</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. aurimucosum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. coyleae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. glucuronolyticum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. imitans</i>	-	-	1	25	-	-	1	25
<i>C. mucifaciens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. phoceense</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. propinquum</i>	2	40	1	20	-	-	3	60
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	1	33,3	-	-	1	33,3	2	66,6
<i>C. riegelii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. simulans</i>	1	100	-	-	-	-	1	100
<i>C. singulare</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Corynebacterium</i> spp.	0	0	1	100	0	0	1	100
<i>C. striatum</i>	35	24,8	17	12,1	8	5,7	60	42,6
P değeri								

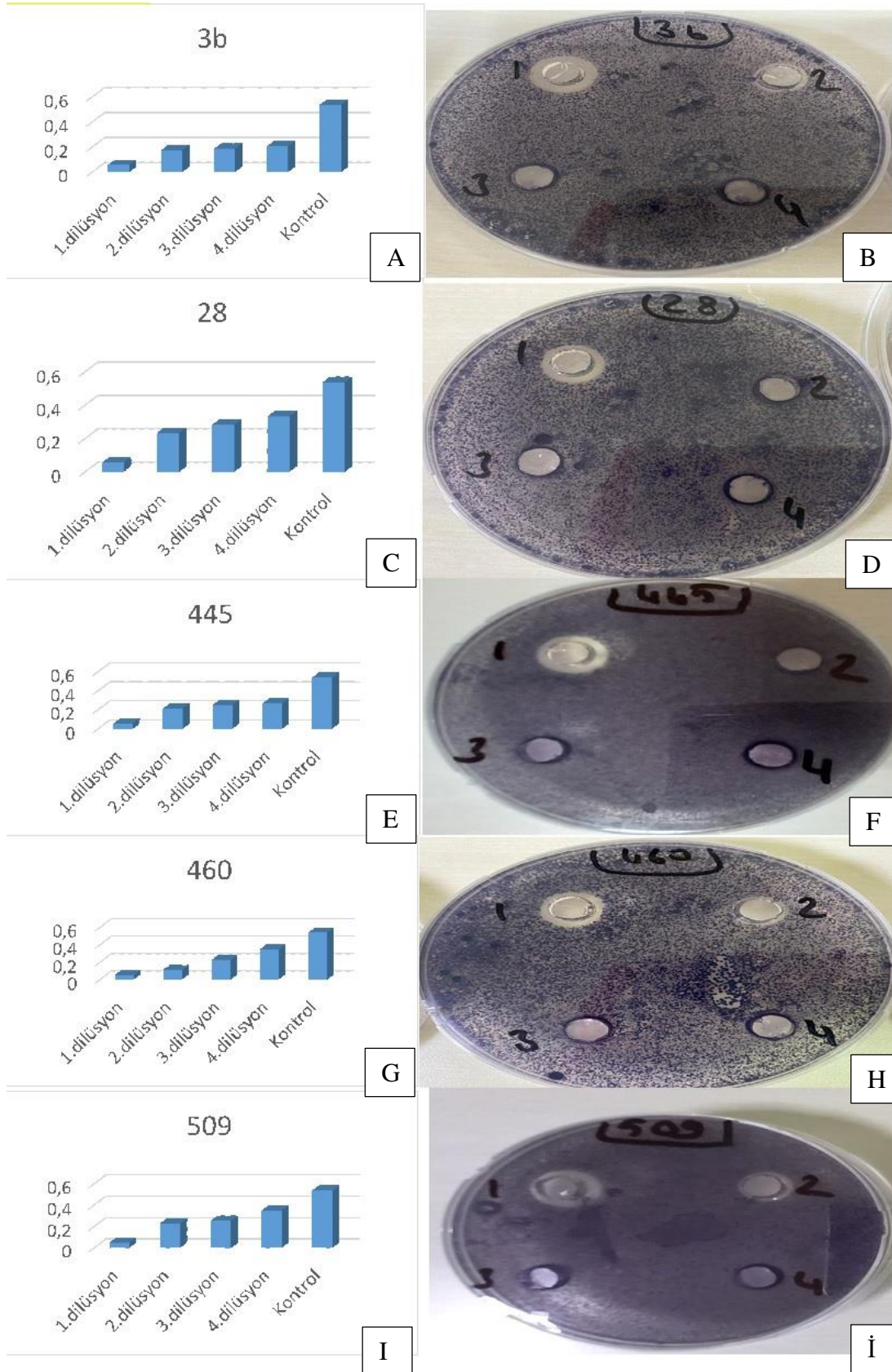
Biyofilm oluşturma kapasitelerine göre g     biyofilm oluştur n 17 adet izolatın anti-quorum sensing aktivitesine agar difüzyon yöntemi ile bakılmıştır. Ayrıca       olarak kullanılan DMSO kontrolü yapılmıştır (şekil 8). Bu yöntemle hiç bir *Corynebacterium* ekstraktının anti-quorum sensing aktivitesi bulunmamışken beş adet izolat ekstraktının antimikrobiyal etkisi görülmüştür (şekil 9). Agar difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal etki gözlenen petrilere bakteriyel üremenin olmadığı inhibisyon zon çapları ve ekstrakt konsantrasyonları Tablo 13’de gösterilmiştir. Antimikrobiyal etki gözlenen bakteri ekstraktlarının dört tanesi *C. amycolatum* bir tanesi ise *C. afermentans*’a aitti. Antimikrobiyal etki gözlenen bakteri ekstraktlarının, *Chromobacter violaceum*’un viyolesin pigment üretimine etkisi spektrofotometrik olarak     lm řt r. Ekstraktların antimikrobiyal etkisinden kaynaklanan viyolesin pigment üretimini azaltıcı etkisi tüm dilüsyonlarda görülmüş olup grafiklerle gösterilmiştir (şekil 9).

Tablo 13. *Corynebacterium*’ların agar difüzyon yöntemi ile anti-quorum sensing aktivitesine bakıldığında antimikrobiyal etki gözlenen izolatlarda     len inhibisyon zon çapı (mm) ve bakteriyel ekstraktların konsantrasyonu (mg/ml)

Bakteri No	Bakteri Adı	1. Dilüsyon		2. Dilüsyon		3. Dilüsyon		4. Dilüsyon	
		Zon �apı	Ekstrakt konsantrasyonu	Zon �apı	Ekstrakt konsantrasyonu	Zon �apı	Ekstrakt konsantrasyonu	Zon �apı	Ekstrakt konsantrasyonu
3b	<i>C. amycolatum</i>	13	100	11	50	-	25	-	12,5
28	<i>C. amycolatum</i>	12	85	-	42,5	-	21,25	-	10,625
445	<i>C. amycolatum</i>	13	75	-	37,5	-	19,75	-	9,875
460	<i>C. afermentans</i>	13	60	8.5	30	-	15	-	7,5
509	<i>C. amycolatum</i>	14	80	11	40	-	20	-	10



şekil 8. DMSO kontrolü (agar difüzyon yöntemi ile anti-quorum sensing aktivitesi bakılması)



Şekil 9. Agar difüzyon yöntemi ile anti-quorum sensing aktivitesi bakılması sonucunda antimikrobiyal etki gözlenen izolatlar ve viyolesin pigment üretimine etkisinin spektrofotometrik ölçümü (OD585). A, B: 3b numaralı izolat; C, D: 28 numaralı izolat; E, F: 445 numaralı izolat; G, H: 460 numaralı izolat; I, İ: 509 numaralı izolat.

5. TARTIŞMA

Korinebakteriler çoğu insan ve memelilerde deri ve mukoz membranların florasında bulunmaktadır (65). Laboratuvara gönderilen klinik örneklerde korinebakteriler izole edildiğinde klinik önemine karar vermek mikrobiyolog ve klinisyen için oldukça güç bir durumdur. Bu bakteriler günümüze kadar izole edildiği örneklerde kontaminant ya da kolonizan olarak değerlendirilmiş, *C. diptheriae* dışındaki diğer korinebakterilerin patojenik potansiyelleri göz ardı edilmiştir (66). Son yıllarda, uygulanan invaziv işlemler, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve immünsupresif hasta sayısının artması, *Corynebacterium* cinsi bakterilere bağlı enfeksiyon ve salgınların sayısında ciddi bir artışa neden olmuştur (67). Sadece immünsuprese bireylerde değil immünkompetan kişilerde de endokardit, septik artrit gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır (68,69).

McMullen ve ark (70) 2012-2015 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 256 adet *C. striatum* izolatının antimikrobiyal duyarlılıklarını retrospektif olarak inceledikleri çalışmada örnekleri monomikrobiyal ve polimikrobiyal olarak ayırmış *C. striatum* izolatlarının yaklaşık %46.1'ini monomikrobiyal kültürlerden, geri kalanını ise polimikrobiyal kültürlerden izole etmişlerdir. Abe ve ark (71) hematolojik bozukluğu olan bakteriyemik hastalarda, *Corynebacterium* türlerinin klinik özelliklerini ve ilaç duyarlılık paternlerini inceledikleri çalışmalarında 147 adet *Corynebacterium* bakteriyemisi tanımlamışlar ve olguların yaklaşık %20'sinde polimikrobiyal enfeksiyon bulmuşlardır. *Corynebacterium* ile birlikte en sık üreyen izolat ise *Enterococcus faecium* olarak belirtmişlerdir. Ergin ve ark (72) yoğun bakım hastalarının trakeal aspirasyon örneklerinden izole edilen *C. striatum* izolatları ile yaptıkları çalışmada örnekleri kültür şekline göre saf ya da başka bir bakteriyel etken ile birlikte olma durumlarını belirtmişlerdir. Çalışmaya dahil edilen altı izolatın üçü *Pseudomonas aeruginosa* ile birlikte, ikisi saf kültür, biri *Staphylococcus aureus* ile birlikte izole edilmiştir. Klinik örneklerden izole edilen *Corynebacterium* türlerinde biyofilm oluşumunun, anti-quorum sensing aktivitesinin ve antimikrobiyal direnç durumunun araştırıldığı çalışmamızda 240 adet *Corynebacterium* izolatı üredikleri kültür özelliğine göre; 138'i (%58) saf, 52'si (%22) etken ile birlikte ve 50'si (%20) polimikrobiyal grupta yer almıştır. İzole edildiğinde sıklıkla kontaminant olarak düşünülen *Corynebacterium*' ları mikrobiyoloji laboratuvarlarında değerlendirmeye alırken her zaman klinisyen ile iletişim kurulamayabilir ve kültür özelliği, mikroskopik incelemeler ön plana çıkabilmektedir. Böyle durumlarda genelde kültürde saf ve baskın olarak üreyen izolatlar daha çok işleme alınmaktadır. Ancak başka bir etken olduğu düşünülen bakteri ile birlikte üreyen *Corynebacterium* izolatları sıklıkla kontaminant olarak

düşünülp işleme alınmamaktadır. Çalışmamızda izolatların kültürdeki üreme şekline göre saf, etken ile birlikte ve polimikrobiyal gruplara ayrılarak saf olarak üremeyen *Corynebacterium*'ların patojenik potansiyeli hakkında fikir sahibi olunabileceği düşünülmüştür.

Günümüzde, *Corynebacterium* cinsi 132'den fazla oldukça çeşitli tür ve alt türe sahiptir (73). Son yıllarda *C. striatum* başta olmak üzere *C. jeikeum*, *C. amycolatum*, *C. urealyticum*, *C. afermentans*, *C. ulcerans*, *C. minutissimum*, *C. propinquum* ve *C. pseudodiphtheriticum* türleri artan sıklıkta enfeksiyon etkeni olarak bildirilmektedir (67). Dragomirescu ve ark (74) çalışmalarında Romanya'da yatan bireylerden ve ayaktan hastalardan toplanan klinik örneklerden izole ettikleri 20 *Corynebacterium* izolatının antimikrobiyal duyarlılıklarını araştırmışlar ve izolatları *C. striatum* (7), *C. amycolatum* (7), *C. urealyticum* (3), *C. afermentans* (2) ve *C. pseudodiphtheriticum* (1) olarak tanımlamışlardır. Olender (75) 2008-2011 yılları arasında 70'i burun, 70'i ise çeşitli klinik materyellerden elde ettiği *Corynebacterium*'lardaki antibiyotik direncini araştırdığı çalışmada en sık izole edilen türleri burunda; *C. pseudodifteriticum*, *C. accolens* ve *C. propinquum* iken diğer çeşitli klinik materyellerde ise; *C. amycolatum*, *C. striatum* ve *C. jeikeium* olarak bulmuştur. 2011-2016 yılları arasında Kanada'da bir halk sağlığı laboratuvarına gönderilen 1970 adet difteri dışı *Corynebacterium* izolatının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının değerlendirildiği çalışmada izolatların çoğunluğu *C. striatum* (%47) olarak tanımlanırken, bunu *C. pseudodiphtheriticum*/*C. propinquum* (%10.96), *C. amycolatum* (%9.64), *C. afermentans* (%5), *C. minutissimum* (%4), *C. jeikeium* (%4), *C. coyleae* (%3) ve *C. urealyticum* (%3) takip etmiştir. Tanımlanan diğer *Corynebacterium* türleri arasında *C. resistens*, *Corynebacterium* CDC grup G, *C. accolens*, *C. glucuronolyticum* da bulunduğunu belirtilmiştir (76). Chandran ve ark (77) klinik örneklerden izole edilen *Corynebacterium*'larda biyofilm oluşumu ve antimikrobiyal duyarlılıklarının değerlendirildiği çalışmada örneklerin çoğunu oluşturan yara örneklerinden izole edilen 100 izolatın %26'sı *C. pseudotuberculosis*, %23'ü *C. ülserans*, %20'si *C. renale*, %10'u *C. bovis*, geri kalanı ise *C. striatum*, *C. minutissimum*, *C. pseudodifteriticum* ve *C. haemolyticum* olarak tanımlanmıştır. Çaycı ve ark (67) 2014-2016 yılları arasında çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri toplam 199 *Corynebacterium* izolatının antibiyotik duyarlılıklarını değerlendirdiği çalışmada izolatların 123'ünü *C. striatum*, 7'sini *C. jeikeum*, 3'ünü *C. amycolatum*, 66'sını ise *Corynebacterium spp.* olarak tanımlamışlardır. Çelik ve ark (66) çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve anlamlı kabul edilen 107 *Corynebacterium* ile yaptıkları çalışmalarında izolatların %49,5'ini *C. striatum* olarak tanımlamışlardır. *C. amycolaticum*, *C. propinquum*, *C. afermentans*, *C. jeikeum*, *C. minutissimum*, *C. urealyticum* izolatları ise sırası ile %17,8, %10,3, %8,4, %6,5, %4,7 ve

%2,8 oranlarında tanımlamışlardır. Ocak 2016-Ekim 2017 tarihleri arasında, yoğun bakım ünitelerinden gönderilen, çeşitli klinik örneklerden 62 adet *Corynebacterium* cinsine ait mikroorganizma ile yapılan çalışmada izolatların 54'ü (%87,09) *C. striatum*, 4'ü (%6,45) *C. amycolatum*, 1'i (%1,62) *C. afermentans*, 1'i (%1,62) *C. aurimucosum*, 1'i (%1,62) *C. imitans*, 1'i (%1,62) *C. mucifaciens* olarak tanımlanmıştır (78). İskefyeli (79) ise tez çalışmasında 2017-2020 tarihlerinde çeşitli örneklerden klinik etken olarak izole edilmiş *Corynebacterium* cinsine ait 117 suşun; 95'i *C. striatum*, 7'si *C. afermentans*, 2'si *C. amycolatum*, 8'i *C. aurimucosum*, 2'si *C. pseudodiphtheriticum*, 2'si *C. jeikeum* ve 1'i *C. singulare* olarak tanımlamıştır. Yapılan birçok çalışma ile uyumlu olarak çalışmamızda da *C. striatum*, *C. amycolatum* ve *C. afermentans* en sık izole edilen türler olmuştur. Daha az sıklıkta görülen *C. coyleae*, *C. glucuronolyticum*, *C. riegelii*, *C. phoceense*, *C. simulans* ve *C. singulare* türlerinin de izole edilmesi değerlidir. Ancak çalışmalarda alınan örneğe göre kan, solunum yolu, yara örnekleri vb. türlerin de sıklıkları değişebilmektedir.

Korinebakterilerin laboratuvar tanısında gram boyama, biyokimyasal testler, otomatize sistemler, moleküler yöntemler kullanılmaktadır. Bao ve ark (80) 75 *Corynebacterium* izolatı ile yaptıkları çalışmada MALDI-TOF MS'in (BioMerieux, Fransa)(VITEK MS) *Corynebacterium*'u saptamadaki etkinliğini değerlendirmişler ve *rpoB* dizileme ile doğrulanan tüm suşları sırasıyla API Coryne (bioMerieux), Phoenix (BD) ve VITEK MS tarafından tanımlanmışlardır. *Corynebacterium*'un cins düzeyinde tanımlanmasında MS (%100, 75/75) veya Phoenix (%93,3, 70/75) arasında anlamlı bir fark olmadığını ($p=0.058$) ancak tür düzeyinde tanımlamada %92,0 (69/75) suş MS tarafından başarılı bir şekilde tanımlanırken Phoenix ve API tarafından sırasıyla %78,7 ve %65,3 oranında suş başarılı olarak tanımlandığını bulmuşlardır. Gen dizilimi ile karşılaştırıldığında, MS ile başarılı tanımlama oranının Phoenix ($P=0.036$) ve API'den ($P<0.001$) önemli ölçüde daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda da *Corynebacterium* türlerini tanımlamada güçlü bir araç olan matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) kullanılmıştır.

Corynebacterium'lar insanlarda deri, üst solunum yolu, gastrointestinal sistem ve ürogenital sistemde kolonize olurlar ve normal flora içerisinde kabul edilirler. Aynı zamanda kan, deri, solunum, idrar yolu gibi bölgelerde enfeksiyon etkeni olarak saptanabilmektedirler (14). Dragomirescu ve ark (74) çalışmalarına dahil ettikleri 20 *Corynebacterium* izolatını kan kültürü (6), peritoneal sıvı (2), idrar (3), yara (5), drenaj kateteri (1), perirektal apse (1), osteomiyelitten (1) ve konjonktival sekresyonlardan (1) izole etmişlerdir. Neemuchwala ve ark

(76), 1970 adet difteri dışı *Corynebacterium* izolatının antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının değerlendirildiği çalışmada izolatları ağırlıklı olarak kandan (%24,3), ardından balgam örneklerinden (%19,4) izole etmişlerdir. Ayrıca kemik (%4,9) ve eklem sıvısından (%2,0) çok sayıda izolat elde ettiklerini belirtmişlerdir. Chandran ve ark (77) *Corynebacterium*'larda biyofilm oluşumu ve antimikrobiyal duyarlılıklarının değerlendirildiği çalışmada izolatları apse, yara enfeksiyonları, kan, aspirasyon ucu, kateter ucu, kulak sürüntüleri, balgam örneklerinden izole etmişlerdir. Çaycı ve ark (67) 199 adet *Corynebacterium* izolatı dahil edilen çalışmalarında bakterileri en çok alt solunum yollarına ait örneklerden (%55,2) izole ederken, ikinci sırayı yara kültürü almıştır. Çalışmadaki örneklerin 110'u (%55,2) alt solunum yolu, 24'ü (%20) yara, 23'ü (%11,5) kan, 11'i (%5,5) idrar, 10'u (%5) kateter ucu, 5'i (%2,5) apse kültürlerinden oluştuğunu belirtmişlerdir. Çelik ve ark (66) 2015 ile 2016 yıllarında klinik olarak anlamlı kabul edilen korinebakterilerin antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmada suşların izole edildiği örneklerin dağılımını; yara yeri (%48,6), balgam (%22,4), kan (%11,2), idrar (%8,4), kateter (%7,5), steril sıvı (plevra, periton) (%1,9) şeklinde bulmuşlardır. Biçer (78), yoğun bakım ünitelerinden gönderilen, çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 62 adet *Corynebacterium* izolatının antibiyotik duyarlılığı ve moleküler özelliklerini araştırdığı tez çalışmasında suşların en sık izole edildiği örnek türünü solunum sekresyon örneği (%55) (endotrakeal aspirat 32, bronkoalveolar lavaj 2, balgam 1 adet olmak üzere) olarak bulmuşlardır. Örneklerin %12'si steril vücut sıvıları (Batin sıvısı, dren sıvısı, periton sıvısı, safra sıvısı), %11'i kan kültürü, %6'sı kateter ucu, %6'sı doku-abse örnekleri olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmadaki *Corynebacterium*'ların en az izole edildiği klinik örnek ise idrar olarak belirtilmiştir. Çalışmamızda, laboratuvara enfeksiyon şüphesi nedeniyle gönderilen klinik örneklerden *Corynebacterium* izole edilme sıklığı DTA ve idrar örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuş olup özellikle ulusal çalışmalarla uyumlu olarak solunum örneklerinin oranı yüksek saptanmıştır. Çalışmamızdan farklı olarak yurt dışında yapılan çalışmalarda *Corynebacterium* izole edilme sıklığı açısından idrar örnekleri son sıralarda, kan kültürleri ise ilk sıralardadır yer almaktadır. Bu durum çalışmaların yapıldığı bölgeye göre *Corynebacterium*'ların izole edildiği örnek türü açısından sıklık sırasında farklılık olabileceğini göstermiştir.

İmmüsupresif, hastanede uzun süredir yatan, uzamış geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı olan hastalarda ve yoğun bakım ünitelerinde *C. striatum* gibi *Corynebacterium* türlerinin neden olduğu birçok salgın bildirilmiştir (81). Asgin ve Otlı (82) 81 adet *C. striatum* izolatının antimikrobiyal direnç ve moleküler epidemiyolojisini araştırdıkları çalışmada

bakterilerin %84'ünü yoğun bakım, %16'sını ise servislerden izole ettiklerini bildirmişlerdir. Çaycı ve ark. (67) 2014 ile 2016 yılları arasında çeşitli kliniklerden gönderilen örneklerde izole edilen *Corynebacterium*'ları inceledikleri çalışmada korinebakterilerin en çok izole edildiği örneklerin geldiği bölümlere göre dağılımına bakıldığında 199 izolatın 106'sı (%53,2) dahili, 58'i (%29,1) cerrahi, 35'i (%17,5) yoğun bakım birimlerinden gönderildiğini belirtmişlerdir. Aşgın (83) 2017-2018 yılları arasında 235 adet *C. striatum*'un invitro antibiyotik direnç profilini araştırdığı çalışmada, izolatların 166'sı (% 71) yoğun bakım ünitelerinden, 69'u (% 29) ise servislerden elde edilmiştir. Suşlar en sık cerrahi yoğun bakım, dahili yoğun bakım ve palyatif bakım ünitesinden izole edilmiş olup; bu oranları sırasıyla % 27, % 26 ve % 14 olarak bulmuşlardır. Özdemir ve ark (84) ise 2015-2020 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen 126 *Corynebacterium* suşunun antibiyotik direnci ve biyofilm oluşumlarını inceledikleri çalışmada 82 (%65) hastanın dahiliye servislerinden, 44 (%35) hastanın ise yoğun bakımdan olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda diğer çalışmalarla uyumlu olarak yoğun bakımdan gelen örnekler çoğunluğu oluşturmaktadır. Klinik olarak enfeksiyon şüphesi olan hastalardan ve izole edilen *Corynebacterium*'ların etken olma olasılığı yüksek olabilecek yoğun bakım gibi bölümlerden gelen örneklerin yüksek oranda olması değerlidir. Ancak virulans ve etken/flora ilişkisini inceleyebilmek için etken olma olasılığı az olan diğer servislerden gelen örnekler de çalışmaya dahil edilmiştir.

Laboratuvarlarda en sık izole edilen korineform bakterilerden biri *C. striatum*'dur. İnsan deri ve mukoz membran florasında ve çevrede yaygın olarak bulunmaktadır. *C. striatum* çeşitli klinik enfeksiyonlar ve hastane salgınları ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar hem immunsuprese hem immun sağlam kişilerde görülen sepsis, solunum yolu enfeksiyonu, enfektif endokardit, artrit, selülit, kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu, menenjit, deri enfeksiyonu, osteomyelit, abse ve yara enfeksiyonudur (24). Wang ve ark (85) Çin'de üçüncü basamak bir hastaneden izole edilen kinolon dirençli 410 adet *C. striatum* suşlarında gyrA genindeki mutasyonun araştırıldığı çalışmada örneklerin dağılımını balgam (%88,3), yara (%4,1), BAL (%1,5), kan (%1,2), apse (%1,0), idrar (%0,7), kateter (%0,7), nazofaringeal sürüntü (%0,7), drenaj (%0,7), hidrotoraks ve asit (%0,5), beyin omurilik sıvısı (%0,5) şeklinde belirtmişlerdir. Milosavljevic ve ark (86) invaziv *C. striatum* enfeksiyonlarını ele aldıkları derlemede izolatları en yaygın olarak kan örneklerinden (%28,2) izole etmiş olup, bunu kemik ve eklem enfeksiyonları (%15,3), balgam (%14,1), bronşiyal aspirat, intra ve postoperatif örnekler izledi. Mumcuoğlu ve ark (21) 2010-2014 yılları arasında izole edilen 746 *C. striatum* suşunu değerlendirdikleri çalışmada izolatların 369 (%49,5)'u yara, 149 (%20,0)'u trakeal aspirat, 140 (%18,8)'ı kan, 38 (%5,1)'i steril vücut sıvısı, 31 (%4,2)'i idrar, 19 (%2,5)'u abse örneklerinden

izole etmişlerdir. Aşgın (83) 2017-2018 yılları arasında *C. striatum*'un invitro antibiyotik direnç profilini araştırdığı çalışmada toplam 235 *C. striatum* izolatının 97'sini (% 41) solunum yolu örneklerinden (Endotrakeal aspirat, balgam, bronkoalveoler lavaj sıvısı), 74'ünü (% 32) kan kültüründen ve 64'ünü (% 27) yara örneklerinden izole etmiştir. Aşgın ve Otlı (82) 2018-2019 yılları arasında yaptıkları çalışmada, 81 *C. striatum* izolatının 35'i (%43,2) kandan, 35'i (%43,2) solunum örneklerinden (endotrakeal aspirat, balgam, bronkoalveoler lavaj sıvısı) ve 11'i (%13,6) yaralardan elde etmişlerdir. Çalışmamızda *Corynebacterium* türlerinin izole edildiği örnekler incelendiğinde en fazla sayıda izole edilen tür olan *C. striatum* izolatları derin trakeal aspirat (%40), balgam (%13), idrar(%13), kan (%11), yara (%11) ve diğer klinik örneklerde (doku, bronkoalveolar lavaj, apse, yara, steril vücut sıvısı) üremiştir. Literatüre bakıldığında çoğu çalışmayla uyumlu olarak çalışmamızda da *C. striatum* en çok solunum yollarından izole edilmiştir. Ancak çalışmamızda daha az olan yara ve kan gibi örneklerden izolasyon sıklığı bazı çalışmalarda ilk sıralarda yer almaktadır.

C. amycolatum, insan derisi mikrobiyomunun bir parçasıdır ve insan klinik materyalinde en sık karşılaşılan *Corynebacterium* türüdür (2). Bakteri duvar yapısı mikolik asitlerden yoksun, lipofilik olmayan bir *Corynebacterium* olan *C. amycolatum*, artık insanlarda yaygın bir fırsatçı patojen olarak kabul edilmektedir (87). *C. amycolatum* son yıllarda sepsisemi, endokardit, menenjit, septik artrit ve idrar yolu enfeksiyonları ile ilişkilendirilmiştir (29). Dragomirescu ve ark (74) çalışmalarında 2020 yılında çeşitli klinik örneklerden 7 adet *C. amycolatum*'un kan (2), periton sıvısı (2), osteomiyelit (1), perirektal abse (1) ve idrar örneğinden (1) izole etmişlerdir. Kalt ve ark (88) 2006-2015 yılları arasında ortopedi servisinde alınan ve *Corynebacterium* üremesi olan tüm kemik ve eklem örneklerini retrospektif olarak değerlendirdikleri çalışmada, ortopedik enfeksiyon şüphesi olan 97 vakada en sık olarak *C. tuberculostearicum* (26), *C. amycolatum* (17), *C. striatum* (13) veya *C. afermentans*'ı (11) tek patojen olarak bulmuşlardır. Ekşi (89) 2003 yılında yaptığı tez çalışmasında 56 adet *C. amycolatum* izole ettiği örneklerin dağılımını idrar (%92,8), kan (%3,6) ve üretral akıntı/semen (%3,6) olarak belirtmiştir. Çalışmamızda *C. amycolatum*'un steril vücut sıvılarında, apse ve yara örneklerinde üremesi değerli olup sıklık sırasına göre izolatlar idrar(%29), katater (%14), kan (%12), yara (%12), balgam (%9), derin trakeal aspirat (%9), apse (%6), steril vücut sıvısı (%6) örneklerinde üremiştir. Steril vücut sıvılarından yapılan kültürlerde *C. amycolatum* üremelerinin görülmesi, izolatların %35,3 oranında biyofilm oluşturması, diğer çalışmalarda da görüldüğü gibi apse, yara gibi örneklerde görülen üremelerin muhtemel etken olarak düşünülmesi gerektiğini göstermiştir.

C. afermentans, insanda deri mikrobiyomunun bir parçasıdır ve şimdiye kadar esas olarak kan kültürlerinden izole edilmiştir (2). Olender (75) *Corynebacterium*'lardaki antibiyotik direncini araştırdığı çalışmada birini kulak birini ise diyaliz sıvısından toplam iki adet *C. afermentans* izole etmiştir. Riegel ve ark (90) ise *C. afermentans* izolatlarını sadece kan kültürlerinden izole ettiklerini belirtmişlerdir. Özdemir ve ark (84) kan kültürlerinden izole edilen 126 *Corynebacterium* suşu ile yaptıkları çalışmada *C. striatum* ve *C. matruchotii*' den sonra üçüncü sıklıkta olarak izolatların %14'ünü *C. afermentans* olarak tanımlamışlardı. Yapılan çalışmalarla uyumlu olarak çalışmamızda da *C. afermentans* izolatlarının %52'si kan kültürlerinde izole edilmiştir.

Corynebacterium türleri kültürde üreme şekillerine göre saf, etken ile birlikte ve polimikrobiyal olarak gruplandırıldığında patojenik potansiyeli yüksek olan *C. afermentans* izolatlarının %68'i, *C. amycolatum* izolatlarının %53'ü, *C. striatum* izolatlarının ise %55'i saf kültürde üremiştir. Daha çok kontaminasyon olarak düşünülen *C. argentoratense* ve *C. propingum* izolatlarının ise çoğunluğu polimikrobiyal örnekte üremiştir. Özellikle yoğun bakım ünitelerinden gelen örneklerde ve polimikrobiyal olmayan üremelerde izole edilen korinebakterilerin işleme alınmasının uygun olabileceğini düşündürmektedir.

Endojen nitelikteki enfeksiyonların potansiyeli, florada yer alan *Corynebacterium* suşlarına ve antibiyotiklere karşı dirençlerine bağlıdır. *Corynebacterium* spp.'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi ile ilgili en ciddi sorunlardan biri, çoklu ilaca dirençli türlerin klinik materyalden izole edilmesi ve belirli bir enfeksiyon türü için uygun antibiyotik tedavisinin seçilmesidir. Yüksek düzeyde antibiyotik direnci hakkındaki bilgiler *Corynebacterium* spp. türleri üzerinde yapılan çalışmaların sonuçlarına dayanmaktadır (75). Sun ve ark (91) hastanede yatan klinik üriner sistem enfeksiyonları olan hastaların steril orta akım idrarından izole edilen difteri dışı *Corynebacterium* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarını, ilaç direnç mekanizmalarını ve biyofilm oluşum kapasitelerini araştırdıkları çalışmalarında 45 izolatın antimikrobiyal direnç oranlarını siprofloksasin, klindamisin, penisilin, tetrasikline, rifampisine için sırasıyla %93,3, %91,1, %66,7, %37,8, %13,3 olarak bulmuşlar ve tüm izolatların vankomisin ve linezolidde duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Neemuchwala ve ark (76) 2011-2016 yılları arasında izole edilen 1970 adet *Corynebacterium* izolatının antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmada tüm izolatları vankomisin ve linezolid duyarlı olarak bulmuşlardır. Antibiyotik direnç oranlarını ise klindamisin, penisilin, siprofloksasin, moksifloksasin, tetrasiklin ve rifampisine için sırasıyla %91,3, %85,5, %73,1, %72,3, %35,8 ve %8,6 olarak bildirmişlerdir. Çaycı ve ark (67) 2014-2016 yılları arasında etken olarak kabul ettikleri 199 *Corynebacterium* izolatını değerlendirdikleri çalışmada izolatların antibiyotik

direnç oranları siprofloksasin, klindamisin, penisilin, rifampisin, gentamisin, tetrasiklin ve linezolid için sırasıyla %97,7, %96,3, %95,4, %89,6, %75, %69,5, %0,5 olarak bulmuş olup, bir izolatın linezolid dirençli olduğunu, tüm izolatların ise vankomisin duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Özdemir ve ark (84) 2015-2020 yılları arasında yatarak tedavi gören bakteriyemili hastaların kan kültürlerinden izole ettikleri 126 *Corynebacterium* suşunun antimikrobiyal direnç oranlarını ve biyofilm kapasitelerini araştırdıkları çalışmada penisilin, klindamisin, siprofloksasin, rifampisin, tetrasiklin ve gentamisin direnç oranlarını sırasıyla %91,2, %87,3, %79,3, %56,3, %45,2 ve %39,6 olarak tespit etmişler ve suşların tamamının vankomisin ve linezolid duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Çelik ve ark (66) ise klinik olarak anlamlı kabul edilen 107 adet *Corynebacterium* izolatının antimikrobiyal duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmada türlerin tamamının vankomisin ve linezolid duyarlı olduğunu, siprofloksasin, rifampisin, tetrasiklin ve klindamisin için %90 ile %100 arasında direnç oranları bildirmişlerdir. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak en yüksek direnç oranları penisilin (%96,7), klindamisin (%88,3), siprofloksasin (%86,3) antibiyotiklerine karşı görülmüş olup tüm izolatlar vankomisine duyarlı bulunmuştur. Vankomisin için hem disk difüzyon hem de sıvı mikrodilüsyon yönteminde tüm izolatların duyarlı bulunmasına rağmen bazı suşlarda MİK değerlerinin yüksek çıkması tedavi dozuna yön vermesi açısından vankomisin direncinin araştırılmasında sıvı mikrodilüsyon yönteminin kullanılmasının daha uygun olabileceğini düşündürmektedir. Yurt dışında yayınlanan çalışmalarda rifampisin direnç oranları oldukça düşük iken çalışmamızda ve yurt içinde yapılan çalışmalarda bu oranın daha yüksek olması dikkat çekmektedir. Literatür tarandığında hemen hemen bütün *Corynebacterium* izolatları linezolid karşı duyarlı bulunmuşken sadece bir çalışmada dirençli suş rapor edilmiştir, bu durum çalışmamızın linezolid dirençli *Corynebacterium* bildiren ikinci çalışma olduğunu göstermektedir.

Çoklu ilaç dirençli (MDR) enfeksiyonlarda *C. afermentans*, *C. amycolatum*, *C. jeikeium*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. striatum* ve *C. urealyticum* sıklıkla etken olarak bildirilmiştir. Çoklu ilaç direnci profiline sahip *C. striatum*, nozokomiyal ve toplum kökenli enfeksiyonlarda hastaların solunum yollarından izole edilmiştir (73). McMullen ve ark (70) *C. striatum* izolatlarının antimikrobiyal direnç profilini araştırdıkları çalışmada direnç oranını klindamisin, siprofloksasin, penisilin ve tetrasiklin antibiyotikleri için sırasıyla %99, %93, %84 ve %62 olarak bulmuş olup tüm izolatları vankomisin, tetrasiklin ve linezolid duyarlı olarak bildirmişlerdir. Öcalan ve ark (92) çeşitli klinik örneklerden izole edilen 58 adet *C. striatum* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları, biyofilm üretimi ve klonal analizlerini değerlendirdiği çalışmada antibiyotik direnç oranlarını siprofloksasin için %96,6, penisilin, klindamisin,

tetrasiklin ve rifampine için %87,9 olarak tespit etmiş olup tüm izolatların vankomisin ve linezolide duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Asgın ve Otlı (82) çeşitli klinik örneklerden izole edilen 81 adet *C. striatum* izolatının antimikrobiyal direnç ve moleküler epidemiyolojisini araştırdıkları çalışmada izolatların tamamını penisilin, siprofloksasin ve tetrasikline karşı dirençli, ancak vankomisin ve linezolide duyarlı olarak bildirmişlerdir. Gentamisin, eritromisin ve klindamisin direnç oranlarını ise sırasıyla %34,6, %79 ve %87,7 olarak belirtmişlerdir. Çelik ve ark (66) farklı klinik örneklerden izole edilen 107 adet *Corynebacterium* türünün antimikrobiyal duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmada 53 adet *C. striatum* izole etmişler ve penisilin (%100), moksifloksasin (%94,3), siprofloksasin (%92,4), klindamisin (%90,6), rifampisin (%90,6) ve tetrasikline (%88,7) karşı çeşitli değişen direnç oranları bulmuşlardır. Çalışmamızda ise *C. striatum* izolatlarında antibiyotik direnç oranları sırasıyla penisilin, klindamisin, siprofloksasin, moksifloksasin, rifampisin, tetrasiklin için %99, %95, %88, %86, %84, %82 olarak bulunmuş olup literatürle uyumlu olarak özellikle yurt içinde yapılan çalışmalarla benzer şekilde direnç oranlarının %80'nin üzerinde olduğu görülmektedir. Literatürle uyumlu olarak tüm suşlar vankomisin ve linezolid duyarlıdır. *C. striatum* için ampirik tedavi uygulanırken yüksek direnç oranları dikkate alınması gerekmektedir.

C. amycolatum izolatları sıklıkla β laktamlar, makrolidler, klindamisin, aminoglikozidler, kinolonlar ve rifampisine karşı çoklu ilaç direnci fenotipleri gösterir (74). Neemuchwala ve ark (76) *Corynebacterium*'ların antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmada 190 adet *C. amycolatum* izolatının penisilin, klindamisin, siprofloksasin, moksifloksasin tetrasiklin ve rifampisin antibiyotikleri için direnç oranlarını sırasıyla %89,5, %79,5, %73,2, %72,6, %14,2 ve %1,6 olarak bildirmişlerdir. Çelik ve ark (66) farklı klinik örneklerden izole ettikleri 19 adet *C. amycolatum* suşlarında antibiyotik direnç oranlarını penisilin, moksifloksasin, klindamisin, siprofloksasin, , tetrasiklin ve rifampisin antibiyotiklerine için sırasıyla %100, %94,7, %94,7, %89,5, %89,5 ve %84,2 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise literatürle uyumlu olarak *C. amycolatum* izolatlarında penisilin (%97), siprofloksasin (%94), klindamisin (%73) direnci oldukça yüksek olup moksifloksasin (%47), rifampisin (%21), tetrasiklin (%15) antibiyotiklerine karşı direnç oranlarında yapılan çalışmalarda farklılıklar gözlenmektedir.

Çelik ve ark (66) 2014 yılında klinik örneklerden izole ettikleri *C. afermentans* suşlarında antibiyotik direnç oranlarını penisilin, rifampisin, klindamisin, moksifloksasin, siprofloksasin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı sırasıyla %100, %100, %88,9, %77,8, %77,8 ve %66,7 olarak bildirmişlerdir. Ölmez ve ark (93) 2015-2017 yılları arasında kan ve kateter kültürü örneklerinden izole edilen *C. afermentans* ve *C. mucifaciens* bakterilerinin

tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler, otomatize sistemler ve dna dizi analizi yöntemlerini karşılaştırdığı çalışmada *C. afermentans subsp. afermentans* olarak tanımlanan 45 izolatın tamamının; penisilin, eritromisin ve klindamisin antibiyotiklerine dirençli; vankomisin ve daptomisine duyarlı olduklarını tespit etmişlerdi. Çalışmamızda ise iki adet *C. afermentans* izolatında linezolid direnci görülmüş olup diğer tüm izolatlar vankomisin ve linezolide karşı duyarlı bulunmuştur. *C. afermentans* için ise direnç oranları sıklık sırasına göre penisilin, klindamisin, siprofloksasin, moksifloksasin, rifampisin, tetrasiklin ve linezolid için %100, %100, %92, %88, %72, %44, %0,8 idi. Literatür tarandığında çalışmamız linezolid dirençli *Corynebacterium* (*C. afermentans*) bildiren ikinci çalışma olarak görülmektedir.

Rifampisin ve tetrasikline karşı direnç oranı polimikrobiyal grupta diğer gruplara göre anlamlı şekilde düşük olarak saptanmıştır. Tüm *Corynebacterium*'lar düşünüldüğünde en yüksek direnç oranları penisilin, klindamisin, siprofloksasine karşı görülmüştür. Özellikle yurt içinde yapılan çalışmalarla uyumlu olarak *C. striatum* izolatlarında penisilin, klindamisin, siprofloksasin, moksifloksasin ve rifampisin *C. amycolatum* izolatlarında penisilin, siprofloksasin ve klindamisin, *C. afermentans* izolatlarında ise penisilin, klindamisin, siprofloksasin ve moksifloksasin direnç oranları %80'nin üzerinde bulunmuştur. Bu durum antimikrobiyal duyarlılık testlerinin çalışılmasının gerekliliğini göstermektedir.

Mikrobiyal enfeksiyonların patogenezi anlamak amacıyla yapılan bilimsel araştırmalarda önceleri patojen mikroorganizmaların yalnızca planktonik formları dikkate alınmışsa da günümüzde gelişen teknoloji ve mikroskobik yöntemler sayesinde mikrobiyal biyofilmlerin enfeksiyonlar açısından önemi ortaya konmuştur. Biyofilm yapısı konakçı immün sistemiyle etkileşerek immün yanıt oluşumuna neden olan ciddi bir enfeksiyon ve enflamasyon etkeni olarak kabul edilmektedir (41). Biyofilm enfeksiyonlarında, etken mikroorganizma normal flora üyesi veya nozokomiyal bir patojen olabilmektedir. Biyofilm enfeksiyonlarında sıklıkla etken olan mikroorganizmalar arasında koagülaz negatif stafilokoklar, *S. aureus*, streptokoklar, *P. aeruginosa*, enterokoklar, *Candida spp.*, *E. coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Propionibacterium acnes* sayılabilmektedir (94). Oin ve ark (95) hastanede yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen çoklu ilaca dirençli *Corynebacterium spp.*'nin biyofilm oluşturma oranını %80,4 olarak bulmuş, bunların %64,3'nü *C. striatum* olarak tanımlamışlardır. Özdemir ve ark (84) kan kültürlerinden izole edilen 126 *Corynebacterium* suşunun antimikrobiyal duyarlılık ve biyofilm oluşumlarını araştırdıkları çalışmada tüm izolatların %50,8'nin biyofilm oluşturduğunu bulmuşlardır. Biyofilm oluşturma oranlarını sırasıyla *C. striatum* *C. matruchotii* *C. afermentans* *C. amycolatum*, *C. jeikeium* için sırası ile %62, %53,8, %50, %50, %46 olarak tespit etmişlerdir. *C. mucifaciens*, *C. kutscheri*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. xerosis*, *C. imitans*,

C. minutissimum izolatlarında da biyofilm oluşumunu göstermişlerdir. İzole ettikleri *C. singulare*, *C. aquaticum*, *C. aurimucosum*, *C. propinquum*, *C. bovis* suşları ise biyofilm oluşturmamıştır. Öcalan ve ark (92) çeşitli klinik örneklerden izole edilen *C. striatum* suşlarını etken ve kontaminasyon/kolonizasyon olarak iki gruba ayırmıştır. Çalışmaya dahil ettikleri 58 *C. striatum* izolatının 36 (%62.1)'sında biyofilm oluşumunu pozitif olarak bildirilmiştir. Biyofilm oluşturan izolatların 23 (%63.9)'ünün etken grubunda yer aldığını, biyofilm oluşumu ile etken grupta olma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda ise *Corynebacterium*'ların biyofilm oluşturma kapasiteleri incelendiğinde izolatların %36,3'sı biyofilm oluşturmıştır. Biyofilm oluşturma kapasitelerinin gruplara göre dağılımına bakıldığında polimikrobiyal gruptaki izolatların biyofilm oluşturma oranı istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte diğer iki gruptan daha düşük oranda bulunmuştur. Güçlü biyofilm oluşturan izolatların çoğu saf grupta yer almaktadır. Biyofilm oluşturma oranları *C. striatum*, *C. amycolatum* ve *C. afermentans* izolatları için sırasıyla; %42,6, %35,3, %28 idi. *C. amycolatum* izolatlarının %20,6'sı güçlü biyofilm oluşturmıştır. Literatüre bakıldığında değerlendirilen klinik örnek türüne ve *Corynebacterium* türüne göre biyofilm oluşum oranlarında farklılıklar gözlenmektedir. Biyofilm oluşumunun katater, yabancı cisim enfeksiyonları başta olmak üzere birçok enfeksiyona sebep olabilmesi, ilaç direnci, dezenfektanlara direnç gibi konularda önemli role sahip olması nedeniyle *Corynebacterium* nedenli enfeksiyonlarda, özellikle tedavi seçiminde, biyofilm oluşturma potansiyeli de akılda tutulmalıdır.

Hem antibiyotik direnç oranlarına hemde biyofilm oluşturma oranlarına bakıldığında kültürde etken ile birlikte üreyen *Corynebacterium*'ların saf kültür olarak üreyen *Corynebacterium*'lar ile benzer özellikler gösterdiği, iki grubun da polimikrobiyal olarak üreyen *Corynebacterium*'lardan daha yüksek oranda biyofilm yaptığı ve antibiyotik direnç oranına sahip olduğu görülmüştür. Sadece saf olarak üreyen *Corynebacterium*'lar değil başka bir patojen olduğu düşünülen bakterinin yanında üreyen *Corynebacterium*'ların da dikkate alınması gerektiği düşünülmüştür. *C. striatum*, *C. amycolatum* ve *C. afermentans* izolatlarında biyofilm oluşumları ve antibiyotik direnç oranlarına bakıldığında özellikle bu türlerin kontaminasyon olarak gözardı edilmemesi, çoklu ilaç direnci profiline sahip olabilmeleri nedeniyle tür tayini yapılması ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinin çalışılması gereklidir.

Bakterilerde hücre-hücre iletişimi sinyal molekülleri aracılığıyla sağlanmaktadır. Bakteri sayısı arttıkça hücre dışına salınan sinyal moleküllerinin sayısı da artmakta ve bu artış algılanabilmektedir. Bakterilerin, belli bir yoğunlukta bu sinyalleri algılayarak çeşitli

davranışlar sergilemesi “çoğunluğu algılama” veya “Quorum-sensing (QS)” olarak adlandırılmaktadır. QS mekanizması ile bakteriler kendi çevresini izlemekte, popülasyon yoğunluğu hakkında bilgi almakta ve bu bilgileri yeri gelince gen ifadesini düzenlemede kullanılmaktadırlar (96,97). QS süreci sırasında, sinyal molekülleri yeni bakteri reseptörlerine bağlanır ve tek bir bakteri türü içinde ve türler arası iletişimi sağlayan farklı bakteri türleri arasında genlerin transkripsiyonuna yol açar (98). Bunun yanı sıra virülans faktörleri, dezenfektan toleransı, spor oluşumu, toksin üretimi, hareketliliğin düzenlenmesini gibi hücresel süreçlerde de etkilidir (99,100). QS inhibitörleri biyofilm oluşumunu engellediğinden ve bakteriyel virülansı azalttığından, patojenlerin biyofilm oluşumunu inhibe etmek ve bakteriyel enfeksiyonu kontrol etmek için iyi bir hedef sağlamak için ideal bir araç olarak kabul edilirler (101). Bu nedenle bilim insanları antibakteriyel tedaviye alternatif olarak, terapötik amaçlı kullanılabilecek antibiyofilm ve anti-QS moleküllerin arayışındadırlar (102,103). Doğal biyolojik aktif bileşiklerin en önemli kaynaklarından biri de mikroorganizmalardır (104). Yapılan çalışmalar, çeşitli bakteri topluluklarından elde edilen ve biyolojik etkiye sahip farklı kimyasal bileşenlerin patojen mikroorganizmalar üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir (102). Yeni tedavi alternatiflerinin araştırıldığı süreçte, bu durum antimikrobiyal etkili bileşenler dışında antibiyofilm veya anti-QS aktivite gibi farklı mekanizmalarla da terapötik etkinlik sağlanabileceğini göstermektedir (105).

Ataei (106) farnesol ve tyrosol’un *Candida albicans* quorum sensing mediyatörü olarak *Pseudomonas aeruginosa*’nın üremesi üzerinde olan etkileri plak absorbans ve hücre canlılık deneylerinde araştırdığı tez çalışmasında, farklı konsantrasyonlarda inhibisyon etkileri olduğunu belirtmiştir. Singh ve ark (107) *Pseudomonas aeruginosa*’da quorum sensing ile kontrol edilen virülans faktörü üretimini azaltarak *Delftia tsuruhatensis* ekstraktının anti-quorum sensing ve anti-biyofilm aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında; bakteriyel ekstraktın anti-çekirdek algılama aktivitesi sergilediğini ve *Pseudomonas aeruginosa*’nın biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Hardy ve ark (108) normal nazal mikrobiyotanın ortak bir üyesi olan *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*’un, metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) dahil olmak üzere *S. aureus*’a karşı temastan bağımsız bakterisidal aktiviteye aracılık ettiklerini belirtmişlerdir. Raissa ve ark (62) Actinomycetes izolatlarının biyoaktif bileşiklerinin *Vibrio harveyi*, *Aeromonas hydrophila* ve *Streptococcus agalactiae* gibi suda yaşayan patojenik bakterilerin biyofilm yapısına karşı etkisi ve anti-quorum sensing aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında; Actinomycetes izolatu tarafından üretilen ekstraktların (20 mg/mL), *Chromobacterium violaceum*’a (vahşi tip) karşı anti-quorum sensing aktivitesi gösterdiğini ve

bu ekstraktların çoğu, test edilen tüm patojenik bakteri biyofilm yapısını inhibe edici etkisinin olduğunu belirtmişlerdir.

Miao ve ark (64) deniz suyu örneğinden izole edilen aktinomisetlerinin anti-quorum sensing aktivitelerini araştırdıkları çalışmalarında 56 morfolojik farklı suştan, 5 suşun *Chromobacterium violaceum* 12472'nin violacein üretimine karşı anti-quorum sensing aktivitesi sergilediği bulmuşlardır. Yüksek derecede aktif bir suş olan HY026, 16S rDNA sekans analizi ve morfolojik özelliklere dayanarak *Streptomyces parvulus* olarak tanımlanmışlar ve HY026'nın dört bakterinin (*Pseudomonas aeruginosa* PAO1, *Staphylococcus aureus* 95005, *Micrococcus luteus* 95006 and *Ruegeria sp.* 01008) biyofilm oluşumunu önemli ölçüde inhibe edebildiğini göstermişlerdir.

S. aureus virülansı, kapsamlı bir şekilde incelenmiş olan quorum-sensing kontrollü bir aksesuar gen regülatör (agr) genetik lokusunun ekspresyonundan büyük ölçüde etkilenir. Ramsey ve ark. (109) *S. aureus*'un *Corynebacterium spp.* ile etkileşimlerinin *S. aureus* virülansını azalttığını varsayarak bunu, bir cilt ve nazal kommensal olan *Corynebacterium striatum* ile *in vitro* mono- versus kokültür sırasında *S. aureus* gen ekspresyonundaki değişiklikleri test ederek araştırmışlardır. *C. striatum* ile büyüme, *S. aureus*'ta agr QS sistemi tarafından indüklenen birçok genin ekspresyonunu azaltmak için yeterli olduğunu bulmuşlardır. *C. striatum*'a maruz kalan *S. aureus*'un, epitel hücrelerine artan adezyon sergilediğini, bunun kommensal bir durumu yansıttığını ve virülansın zayıflamasını yansıtan hemolizin aktivitesini azalttığını görmüşlerdir. *S. aureus*'un kommensal *Corynebacterium* türlerine maruz kaldığında virülanstan kommensal bir duruma geçtiği sonucuna varmışlardır.

Menberu ve ark (110) *C. accolens*'in kronik rinosinüzit hastalarının izole edilen *S. aureus* ve metisiline dirençli *S. aureus* patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Kontrol deneklerin nazal sürüntülerinden 10 adet *C. accolens* izole edilen çalışmada, *C. accolens* kültür süpernatantlarını, sekiz *S. aureus*, sekiz MRSA ve *S. aureus* ATCC25923 suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteleri açısından test etmişlerdir. Çalışma sonucunda *C. accolens*'in, hem planktonik hem de biyofilm formlarında *S. aureus* ve MRSA'lara karşı antimikrobiyal aktivite sergilediğini belirtmişlerdir.

Kıvanç ve ark (111) oküler yüzey patojenlerine karşı probiyotik laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında oküler yüzeyden elde edilen 12 patojen bakterinin biyofilm oluşturduğunu, bunların %58'inin *Bacillus spp.*, %17'sinin *Pseudomonas spp.* olduğunu ve probiyotik laktik asit bakterilerinden *L. pantarum*, *L. rhamnosus*, *L. brevis*, *L. acidophilus*'un antibiyofilm etkili olduğunu bulmuşlardır.

Benli Yardımcı (105) toprak örneklerinden izole edilen *Bacillus sp.* metabolitlerinin antibakteriyel, antibiyofilm ve anti-quorum sensing aktivitelerinin araştırdığı tez çalışmasında 55 adet *Bacillus sp.* izolatına ait supernatant örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada test edilen izolatlardan bir tanesinin *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşu üzerinde, farklı bir izolatın da *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 test bakterisi üzerinde antibakteriyel etkisi saptanmıştır. Bazı izolatların *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 suşuna karşı %3,96 ile %92,58 arasında, *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 suşuna karşı da %0,64 ile %78,96 arasında değişen biyofilm inhibisyon oranları gösterdiği belirlenmiştir. Sadece bir izolat supernatantının bakteriyel iletişim molekülü olan AHL üzerinde inhibe edici etkisinin olduğunu saptanmışlardır. Raheel (112) 2022 yılında yaptığı tez çalışmasında vajinal kaynaklı *Lactobacillus spp.* suşlarından elde edilen ekzopolisakkaritlerin (EPS) antibiyofilm ve anti-quorum sensing aktivitelerini araştırmıştır. Çalışma sonucunda laktik asit bakterileri kökenli EPS'lerin güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, en güçlü antimikrobiyal etkinliğe sahip suşun *L. casei* suşuna ait EPS olduğunu belirlemiştir. Saf EPS özütlerinin anti-biyofilm anti-quorum sensing aktivitelerini belirlemiştir. Saf EPS'lerin meme kanser hücre hattı hücreleri üzerindeki anti-proliferatif etkilerinin olduğunu da belirtmiştir.

Literatür tarandığında laktobasil, bacillus gibi flora bakterilerinin, Actinomycetes, Streptomyces gibi çevreden izole edilmiş bakterilerin anti-quorum sensing aktiviteleri araştırılmış, ancak floramızda bulunan *Corynebacterium* türleri ile ilgili çalışmalara bakıldığında *C. striatum*'un *S. aureus*'un agr QS sistemi etkisinin bakıldığı çalışma dışında anti-quorum sensing çalışmasına rastlanılmamıştır. Bu durum *Corynebacterium* türlerinin antiqs aktivitesi konusunda merak uyandırmıştır. Çalışmamızda izolat ekstraktlarının anti-quorum sensing aktivitesi görülmemiştir ancak beş adet izolat ekstraktının antimikrobiyal etkisi gözlenmesi değerlidir. Yapılan çalışmalar tarandığında *C. accolens*'in kültür süpertanantlarının antimikrobiyal etkisi olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda ise antimikrobiyal etki gözlenen bakteri ekstraktlarının dört tanesi *C. amycolatium* bir tanesi ise *C. afermentans*' a aitti.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızda izolatların kültürdeki üreme şekline göre saf, etken ile birlikte ve polimikrobiyal gruplara ayrılarak saf olarak üremeyen *Corynebacterium* türlerinin patojenik potansiyeli hakkında fikir sahibi olunabileceği düşünülmüştür.
2. Yapılan birçok çalışma ile uyumlu olarak *C. striatum*, *C. amycolatum* ve *C. afermentans* en sık izole edilen türler olmuştur.
3. Çalışmamızda, laboratuvara enfeksiyon şüphesi nedeniyle gönderilen klinik örneklerden izole edilme sıklığı olarak DTA ve idrar örneklerinde izolasyon sıklığı istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.
4. Klinik olarak enfeksiyon şüphesi olan hastalardan izole edilen etken olma olasılığı yüksek olabilecek korinebakterium izolatlarının yoğun bakım servislerinden gelen örneklerde yüksek oranda izole edilmesi değerlidir.
6. Steril vücut sıvılarından yapılan kültürlerde *C. amycolatum* üremelerinin görülmesi, izolatların %35,3 oranında biyofilm oluşturmaları, apse, yara gibi örneklerde görülen üremelerin muhtemel etken olarak düşünülmesi gerektiğini göstermiştir.
8. Özellikle yurt içinde yapılan çalışmalarla uyumlu olarak *C. striatum* izolatlarında penisilin, klindamisin, siprofloksasin, moksifloksasin ve rifampisin *C. amycolatum* izolatlarında penisilin, siprofloksasin ve klindamisin, *C. afermentans* izolatlarında ise penisilin, klindamisin, siprofloksasin ve moksifloksasin direnç oranları %80'nin üzerinde bulunmuştur.
9. Rifampisin ve tetrasikline karşı direnç oranı polimikrobiyal grupta diğer gruplara göre anlamlı şekilde düşük olarak saptanmış olup en yüksek direnç oranları penisilin, klindamisin, siprofloksasine karşı görülmüştür.
10. Tüm izolatlar vankomisine duyarlı bulunmuştur. Bazı suşlarda MİK değerlerinin yüksek çıkması tedavi dozuna yön vermesi açısından vankomisin direncinin araştırılmasında sıvı mikrodilüsyon yönteminin kullanılmasının daha uygun olabileceğini düşündürmektedir.
11. Literatür tarandığında hemen hemen bütün *Corynebacterium* izolatları linezolide karşı duyarlı bulunmuşken sadece bir çalışmada dirençli suş rapor edilmiştir, bu durum çalışmamızın linezolid dirençli *Corynebacterium* (*C. afermentans*) bildiren ikinci çalışma olduğunu göstermektedir.
12. Hem antibiyotik direnç oranlarına hemde biyofilm oluşturma oranlarına bakıldığında kültürde etken ile birlikte üreyen *Corynebacterium*'ların saf kültür olarak üreyen *Corynebacterium*'lar ile benzer özellikler gösterdiği, iki grubun da polimikrobiyal olarak üreyen *Corynebacterium*'lardan daha yüksek oranda biyofilm yaptığı ve antibiyotik direnç oranına sahip olduğu görülmüştür. Saf olarak üreyen *Corynebacterium*'lar ile birlikte başka bir

patojen olduğu düşünölen bakteri ile birlikte üreyen *Corynebacterium*'ların da dikkate alınması gerektiğı düşünölmüştür.

13. *C. striatum*, *C. amycolatum* ve *C. afermentans* izolatlarında biyofilm oluşumları ve antibiyotik direnç oranlarına bakıldığında özellikle bu türlerin kontaminasyon olarak gözardı edilmemesi, çoklu ilaç direnci profiline sahip olabilmeleri nedeniyle tür tayini yapılması ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinin çalışılması gereklidir.

14. Literatür tarandığında laktobasil, bacillus gibi flora bakterilerinin, Actinomycetes, Streptomyces gibi çevreden izole edilmiş bakterilerin anti-quorum sensing aktiviteleri araştırılmış, ancak *Corynebacterium* türleri ile ilgili; *C. striatum*'un *S. aureus*'un agr QS sistemi etkisinin bakıldığı çalışma dışında anti-quorum sensing çalışmasına rastlanılmamıştır. Çalışmamızda izolat ekstraktlarının anti-quorum sensing aktivitesi görülmemiştir ancak beş adet izolat ekstraktında antimikrobiyal etki gözlenmiştir. Çalışmamızda ise antimikrobiyal etki gözlenen bakteri ekstraktlarının dört tanesi *C. amycolatum* bir tanesi ise *C. afermentans*' a aittir.

Sonuç olarak floramızda bulunan çoğunlukla kontaminant olarak düşünölen korinebakterilerin aynı zamanda enfeksiyon etkeni olması ve biyofilm gibi nozokomiyal enfeksiyonlarda önemli olan virulans faktörlerinin bulunması nedeniyle klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında daha dikkatli değerlendirilmesi gereken bir tür olduğu akılda bulunmalıdır. Ayrıca kornebakterilerin antimikrobiyal etkilerinin olması nedeniyle bu etkinin flora bakterilerini baskılayarak virulansını artırmada mı yoksa patojen bakterileri baskılayarak enfeksiyon oluşumunu önlemede mi rolünün olduğunun belirlenmesi için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Listeria and Related Gram-Positive Bacteria*. Medical Microbiology. pp. 217-225. Elsevier, USA, 2021.
2. Guido Funke And Kathryn A. Bernard. *Coryneform Gram-Positive Rods*. Manual of clinical microbiology. pp. 474–505, ASM Press, Washington, DC, USA, 2015.
3. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, et al. *Corynebacterium Species*. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. pp.1284-1312 . Wolters Kluwer Health, 2017.
4. Meyer, Daniel K. RAC. Other Coryneform Bacteria; and Rhodococci. Mandell GL, John E. Bennett RD, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. pp. 2695–2706. Elsevier, United States, 2010.
5. Goodfellow M M DE. Introduction to chemosystematics. Chemical methods in bacterial systematics. GM ve M DE, editor. pp. 1–15. Academic Press: London, 1985.
6. Collins M, Smida J, Dorsch M, Stackebrandt E. *Tsukamurella* gen. nov. Harboring *Corynebacterium paurometabolum* and *Rhodococcus aurantiacus*. Int J Syst Bacteriol. 1988;38(4):385–91.
7. Renaud FN, Grégory A, Barreau C, Aubel D, Freney J. Identification of *Turicella otitidis* isolated from a patient with otorrhea associated with surgery: differentiation from *Corynebacterium afermentans* and *Corynebacterium auris*. J Clin Microbiol. 1996;34(10):2625–7.
8. Clark F. The generic classification of the soil corynebacteria. Int J Syst Evol Microbiol. 1952;2(1):45–6.
9. Liebl W. *Corynebacterium taxonomy*. Handbook of *Corynebacterium glutamicum*. CRC Press, Boca Raton, FL,. 2005. 9–34.
10. Barksdale L. *Corynebacterium diphtheriae* and its relatives. Bacteriol Rev. 1970;34(4):378–422.
11. Somerville DA. A Taxonomic Scheme for Aerobic Diphtheroids from Human Skin. J Med Microbiol. 1973;6(2):215–24.
12. Bernard KA, Bellefeuille M, Ewan EP. Cellular fatty acid composition as an adjunct to the identification of asporogenous, aerobic gram-positive rods. J Clin Microbiol. 1991 Jan;29(1):83–9.
13. Coyle MB, Lipsky BA. Coryneform bacteria in infectious diseases: clinical and laboratory aspects. Clin Microbiol Rev. 1990;3(3):227–46.

14. Funke G, Von Graevenitz A, Clarridge JE, Bernard KA. Clinical microbiology of Coryneform bacteria. Vol. 10, Clinical Microbiology Reviews. 1997. 125–159 .
15. 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 Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2018;24(9):1016.e7-1016.e13.
16. Ramos JN, Rodrigues IDS, Baio PVP, Veras JFC, Ramos RTJ, Pacheco LGC, 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;113(9):1–5.
17. Tauch A, Burkovski A. Molecular armory or niche factors: Virulence determinants of *corynebacterium* species. FEMS Microbiol Lett. 2015;362(23):1–6.
18. EUCAST: Breaking point tables for interpretation of MICs and zone diameters. v_12.0_Breakpoint_Tables. 2022;1–110. Available from: <http://www.eucast.org>
19. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Media preparation for EUCAST disk diffusion testing and for determination of MIC values by the broth microdilution method. Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2020;(January):1–6.
20. EUCAST. EUCAST reading guide for broth microdilution (version 3.0). Eur Comm Antimicrob Susceptibility Test [Internet]. 2022;(January):1–20. Available from: www.eucast.org
21. Mumcuoğlu İ. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde artan sıklıkta izole edilen *Corynebacterium striatum* izolatlarının değerlendirilmesi Evaluation of the *Corynebacterium striatum* isolated with increasing frequency in one of the training and research hospital. Turk Hij Den Biyol Derg. 2015;72(4):281–8.
22. Pascual C, Lawson PA, Farrow JA, Gimenez MN, Collins MD. Phylogenetic analysis of the genus *Corynebacterium* based on 16S rRNA gene sequences. Int J Syst Bacteriol. 1995 Oct;45(4):724–8.
23. Riegel P, Ruimy R, de Briel D, Prévost G, Jehl F, Christen R, et al. Taxonomy of *Corynebacterium diphtheriae* and related taxa, with recognition of *Corynebacterium ulcerans* sp. nov. nom. rev. FEMS Microbiol Lett. 1995;126(3):271–6.
24. Martínez-Martínez L, Suárez AI, Rodríguez-Baño J, Bernard K, Muniáin MA. Clinical significance of *Corynebacterium striatum* isolated from human samples. Clin Microbiol Infect. 1997;3(6):634–9.
25. Song SA, Shin JH. Microbiological Characteristics of *Corynebacterium striatum* , an

- Emerging Pathogen . Hanyang Med Rev. 2018;38(2):93.
26. 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):1908–14.
 27. Coyle MB, Lipsky BA. Coryneform bacteria in infectious diseases: Clinical and laboratory aspects. *Clin Microbiol Rev.* 1990;3(3):227–46.
 28. Collins MD, Jones D. *Corynebacterium minutissimum* sp. nov., nom. rev. *Int J Syst Bacteriol.* 1983;33(4):870–1.
 29. Reddy BS, Chaudhury A, Kalawat U, Jayaprada R, Reddy G, Ramana B V. Isolation, speciation, and antibiogram of clinically relevant non-diphtherial *Corynebacteria* (Diphtheroids). *Indian J Med Microbiol.* 2012;30(1):52–7.
 30. Zalas P, Mikucka A, Gospodarek E. Occurrence of *Corynebacterium amycolatum* strains in clinical specimens. *Med Dosw Mikrobiol.* 2004;56(2):139–45.
 31. Knox KL, Holmes AH. Nosocomial endocarditis caused by *Corynebacterium amycolatum* and other nondiphtheriae corynebacteria. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(1):97–9.
 32. Lindsay D, von Holy A. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. *J Hosp Infect.* 2006;64(4):313–25.
 33. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(2):167–93.
 34. Post JC, Stoodley P, Hall-Stoodley L, Ehrlich GD. The role of biofilms in otolaryngologic infections. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004;12(3):185–90.
 35. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(9):881–90.
 36. Tolker-Nielsen T, Molin S. Spatial Organization of Microbial Biofilm Communities. *Microb Ecol.* 2000;40(2):75–84.
 37. Sakarya S. Biyofilm Yapısı ve Enfeksiyon Hastalıklarının Virülans ve Tedavisindeki Rolü. Vol. XII. *Türk, Klimik Dergisi.* 2005. p. 3–8.
 38. Bothwell MR, Smith AL, Phillips T. Recalcitrant otorrhea due to *Pseudomonas* biofilm. *Otolaryngol neck Surg.* 2003;129(5):599–601.
 39. Fleming D, Rumbaugh KP. Approaches to Dispersing Medical Biofilms. *Microorganisms.* 2017;5(2).
 40. Marcinkiewicz J, Strus M, Pasich E. Antibiotic resistance: a “dark side” of biofilm-associated chronic infections. *Pol Arch Med Wewn.* 2013;123(6):309–13.
 41. Temel A, Erač B. Bacterial Biofilms: Detection Methods and Role in Antibiotic

- Resistance. *Türk Mikrobiyoloji Cemiy Derg.* 2018;48(1):1–13.
42. Shrout JD, Tolker-Nielsen T, Givskov M, Parsek MR. The contribution of cell-cell signaling and motility to bacterial biofilm formation. *MRS Bull.* 2011;36(5):367–73.
43. Lejeune P. Contamination of abiotic surfaces: what a colonizing bacterium sees and how to blur it. *Trends Microbiol.* 2003;11(4):179–84.
44. Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D, Caldwell D, Korber D, James G. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol.* 1994;176(8):2137–42.
45. van Loosdrecht MC, Lyklema J, Norde W, Zehnder AJ. Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiol Rev.* 1990;54(1):75–87.
46. Öztürk ŞB, Sakarya S, Öncü S, Ertuğrul MB. Biyofilmler ve Yabancı Cisim Enfeksiyonları. *Klimik Derg.* 2008;21(3):79–86.
47. Wagner VE, Iglewski BH. *P. aeruginosa* Biofilms in CF Infection. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2008;35(3):124–34.
48. Fonseca AP, Sousa JC. Effect of shear stress on growth, adhesion and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* with antibiotic-induced morphological changes. *Int J Antimicrob Agents.* 2007;30(3):236–41.
49. Delissalde F, Amabile-Cuevas CF. Comparison of antibiotic susceptibility and plasmid content, between biofilm producing and non-producing clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents.* 2004;24(4):405–8.
50. Russell AD. Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon. *J Hosp Infect.* 2004;57(2):97–104.
51. Kong K-F, Vuong C, Otto M. *Staphylococcus* quorum sensing in biofilm formation and infection. *Int J Med Microbiol.* 2006;296(2–3):133–9.
52. Rasmussen TB, Givskov M. Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *Int J Med Microbiol.* 2006;296(2–3):149–61.
53. Çepni FE. Bakteriyel quorum-sensing inhibitörlerinin araştırılması ve biyokimyasal olarak tanımlanması. İstanbul üniversitesi fen bilimleri enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul 2014.
54. Bassler BL. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr Opin Microbiol.* 1999;2(6):582–7.
55. Lazar V, Holban AM, Curutiu C, Chifiriuc MC. Modulation of Quorum Sensing and Biofilms in Less Investigated Gram-Negative ESKAPE Pathogens. *Front Microbiol.* 2021;12:676510.
56. Pereira CS, Thompson JA, Xavier KB. AI-2-mediated signalling in bacteria. *FEMS*

- Microbiol Rev. 2013;37(2):156–81.
57. Qazi S, Middleton B, Muharram SH, Cockayne A, Hill P, O'Shea P, et al. N-acylhomoserine lactones antagonize virulence gene expression and quorum sensing in *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*. 2006;74(2):910–9.
 58. Russo E. Special Report: The birth of biotechnology. *Nature*. 2003;421(6921):456–7.
 59. Kang SJ, Choi SM, Choi JA, Choi JU, Oh TH, Kim SE, et al. Factors affecting the clinical relevance of *Corynebacterium striatum* isolated from blood cultures. *PLoS One*. 2018;13(6):1–12.
 60. Stepanović S, Vuković D, Dakić I, Savić B, Švabić-Vlahović M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods*. 2000;40(2):175–9.
 61. Ma ZP, Song Y, Cai ZH, Lin ZJ, Lin GH, Wang Y, et al. Anti-quorum sensing activities of selected coral symbiotic bacterial extracts from the South China Sea. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;8:144.
 62. Raissa G, Waturangi DE, Wahjuningrum D. Screening of antibiofilm and anti-quorum sensing activity of Actinomycetes isolates extracts against aquaculture pathogenic bacteria. *BMC Microbiol*. 2020;20(1):1–10.
 63. Erdönmez D, Rad AY, Aksöz N. Anti-quorum sensing potential of antioxidant quercetin and resveratrol. *Brazilian Arch Biol Technol*. 2018;61:1–9.
 64. Miao L, Xu J, Yao Z, Jiang Y, Zhou H, Jiang W, et al. The anti-quorum sensing activity and bioactive substance of a marine derived *Streptomyces*. *Biotechnol Biotechnol Equip*. 2017;31(5):1007–15.
 65. Kaźmierczak AK, Szarapińska-Kwaszewska JK, Szewczyk EM. Opportunistic coryneform organisms--residents of human skin. *Polish J Microbiol*. 2005;54(1):27–35.
 66. Çelık C, Büyüktuna SA, Tutar U, Gözel MG, Uysal EB, Bakici MZ. Antimicrobial susceptibility in bacteria of corynebacterium species the pathogen role of which regains importance in various infections. *Türkiye Klin J Med Sci*. 2016;36(3):138–42.
 67. Korkmaz F, Birinci A. Yeliz Tanrıverdi Çaycı , 1 Ferhan Korkmaz, 1 Asuman Birinci. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilim Derg*. 2017;3(2):6–8.
 68. Rufael DW, Cohn SE. Native valve endocarditis due to *Corynebacterium striatum*: case report and review. *Clin Infect Dis an Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1994;19(6):1054–61.
 69. Molina Collada J, Rico Nieto A, Díaz de Bustamante Ussia M, Balsa Criado A. Septic arthritis in a native knee due to *Corynebacterium striatum*. *Reumatol Clin*.

- 2018;14(5):301–2.
70. McMullen AR, Anderson N, Wallace MA, Shupe A, Burnham CA. When Good Bugs Go Bad: Epidemiology and Antimicrobial Resistance Profiles of *Corynebacterium striatum*, an Emerging Multidrug-Resistant, Opportunistic Pathogen. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(11).
 71. Abe M, Kimura M, Maruyama H, Watari T, Ogura S, Takagi S, et al. Clinical characteristics and drug susceptibility patterns of *Corynebacterium* species in bacteremic patients with hematological disorders. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021;40(10):2095–104.
 72. Ergin Ç, Kaleli İ, Serin S, Cevahir N, Demir M, Turgut H. Yoğun Bakım Hastalarının Trakeal Aspirasyon Örneklerinden İzole Edilen *Corynebacterium striatum* Suşları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*. 2003;33(4):329–32.
 73. Santana GS, Maria C, Silva F, Giordano J, Olivella B, Silva IF, et al. Worldwide survey of *Corynebacterium striatum* increasingly associated with human invasive infections , nosocomial outbreak , and antimicrobial multidrug - resistance , 1976 – 2020. *Arch Microbiol*. 2021;203(5):1863-1880.
 74. Dragomirescu CC, Lixandru BE, Coldea IL, Corneli ON, Pana M, Palade AM, et al. Antimicrobial susceptibility testing for *Corynebacterium* species isolated from clinical samples in Romania. *Antibiotics*. 2020;9(1):1–9.
 75. Olender A. Antibiotic resistance and detection of the most common mechanism of resistance (MLSB) of opportunistic *Corynebacterium*. *Chemotherapy*. 2014;59(4):294–306.
 76. Neemuchwala A, Soares D, Ravirajan V, Marchand-Austin A, Kus J V, Patel SN. In Vitro Antibiotic Susceptibility Pattern of Non-diphtheriae *Corynebacterium* Isolates in Ontario, Canada, from 2011 to 2016. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(4).
 77. Chandra R, Puthukkichal DR, Suman E, Mangalore SK. Diphtheroids-important nosocomial pathogens. *J Clin Diagnostic Res*. 2016;10(12):28–31.
 78. Biçer M. Yoğun bakım ünitesinden izole edilen *corynebacterium* cinsi bakterilerin mikrobiyolojik özellikleri, antibiyotik duyarlılığı ve moleküler özellikleri yönünden araştırılması. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul 2019.
 79. İşkefyeli YF. Klinik örneklerden izole edilen *Corynebacterium* suşlarında antibiyotik dirençliliğinin moleküler karakterizasyonu. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Trabzon 2021.

80. Bao R, Gao X, Hu B, Zhou Z. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: A powerful tool for identification of *Corynebacterium* species. *J Thorac Dis.* 2017;9(9):3239–45.
81. 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 Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;20(1):44–50.
82. Asgin N, Otlu B. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *corynebacterium striatum* isolated in a tertiary hospital in Turkey. *Pathogens.* 2020;9(2).
83. -AŞGIN N. In-vitro antibiotic resistance profile of *Corynebacterium striatum* strains isolated from clinical samples. *Ankem Dergisi.* 2019;33(3):102–7.
84. Ozdemir S, Aydogan O, Koksall Cakirlar F. Biofilm formation and antimicrobial susceptibility of non-diphtheriae *corynebacterium* strains isolated from blood cultures: First report from turkey. *Medeni Med J.* 2021;36(2):123–9.
85. Wang Y, Shi X, Zhang J, Wang Y, Lv Y, Du X, et al. Wide spread and diversity of mutation in the *gyrA* gene of quinolone-resistant *Corynebacterium striatum* strains isolated from three tertiary hospitals in China. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2021;20(1):1–9.
86. Milosavljevic MN, Milosavljevic JZ, Kocovic AG, Stefanovic SM, Jankovic SM, Djesevic M, et al. Antimicrobial treatment of *corynebacterium striatum* invasive infections: A systematic review. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2021;63:1–10.
87. Habeeb SM, Yamin H, Simkova E, Awad HS, Alhammadi EA, Eid LA, et al. Relapsing and refractory peritoneal dialysis peritonitis caused by *Corynebacterium amycolatum*. *Pediatr Nephrol.* 2023;38(5):1687-1692.
88. Kalt F, Schulthess B, Sidler F, Herren S, Fucentese SF, Zingg PO, et al. *Corynebacterium* species rarely cause orthopedic infections. *J Clin Microbiol.* 2018;56(12):1–8.
89. Ekşi F. Vücut Sıvılarından İzole Edilen *Corynebacterium*’ların İdentifikasyonu ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi. *Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Gaziantep 2003.*
90. Riegel P, De Briel D, Prevost G, Jehl F, Monteil H, Minck R. Taxonomic study of *Corynebacterium* group ANF-1 strains: Proposal of *Corynebacterium afermentans* sp. nov. containing the subspecies *C. afermentans* subsp. *afermentans* subsp. nov. and *C. afermentans* subsp. *lipophilum* subsp. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 1993;43(2):287–92.
91. Sun W, Ma L, Li Y, Xu Y, Wei J, Sa L, et al. In vitro Studies of Non-Diphtheriae

- Corynebacterium Isolates on Antimicrobial Susceptibilities, Drug Resistance Mechanisms, and Biofilm Formation Capabilities. *Infect Drug Resist.* 2022;15:4347–59.
92. Öcalan F, Mumcuoğlu İ, Ünaldı Ö, Bakkaloğlu Z, Dinç B. Corynebacterium striatum İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları, Biyofilm Üretimi ve Klonal Analizlerinin Değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul.* 2023;57(1):1–13.
 93. Ölmez S, Tuncer Ö, Parlak M, Bıçakçığıl A, Gürsoy NC, Otlı B, et al. Comparison of Conventional Methods, Automated Systems, and DNA Sequence Analysis Methods in the Identification of Corynebacterium afermentans and Corynebacterium mucifaciens Bacteria Isolated from Blood and Catheter Culture Samples. *Microb Drug Resist.* 2021;27(7):919–23.
 94. Lynch AS, Robertson GT. Bacterial and fungal biofilm infections. *Annu Rev Med.* 2008;59:415–28.
 95. Qin L, Sakai Y, Bao R, Xie H, Masunaga K, Miura M, et al. Characteristics of multidrug-resistant Corynebacterium spp. Isolated from blood cultures of hospitalized patients in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2017;70(2):152–7.
 96. Bali EB, Türkmen KE, Erdönmez D, Sağlam N. Comparative study of inhibitory potential of dietary phytochemicals against quorum sensing activity of and biofilm formation by Chromobacterium violaceum 12472, and swimming and swarming behaviour of Pseudomonas aeruginosa PAO1. *Food Technol Biotechnol.* 2019;57(2):212–21.
 97. Yeniceri M. Bakterilerde Quorum Sensing ve Antimikrobiyal Dirence Olan Etkisi. *Cumhur Üniversitesi Sağlık Bilim Enstitüsü Derg.* 2018;3(1):41–5.
 98. Krzyżek P. Challenges and Limitations of Anti-quorum Sensing Therapies. *Front Microbiol.* 2019;10:2473.
 99. Zhao X, Yu Z, Ding T. Quorum-Sensing Regulation of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *Microorganisms.* 2020;8(3).
 100. Hawver LA, Jung SA, Ng W-L. Specificity and complexity in bacterial quorum-sensing systems. *FEMS Microbiol Rev.* 2016;40(5):738–52.
 101. Liu L, Wu R, Zhang J, Shang N, Li P. D-Ribose Interferes with Quorum Sensing to Inhibit Biofilm Formation of Lactobacillus paraplantarum L-ZS9. *Front Microbiol.* 2017;8:1860.
 102. Nithya C, Begum MF, Pandian SK. Marine bacterial isolates inhibit biofilm formation and disrupt mature biofilms of Pseudomonas aeruginosa PAO1. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2010;88(1):341–58.

103. Uroz S, Dessaux Y, Oger P. Quorum sensing and quorum quenching: the yin and yang of bacterial communication. *Chembiochem*. 2009;10(2):205–16.
104. Esikova TZ, Temirov I V, Sokolov SL, Alakhov IB. Secondary antimicrobial metabolites produced by thermophilic *Bacillus* spp. strains VK2 and VK21. *Prikl Biokhim Mikrobiol*. 2002;38(3):261–7.
105. Benli Yardımcı G. Toprak örneklerinden izole edilen *Bacillus* sp. Metabolitlerinin antibakteriyel, antibiyofilm ve anti-quorum sensing aktivitelerinin araştırılması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Ankara 2022.
106. Ataei M. *Candida albicans* Quorum Sensing mediyatörlerinin *Pseudomonas aeruginosa* üremesi üzerine in vitro etkileri. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul 2019.
107. Singh VK, Mishra A, Jha B. Anti-quorum sensing and anti-biofilm activity of *Delftia tsuruhatensis* extract by attenuating the quorum sensing-controlled virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7:1–16.
108. Hardy BL, Dickey SW, Plaut RD, Riggins DP, Stibitz S, Otto M, et al. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* exploits *staphylococcus aureus* virulence components in a novel polymicrobial defense strategy. *MBio*. 2019;10(1):1–24.
109. Ramsey MM, Freire MO, Gabriliska RA, Rumbaugh KP, Lemon KP. *Staphylococcus aureus* Shifts toward commensalism in response to *corynebacterium* species. *Front Microbiol*. 2016;7:1–15.
110. Menberu MA, Liu S, Cooksley C, Hayes AJ, Psaltis AJ, Wormald PJ, et al. *Corynebacterium accolens* has antimicrobial activity against *staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *s. aureus* pathogens isolated from the sinonasal niche of chronic rhinosinusitis patients. *Pathogens*. 2021;10(2):1–20.
111. Argun Kıvanç S, Akova B, Kıvanç M, Kaya M, Üniversitesi U, Hastalıkları Anabilim Dalı G, et al. Oküler yüzey patojenlerine karşı probiyotik laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitesi. TOD 53. Ulusal Kongresi, Antalya, 6-10 Kasım 2019.
112. Raheel NM. Vajinal kaynaklı *Lactobacillus* spp. Şuşlarından elde edilen ekzopolisakkaritlerin antibiyofilm ve anti-quorum sensing aktivitelerinin belirlenmesi. Kırşehir Ahı Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İleri Teknolojiler Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kırşehir 2022.