

**ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN  
GRAM NEGATİF ANAEROP ÇOMAKLARIN  
TİPLENDİRİLMESİ VE ANTİBİYOTİK DİRENÇ  
PROFİLLERİNİN E TEST YÖNTEMİ İLE  
BELİRLENMESİ**

**Cengiz DEMİR  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Recep KEŞLİ  
Tez No:2015-028**

**2015-AFYONKARAHİSAR**

T.C.  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN GRAM NEGATİF  
ANAEROP ÇOMAKLARIN TIPLENDİRİLMESİ VE ANTİBİYOTİK  
DİRENÇ PROFİLLERİNİN E TEST YÖNTEMİ İLE BELİRLENMESİ**

**Cengiz DEMİR**

**TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç Dr. Recep KEŞLİ**

Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından  
14.SAĞ.BİL.09 numaralı proje ile desteklenmiştir.

**Tez No: 2015-028**

**2015-AFYONKARAHİSAR**

# KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Mikrobiyoloji Programı

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir

Tez Savunma Tarihi: 28/12/2015

**Doç.Dr. Recep KEŞLİ**

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Jüri Başkanı



**Doç.Dr. Gülşah AŞIK**

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye



**Doç.Dr. Aynur GÜLCAN**

Dumlupınar Üniversitesi

Üye



Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Cengiz DEMİR'in "Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Negatif Anaerop Çomakların Tiplendirilmesi ve Antibiyotik Direnç Profillerinin E Test Yöntemi ile Belirlenmesi" başlıklı tezi ..29.12.2015 günü saat ..14:30....'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince büyük katkı ve emeği olan, beni her konuda teşvik ederek iyi bir eğitim almamı sağlayan tez danışmanım ve Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Başkanı Sayın Doç. Dr. Recep KEŞLİ ve eğitimimde faydalandığım Anabilim dalımız öğretim üyesi Sayın Doç.Dr. Gülşah AŞIK'a, Sayın Yrd.Doç.Dr. Merih ŞİMŞEK'e ve birlikte çalıştığımız, bilgi paylaşımında bulunduğumuz asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi borç bilir, saygılarımı sunarım. Yüksek lisans eğitimim süresince Tıbbi Mikrobiyoloji AD.'nın tüm laboratuvar personeline yaptıkları katkılardan dolayı minnettarım.

Cengiz DEMİR

# İÇİNDEKİLER

|   | Sayfa    |
|---|----------|
| Kabul ve Onay .....   | ii       |
| Önsöz ve Teşekkür.....  | iii      |
| İçindekiler.....  | iv       |
| Kısaltmalar .....   | vi       |
| Tablolar Listesi.....   | vii      |
| <b>1.GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>  | <b>1</b> |
| <b>2.GENEL BİLGİLER.....</b>  | <b>3</b> |
| 2.1 Anaerop Bakteri Nedir?.....   | 3        |
| 2.2 Anaerop Bakterilerin Tarihçesi.....                                 | 3        |
| 2.3 Anaerop Bakterilerin Oksijen İle Olan İlişkileri.....               | 4        |
| 2.4 Anaerop Bakteriler .....  | 5        |
| 2.4.1 Gram Negatif Anaerop Bakteriler .....                             | 6        |
| 2.4.2 Beta Laktamaz Üreten Anaerob Bakteriler .....                     | 15       |
| 2.5 Anaerop Enfeksiyonlar .....   | 16       |
| 2.5.1. Baş-Boyun Enfeksiyonları .....                                   | 16       |
| 2.5.2. Batın İçi Enfeksiyonlar .....                                    | 17       |
| 2.5.3. Santral Sinir Sistemi (SSS) Enfeksiyonları.....                  | 18       |
| 2.5.4. Akciğer Enfeksiyonları .....                                     | 19       |
| 2.5.5 Pelvik Enfeksiyonlar.....   | 20       |
| 2.5.6 Kemik ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları .....                        | 20       |
| 2.5.7 Anaerop Bakteremi ve Kateter Enfeksiyonları .....                 | 21       |
| 2.6 Klinik Örneklerin Seçimi, Alınması ve Laboratuvara Taşınması.....   | 22       |
| 2.6.1 Örneğin seçimi .....  | 22       |
| 2.6.2 Örneğin alınması .....  | 23       |
| 2.6.3 Örneğin nakli.....  | 25       |
| 2.7 Anaerop Kültür İçin Uygun Besiyerleri ve Besiyeri seçimi.....       | 26       |
| 2.8 Anaerop Kültürde İnkübasyon Sistemleri ve İnkübasyon Şartları ..... | 27       |
| 2.8.1 Anaerop kavanoz teknikleri (Anaerobic jar techniques) .....       | 27       |
| 2.8.2 Anaerop kabin (Anaerobic glove box = Anaerobic chamber) .....     | 28       |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.8.3 Anaerop plastik torbalar.....   | 28        |
| 2.8.4 Roll tp sistemi.....   | 28        |
| 2.8.5 Anaerop saklama kavanozu .....  | 29        |
| 2.8.6 Anaerop bakterilerin inkübasyon Şartları.....   | 29        |
| 2.9 Anaerop Bakterilerin İzolasyonu ve İdentifikasyon Yöntemleri.....   | 29        |
| 2.9.1 Hastaya ait bilgilerin değerlendirilmesi ve materyalin incelenmesi .....  | 29        |
| 2.9.2 Mikroskopik zellikler.....   | 30        |
| 2.9.3 Koloni morfolojisinin değerlendirilmesi ve UV lambalarla flüoresan<br>varlığının araştırılması .....                  | 32        |
| 2.10 Anaerop Bakterilerde Antibiyotik Duyarlılık Test Yöntemleri .....  | 34        |
| <b>3.GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....  | <b>37</b> |
| 3.1 Kullanılan İndikatör, zelti, Ayıraç, Besiyerleri.....  | 39        |
| 3.2 Kullanılan Anaerob İnkübasyon Sistemi.....  | 41        |
| 3.3 Bakterilerin İzolasyonu .....   | 42        |
| 3.4 İzole Edilen Anaerob Bakterilerin Biyokimyasal zelliklerinin İncelenmesi ve<br>Tanımlanması İçin Yapılan İŞlemler..... | 42        |
| 3.5 Beta Laktamaz Varlığının Belirlenmesi.....  | 43        |
| 3.6 Antimikrobik Duyarlılık Testi (E-test).....   | 44        |
| <b>4. BULGULAR</b> .....  | <b>46</b> |
| <b>5.TARTIŞMA</b> .....   | <b>51</b> |
| <b>6.SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....  | <b>61</b> |
| <b>7.ÖZET</b> .....   | <b>63</b> |
| <b>8. SUMMARY</b> .....   | <b>64</b> |
| <b>9. KAYNAKLAR</b> .....   | <b>65</b> |
| <b>10.ÖZGEÇMİŞ</b> .....  | <b>77</b> |

## KISALTMALAR

ATP : Adenozin trifosfat

NAD : Nikotinamid adenin dinükleotit

CO<sub>2</sub> : Karbondioksit

UV : Ultraviole

KV : Kanamisin-vankomisin hemolize kanlı agar

µg/ml : Mikrogram/mililitre

BBE : Bacteroides safra eskülin (bile esculin) agar

H<sub>2</sub>S : Hidrojen sülfür

PEA : Fenil-etil alkollü agar

EYA : Yumurta sarılı agar (Egg yolk agar)

CCFA : Sikloserin-sefoksitin-fruktoz agar

THIO : Tiyoglikolat

N<sub>2</sub> : Azot

H<sub>2</sub> : Hidrojen

PRAS : Pre-Reduced Anaerobically Sterilized (Anaerobik koşullarda sterilize edilen önceden indirgenmiş besiyeri)

°C : Santigrat derece

µg : Mikrogram

SPS : Sodyumpolianetolesülfonat

mm : Milimetre

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

MİK : Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

ATCC : American Type of Culture Collection

EMB : Eosin Methylene Blue Agar

ml : Mililitre

NaOH : Sodyum hidroksit

PBP : Penisilin bağlayıcı proteinler

FDA : Food and Drug Administration

SSS : Santral sinir sistemi

## TABLO LİSTESİ

|  |    |
|--|----|
| <b>Tablo 2.1.</b> .....  | 15 |
| Beta laktamaz üreten anaerop bakteriler  |    |
| <b>Tablo 2.2.</b> .....  | 24 |
| Anaerop kültür için örneklerin alınmasında enfeksiyonun yerine göre yapılması gereken işlemler           |    |
| <b>Tablo 2.3.</b> .....  | 26 |
| Anaerob bakteri izolasyonunda kullanılan besiyerleri   |    |
| <b>Tablo 3.1.</b> .....  | 44 |
| E-test MİK aralıkları ve kodları   |    |
| <b>Tablo 4.1.</b> .....  | 46 |
| Anaerop örneklerin transport yöntemleri ve üreme oranları  |    |
| <b>Tablo 4.2.</b> .....  | 47 |
| Çalışmaya dahil edilen örneklerin klinik dağılımları ve izole edilen mikroorganizma sayıları             |    |
| <b>Tablo 4.3.</b> .....  | 48 |
| Örnek cinsleri ve Gram negatif anaerop çomakların örneklere göre dağılımı                                |    |
| <b>Tablo 4.4.</b> .....  | 49 |
| Gram negatif anaerop çomakların dağılımı   |    |
| <b>Tablo 4.5.</b> .....  | 49 |
| Beta laktamaz enzimi üreten Gram negatif anaerop çomakların tür ve sayıları                              |    |
| <b>Tablo 4.6.</b> .....  | 50 |
| Çalışmada elde edilen Gram negatif anaerop çomakların test edilen antimikrobiklere karşı direnç oranları |    |



## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Doğada ve insan florasında bol miktarda anaerop bakteri mevcuttur. Anaerop bakteriler deri, gastrointestinal sistem, vajen ve burun gibi insan vücudunun birçok organından normal flora bakterileri olarak izole edilebilmektedir. Anaerop bakterilerin çoğu saprofitir ve patojen olanların sayısı oldukça azdır. Normal koşullarda enfeksiyon oluşturmazlar ancak doku hasarı ile ilişkili olarak redoks potansiyelinin düştüğü durumlarda ve fakültatif anaerop bakterilerle birlikte miks enfeksiyon etkeni olabilmektedir.

Anaerop bakteriler ciddi seyirli enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Klinik örneklerinden değişen oranlarda anaerop bakteri izole edildiği de etkili anaerop çalışması yapılan laboratuvarlardan bildirilmektedir. Anaerop bakteri enfeksiyonları çoğu zaman gözden kaçabilmektedir çünkü izolasyon ve identifikasyonu oldukça güçtür. Dolayısıyla bu durum morbidite ve motaliteyi olumsuz yönde etkilemektedir. Ekzojen kaynaklı anaerop bakteri enfeksiyonları başta olmak üzere, anaerop enfeksiyonlar için uygun antimikrobik tedavi başlanmazsa vakalar mortal seyirli olabilmektedir.

Anaerop bakteri enfeksiyon etkenlerinin vücudun hangi bölgesinde oluştuğunun bilinmesi, empirik tedavinin belirlenmesi açısından oldukça önemlidir önemlidir. Anaerop ajanlara karşı sıklıkla artan direncin bildirilmesi, antibiyotik direnç oranlarının belirlenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Anaerop bakteri identifikasyonunda şüpheli klinik örneğin laboratuvara çok hızlı bir şekilde ve uygun tekniklerle ulaştırılması çok önemlidir. Klinik örneklerin alınması ve laboratuvara ulaştırılmasında yeterli özenin gösterilmemesi ve laboratuvarın uygun izolasyon stratejilerini belirlememesi nedeniyle bu bakterilerin izolasyonunda başarı oranı çok düşüktür. Bu nedenle laboratuvarların çoğu anaerop bakterilerin izolasyon ve tanımlanmasında başarısız kalmaktadır. Antibiyotik direnç profilleri de bölgesel veri açısından eksik kalmaktadır.

Aanaerop bakterilere karşı artan ilaç direncin görülmesiyle birlikte, anaerop bakterilerin izolasyonu, tanımlanması ve antibiyotik duyarlılığının araştırılmasına önem verilmeye başlanmıştır. Klinisyenlerin anaerop bakteriler konusunda bilgilendirilmeleri bu bakterilerin tedavisinde başarı şansını arttıracadı da bir gerçektir.

Bu çalışmada, hastanemizde anaerop kültür çalışmalarının başlatılması ve geliştirilmesi, hastanemiz için uygun olabilecek etkin çalışmanın planlaması hedeflenmektedir. Aynı zamanda çeşitli klinik örneklerde enfeksiyon etkeni olan gram negatif anaerop bakterilerin izolasyon oranlarının belirlenmesi, izole edilen anaerop bakterilerin tanımlanması ve çeşitli antibiyotiklere karşı direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 Anaerop Bakteri Nedir?

Anaerop bakteriler, ortamda oksijen bulunmadığında üreyebilen mikroorganizmalar olarak tanımlanmalarına rağmen, çeşitli anaerop bakterilerin oksijene olan ilgileri farklıdır. Anaerop bakteriler, oksijene olan duyarlılıkları değişiklik gösteren, üreyebilmeleri için ortamdaki serbest oksijenin uzaklaştırılmasına ihtiyaç duyan, normal atmosferik koşullarda ve %5-10 karbondioksitli ortamda katı besiyerinde üreyemeyen bakterilerdir ( Kaya, 2012).

### 2.2 Anaerop Bakterilerin Tarihçesi

Anaerop bakteriler oksijensiz ortamda yaşayabilen mikro canlılar olarak ifade edilir. Hayat için havanın varlığı, gerekli olan şartların başında geldiği bilindiği için havasız ortamda canlılığın mümkün olabileceğine uzun süre ihtimal verilmemişti. Anaerop bakteriyolojinin tarihçesini iki döneme ayırabiliriz. Birincisi; anaerop bakteriler ile meydana gelen bir hastalığın klinik olarak tanımlanması ki bu M.Ö 4.yy'da Hipokrat'ın tetanoz hastalığını tanımlamasıyla başlamış daha sonra M.Ö 4.yy'da Xenophon Yunanlı askerlerde Akut nekrotizan ülseratif gingivitisin ilk klinik tanımını yapmış ve 1845 yılında Von Langenbeck ilk olarak Aktinomikozisin klinik bulgularını tanımlamıştır(Keşli, 2001;Finegold, 1994).

Anaerop bakteriyolojinin geçmişine ait ikinci dönem ise; bakterilerinin in-vitro olarak kültür ortamında üretilmesi, ışık mikroskobu ile incelenmesi ve tanımlanmasını kapsamaktadır ki bu döneme ait ilk bilgiler Antonie Von Leewenhooek'dan gelmiştir. 1680 yılında "animalcules" olarak isimlendirdiği havasız ortamda yaşayabilen ve hareket eden canlılardan bahsetmiştir. İkinci döneme ait ilk ve en önemli adım Louis Pasteur tarafından atılmıştır. Pasteur 1861 yılında Vibrion

butyrique'yi (*Clostridium butyricum*) bulmuş, bu bakterinin kendisini keşfettiği butirik fermentasyona neden olduğunu ifade etmiştir. 1863 yılında bakterileri aerob ve anaerob olarak ikiye ayırmış, 1877 de Jubert ile birlikte yürüttüğü çalışmaların sonucunda ilk patojen anaerob bakteriler olan *Clostridium septicum*'u (*Vibrion septique*) üretmiş, 1878 yılında ise aerob ve anaerob bakterilerden başka fakültatif olan bakterilerin de bulunduğunu bildirmiştir (Keşli, 2001; Finegold, 1994).

### 2.3 Anaerob Bakterilerin Oksijen İle Olan İlişkileri

Bakterilerin anaerob bir ortamda çoğalması için üç parametre gerekmektedir ki bunlardan birincisi üretilmek istenilen bakterinin kendisine ait bir özelliktir, diğer ikisi ise bakterinin bulunduğu ortam ile alakalıdır. Bunları şu şekilde sıralayabiliriz;

- 1) Bakteride oksijen metabolizması için gerekli olan sitokrom sistemi ve süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz enzimlerinin yokluğu.
- 2) Ortamın oksidasyon-redüksiyon potansiyeli ( redoks potansiyeli =  $E_h$  ) ve ortamın pH'ı
- 3) Ortamda yer alan oksijen ile hidrojen gazlarının konsantrasyonu.

Anaerob bakteriler terminal elektron alıcısı olarak oksijeni kullanamazlar ve gereksindikleri enerjiyi fermentasyon ile sağlarlar. Moleküler oksijen, anaerob bakterilerin büyük çoğunluğu için farklı seviyelerde öldürücü etki gösterir. Oksijenin flavo proteinlerin aracılığı ile oluşan ürünlerinden biri olan süperoksit radikali ( $O_2^-$ ) ve bu süperoksit anyonunun hücrede hidrojen peroksit ile reaksiyon girmesi ile açığa çıkan ve bilinen en güçlü biyolojik oksidan olan serbest hidroksil radikali (OH), süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ) ile serbest hidroksil radikali (OH) arasındaki reaksiyonun ürünü olan singlet (serbest ) oksijen ( $O_2$ ) hücreler için toksiktirler.

Anaerob bakterilerde süperoksit dismutaz ( SOD ) katalaz ve peroksidaz gibi enzimler bulunmamaktadır. Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksit radikallerinin ( $O_2$ ) daha az toksik olan hidrojen peroksit ve moleküler oksijene ( $O_2$ )

dönüştürüldüğü reaksiyonu katalizlemektedirler. Katalaz enzimi ise hidrojen peroksidin su (  $H_2O$  ) ve oksijene (  $O_2$  ) dönüşümünü sağlamaktadır. Bu enzimlerin olmayışı oksijen metabolizmasının toksik ürünleri olan süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ) serbest hidroksil radikali (OH), singlet oksijen ( $O_2$ ) ve hidrojen peroksidin ( $H_2O_2$ ) etkisiz hale getirilememesi ile birikimine sebep olmakta; bunlar ise bakteri üzerine toksik etki yapmaktadırlar. Bu metabolik ürünler bakteri hücrelerinin lipid komponentlerinde ve spesifik dış membran proteinlerde yıkımlara ve DNA zincirinde kırılmalara sebep olmaktadır. Ayrıca bakteri metabolizması için hayati öneme sahip olan belirli enzim sistemlerini inaktive etmektedirler. Birçok anaerop ve fakültatif anaerop bakteriler bu metabolik ürünlerin zararlı etkilerinden peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz'ın varlığı ile korunmaktadırlar. Önceleri anaeroplarda oksijen toksisitesinin bu koruyucu enzimlerin yokluğuna bağlı olduğu düşünülmekteydi. Fakat bugün Bacteroides türlerinin ve diğer türlerden bir çoğunun oksijene maruz kaldığı anda süperoksit dismutaz ürettikleri bilinmektedir. Süperoksit dismutaz enziminin seviyesi Gr(-) lerde Gr ( + )' lerden daha yüksektir ve orta derecede zorunlu (moderate obligate) anaeroplarda oksijen toleransının derecesi ile doğru orantılıdır. Bacteroides, Peptostreptococcus ve Propionibacterium cinslerinin bazı türlerinde katalaz üretimi bildirilmiştir; fakat oksijen toleransı ile doğru orantılı değildir. Anaeroplarda peroksidaz aktivitesi gösterilememiştir. Böylece süperoksit dismutaz gibi enzimler anaeroplarda oksijen toleransında ve virulansında önemli rol oynamaktadır. Bununla birlikte Clostridium perfringens gibi diğer anaeroplarda koruyucu enzimleri olmamasına rağmen 72 saat veya daha fazla süre oksijene maruz kalınca canlılığını devam ettirebilmesinin nedeni ise bilinmemektedir (Keşli, 2001; Finegold, 1994; Brooks, 1991; Murray, 1991)

## **2.4 Anaerop Bakteriler**

### **Anaerop Bakterilerin Sınıflandırılması ve Sınıflamada Yenilikler;**

Kemotaksonomi canlı organizmaların kimyasal varyasyonları üzerinde çalışmak ve kimyasal karakterlerin sınıflandırma ve tanımlamada kullanılmasıdır.

Mikroorganizmaların birçok farklı kimyasal komponentleri ve onların ürünleri taksonomik amaçlar için kullanılabilir. Modern genetik veya moleküler biyolojik tekniklerin mikroorganizmaların taksonomik ilişkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmalarda kullanılması ile bu alanda önemli gelişmeler olmuştur (Keşli, 2001; Hardie, 1988).

Anaeroplara sınıflandırılması klasik yöntemle bakterilerin morfolojik görünüşleri ve fenotipik özelliklerine göre yapılmaktadır. Anaerop bakterilerin sınıflandırılması henüz tamamlanmamıştır; son yıllarda moleküler biyolojik tekniklerin gelişmesi sonucu bakterilerin genetik benzerliği özelliklerine dayandırılarak modern sistematik ile sınıflandırmalar yapılmıştır (Keşli, 2001; Hardie, 1988).

Bu teknikler arasında en sık kullanılanlardan biri bakterilerin glikoz metabolizmasının son ürünlerinin saptanması için kullanılan likit-gaz kromatografisi Guanin + Sitozin içeriğinin ve jel – elektroforez ile sellüler proteinlerin belirlenmesidir. Bakterilerin sınıflandırılmasında kimyasal özellikler (Keşli, 2001; Hardie, 1988). Anaerop Bakterilerde sınıflandırma ve sınıflandırmada yenilikler aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

## **2.4.1 Gram Negatif Anaerop Bakteriler**

### **a. Gram Negatif Anaerop Çomaklar**

Yeni doğan oral kavitesi çoğunlukla sterildir. Süt çocuklarının %50'sinde *Fusobacterium spp.* ve daha az oranda diğer gram negatif anaerop çomaklar saptanabilir. *B.fragilis* ile kolonizasyon, kanama ve tıkanma ile duodenal ülser gibi durumlarda midede meydana gelebilir. Terminal ileumda hemen hemen aynı sayıda fakültatif aerob ve anaerob mikroorganizmalar bulunur. Öncelikli olarak *B.fragilis* yer almaktadır. Bir yetişkin dışkı florasında yaklaşık olarak  $10^{12}$  /g. *Bacteroides spp.*

bulunurken *Fusobacterium spp.* %18 oranında bulunur. *Bacteroides*, *Prevotella* ve *Fusobacterium spp.* vaginal florada çok fazla miktarda bulunur. *Bacteroides* türleri el yüzeyinde birkaç saat canlılığını koruyabilirler. *Bacteroides*'ler hastane ortamından elde edilebilirler (Finegold, 1996).

Mukokütanöz yüzeylerde aerop ve anaerop bakteriler normal flora elemanlarını oluşturmaktadır. Bu bakterilerin miktarları ve cinsleri buldukları anatomik bölgelere göre farklılık göstermektedir (James, 2000). Anaerop enfeksiyonların oluşmasında en önemli faktör normal florada bulunan bu bakterilerin herhangi bir bölgedeki anatomik bütünlüğün bozulması sonucunda buldukları bölgeden başka bölgelere geçmeleridir. Anaerop enfeksiyonların çoğunluğu normal floradan köken aldıkları için endojen enfeksiyonlardır. Clostridial enfeksiyonlar gibi ekzojen kaynaklı olanları da vardır (Tunçkanat, 2002).

### **1. *Bacteroides fragilis* Grup**

*Bacteroides* türleri normal floranın çok önemli bir bölümünü oluşturur. *B. fragilis* grup üyeleri kolon florasında çok miktarda bulunurlar. Klinik örneklerde sıklıkla rastlanan anaeroplardır. Antibiyotiklere diğer anaeroplara göre daha dirençlidir ve bu direnç her geçen gün daha da artmaktadır (Löfmark, 2005). *Bacteroides* türleri diğer anaeroplara gibi çoğunlukla fırsatçıdır ve vücudun değişik bölgelerinde enfeksiyona yol açarlar (Goldstein, 1999).

Sınıflandırması; *Bacteroides* cinsi, safraya duyarlı ve safraya dirençli olmak üzere ikiye ayrılabilir. Safraya duyarlı türler eskiden pigmentli ve pigmentless türler olarak ayrılırdı. Ancak çoğu pigmentli safraya duyarlı *Bacteroides spp.*, *Porphyromonas* ve *Prevotella* genusu içinde yeniden sınıflandırıldı. Birçok pigmentless *Bacteroides* türü *Prevotella* genusuna aktarıldı. Safraya dirençli olanlar *Bacteroides spp.*, *B. fragilis* grup olmakla birlikte *B. splanchnicus* ve *B. eggerthii* şeklindeki diğer iki tür şeklinde tanımlanır (Engelkrik, 2007).

Boyanma ve morfolojik özellikleri ise, büyüklükleri 0.5-0.8 µm x 1.5 -9 µm arasındadır. Gram boyamada gram negatif, genellikle basil veya kokobasil şeklinde görülürler. Ayrıca vakuollü, bipolar boyanmış ve çoğunlukla kapsüllüdürler. Buyyon kültürlerinde pleomorfik şekilde olabilirler (Engelkrik, 2007; Winn, 2006). *Bacteroides fragilis* Grup üyelerinde kültür; anaerop Bazal Agar (AnBAP) besiyerinde 1-4 mm çapında, hemolizsiz, gri, yarı opak koloniler oluştururlar (Winn, 2006). Besiyerinde hemin bulunmadığında jenerasyon süresi 8 saat iken, hemin ilave besiyerinde bu süre 2 saate kadar inmektedir. Hemin, sitokrom enzimlerini sentezlemeye katkıda bulunarak ilave ATP enerjisi oluşturmalarına sebep olur. *Bacteroides* gram negatif hücre duvar yapısına sahip olmasına rağmen lipid A kısmını içermez dolayısıyla endotoksinin biyolojik etkisi yoktur. Tamamı sakkarolitikdir. Karbonhidrat fermentasyon paternleri identifikasyonda yardımcı parametredir(Winn, 2006). *B.fragilis* grup %20 safra'da ürer. Daima 3 özel potensli antibiyotik disklere dirençlidir. Ancak bazı nadir suşlar kolistine duyarlıdır. *B.ureolyticus* kanamisin ve kolistine duyarlı, vankomisine ise dirençlidir (Forbes, 2007). *Bacteroides* Safralı Eskülin Agar (BBE) besiyerinde gri ve 1mm'den daha büyük çapta ürer. *Bacteroides* kolonileri orjinal rengi açık sarı olan besiyerinin etrafını kahverengi-siyah renge dönüştürür. Besiyerinin siyah renge dönüşmesi eskülin hidrolizini, iyi üreme ise safrayı tolere ettiklerini gösterir. *B.splanchnicus* ve *B.eggerthii*'de safraya dirençlidir ve eskülini hidrolize ederler (Engelkrik, 2007).

Virulans faktörleri ve patojenite; barsak duvarının harabiyete uğraması söz konusu olduğunda normal flora üyeleri steril periton boşluğuna geçer ve yaklaşık 20 saat içinde enfeksiyonun akut safhasını oluşturur(Willis, 1991). Aerop patojenler doku harabiyetini başlatır, bunun sonucu olarak da oksidasyon redüksiyon potansiyeli azalır. Ortamda yeterli oksijen kalmayınca anaerop mikroorganizmalar çoğalır ve enfeksiyonun kronik safhasında baskın hale gelirler (Willis, 1991; Zaleznik, 1989).

Apse Oluşumu; barsak enfeksiyonlarının en önde gelen komplikasyonudur. Apse, fibröz bir zar ile çevrilen ölü polimorfonüveli lökositler ve bakterilerden oluşur. Apse'ler metastaz yapabilir ve bakteremi ve dissemine enfeksiyona sebep



olabilir. Apse oluşumu *Bacteroides*'lerin polisakkarit kapsülüne karşı immün sistemin oluşturduğu patolojik bir cevaptan ibarettir (Willis, 1991). Kapsül antikora bağımlı immün cevabı stimüle eder ancak *B.fragilis* kapsülü T hücre bağımlı immün cevabı stimüle eder (Zaleznik, 1989).

Peritoneal kontaminasyon olduğunda vücut bu invazyona karşı savunmaya; lenfatik yol, fagositozis, fibrin sekestrasyonu ve anatomik lokalizasyon ile çalışır. Anaerob bakteriler apse formasyonu oluşturmak için fakültatif mikroorganizmalarla sinerjistik rol oynar. Fakültatif bakteriler ortamın oksido-redüksiyon potansiyelini (Eh ) düşürür. Bu da anaeroplara üremesini kolaylaştırarak enfeksiyon sürecini ilerletir (Goldstein, 2002).

**Kapsül Varlığı:** Fagositozu önleme özelliği gösterir (Rotstein, 1986).  $\beta$ -Laktamaz enzimi salınımı (Willis, 1991). Katalaz, süperoksit dismutaz genlerini taşıyan aynı zamanda oksijenle indüklenen 28 ayrı protein geni taşırlar. Üç güne kadar atmosferik oksijeni tolere edebilir (Rocha, 1996). Frajilizin: Jelatin, aktin, tropomiyozin ve fibrinojeni hidroliz edebilen bir metalloproteazdır. Diyare oluşturan *Bacteroides fragilis* Grup suşlarında frajilizin toksini saflaştırılmıştır. Enterositlere bu yolla sitotoksik etki yapar ve diyareye yol açar. ETBF (Enterotoksijenik *B.fragilis*) suşları barsak dışı enfeksiyonlara da yol açarlar. 1-5 yaş arası çocuklarda görülen ve kendiliğinden geçen ishal etkeni ETBF'dir. Sağlıklı kişilerde ise yaklaşık % 6,5 oranında ETBF taşıyıcılığı saptanmıştır (Moncrief , 1995).

Direnç mekanizmaları ise şöyledir, anaerob bakterilere bağlı enfeksiyonların tedavisinde  $\beta$ -laktam grubu antibiyotikler önemli bir yer tutmaktadırlar. Fakat, özellikle *Bacteroides* grubu bakteriler bu antibiyotiklere yüksek oranda direnç göstermektedir (Nord, 1990).  $\beta$ -laktam antibiyotiklere direnç mekanizmalarını şu şekilde tarif edebiliriz; Penisilin bağlayıcı proteinlerde (PBP) değişiklik: Bakteri kromozomlarında mutasyon sonucu oluşan yeni PBP'lere,  $\beta$ -laktam grubu antibiyotikler bağlanamamakta ve etkili olamamaktadırlar. Ayrıca aztreonam gibi monobaktam'ların, *B.fragilis*'in PBP'lere zayıf afinite gösterdikleri ve bu bakteriler

üzerinde etkili olmadıkları bilinmektedir(Türkkan, 2008). Geçirgenliğin azalması: Kromozomlarda gelişen mutasyonlardan dolayı dış membran proteinlerinden 40-50 kD'luk porin kaybı olduğu, bu nedenle geçirgenliğin azaldığı,  $\beta$ -laktam grubu antibiyotiklerin PBP'lere ulaşamadığı tespit edilmiştir(Türkkan, 2008).  $\beta$ -laktamaz'larla antibiyotiklerin inaktivasyonu: En sık görülen şekildir. Bakteri ürettiği  $\beta$ -laktamaz'larla  $\beta$ -laktam halkasını hidrolize ederek antibiyotiği inaktif hale getirmektedir (Ülger, 2006).  $\beta$ -laktamaz inhibitörleriyle kombine edilmiş  $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı direnç çok az gelişmiştir. Bu direnç oranı çeşitli ülkelerde, *Bacteroides fragilis* grup (BFG) bakterilerinde % 0-2.4 arasında değişmektedir(Snydman, 2002; Ülger, 2005). En sık izole edilen ve grup içinde en duyarlı olduğu halde *B.fragilis*'in penisilin direnci grup içindeki diğer bakteriler arasında en yüksektir. Penisilin ve ampisiline direncin en yaygın mekanizması kromozomal olarak kodlanabilen, transfer edilebildiği henüz gösterilmemiş sefalosporinazdır. *Bacteroides* türleri sefalosporinaz salgılayarak 3.kuşak sefalosporinlere direnç gösterirler. Sefoksitin direnci *B.fragilis* türünde düşük oranda (% 3-6) iken, diğer türlerde özellikle *B.ovatus* 'da % 84 oranında sefoksitin direnci görülmüştür.  $\beta$ -laktamaz *Bacteroides*'lerin büyük çoğunda bulunur ancak  $\beta$ -laktam- $\beta$ -laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar ile inhibe olurlar. Ampisilin sulbaktam, tikarsilin klavulonik asit, piperasilin-tazobaktam direnci ise % 2'den daha az olarak saptanmıştır (Snydman, 2002).

Bazı *B.fragilis* suşlarının salgıladığı fragilizinin üretiminin bakteri DNA'sında bulunan patogenezi adacığindeki *bft* geni tarafından kodlandığı ve bu adacığın her iki ucunda mobil genlerin bulunduğu saptanmıştır. Bu adacıkların ETBF (Enterotoksijenik *B.fragilis*)'lerden diğer *B.fragilis*'lere kısmen veya tamamen nakledilebildiği tespit edilmiştir. Dirençli bakterilerin duyarlı bakterilere direnç aktarımında bu mobil genlerin önemli oldukları anlaşılmıştır. Ancak yapılan bir çalışmada *bft* geni pozitif ve negatif gruplar arasında direnç farklılığının istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği, dışkıdan izole edilen *bft* geni pozitif suşlarda piperasiline direnç olduğu gözlenmiştir (Snydman, 2002).

Sefoksitin ve sefotaksime karşı direnç *cep* A ve *cfx* A  $\beta$ -laktamaz genleri tarafından kodlanır. Plazmid veya mobil transpozonlar ile transfer edilebilir (Rogers, 1993). Karbapenem (imipenem, ertapenem, meropenem) direnci oranı dünya çapında tüm *B.fragilis* grup içinde %1'den daha azdır. Bu geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz direnci *cfIA* ve *ccrA* genlerinden biri tarafından kodlanır.  $\beta$ -laktam- $\beta$ -laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara karşı direnç sağlayan bir class B metallobetalaktamaz eksprese eden genlerdir (Thompson, 1990; Fang, 2002).

*B.fragilis* kökenlerinde araştırılan sefoksitin direnci, bakterilerin dış membran geçirgenliğinin azalmasına da bağlı olduğu düşünülmektedir. *B. fragilis*'ler Aminoglikozidlere doğal dirençlidir. Çünkü bu ilacın hücre içine alınımını oksijen ya da nitrat bağımlı bir ETZ kullanan ve enerji gerektiren bir olaydır. Anaerop bakterilerde ise bu sistem bulunmamaktadır (Torun, 1999).

*B.fragilis* grup arasında klindamisin direnci 20 yıldan fazla bir zamandır mevcuttur. Yapılan birçok çalışmada %10-%40 arası değişen direnç oranları rapor edilmiştir(Hecht, 2004). Ribozomal değişikliği yapan ise N-metil transferaz enzimidir. *Erm* ( eritromisin ribozom metilasyonu ) adı verilen genlerin ürünüdür. *B.fragilis* 'te *Erm* F, *Erm* FS, *Erm* G ve *Erm* B tanımlanmıştır (Torun, 1999).

Anaerop bakterilerin etken olarak karşımıza çıkan enfeksiyonlarda makrolid-linkozamid-streptogramin (MLSb) grubu içinde sıklıkla klindamisin kullanılmaktadır. Klindamisin bakteri ribozomunun 50S alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Dolayısıyla 23S rRNA'da metilasyon sonucu klindamisin hedef bölgeye bağlanamamakta ve ilaç etkisiz kalmaktadır (Roberts, 1995). *Bacteroides fragilis* grubu bakterilerde klindamisine yüksek oranda gelişen direnç nedeniyle empirik tedavide tercih edilecek ilk sıradaki antibiyotikler arasında yer almamaktadır (Ülger, 2006).

Nitroimidazol (Metronidazol ) direnci ise 1960'dan beri dünya çapında yaygın olarak kullanılmasına rağmen direnç *B.fragilis* grup arasında nadirdir görülmektedir.

Nitroimidazol redüktazı kodlayan 7 adet *nim* geni (A-G) yaygın olarak eksprese edilir (Löfmark, 2005; Haggoud, 1994). *nim* genleri transfer olabilen plazmidler üzerinde identifiye edilmiş ve bir klindamisin direnç plazmidine yakından benzerlik gösterir (Hecht, 2006). İmidazol direnci ile bağlantılı non-*nim* geni'de tipik olarak metronidazol'ü fazla miktarda kullanan bireylerde saptandığı çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (Löfmark, 2005).

Florokinolonlar içinden moksifloksasin, FDA tarafından anaeroplari içerebilen, cilt enfeksiyonları için onaylanmıştır. Anaeroplara kısmen etki etmektedir. Direnç *gyr A* (gyraz) ve *gyr B* 'de mutasyonlar ve efluks pompasının ekspresyonunda artış ile bağlantılıdır. Anaerop bakteriler tarafından transfer edilebilir kinolon direnci henüz tanımlanmamıştır (Winn, 2006).

Tetrasiklin anaerop enfeksiyonların tedavisinde ilk kullanılan antibiyotik olmasına rağmen günümüzde *Bacteroides* suşlarının hemen hemen tümü bu antibiyotiğe dirençlidir (%80-90) (Torun, 1999).

Tigesiklin son zamanlarda FDA tarafından da onaylanmış, anaerop aktivitesi olan bir glisilsiklidir. *B.fragilis* grubun tüm üyeleri ve diğer anaeroplara karşı mükemmel invitro aktiviteye sahip olan minosiklinin t-butylglyclamido derivativesidir. İntraabdominal, yumuşak doku ve ciltteki mikst enfeksiyonlar için tercih edilebilir. *Bacteroides*'te tigesiklin direnci nadirdir ve direnç mekanizması henüz açıklığa kavuşmamıştır (Winn, 2006).

## **2. *Fusobacterium* Türleri**

*Fusobacterium*'lar Gram negatif, sporsuz anaerop çomaklardır. *Bacteroides* ve *Porphyromonas* türleri gibi bütirik asit üretir ancak isobütirik asit ve isovalerik asit üretmez. Eskiden *Bacteroides* genusunda yer almaktaydılar. Anaerop koşullarda AnBAP besiyerinde iyi üreyebilirken atmosfer havası ile karşılaşınca canlı

kalamazlar. Kanamisine (1mg) duyarlı, kolistin (10µg) ve vankomisine (5 µg) ise dirençlidir. *Fusobacterium*'ların bazı suşlar yeşil renk flüoresan verir. Farklı türleri karakteristik hücre ve koloni morfolojisine sahiptir. *Fusobacterium* türleri ağız içi, üst solunum yolu, gastrointestinal sistem, genitoüriner sistemin normal flora üyesidirler. *F.nucleatu* klinik örneklerden en sık izole edilen türdür. Kemoterapiyi takiben nötropenili, mukositli hastalarda meydana gelen şiddetli sistemik enfeksiyonlarda *F.nucleatum* sıklıkla görülen etkindir. Isırık yarası ve solunum sistemi enfeksiyonları ile ilişkili bulunmuştur. Vücudun çeşitli bölgelerinde ciddi enfeksiyonlara sebep olur. Beyin apseleri, kronik sinüzit, metastatik osteomyelit, septik artrit, karaciğer apsesi ve diğer intraabdominal enfeksiyonlarda yaygın bir patojendir. Nekrobasiloz olarak da adlandırılan Lemiere sendromu (postanjinal septisemi) başlıca *F.necrophorum* tarafından meydana gelir(Winn, 2006).

Direnç mekanizmaları; Penisilin direnci çok yaygın değildir. Direnç β-laktamaz tarafından meydana gelir. Tetrasiklin direnci artan bir sıklıkla rapor edilmektedir. Sefalosporinlere ve sefamisinlere (sefoksitin, sefotetan, seftizoksim) ise %90'dan fazla duyarlıdır. Hem *tet* (W) hem de *tet* (M) *F.nucleatum*'un tetrasiklin direncinde identifiye edilmiştir (Hecht, 2006).

### **3.Pigmentli Anaerop Gram Negatif Çomaklar**

Pigmentli *Prevotella* ve *Porphyromonas spp.*, orofarinks, burun, gastrointestinal sistem ve genitoüriner sistemin normal florasında bulunurlar. İnsan enfeksiyonlarında ikinci en yaygın bakteri grubudur.

*Porphyromonas* türleri kanamisine dirençli, kahverengi pigmentli, UV altında kiremit kırmızı renkte floresan veren, safra, penisilin, rifampisin ile inhibe olan, indol pozitif, gram negatif basillerdir. Genellikle glukoz ve diğer karbonhidratları fermente etmezler. *Prevotella* türleri ise glikoz ve diğer karbonhidratları fermente ederler (Handal, 2005).

*Prevotella*, *Porphyromonas* Türlerinin Direnç Mekanizmaları ise şöyledir; *Bacteroides* grup üyeleri ile karşılaştırıldığında genelde bu mikroorganizmaların direnç oranı verileri sınırlıdır. Tamamı *B.fragilis* grup'tan daha duyarlıdır. Günümüzde *Prevotella spp*'nin yaklaşık %50'si ya *cfx A* ya da *Bacteroides*'lerdekine benzer  $\beta$ -laktamaz'ları üretmek suretiyle penisilin ve ampisilin'e direnç gösterirler (Hecht, 2006). *Porphyromonas* türleri arasında penisilin direnci %8-17 arasında olup düşük değerlerdedir. Direnç mekanizmasından öncelikli olarak *cfx A* tarafından kodlanan  $\beta$ - laktamaz sorumludur (Handal, 2005). Tüm türler karbapenem, metronidazol, kloramfenikol ve  $\beta$ -laktam-  $\beta$ - laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara duyarlıdır. Bununla beraber klindamisine direnç hem *Prevotella* (% 0-11) hem de *Porphyromonas* türlerinde(%0-35) gözlenmektedir. Direnç ya *erm F* ya da *erm G* varlığına bağlıdır (Hecht, 2006). *Prevotella spp.* tetrasiklin direnci ribozomal koruma mekanizmasına bağlı olup *tet(Q)*, *tet(M)*, *tet(W)* varlığı ile bağlantılıdır ve *tet(Q)* *Porphyromonas spp.*'de de tanımlanmıştır (Hecht, 2006). Diğer direnç transferlerinin mekanizması bilinmezken: tetrasiklin direncinin bakteriden bakteriye aktarımı *Bacteroides*'lerinkine benzer şekilde olup konjugatif transpozonlar yoluyla olmaktadır (Hecht, 2006).

### **Diğer Gram Negatif Anaerop Basiller ve Direnç Mekanizmaları**

*Bilophila wadsworthia* gastrointestinal traktusun yaygın mikroorganizmalarından biridir.  $\beta$ -laktamaz üretimi çok sıktır. Penisilin ve ampisiline karşı yüksek düzeyde direnç görülür. Bununla beraber bu mikroorganizma klindamisin, sefoksitin, karbapenem, metronidazol ve  $\beta$  laktam-  $\beta$ -laktamaz inhibitör kombinasyonlarına duyarlıdır (Hecht, 2006).

## 2.4.2 Beta Laktamaz Üreten Anaerop Bakteriler

Beta laktam direncinde görülen en önemli mekanizma beta laktamaz üretimidir. *Bacteroides*, *Fusobacterium* ve *Clostridium* gibi çeşitli türlerde beta laktamaz varlığı bildirilmiştir. *Bacteroides fragilis*'de görülen beta laktamaz direnci en yaygın olarak sefalosporinaz karakterinde beta laktamaz aracılığı ile gerçekleşmektedir. Son çalışmalar *B. fragilis*'in piperasilin ve karbenisilini inaktive eden bir penisilinaz üretebildiğini de göstermiştir. *B. fragilis*'ten sefoksitin ve imipenemi inaktive eden enzimler dahi izole edilmiştir. *B. fragilis* grubundan olmayan *Bacteroides* türleri ise temel olarak penisilinaz karakterinde beta laktamazlar üretirler. *Fusobacterium nucleatum*'dan izole edilen bir penisilinaz enzimi de tanımlanmıştır. Beta laktamaz üreten anaerop bakteriler Tablo 1'de verilmiştir (Keşli, 2001; Finegold, 1995; Nord, 1985; Finegold, 1992; Finegold, 1985).

Tablo 2.1. Beta laktamaz üreten anaerop bakteriler.

|  |                                  |
|--|----------------------------------|
| <i>Bacteroides fragilis</i> grubu        | <i>Fusobacterium nucleatum</i>   |
| <i>Bacteroides melaninogenicus</i> grubu | <i>F. mortiferum</i>             |
| <i>B. oralis</i>                         | <i>F. varium</i>                 |
| <i>B. coagulans</i>                      | Pigmentli <i>Prevotella</i> spp. |
| <i>B. bivius</i>                         | <i>P. oralis</i> grubu           |
| <i>B. disiens</i>                        | <i>P. disiens</i>                |
| <i>B. hypermegas</i>                     | <i>P. oris</i>                   |
| <i>B. multiacidicus</i>                  | <i>P. buccae</i>                 |
| <i>B. ruminicola</i> grubu               | <i>Porphyromonas</i> spp.        |
| <i>B. splanchnicus</i>                   | <i>Megamonas hypermegas</i>      |
| <i>Clostridium ramosum</i>               | <i>Mitsuokella multiacida</i>    |
| <i>C. clostridiiforme</i>                | <i>Bilophila wadsworthia</i>     |
| <i>C. butyricum</i>                      |                                  |

## 2.5 Anaerop Enfeksiyonlar

### 2.5.1. Baş-Boyun enfeksiyonları

Ağız ve diş enfeksiyonları, periodontal hastalıklar (Gingivit, periodontit...) genel olarak diş implant çevresi enfeksiyonları, kök kanalı enfeksiyonları, dentoalveolar enfeksiyonlar sayılabilir. Diğer normal vücut mikrofloraları gibi ağız florası da fırsatçı patojen mikroorganizmalar olarak endojen enfeksiyonların kaynağını oluşturur. *B.fragilis* ağız florasında bulunmaz, ağız boşluğu ve solunum yolları enfeksiyonlarında bildirilmesi yanlış identifikasyonun bir göstergesidir. Bunun yanında baş ve boyun enfeksiyonlarında anaeroplara göre dört kat fazla sıklıkla soyutlanmaktadır(Türkkan, 2008).

Ludwig Anjini, sublingual ve submandibular boşlukların bilateral bir enfeksiyonudur. En sık dentoalveolar apse etkenleri *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium spp* ve anaerop streptokokların izole edildiği alveolar apseler gibi karışık anaerop enfeksiyonlardır (Türkkan, 2008).

Apseli çene osteomyelitleri, eski çalışmalarda *S.aureus* en sık izole edilen etken iken, günümüz mikrobiyolojik teknikler etkenlerin dentoalveolar apse etkenleriyle aynı olduğunu göstermiştir. Çene osteomyelitleri ağız florasından kaynaklanan ve genellikle mikst anaerop enfeksiyonlardır (Türkkan, 2008).

Aktinomikoz endojen ve granümatöz bir hastalıktır. Vücutta en sık görüldüğü yer boyun ve yüz bölgesidir. En yaygın etken *A.israelii* ile mikst agresif periodontit'e etken *A. actinomycetemcomitans*, *Haemophilus* türleri ve zorunlu anaerop *Propionibacterium propionicum*, *Porphyromonas spp.* ve *Prevotella spp.* izole edilir (Türkkan, 2008).



Rinosinüzit enfeksiyonlarında tedavi edilmeyen, kronikleşen olgularda nazofareks ve ağız florası kaynaklı anaeroplara sayıları artar. Anaeroplara baskın olduğu polimikrobiyal enfeksiyonlardır. Özellikle *Porphyromonas spp.*, *Prevotella spp.*, *Fusobacterium sp.*, *Peptostreptococcus spp.* en sık anaerop etkenlerdir (Türkkan, 2008).

Kronik otitis media anaeroplara (*Porphyromonas spp.* ve *Prevotella spp.*, *B.fragilis*) üstün sıklıkla görüldüğü, *S.aureus* ve gram negatif basillerin etken olduğu polimikrobiyal enfeksiyonlardır(Türkkan, 2008).

Lemierre Sendromunda ise akut farenjit veya tonsilitin internal juguler vene süperatif tromboflebitten dolayı sepsise ilerleyen şeklidir. Başlıca anaerop etken *Fusobacterium necrophorum*'dur (Külekçi, 2005).

### 2.5.2. Batın içi enfeksiyonlar

İntraabdominal enfeksiyonların mortalitesi %3-5 dolaylarındadır. Ancak organ yetmezliği ile karakterize penetran abdominal travma'larda mortalite %60'dan fazladır. İntraabdominal enfeksiyonlar yaygın peritonit şeklinde görülürler (Leblebicioğlu, 1999).

Peritonitler, intraabdominal kaynaklı bir enfeksiyon veya içi boş organların delinmesi sonucu sekonder peritonit ortaya çıkar. Etkenler sıklıkla endojen kaynaklıdır. En önemli endojen kaynak gastrointestinal sistemdir (Ural, 2005). İntestinal kolon florası  $10^{12}$  bakteri /gram dışkı içerir ve baskın olarak anaeroplara bulunur. *B.fragilis* grup üyeleri ve *Bifidobacterium* türleri özellikle kolon florasında çoğunluktadır. Sekonder peritonitte çoğunlukla bu sistem içindeki mikroorganizmalar birlikte etken olur (Ural, 2005;Aldridge, 2003).

İntraabdominal apseler genellikle polimikrobiyaldır. Çoğunlukla GİS flora üyeleri izole edilir. Uzun süre hastanede yatan hastalarda çoğul dirençli mikroorganizmalar etken olabilir. Batın içinde herhangi bir lokalizasyonda olabileceği gibi bazı organlarda da olabilir. Bu organların başında ise karaciğer gelir (Ural, 2005). Batın içi apseler (abdominal, pelvik ve renal) en sık anaerop mikroorganizma üretilen klinik örnekler olmuştur. Bu durum pek çok anaerop bakterinin abdominal apse etiyolojisinde yer almasına bağlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda kranyal fokal enfeksiyöz süpürasyonlar birinci sırada iken batın içi apseler ikinci sırada yer almıştır. Vasküler, obstrüktif, inflamatuvar barsak lezyonları anaerop enfeksiyon kaynağı olabilir. İntraabdominal apselerin çoğu travma, perforasyon, inflamasyon ve intraabdominal organ enfeksiyonları gibi sebepler ile gelişir. Postoperatif apseler ise operasyon sırasında kontaminasyon veya anastomozlardan olan kaçaklarla meydana gelir (Şengöz, 2005). Cerrahi işlem, apendisit rüptürü, kolon kanseri perforasyonu gibi barsak mukozasının bütünlüğünü bozan durumlarda özellikle *B.fragilis* sıklıkla intraabdominal, perirektal apselere ve peritonite sebep olur (Ural, 2005).

### **2.5.3. Santral Sinir Sistemi (SSS) Enfeksiyonları**

SSS enfeksiyonları çoğunlukla agresif seyreden, kısa sürede ölüm ve kalıcı sekelle sonlanabilen enfeksiyonlardır. Bu nedenle SSS anaerop enfeksiyonları, etiyolojik açıdan ihtimaller arasında değerlendirilmediği ya da uygun tedavinin geciktiği olgularda kötü prognoz ile sonlanabileceği için dikkatli olunmasında fayda vardır. Beyin apselerininin %20-40 gibi yüksek denilebilecek bir oranda primer odak bilinmemektedir (Beşiroğlu, 2005). Beyin apsesi komşuluk yolu, hematojen yayılım veya travma sonucu gelişebilir . %25 olguda ise kardiyak veya pulmoner kaynaklı hematojen yayılım söz konusudur. Hematojen yayılım sonucu gelişen beyin apseleri genellikle çokludur ve bunlarda % 40-60 olguda anaeroplara (anaerop streptokok, *B.fragilis* ) tek başına veya aerop bakterilerle birlikte etkindir (Leblebicioğlu, 1999). Anaerop bakteri menenjitleri çok sık görülmez. Ancak nekrotizan enterokolit, barsak perforasyonu, kronik otit ve serebrospinal sıvı shunt enfeksiyonları varlığında

menenjit gelişebileceği göz ardı edilmemelidir. *B.fragilis* en sık rastlanan ajandır. Beyin apselerinin % 20-40 'ında kronik otit ve kronik sinüzit predispozan olarak rol oynar. Temporal beyin apseleri ise daha siktir. *Bacteroides* türleri beyin apselerinden diğer anaerop bakteriler ve streptokok türleri ile mikst enfeksiyon kaynağı olarak izole edilirler (Beşiroğlu, 2005). Beyin apselerinin en az yarısında anaeroplara tek başına veya polimikrobiyal olarak etken olduğu için anaerop bakteri kültürleri ve direnç oranları testleri muhakkak yapılmalıdır (Şengöz, 2005).

#### 2.5.4. Akciğer Enfeksiyonları

Anaerop bakterilerin alt solunum yolları enfeksiyonlarındaki sıklığı, alt solunum yollarından kontamine olmamış örneklerin alınabilmesi sonucunda (1970 - 1980 yılları arasında transtrakeal aspirasyonun kullanımı ile) gösterilmiştir. Bu gelişmelere rağmen halen bir pulmoner enfeksiyon etkeni olarak anaeroplara sıklıkla gözden kaçmaktadır. Dolayısıyla antibiyotik tedavi seçimi hatalı yapılabilmektedir. Anaeroplara etken olduğu akciğer enfeksiyonlarının patofizyolojileri ve klinik bulguları benzerlik göstermektedir. Sıklıkla aspirasyon pnömonisi şeklinde başlamakta genellikle tedavi eksikliğine bağlı olarak hastalık akciğer apsesi ve nekrotizan pnömoni tablolarına kadar ilerlemektedir. Aspirasyon sonucunda solunum yolunun normal florasındaki anaeroplara pnömoniyeye neden olabilirler. En sık görülen etkenler *Prevotella spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Porphyromonas spp.*'dir. Pnömoni sonrası gelişen ampiyem sıklıkla polimikrobiyaldir (Leblebicioğlu, 1999; Finegold, 2000; Yamazhan, 2005). Apse formasyonu sonrası plevra boşluğuna yayılım ile ampiyem tablosu gelişmektedir. Akciğer apsesi ve nekrotizan pnömoni'de olguların yaklaşık %50'sinde anaerop bakteriler tek başına, %25'i aerop bakterilerle, %25'inde aerop bakteriler tek başına etken olduğu gösterilmiştir. *Peptostreptococcus spp.*, *Prevotella spp.*, *Fusobacterium nucleatum* en sık rastlanan anaerop etkenlerdir. *B.fragilis* normal orofarengeal floranın bir elemanı olmamasına rağmen olguların %15'inde etken olarak izole edilmektedir. Ampiyem olgularının %24'ünde aerop koklar, %35'inde anaeroplara tek başına, %41'inde ise aerop ve anaerop etkenler karşımıza çıkmaktadır (Lipsky, 1997).

### 2.5.5 Pelvik Enfeksiyonlar

Pelvik enfeksiyon grubu arasında gebelik sırasında görülen enfeksiyonlar, jinekolojik girişimlerle ilgili enfeksiyonlar ve cinsel yolla bulaşan pelvik inflamatuvar hastalıklar (PİH) yer almaktadır (Yapar, 2005). Pelvik apseler pelvik inflamatuvar hastalıklar, apandisit veya divertikülit sonrası oluşabilir (Şengöz, 2005). Gebelik sırasında intraamniotik enfeksiyonlar, postpartum endometrit, epizyotomi, postabortal enfeksiyonlar sıklıkla görülmektedir. Bu tip enfeksiyonlarda sıklıkla *B.fragilis* ve streptokoklar etkindir. PİH'da *Prevotella spp.* ve peptostreptokoklar sıklıkla izlenilen etkindir. Anaerob olarak en sık *B.fragilis* ve *Prevotella spp.* etkindir. Ayrıca *Actinomyces* türleri özellikle *A.israelii* PİH ve tuboovaryan apse etkeni olabilmektedir. Pelvik aktinomikozun rahim içi araç (RİA) ile ilişkisi bildirilmiştir (Yapar, 2005).

### 2.5.6 Kemik ve Yumuşak Doku Enfeksiyonları

Hematojen yol ile gelişen osteomyelitlerde anaerob etkenler çok sık görülmez. Ancak travma ve kırık sonrası uzun kemiklerde, damar yetmezliğinin varlığında, odontojenik enfeksiyonlar, kronik sinüzit, kronik otitte kafa kemiklerinde ve diyabetik bası yaraları ile gelişen osteomyelitlerde anaerob bakteriler önemli rol oynar. En sık *Peptostreptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *B.fragilis* grup soyutlanmaktadır (Gündeş, 2005).

Diyabetik ayakta, normalde doku kültürlerinde kontaminasyon olarak kabul edilen bakteriler (*Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium* türleri) etken olabilir. Hatta yapılan bazı çalışmalarda koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS) %40'a varan oranlarda enfeksiyon etkeni olarak bildirilmişlerdir. Aynı zamanda hem kemik hem de yumuşak doku enfeksiyonlarında birden çok etken izole edilebilir. Anaerob bakteriler diyabetik ayağın ciddi yumuşak doku enfeksiyonlarında etken olarak daha sık izole edilirken, osteomyelitlerinde ise daha az izole edilmektedirler. Kemik doku

ve yumuşak doku kültür sonuçları her zaman uygunluk göstermezler. % 6-13 arasında farklılık gösterirler. Muhtemel patojenleri saptayabilmek amacı ile kemik ve yumuşak doku kültürleri birlikte alınmalıdır. Diyabetik ayakta en sık görülen etken *S.aureus*, fakültatif anaeroplara ve gram negatif basillerdir. Ciddi seyirli formunda bu etkenler anaerop gram pozitif koklar ve *Bacteroides* türleri ile birlikte bulunur (Lipsky, 1997;Ertuğrul, 2004).

### **2.5.7 Anaerop Bakteremi ve Kateter Enfeksiyonları**

Anaerop bakteremi enfeksiyonları nadir görülmektedirler fakat yüksek mortalite ile sonuçlanabilir (Aldridge, 2003). Son yıllardaki çalışmalarda, hastanede yatan hastalarda bakteremi epizodlarının %0.5-9'unu anaeroplara oluşturduğu gösterilmiştir (Zahar, 2005). Grlme sıklığı ise coğrafik, demografik ve özellikle yaş ile ilişkili olarak farklılık gösterir.

Yapılan çalışmalarda anaerop bakteremilerin %49'unun GIS kaynaklı olduğu bulunmuş, %6'sında ise kaynak bulunamamıştır. Erken dönemde peritonit ve bakteremi aeroplara tarafından, daha geç dönemlerde apse komponenti anaeroplara olur. En önemli anaerop patojen olarak tanımlanan *B.fragilis* normal kolon florasının % 0.5 ini oluşturur.

Anaerop bakteremi intraabdominal prosesler ile önemli oranda bağlantılıdır (Goldstein, 2002). Mukozit kan yolu ile enfeksiyon için risk faktörü olarak değerlendirilir. Ayrıca diğer risk faktörleri arasında hematolojik malignansiler, profilaktik kinolon kullanım öyküsü, cerrahi ve geniş spektrumlu antimikrobiyal tedavi yer almaktadırlar. Kanser hastalarında altta yatan en yaygın hastalık %27 gastrointestinal ve %29 hematolojik malignansilerdir. Kanser kemoterapisi nedeniyle meydana gelen mukozal ve visseral hasar endojen anaeroplara bağlı bakteremi riskini arttırmaktadır.

Aynı mikroorganizma için 2 veya daha fazla pozitif kan kültürü, tek bir kan kültürü pozitif ve 35°C'nin üzerinde ateş varlığı veya enfeksiyon odağı bilinen hastada pozitif kan kültür sonucu; klinik olarak anlamlı kabul edilmektedir. Öte yandan tek bir kan kültür şişesinde *Propionibacterium* izolasyonu kontaminant olarak değerlendirilmektedir (Zahar, 2005).

Plastik iv kateterler, ilaç, sıvı, transfüzyon ya da parenteral beslenme amacıyla günümüzde sık olarak uygulanmaktadır. Bu araçların kullanımlarında en önemli sorun olan kateter enfeksiyonu farklı kaynaklara göre % 3-27 arasında değişmektedir. Bu tür enfeksiyonlarda rol oynayan mikroorganizmalar hastane ortamına göre değişkenlik göstermektedir ve her hastane için ayrıca saptanması gerekmektedir.

Yapılan çalışmalarda santral venöz kateterlerde enfeksiyon riskinin periferik katetere göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Katetere bağlı sepsis olgularında mortalite %80'e ulaşabilmektedir. Farklı çalışmalarda % 0-12 arasında sepsis oranı bildirilmiştir. Anaerop kültür ise kateter enfeksiyonuna yönelik birçok çalışmada göz ardı edilmiştir. Çalışmaya dahil edildiği durumlarda ise *Propionibacterium spp.* ve *Clostridium spp.* üretildiğinden bahseden az sayıda yayın vardır (Gürbüz, 1999).

## **2.6 Klinik Örneklerin Seçimi, Alınması ve Laboratuvara Taşınması**

### **2.6.1 Örneğin seçimi:**

Örneğin doğru seçimi, anaerop bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlarda tanıyı doğru koyabilmek için uyulması gereken en önemli kuraldır. Anaerop kültürde tanının doğru konulabilmesi için öncelikli olarak normal floradan sakınılmalıdır. Optimal kabul edilebilecek örnekler şöyledir; steril vücut sıvıları, aspiratlar veya normalde steril olan bölgelerden alınan sıvı ve biyopsi örnekleridir. Genel olarak sıvı

veya doku örnekleri tercih edilmelidir. Sürüntü örneklerinden kaçınılmalıdır (Kıyan, 1999;Gürler, 2005;Winn, 2006).

Normal flora nedeni ile kontaminasyondan kaçınılamayacağı için anaerop kültür için uygun olmayan ve alınması tavsiye edilmeyen örnekler aşağıdaki gibidir(Kıyan, 1999;Gürler, 2005; Winn, 2006; Jousimies-Somer, 2002).

1. Boğaz ve nazofarengeal sürüntü örnekleri
2. Gingival sürüntü örneği
3. Ekspektore edilen balgam
4. Nazo-trakeal ve oro-trakeal aspirasyon ile alınan balgam
5. Çift lümenli, koruyuculu olmayan bronkoskop ile alınmış olan bronkoskopi örnekleri
6. Mide ve ince barsak muhtevası (kör loop ve benzeri sendromlar hariç)
7. Kalın barsak muhtevası, ileostomi, kolostomi, rektal sürüntü, kolo-kutanöz fistül örnekleri veya feçes örneği (*C.difficile* veya *C.botulinum*'un etken olabileceği düşünülen hastalık hariç)
8. Miksiyon ile veya kateter ile alınan idrar örneği
9. Vaginal veya servikal sürüntü örnekleri
10. Dekubitis ülserleri, yaralar, eskar dokuları, perirektal abse ve pilonidal sinüs kanallarından alınan yüzeysel sürüntü örnekleri
11. Yeterli dekontaminasyon işleminin yapılamadığı müköz membranlara veya cilde bitişik bölgelerden alınan materyaller (Doğan, 2008).

### **2.6.2 Örneğin alınması:**

Anaerop bakterilerin klinik örneklerden izole edilebilmesi ve tanının doğru konulabilmesi için uyulması gereken ikinci kural örneğin doğru olarak alınmasıdır. Örnek alınırken öncelikli olarak, oksijen ile temas mümkün olduğunca engellenmelidir. Genel anlamda müköz membranlar veya ciltten örnek alınırken yüzeyin dekontaminasyonu sağlanmalıdır. Bu amaçla %10 povidonyot (betadin)

uygulamasından sonra %70 alkol ile temizleme yapılmalıdır (Kıyan, 1999;Gürler, 2005; Winn, 2006; Jousimies-Somer, 2002).

Enjektör ve benzeri aletler kullanılarak alınan örnekler anaerop kültür için en uygun örneklerdir. Doku ve biyopsi örnekleri de anaerop kültür için tercih edilebilir. Eküvyonla alınan örneklerin az materyal içermesi, normal flora üyeleri ile kontamine olma riskinin yüksek olması, bakterilerin pamuk liflerine yapışması ve pamuk liflerinin Gram boyama kalitesini düşürmesi gibi nedenlerle, mecbur kalınmadıkça eküvyonla örnek alınmasına başvurulmamalıdır. Gerekli durumlarda anaerop swap sistemi kullanılarak örnek alınabilir (Kıyan, 1999; Winn, 2006; Jousimies-Somer, 2002). Anaerop kültür için örneklerin alınmasında enfeksiyonun yerine göre yapılması gereken işlemler Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2 Anaerop kültür için örneklerin alınmasında enfeksiyonun yerine göre yapılması gereken işlemler

| <b>Enfeksiyonun yeri</b>                      | <b>Uygun olan örnekler ve örneğin alınma yöntemi</b>  |
|---|---|
| Merkezi sinir sistemi                         | BOS, abse materyali, doku biyopsisi (steril şartlarda alınan)                                     |
| Dental bölge, kulak, burun, boğaz ve sinüsler | Yüzey dekontaminasyonundan sonra abseden alınan aspirasyon veya biopsi materyali                  |
|   | Orta kulak aspiratı   |
|   | Paranasal sinüslerden kateter ile alınan aspirat örneği   |
| Akciğer ve plevra                             | Korunmuş fırçayla yapılan transtrakeal aspirasyon   |
|   | Perkütan akciğer biyopsisi işlemi ile alınan örnek  |
|   | Torakotomi ile alınan örnek   |
|   | Koruyucu çift lümenli kateter ile elde edilen bronkoskobik örnekler                               |
|   | Steril olarak alınan plevra sıvısı  |
| Abdominal bölge                               | Parasentez sıvısı (steril olarak alınan periton sıvısı)   |
|   | USG eşliğinde veya ameliyat anında absenin derinlerinden enjektör ile alınan aspirasyon materyali |
|   | İntestinal flora ile kontamine olmamış ise cerrahi örnekler                                       |
|   | Safra (Cerrahi işlem esnasında elde edilen)   |



|   |  |
|---|--|
| Kalın barsak  | Sadece <i>C.difficile</i> veya <i>C.botulinum</i> 'un etken olduğu düşünülen durumlarda kültür veya toksin çalışmaları için gaita örneği |
| Kadın genital sistemi   | Laparaskopi örnekleri  |
|   | Cerrahi ile elde edilen örnekler   |
|   | Endometriyal örnek (korunmuş emme küreti ile elde edilen)  |
|   | Kuldosentez ile alınan peritoneal sıvı   |
| Üriner sistem   | Rahim içi araçlar (RIA=IUD) (sadece <i>Actinomyces</i> 'ler için)  |
| Suprapubik aspirasyon ile elde edilen idrar                                       |  |
| Kemik ve eklem  | Cerrahi sonrası drenaj materyalinin derin aspirasyonu veya biyopsi örneği (Ör.; Osteomyelit)   |
| Yumuşak doku, açık yaralar  | Yüzey dekontaminasyonu takiben yaranın derinliklerinden alınan biyopsi veya yara kenarından yapılan derin aspirasyon                     |
| Sinüs kanalları   | Cilde açılan ağızların (orifis) dikkatlice dekontaminasyonunu takiben enjektör ile ve küçük plastik kateter ile yapılan aspirasyon       |
| Derin abseler, anaerobik selülit, infekte vasküler gangren, klostridyal myonekroz | Yüzey dekontaminasyonunu takiben iğne ile alınan aspirasyon örneği yada biyopsi örneği   |
| Cerrahi örnekler  | Küretaj veya biyopsi örneği  |
| Dekubitis ve diğer yüzeysel ülserler  | Yüzey temizliğinden sonra derin ceplerden aspire edilen pü veya kenardan girilerek derin dokudan elde edilen biyopsi örneği              |

### 2.6.3 Örneğin nakli:

Anaerop bakteriler oksijene karşı çok duyarlıdır ve dolayısıyla alınan örnek derhal, bekletilmeden ve hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Bakterinin canlılığını yitirmeden laboratuvara ulaştırılarak ekiminin yapılması için gereken süre, örneğin cinsine, miktarına ve alınış şekli ile bağlantılıdır. Silgiç ile alınmış olan örnekler ve miktarı çok az olan örnekler anaerop transport besiyeri içinde taşınmalıdır. Anaerop transport besiyerleri, genellikle Cary-Blair ve diğer agar içeren vasatların modifiye şekilleridir ve hazır ticari ürünler bulunmaktadır. Bir ml'den daha fazla örnek içeren pürülan materyaller ve büyük doku parçaları ise birkaç saat oksijen toksisitesinden korunabilirler (Kıyan, 1999; Jousimies-Somer, 2002). Örnek

naklinde dikkat edilmesi gereken diğ er bir konu ise örneğ in nakledileceğ i ısıdır. Örnekler oda ısısında nakledilmeli, asla buzdolabına konulmamalı veya düşük ısıda nakledilmemelidir (Kıyan, 1999;Jousimies-Somer, 2002; Finegold, 1995).

## 2.7 Anaerop Kültür İçin Uygun Besiyerleri ve Besiyeri Seçimi

Anaerop kültür için tercih edilecek besiyeri örneğ in cinsine, miktarına ve mali kaynakların gücüne bağı lı olarak değ iş iklik gösterebilir. Anaerop bakterilerin üretimi için uygun olan besiyerleri temelde iki ana gruba ayrılır.

- 1) Seçici olmayan (non selektif) genel üretim besiyerleri
- 2) Seçici (selektif) besiyerleri (Keş li, 2001)

Anaeroplarmn üretimi için besiyeri hazırlanırken ş u hususlara dikkat edilmelidir; besiyerinin taze olmasına dikkat edilmelidir ve günlük olarak hazırlanmalıdır. Besiyerleri oda ısısında ve özellikle oksijenden korunmuş olarak bekletilmelidir. Çünkü besiyeri bekletilmeye başladıktan sonra besiyeri içerisinde oksijen difüze olmaya baş lamakta, biriken oksijen ise organik peroksitlerin besiyeri içerisinde oluş umuna neden olmaktadır. Organik peroksitler ise anaerop bakterilerin üremesini baskılamaktadırlar. Biriken organik peroksitlerin miktarı besiyerinin miadı ile doğru orantılıdır. Besiyeri yaş landıkça anaerop bakterilerin üreme ihtimali oldukça düş mektedir hatta sıfıra yaklaşmaktadır. (Finegold, 1995; Koneman, 1997; Durmaz, 1996).

Tablo 2.3. Anaerob bakteri izalasyonunda kullanılan besiyerleri (Keş li, 2001)

| Seçici olmayanlar               | Seçici olanlar                         |
|---------------------------------|--|
| Beyin kalp infusion agar (BHIA) | Kanamycin vancomycin kanlı agar (KVLB) |
| Brucella kanlı agar             | Phenylethyl alcohol agar (PEA)         |
| Colombia kanlı agar             | Bacteroides bile esculin agar (BBE)    |

|   |  |
|---|--|
| Schaedler kanlı agar                                    | Cycloserine-cefoxitin fructose agar (CCFA) |
| CDC anaerob agar  | Egg yolk agar (EYA)                        |
| Thioglycollate besiyeri (THIO)                          | Mobilincus agar                            |
| Fastidious anaerob agar (FAA)                           | Colistin-nalidixic acid kanlı agar         |
| Kıymalı glukozlu buyyon<br>(Chopped meat glucose broth) |  |
| Tripticase sodium agar (TSA)                            |  |

## 2.8 Anaerop Kültürde İnkübasyon Sistemleri ve İnkübasyon Şartları

Anaerop bakterilerin izolasyon, tanımlanma ve antibiyotik direnci belirleme çalışmalarında anaerop ortam sağlayan çeşitli sistemler kullanılmaktadır. Bu sistemler aşağıda özetlenmiştir (Kıyan, 1999;Winn, 2006;Jousimies-Somer, 2002;Brazier, 1989).

### 2.8.1 Anaerop kavanoz teknikleri (Anaerobic jar techniques):

Anaerop jar, anaerop atmosfer oluşturmak için en yaygın olarak kullanılan sistemdir. Jarlar çeşitli firmalar (BBL, Oxoid ltd, Becton Dickinson, vs.) tarafından kullanıma sunulmuştur. Anoxomat cihazı ise, üzerinde bulunan valf sayesinde jarın içerisindeki hava boşaltılarak yerine %80 azot (N<sub>2</sub>), %10 hidrojen (H<sub>2</sub>) ve %10 karbondioksit (CO<sub>2</sub>) formülündeki gaz karışımı vererek anaerop atmosfer temin eden otomatize bir jar sistemidir. Jarlar ilk kullanıma sunulduğu zamanlarda katalizör olarak paladyum bileşikleri kullanılmıştır, daha sonraları ise Gas-pak jar sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemde katalizör olarak palladyum kaplı aliminyum granülleri kullanılmıştır. Bu aşamadan sonra bir kullanımlık hidrojen ve karbondioksit (H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>) gaz karışımı ortam sağlayan (Gas pak) ürünler geliştirilmiştir (disposable H<sub>2</sub>-

CO<sub>2</sub> generatör). Bu sistemde jar içerisine su ilave edilmesi gereklidir. Daha sonra ise su ilavesine ihtiyaç duyulmayan H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> gaz karışımı salgılayan hazır ticari ürünler kullanıma sunulmuştur (Anaero-Gen).

### **2.8.2 Anaerop kabin (Anaerobic glove box = Anaerobic chamber):**

Anaerop kabin anaerop bakterilerin izolsasyonu ve tanımlanması aşamasında yapılacak olan işlemlerin hava ile temas etmeden yapılmasını sağlayan ideal bir sistemdir. Anaerop kabin içerisine formülü %85 N<sub>2</sub>, %10 H<sub>2</sub>, %5 CO<sub>2</sub> olan gaz karışımı verilerek ideal anaerop ortam temin edilmektedir. Sistemin performansı rutin olarak belirli aralıklarla gözlemlenmelidir.

### **2.8.3 Anaerop plastik torbalar:**

Çeşitli firmalar tarafından üretilen anaerop plastik torba veya poşetler anaerop inkübasyon sistemlerine bir alternatif olarak kullanıma sunulmuştur. Anaerop plastik torbaların çalışma prensibi anaerop kavanozların aynısıdır. Üstün olduğu tek nokta ise bakteri üremesinin veya E-test yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testlerinde inhibisyon zonunun dışarıdan gözle görülebilir olmasıdır. Böylece her iki durumda inkübasyon için 48 saatten önce değerlendirmeye imkan vererek zamandan kazanç sağlayabilmektedir

### **2.8.4 Roll tüp sistemi:**

Roll tüp sistemi için kullanılan PRAS (Pre-reduced Anaerobically Sterilized) sisteminde bütün işlemler anaerop gaz akımı altında gerçekleştirilmektedir. Böylece örnek ve izole edilen organizma hiçbir zaman oksijene maruz kalmamaktadır. Bu sistem primer olarak araştırma amacıyla kurulmuş laboratuvarlarda kullanılmaktadır ve oksijene son derece duyarlı anaeroplara için verimlidir. İnsanlarda enfeksiyon etkeni olan anaeroplara çoğunluğunu oluşturan orta derecede zorunlu anaerop bakterilerin üretimi ve klinik laboratuvarlar için kullanımı uygun değildir.

### **2.8.5 Anaerop saklama kavanozu:**

Azot (N<sub>2</sub>) tankına bağlı yan yana üç adet jardan ibarettir. Bunlardan birincisine ekim yapılmamış plaklar konulur. İkincisine daha önceden açılmış ve gerekli olduğu zaman pasaj yapılacak plaklar konulur. Üçüncü jara ise yeni ekim yapılmış plaklar konulur. Anaerop sistemler redoks indikatörleri ile her gün denetlenmesi gerekmektedir. Bu amaç için metilen mavisi stripleri (BBL) veya rezasurin içeren stripler kullanılabilir (Kıyan, 1999;Jousimies-Somer, 2002).

### **2.8.6 Anaerop bakterilerin inkübasyon şartları:**

Klinik örneklerden bakterilerin ilk izolasyonu için en uygun ısı derecesi 35-37<sup>0</sup> C (çoğu zaman 35<sup>0</sup> C) olmasına rağmen *C.perfringes* gibi bazı bakteriler yüksek ısıda (42-47<sup>0</sup> C) daha hızlı üremektedirler. Genel üretim besiyerine inkübasyonu yapılan bakteriler oksijene maruz kalmaksızın anaerop atmosferde en az 48 saat inkübe edilmelidir. *Actinomyces* ve *Porphyromonas* gibi yavaş üreyen anaeroplara üremelerine fırsat vermek için 48 saatte değerlendirilen plaklar atılmayarak tekrar inkübasyona bırakılmalıdır ve 7 gün kadar bekletilmelidir (Kıyan, 1999; Gürler, 2005;Winn, 2006).

## **2.9 Anaerop Bakterilerin İzolasyonu ve İdentifikasyon Yöntemleri**

### **2.9.1 Hastaya ait bilgilerin değerlendirilmesi ve materyalin incelenmesi**

Hastaya ait bazı bilgiler muhtemel bir anaerop enfeksiyonun varlığı hakkında ön fikir verebilir. Çünkü anaerop bakteriler immün sistemi normal olan bireylerde, sağlam ve oksijenasyonu iyi olan dokularda enfeksiyon oluşturmaz. Hastalık oluşabilmesi için doku bütünlüğünü, dokuların oksijenasyonunu bozan veya bireye

ait immun sistemi baskılayan bazı faktörlerin bulunması gerekir. Materyalin incelenmesi ile de anaerop enfeksiyonun varlığını düşündüren kıymetli bilgilere ulaşabiliriz. Örneğin makroskopik olarak incelenmesinde şunların varlığı araştırılmalıdır (Koneman, 1997; Finegold, 1995; Durmaz, 1996; Edelstein, 1987).

- Kötü koku (Anaerop enfeksiyon varlığının gösterir).

- Sıvı örneklerin pürülan görünümü.

- İrin, kan veya gaz varlığı

- Sülfür granülleri (*Actinomyces* türleri ve *Propionibacterium propionicum*).

- Siyah nekrotik doku veya siyah eksuda (Pigmentli Gram negatif basiller).

- Uzun dalga boylu UV ışığı altında fluoresan varlığı. Kırmızı renkli (Pigmentli *Prevotella spp.* ve *Porphyromonas spp.*).

## 2.9.2 Mikroskopik özellikler

Mikroskopik olarak önce direkt olarak materyalden hazırlanan preparat incelenerek bilgileri not edilmeli daha sonra ise genel üretim besiyerinde üreyen koloniden Gram boyası ile boyanarak hazırlanan preperat incelenmelidir. Materyalden yapılan Gram boyama ile mikroskopik muayene materyalde anaeroplara varlığı hakkında ön bilgi vermektedir. Gram boyama ile preparat hazırlarken tespit için ısı yerine metanol kullanılması daha uygundur. Bu muayene ile smearin hücresel özellikleri, bakterilerin Gram reaksiyonu, ebatı, şekli ve dizilimleri gözlemlenmelidir ve mevcut bakterilerin nisbi sayıları kaydedilmelidir. Sporların varlığı ve bakteri hücresi içerisindeki şekli ve pozisyonu, dallanma, sferik cisimler ile filamentler, yuvarlak sonlanma, granüler yapılar gibi diğer tanımlayıcı morfolojik özellikler not edilmelidir.

Cilt yaraları, respiratuvar veya üro-genital kanaldan alınan örneklerin mikroskopik incelenmesinde çok sayıda skuamöz epitel hücreleri varken iltihabi hücrelerin hiç görülmemesi örneğin düşük kaliteli olduğunu ve muhtemelen kültürde flora üyesi olan veya anlamlı olmayan bakterilerin de üreyeceğini gösterir. Materyalden yapılan Gram boyamada anaeroplara varlığını düşündüren bir görünüm

varlığı klinisyene bildirilmelidir. Çoğu zaman bu bilgi empirik tedaviye başlanması konusunda yeterli derecede kılavuzluk edebilir.

Kültürden yapılan Gram boyama ile mikroskopik incelemede anaerop Gram negatif çomaklardan *Bacteroides* cinsinde bulunan bakterilerin uçları yuvarlak sonlanır. Sıvı besiyerinde ürediklerinde çoğu kez vakuollu bir yapı, düzensiz boyanma ve pleomorfizm görülebilmektedir.

*Prevotella* ve *Porphyromonas* türleri ise çoğu kez kısa, koko-basil şeklinde soluk boyanmış olarak görülürler.

Nadiren pleomorfizm gösterebilir. Uzun bölümleri arasında mekik veya genişlemiş kısımları olan *Fusobacterium* cinsi iki ucu sivri, iğ biçiminde filamansı yapıda, ince uzun boyutlu, uçları yuvarlak şekilli çoğu kez heterojen boyanan, pleomorfizm gösteren bakterilerdir ve genellikle uç uca, çift çift bulunurlar.

*F. nucleatum* ise tipik, ince uzun, uçlara doğru daha da incelik nokta şeklinde sonlanan, fuziform şeklinde görünür ve bazen bir iki bakteri uç uca dizilebilir. *F. mortiferum* ise düzensiz boyanır, filaman şeklinde, sferoid şişlikler ve pleomorfizm gösterir. *F. varium* bu türlerin uçları yuvarlak, kokobasil veya normal şekilde de görülebilir.

*Bilophila wadsworthia* çok uzun, soluk boyanan bazen pleomorfizm gösteren düzensiz boyanan çomaklardır (Durmaz, 1996, Murray, 1991; Washington, 1980; Edelstein, 1990; Jousimies-Somer, 1991; Mangels, 1998; Bilgehan, 1995; Akan, 1993).

Anaerop Gram pozitif sporlu çomaklardan *Clostridium* türlerinin tipik tek bir hücre şekli ve büyüklüğü yoktur. Bazıları çok geniş çubuk görünümünde iken bazıları kısa veya uzun ince görünürler; hatta bazen kıvrımlı görünümde olabilirler. Suşların bir çoğu Gram pozitif görünüme sahipken birkaç suş her zaman Gram

negatif görünür. (ör. *C. clostridioforme*) Diğerleri ise üretilme ortamı ve kültür yaşına bağlı olarak Gram değişken görünürler. Sporlar genelde şişkin, iğ biçiminde, basile davul tokmağı ve tenis raketi (*C. tetani*'de olduğu gibi) görünümü kazandırabilen santral, subterminal veya terminal yerleşimli olabilen yapılardır. Sporlar Gram boyama ile görülebilirler.

### **2.9.3 Koloni morfolojisinin değerlendirilmesi ve UV lambalarla floresan varlığının araştırılması.**

*B. fragilis* grubundaki bakteriler kanlı agar yüzeyinde 1-3 mm çapında, yuvarlak, kenarları muntazam, yumuşak, gri-beyaz renkte, yarı şeffaf ve hemolizsiz koloni oluştururlar.

*B. ovatus* kolonileri kanlı agarda daha mukoid görünürken *B. thetaiotamicron* *B. fragilis* kolonilerine göre daha beyazdır. *B. ureolyticus* kolonileri ise besiyerini çukurlaştırır. Küçük şeffaf koloniler oluşturur. S tipi, agara kazılmış çukur koloniler ve yayılan koloni tipi olmak üzere 3 farklı morfolojide koloni aynı saf kültürde bulunabilir.

*B. corrodens* kolonileri ise kanlı agarda 0,5-1 mm çapında önceleri şeffaf iken bekledikçe gri-beyaz, konveks, ortası hafifçe kıvrık, kenarları muntazam koloniler oluşturur. Zamanla bu kolonilerin kenarları kıvrılarak besiyerinin içine doğru çökerek besiyerinin çukurlaştırır.

Pigmentli *Bacteroides* türleri UV ışığı altında tuğla kırmızısı renginde fluoresan verirler.

*Porphyromonas*, *Prevotella* kanlı agar yüzeyinde pigmentli koloni yapar. *Prevotella intermedia* ve *P. corporis* koyu kahveden siyaha kadar değişebilen pigmentli kuru koloni oluşturur.



*Prevotella melaninogenica* ten renginde veya kahverengi-sarı arasında değişebilen renkte yumuşak, yuvarlak konveks veya yassı koloniler oluşturur. Hemoliz görülmeyebilir veya beta hemoliz oluşturur. Bu koloniler bekledikçe siyah renge dönüşebilirler. Pigment oluşumu uzun sürede oluşabilir.

*Porphyromonas* türlerinin hepsi, *Prevotella* türlerinin bazıları kanlı besiyerinde 2-15 gün içinde koyu bej-kahverengi-siyah pigment oluşurmaları ile diğer cinslerden ayrılırlar. Pigment oluşumu dondurularak tekrar çözünmüş (laked) tavşan kanı kullanılan agarda daha hızlı olmaktadır.

*Porphyromonas* kolonileri ise kanlı besiyerinde daha mukoid grnmdedirler ve kahverengi – siyah renklidir. Kolonilerde fluoresan varlığını araştırmak için uzun dalga boylu (366 nm) UV lambası (wood lambası) kullanılır. Bu Şekilde koloniler tuğla kırmızısı, sarı-yeşil veya mercan renginde fluoresan verebilecekleri gibi fluoresan hiç vermeyebilir. Özellikle siyah renkli kolonilerde pigment oluşumundan sonra fluoresan görülmeyebilir.

*Fusobacterium* cinsi bakteriler kanlı agarda düzgün kenarlı, Şeffaf, orta kısmı hafifçe kabarık bazen kenarları düzgün olmayan koloniler oluşturur. Besiyerlerinde en erken 48 saate rerler. *Fusobacterium* cinsi kanlı agarda genelde hemolizsiz koloni oluştururlar. Bazen agarda görülebilen koloni etrafındaki yeşillenme hava ile temas etmesine bağlıdır. Btrik asit üretimine bağlı karakteristik kokuşmuş, ekşimsi kötü koku oluşumu ayırıcı bir özelliktir.

*F. nucleatum* bakterileri kanlı agar yüzeyinde beyaz, ekmek kırıntısı görünümünde, konveks gri-beyaz benekli bir iç yapıya sahip olan parlak alfa hemolitik koloniler veya S tipi koloni olmak üzere üç farklı koloni tipi oluşturur. UV ışığı altında sarı-yeşil fluoresan verir. *F. mortiferum* yağda pişmiş yumurta görünümünde opak veya Şeffaf bir merkez etrafında düzensiz kenarlı koloniler oluşturur.

Safraya dirençli olan *Fusobacterium* türleri *F. mortiferum* ve *F. varium*'dur. *F. nucleatum* ve *F. necrophorum* sıvı besiyerinde yumak şeklinde üreyebilmektedirler. *F. necrophorum* kanlı agarda beta hemolitik koloniler oluşturur.

*Bilophila*, *Wolunella*, *B. gracilis* ve *B. ureolyticus* türlerinin kolonileri kanlı agarda genellikle *Fusobacterium* kolonilerinden daha küçüktür ve yarı şeffaftır (Murray, 1991; Mangels, 1998; Akan, 1993; Edelstein, 1990; Durmaz, 1996).

## **2.10 Anaerop Bakterilerde Antibiyotik Duyarlılık Test Yöntemleri**

Anaerop'lar için antibiyotik duyarlılık testleri sık yapılmadığı halde bireysel izolatlar ve sürveyans için yapılmaktadır (CLSI, 2004). 2004 yılında Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) tarafından anaerop bakterilerin duyarlılıkları için iki standartize methodlar önerilmektedir (CLSI, 2004; Tunçkanat, 1999).

### **Agar Dilusyon Yöntemi:**

CLSI tarafından referans yöntem olarak kabul edilmektedir (Glomaud, 2003). Test edilen tüm anaerop'lar için oldukça yüksek üretkenlikte olup, diğer methodlarla uyumludur. Sürveyans çalışması gibi, çok sayıda izolatin çalışılması için uygundur. Direncin moniterizasyonu ve yıllık hastane direnç profilleri için önerilmektedir (Hecht, 2006).

### **Broth Mikrodilusyon:**

*B.fragilis* grup üyeleri için standart yöntem olan agar dilusyon ile oldukça uyumludur. Tek bir izolatin birden fazla antibiyotiğe eş zamanlı duyarlılığı tanımlamak için kullanılır. *Bacteroides* dışı anaeroplara için çoğunun zayıf

üremesinden dolayı yüz güldürücü değildir. CLSI günümüzde *Bacteroides* dışı anaeroplara için bu methodu önermemektedir (Hecht, 2006).

### **E-test;**

FDA tarafından onaylanmış olan bu method tek bir antibiyotik için en uygundur. E-test ile yapılan çalışmaların sonuçları referans test olan agar dilüsyon yöntemi ile uyumlu sonuçlar vermektedir. Maliyet dışında pratik ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle rutin kullanıma çok uygundur (CLSI, 2004; Tunçkanat, 1999). Broth disk elüsyon ve disk difüzyon methodları standart methodlarla uyumda yetersiz olup, önerilmemektedir (Hecht, 2006). Anaerob bakterilerin üretilmelerindeki güçlüklerin yanı sıra, rutinde kullanılacak ucuz ve pratik yöntemlerin bulunmaması, bu bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık özelliklerini tespit etme çabalarını ve isteğini azaltmaktadır (Ülger Toprak, 2006).

### **Beta-laktamaz testi;**

Kromojenik sefalosporin (nitrosefin) yöntemi ile betalaktamaz aktivitesi araştırılabilir, belirli anaerob bakterilerin bazı beta-laktam ilaçlara direncini saptamak amacıyla ile tarama testi olarak kullanılabilir. Basit ve hızlı bir testtir. Duyarlılık testlerini desteklemek amacıyla kullanılmaktadır. Beta-laktamaz testinin negatif olması her zaman o ilaca duyarlı olduğunu göstermez. Pozitif sonuç her zaman penisilin G ve ampisilin direncini gösterir (Tunçkanat, 1999). Duyarlılık testlerinde, anaerob bakterilere etkili olabilecek antimikrobiklerin seçilmesi gerekmektedir. Önerilen antimikrobiklerin içinde penisilin (veya ampisilin), sefoksitin (veya sefotetan), piperasilin, karbapenemler,  $\beta$ -laktam-  $\beta$ -laktamaz inhibitörleri, klindamisin, kloramfenikol ve nitroimidazol türevleri yer almaktadır (Tunçkanat, 1999). Duyarlılık sonuçları kullanılan yöntem, çalışılan besiyerlerine, mikroorganizma sayısına ve coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. Antibiyotiklerin kullanım sıklığına bağlı olarak aynı bölgede farklı merkezlerde bile sonuçlar değişebilmektedir (Hecht, 2004). Ülkemizde yapılan kayıtlara geçmiş

alışmalar fazla olmamakla beraber elde edilen veriler merkezlere göre farklılık göstermektedir. Bu nedenle bir merkezin sonuçlarının diğer merkezler için tahmin edilebilir değerler olarak alınması pek başarılı sonuçlar vermeyebilir (lger Toprak, 2006).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Afyon Kocatepe Üniversitesi ANS Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinden (Genel Cerrahi, Kadın Hastalıkları ve Doğum, Kalp Damar Cerrahisi, Göğüs Cerrahisi, Beyin Cerrahisi, Ortopedi, Kulak Burun Boğaz, Dahiliye, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Dermatoloji, Enfeksiyon Hastalıkları, Plastik Cerrahisi, Anestezi ve Reanimasyon Servisi, Üroloji vs.) anaerop bakteri enfeksiyonu şüphesiyle, bakteri varlığının araştırılması ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi amacıyla, 1 Kasım 2014 ile 30 Ekim 2015 tarihleri arasında, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen örneklerden (periton sıvısı, plevra sıvısı, apse materyali, kesi yeri enfeksiyon materyali, infekte doku biopsisi, kan, BOS, eklem sıvısı vb.) 278'i çalışmaya alındı.

Çalışmaya başlanmadan önce, anaerop enfeksiyonların özellikleri, örneğin uygunluğu, alınma şekli ve örneklerin transferinin nasıl yapılacağını içeren bir bilgilendirme yazısı başhekimlik aracılığıyla bütün kliniklere iletildi. Aynı zamanda, özellikle cerrahi klinikler olmak üzere, bazı kliniklerde örneklerin alınması ile öncelikli olarak ilgilenen hekimlerle birebir görüşülerek bu konuda bilgi verildi. Aps ve sıvı örnekler enjektörle havası alınmış şekilde ya da anaerop transport vial ile doku örnekleri ise steril kaplarda laboratuvara ulaştırıldı.

Anaerop enfeksiyon şüphesi ile alınan örnekler alınır alınmaz, en geç 15-20 dakika içinde laboratuvara ulaştırıldı. Örnekler alınırken cilt veya mukoza yüzeyleri betadinle temizlendikten sonra %70'lik alkol ile ovalanarak temizleme işlemi gerçekleştirildi. Materyaller laboratuvara ulaştıktan hemen sonra değerlendirmeye alındı. Örneğin makroskopik görünümü, rengi ve kokusu değerlendirilip kayıtları yapıldı. Ancak anaerop şartlarda alınmayan veya anaerop şartlarda transportu yapılmayan örnekler çalışmaya alınmadı.

Çalışmaya alınan örneklerin aerop ekimi %5 kanlı agara ve EMB'ye (Eozin metilen mavisi) yapıldı. Anaerop ekimi ise, %5 koyun kanlı Schaedler (BioMerieux, Marcy I'Etoile, Fransa) agara ve sıvı besiyeri olarak da Schaedler buyyona (BioMerieux, Marcy I'Etoile, Fransa) yapıldı.

Gram boyama preparatı hazırlandı ve boyamalar yapılarak mikroskopik bulgular kaydedildi. Ekimleri yapılan örnekler hemen jara (Oxoid) yerleştirildi ve anerop atmosferin temini amacıyla 2,5 litre ile uyumlu Gas-Pak (GENbox anaer, bioMerieux) açılarak jara konuldu. 37°C'de 48 saat inkübe edildi.

Anaerop ortamın denetlenmesi amacıyla resazurin içeren hazır kağıt stripler şeklinde olan Anaer Indicator (BioMerieux, Marcy I'Etoile, Fransa) kullanıldı. İnkübasyona kaldırılan her bir jarın içine 1 adet strip konuldu. Stribin mavi renkten şeffaf renge dönüşmesi anaerop ortamın oluştuğu anlamına gelmektedir. Bu renk değişimi 1-2 saat boyunca gözlemlendi, renk değişikliği gerçekleşmediyse jar açılarak yeniden anaerop ortam sağlanmaya çalışıldı.

48 saat inkübasyondan sonra anaerop şartlarda bekletilen Schaedler kanlı agardaki üreme aerop şartlarda bekletilen kanlı agardaki üreme ile karşılaştırıldı. Schaedler buyyonda bulanıklık ve kötü koku varlığı ile birlikte yalnız anaerop şartlarda üremiş görülen koloniler tespit edildiğinde bu kolonilerden Gram yöntemi ile boyanmak üzere preparat hazırlandı ve aerop-anaerop şartlarda inkübe edilmek üzere katı besiyerlerine saf kültür alındı. Bu saf kültürlerden buyyonda bulanıklık ve kötü koku ile birlikte sadece anaerop şartlarda üreyen bakterilerin zorunlu anaerop olduğuna karar verildi ve bu bakterilerin koloni morfolojileri ve biyokimyasal özellikleri incelemeye alınarak hem konvansiyonel hem de otomatize sistem (Vitek 2, BioMerieux, Fransa) ile tanımlaması yapıldı. Buyyonda bulanıklık ve pis koku olduğu halde farklı üreme görülmeyen kültürler geç üreyen anaerop bakteri olabilme ihtimaliyle 5-7 gün daha inkübe edildi ve sonra değerlendirildi.

Her iki ortamda da üreme gerçekleştiyse, üreyen mikroorganizmanın fakültatif anaerop bir bakteri olduğuna karar verildi. Bu mikroorganizmaların tanımlamaları ve antimikrobiyal duyarlılık testleri otomatize sistemle (Vitek 2, BioMerieux, Fransa) yapıldı.

İzole edilen anaerop bakterilerin antimikrobiklere duyarlılıkları E test (bioMerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) yöntemi ile belirlendi. Herhangi bir üreme gerçekleşmeyen örnekler anaerop şartlarda tekrar yedi gün daha inkübe edildi. Bu yedi gün sonunda üreme olmayan örnekler, anaerop kültür sonucu üreme negatif olarak rapor edildi.

### **3.1 Kullanılan İndikatör, Çözelti, Ayıraç, Besiyerleri**

**3.1.1 İndikatör:** Anaerop inkübasyon ortamının denetlenmesi amacıyla rezasurin içeren hazır kağıt stripler (Anaer Indicator, bioMerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) kullanıldı. Oksijen yokluğunda stripler mavi renkten şeffaf renge dönüşmektedirler.

#### **3.1.2 Çözeltiler:**

##### **1. Vitamin K1 çözeltisi (Rosenblatt, 1981; Baron, 1990)**

İki ayrı stok solüsyonu hazırlandı. Birincisi katı besiyerleri için ikincisi ise sıvı besiyerleri için kullanıldı. Her iki stok solüsyonu alüminyum folyo kağıt ile sarılı cam şişelerde + 4<sup>0</sup> C de buzdolabının raf bölümünde saklandı. Solüsyonlar toz haldeki Vit. K1 den hazırlandı.

Katı besiyerleri için Vit. K1 stok solüsyonu (10 mg/ml)

Vit. K1                      0,2 gr

Etil alkol (% 95)        20 ml

Vit. K1 etil alkol içinde çözüldürüldü. 1 lt.lik steril katı besiyerine otoklavlanmadan önce yukarıdaki çözültiden 1 ml ilave edilerek 10 mg/ml yoğunluğu elde edildi.

Sıvı besiyerleri için Vit K1 stok solüsyon (0,1 mg/ml)

Katı besiyeri için hazırlanan stok solüsyonundan 1 ml

Distile su 100 ml

1.000 ml sıvı besiyerine otoklavlanmadan önce 1 ml yukarıdaki solüsyondan ilave edildi böylece 0,1 mg/ml yoğunluğu elde edildi.

### 3.1.3 Ayraçlar

1. **Katalaz** : % 3 lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hazırlandı. 3 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 97 ml damıtık suda çözüldürüldü (Holdeman, 1977).

### 3.1.4 Besiyerleri

#### Schaedler Anaerop Agar (bioMerieux)

| <u>Formül</u>      | <u>gr/litre</u> |
|--------------------|-----------------|
| Tripton Soya Broth | 10.0            |
| Pepton             | 5.0             |
| Maya ekstraktı     | 5.0             |
| Glukoz             | 5.0             |
| Sistein HCl        | 0.4             |
| Hemin              | 0.01            |
| Tris tamponu       | 0.75            |
| Agar               | 13.5            |
| pH : 7.6 ± 0.2     |                 |

Hazırlanması: Distile suyun bir litresinde 40 gr olacak şekilde yukarıda belirtilen formül karışımı hazırlandı. Bu süspansiyon çözünme tamamlanıncaya



kadar kaynatıldı. Otoklavda 121°C’de 15 dakikada sterilizasyon işlemi yapıldı. Sıcaklık 45<sup>0</sup>C’ye geldiğinde 0,05 µg/ml olacak şekilde K1 vitamini ve %5 miktarında olacak şekilde defibrine edilmiş koyun kanı eklendi ve petri kutularına dağıtıldı (Doğan, 2008).

### **Transport besiyerleri**

Sıvı örnekler için hazır ticari ürün olarak kullanıma sunulan taşıyıcı bir besiyeri olan Portagerm vial (Portagerm flacons, bioMerieux) kullanıldı.

### **3.2 Kullanılan Anaerop İnkübasyon Sistemi**

2,5 lt’lik anaerop kavanozlar anaerobik inkübasyon sistemi olarak kullanıldı (Anaero-Jar-Oxoid). Kavanozlar içerisine anaerop atmosferin temini amacıyla 2,5 litre ile uyumlu Gas-Pak (GENbox anaer, bioMerieux) açılarak konuldu.

Duyarlılık testlerinde (E-test) ise anaerop inkübasyon sistemi olarak bir kullanımlık anaerop poşetler (GENbag -bioMerieux) kullanıldı. Poşet içinde anaerop ortamın sağlanması için ise daha küçük Gas-Pak zarfları (GENbox anaer, bioMerieux) kullanıldı.

Her iki sistemin atmosferinin anaerop şartlarda olup olmadığının kontrol edilmesi amacıyla rezasurin emdirilmiş kağıt stripler kullanıldı (Anaer Indicator, bioMerieux, Marcy I’Etoile, Fransa).

### 3.3 Bakterilerin İzolasyonu

Çeşitli kliniklerden gönderilen numuneler kötü koku, siyah nekrotik doku veya akıntı, irin ve kan varlığı yönünden incelendikten sonra Gram yöntemi ile mikroskopik olarak incelenmeye alındı. Aynı zamanda numunelerin aerop ve anaerop şartlarda kültürü yapıldı. Aerop kültür için kanlı agar, çikolata agar ve EMB besiyeri, anaerop kültür için ise Schaedler agar ve Schaedler buyyon kullanıldı. Anaerop kültür için ekim yapılan katı besiyerleri bir adet Gas-Pak poşeti ve anaerop indikatör kağıt stribi ile birlikte jar içerisine konuldu. Buyyon besiyerleri de aynı şekilde ekim yapıldıktan sonra 48 saatlik inkübasyona kaldırıldı. 48 saat inkübasyondan sonra anaerop şartlarda bekletilen Schaedler kanlı agardaki üreme aerop şartlarda bekletilen kanlı agardaki üreme ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

Schaedler buyyonda bulanıklık ve kötü koku varlığı ile birlikte yalnız anaerop şartlarda üremiş görülen koloniler tespit edilip bu kolonilerden Gram boyanarak preparat hazırlandı ve aerop-anaerop şartlarda inkübe edilmek üzere katı besiyerlerine saf kültür alındı. Bu saf kültürlerden buyyonda bulanıklık ve kötü koku ile birlikte sadece anaerop şartlarda üreyen bakterilerin zorunlu anaerop olduğu kararlaştırıldı ve bu bakterilerin koloni morfolojileri ve biyokimyasal özellikleri tanımlanmaya alındı. Buyyonda bulanıklık ve kötü koku olduğu halde farklı bir üreme görülmeyen kültürler geç üreyen anaerop bakteri olabilme ihtimaline karşın 5-7 gün daha inkübasyona alındı ve daha sonra değerlendirildi.

### 3.4 İzole Edilen Anaerop Bakterilerin Biyokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi ve Tanımlanması İçin Yapılan İşlemler

İzole edilen anaerop bakterilerin tanımlanması için pigment oluşumu, katalaz, eskülin hidrolize etmeleri incelendi. İzolatlar otomatize sistem ile de tanımlandı. Bunun için otomatize bir tanımlama yöntemi olan Vitek 2 (ANC ID Card,

bioMerieux, Fransa) paneli kullanıldı. Panel üretici firmanın talimatları doğrultusunda kullanıldı.

### **Katalaz testi**

Besiyeri olarak %5 koyun kanlı Schaedler (BioMerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) besiyeri kullanıldı. Besiyerine birkaç damla %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatıldıktan sonra besiyerinde hava kabarcıklarının oluşması ile deney katalaz pozitif olarak değerlendirildi.

### **Vitek 2 Anaerob ID Paneli**

Genç kolonilerden, firma talimatlarına göre hazırlanan Vitek 2 kitinin özel besiyerine saf koloniden iğne öze ile bir kaç koloni alınarak inoküle edildi ve McFarland 3 numaralı tüpünün bulanıklığında süspansiyon hazırlandı. McFarland bulanıklığı Densimat (bio Merieux) cihazı ile değerlendirildi.

### **3.5 Beta Laktamaz Varlığının Belirlenmesi**

İzole edilen anaerob bakterilerde beta laktamaz enzimi üretiminin araştırılması için kromojen bir sefalosporin olan nitrosefin emdirilmiş diskler (Cefinase CEF-F) (BioMerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) kullanıldı. Kullanılmadan önce nitrosefin emdirilmiş disk hafif bir şekilde distile su nemlendirildi ve agar yüzeyinde saf olarak izole edilen bir-iki koloni alınarak disk yüzeyine bir öze yardımıyla sürüldü. Disk 5 dakika kadar bekletildi ve değişimi olup olmadığı araştırıldı. Pembe-kırmızı renk değişimi (+) test olarak (Beta laktamaz enzimi üretiminin varlığı şeklinde) yorumlandı. Emin olmak için hiç kullanılmamış diskler ile karşılaştırılarak renk değişimine karar verildi. Beta laktamaz stikleri -10<sup>0</sup> C nin altında saklandı.

### 3.6 Antimikrobik Duyarlılık Testi (E-test)

Anaerop bakterilerin antimikrobiklere karşı direnç oranlarının belirlenmesi için yeni, kolay, pratik ve güvenilir bir yöntem olan ve antimikrobik maddelerin MİK değerini veren E-test stripleri kullanıldı. Duyarlılık deneyleri için kullanılan E –test striplerinin MİK aralıkları ve kodları aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.1. E-test MİK aralıkları ve kodları

| Antimikrobik Madde  | Kodu | MİK aralığı<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | Üretici Firma             |
|---------------------|------|-------------------------------------|---------------------------|
| 1) Benzil penisilin | PG   | 0,016-256 $\mu\text{g/ml}$          | (bioMerieux S.A., France) |
| 2) İmipenem         | IP   | 0,002-32 $\mu\text{g/ml}$           | (bioMerieux S.A., France) |
| 3) Meropenem        | MP   | 0,002-32 $\mu\text{g/ml}$           | (bioMerieux S.A., France) |
| 4) Ertapenem        | ETP  | 0,002-32 $\mu\text{g/ml}$           | (bioMerieux S.A., France) |
| 5) Doripenem        | DOR  | 0,002-32 $\mu\text{g/ml}$           | (bioMerieux S.A., France) |
| 6) Klindamisin      | CM   | 0,016-256 $\mu\text{g/ml}$          | (bioMerieux S.A., France) |
| 7) Metronidazol     | MZ   | 0,016-256 $\mu\text{g/ml}$          | (bioMerieux S.A., France) |
| 8) Sefoksitin       | FX   | 0,016-256 $\mu\text{g/ml}$          | (bioMerieux S.A., France) |
| 9) Moksifloksasin   | MX   | 0,002-32 $\mu\text{g/ml}$           | (bioMerieux S.A., France) |

Duyarlılık testi için besiyeri olarak %5 koyun kanlı Schaedler agar kullanıldı. Schaedler agar 100 x 15 mm'lık petri kapları içerisinde hazırlandı. Bir petri kabı içine 2 adet E-Test stripleri birbirine zıt yönde konuldu. E-test stripleri  $-20^{\circ}\text{C}$  de saklandı ve kullanılmadan 30 dk önce oda ısısında bekletildi. E-test yöntemi uygulanmadan önce E-test stripleri, kullanılan besiyerleri ve uygulama tekniği standart suş ile denetlendi. Standart suş ile her bir antibiyotik için CLSI tarafından önerilen MİK ( $\mu\text{g/ml}$ ) aralıkları ile uyumlu sonuçlar alındı. Standart suş olarak BioMerieux firmasından temin edilen *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) suşu kullanıldı (ATCC = American Type Culture Collection). Standart suş kullanılıncaya kadar  $2-8^{\circ}\text{C}$  de saklandı.

## E - testinin yapılışı

Saf olarak üretilmiş 24-48 saatlik genç kültürlerden Scheadler buyyonda (BioMerieux, Fransa) 1 numaralı Mac Farland tüpünün bulanıklığında olacak şekilde süspansiyon hazırlandı. Bu buyyondan steril pamuklu silgiç ile daha önceden hazırlanan %5 koyun kanlı Schaedler agar yüzeyine sürüldükten sonra agar plaklarının yüzeyinin kuruması için 10 dk kadar mumlu kavanoz içerisinde bekletildi. 30 dk kadar önce oda ısısına çıkarılmış ve ambalajı kesilerek hazırlanmış E-test striplerinden steril penset yardımı ile içerdiği antibiyotiğin kodunun gösterildiği yerden tutularak her bir petri kabına 2 şer adet birbirine zıt istikamette, kenara en yakın şekilde ve MİK aralıklarını gösteren skala ön yüzde antibiyotik emdirilmiş arka yüzey agar yüzeyine temas edecek şekilde yerleştirildi. Stripler yerleştirildikten sonra asla yerinden kımıldatılmadı.

Her bir suş için 5 adet petri kabı kullanıldı. Daha sonra 2 adet petri kabı 1 adet anaerop poşet (GENbag –bioMerieux, Marcy I'Etoile, Fransa) içerisine konuldu. Poşetin içerisine 1 adet rezasurin emdirilmiş strip, 1 adet Gas-Pak zarfı (GENbox anaer, bioMerieux, Marcy I'Etoile, Fransa) ağzı kesilerek konuldu. Poşetin ağzı hızlı bir şekilde klip ile kapatıldı. Üzerine kapatılma tarihi ve saati yazılarak 36° C de 24-72 saat inkübasyona bırakıldı. Poşetler 24 saat sonra açılmadan dışarıdan gözlemlenerek değerlendirildi. Klindamisin için inkübasyon süresinin 48 saati geçmesine dikkat edildi. İnkübasyon süresinin bitiminde agar yüzeyinde E-test striplerinin etrafında elipsoid bir şekilde inhibisyon zonlarının oluşumunun olup olmadığı değerlendirildi. İnhibisyon zonunun E-test stripleri ile kesiştiği noktadaki değeri MİK değeri olarak tespit edildi ve CLSI tarafından tavsiye edilen okuma değerleri dikkate alınarak sensitif (S), az sensitif (I) ve dirençli (R) olarak değerlendirildi.

## 4.BULGULAR

Bu çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi ANS Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinden Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına bakteriyolojik kültür istemi ile gelen 317 örneğin 39'u reddetme kriterlerine göre kabul edilmedi. Gönderilen örneklerden 278'i incelemeye alınarak aerop ve anaerop kültürleri yapıldı.

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerop suşlar; geleneksel yöntemler ve Vitek 2 (BioMerieux, Fransa) otomatize sistemiyle tanımlandı. İzolatların antibiyotik direnç oranları E-test yöntemi ile yapıldı. Ayrıca aerop izolatların tanımlanması da Vitek 2 (BioMerieux, Fransa) otomatize identifikasyon sistemleriyle gerçekleştirildi.

Anaerop kültür istemi yapılan örneklerden 192'si (% 69) enjektör ile, 51'i (%18) steril burgulu kapaklı kap ile, 35'i (% 13) Port-a-Cul viyal transport sistem (BioMerieux, Fransa) ile laboratuvarımıza ulaştırılmıştır. Port-a Cul ile gelen örneklerin 14'ünde (% 50), steril burgulu kapaklı kap ile gelen örneklerden 3'ünde (%11), enjektör ile gelen örneklerin 11'inde (% 39) anaerop bakteri üremesi gerçekleşti (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Anaerop örneklerin transport yöntemleri ve üreme oranları

| Transport yöntemi        | Örnek Sayısı n (%) | Anaerop bakteri sayısı n (%) |
|--------------------------|--------------------|------------------------------|
| Enjektör                 | 192 (% 69)         | 11 (%39)                     |
| Burgu kapaklı steril kap | 51 (%18)           | 3 (%11)                      |
| Port-a-cul viyal         | 35 (%13)           | 14 (%50)                     |
| <b>Toplam</b>            | <b>278</b>         | <b>28</b>                    |

Kültür ekimleri yapılan 278 klinik örneğin 28'inde Gram negatif anaerop çomak izole edildi. Bakteri izole edilen 28 klinik örnekten toplamda 9 çeşit Gram negatif anaerop çomak tanımlandı. Anaerop üreme görülen örneklerin hiç birisinde

aynı anda birden fazla anaerop bakteri izole edilemedi. 13 örnekten anaerop ve fakültatif anaerop bakteri birlikte izole edildi.

Yüz yedi örnekten fakültatif anaerop bakteri tanımlandı, bunların 8 tanesinden ise iki tür fakültatif anaerop bakteri izole edildi. 143 örnekte ise herhangi bir üreme görülmedi. Üreme görülmeyen örneklerin 8'inde Gram boyamada mikroorganizma görülmesine rağmen, bakteri üremesi görülmedi. Üç örnekte ise Gram boyamada mikroorganizma görülmediği halde bakteri üremesi gözlemlendi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Çalışmaya dahil edilen örneklerin klinik dağılımları ve izole edilen mikroorganizma sayıları.

| Örneğin geldiği servis  | İşleme alınan örnek n (%) | Üreme görülen örnek n (%) | Anaerop üreme görülen örnek n (%) | Fakültatif anaerop üreme görülen örnek n (%) | Miks* üreme görülen örnek n (%) |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------------|--|---------------------------------|
| Genel Cerrahi           | 102 (36.6)                | 67 (49.6)                 | 10 (35)                           | 57 (53.2)                                    | 8 (61.5)                        |
| Ortopedi                | 18 (6.4)                  | 8 (5.9)                   | 4 (14.2)                          | 4 (3.7)                                      | 1 (7.7)                         |
| Beyin Cerrahi           | 27 (9.7)                  | 11 (8.1)                  | 2 (7.1)                           | 9 (8.4)                                      | -                               |
| KBB                     | 25 (9)                    | 9 (6.6)                   | 4 (14.2)                          | 5 (4.6)                                      | 1 (7.7)                         |
| Göğüs Cerrahi           | 2 (0.7)                   | 1 (0.7)                   | -                                 | 1 (0.9)                                      | -                               |
| Göz                     | 3 (1)                     | 2 (1.9)                   | -                                 | 2 (1.8)                                      | -                               |
| Göğüs Hastalıkları      | 32 (11.5)                 | 12 (8.9)                  | 2 (7.1)                           | 10 (9.3)                                     | -                               |
| Acil                    | 4 (1.4)                   | 1 (0.7)                   | -                                 | 1 (0.9)                                      | -                               |
| Çocuk Hastalıkları      | 5 (1.8)                   | 1 (0.7)                   | -                                 | 1 (0.9)                                      | -                               |
| Gastroenteroloji        | 4 (1.4)                   | -                         | -                                 | -  | -                               |
| Enfeksiyon              | 9 (3.2)                   | 5 (3.7)                   | 3 (10.7)                          | 2 (1.8)                                      | 2 (15.3)                        |
| Nefroloji               | 13 (4.6)                  | 2 (1.9)                   | -                                 | 2 (1.8)                                      | -                               |
| Onkoloji                | 5 (1.8)                   | 3 (2.2)                   | -                                 | 3 (2.8)                                      | -                               |
| Plastik Cerrahi         | 7 (2.5)                   | 5 (3.7)                   | -                                 | 5 (4.6)                                      | -                               |
| Kalp ve Damar Cerrahisi | 13 (4.6)                  | 5 (3.7)                   | 1 (3.6)                           | 4 (3.7)                                      | -                               |
| Kadın Hastalıkları      | 8 (2.9)                   | 3 (2.2)                   | 2 (7.1)                           | 1 (0.9)                                      | 1 (7.7)                         |
| <b>Toplam</b>           | <b>278</b>                | <b>135 (48.5)</b>         | <b>28 (10)</b>                    | <b>107 (38.5)</b>                            | <b>13 (4.7)</b>                 |

\* Miks üreme: Fakültatif anaerop ve anaerop bakterinin birlikte izole edildiği örnek.

İşleme alınan klinik örneklerin cinsleri ve üretilen anaerop bakterilerin bu örneklere göre dağılımı Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Örnek cinsleri ve Gram negatif anaerop çomakların örneklere göre dağılımı.

| Örnek tipi        | İşleme alınan örnek n (%) | Anaerop üreme görülen örnek n (%) | Fakültatif anaerop üreme görülen örnek n (%) | Miks* üreme görülen örnek n (%) |
|-------------------|---------------------------|-----------------------------------|--|---------------------------------|
| Yara yeri         | 19 (6.8)                  | -                                 | 8 (7.47)                                     | -                               |
| Apse              | 78 (28)                   | 13 (46.4)                         | 39 (36.4)                                    | 5 (38.3)                        |
| Diyabetik ayak    | 5 (1.8)                   | 1 (3.5)                           | 2 (1.8)                                      | -                               |
| Periton Mayi      | 63 (22.6)                 | 5 (17.8)                          | 30 (28)                                      | 4 (30.7)                        |
| Eklem SIVISI      | 10 (3.6)                  | -                                 | -  | -                               |
| Aspirat           | 14 (5)                    | 2 (7.1)                           | 5 (4.7)                                      | -                               |
| Doku              | 41 (14.7)                 | 4 (14.2)                          | 14 (13)                                      | 3 (23)                          |
| Perikardiyal mayi | 3 (1)                     | -                                 | -  | -                               |
| Pelvik Apse       | 3 (1)                     | 1 (3.5)                           | -  | -                               |
| Safra SIVISI      | 1 (0.35)                  | -                                 | -  | -                               |
| Vitröz SIVISI     | 3 (1)                     | -                                 | 2 (1.8)                                      | -                               |
| Plevral mayi      | 38 (13.6)                 | 2 (7.1)                           | 7 (6.5)                                      | 1 (8)                           |
| <b>Toplam</b>     | <b>278</b>                | <b>28 (10)</b>                    | <b>107 (38.5)</b>                            | <b>13 (4.7)</b>                 |

\* Miks üreme: Fakültatif anaerop ve anaerop bakterinin birlikte izole edildiği örnek.

Anaerop kültürlerden toplam 28 adet Gram negatif anaerop çomak izole edildi. Bunun 14'ü *Bacteroides spp.* (12 *B.fragilis* ve 2 *Bacteroides distasonis* ), 5'i *Fusobacterium spp.* (3 *Fusobacterium nucleatum*, 2 *Fusobacterium varium*) 9'u *Prevotella spp* (3 *Prevotella oralis*, 3 *Prevotella disiens*, 1 *Prevotella denticola*, 1 *Prevotella melaninogenica*, 1 *Prevotella intermedia*) idi (Tablo 4.4).



Tablo 4.4. Gram negatif anaerop çomakların dağılımı (n=28)

| <b>Anaerop Bakteri Cinsi</b>     | <b>Sayı</b> | <b>%</b>   |
|----------------------------------|-------------|------------|
| <i>Bacteroides fragilis</i>      | 12          | 42.9       |
| <i>Bacteroides distasonis</i>    | 2           | 7.1        |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i>   | 3           | 10.8       |
| <i>Fusobacterium varium</i>      | 2           | 7.1        |
| <i>Prevotella oralis</i>         | 3           | 10.8       |
| <i>Prevotella disiens</i>        | 3           | 10.8       |
| <i>Prevotella denticola</i>      | 1           | 3.5        |
| <i>Prevotella melaninogenica</i> | 1           | 3.5        |
| <i>Prevotella intermedia</i>     | 1           | 3.5        |
| <b>Toplam</b>                    | <b>28</b>   | <b>100</b> |

Çalışmada izole edilen 28 anaerop Gram negatif anaerop çomağın 16 tanesinde  $\beta$ -laktamaz varlığına rastlanırken, 12 tanesinde  $\beta$ -laktamaz varlığına rastlanmadı.  $\beta$ -laktamaz ürettiği belirlenen suşların dağılımı tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Beta laktamaz enzimi üreten Gram negatif anaerop çomakların tür ve sayıları

| <b>Bakteri cinsi</b>         | <b>Beta laktamaz pozitif suş sayısı</b> | <b>Beta laktamaz pozitif bakteri ismi</b>   | <b>Beta laktamaz pozitiflik oranı*</b> |
|------------------------------|---|---|--|
| <i>Bacteroides spp.</i> (14) | 12                                      | - <i>Bacteroides fragilis</i><br>- <i>Bacteroides distasonis</i>                                | 12/14                                  |
| <i>Prevotella spp.</i> (9)   | 4                                       | - <i>Prevotella oralis</i><br>- <i>Prevotella melaninogenica</i><br>- <i>Prevotella disiens</i> | 4/9                                    |

\*Bakteri sayıları az olduğu için yüzde hesaplanmadı

Antibiyotik direnç belirleme deneyleri için E-test yöntemi kullanıldı. E-test yöntemi kullanılarak elde edilen direnç oranları sonuçları Gram negatif anaerop çomaklar için Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Çalışmada elde edilen Gram negatif anaerob çomakların test edilen antimikrobiklere karşı direnç oranları

| <b>Bakteri Adı</b>               | <b>n</b>  | <b>FX</b> | <b>MZ</b> | <b>MX</b> | <b>CM</b> | <b>PG</b> | <b>IP</b> | <b>MP</b> | <b>ETP</b> | <b>DOR</b> |
|----------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| <i>Bacteroides fragilis</i>      | 12        | 3         | -         | -         | 4         | 11        | -         | -         | -          | -          |
| <i>Bacteroides distasonis</i>    | 2         | 2         | -         | -         | -         | 2         | -         | -         | -          | -          |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i>   | 3         | -         | -         | -         | -         | -         | -         | -         | -          | -          |
| <i>Fusobacterium varium</i>      | 2         | -         | -         | -         | -         | -         | -         | -         | -          | -          |
| <i>Prevotella oralis</i>         | 3         | -         | -         | -         | 1         | 3         | -         | -         | -          | -          |
| <i>Prevotella disiens</i>        | 3         | 1         | -         | -         | -         | 3         | -         | -         | -          | -          |
| <i>Prevotella denticola</i>      | 1         | -         | -         | -         | -         | 1         | -         | -         | -          | -          |
| <i>Prevotella melaninogenica</i> | 1         | -         | -         | -         | -         | 1         | -         | -         | -          | -          |
| <i>Prevotella intermedia</i>     | 1         | -         | -         | -         | -         | 1         | -         | -         | -          | -          |
| <b>Toplam</b>                    | <b>28</b> | <b>6</b>  | <b>0</b>  | <b>0</b>  | <b>5</b>  | <b>22</b> | <b>0</b>  | <b>0</b>  | <b>0</b>   | <b>0</b>   |

n: Örnek sayısını göstermektedir.

FX: Sefoksitin MZ: Metronidazol MX: Moksifloksasin CM: Klindamisin

PG: Penisilin G IP: İmipenem MP: Meropenem ETP: Ertapenem

DOR: Doripenem

## 5.TARTIŞMA

İnsan ve hayvan patojenleri arasında önemli yere sahip olan anaerop bakteriler, ciddi hatta fatal seyirli enfeksiyonlara neden olabilen mikroorganizmalardır. İnsan vücudunun florasında aerop mikroorganizmalarla birlikte bulunan anaerop bakteriler uygun ortam bulduklarında çok çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir ve bu enfeksiyonlar genellikle polimikrobiyal karakter göstermektedir (Kıyan, 1999;Gürler, 2005;Winn, 2006;Jousimies-Somer, 2002;Doğan, 2008).

Anaerop bakterilerin izolasyon ve identifikasyonları oldukça güçtür. Bu da bölgelerden yeterli verinin elde edilememesine sebep olmaktadır. Ancak anaerop bakterilerin izolasyonu güç ve zaman alıcı olsa da kültür gold standarttır ve başarılı anaerop kültür çalışması yapılan laboratuvarlarda % 25 ile % 50 arasında değişen oranlarda anaerop bakterilerin izole edildiği bildirilmektedir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında anaerop bakterilerin izole edilebilmesi için örnek alımı ve taşınması, besiyeri seçimi, besiyeri kalitesi ve inkübasyon koşulları gibi aşamaların ve faktörlerin optimum düzeyde tutulması çok önemlidir (Türkkan, 2008;Torun, 1999;Hecht, 2004;Winn, 2006).

Çalışma süresince toplam 278 adet klinik örneğin anaerop kültürü yapılmıştır. En çok örnek apse ve periton mayi örneği olarak gönderilmiştir. Diğer örnekler de enjektöre alınmış olarak laboratuvarımıza ulaştırılmıştır. Bu tür örnekler için temin ettiğimiz Port-a-Cul sistemi de hastanemizde ilk kez kullanılmış olmasına rağmen sıklıkla tercih edilmiştir. Tüm örneklerin % 10'unda anaerop bakteri üremesi olmuştur (Tablo 4.2). Kliniklerle yapılan görüşmelerde anaerobik örnek alım şekli ve örneğin bir an önce laboratuvara ulaştırılması ile ilgili hassasiyet sıklıkla anlatılmıştır. Fakat bu konuda aynı duyarlılığın gösterilmediği düşünülmektedir. Bu yüzden örnek alımı ve ekiminde gecikmeler yaşanmış ve bu durumun anaerop izolat sayısının istenilen düzeye ulaşamamasında bir etken olduğu değerlendirilmiştir.

En yüksek üremenin % 50 oranında Port-a-Cul sistemine alınmış olan örneklerde olması dikkat çekicidir. Çalışmamızda, Port-a-Cul sisteminin yerine tercih edilen enjektör ile gelen örneklerde %39 ve steril kap ile gelen örneklerde % 11 oranlarında anaerop üreme gözlenmiştir. Eküvyonlu transport sistemiyle gelen örneklerden ise anaerop bakteri izole edilememiştir (Tablo 4.1). Anaerop kültürü yapılacak örneklerin taşıma ortamı ve süreleri ile ilgili kurallara uymak kültürde üretme şansını büyük oranda arttırmaktadır. Klinik örnekteki anaeroplara yaklaşık 24 saat süreyle canlı tutabildiği gösterilmiş olan Port-a-Cul ve benzeri sistemler, anaerop örneklerin taşınmasında önerilmektedir (Türkkan, 2008;Citron, 2000;Holden, 2004).

Anaerop bakteriyolojide kültürün başarısını ayrıca, örneğin alınma zamanı, örneğin alındığı yer ve alınma şekli, önceden antibiyotik tedavisi verilip verilmemesi, uygun besiyeri ve inkübasyon koşulları gibi faktörler de büyük ölçüde etkiler (Engelkrik, 2007;Forbes, 2007; Türkkan, 2008).

Erciş ve ark., anaerop kültür yapılan 367 örneğin %20.5'inde fakültatif anaerop ve anaerop üremesini birlikte saptarken, %7.6'sında ise sadece anaerop üreme saptamışlardır. Anaerop bakteri üremesi olan 103 örnekten 217 anaerop bakteri izole edilmiş, örneklerin 15'inde tek, 88'inde ise fakültatif anaerop ve anaerop karışık olarak birden fazla bakteri üremesi olmuştur.

Şengöz ve ark., 1503 çeşitli klinik örnekten % 9 oranında anaerop bakteri üremesi bildirmişlerdir. Bozkurt ve ark., 238 örnekten anaerop kültür yapmış ve % 28.2 oranında sadece anaerop bakteri üremesi saptamışlardır.

Doğan ve ark., çalışmalarında 100 klinik örneğin 14'ünden (%14) toplamda 22 anaerop bakteri izole etmişlerdir. Bu örneklerin 7'sinde aynı anda birden fazla anaerop bakteri saptanırken, 8 örnekte ise anaerop ve fakültatif anaerop bakterilerin birlikte ürediğini gözlemlemişlerdir. Anaerop bakteri tanımlanan 14 örneğin 8'inin apse (%57), 6'sının ise periton mayı (%42) olduğunu bildirmişlerdir.

Kaya ve ark., 296 klinik örnekten 26 anaerop bakteri (%8.7) izole etmişlerdir. Bu izolatların 14'ü sporsuz anaerop Gram negatif basildir. İzole edilen 26 anaerop bakterinin 11'ine (%42.3) fakültatif anaerop bakterilerin eşlik ettiği gözlenmiştir. Bu çalışmada izole edilen anaerop bakterilerin daha çok apse örneklerinden izole edildiği (%21.6) ve 16 apse örneğinin 2'sinde ise (%12.5) etken olarak birden fazla anaerop bakteri saptandığı görülmüştür.

Çalışmamızda örneklerin % 4.7'sinde hem anaerop hem de fakültatif anaerop, % 10'unda sadece anaerop, % 38.5'inde sadece fakültatif anaerop üreme saptanmıştır. Örneklerin % 51.5' inde ise üreme olmamıştır (Tablo 4.2). Anaerop kültür yaptığımız klinik örnekler arasında anaerop üreme oranları en yüksek olanlar; apse (13/78), periton mayı (5/63) ve doku örneği (4/41) olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.3). Genellikle apse örnekleri, anaeroplara en sık izole edildiği örnekler arasında yer almaktadır (Engelkrik, 2007; Türkkan, 2008).

Ayrıca çalışmamızda işleme alınan 278 klinik örneğin 28 (%10)'inde toplam olarak 28 adet anaerop Gram negatif çomak soyutlanmıştır. En fazla *Bacteroides fragilis* grup (n:14), *Prevotella spp.* (n:9), *Fusobacterium spp.*(n:5) izole edilmiştir (Tablo 4.4). *B. fragilis* grup üyeleri anaerop kültür yapılan örneklerden en sık soyutlanan bakterilerdir (Winn, 2006; Forbes, 2007; Türkkan, 2008). Bu çalışmada *Bacteroides* izolatlarının çoğu diyafram altı örneklerden izole edilmiştir.

*Prevotella* türleri en sık izole edilen ikinci anaerop Gram negatif bakteri grubu olmuştur. *Prevotella* türleri ile yakın ilişkili olan *Porphyromonas* türleri çalışmamızda izole edilememiştir. Pigmentli *Prevotella-Porphyromonas* türleri tüm dünyada anaeroplara arasında genellikle *Bacteroides* türlerinden sonra en sık soyutlanan bakterilerdir (Winn, 2006).

Şengül ve ark., çalışmalarında 75 anaerop suşun sadece 3'ünde *Porphyromonas* izole edebilmişlerdir. Türkkan ve ark., 241 klinik örnek ile yaptıkları çalışmada toplamda 54 anaerop bakteri izole etmiş ve bunun 30'u Gram negatif

basildir. Türkkan ve ark'larının yaptığı bu çalışmada Gram negatif basillerin 14'ü *Bacteroides spp.*(8 *B.fragilis* ve 6 *Bacteroides fragilis* dışı *Bacteroides fragilis* grup), 10'u *Porphyromonas spp.*, 5'i *Prevotella spp.*, 1'i *Fusobacterium spp.* dir. Başka bir çalışmada ise izole edilen 22 anaerop bakterinin, 10'unun (%45) *Bacteroides* cinsinden ve 7 tanesinin (%32) ise Gram pozitif anaerop bakteri (2 *P.niger*, 5 *Peptostreptococcus* grup) olduğu gözlemlenmiştir (Doğan, 2008).

Keşli ve ark., yaptıkları çalışmada 40 anaerop bakteri izole etmişlerdir ve bunların 11'i (%27,5) *B. fragilis* grubunun üyelerine aitken, yaptıkları bu çalışmada *B. fragilis* en sık izole edilen bakteri grubunu oluşturmuştur.

Anaerop bakteri enfeksiyonları genellikle polimikrobiyaldir. Fakültatif anaeroplara veya mikroaerofil mikroorganizmalar da anaerop bakterilerle birlikte bu miks enfeksiyonlardan izole edilebilmektedir (Winn, 2006;Doğan, 2008; Özbakkaloğlu, 2001).

Doğan ve ark., yaptığı çalışmada tanımlanan anaerop bakteri enfeksiyonlarına % 57 oranında fakültatif anaerop bakterilerinin eşlik ettiği tespit edilmiştir ve miks enfeksiyonlarda, fakültatif anaerop bakterilerden en sık, *E.coli* ve *Enterococcus spp.* izole edildiği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise polimikrobiyal cerrahi enfeksiyonlarda anaerop bakterilere, fakültatif anaerop olarak en sık *E. coli*'nin eşlik ettiği, sonra sırasıyla *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.* ve *Enterobacter spp.* ve Gram pozitif kokların eşlik ettiği belirtilmiştir (Aldridge, 1994).

Çalışmamızda 278 klinik örnekten toplam 107 (%38.5) fakültatif anaerop bakteri izole edilirken 8 adet örnekten ise iki farklı fakültatif anaerop bakteri tanımlandı. Bu miks enfeksiyonlarda en sık izole edilen fakültatif anaeroplara; *E.coli*, *Kelbsiella spp.*, idi. Bunun dışında *Enterococcus spp.*, *Proteus spp.*, da bu çalışmada izole edilen bakteriler arasındadır. Çalışmamızda aynı zamanda Gram pozitif koklar da izole edilen bakteriler arasındadır (Tablo 4.2).

Rutin antibiyotik direnç belirleme testi, izole edilen anaerop bakterilere dünyanın birçok yerinde çok nadir uygulanmaktadır. Klinik açıdan anaerop olduğu düşünülen enfeksiyonlarda genellikle empirik antibiyotik tedavisine başlanılmaktadır. Çünkü anaerop bakterileri üretmek zordur ve bakterileri üretmenin maliyetinin yüksek olmasının yanında teknik alt yapının yetersizliği de belli başlı problemlerdendir. *B. fragilis* grup başta olmak üzere anaerop bakteriler arasında antibiyotik direnci ve özellikle bu direnç genlerinin yayılması çok ciddi bir sorun teşkil etmektedir. Dirençli suşların neden olduğu enfeksiyonlarda uygun olmayan tedavi ile ilişkili olarak klinik başarısızlıklar ile ilgili veriler çok sık bildirilmektedir (Türkkan, 2008; Sanders, 1992; Şengöz, 2005).

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), yukarıda sözü edilen artan direnç sorunu nedeniyle antibiyotiklere karşı direnç profili öngörülemeyen ve oldukça virulan seyreden Gram negatif çomaklardan olan *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*'a antibiyotik duyarlılık testi yapılmasını tavsiye etmektedir. Aynı zamanda steril vücut bölgelerindeki enfeksiyonlardan (beyin apsesi, endokardit, bakteremi, osteomyelit, artrit, protez/greft) anaerop bakteri soyutlandığında da antibiyotik direnç belirleme testi yapılması gerektiği belirtilmektedir. Antibiyotik direnç belirleme testi yapılmasını gerektirebilecek diğer sebepler arasında; tedavide başarısızlık, belirli bölge veya hastanede periyodik olarak direnç durumunun izlenmesi, yeni bir antibiyotığın test edilmesi de yer alır (Winn, 2006; Forbes, 2007; Türkkan, 2008; Hecht, 2005).

Penisilin (ya da ampicilin),  $\beta$ -laktamaz inhibitörlü penisilinler, sefoksitin, imipenem (veya diğer karbapenem grubu antibiyotiklerden biri), klindamisin, kloramfenikol ve metronidazol genel olarak anaerop izolatların antibiyotik direnç belirleme testlerinde kullanılacak antibiyotikler olarak önerilmektedir. Tabii bu tercih izolatın cins ve türüne,  $\beta$ -laktamaz üretip üretmemesine, izole edildiği yere göre değişiklikler gösterebilir (Ülger, 2006; Türkkan, 2008; Hecht, 2005).

Anaerop bakteriyolojide antibiyotik direnç belirleme testinde agarda dilüsyon metodu referans yöntem olarak kabul görmektedir. Fakat agarda dilüsyon yöntemi zahmetli bir yöntemdir ve pratik değildir. Bir diğer test olan ve aerop bakterilerde sıklıkla kullanılan bir referans test yöntemi olarak da kabul edilen sıvı mikrodilüsyon testi ise sadece *B. fragilis* grup için onaylanmıştır. Diğer taraftan Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayı almış olan E test, diğer yöntemlere göre nispeten pahalı olmakla birlikte, özellikle az sayıda izolatanın test edilmesinde önerilen, oldukça pratik ve güvenilir bir yöntemdir(Forbes, 2007; Hecht; 2006,Winn;Hecht, 2005). E-test yönteminin agar dilüsyon ile karşılaştırmalı olarak yapıldığı çalışmalarda anaerop bakterilerin direnç oranlarını belirleme deneylerinde E-test yöntemi ile elde edilen sonuçların farklı dilüsyonlarda % 80,8–%99,95 oranında agarda dilüsyon yöntemi ile uyumlu olduğu belirtilmiştir(Keşli, 2001; Citron, 1991; Appelbaum, 1994). Bizim çalışmamızda da anaerop izolatların antibiyotik direnç oranlarının belirlenmesinde E test yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmamızda izole ettiğimiz tüm Gram negatif anaerop basiller arasında 16/28 oranında  $\beta$ -laktamaz üretimi gözlenmiştir. Beklendiği gibi  $\beta$ -laktamaz üretimi en fazla *B. fragilis* grubunda saptanmıştır.  $\beta$ -laktamaz üretimi saptanan 16 suşun 12'si *B. fragilis* grubundandır (Tablo 4.5). Farklı birçok çalışmada *B. fragilis* grubunda yer alan bakterilerin %76-100 oranında  $\beta$ -laktamaz ürettiği bildirilmiştir. Ülkemizde ise çeşitli çalışmalarda bu oran %72 ile %96 arasında değişmektedir (Ülger, 2006). Anaerop Gram negatif bakteriler ve diğer anaeroplarda beta laktamaz varlığının araştırılmasında nitrosefin disk testi güvenilir test yöntemlerindedir (Doğan, 2008).

Penisilin ve ampisiline direncinde *B. fragilis* grubu bakterilerde en yaygın mekanizma  $\beta$ -laktamaz enziminin üretimidir.  $\beta$ -laktamazların çoğu,  $\beta$ -laktamaz inhibitörleri ile inhibe olmaktadır. Diğer direnç mekanizmalarından penisilin bağlayıcı proteinlerde (PBP) değişiklik ve por geçirgenliğinde azalma mekanizmaları ise oldukça nadir gözlenmektedir (Hecht, 2005). Anaerop Gram negatif çomakların dahil edildiği çalışmamızda penisilin direnci bütün izolatlarda %78.5 oranında bulunmuştur. *B. fragilis* grup suşlarında %92.8 oranında penisilin direnci görülmüştür. Penisilin direnci *Prevotella* suşlarının tamamında (%100) görülürken



*Fusobacterium* suşlarının hiçbirisinde saptanmamıştır (Tablo 4.6). Şengöz ve ark. klinik örneklerden izole ettikleri 127 anaerop izolatta penisilin direncini %100 olarak tespit etmişlerdir ve *B.fragilis* grubu suşlarda da penisilin direncini %100 olarak belirtmişlerdir(Şengöz, 2005). Ülger ve ark. yapmış oldukları çalışmada, *B.fragilis*'in penisiline %91 oranında dirençli olduğu belirtilmiştir(Ulger (Toprak), 2004). M. Lorenzo ve ark. 36 Gram negatif anaerop basil ile yaptıkları çalışmada, izole ettikleri 10 *B. fragilis* türünün tümünü penisiline ve birinci kuşak sefalosporinlere dirençli olarak bulmuşlardır(Lorenzo,2011).

Sefoksitin ve sefotetan (sefamisinler), seftizoksim hariç sefalosporin grubu antibiyotikler, anaerop Gram negatif çomaklar da dahil olmak üzere hemen hemen bütün anaeroplara karşı genellikle zayıf etkinliğe sahiptir. Sefoksitin direncinin *B. fragilis* grubunda ortalama %10-20 düzeylerinde olduğu bildirilmektedir. Diğer sık izole edilen gram negatif anaeroplardan olan *Prevotella*, *Porphyromonas* ve *Fusobacterium* türleri arasında ise daha düşük sefoksitin direnç oranları (%0-5) rapor edilmiştir (Türkkan, 2008; Snyderman, 2002; Hecht, 2006; Aldridge, 2001). Bizim çalışmamızda *B. fragilis* grup suşlarında 5/14 oranında sefoksitin direnci saptandı. Çalışmamızdaki *B.fragilis* grup suşlarındaki sefoksitin direnci %36 civarındadır. Gram negatif anaerop çomaklardan bir diğeri olan *Prevotella* suşlarında ise sefoksitine direnç 1/9 oranında tespit edilmiştir. *Fusobacterium* suşlarında ise sefoksitin direnci saptanmamıştır (Tablo 4.6). Kaya ve ark. 11 anaerop bakteriden sadece 1 adet Gram negatif basilde (*B.Fragilis*) sefoksitin direnci saptamışlardır(Kaya, 2012). Keşli ve ark.40 anaerop bakteri izole ettikleri çalışmalarında sefoksitin direncini %25 oranında bulmuşlardır(Keşli, 2001). Türkkan ve ark. *B. fragilis* grup suşlarında 2/14 oranında sefoksitin direnci saptarken, *Prevotella* suşlarında sefoksitin direnci saptanmamışlardır(Türkkan, 2008). Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada (Torun, 1999). *B. fragilis* grubuna ait 138 suşun %81.8'i sefoksitine dirençli bulunmuştur. Fransa'da Gram negatif anaerop basillerin izole edildiği çok merkezli bir çalışmada (Behra-Miellet, 2003), *B.fragilis* grup suşlarının (n=189) %11 oranında sefoksitine dirençli olduğu bildirilmiştir. Yapılan diğer yurt dışı çalışmaları incelendiğinde ise bu bakteri grubunda birbirinden oldukça farklı sefoksitin direnç oranları (%3-89) gözlenmektedir (Hedberg, 2003).

Behra-Miellet ve ark. 337 anaerop bakteride yapmış oldukları direnç belirleme çalışmasında sefoksitin direncini %7.1 olarak bulmuşlardır (Behra-Miellet, 2006). Katsandri ve ark. 249 Gram negatif anaerop bakterinin izole edildiği çalışmada %26 oranında sefoksitin direnci tespit etmişlerdir (Katsandri, 2006).

Karbapenem grubu antibiyotiklere (imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem) anaerop bakteriler arasında direnç gelişimi çok nadir gözlenmektedir. Bu grup antibiyotiklere karşı direnç gelişimi metallo  $\beta$ -laktamaz, porin direnci veya PBP'lerdeki değişime bağlı olabilir. dünya genelinde *B.fragilis* grup suşları arasında imipeneme %0-2 arasında direnç oranı bildirilmiştir (Snydman, 2002; Aldridge, 2001; Wybo, 2007; Snydman, 2007). Çalışmamızda hiçbir izolatta karbapenem dirençli suş gözlenmemiştir (Tablo 4.6). Torun ve ark.ise 138 *B. fragilis* grup suşunda imipenem direncine rastlamamışlardır(Torun, 1999). Ülger ve ark.45 adet *B. fragilis* grup suşlarının ikisinde imipenem direnci tespit etmişlerdir(Ulger (Toprak), 2004). Behra-Miellet ve ark. klinik örneklerden izole edilen 337 anaerop bakteride yapmış oldukları çalışmada imipeneme karşı % 0.6 ve ertapeneme karşı ise %2.1 oranında direnç bildirilmiştir. (Behra-Miellet, 2006).

Makrolid-linkozamid-streptogramin (MLS) grubunda yer alan klindamisin, bakteri ribozomunun 50S alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Klindamisine direnç, 23S ribozomal RNA'da metilasyon sonucu gelişmekte ve antibiyotik hedef bölgeye bağlanamamaktadır. Metilasyondan sorumlu çok sayıda *erm* geni (*ermF*, *ermFS*, *ermG*, *ermB*) bildirilmiştir. Bu genler genel olarak plasmid ve transpozonlar gibi mobil genetik yapılarda lokalize olduklarından dolayı bakteriden bakteriye kolayca aktarılabilir (Türkkan, 2008; Hecht, 2006). Klindamisin direnci günümüzde anaerop bakteriler arasında artış göstermektedir. Son yıllarda özellikle *B. fragilis* grup üyeleri arasında klindamisin direnci tüm dünyada önemli boyutlara ulaşmış olup çoğu çalışmada %10-40 oranlarında direnç elde edilmiştir. Bu nedenle klindamisin anaerop enfeksiyonların empirik tedavisinde artık önerilmemekte ve tercih edilmemektedir (Türkkan, 2008; Snydman, 2002; Hecht, 2006; Aldridge, 2001; Wybo, 2007). Klindamisin direnci *B. fragilis* dışı *Bacteroides* türlerinden özellikle *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron* ve *B. caccae* suşları arasında

genellikle daha yaygın olup bazı çalışmalarda direnç oranları %50-70'leri bulmaktadır (Türkkan, 2008; Hecht, 2006; Behra-Miellet, 2003). Bacteroides dışındaki anaeroplarda klindamisine direnç nispeten daha düşük oranlarda seyretmekle birlikte son yıllarda direnç oranlarında artışa dikkat çekilmektedir. Anaerop Gram negatif basillerden *Prevotella*, *Fusobacterium* ve *Porphyromonas* suşlarının ortalama %10'unda klindamisine direnci bildirilmektedir (Hecht, 2006; Hecht, 2005). Çalışmamızda *B. fragilis* grup suşlar arasında 4/14 oranında klindamisin direnci tespit edilmiştir. *Prevotella spp.* suşlarında ise 1/9 oranında direnç gözlemlendi. *Fusobacterium* suşlarında ise klindamisin antibiyotiğine karşı dirence rastlanmadı. Ülkemizde *B. fragilis* grup üyelerinde %3.6 ile %55 oranlarında bildirilen direnç değerleri dikkate alındığında, bizim çalışmamızda saptadığımız direnç (%28.5) oranlarının ülkemiz verileriyle uyumlu olduğu görülecektir (Türkkan, 2008). Kaşlı ve ark.100 klinik örnekten izole ettikleri 40 anaerop bakteriden 14'ünü Gram negatif basil olarak tanımlamışlardır ve bu çalışmadaki 14 Gram negatif basilin 8'i klindamisine dirençli olarak raporlanmıştır (Keşli, 2010). Bizim çalışmamız da dahil olmak üzere, ülkemizde yapılan çalışmalarda tespit edilen yüksek oranlardaki klindamisin direncinin, çalışmaya dahil edilen suş sayılarının az olmasına, bölgesel farklılığa ve ülkemiz genelinde linkozamid grubu antibiyotiklerin yaygın kullanımına bağlı olabilir. Letournel-Glomaud ve ark. yaptıkları çalışmada izole ettikleri gram negatif anaerop bakterilerin %21'inde (19/89) klindamisin direnci tespit etmişlerdir. (Letournel-Glomaud, 2003).

Bir 5-nitro-imidazol türevi olan metronidazolün aktivite göstermesi için hücreye girdikten sonra intrasellüler transport proteini olan piruvat-ferredoksin oksido-redüktaz sistemi tarafından 5-nitro-imidazol prodroglarına indirgenmesi şarttır. Plazmid veya kromozomal kaynaklı olabilen *nim* genleri (*nimA-G*) tarafından kodlanan nitro-imidazol redüktaz enzimi, metronidazol direncinde en önemli mekanizmayı meydana getirmektedir. Bakterinin ürettiği nitroimidazol redüktaz enzimi, ilacın normal redüksiyonunu sağlayan ferredoksinle yarışarak prodrogların nitro grubunu amin türevine dönüştürür. Böylelikle metronidazol, bakteri için toksik olmayan bir forma dönüşmüş olur. *B. fragilis* grup üyeleri ve diğer anaerop gram negatif bakteriler arasında metronidazol direnci, bu antibiyotiğin 1960'lardan beri

tüm dünyada yaygın olarak kullanılmasına karşın nadir görülmektedir. Fakat, direncin son yıllarda artış eğilimi gösterdiğine dikkat çekilmektedir. ABD’de *B. fragilis* grup üyeleri arasında metronidazole direnç sadece birkaç suşta gösterilmiştir (Türkkan, 2008; Hecht, 2006; Hecht, 2005). ABD’de 1997-2004 dönemini kapsayan *B. fragilis* grupla ilgili ulusal izlem çalışmasında 5,225 suştan sadece birini metranidazole dirençli bulmuşlardır(Syndman, 2007). Batı Avrupa, Ortadoğu, Asya, Afrika ve Kanada’dan ise metronidazole dirençli *Bacteroides* türleri artan bir sıklıkta bildirilmektedir. Ülkemizde metronidazol direncine ait veriler oldukça değişkenlik göstermektedir. *B. fragilis* grup üyelerinde %0 ile %37.5 gibi değişen oranlarında direnç değerleri bildirilmiştir (Türkkan, 2008). Keşli ve ark.toplam 40 anaerop bakterinin tanımlandığı çalışmalarında, Gram negatif anaerop bakterilerde (n=16) antibiyotik duyarlılığını E-test metodu ile tespit etmiş ve %6 oranında metronidazol direnci bildirmişlerdir (Keşli, 2001). Kaya ve ark. izole ettikleri 11 anaerop bakteriden sadece bir tane *B.fragilis* suşunda metronidazol direnci tespit etmişlerdir(Kaya, 2012). Gram negatif anaerop basillerin dahil edildiği çalışmamızda hiçbir suşta metronidazol direnci saptanamamıştır.

Florokinolonlar arasında moksifloksasin, FDA tarafından anaeroplara içerebilen, cilt enfeksiyonları için onaylanmış bir antibiyotiktir. Anaeroplara kısmen etkilidir. Direnç *gyr A* (gyraz) ve *gyr B* ‘de mutasyonlar ve/veya efluks pompasının ekspresyonunda artış ile ortaya çıkan bir mekanizma ile ilişkilidir. Anaerop bakteriler tarafından transfer edilebilir kinolon direnci ise tanımlanamamıştır(Türkkan, 2008; Hecht, 2006). Çalışmamızda izole edilen Gram negatif anaerop basillere moksifloksasin E-test yapılmış ancak hiçbir suşta direnç saptanamamıştır.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Gelen örneklerin 143'ünde (%51.4) fakültatif anaerop ve/veya anaerop üreme olmazken 107'sinde (%38.5) sadece fakültatif anaerop, 28'inde (%10) anaerop ve 13'ünde (%4.7) fakültatif anaerop ve anaeroplara birlikte üretildi.
2. Örneklerin laboratuvara transport şekli dikkate alındığında anaerop üreme en fazla Port-a-Cul sistemiyle gelen örneklerde saptandı (%50).
3. Örnek bazında en yüksek Gram negatif anaerop basil üreme oranları, apse (13/28) (%46.4), periton mayi (5/28) (%17.8) ve doku örneği (4/28) (%14.2) şeklinde gözlemlendi.
4. İşleme alınan 278 klinik örneğin 28 (%10)'ünde toplam olarak 28 adet anaerop Gram negatif çomak soyutlandı.
5. Çalışmamızda örneklerin %4.7'sinde hem anaerop hem de fakültatif anaerop bakteriler birlikte soyutlandı, %10'unda sadece anaerop Gram negatif çomak, %38.5'inde ise sadece fakültatif anaerop bakteri üremesi saptandı.
6. Anaerop üreme olan örneklerde en çok *Bacteroides fragilis* grup (n:14) (%50), *Prevotella spp.*(n:9) (%32.1), *Fusobacterium spp.*(n:5) (%17.9) izole edildi.
7. Tüm izolatların 16/28 (%57.1)'inde *Bacteroides fragilis* grup bakterileri izole edildi. İzole edilen *Bacteroides fragilis* grup üyelerinden 12/14 (%85.7)'inde beta-laktamaz varlığı saptandı.
8. Test edilen antibiyotikler arasında en yüksek oranda direnç, Penisilin ve Sefoksitinde sırasıyla 22/28 (%78.5) ve 6/28 (%21.4) olarak tespit edildi.

Klindamisine direnç en fazla *Bacteroides fragilis* grup (4/14) (%28.5) izolatlarında saptandı. *Bacteroides fragilis* grup izolatlarında metronidazol direnci saptanmadı.

9. Anaerob enfeksiyonların yaygın görülmesi, yüksek mortalite ve morbidite ile seyretmesi, klinik tanıda karşılaşılan zorluk, tedavinin cins ve türler arası farklılık göstermesi ve artan direnç nedeniyle etken patojenlerin tanımlanması ve direnç paternlerinin belirlenmesinin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

## ÖZET

### **Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Negatif Anaerop Çomakların Tiplendirilmesi ve Antibiyotik Direnç Profillerinin E Test Yöntemi ile Belirlenmesi**

**Amaç:** Bu çalışma anaerobik enfeksiyondan şüphelenilen hastalardan elde edilerek Afyon Kocatepe Üniversitesi ANS Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen Gram negatif anaerop çomakların tanımlanması ve antibiyotik direnç profillerinin E test yöntemi ile belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

**Gereç ve yöntem:** İki yüz yirmi sekiz klinik örnek Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında 1 Kasım 2014 ile 30 Ekim 2015 tarihleri arasında anaerop bakteri izolasyonunun yapılması için incelendi. Örneklerin, %5 defibrine koyun kanı ilave edilmiş Scheadler agar ve Scheadler buyyon kullanılarak, kültürleri yapıldı. İzole edilen anaerop Gram negatif basiller, konvansiyonel yöntemler ve Vitek 2 (ANC ID Card, bioMerieux, Fransa) kartları kullanılarak tanımlanıp sınıflandırıldı. Penicillin G, klindamisin, sefoksitin, metronidazol, moksifloksasin, imipenem, meropenem, ertapenem ve doripenem direnç oranları her bir izolat için E-test metodu ile belirlendi.

**Bulgular:** Toplam olarak izole edilen 28 anaerop gram negatif çomaklardan, 14'ü *B.fragilis* grubuna, 9'u *Prevotella* grubuna ve 5'i de *Fusobacterium* grubuna ait olarak tanımlanmıştır. En yüksek direnç oranı penisiline karşı (%78.5) bulunurken, klindamisin ve sefoksitin direnç oranları ise sırası ile %17.8, %21.4 olarak bulunmuştur. Metronidazol, moksifloksasin, imipenem, meropenem, ertapenem ve doripeneme karşı ise direnç saptanmamıştır.

**Sonuç:** Çalışmamızda yüksek oranda penisiline karşı yüksek oranda direnç görüldüğünden empirik tedavide penisilin tercih edilmemelidir. Sefoksitin empirik tedavide tercih edilebilir ama antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması daha doğru ve faydalı olacaktır. Karbapenem grubu antibiyotikler ve metronidazole karşı direnç gözlenmemiştir, bu nedenle, bu antibiyotikler gelecekte dirençli suşlar ile meydana gelecek enfeksiyonların tedavisi için saklanmalıdır.

**Anahtar kelimeler:** Anaerop Gram negatif çomaklar, antibiyotikler ve direnç profilleri, E-test yöntemi

## SUMMARY

### **Typification and Determination of Antibiotic Ausceptibility Profiles with E Test Methods of Anaerobic Gram Negative Bacilli Isolated from Various Clinical Specimen**

**Objective:** This study was carried out with the purpose of defining by using the E test method and determining the antibiotic resistance profiles of Gram-negative anaerobic bacilli isolated from various clinical specimens obtained from patients with suspected anaerobic infections and referred to Medical Microbiology Laboratory of Afyon Kocatepe University, ANS Application and Research Hospital.

**Material and methods:** Two hundred and seventy eight clinical specimens were examined for isolation of the anaerobic bacteria in Medical Microbiology Laboratory between the 1<sup>st</sup> November 2014 and 30<sup>th</sup> October 2015. Specimens were cultivated by using Scheadler agar that 5% defibrinated sheep blood added, and Scheadler broth. The isolated anaerobic Gram-negative bacilli were identified conventional methods and Vitek 2 (ANC ID Card, bioMerieux, France) cards. Antibiotic resistance rates against to penicillin G, clindamycin, cefoxitin, metronidazole, moxifloxacin, imipenem, meropenem, ertapenem and doripenem were determined with E-test method for each isolate.

**Results:** Of the isolated twenty-eight anaerobic gram negative bacilli fourteen were identified as the *B. fragilis* group, 9 were *Prevotella* group, and 5 were *Fusobacterium* group. The highest resistance rate was found against penicillin (78.5%) and resistance rates against clindamycin and cefoxitin were found as 17.8% and 21.4%, respectively. Against to the; metronidazole, moxifloxacin, imipenem, meropenem, ertapenem and doripenem, no resistance was found.

**Conclusion:** Since high rate resistance has been detected against to penicillin in the study penicillin should not be preferred in empirical treatment. Cefoxitin can be preferred in empirical treatment; however, carrying out the antibiotic sensitivity testing will be more proper and beneficial. No resistance was observed against carbapenem group antibiotics and metronidazole; so that reason, these antibiotics should be reserved for treatment of infectious caused by resistant strains in the future.

**Keywords:** Anaerobic Gram-negative bacilli, antibiotics and resistance profiles, E-test method



## KAYNAKLAR

- KAYA, S. Klinik örneklerden izole edilen anaerop bakterilerin laboratuvar tanısı ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Ankara, 2012.
- KEŞLİ, R. Çeşitli klinik Örneklerden İzole Edilerek Tanımlanan Anaerob Bakteriler ve E-Test Yöntemi İle Antibiyotik Duyarlılıkların Belirlenmesi. Uzmanlık tezi, Erzurum, 2001.
- FINEGOLD SM, "Review of early research on anaerobes," *Clin. Infect. Dis.*, vol. 18, no. Supplement 4, pp. S248–S249, 1994.
- G. F. BROOKS, J. S. BUTEL, L. N. ORNSTON, E. JAWETZ, J. L. MELNICK, AND E. A. ADELBERG, "Enteric gram-negative rods (Enterobacteriaceae)," *Jawetz, Melnick Adelberg's Med. Microbiol.*, pp. 215–220, 1991.
- P. R. MURRAY AND D. M. CITRON, "General processing of specimens for anaerobic bacteria.," 1991.
- J. M. HARDIE, "Application of chemotaxonomic techniques to the taxonomy of anaerobic bacteria.," *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.*, vol. 62, pp. 7–14, 1988.
- FİNEGOLD SM, 20. Anaerobic gram negatif Bacilli, *Medical microbiology* ed. Samuel Baron, The University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996, 4th, Sected:1.
- JAMES PA, AL-SHAFAİ KM. Clinical value of anaerobic blood culture: a retrospective analysis of positive patient episodes. *J Clin Pathol.* 2000; 53:231-3.
- TUNÇKANAT F. Anaerop bakterilerin genel özellikleri: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, *İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, Cilt 2, 2002: s1705-1718.
- LÖFMARK S, FANG H, HEDBERG M,. İnducible metronidazole resistance and nim genes in clinical *Bacteroides fragilis* Group Isolates, *Antimicrobial Agents and chemotherapy*, 2005, p.1253-1256.
- GOLDSTEİN EJC, *Clinical anaerobic infections*, Anaerobe, 1999, 5:p347-350.

- ENGELKRİK PG, DUBEN-ENGELKRİK J. Anaerobes of Clinical Importance. Textbook of Diagnostic Microbiology. 3rd ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2007, p:587-664.
- WİNN WC, ALLEN SD, JANDA WM, KONEMAN EW, SCHRECKENBERGER PC, WOODS GL. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Philadelphia PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006, p:877-944.
- FORBES BA, SAHM DF, WEİSSFELD AS. Anaerobic Bacteriology, Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier; 2007, p:455-477.
- WİLLİS A.T. Abdominal sepsis: İn Duerdan B.I. and Drasar B.S.(ed.) Anaerobes in human disease. Wiley-Liss, New York, 1991, p.197-223.
- ZALEZNIK D.K.AND ASPER D.L.K., Role of bacterial virulence factors in pathogenesis of anaerobic infections in humans. Academic press, San Diego, 1989, p81-95
- ZALEZNIK D, FİNEBERG F.R.W., SHAPIRO M.E., ONDERDONK A.B. AND KASPER D.L., A soluble suppressor T cell factor protects against experimental intraabdominal abscesses. J.Clin. Invest. 1985; 75:1023-1027.
- GOLDSTEİN E.J.C. İntraabdominal Anaerobic İnfections: Bacteriology and Therapeutic Potential of Newer Antimicrobial Carbapenem, Flouroquinolone and Desflouroquinolone, Therapeutic Agents, Clin infect diseases, 2002; 35 (Suppl 1) :p106-11.
- ROTSTEİN O, PRUETT.L., SORENSON J.J., FİEGAL V.D, NELSON R.D. AND SİMMONS R.L., A Bacteroides by product inhibits human polymorphonuclear leukocyte function . Arch. Surg. 1986; 121: 81-88.
- ROCHA E.R., SELBY T., COLEMAN J.P.AND SMİTH C.J, Oxidative stres response in an anaerobe, Bacteroides fragilis: a role for catalase protection against hydrogen peroxide .J.Bacteriol. 1996; 178: 6895-6903.
- MONCRIEF J.S, OBİSO JR.R, BANOSO L.A, KLİNG J.J, WRİGHT R.L, TANSELL R.L.V, LYERLY D.M. AND WİLKİNS T.D., The enterotoxin of Bacteroides fragilis is a metalloproteaz . Infect. Immun. 1995; 63:175-181.
- NORD CE, HEDBERG M, Resistance to  $\beta$ -Lactam antibiotics in anaerobic bacteria , Rev Infect Dis. 1990; 12(suppl 2) : p231-234.

- TÜRKKAN, A., A., Klinik örneklerden soyutlanan anaerop bakterilerin tanımlanması ve e-test yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Uzmanlık tezi, Eskişehir, 2008.
- ÜLGER TOPRAK N. Anaerop Bakteriyolojide Neredeyiz? Duyarlılık Çalışmaları. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı. 12-16 Eylül 2006, Antalya, s335-43.
- SNYDMAN DR, JACOBUS NV, MCDERMOTT LA, RUTHAZER R, GOLDSTEİN JC, FİNEGOLD SM, HARRELL LJ, HECHT DW, JENKİNS SG, PİERSON C, VENEZİA R, RİHS J, GORBACH L, National Survey on the Susceptibility of B.fragilis Group: Report and analysis of trends for 1997-2000, Clin Infect Diseases, 2002;35(Suppl 1): p126-34.
- ÜLGER TN., YAĞCI A., ÇELİK C, ÇAKICI Ö, SÖYLETİR G., Enterotoksin geni pozitif ve negatif Bacteroids fragilis izolatlarının antibiyotiklere direnç durumlarının karşılaştırılması., Microbiyol bült. 2005; 39: 145-152.
- ROGERS MB, PARKER AC, SMİTH CJ, Cloning and characterization of endogenous cephalosporinase gene, cep A, from B.fragilis reveals a new subgroup of ambler class A beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother, 1993; 37: 2391-400.
- THOMPSON JS, MALAMY MH, Sequencing the gene for an imipenem-cefoxitin – hydrolyzing enzyme (CfiA) from B.fragilis TAL 2480 reveals strong similarity between CfiA and Bacillus cereus beta-lactamase II. J.Bacteriol 1990; 172:2584-93.
- FANG H, EDLUND C, NORD CE, HEDBERG M.Selection of Cefoxitin-resistant Bacteroides thetetaomicron mutants and mechanisms involved in beta-lactam resistance. Clin Infect Dis., 2002; 35: S 47-53.
- TORUN M.M. Anaerop bakterilerde direnç mekanizmaları. 4. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Program ve Özet Kitabı. 17-19 Mayıs 1999, İstanbul, s105- 18.
- HECHT DW. Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments. Clin Infect Dis. 2004; 39:92-7.
- ROBERTS MC., Distribution of tetracycline and Makrolid-linkozamid- streptograminB resistance genes in anaerobic bacteria, Clin infect disease 1995;(suppl1):p20
- LÖFMARK S, FANG H, HEDBERG M, EDLUND C., İnducible metronidazole resistance and nim genes in clinical Bacteroides fragilis group isolates. Antimic Agents and chemoth, 2005, p.1253-1256.

- HAGGOUD A, REYSSET G, AZEDDOUG H, SEBALD M., Nucleotide sequence analysis of two 5-nitroimidazole resistance determinants from *Bacteroides* strains and of a new insertion sequence upstream of the two genes. *Antimicrob Agents and Chemother.*, 1994; 38: p1047-51.
- HECHT D.W., Anaerobes: Antibiotic resistance, clinical significance and the role of susceptibility testing. *Anaerobe*; volume 12, 2006; 12:115-21.
- WINN WC, ALLEN SD, JANDA WM, KONEMAN EW, SCHRECKENBERGER PC, WOODS GL. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 5th ed. Philadelphia PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006, p:877-944.
- HANDAL T, OLSEN I, WALKER CB, CAUGANT DA, Detection and characterization of beta-lactamase genes in subgingival bacteria from patients with refractory periodontitis. *FEMS Microbiol Lett*, 2005; 242: p319-24.
- BRAZIER JS, HALL V, MORRIS TE, GAL M, DUERDEN BI., Antibiotic susceptibilities of gram-positive anaerobic cocci: results of a sentinel study in England and Wales. *J. Antimicrob Chemother*, 2003; 52: p224-8.
- HECHT DW. Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments. *Clin Infect Dis*. 2004; 39:92-7.
- ALDRIDGE KE, ASHCRAFT D, CAMBRE K, PIERSON CL, JENKINS SG, ROSENBLATT JE. Multicenter survey of the changing in vitro antimicrobial susceptibilities of clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, and *Peptostreptococcus* species. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45:1238-43.
- FINEGOLD SM, SONG Y, LIU C, HECHT DW, SUMMANEN P, KONONEN E, ET AL. *Clostridium clostridioforme*: a mixture of three clinically important species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 2005; 24: p319-24.
- KÜLEKÇİ G, Baş-Boyun Bölgesi İnfeksiyonları, Önemli ve sorunlu anaerob bakteri infeksiyonları (ed. Ulusoy S, Leblebicioğlu H), 2005; p37-56.
- LEBLEBİCİOĞLU H., Anti-anaerob tedavi, 4. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Program ve Özet Kitabı. 17-19 Mayıs 1999, İstanbul, s88-97.

- URAL O, Batıniçi infeksiyonlar, Önemli ve sorunlu anaerop bakteri infeksiyonları (ed. Ulusoy S,Leblebicioğlu H), 2005; p57-66.
- ALDRIDGE K.E, ASHCRAFT D, O'BRIEN M, SANDERS CV. Bacteremia due to Bacteroides fragilis group: distribution of species, beta-lactamase production, and antimicrobial susceptibility patterns. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47:148- 53.
- ŞENGÖZ G, YAŞAR K, BERZEG D, YILDIRIM F, ŞENGÖZ A, ELMİ Ş, DURDU Y, NAZLICAN Ö. Klinik örneklerden izole edilen anaerop bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyoloji Cem Derg., 2005; 35: 107- 113.
- BEŞİROĞLU BA, Santral sinir sisteminin anaerop infeksiyonları, Önemli ve sorunlu anaerop bakteri infeksiyonları (ed. Ulusoy S,Leblebicioğlu H) , 2005; p67-80.
- FİNEGOLD SM, Lung abscess. İn: Mandell GM, Benett JE, Dolin R., Principles and practice of infectious diseases. Philadelphi: Churchill Livigstone, 2000; p751-755.
- YAMAZHAN T, Anaeropların etken olduğu AC infeksiyonları, Önemli ve Sorunlu Anaerop Bakteri İnfeksiyonları. (ed. Ulusoy S,Leblebicioğlu H), 2005: p81-90.
- YAPAR N, Pelvik infeksiyonlar, Önemli ve Sorunlu Anaerop Bakteri İnfeksiyonları. (ed. Ulusoy S,Leblebicioğlu H), 2005: p91-102.55.
- GÜNDEŞ S, Kemik ve yumuşak doku infeksiyonları, Önemli ve Sorunlu Anaerop Bakteri İnfeksiyonları (ed. Ulusoy S, Leblebicioğlu H), 2005, 103-132.
- BEŞİROĞLU BA, Derialtı doku infeksiyonları ve apseler, Klimik Dergisi., Cilt 14, sayı: 3, 2003; s147-149.
- LİPSKY BA., Osteomyelitis of the foot in diyabetic patients, Clin Infect Dis., 1997; 25(6): p1318-26.
- ERTUĞRUL MB., BAKTIROĞLU S., AKSOY M., ÇALANGU S., Diyabetik ayak ve infeksiyonu, Klimik Derg., 2004;17(1): s3-12.
- KAYA A, Tetanoz, Önemli ve Sorunlu Anaerop Bakteri İnfeksiyonları (ed. Ulusoy S,Leblebicioğlu H) 2005; p113-142.
- AKDUMAN D, Gazlı gangren (Klostridial miyonekroz), Önemli ve Sorunlu Anaerop Bakteri İnfeksiyonları (ed. Ulusoy S,Leblebicioğlu H) 2005; p143- 152.

- ÖZGÜNEŞ İ, Botulizm, Önemli ve Sorunlu Anaerop Bakteri İnfeksiyonları (ed. Ulusoy S, Leblebicioğlu H), 2005; p153-168.
- TAŞOVA Y, İNAL S, Pseudomembranöz enterokolit, Önemli ve Sorunlu Anaerop Bakteri İnfeksiyonları (ed. Ulusoy S, Leblebicioğlu H) 2005; p169-198.
- ZAHAR JR, FARHAT H, CHACHATY E, MESHAKA P, ANTOUN S, NİTENBERG G., İncidence and Clinical significance of anaerobic bacteremia in cancer patients: a 6-year retrospective study. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2005; p724-729.
- GÜRBÜZ P, AĞALAR C, USUBÜTÜN S, TÜRKYILMAZ R. SSK Ankara Eğitim hastanesi'ndeki İnvasküler kateter infeksiyonu etkenleri ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi, Klimik dergisi. Cilt 12, sayı 2. 1999, s:69-72.
- KIYAN M. Anaerop bakteriler. In: Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 611-22.
- GÜRLER N. Anaerop infeksiyonlar ve laboratuvar tanısı. In: Ulusoy S, Leblebicioğlu H (ed). Anaerop Bakteri İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp, 2005: 9-34.
- WİNN WC, KONEMAN EW, ALLEN SD, PROCOP GW, JANDA WM, SCHRECKENBERGER PC, ET AL. The Anaerobic Bacteria. Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 877-944.
- JOUSİMİES-SOMER HR, SUMMANEN P, CİTRON DM, BARON EJ, WEXLER HM, FİNEGOLD MS. Specimen collection and anaerobic culture techniques. Anaerobic Bacteriology Manuel. California: Star Publishing Company 2002: 23-42.
- DOĞAN, M. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerop bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Uzmanlık tezi, Konya, 2008.
- FİNEGOLD SM. Anaerobic bacteria: General concepts. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infection Diseases. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2156-73.
- KONEMAN EW, ALLEN SD, ET AL: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: Lipincott Raven Publishers, 1997: 709-781
- DURMAZ B. Anaerop bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu XXVII. Türk Mikrobiyolojisi Kongresi Antalya, 1996: 104-107

- TÖRECİ K. Anaerob bakteriyolojinin tarihçesi ve önemi. XXVIII. Türk Mikrobiyolojisi Kongresi Özet Kitabı. Antalya, 1996: 93-94
- MURRAY PR, CİTRON DM. General processing of specimens for anaerobic bacteria. In: Balows A, Hausler WJ Jr. et al: (eds). Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, 1991: 488-504.
- WİNN WC, KONEMAN EW, ALLEN SD, PROCOP GW, JANDA WM, SCHRECKENBERGER PC, ET AL. The Anaerobic Bacteria. Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 877-944.
- JOUSİMİES-SOMER HR, SUMMANEN P, CİTRON DM, BARON EJ, WEXLER HM, FİNEGOLD MS. Processing clinical specimens and isolation procedures. Anaerobic Bacteriology Manual. California: Star Publishing Company 2002: 43-54.
- BRAZİER JS, SMİTH SA. Evaluation of the Anoxomat; a new technique for anaerobic and microaerophilic clinical bacteriology. J Clin Pathol 1989; 42: 640-4.
- FİNEGOLD SM. Anaerobic bacteria: General concepts. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2156-2173
- DURMAZ B. Anaerob bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu XXVII. Türk Mikrobiyolojisi Kongresi Antalya, 1996: 104-107
- EDELSTEİN MAC. Practical laboratory diagnosis of anaerobic infections. In: Mehta A, Kocher N (eds). Proceedings of The First Asian Congress on Anaerobic Bacteria in Health and Disease. Bombay, India. November 12-14: 1987: 219-224
- Fundamentals of Anaerobic Bacteriology as Related to the Clinical Laboratory. An American Society for Microbiology Travelling Workshop. Washington: ASM Press, 1980: 3-50
- EDELSTEİN MAC. Anaerobic Gram-negative bacilli. In: Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC, (eds). Bailey, Scott's Diagnostic Microbiology. St Louis: CV Mosby, 1990. 529-548
- JOUSİMİES-SOMER HR, FİNEGOLD SM. Anaerobic Gram-negative bacilli and cocci. In: Balows A, Hausler WJ Jr, et al: (eds). Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, 1991: 538-553

- MANGELS JI. Anaerobic bacteriology. In: Isenberg HD (ed). Essential Procedures for Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, 1998: 129
- BİLGEHAN H. Klinik Mikrobiyoloji. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, 1995: 207-216
- AKAN E. Tıbbi Mikrobiyoloji. İzmir: Saray Tıp Kitabevleri, 193: 290-295
- MANGELS JI. Anaerobic bacteriology. In: Isenberg HD (ed). Essential Procedures for Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, 1998: 129-167
- MONCLA BJ, BRAHAM P, ET AL: Use of synthetic oligonucleotide DNA probes for the identification of *Bacteroides gingivalis*. J Clin Micr 1990; 28: 324-327
- GORBACH SL. Clostridium perfringens and other Clostridia. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). Infectious Disease. Philadelphia: WB Saunders, 1992: 1587- 1596
- BROOK I. Anaerobic Gram-positive nonsporulating bacilli. In Mandell GL, Benett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infection Diseases. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2206-2208
- EDELSTEİN MAC Anaerobic Gram-positiwe bacilli In: Baron EJ, Finegold SM (eds). Bailey, Scott's Diagnostic Microbiology. St Louis: CV Mosby, 1990: 508-528
- ALLEN SD, BARON EJ. Clostridium. In: Balows A. Hausler WJ, et al: (eds). Manuel of Clinical Microbiolgy. Washington DC: ASM Press, 1991: 505-521
- BİLGEHAN H. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları. İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, 1995: 313-362
- Fundamentals of Anaerobic Bacteriology as Related to the Clinical Laborotory. An American Society for Microbiology Travelling Workshop. Washington: ASM Press, 1980: 3-50
- HİLLIER S, MONCLA BJ. Anaerobic Gram-positive nonspore forming bacilli and cocci. In: Balows A, Hausler WJ, et al: (eds). Manuel of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, 1991: 522-537
- EDELSTEİN MAC. Anaerobic cocci In: Baron JE, Finegold SM. Bailey Scott's Diagnostic Microbiology. St Louis: CV Mosby, 1990: 549-557



- EDELSTEİN MAC. Anaerobic Gram-negative bacilli. In: Baron EJ, Finegold SM, (eds). Bailey, Scott's Diagnostic Microbiology. St Louis: CV Mosby, 1990. 529-548
- DURMAZ B. Anaerob bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Antalya, 1996: 104-107
- NORD CE, LİNDQVİST L, ET AL: Beta-lactamases in anaerobic bacteria. Scand J Infect Dis 1985. (Suppl): 46: 57-63
- GÜRLER N. Anaerob mikroorganizmalar. In: Gür D. Söyletir G, et al: (eds). Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayın No: 33 Turgut Yayıncılık, 1998: 65-71
- FİNEGOLD SM. Anaerobic Gram negative rods: Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium, Bilophila. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). Infectious Disease. Philadelphia: WB Saunders, 1992: 1570-1580
- FİNEGOLD SM. Treatment of anaerobic infection: an overview. Scand J Infect Dis 1985. (Suppl) 46: 89-95
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLİNICAL LABORATORY STANDARTS: Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 6th ED,2004 Document no. M11-A6.
- TUNÇKANAT F, Anaerob bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri, Ankem derg.13 (no.3), 1999; s325-331.
- GLOMAUD C.L., HOSSAYE S, L.MİLHAİHA, J.C.GHNASSİA, E-test antibiotics susceptibility of strict anaerobic bacteria, Antimicrobial susceptibility, Anaerobe 9; 2003; p 281-284
- ÜLGER TOPRAK N. Anaerob Bakteriyolojide Neredeyiz? Duyarlılık Çalışmaları. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı. 12-16 Eylül 2006, Antalya, s335-43.
- ÜLGER TOPRAK N. Anaerob Bakteriyolojide Neredeyiz? Duyarlılık Çalışmaları. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı. 12-16 Eylül 2006, Antalya, s335-43.
- HOLDEMAN LV, CATO EP, MOORE WEC. Anaerobe Laboratory Manual 4th ed. The Virginia Polytechnic Institute and State Universty, Anaerobe Laboratory, PO Box Blacksburg Virginia, 24060. 1977

- REİSCHELDERFER C, MANGELS JI. Culture media for anaerobes In: Isenberg HD (ed). Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington DC: ASM Press, 1992
- ROSENBLATT JE. Anaerobic bacteria. In: Washington JA (ed). Laboratory Procedures in Clinical Microbiology. Newyork: Springer-Verlag, 1981: 309-363
- BARON EJ, FİNEGOLD SM. Bailey Scott's Diagnostic Microbiology. Appendix A. Formulas and preparation of culture media and reagents. St Louis: CV Mosby, 1990
- CİTRON D.M., WARREN Y.A, HUDSPETH M.K, GOLDSTEİN E.J. Survival of aerobic and anaerobic bacteria in purulent clinical specimens maintained in the Copan Venturi Transystem and Becton Dickinson Port-a-Cul transport systems. J Clin Microbiol. 2000;38:892-4.
- HOLDEN J. Collection and Transport of Clinical Specimens. In: Isenberg HD, editor. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington DC: ASM Pres; 2004. p.4.2.1-4.2.7.
- ERCİS S, TUNÇKANAT F, HASÇELİK G, Anaerop infeksiyon şüpheli hastalardan izole edilen anaerop bakteriler. Mikrobiol Bült. 2005; 39:447-54.
- ŞENGÖZ G, YAŞAR K, BERZEG D, YILDIRIM F, ŞENGÖZ A, ELMİ Ş, VE ARK. Klinik örneklerden izole edilen anaerop bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2005; 35:107-13.
- BOZKURT H, GÜDÜCÜOĞLU H, BAYRAM Y, GÜLMEZ S, KUTULAY N, BOZKURT EN, ve ARK. Klinik örneklerden izole edilen anaerob bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. Van Tıp Dergisi 2004; 11:85-91.
- ÖZBAKKALOĞLU B. Sporsuz anaerop bakteri enfeksiyonları. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 15-19 Ekim 2001, Adana/Türkiye.
- ALDRİDGE KE. Anaeropes in polymicrobial surgical infections: Incidence, pathogenicity, and antimicrobial resistance. Eur J Surg 1994; 573: 31-7.
- SANDERS CV, ALDRİDGE KE. Current antimicrobial therapy of anaeropic infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1992; 11: 999-1011.
- HECHT DW. Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. In: Lorian V, editor. Antibiotics in Laboratory Medicine. 5th ed. Philadelphia PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005, p:144-54.

- CÍTRON DM, OSTOVARI MI, ET AL: Evaluation of the E-test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2197-2203
- APPELBAUM PC, SPANGLER SK, ET AL: Comparison of the E-test and conventional agar dilution methods for susceptibility testing of Gram-negative anaerobic rods. *Diag Microbiol Infect Dis* 1994; 18: 25-30
- HEDBERG M, NORD CE, on behalf of The ESCMID study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria. Antimicrobial susceptibility of *B.fragilis* group isolates in Europe. *Clin. Microbiol infect* 2003; 9 :475-488.
- BEHRA-MIÉLLET J, CALVET L, MORY F, MULLER C, CHOMARAT M, B'EZIAN MC, ET AL. Antibiotic resistance among anaerobic Gram-negative bacilli: lessons from a French multicentric survey. *Anaerobe* 2003; 9: 105–11.
- BEHRA-MIÉLLET J, DUBREUÏL L, CALVET L. Evaluation of the in vitro activity of ertapenem and nine other comparator agents against 337 anaerobic bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2006;28: 25–35.
- KATSANDRÍ A, AVLAMÍS A, PANTAZATOU A, PETRIKKOS GL, LEGAKÍS NJ, PAPAPARASKEVAS J, ET AL. In vitro activities of tigecycline against recently isolated Gram-negative anaerobic bacteria in Greece, including metronidazole-resistant strains. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2006; 55: 231–6.
- ULGER (TOPRAK) N, CELİK C, ÇAKICI O, SOYLETİR G. Antimicrobial susceptibilities of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides thetaiotaomicron* strains isolated from clinical specimens and human intestinal microbiota. *Anaerobe* 2004;10: 255–9.
- LORENZO, M., GARCÍA, N., AYALA, J., A., VADILLO, S., PIRIZ, S. QUESADA, A. Antimicrobial resistance determinants among anaerobic bacteria isolated from footrot. *VETMIC-5549*; (2011) p. 1-7
- WYBO I, PIERARD D, VERSCHRAEGEN I, REYNDERS M, VANDOORSLAER K, CLAEYS G, DELMEE M, GLUPCZYNSKI Y, GORDTS B, IEVEN M, MELIN P, STRUELENS M, VERHAEGEN J, LAUWERS S. THIRÐ Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59: 132-9.
- SYNDMAN DR, JACOBUS NV., MCDERMOTT LA, RUTHAZER R, GOLAN Y, GOLDSTEIN EJC, FINEGOLD SM, HARRELL LJ, HECHT DW, JENKINS SG, PIERSON C, VENEZIA

R, YU V, RİHS J, GORBACH SL. National Survey on the Susceptibility of B.fragilis Group: Report and Analysis of trends in the United States from 1997 to 2004. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51: 1649-55.

HECHT DW. Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. In: Lorian V, editor. Antibiotics in Laboratory Medicine. 5th ed. Philadelphia PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005, p:144-54.

LETOURNEL-GLOMAUD, C., HAUSSAYE, S., MİLHAİHA L., GHNASSİA, J.,C. E-test antibiotics susceptibility of strict anaerobic bacteria. Anaerobe 9 (2003) 281- 284

KEŞLİ R., ÇELEBİ S. Çeşitli Klinik Örneklerden izole Edilerek Tanımlanan Anaerob Bakteriler ve E-Test Yöntemi ile Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg (2010) 40 (2): 87 – 96.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı soyadı : Cengiz DEMİR

Doğum tarihi : 1 Mart 1986

Doğum yeri : Doğubeyazıt/AĞRI

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dil : İngilizce

Telefon : 0553 283 18 04

e-mail : cedemir\_13@hotmail.com

### ÖĞRENİM

Yüksek Lisans: 2012 - 2015 Afyon Kocatepe Üniversitesi-Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Tıp Fakültesi - Tıbbi Mikrobiyoloji AD.

Lisans : 2006 - 2011 Dumlupınar Üniversitesi – Fen Edebiyat Fakültesi

Biyoloji Bölümü

Lise : 2002 - 2005 Atakent Lisesi

### İŞ

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji A.D - Araştırma Görevlisi

İşe başlama tarihi: Aralık – 2012