

# MALDI-TOF MS Mikrobiyoloji Laboratuvarında Anaerop Tanımlamalarını Artırdı mı? Bir Üniversite Hastanesi Deneyimi

## Did MALDI-TOF MS Increase Anaerobe Identification in the Microbiology Laboratory? A University Hospital Experience

<sup>ID</sup> Ayşe Hümeýra TAŞKIN KAFA<sup>a</sup>, <sup>ID</sup> Cem ÇELİK<sup>a</sup>, <sup>ID</sup> Mürşit HASBEK<sup>a</sup>, <sup>ID</sup> Mustafa Zahir BAKICI<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Sivas, TÜRKİYE

**ÖZET Amaç:** Bu çalışmada, anaerop kültür istemi ile gelen çeşitli klinik örneklerde tanımlanan tür sayılarının Matris destekli lazer desorpsiyonu/iyonizasyon süresi-kütle spektrometresi [matris destekli lazer desorpsiyonu/iyonizasyon süresi-kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS)] ile birlikte nasıl bir değişim gösterdiğinin incelenmesi amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya, 2015-2018 yılları arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli poliklinik ve servislerden anaerop kültür istemi ile gönderilen 419 farklı klinik örnek ve *Clostridioides difficile* istemiyle gönderilmiş 183 gaita olmak üzere toplam 602 örnek dâhil edilmiştir. Belirtilen yıllar içerisindeki anaerop kültür istemlerinin sonuçları BD EpiCenter™ (Becton Dickinson, ABD) veri analiz sisteminden geriye dönük olarak incelenmiştir. Çalışmada MALDI-TOF MS ölçümleri, Bruker Microflex™ LT model MALDI-TOF MS cihazı ve flexControl 3.0 yazılımı (Bruker Daltonics, ABD) kullanılarak yapılmış, tiplendirme için MALDI Biotyper® 3.0 yazılımı ve veri bankası kullanılmıştır. **Bulgular:** İncelenen farklı klinik materyallerden gönderilen 419 örneğin anaerop kültürlerinde MALDI-TOF MS yöntemiyle, 46 farklı anaerop bakteri türü tanımlanırken, gaita örneklerinde 10 farklı anaerop bakteri tür düzeyinde tanımlanmıştır. Tanımlanan anaerop bakteri izolatları içerisinde en yaygın cins %26,4 ile *Prevotella* iken, onu sırasıyla %17,6 ile *Cutibacterium acnes*, %12 ile *Bacteroides* ve %8,8 ile *Fusobacterium* cinsi üyeleri takip etmiştir. *C. difficile* istemiyle gelen 183 gaita örneğinde ise *Clostridium perfringens* (%47,3) en sık tanımlanan tür olarak tespit edilmiştir. **Sonuç:** Çalışmamızın sonuçları konvansiyonel yöntemlerle yapılmış çalışma verileri ile karşılaştırıldığında, anaerobik bakteri tanımlamalarında MALDI-TOF MS ile birlikte artış olduğu görülmüştür. MALDI-TOF MS sisteminin anaerobik bakteri tanımlamalarına önemli katkı sunabileceğini düşünmekteyiz.

**ABSTRACT Objective:** This study aimed to investigate how the number of species identified in various clinical samples sent with the anaerobic culture request changed with Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). **Material and Methods:** A total of 602 samples were included in the study, consisting of 419 different clinical samples sent from various polyclinics and services to the Microbiology Laboratory of Sivas Cumhuriyet University Medical Faculty with the anaerobic culture request, and 183 stool samples sent with the *Clostridioides difficile* request between 2015 and 2018. The results of the anaerobic culture requests within the mentioned years were analyzed retrospectively from the BD EpiCenter™ (Becton Dickinson, USA) data analysis system. In the study, MALDI-TOF MS measurements were performed using a Bruker Microflex™ LT MALDI-TOF MS device and flexControl 3.0 software (Bruker Daltonics, USA), and MALDI Biotyper® 3.0 software and database were used for typing. **Results:** In the anaerobic cultures of 419 specimens sent from different clinical materials, 46 different anaerobic bacteria species were identified by MALDI-TOF MS method and 10 different anaerobic bacteria species were identified in stool samples. Among the identified anaerobic bacterial isolates, the most common genus was found to be *Prevotella* with 26.4%, followed by *Cutibacterium acnes* with 17.6%, *Bacteroides* with 12%, and *Fusobacterium* with 8.8%, respectively. *C. perfringens* (47.3%) was identified as the most frequently identified species among 183 stool samples sent with the *C. difficile* request. **Conclusion:** When the results of our study were compared with the results of conventional methods, it was observed that there was an increase in the identification of anaerobic bacteria with MALDI-TOF MS system. We believe that the MALDI-TOF MS system can contribute to the identification of anaerobic bacteria.

**Anahtar Kelimeler:** Anaerop; MALDI-TOF MS

**Keywords:** Anaerobe; MALDI-TOF MS

Anaerop bakteriler, insan mikrobiyomunun temel bileşenlerinden biridir. Şimdiye kadar farklı birkaç yüz anaerop mikroorganizma türü, özel kültür

yöntemleri ve moleküler genetik analizler kullanılarak tanımlanmıştır.<sup>1</sup> Zaman zaman farklı anatomik bölgelerde bulunan ve yaşamı tehdit eden enfeksi-

**Correspondence:** Ayşe Hümeýra TAŞKIN KAFA  
Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Sivas, TÜRKİYE/TURKEY  
**E-mail:** ahtaskin@cumhuriyet.edu.tr



Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri.

Received: 22 Oct 2019

Received in revised form: 26 Dec 2019

Accepted: 30 Dec 2019

Available online: 18 Jun 2020

2146-9040 / Copyright © 2020 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

yonlara yol açan bu türlerin dağılımı, enfeksiyon bölgesine, virülans faktörlerinin çeşitliliğine, oksijenli ortamlara dayanabilme sürelerine, antibiyotik dirençlerine ve diğer bakterilerle sinerjisine bağlı olarak değişir.<sup>1,2</sup>

Son yıllarda anaeroplara klinik önemi, yeni türlerin keşfedilmesi ve özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda gelişen bulaşıcı enfeksiyonların sıklıkla artmıştır. Bu durum, klinikyenleri de bu tür enfeksiyonlar konusunda daha bilinçli hâle getirmiştir.<sup>3</sup>

Bakterilerin doğru ve verimli şekilde üretilmesi için materyalin uygun şekilde alınması, hızlı taşınması ve spesifik atmosferik koşulların oluşturulması gereklidir.<sup>4,5</sup> Anaerop bakterileri içeren numunelerin işlenmesindeki zorluklar, bunların saf kültürde izole edilmesindeki teknik sorunlar ve tür düzeyinde doğru bir şekilde tanımlanması için gereken zaman alıcı prosedürler nedeni ile, etiyojisi anaerop mikroorganizmalar olan birçok vaka hâlâ gözden kaçabilmektedir.<sup>1</sup> Böyle bir durumda uygun antibiyotiğe başlanmaması hem direnç problemini artırmakta hem de tedavi başarısızlığına yol açmaktadır.<sup>6</sup>

Anaerop bakterilerin fenotipik yöntemlerle tanımlanması, çok çeşitli faktörler nedeni ile zor ve zaman alıcıdır. Ticari olarak temin edilen tanımlama kitleri de çoğu zaman kesin sonuç vermemektedir.<sup>7,8</sup> Matriks destekli lazer desorpsiyonu/iyonizasyon süresi-kütle spektrometresi [matriks assisted laser desorption/ionization time of flight, mass spectrometry (MALDI-TOF MS)], gram-pozitif, gram-negatif, aerob ve anaerop bakterileri, mikobakterileri ve mayaları doğrudan doğruya agar plakları üzerinde üreyen kolonilerden tanımlamak için geliştirilmiş hızlı (yaklaşık 2 dk içinde) ve ucuz bir yöntemdir.<sup>9,10</sup> MALDI-TOF MS'nin 16S rDNA dizilişine benzer bir tanımlama doğruluğu sunduğu ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve genom dizileme yöntemleriyle kıyaslandığında daha düşük maliyetle çalıştığı bildirilmiştir.<sup>8,11</sup>

Bu çalışmada, 2015-2018 yılları arasında, hastanemiz klinik mikrobiyoloji laboratuvarına anaerobik kültür istemi ile gelen çeşitli klinik örneklerde enfeksiyon etkeni olan anaerop bakterilerin, MALDI-TOF MS kullanılarak izolasyon oranlarının belirlen-

mesi, tanımlanan tür sayılarının MALDI-TOF MS öncesi konvansiyonel yöntemlerle yapılmış çalışma verileri ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya, 2015-2018 yılları içerisinde Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına çeşitli klinik materyallerden anaerobik kültür istemi ile gönderilen 419 farklı klinik örnek ve *Clostridioides difficile* istemiyle gönderilmiş 183 gaita olmak üzere toplam 602 klinik örnek dâhil edilmiştir. Oksijen ile temas etmiş bölgelerden alınan sürüntü örnekleri, ağız kapatılmamış örnek kaplarında gönderilen materyaller, anaerobik taşıma ortamında ise 2-3 saat içinde; taşıma ortamı kullanılmadıysa 30 dk içinde laboratuvara gönderilmeyen örnekler reddedilmiştir. Yine, alınan örneklerin, hastane bilgi yönetim sistemi (HBYS)'ne hasta adı, servis, gönderen doktor, örneğin alındığı bölge, alınma saati gibi bilgilerin eksiksiz olarak girilip gönderilmesi gerekmektedir. HBYS sistemine bilgileri tam olarak girilmeyen örnekler de laboratuvarca reddedilmiştir. Her hasta için aynı örneğe ait bir anaerobik kültür isteminin sonucu değerlendirmeye alınmış, aynı hasta ve örnek için tekrarlanan örnekler değerlendirmeye alınmamıştır. Laboratuvarımızda bakteriyolojik sonuçların işlendiği bir veri analiz sistemi bulunmaktadır. Belirtilen yıllar arasındaki anaerobik kültür istemlerinin sonuçları bu BD EpiCenter™ (Becton Dickinson, ABD) veri analiz sisteminden geriye dönük olarak incelenmiştir.

Anaerobik kültür için uygun örnekler Schaedler agar (Liofilchem®, Roseto d. Abruzzi, İtalya ve anaerobik kanlı agar (LAB M® Neogen, Heywood, Lancashire, Birleşik Krallık) besiyerlerine ekilmiştir. *C. difficile* kültürü için dışkı örnekleri tiyoglikolatlı sıvı besiyerine bir öze dolusu alınarak 80°C'de 10 dk inaktive edilmiştir. Bu sürenin sonunda tiyoglikolat sıvı besiyerinden alınan örnek, Schaedler agar besiyerlerine ekilmiştir. Ekim yapılan anaerobik besiyerleri anaerobik kavanoza yerleştirilerek, kuru sistem gaz paketleri (AnaeroGen™-Oxoid™, Basingstoke, Birleşik Krallık/MGC AnaeroPack®-Anaero, Tokyo, Japonya) ile oksijensiz ortam sağlanmıştır. Kavanoz içerisindeki anaerobik koşullar indikatör (Oxoid™, Basingstoke, Birleşik Krallık) ile kontrol edilmiştir.

Anaerop kavanozlar 35-37°C'de 72-96 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda anaerop besiyerlerinde üreyen her koloniden bir kürdan aracılığı ile tek bir koloni seçilerek MALDI plaklarına (MSP 96 BC ground steel target; Bruker Daltonics) aktarılmıştır. Oda sıcaklığında kurutulduktan sonra örneğin üzeri, ko-kristalizasyon işlemi için 1 µl-α-siyano-4-hidroksisinamik asit (HCCA) matris solüsyonu (Bruker Daltonics, Almanya) ile kaplanmış ve oda ısısında kuruması beklenmiştir. Kuruduktan sonra Microflex™ LT MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya) cihazı ile analiz işlemi yapılmıştır. Çalışmada tüm MALDI-TOF MS ölçümleri, Bruker Microflex™ LT model MALDI-TOF MS cihazı ve flex-Control 3.0 yazılımı (Bruker Daltonics, ABD) kullanılarak yapılmış, tiplendirme için MALDI Biotyper® 3.0 yazılımı ve veri bankası kullanılmıştır. Sistemle çalışırken, lineer pozitif iyon modunda, 2.000-20.000 Da kütle aralığında, mikroorganizma tanımlama için optimize edilmiş uygun metot ile ölçümler gerçekleştirilmiştir. İyon kaynağı olarak 340 nm'de, 60 Hz'lik nitrojen lazer kullanılmıştır. Spektremlerin elde edilmesi için her bir numunenin ölçümünde, toplamda 240 olacak şekilde 40'arlı paketlerden oluşan lazer atışları gerçekleştirilmiştir. Sistem, ölçüm sonuçlarına göre 0-3 arasında skor değeri vermektedir. Üretici firma (Bruker Daltonics, Almanya), 1,7'nin altında elde edilen skor değerlerinin güvenilirlik seviyesini geçemediğini, 1,7-2,0 arasında elde edilen skor değerlerinin cins düzeyinde güvenilir tanımlamaları; 2,0-3,0 arasında elde edilen skor değerlerinin ise hem cins hem de tür düzeyinde güvenilir tanımlamaları gösterdiğini bildirmektedir. Çalışmamızda sonuçlarını değerlendirdiğimiz anaerop kültür tanımlamaları 2,0 ve üzeri güvenilirlik skorları elde edilen tanımlamalardan elde edilmiştir. Çalışmamız, Helsinki Deklarasyonu Prensipleri'ne uygun olarak yapılmıştır. Ayrıca bu çalışma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından, 20.02.2019 tarihinde, 2019-02/06 karar numarasıyla onaylanmıştır.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan farklı klinik materyallerden gönderilen 419 örneğin anaerop kültürlerinde MALDI-TOF MS yöntemiyle 46 farklı anaerop bakteri türü tanımlanırken,

gaita örneklerinden istenen *C. difficile* türlerinde ise 10 farklı anaerop bakteri tür düzeyinde tanımlanmıştır. Klinik örnekler ve bunlardan izole edilen bakteriler Tablo 1'de görülmektedir.

Çalışmamızda çeşitli klinik örneklerden tanımlanan toplam 125 anaerop bakteri izolatu içerisinde en yaygın cins %26,4 (125/33) ile *Prevotella* iken, onu sırasıyla %17,6 (125/22) ile *Cutibacterium acnes*, %12 (125/15) ile *Bacteroides*, %8,8 (125/11) ile *Fusobacterium* cinsi üyeleri takip etmektedir.

*C. difficile* istemiyle gelen 183 gaita örneğinde *C. difficile* dışında üreyen *Clostridium* türleri de belirlenmiş olup dağılımları Tablo 2'de görülmektedir.

## TARTIŞMA

Farklı anaerop mikroorganizmaların değişik seviyelerde aerotoleransının olması ve bu türler için uygun atmosferik koşulları sağlama zorluğu rutin tanıyı zorlaştırmaktadır. Ayrıca bu mikroorganizmaların yavaş üremesi izolasyon zamanının uzamasına neden olur. Ticari olarak temin edilen biyokimyasal kitleri içeren fenotipik tanımlama yöntemleri 5-7 gün gibi uzun bir zaman alır. Ayrıca bu kitlerin veri tabanlarının mevcut taksonomik değişiklikler ile güncellenmesinde sorunlar bulunmaktadır.<sup>7,12-14</sup> Bu sebeple rutin laboratuvarlarda çok sayıda anaerop bakterinin tanımlanamadığı veya yanlış tanımlanabildiği bildirilmiştir.<sup>15</sup> Son yıllarda kullanıma giren MALDI-TOF MS sistemi, anaerop mikroorganizmaların da dâhil olduğu birçok farklı gruptan bakterinin tanımlanmasını sağlayan hızlı, ucuz ve daha doğru sonuçlar veren bir yöntem olarak rutin laboratuvarlarda kullanıma girmiş ve iş akışını değiştirmiştir.<sup>16,17</sup>

MALDI-TOF MS, hızlı ve ucuz olmanın yanı sıra ihtiyaca göre veri tabanı geliştirilip farklı spektremler eklenerek aynı türe ait antibiyotik direnci, virülans özellikleri gibi farklı özelliklerin belirlenebildiği ve yeni patojen türleri tanımlayabilecek şekilde kolaylıkla optimize edilebilen bir tanımlama sistemidir.<sup>18</sup>

Geleneksel biyokimyasal yöntemler ile anaerop bakterilerin tanımlanmasında hatalı değerlendirmeler ile sıklıkla karşılaşmaktadır. Aynı grup bakterilerin MALDI-TOF MS ile tanımlanmalarında ise tür düzeyinde daha yüksek tanımlama doğruluğu ve düşük

**TABLO 1:** Çeşitli klinik örneklerde üretilen ve MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanan bakterilerin dağılımı.

Üretilen anaerob Bakteri türleri (n)	Örnek türleri (n)						
	Batın sıvısı (15)	Abse (124)	Yara yeri (92)	Vajinal sürüntü (7)	BOS (44)	Aspirasyon sıvısı (75)	Plevral-periton- perikardiyal sıvı (62)
<b>Gram-pozitif basil</b>							
<i>Actinomyces oris</i> (1)						1	
<i>Actinomyces europaeus</i> (2)		2					
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (1)		1					
<i>Clostridioides difficile</i> (1)	1						
<i>Clostridium perfringens</i> (2)		2					
<i>Lactobacillus jensenii</i> (1)		1					
<i>Lactobacillus paracasei</i> (1)						1	
<i>Lactobacillus fermentum</i> (3)				2			1
<i>Lactobacillus iners</i> (1)				1			
<i>Propionibacterium acidum</i> (1)			1				
<i>Cutibacterium acnes</i> (22)	1	6	14			1	
<i>Propionibacterium granulosum</i> (1)			1				
<b>Gram-pozitif kok</b>							
<i>Anaerococcus prevotii</i> (1)			1				
<i>Atopobium minutum</i> (1)						1	
<i>Atopobium parvulum</i> (1)		1					
<i>Fingoldia magna</i> (1)			1				
<i>Parvimonas micra</i> (7)	1	1	1			3	1
<i>Peptostreptococcus anaerobicus</i> (4)			2	1		1	
<i>Peptoniphilus harei</i> (2)		1				1	
<i>Peptoniphilus lacrimalis</i> (1)		1					
<i>Ruminococcus species</i> (1)	1						
<b>Gram-negatif basil</b>							
<i>Bacteroides ovatus</i> (1)	1						
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> (2)		1	1				
<i>Bacteroides vulgatus</i> (1)			1				
<i>Bacteroides fragilis</i> (11)	3	2	6				
<i>Fusobacterium nucleatum</i> (10)	1	3	1			4	1
<i>Fusobacterium periodonticum</i> (1)	1						
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> (1)		1					
<i>Parabacteroides distasonis</i> (2)	1	1					
<i>Prevotella stercoralis</i> (1)	1						
<i>Prevotella ori</i> (1)		1					
<i>Prevotella buccae</i> (5)		4					1
<i>Prevotella denticola</i> (5)		1	2			2	
<i>Prevotella bivia</i> (9)		1	5	3			
<i>Prevotella pallens</i> (1)			1				
<i>Prevotella bergansii</i> (1)			1				
<i>Prevotella histicola</i> (1)						1	
<i>Prevotella intermedia</i> (2)			1			1	
<i>Prevotella dentalis</i> (1)						1	
<i>Prevotella timanensis</i> (1)		1					
<i>Prevotella baroniae</i> (1)		1					
<i>Prevotella nigrescens</i> (1)		1					
<i>Prevotella disiens</i> (1)			1				
<i>Prevotella nanceiensis</i> (2)		1	1				
<b>Gram-negatif kok</b>							
<i>Veillonella parvula</i> (5)	1	2	2				
<i>Veillonella atypica</i> (2)		1	1				
<b>Tanımlanan toplam bakteri sayısı (%)</b>	<b>13 (10,4)</b>	<b>38 (30,4)</b>	<b>45 (36)</b>	<b>7 (5,6)</b>	<b>0 (0)</b>	<b>18 (14,4)</b>	<b>4 (3,2)</b>

MALDI-TOF MS: Matriks assisted lazer desorption/ionization time of flight, mass spectrometry, BOS: Beyin-omurilik sıvısı.

**TABLO 2:** *Clostridioides difficile* istemiyle gönderilen gaita örneklerinde tanımlanan *Clostridium* türleri.

Üretilen anaerop bakteri	Gaita (n=183)
<b>Gram-pozitif basil</b>	
<i>Clostridioides difficile</i>	9
<i>Clostridium perfringens</i>	27
<i>Clostridium innocuum</i>	4
<i>Clostridium scindens</i>	1
<i>Clostridium tertium</i>	7
<i>Clostridium romosum</i>	3
<i>Clostridium paraputrificum</i>	3
<i>Clostridium sordelli</i>	1
<i>Clostridium butyricum</i>	1
<i>Clostridium clostridioforme</i>	1
<b>Toplam sayı (%)</b>	<b>57 (31,1)</b>

hata oranları sunduğu görülmüştür. MALDI-TOF MS ile alınan anaerop kültür tanımlama sonuçlarının sekans analizleri ile neredeyse %100 uyumluluk gösterdiği bildirilmiştir.<sup>13</sup> Bir klinik mikrobiyoloji laboratuvarında karşılaşılan bakteri gruplarını temsil eden 1.000'den fazla rutin izolatta 16S rRNA sekans analizi ile doğrulanarak, MALDI-TOF MS'nin yüzde doksanın üzerinde doğru tanımlama yaptığı belirtilmiştir.<sup>19</sup> Benzer şekilde Barreau ve ark., 1.325 anaerop bakteri ile yaptıkları bir çalışmada %92,5 oranında tür düzeyinde doğru tanımlama yaptıklarını bildirirken, Veloo ve ark., gram-pozitif anaerop kokları 16S rRNA ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) ile doğrularak yaptıkları bir çalışmada MALDI-TOF MS'nin %89,7 oranında doğru tanımlama yaptığını bildirmişlerdir.<sup>20,21</sup>

*Bacteroides* ve *Prevotella* cinsinin üyeleri, gastrointestinal sistemin normal mikrobiyotasının önemli bileşeni olan anaeroplardır. Ancak bu mikroorganizmalar zaman zaman fırsatçı patojenler olarak kendini gösterir ve mortaliteye sahip, şiddetli, yaşamı tehdit eden ciddi enfeksiyonlara neden olurlar.<sup>22,23</sup> Fenotipik olarak birbirine benzeyen bakteri gruplarının tanımlanmasında sorunlar yaşanmaktadır. Birçok türü bulunan bu bakterilerin tür düzeyinde fenotipik tanımlanması hatalı olabilmekte ya da cins düzeyinde kalabilmektedir. Bahar ve ark., yara enfeksiyonlarında anaerop bakterilerin dağılımını gösterdikleri bir çalışmada konvansiyonel yöntemlerle iki farklı *Prevotella* türünü tanımlamış; Demir ve ark. ise bir başka

çalışmada beş farklı *Prevotella* türünü tanımlamışlardır.<sup>24,25</sup> Çalışmamızda ise 15 farklı *Prevotella* türü MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanabilmektedir.

Organizmada mikrobiyota üyesi olarak bulunan bazı anaerop türler, bağışıklık sistemi zayıfladığında fırsatçı enfeksiyonlar oluşturmaktadırlar. Bu mikroorganizmalardan biri olan *Cutibacterium acnes* (Önceki ismi *Propionibacterium acnes*), nispeten düşük patojeniteye sahip bir anaeroptur. Ciltte oluşturduğu sivilceye ek olarak, geç evreli protez eklem enfeksiyonları, osteomyelit, endokardit, endoftalmit, nöroşirürji enfeksiyonları ve muhtemelen prostat kanseri de dâhil olmak üzere birçok klinik durumda önemli bir fırsatçı patojen olarak ortaya çıkmaktadır.<sup>26</sup> Daha önce fenotipik yöntemlerle yapılan bazı çalışmalarda *Propionibacterium* türleri oldukça sınırlı tespit edilmişken, çalışmamızda *C. acnes* (*P. acnes*) dışında iki *Propionibacterium* türü de tanımlanmıştır.<sup>24,27,28</sup> Bundan başka *Fusobacterium nucleatum* da çeşitli periodontal hastalıklar ve ekstraoral enfeksiyonların yanı sıra kolorektal kanserle ilişkili fırsatçı bir patojendir. *F. nucleatum*'un farklı alt türleri, farklı hastalıklara neden olabilir. Örneğin *F. nucleatum* subsp. *nucleatum* çoğunlukla periodontal hastalıklı bölgelerden izole edilirken, *F. nucleatum* subsp. *fusiforme/vincentii* genellikle sağlıklı bölgelerden mikrobiyota üyesi olarak izole edilir.<sup>29-32</sup> Bu bakterilerin rutinde konvansiyonel yöntemlerle tanımlanması zaman alıcıdır. Bu tür hastalar için etkenin hızlı ve doğru tanımlanması, klinisyenin hastaları daha hızlı tedavi etmesine, sonuçta ölüm oranlarının, klinikte hastanın kalış süresinin ve hasta bakımı ile ilişkili sağlık hizmetleri maliyetlerinin azaltılmasını sağlar. MALDI-TOF MS'nin kullanıma girmesiyle yeni keşfedilen veya yeniden sınıflandırılan patojenlerin belirlenmesinde büyük mesafe katedilmiş ve tür düzeyinde tanımlamalar oldukça artmıştır. Ancak MALDI-TOF MS'nin veri tabanının güncellenmesi, iyi karakterize edilmiş yeni spektrumların eklenmesi doğru tanımlama için gereklidir.<sup>8,33,34</sup>

MALDI-TOF MS sisteminin kullanıma girmesi ile birlikte klinik laboratuvarlardan bildirilen anaerop kültür sonuçlarında tür düzeyinde tanımlanabilen anaerop bakterilerin sayısında önemli bir artış görülmüştür. Hastanemizde daha önceki dönemi kapsayan yedi yıllık ve konvansiyonel yöntemlerin

kullanıldığı bir çalışmada, farklı klinik örneklerden %24.6 (543/134) oranında anaerop bakteri tanımlanması yapılmış ve dokuz farklı cins tespit edilmiştir.<sup>28</sup> Çalışmamızda ise dört yıllık zaman diliminde, 419 farklı klinik örnekten toplam 125 (%29,83) anaerop bakteri MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanabilmiştir (Tablo 1). Hastanemizde daha önce konvansiyonel yöntemlerle 134 anaerop bakteri dokuz farklı cins düzeyinde verilirken, MALDI-TOF MS kullanılan çalışmamız döneminde ise 148 anaerop izolat 54 farklı bakteri türü olarak tanımlanabilmiştir. Hastanemizde iki farklı dönemi kapsayan bu çalışmalar-daki anaerop bakteri tanımlamalarındaki artış, MALDI-TOF MS sisteminin anaerop bakteri tanımlanmasında önemli bir katkı sunabileceğini düşündürmektedir.

## SONUÇ

Ülkemizde ve bölgemizde daha önce konvansiyonel yöntemlerle yapılan anaerop bakteri tanımlama çalışmaları ile kıyaslandığında, çalışmamızda MALDI-TOF MS sistemi ile daha fazla sayıda anaerop bakterinin tür düzeyinde tanımlanabildiği görülmüştür. Çalışmamızda üzerinde durduğumuz anaerop bakterilerin tür düzeyinde tanımlanabilmesinin, bu enfeksiyonların tedavisinde klinisyen-

lere ve bu konudaki literatüre katkı sunabileceğini düşünüyoruz.

## Finansal Kaynak

*Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.*

## Çıkar Çatışması

*Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.*

## Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** Ayşe Hümeýra Taşkın Kafa, Cem Çelik; **Tasarım:** Ayşe Hümeýra Taşkın Kafa, Cem Çelik; **Denetleme/Danışmanlık:** Cem Çelik; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Ayşe Hümeýra Taşkın Kafa, Mürşit Hasbek; **Analiz ve/veya Yorum:** Ayşe Hümeýra Taşkın Kafa, Cem Çelik; **Kaynak Taraması:** Ayşe Hümeýra Taşkın Kafa; **Makalenin Yazımı:** Ayşe Hümeýra Taşkın Kafa, Cem Çelik; **Eleştirel İnceleme:** Cem Çelik; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Mustafa Zahir Bakıcı, Mürşit Hasbek; **Malzemeler:** Mürşit Hasbek, Mustafa Zahir Bakıcı.

## KAYNAKLAR

- Nagy E. Anaerobic infections: update on treatment considerations. *Drugs*. 2010;70(7):841-58. [Crossref] [PubMed]
- Gajdács M, Spengler G, Urbán E. Identification and antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: Rubik's cube of clinical microbiology? *Antibiotics (Basel)*. 2017;6(4): pii: E25. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- La Scola B, Fournier PE, Raoult D. Burden of emerging anaerobes in the MALDI-TOF and 16S rRNA gene sequencing era. *Anaerobe*. 2011;17(3):106-12. [Crossref] [PubMed]
- Ashraf F, Iram S, Riaz G, Rasheed F, Shaikat M, Javed S. Comparison between non-catheterized and catheter associated urinary tract infections caused by extended spectrum B-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Science and Research*. 2015;4(4):1223-7. [Crossref]
- Chenoweth C, Saint S. Preventing catheter-associated urinary tract infections in intensive care unit. *Crit Care Clin*. 2013;29(1):19-32. [Crossref] [PubMed]
- Hecht DW. Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments. *Clin Infect Dis*. 2004;39(1):92-7. [Crossref] [PubMed]
- Citron DM. Pre-molecular identification: ignorance was bliss? *Anaerobe*. 2012;18(2):189-91. [Crossref] [PubMed]
- Kostrzewa M, Nagy E. How MALDI-TOF mass spectrometry can aid diagnosis of hard-to-identify pathogenic bacteria. *Expert Rev Mol Diagn*. 2016;16(5):509-11. [Crossref] [PubMed]
- Coltella L, Mancinelli L, Onori M, Lucignano B, Menichella D, Sorge R, et al. Advancement in the routine identification of anaerobic bacteria by MALDI-TOF mass spectrometry. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013;32(9):1183-92. [Crossref] [PubMed]
- Wieser A, Schneider L, Jung J, Schubert S. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). *Appl Microbiol Biotechnol*. 2012;93(3):965-74. [Crossref] [PubMed]
- Gaillot O, Blondiaux N, Loiez C, Wallet F, Lemaître N, Herwegh S, et al. Cost-effectiveness of switch to matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine bacterial identification. *J Clin Microbiol*. 2011;49(12):4412. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Holdeman LV, Cato EP, Moore WEC. *Anaerobe Laboratory Manual*. 4<sup>th</sup> ed. Blacksburg, Virginia: Anaerobe Laboratory, Virginia Polytechnic Institute and State University; 1977.
- Nagy E, Becker S, Kostrzewa M, Barta N, Urbán E. The value of MALDI-TOF MS for the identification of clinically relevant anaerobic bacteria in routine laboratories. *J Med Microbiol*. 2012;61(Pt 10):1393-400. [Crossref] [PubMed]

14. Xiao Z, Luo Y, Ye L, Wang R, Zhang Y, Zhao Q, et al. Evaluation of VITEK matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of anaerobes. *Microbiol Immunol.* 2016;60(7):477-82. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
15. Simmon KE, Mirrett S, Reller LB, Petti CA. Genotypic diversity of anaerobic isolates from bloodstream infections. *J Clin Microbiol.* 2008;46(5):1596-601. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
16. Nagy E, Schuetz A. Advancing MALDI-TOF MS applications in anaerobic bacteriology. *Anaerobe.* 2018;54:189-90. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
17. Justesen US, Holm A, Knudsen E, Andersen LB, Jensen TG, Kemp M, et al. Species identification of clinical isolates of anaerobic bacteria: a comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems. *J Clin Microbiol.* 2011;49(12):4314-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
18. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Virdi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front Microbiol.* 2015;6:791. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
19. Guo L, Ye L, Zhao Q, Ma Y, Yang J, Luo Y. Comparative study of MALDI-TOF MS and VITEK 2 in bacteria identification. *J Thorac Dis.* 2014;6(5):534-8. [[PubMed](#)]
20. Barreau M, Pagnier I, La Scola B. Improving the identification of anaerobes in the clinical microbiology laboratory through MALDI-TOF mass spectrometry. *Anaerobe.* 2013;22:123-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
21. Veloo ACM, Erhard M, Welker M, Welling GW, Degener JE. Identification of gram-positive anaerobic cocci by MALDI-TOF mass spectrometry. *Syst Appl Microbiol.* 2011;34(1):58-62. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
22. Sárvári KP, Sóki J, Iván M, Miszti C, Latkóczy K, Melegh SZ, et al. MALDI-TOF MS versus 16S rRNA sequencing: minor discrepancy between tools in identification of *Bacteroides* isolates. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2018;65(2):173-81. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
23. Falagas ME, Siakavellas E. *Bacteroides*, *Prevotella*, and *Porphyromonas* species: a review of antibiotic resistance and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;15(1):1-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
24. Bahar H, Mamal Torun M, Demirci M. [Distribution of anaerobic bacteria in wound infections]. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2003;33(1):42-6.
25. Demir C, Keşli R. [Identification of anaerobic gram-negative bacilli isolated from various clinical specimens and determination of antibiotic resistance profiles with E-test methods]. *Mikrobiyol Bul.* 2018;52(1):72-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
26. Brook I, Frazier EH. Infections caused by *Propionibacterium* species. *Rev Infect Dis.* 1991;13(5):819-22. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
27. Bozkurt H, Gündüçoğlu H, Bayram Y, Gülmez S, Kutulay N, Bozkurt EN, et al. [The anaerobic bacteria isolated from various clinical specimens and their antibiotic susceptibilities]. *Van Tıp Derg.* 2004;11(3):85-91.
28. Uysal EB, Çelik C, Alan Ç, Kaya H, Gözel MG, Bakıcı MZ. [Anaerobic bacteria isolated from clinical specimens: Seven-year review]. 2014;36(3):327-31. [[Crossref](#)]
29. Bolstad AI, Jensen HB, Bakken V. Taxonomy, biology, and periodontal aspects of *Fusobacterium nucleatum*. *Clin Microbiol Rev.* 1996;9(1):55-71. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
30. Han YW, Wang X. Mobile microbiome: oral bacteria in extra-oral infections and inflammation. *J Dent Res.* 2013;92(6):485-91. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
31. Dahya V, Patel J, Wheeler M, Ketsela G. *Fusobacterium nucleatum* endocarditis presenting as liver and brain abscesses in an immunocompetent patient. *Am J Med Sci.* 2015;349(3):284-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
32. Gharbia SE, Shah HN, Lawson PA, Haapasalo M. Distribution and frequency of *Fusobacterium nucleatum* subspecies in the human oral cavity. *Oral Microbiol Immunol.* 1990;5(6):324-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
33. Edouard S, Couderc C, Raoult D, Fournier P. Mass spectrometric identification of *Propionibacterium* isolates requires database enrichment. *Adv Microbiol.* 2012;2(4):497-504. [[Crossref](#)]
34. Nie S, Tian B, Wang X, Pincus DH, Welker M, Gilhuley K, et al. *Fusobacterium nucleatum* subspecies identification by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2015;53(4):1399-402. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]