

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN SOYUTLANAN ANAEROP
BAKTERİLERİN TANIMLANMASI VE E-TEST YÖNTEMİ İLE
ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

Dr.Arzu ARGUN TÜRKKAN

**Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2008**

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN SOYUTLANAN ANAEROP
BAKTERİLERİN TANIMLANMASI VE E-TEST YÖNTEMİ İLE
ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

Dr.Arzu ARGUN TÜRKKAN

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Yrd.Doç.Dr.Abdurrahman KİREMİTÇİ

ESKİŞEHİR
2008

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Arzu ARGUN TÜRKKAN'a ait ‘‘Klinik Örneklerden Soyutlanan Anaerop Bakterilerin Tanımlanması ve E-Test Yöntemi İle Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi’’ adlı çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Uzmanlık tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: 20 / 03 / 2008

Jüri Başkanı	Prof.Dr. Nuri KİRAZ	İmza
	Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
Üye	Prof.Dr. Filiz AKŞİT	İmza
	Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	
Üye	Yrd. Doç. Dr. Abdurrahman Kiremitçi	İmza
	Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nunTarih veSayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Zübeyir Kılıç

Dekan

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince büyük emekleri olan; Anabilim dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Nuri KİRAZ'a, Anabilim dalımız öğretim üyesi ve tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Abdurrahman KİREMİTÇİ'ye, Anabilim dalı öğretim üyelerimiz Sayın Prof. Dr. Filiz AKŞİT'e, Prof. Dr. Yurdanur AKGÜN'e, Prof. Dr. Gül DURMAZ'a, Prof. Dr. Tercan US'a, Yrd.Doç.Dr. Nihal DOĞAN'a, Yrd.Doç.Dr. Nilgün KAŞİFOĞLU'na, Araş.Gör.Dr.Aşkın Derya AYBEY'e, Araş.Gör.Dr.Esin ÇETİN'e, Araş.Gör.Dr.Özlem SANCI'ye, Araş.Gör.Dr.Münire PINARBAŞLI'ya, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarının tüm çalışanlarına en içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Argun Tükkan, A. Klinik örneklerden soyutlanan anaerop bakterilerin tanımlanması ve E-test yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2008. Ocak 2007-Mart 2008 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında soyutlanan anaerop bakterileri türleri ve antibiyotik duyarlılıkları analiz edilmiştir. Toplam 241 klinik örnekten 54 adet anaerop izolat soyutlandı. Klinik örneklerin çoğunu kan (%39.4) ve apse örnekleri (%28.6) oluşturmaktaydı. Örneklerin 31'inde (%12.9) anaeroplardan, 74'ünde (%30.7) yalnız aeroplardan, 17'sinde (%7) anaerop ve aeroplardan karışık olarak soyutlandı. Başlıca aerop ve fakültatif anaerop izolatlar *Enterobacteriaceae* (%39.1) ve stafilokok türleri (%25.7) idi. En yüksek oranda anaerop üremesi Fournier gangreni (4/4), apse (14/69, %20.2) ve yara yeri (4/22, %18.1) örnekleri arasında gözlemlendi. Anaeroplardan en çok *Bacteroides fragilis* grup (%25.9), *Porphyromonas* spp. (%18.5) ve *Peptostreptococcus* spp. (%18.5) izole edildi. *B. fragilis* grup izolatların %78.5'inde (11/14) β -laktamaz üretimi saptandı. Tikarsilin/klavulonat, sefoksitin, imipenem, klindamisin, metronidazol, linezolid ve tigesiklinin minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) E test ile belirlendi. Tikarsilin/klavulonat ve linezolid tüm anaerop izolatlara karşı etkin bulundu. Klindamisin daha düşük etkinliğe sahip olup izolatların (18/51) %35.2'si dirençli idi. Klindamisine direnç en fazla *B. fragilis* grup izolatlar arasında saptandı (%57.1). Sefoksitine direnç düşük oranda bulundu (%7.8). İmipenem ve tigesiklin tüm anaeroplara karşı etkin olup sadece bir *B. fragilis* izolatı imipeneme ve bir *fragilis* dışı *Bacteroides* izolatı ise tigesikline direnç göstermekteydi. Anaerop izolatların (12/51) %23.5'i metronidazole dirençli idi. Metronidazol direnci *B. fragilis* grup izolatların 2/14'ünde, *Peptostreptococcus* izolatlarının ise 5/10'unda tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Anaerop bakteri, *Bacteroides*, direnç

ABSTRACT

Argun Tükkan, A. Identification anaerobic bacteria isolated from clinical samples and determination of antibiotic susceptibilities by E-test methods. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Specialty Thesis in Department of Microbiology, Eskişehir, 2008. The species and antimicrobial susceptibility of anaerobe bacteria isolated at the Clinical Microbiology Laboratory of Eskişehir Osmangazi University Hospital between January 2007 and March 2008 were analysed. A total of 54 anaerobic isolates were recovered from the 241 clinical specimens. Most common clinical specimens were blood (39.4%) and abscess (28.6%). Anaerobes were recovered in 31 specimens (12.9%), aerobes only were isolated in 74 (30.7%) and mixed aerobes and anaerobes were recovered in 17 (7%). The predominant aerobic and facultative isolates were *Enterobacteriaceae* (39.1%) and *Staphylococcus* species (25.7%). The highest rate of anaerobic growth observed among Fournier's gangrenes (4/4), abscesses (14/69, 20.2%) and wounds (4/22, 18.1%). The most commonly identified anaerobe was *Bacteroides fragilis* group (25.9%), followed by *Porphyromonas* spp. (18.5%) and *Peptostreptococcus* spp. (18.5%). β -lactamase production was detected in (11/14) 78.5 % of the *B. fragilis* group isolates. Minimal inhibitory concentrations (MICs) of ticarcillin/clavulonate, cefoxitin, imipenem, clindamycin, metronidazole, linezolid and tigecycline were determined by Etest. Ticarcillin/clavulonate and linezolid were active against all of the anaerobic isolates. Clindamycin was less active, (18/51) 35.2 % of isolates were resistant. Resistance to clindamycin was most frequent among *B. fragilis* group isolates (57.1%). The rate of resistance to cefoxitin was low (7.8%). Imipenem and tigecycline showed good activity against all isolates, with only one *B. fragilis* and one non-*fragilis Bacteroides* strain, respectively, showing resistance. Regarding metronidazole, in total (12/51) 23.5% were resistant. Resistance to metronidazole was detected for 2/14 strains of the *B. fragilis* group and 5/10 strains of *Peptostreptococcus*.

Keywords: Anaerobic bacteria, *Bacteroides*, resistant

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar.....	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Anaerop Bakteriler Üç Major Gruba Ayrılır	2
2.2. Anaerop Kültür İşlemi.....	3
2.2.1 Anaerop Kültür İçin Öneklerin Toplanması Ve Taşınması.....	3
2.2.2 Örneklerin İşlenme Prosedürü.....	4
2.2. Kültür Yöntemi.....	5
2.2.4 Kültürlerin Değerlendirilmesi.....	7
2.3 Anaerop Bakteriler.....	11
2.3.1 Gram Negatif Anaerop Bakteriler.....	11
2.3.2 Gram Pozitif Anaerop Bakteriler.....	19
2.4 Anaerop İnfeksiyonlar.....	22
2.4.1. Baş-Boyun İnfeksiyonları	22
2.4.2. Batın İçi İnfeksiyonlar.....	23
2.4.3. Santral Sinir Sistemi (SSS) İnfeksiyonları.....	24
2.4.4. Akciğer İnfeksiyonları.....	25
2.4.5. Pelvik İnfeksiyonlar	26
2.4.6. Kemik Ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları.....	26
2.4.7. Klostridial İnfeksiyonlar.....	28
2.4.8. Anaerop Bakteremi ve Kateter İnfeksiyonları.....	29
2.5 Antibiyotik Duyarlılık Testleri	30
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	32
3.1. Anaerop Kültür İşlemi.....	32

3.1.1 Anaerop Kùltür İçin Öneklerin Toplanması Ve Taşınması.....	32
3.1.2 Örneklere İşlenme Prosedürü.....	34
3.1.3. Örneklere Kùltür Ekimi.....	35
3.1.4 Kùltürlerin Değerlendirilmesi.....	37
3.2 Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	39
3.3. Suşların Saklanması.....	40
4. BULGULAR.....	41
5. TARTIŞMA.....	52
6. SONUÇLAR.....	62
7. KAYNAKLAR.....	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

AnBAP	Anaerop kanlı agar
BBE	Bakteroides safralı eskülin agar
BFG	<i>Bacteroides fragilis</i> grup
CCFA	Sikloserin-sefoksitin –fruktoz agar
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CNA	Kolistin-nalidiksik asit’li agar
DMCA	p-dimetylaminocinnemaldehide
EMB	Eozin-metilen-blue
ETBF	Enterotoksijenik <i>B.fragilis</i>
EYA	Yumurta sarılı agar
FDA	Food and Drug Administration
KVLB	Kanamisin-vankomisinli kanlı agar
MLS	Makrolid-linkozamid-streptogramin
PBP	Penisilin bağlayıcı proteinler
PEA	Fenil etil alkol agar
PMEC	Psödomembranöz enterokolit
PVBA	Paromamisin-vankomisinli kanlı agar
SPS	Sodium polyanethol sulfonate
SSS	Santral sinir sistemi
THIO	Tiyoglikolatlı buyyon

ŞEKİLLER

Sayfa^x

- Şekil. 4.1: *Porphyromonas* sp.; vankomisin duyarlı, kanamisin ve kolistine dirençli, gram negatif basil 47
- Şekil. 4.2: *P.anaerobius*; vankomisin duyarlı, 12mm'den büyük zon çapı olan SPS 48
- Şekil. 4.3: *C.perfringens*'in E-test yöntemi ile yapılan duyarlılık testi 48

TABLULAR

Sayfa

Tablo 2.1: Klinik önemi olan anaerop bakterilerin boyanma özellikleri	5
Tablo 2. 2: Antibiyotik içeren disklerle anaerop bakterilerin ön tanısı	9
Tablo.3.1.a: Anaerop kültür için uygun ve uygun olmayan örnekler	33
Tablo.3.1.b: Anaerop kültür için örnek alma yöntemleri ve transport sistemleri	33
Tablo.3.1.c: Anaerop enfeksiyon özellikleri, örnek alımı ve transport yöntemleri	34
Tablo 4.1: Anaerop örneklerin transport yöntemleri ve üreme oranları	41
Tablo.4.2: Anaerop kültürü yapılan örnek türleri ve üreme oranları	42
Tablo 4.3: Apse örneklerinde aerop üreyen mikroorganizmaların dağılımı	43
Tablo 4.4: Steril vücut sıvı örneklerinde aerop üreyen mikroorganizmaların dağılımı	44
Tablo 4.5: Apse ve steril vücut sıvısı örnekleri dışındaki örneklerde üreyen aerop mikroorganizmaların dağılımı	44
Tablo 4.6: Anaerop üreme olan 31 örneğe ait transport ve üreme bilgileri	46
Tablo 4.7 : Anaerop klinik izolatların antibiyotik duyarlılık sonuçları	50

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Anaerop bakteriler gastrointestinal normal bakteriyel florasının predominant komponentidir. Dışkıının bir gramı 10^{12} bakteri içerir. Bu bakterilerin çoğunu oluşturan anaeroplara özellikle kolon florasında bol miktarda bulunurlar. Diğer taraftan anaerop bakteriler, intraabdominal, obstetrik-jinekolojik, diyabetik ayak, deri ve yumuşak doku infeksiyonları gibi infeksiyonlardan sıklıkla izole edilir (1-4). Aerop bakterilere benzer şekilde, birçok patojen anaerop bakteri arasında da son 20–30 yılda önemli boyutlara ulaşan direnç sorunuyla karşılaşmaktadır (5). Anaerop bakterilerden özellikle *Bacteroides* türlerinde görülen direnç dikkat çekicidir (6).

B.fragilis grubu bakterilerde artan direncin coğrafik bölgelere göre farklılık gösterdiği bildirilmiş, bu nedenle farklı bölgelerdeki kökenlerin direnç paternini belirlemek amacı ile periyodik çalışmaların gerektiği bilinmektedir (7).

Çalışmamızda Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesindeki anaerop infeksiyon etkenlerinin tür ve direnç profillerini saptayarak, ilaç seçimine ve etkin tedaviye yol göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

Anaerop bakterilerin izolasyonu ile ilgili çalışmalar 1861 yılında Pastör tarafından başlatılmış ve o yıllardan başlayarak çeşitli araştırmacılar bazı *Clostridium* cinsi bakterileri izole etmişlerdir. Anaerop bakterilerle ilgili daha kapsamlı çalışmalar 20.yy'ın ilk çeyreğinde başlamıştır. Üzerinde en çok çalışılan bakteriler *Clostridium* cinsi olmuştur ve anaerop infeksiyonlarda ilk akla gelen bakteri olmuştur. Bu yıllarda anaerop kavanozlar geliştirilmiş ve anaerop bakterilerin izolasyonu kolaylaşmıştır. Son yıllarda ise moleküler tanı tekniklerinin kullanımı anaerop bakterilerin tanısını kolaylaştırmıştır (8).

Anaerop bakteriler üreyebilmek için ortamdaki serbest oksijenin uzaklaşmasına gereksinim duyan, normal atmosfer'de veya %5-10 karbondioksitli ortamda katı besiyerinde üreyemeyen bakterilerdir. Anaerop bakteriler arasında oksijene duyarlılıkları değişkenlik gösteren bakteriler yer almaktadır. Ortamdaki oksijen ve süperoksit radikallerin konsantrasyonu, peroksitler ve oksido-redüksiyon potansiyeli oksijene duyarlılıkta önemlidir (9).

2.1 Anaerop Bakteriler Üç Major Gruba Ayrılır :

Zorunlu anaeroplara; normal flora'nın bir parçasıdır.

Zorunlu anaeroplara oksijen varlığında üreyebilme ve oksijen toleransına göre iki alt gruba ayrılır.

Kesin zorunlu anaeroplara : %0.5'in üzerinde oksijene maruziyette agar yüzeyinde üreyemez. Atmosferik oksijen bu mikroorganizmalar için oldukça toksiktir.

Orta derecede zorunlu anaeroplara: %2-8 (ort.%3) oksijen maruziyetinde üreyebilen bakterilerdir

Aerotoleran anaeroplara: Normal atmosfer veya %5-10 CO₂'li ortamda zayıf üreme gösteren ancak anaerop ortamlarda iyi üreyebilen bakterilerdir. Klinik laboratuvarlarda uygun olarak seçilen anaeroplara'nın çoğu orta derecede zorunlu anaerop grubuna girer. Bu mikroorganizmalar oksijenin toksik etkilerine karşı kesin anaeroplara'dan daha tolerandır. Fakat bu mikroorganizmalar örnek toplama, laboratuvara transport, örneğin işlenmesi, izolasyon ve identifikasyon için gereken adımlar sırasında uygun anaerop ortam sağlanmazsa ölürlere.

Fakültatif anaeroplara: Son elektron alıcısı olarak O₂ kullanır veya daha az olarak anaerop durumlarda fermentasyon reaksiyonları ile enerjilerini sağlayabilirler (10, 11).

2.2. Anaerop Kültür İşlemi

Anaerop bakteri infeksiyonlarının laboratuvar tanısında uygulanan işlemler aerop bakterilerdekine benzer. Anaeroplara izolasyonunda örnek seçimi, toplanması, taşınması, besiyeri seçimi ve inkübasyonda uygunluk önemlidir (10,12).

Herhangi bir adımın hatalı yapılması, yanlış sonuçlara ve klinisyenin yanlış bilgilendirilmesine yol açar (10).

2.2.1 Anaerop Kültür İçin Öneklerin Toplanması Ve Transportu

Anaerop bakteriler normal floramızın bir üyesi olduğundan, klinik örneğin flora ile kontamine edilmeden alınması çok önemlidir. Bu örneklerden izole edilen anaerop bakterilerin etken olup olmadığını ayırt etmek de önemlidir (12, 13).

a.Örnek Toplama

Anaerop kültür için en uygun örnekler doku biyopsi veya aspirasyon örnekleridir. Genel olarak sürüntü örnekleri az miktarda örnek içerdiğinden ve sıklıkla flora ile kontaminasyon olduğundan önerilmemektedir. Mutlaka sürüntü örneği alınacaksa anaerop transport sistemleri kullanılmalı ve kontaminasyonun engellenmesi için özen gösterilmelidir (12, 13).

b.Transport

Transport zamanı örneğin hacmine ve cinsine bağlıdır. Büyük hacimli , pürülan örneklerdeki anaeroplara canlılığını saatlerce koruyabilir. Küçük hacimli aspirasyon materyalleri, biyopsi örnekleri, kazıntı ve sürüntüler anaerop transport sistemleri ile taşınmalıdır. Aşırı sıcak ve soğuğa maruz kalmaması, işlemde gecikme olacaksa oda sıcaklığında bekletilmesi gerekir. Yaralanma riski ve dışarıya sızma tehlikesi nedeniyle transport materyali olarak enjektör kullanılmamalıdır (12). Aerop ve anaerop mikroorganizmaların transport sırasında canlılığını korumak için Port-a-Cul vial ve jarları (BBL, BD Biosciences) kullanılabilir. Bu sistem, 20°C -25°C 'de örneği korur. Yarı katı besiyeri, indirgen madde ve resazurin indikatörü içeren

taşıma ortamları kullanıldığında anaeroplara 72 saate kadar canlılığını sürdürebildiği bildirilmektedir (7).

2.2.2 Örneklerin İşlenme Prosedürü

a.Makroskopik İnceleme:

Kan, pü, nekrotik doku, pis koku, sülfür granüllerinin varlığı değerlendirilerek örneğin kalitesi hakkında bilgi elde edilebilir (12).

b.Örneğin Hazırlanması :

Pürülan örnekler mikroorganizmaların homojen olarak dağılması için vortekslenir. Doku veya parçalar 1ml sıvı besiyeri (Tiyoglikolat, kıymalı buyyon vb.) içerisinde homojenize edilir. Pürülan olmayan büyük hacimli örnekler santrifuj edilerek yoğunlaştırılmalıdır (12).

c. Gram Boyama:

Gram boyama anaerop bakteriyoloji için önemli ve hızlı bir yöntemdir. Mikroorganizmanın ön identifikasyonuna ve besiyeri seçimine yardımcı olur (tablo 2.1). Gram boyama, mikroorganizmaların nisbi sayısı, morfolojileri ve hücre varlığını göstererek aynı zamanda anaerop tekniğin yeterliliği için bir kalite kontrol olarak da kullanılır. Kesin anaeroplara lökositleri hasarlayan nekrotizan toksin (lökosidin) üretir. Lökositin yokluğu ciddi anaerop enfeksiyonun varlığından uzaklaştırılmaz (11-13).

Pozitif bir Gram boyama ve negatif bir kültür sonucuna ulaşılabilir. Bu durum yanlış transport yöntemleri, örneğin işlenmesinde hava ile temas, anaerop atmosferi sağlayan sistemin ve besiyeri seçiminin yetersizliği, besiyerinin taze olmaması ya da antibiyotik kullanımına bağlı olabilir (13).

Yaymalar ısı ile veya saf metanol ile 1 dakika süreyle fikse edilerek hazırlanır. Bakteri ve lökosit morfolojilerinin korunması için metanol ile fiksasyon ısı ile fiksasyondan daha iyidir. Boyama standart Gram boyama prosedürü ile yapılır. Alternatif olarak bazı gram negatif anaeroplara boyamak için safranin yerine bazik fuksin kullanılır (11-13).

Tablo 2.1. Klinik önemi olan anaerop bakterilerin boyanma özellikleri (8)

Gram Boyama yöntemi			
		pozitif	negatif
Kok		<i>Peptococcus</i> spp. <i>Peptostreptococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp.	<i>Veilonella</i> spp
Basil	Sporlu	<i>Clostridium</i> spp.	yok
	Sporsuz	<i>Actinomyces</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Eubacterium</i> spp. <i>Propionibacterium</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Mobilincus</i> spp.	<i>Bacteroides</i> spp. <i>Fusobacterium</i> spp. <i>Porphyromonas</i> spp. <i>Prevotella</i> spp. <i>Bilophila wadsworthia</i>

2.2.3 Kültür Yöntemi

a. Besiyeri Seçimi

Çoğu anaerop infeksiyonlar polimikrobiyaldir. Örnekler, aerop ve fakültatif anaerop bakterileri de içerir. Bu nedenle anaerop inkübasyon için bir seçici olmayan (anaerop blood agar) ve seçici olan besiyerleri (*Bacteroides* safralı eskülinli agar, kanamisin-vankomisinli agar, fenil etil alkol agar) kullanılır. Seçici olmayan besiyerleri ile birlikte seçici besiyerlerinin kullanılması izolasyonun başarısını artırır.

Anaerop kanlı agar (AnBAP); bütün anaeroplara izolasyonu için kullanılır. Kanamisin-vankomisinli agar (KVLB) *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., ve *Veilonella* spp. izolasyonu için kullanılan selektif besiyeridir. Anaerop Paromamisin-vankomisinli kanlı agar, KVLB agar 'a alternatif olarak kullanılır (13).

Fenil etil alkol besiyeri (PEA); gram pozitif ve gram negatif zorunlu anaerop bakterileri üretmek için kullanılır. Kolistin-nalidiksik asitli agar (CNA), PEA besiyerine alternatiftir. Sikloserin-sefoksitin –fruktoz agar (CCFA): *C.difficile* 'nin izolasyonu için kullanılır(13).

Bacteroides safralı eskülinli agar (BBE); özellikle diafragma altı vücut bölgelerinden alınmış klinik örneklerden *Bacteroides fragilis* grup üyelerinin

izolasyonu için içerisinde %20 oranında safra (oxgall) bulunan seçici besiyeridir. BBE besiyerinde safraya dirençli *Bacteroides fragilis* grup üyeleri hariç, diğer anaeroplara inhibe olur. Ayrıca gentamisin içerdiğinden birçok aerob bakteriyi de inhibe eder (13). BBE besiyeri *B.fragilis* grup ve *Bilophila wadsworthia* için selektif besiyeri olarak önerilir (10). Aerob inkübasyon için %5 koyun kanlı agar, MacConkey veya EMB agar ve çikolatamsı agar kullanılır (13).

Sıvı besiyerleri de dokuda ve diğer steril örneklerde bulunabilen az miktardaki anaerob mikroorganizmaları çoğaltmak için kullanılır. Tiyoglikolatlı buyyon (THIO), thiol buyyon veya Schadler's buyyon gibi çeşitli besiyerlerini içeren, kan kültür ortamları da kullanılabilir. Bazı anaeroplara aerob kan kültür şişesinde üreyebilir. Anaerob besiyerlerinin çoğu aeroplara üremesini de sağlar (13). Zenginleştirilmiş THIO besiyeri yavaş üreyen *Actinomyces* türleri için uygundur (10).

Kıymalı glikozlu buyyon *Clostridium* türlerinin izolasyonu için iyi bir alternatif olarak THIO besiyeri yerine kullanılabilir. CNA besiyeri, PEA besiyeri yerine kullanılabilir. Gram negatif, sporsuz anaeroplara selektivitesi için PVBA veya KVLB besiyerleri kullanılabilir.

b. İnokülasyon Prosedürü

Hazırlanmış örnekler uygun aerob, anaerob katı/sıvı besiyerlerine ekilir ve Gram boyama için yayma hazırlanır. Katı besiyerlerine pürülan örnekten 1 damla, pürülan olmayan örnekten 2-3 damla, sıvı besiyerlerine 0.5-1.0 ml ekilir (12).

c. İnkübasyon

Klinik örneklerden anaerob bakterilerin primer izolasyonu için en uygun ısı 35°C -37°C'dir. Besiyerleri en az 48 saat inkübe edilmelidir. Besiyerleri 48 saatten önce oksijene temas ettirilmemelidir. Anaeroplara üremenin logaritmik fazında oksijene daha çok duyarlıdır. Bu nedenle koloni morfolojisi 24-48 saat arası dramatik olarak sıklıkla değişir. 48 Saatte üreme göstermeyen plaklar en az 5 gün inkübe edilmelidir (10,13).

Klinik laboratuvarlar için anaerob inkübasyon sistemlerinin en yaygın ve en pratik olanları anaerob kabin, anaerob kavanoz ve anaerob plastik poşetlerdir. Bu sistemlerin seçiminde maliyet, kültür sayısı gibi faktörler önemlidir (11,12).

Anaerop Kabinler:

Genellikle %80-90 azot, %5 hidrojen, %5-10 CO₂ atmosfer karışımı sağlarlar. İdeal anaerop inkübasyon sistemleridir. Oksijensiz ortam sağlarlar. Besiyeri hazırlama, kültür, inokülasyon, inkübasyon, identifikasyon ve antimikrobik duyarlılık çalışmalarının yapılabilmesine uygundur. Az sayıda kültürün yapıldığı laboratuvarlarda alternatif sistemler tercih edilmelidir (11).

Anaerop Kavanoz Sistemi:

Anaerop kavanoz sistemlerinde de %80-90 azot, %5 hidrojen, %5-10 CO₂ gaz karışımı kullanılır (GaspPak Jar(BD ABD), AnaeroJar (Oxoid, İngiltere)).

Su ile aktive olan veya susuz anaerop atmosfer sistemleri mevcuttur. Su ile aktive olan sistemin çalışması için ortamda paladyum katalizör varlığı gereklidir. Kuru sistem katalizör gerektirmez (11).

Anaerop Plastik Poşet :

Üremenin olup olmadığı, plaklar oksijensiz ortamda poşetten çıkarılmadan gözlenebilir. Anaerop poşetler ayrıca transport aracı olarak da kullanılabilir. CO₂ oranı genel olarak %10'dan daha fazladır. Resazurin veya metilen mavisi indikatör strip anaerop ortamın varlığının izlenmesinde kullanılır (12).

Yedekleme (Back-up) Buyyonları:

Tiyoglikolatlı buyyon kapağı gevşek olarak anaerop olarak veya kapağı sıkı olarak aerop olarak inkübe edilebilir. Buyyon'lar 7 gün boyunca bulanıklık varlığı yönünden günlük olarak gözlenmelidir (13).

2.2.4 Kültürlerin Değerlendirilmesi

a. Aerotolerans Testi

Anaerop besiyerinde üreyen şüpheli tüm koloniler çikolatamsı agara pasajlanarak CO₂'li etüvde ve anaerop kanlı besiyerine pasajlanarak anaerop şartlarda inkübe edilerek karşılaştırılırlar (11,13).

b. Anaeroplara Tanımlanması

b.1. İzolatların Pasajı

Her bir farklı morfoloji Gram boyası kullanılarak mikroskopik olarak incelenmeli ve aerotolerans testi için pasajı yapılmalıdır (11,13). Fakültatif anaeroplara ve zorunlu anaeroplara (non-selektif anaeroplara kanlı agardaki koloni morfolojileri) ile sıklıkla benzerlik gösterdiğinden anaeroplara kanlı agarı saf pasajları yapılmalı ve tanımlanmalıdır.

PEA besiyerinde eğer AnBAP besiyerinden farklı üreme varsa veya AnBAP by.'de yayılan *Clostridium* spp, *Proteus* spp ve diğer mikroorganizmalar nedeniyle pasajı mümkün olmayan mikroorganizmalar varsa saf pasajları yapılarak değerlendirilmelidir (13).

b.2. İdentifikasyon Testleri

Çoğu klinik mikrobiyoloji laboratuvarları anaeroplara her zaman tam olarak tanımlayamaz. Buna karşın ön identifikasyon bile klinisyene uygun tedavi için karar vermede çoğu zaman yararlıdır (13).

İdentifikasyon Yöntemleri (12)

1. Çeşitli biyokimyasal testler (Katalaz, indol, safra testi,...)
2. Glukoz fermantasyonunun metabolik son ürünlerini analiz etmek için Gaz-likid-kromatografisi
3. Uzun zincir yağ asidi metil ester (FAME) için Gas kromatografisi
4. Biyokimyasal Sistemler
 - API 20A (bioMérieux, inc.)
 - Minitek (BD Biosciences)
5. Hızlı Enzimatik Sistemler
 - Anaerobe ANI Card ve Rapid ID 32A (bioMérieux, inc.), Rapid AnaerobeID (DadeMicroScan, inc.), RapID-ANA(Remel, inc.), Crystal Anaerobe ID kit (BD Biosciences)
6. Hızlı Biyokimyasal Testler
 - Alkalen fosfataz testi
 - Glutamik asit dekarboksilaz testi

- L-Alanil-alanilaminopeptidaz
- L-Prolin aminopeptidaz
- 4-Metilumbeliferon derive substratları

7. Moleküler testler

PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu)

c. Ön İdentifikasyon

İzolatan gerçek bir anaerop mikroorganizma olup olmadığını tanımlamak için uygulanan aerotolerans testi, gram boyama ve tanımlama diskleri ile ön identifikasyon gerçekleştirilir. Bu işlemler nispeten hızlı ve ucuzdur (11).

c.1. Özel Potensli Antimikrobiyal Diskler

Tanımlama diskleri olarak en çok kanamisin (1mg), kolistin (10µg), vankomisin (5µg) kullanılır (tablo 2.2). Bazı anaeroplardan identifikasyonunda Gram boyama kadar önemlidir (12). Daha çok gram negatif basil olarak değerlendirilen anaeroplardan için kullanılır. Bu diskler Gram boyamayı destekleme ve ön gruplandırmaya yardımcı olur. Mikroorganizmanın antimikrobiyal duyarlılığını göstermez. Gram pozitif mikroorganizmalar kolistine dirençli, vankomisine duyarlı, gram negatif bakterilerin çoğu vankomisine dirençlidir (11,12).

Tablo 2. 2 Antibiyotik içeren disklerle anaerop bakterilerin ön tanısı (8)

Mikroorganizma	Kanamisin 1000 µg	Vankomisin 5 µg	Kolistin 1µg
Gram-pozitif bakteriler	V	S*	R
<i>Bacteroides fragilis</i> grubu	R	R	R
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	S	R	S
<i>Fusobacterium</i> spp.	S	R	R
<i>Porphyromonas</i> spp.	R	S**	R
<i>Prevotella</i> spp.	R	R	V
Gram negatif koklar	S	R	S

* Bazı *Clostridium* cinsleri ve *Lactobacillus* cinsleri dirençli olabilir.

** *Porphyromonas* cinsi vankomisine duyarlı, fakat kolonileri UV ışığında floresans verir ve pigmentlidir. S: Duyarlı, R: Dirençli, V:değişken

c.2. SPS (Sodyum Polianetol Sulfonat) Diski (1mg)

Gram pozitif anaerop kok izole edildiğinde SPS'ye duyarlı ise *Peptostreptococcus anaerobius* olarak tanımlanır. SPS dirençli gram pozitif kok, spot indol pozitif ise *P. asaccarolyticus* olarak tanımlanabilir. *P.niger* başlangıçta siyah yeşil iken oksijene maruz kaldığında açık gri renk olur. Klinik örneklerden nadir olarak izole edilir (11,12).

c.3. Floresans

Pigmentli *Porphyromonas* spp. ve *Prevotella* spp.'nin bir çoğu uzun dalga boylu UV (Wood lambası) ışığında (366nm) kiremit kırmızısı floresans verir. *F.nucleatum* ve *C.difficile* açık yeşil floresans verir. *Veilonella* türleri 5-10 dakika hava ile temas ettikten sonra tamamiyle kaybolan, *Porphyromonas* ve *Prevotella* türlerinden daha zayıf kırmızı floresans verir. Gram boya ile kolayca bu türlerden ayırt edilebilir. Koloniler 5 günden sonra floresans özelliğini kaybeder. *Porphyromonas gingivalis* floresans vermeyebilir ancak pigmentasyon yapar (11,12).

c.4. Nitrat Redüksiyon Testi

Nitrat redüktaz enzim varlığı araştırılır. İdentifikasyon için tür ayırımını sağlamada yardımcı bir biyokimyasal testtir (11,12).

c.5. Safra Testi

Gram boyama sonucu gram negatif basil olarak değerlendirildiğinde AnBAP besiyerine safra diski uygulanır. BBE agar veya %20 safra içeren buyyonda üreme de safra direncini gösterir. *B.fragilis* grup üyeleri safraya dirençlidir (11).

c.6. Katalaz Testi

Anaeroplara için %15'lik hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanılır (11).

c.7. Spot- İndol Testi

Triptofan içeren kanlı veya yumurta sarılı besiyerinde üreyen koloniler filtre kağıdına alınıp, p-dimetylaminocinnemaldehyde (DMCA) damlatılarak indol oluşumu renk değişimi ile değerlendirilir (11).

c.8. Motilite

4-6 Saatlik buyyon kültürü veya 24-48 saatlik koloni kullanılarak motilite tanımlanabilir (11).

c.9. Lesitinaz Ve Lipaz Aktiviteleri

Lesitinaz, lipaz ve proteolitik enzimlerinin aktivitelerini tanımlamak için yumurta sarılı agar (EYA) kullanılarak *Clostridium* türleri identifiye edilebilir. Kolonilerin etrafında opak bir görünüm Lesitinaz aktivitesini gösterir. Lipaz, trigliserid ve digliseridleri yağ asidi ve gliserole hidrolize eder. Proteolitik enzim üreten mikroorganizmalar, kolonilerin etrafında genellikle oldukça dar ve berrak bir zon oluşturur (11).

2.3 Anaerop Bakteriler

2.3.1 Gram Negatif Anaerop Bakteriler

a. Gram Negatif Anaerop Basiller

Epidemiyoloji

Doğum sonrası yenidoğan oral kavitesi genellikle sterildir. Süt çocuklarının %50'sinde *Fusobacterium* spp. ve daha az yüzde ile diğer gram negatif anaerop basiller saptanabilir. Kanama ve tıkanma ile duodonal ülser gibi patolojik durumlarda midede *B.fragilis* ile kolonizasyon meydana gelebilir. Terminal ileumda eşit miktarda fakültatif aerop ve anaerop mikroorganizmalar mevcuttur. Başlıca anaerop olarak *B.fragilis* yer almaktadır. Yetişkin dışkı florasında yaklaşık 10^{12} /g. *Bacteroides* spp. bulunur. *Fusobacterium* sp %18 oranında bulunur. *Bacteroides*, *Prevotella* ve *Fusobacterium* spp. vaginal florada yaygındır. *Fusobacterium* ve diğer gram negatif anaerop basiller izole edilmiştir. *Bacteroides* türleri el yüzeyinde birkaç saat bulunabilirler. Laboratuvar yüzeyinde hava ile temas sonrası 10 saat canlı kalabilirler. Hastane ortamından elde edilebilir (14).

İnsanlarda mukokütanöz yüzeylerde aerop ve anaerop bakteriler normal flora elemanlarını oluşturmaktadır. Bu bakterilerin konsantrasyonları ve cinsleri anatomik bölgelere göre değişiklik göstermektedir (15). Anaerop infeksiyonların oluşmasında en önemli faktör normal florada bulunan bu bakterilerin anatomik bütünlüğünün

bozulması sonucunda buldukları bölgeden başka bölgelere özellikle de steril vücut bölgelerine geçmeleridir. Ayrıca anaerop bakterilerin üremeleri için gerekli koşulların da sağlanması gereklidir. Hemen tüm anaerop infeksiyonlar normal floradan köken aldıkları için endojen infeksiyonlardır. Ancak bazı *Clostridial* infeksiyonlarda olduğu gibi ekzojen kaynaklı da olabilirler (16).

1.Bacteroides fragilis Grup

Bacteroides türleri vücudun normal florasının önemi bir kısmını oluşturur. *B.fragilis* grup üyeleri özellikle kolon florasında bol miktarda bulunurlar. Klinik örneklerde en sık rastlanan anaeroplardır. Antibiyotiklere diğer anaeroplardan daha dirençlidir ve bu direnç her geçen gün daha da artmaktadır (17).

Bacteroides türleri diğer anaeroplardan gibi genellikle fırsatçı olup vücudun değişik bölgelerinde infeksiyon yaparlar. En sık intraabdominal infeksiyon olmakla beraber plöropulmoner ve kadın ürogenital sistem infeksiyonlarına sebep olurlar (18).

Sınıflandırılması

Günümüzde *Bacteroides* cinsi, safraya duyarlı ve safraya dirençli olarak ayrılabilir. Eskiden safraya duyarlı türler pigmentli ve pigmentless türler olarak ayrılırdı. Fakat çoğu pigmentli safraya duyarlı *Bacteroides* spp., *Porphyromonas* ve *Prevotella* genusu içinde yeniden sınıflandırıldı. Birçok pigmentless *Bacteroides* türü *Prevotella* genusuna transfer edildi. Safraya dirençli *Bacteroides* spp., *B.fragilis* grup ve 2 diğer tür (*B.splanchnicus* ve *B.eggerthii*) olarak tanımlanır (11).

Morfoloji Ve Boyanma Özellikleri

Büyüklikleri 0.5-0.8 µm x 1.5 -9 µm arasında değişir. Gram boyamada gram negatif, genellikle basil veya kokobasil şeklinde görülmekle birlikte, vakuollü, bipolar boyanmış ve çoğunlukla kapsüllüdürler. Kapsüllerinin patojenik önemi belirsizdir. Bu kültürlerinde pleomorfik olabilir (10, 11).

Kültür Özellikleri

AnBAP besiyerinde 1-4mm çapında, hemolizsiz, gri, yarı opak koloniler yapar (10). Besiyerinde hemin bulunmadığında jenerasyon süresi 8 saat iken, hemin ilave besiyerinde bu süre 2 saate düşmektedir. Hemin sitokrom enzimlerini

sentezlemeye katkıda bulunarak, ilave ATP enerjisi oluşturmalarına sebep olur. *Bacteroides* gram negatif hücre duvar yapısına sahip olmasına rağmen lipid A kısmını içermediği için endotoksinin biyolojik etkisi yoktur. Tümü sakkarolitikdir. Karbonhidrat fermentasyon paternleri identifikasyona yardımcı olur (10). *B.fragilis* grup %20 safra'da ürer ve daima 3 özel potensli antibiyotik disklere dirençlidir. Nadir suşlar kolistine duyarlıdır. *B.ureolyticus* kanamisin ve kolistine duyarlı, vankomisine dirençlidir (13).

BBE besiyerinde gri ve en az 1mm çapta ürer. Orjinal olarak açık sarı olan besiyeri kolonilerce etrafı kahverengi-siyah renge dönüşür. İyi üreme safrayı tolere ettiklerini, besiyerinin siyah renge dönüşmesi eskülin hidrolizini gösterir. *B.splanchnicus* ve *B.eggerthii*'de safraya dirençli olup, eskülini hidrolize eder (11).

Patojenite Ve Virulans Faktörleri

Abdominal infeksiyon gelişiminde farklı bakteri türleri arasında sinerjizm esasına dayanan ilişki rol oynar. Barsak duvarının harabiyeti durumunda normal flora üyeleri steril periton boşluğuna nüfuz eder ve yaklaşık 20 saat içinde infeksiyonun akut safhasını oluşturur (19). Aerop patojenler doku harabiyetini başlatır, oksidasyon redüksiyon potansiyeli azalır. Yeterli oksijen kalmayınca anaerop mikroorganizmalar çoğalır ve infeksiyonun kronik safhasında baskın hale gelirler (19,20).

1. Apse Oluşumu

Barsak infeksiyonlarının en önemli komplikasyonudur. Apse, fibröz bir zar ile çevrilen ölü polimorfonüveli lökositler ve bakterilerden meydana gelir. Apse'ler metastaz yapabilir ve bakteremi ve dissemine infeksiyonla sonuçlanabilir. Apse oluşumu *Bacteroides*'lerin polisakkarit kapsülüne karşı immun sistemin oluşturduğu patolojik cevaptır (19). Kapsül antikora bağımlı immun cevabı stimüle eder, ancak *B.fragilis* kapsülü T hücre bağımlı immun cevabı stimüle eder (21).

Bir kez peritoneal kontaminasyon meydana geldiğinde vücut bu invazyona karşı savunmaya; lenfatik yol, fagositozis, fibrin sekestrasyonu ve anatomik lokalizasyon ile çalışır. Anaeroplar apse formasyonu oluşturmak için fakültatif mikroorganizmalarla sinerjistik rol oynar. Fakültatif bakteriler ortamın oksido-

redüksiyon potansiyelini (Eh) düşürerek ve anaeroplara üremesini kolaylaştırarak infeksiyon sürecini ilerletir (22).

2. Kapsül Varlığı: Fagositozu önleme özelliğindedir (23).

3. β -Laktamaz Salınımı (19).

4. Katalaz, süperoksit dismutaz genlerini taşıdığı gibi oksijenle indüklenen 28 ayrı protein geni taşırlar. Üç gün kadar atmosferik oksijeni tolere edebilir (24).

5. Frajilizin: Jelatin, aktin, tropomiyozin ve fibrinojeni hidroliz edebilen metalloproteazdır. Diyare oluşturan suşlarda frajilizin toksini saflaştırılmıştır. Enterositlere bu yolla sitotoksik etki yaparak diyareye yol açar.

ETBF (Enterotoksijenik *B.fragilis*) suşları barsak dışı infeksiyonlar da yapar. ETBF suşları, 1-5 yaş arası çocuklarda görülen kendiliğinden geçen ishal etkeni olarak saptanmaktadır. Sağlıklı kişilerde %6,5 oranında ETBF taşıyıcılığı saptanmıştır (25).

***B.fragilis* Grup Bakterilerde Direnç Mekanizmaları**

Anaerop bakterilere bağlı infeksiyonların tedavisinde β -laktam grubu antibiyotikler önemli yere sahiptir. Ancak, özellikle *Bacteroides* grubu bakteriler bu antibiyotiklere yüksek oranda direnç göstermektedir (26).

β -laktam antibiyotiklere direnç mekanizmaları:

1. Penisilin bağlayıcı proteinlerde (PBP) değişiklik: Bakteri kromozomlarında mutasyon sonucu oluşan yeni PBP'lere, β -laktam grubu antibiyotikler bağlanmamakta ve etkilerini göstermemektedir. Ayrıca aztreonam gibi monobaktam'ların, *B.fragilis*'in PBP'lere zayıf afinite gösterdikleri ve bu bakteriler üzerinde etkili olmadıkları bilinmektedir.

2. Geçirgenliğin azalması: Kromozomlarda gelişen mutasyonlardan dolayı dış membran proteinlerinden 40-50 kD'luk porin kaybı olduğu, bu nedenle geçirgenliğin azaldığı, β -laktam grubu antibiyotiklerin PBP'lere ulaşamadığı tespit edilmiştir.

3. β -laktamaz'larla antibiyotiklerin inaktivasyonu: En sık görülen şekildir. Bakteri ürettiği β -laktamaz'larla β -laktam halkasını hidrolize ederek antibiyotiği inaktif hale getirmektedir (27).

β -laktamaz inhibitörleriyle kombine edilmiş β -laktam antibiyotiklere direnç çok az gelişmiştir. Çeşitli ülkelerde, *Bacteroides fragilis* grup (BFG) bakterilerinde % 0-2.4 arasında değişen oranlarda direnç görülmüştür (28-31).

En sık izole edilen ve grup içinde en duyarlı olduğu halde *B.fragilis*'in penisilin direnci grubun diğer üyeleri arasında en yüksektir. Penisilin ve ampisiline direncin en yaygın mekanizması kromozomal olarak kodlanabilen, transfer edilebildiği 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 göstermiştir. β -laktamaz *Bacteroides*'lerin büyük çoğunda bulunur ancak β -laktam- β -laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar ile inhibe olur. Ampisilin-sulbaktam, tikarsilin klavulonik asit, piperasilin-tazobaktam direnci %2'den az olarak saptanmıştır (30).

Bazı *B.fragilis* suşlarının salgıladığı fragilizin üretimini bakteri DNA'sında bulunan patogenez 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 görülmüştür. Dirençli bakterilerin duyarlı bakterilere direnç aktarımında 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 (32).

Sefoksitin ve sefotaksime karşı direnç *cep A* ve *cfx A* β -laktamaz genlerince kodlanır. Plazmid veya mobil transpozonlar ile transfer edilebilir (33).

Karbapenem (imipenem, ertapenem, meropenem) direnci dünya çapında tüm *B.fragilis* grup içinde %1'den azdır. Bu geniş spektrumlu β -laktamaz direnci *cf1A* ve *ccrA* genlerinden biri tarafından kodlanır. β -laktam- β -laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara karşı direnç sağlayan bir class B metallobetalaktamaz ekspres eden genlerdir (34-35).

B.fragilis kökenlerinde araştırılan sefoksitin direnci, bakterilerin dış membran geçirgenliğinin azalmasına da bağlanmaktadır (36). Aminoglikozidlere doğal

dirençlidir. Bu ilacın hücre içine alınımı oksijen ya da nitrat bağımlı bir ETZ kullanan enerji gerektiren bir olaydır. Anaeroplarda bu sistem yoktur (36).

B.fragilis grup arasında klindamisin direnci son 20 yıldan fazla zamandır mevcuttur. Yapılan birçok çalışmada %10-%40 arası değişken direnç yüzdeleri rapor edilmiştir(6). N-metil transferaz enzimi ribozomal değişiklik yapar. *Erm* (eritromisin ribozom metilasyonu) adı verilen genlerin ürünüdür. *B.fragilis* 'te *Erm* F, *Erm* FS, *Erm* G ve *Erm* B tanımlanmıştır (36).

Anaerop bakterilerin etken olduğu infeksiyonlarda makrolid-linkozamid - streptogramin (MLSb) grubu içinde en sık klindamisin kullanılmaktadır. Klindamisin bakteri ribozomunun 50S alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe etmektedir. 23S rRNA'da metilasyon sonucu klindamisin hedef bölgeye bağlanamamakta ve ilaç etkisiz kalmaktadır (37). *Bacteroides fragilis* grubu bakterilerde klindamisine yüksek oranda gelişen direnç nedeniyle empirik tedavide seçilecek ilk antibiyotikler arasında yer almamaktadır (27).

Nitroimidazol (Metronidazol) direnci: 1960'dan beri dünya çapında yaygın olarak kullanılmasına rağmen direnç *B.fragilis* grup arasında nadirdir. Nitroimidazol redüktazı kodlayan 7 adet *nim* geni (A-G) yaygın olarak eksprese edilir (38, 39). *nim* genleri transfer olabilen plazmidler üzerinde identifiye edilmiş, bir klindamisin direnç plazmidine yakından benzerlik gösterir (41). İmidazol direnci ile bağlantılı non-*nim* geni'de tipik olarak metronidazol'ü fazla miktarda kullanan bireylerde saptandığı rapor edilmiştir (38).

Florokinolonlar arasında moksifloksasin FDA tarafından anaeroplara içerebilen, cilt infeksiyonları için onaylanmıştır. Anaeroplara kısmen etkilidir. Direnç *gyr* A (*gyraz*) ve *gyr* B 'de mutasyonlar ve/veya efluks pompasının ekspresyonunda artış ile bağlantılıdır. Anaerop bakteriler tarafından transfer edilebilir kinolon direnci tanımlanmamıştır (41).

Tetrasiklin anaerop infeksiyonların tedavisinde ilk kullanılan antibiyotik olmasına rağmen günümüzde *Bacteroides* suşlarının neredeyse tümü bu antibiyotiğe dirençlidir (%80-90) (36) .

Tigesiklin son zamanlarda FDA tarafından onaylanmış, anaerop aktivitesi olan, glisilsiklidir. *B.fragilis* grubun tüm üyeleri ve diğer anaeroplara karşı mükemmel invitro aktiviteye sahip olan minosiklinin *t*-butylglyclamido derivativesidir.

İntraabdominal, yumuşak doku ve cilt mikst infeksiyonları için önerilmektedir. *Bacteroides* için bu ilaca direnç nadirdir ve direnç mekanizması henüz bilinmemektedir (41).

2. *Fusobacterium* Türleri

Gram negatif, sporsuz anaerop basillerdir. *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 ölürlür. Kanamisine (1mg) duyarlı, kolistin (10µg) ve vankomisine (5 µg) dirençlidir. Bazı suşlar yeşil renkte floresan verir. Farklı türler karakteristik hücre ve koloni morfolojisine sahiptir. *Fusobacterium* türleri ağız içi, üst solunum yolu, gastrointestinal sistem, genitoüriner sistem'de normal florada bulunurlar. *F.nucleatum* klinik örneklerden en sık soyutlanan türdür. Kemoterapiyi takiben nötropenili, mukositli hastalarda meydana gelen şiddetli sistemik infeksiyonlarda *F.nucleatum* sıklıkla etkendir. Özellikle ağız, ısırik yarası, solunum sistemi infeksiyonları ile ilişkili bulunmuştur. Çeşitli vücut bölgelerinde ciddi infeksiyonlara sebep olur. Beyin apseleri, kronik sinüzit, metastatik osteomyelit, septik artrit, karaciğer apsesi ve diğer intraabdominal infeksiyonlarda yaygın bir patojendir. Nekrobasiloz olarak da adlandırılan Lemiere sendromu (postanjinal septisemi) başlıca *F.necrophorum* tarafından meydana gelir (10).

***Fusobacterium* Türlerinde Direnç Mekanizmaları**

Penisilin direnci yaygın değildir. Direnç β -laktamaz tarafından meydana gelir. Tetrasiklin direnci artan sıklıkla rapor edilirken sefalosporinlere ve sefamisinlere (sefoksitin, sefotetan, seftizoksim) %90'dan fazla duyarlıdır. Hem *tet* (W) hem de *tet* (M) *F.nucleatum*'un tetrasiklin direncinde identifiye edilmiştir (41).

3.Pigment Yapan Anaerop Gram Negatif Basiller

Pigmentli *Prevotella* ve *Porphyromonas* spp., orofarinks, burun, gastrointestinal sistem ve genitoüriner sistemin normal florasında yer alırlar. Orofasiyal ve anaerop plöropulmoner infeksiyonların etyolojisinde *B.fragilis* grup daha yaygındır. İnsan infeksiyonlarında ikinci yaygın bakteri grubudur.

Porphyromonas türleri vankomisin varlığında üremesi inhibe olan, kanamisine dirençli, kahverengi pigmentli, UV altında kiremit kırmızı renkte floresan veren, safra, penisilin, rifampisin ile inhibe olan, indol pozitif, gram negatif basillerdir. Çoğu türler glukoz ve diğer karbonhidratları fermente etmez. *Prevotella* türleri glikoz ve diğer diğer karbonhidratları fermente ederler (10).

***Prevotella, Porphyromonas* Türlerinde Direnç Mekanizmaları**

Genelde *Bacteroides* grup üyeleri ile karşılaştırıldığında bu mikroorganizmaların duyarlılık verileri sınırlıdır. Tamamı *B.fragilis* grup'tan daha duyarlıdır. Günümüzde *Prevotella* spp'nin yaklaşık %50'si ya *cfx* A ya da *Bacteroides*'lerdekine benzer β -laktamaz'ları üretmek suretiyle penisilin ve ampisilin'e direnç gösterirler (41).

Porphyromonas türleri arasında penisilin direnci %8-17 arasında olup düşük değerlerdedir. Başlıca direnç mekanizmasından *cfx* A tarafından kodlanan β -laktamaz sorumludur (42).

Tüm türler karbapenem, metronidazol, kloramfenikol ve β -laktam- β -laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara duyarlıdır. Bununla beraber klindamisine direnç hem *Prevotella* (% 0-11) hemde *Porphyromonas* türlerinde(%0-35) gözlenmektedir. Direnç ya *erm* F ya da *erm* G varlığına ile bağlıdır (41).

Prevotella spp. arasında tetrasiklin direnci ribozomal koruma mekanizmasına bağlı olup *tet(Q)*, *tet(M)*, *tet(W)* varlığı ile bağlantılıdır. Ve *tet(Q)* *Porphyromonas* sp'de de identifiye edilmiştir (41).

Diğer direnç transferlerinin mekanizması bilinmezken: tetrasiklin direncinin bakteriden bakteriye aktarımı *Bacteroides*'lerinkine benzer konjugatif transpozonlar yoluyla olmaktadır (41).

Diğer Gram Negatif Anaerob Basiller Ve Direnç Mekanizmaları

Bilophila wadsworthia gastrointestinal traktusun yaygın mikroorganizmasıdır. Sıklıkla β -laktamaz üretir. Penisilin ve ampisiline yüksek düzeyde direnç gösterir. Bununla beraber bu mikroorganizma klindamisin, sefoksitin, karbapenem, metronidazol ve β -laktam- β -laktamaz inhibitör kombinasyonuna duyarlıdır.

Campylobacter gracilis (eski adı; *Bacteroides gracilis*) klindamisin, sefoksitin, seftizoksim, seftriakson ve β -laktam- β -laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara duyarlıdır.

Bunun yanında *Sutterella wadsworthensis*, sıklıkla *Campylobacter gracilis*'e benzer örneklerden izole ve identifiye edilir. Klindamisin, seftizoksim, piperasilin ve /veya metronidazol'e oldukça dirençlidir. *C.rectus* ve *C.curvus* (eski adı; *Wolinella*) β -laktamaz'a duyarlılıkları değişkendir fakat metronidazol, klindamisin ve kloramfenikol'e oldukça duyarlıdır. Direnç mekanizmaları ve aktarım şekli bilinmemektedir (41).

b.Gram Negatif Anaerop Koklar

Veillonellaceae ailesinde yer alır. *Veillonella*, *Acidaminococcus* ve *Megasphaera* olarak üç genus vardır. Ağız, üst solunum yolu, barsak ve genitoüriner sistemin normal flora üyesidir. Vankomisin ve bazı kinolonlara dirençlidir (10).

2.3.2. Gram Pozitif Anaerop Bakteriler

a.Anaerop Gram Pozitif Koklar

Gram negatif basillerden sonra ikinci en sık etken olan anaeroplardır. Gram negatif basiller gibi kan kültürlerinde, diğer vücut sıvıları, çeşitli yaralar ve apse örneklerinden sıklıkla soyutlanmaktadır.

Anaerop gram pozitif koklar arasında klinik önemi olanlar *Peptostreptococcus*, *Fingoldia*, *Micromonas*, *Peptococcus*, *Anaerococcus*, *Schleiferella*'dır (10).

Gram Pozitif Koklarda Direnç Mekanizmaları

Genel olarak bu mikroorganizmalar penisiline (% 7-10), klindamisine (%7-20) ve metronidazole (%5-10) değişken direnç gösterirken β -laktam- β -laktamaz inhibitörleri, sefalosporin, karbapenem ve kloramfenikol'e duyarlılıkları oldukça iyidir (44).

Fingoldia manga için metronidazol dirençli 2 şuşta *nim B* geni gösterilmişse de, çoğu β -laktam antibiyotik direncinden PBP değişikliği sorumludur. Yapılan bir çalışmada 21 şuş'tan 19'unda *nim* geni bulunduğu halde direnç saptanmamıştır (41).

b. Anaerop Gram Pozitif Basiller

a. Sporsuz Anaerop Gram Pozitif Basiller

Çoğu zorunlu anaeroptur ancak bazı suşlar %5CO₂'li ortamda üreyebilir. Boyutları 0.3-1.3µm, 1-10µm olup, mikroskopik görünümüleri difteroidlere benzer. İndol negatif, katalaz negatiftir. Bazı suşları dar zonlu β hemoliz yaparlar.

Propionibacterium acnes cilt, nazofarenks, oral kavite, gastrointestinal ve genitüriner sistemde normal flora üyesidir. Kan kültürlerinin sık kontaminantıdır. Bununla beraber endokardit, santral sinir sistemi şant infeksiyonları gibi çeşitli infeksiyonlara sebep olabilirler. *P.avidum* ve *P.granulosum*'un klinik önemi yoktur.

Son yıllarda *Actinomyces* genusu içine yeni türler eklenmiş ve taksonomik değişiklikler yapılmıştır. İnsanda Aktinomikoza sebep olan etkenler *A.israellii*, *A.neaslundii*, *A.odontolyticus*, *A.viscosus*, *P.propionicum* sayılabilir. Ağız ve genitüriner sistemin normal flora üyelerindedir. Aktinomikozis günümüzde nadirdir. *A.israellii* infeksiyonlardan en sık soyutlanan türdür. Kolonileri 7-14 günde meydana gelir ve molar diş görünümündedir.

Arachnia propanica 1988 yılında *Propionibacterium propionicum* olarak yeniden sınıflandırılmıştır. Patojenite ve morfoloji olarak *Actinomyces*lere benzer; müreine içeren duvar yapısı ve propionik asit üretimi ile ayrımı yapılabilir. İnsan aktinomikozisi için potansiyel etiyolojik ajan olarak düşünülebilir. Her ikisi de pleomorfik, difteroid görünümde veya uzun flamentler yapıda olup, basiller mikroerop/anaerop üreme özelliğine sahiptir.

Taksonomik olarak günümüzde 30'dan fazla *Bifidobacterium* türü tanımlanmıştır İnsan ve hayvanlarda oral boşluk ve gastrointestinal sistemin normal flora üyesidirler. *Actinomyces*'e benzer fakat THİO besiyerinde dallanma göstermezler.

Lactobacillus spp. oral boşluk, farenks, intestinal sistem, genitüriner sistem ve özellikle vagen normal florasının bir üyesidir. Bakteriyel endokardit, menenjit, bakteremi, peritonit ve apse olgularında etken olarak rapor edilmiştir.

Eubacterium spp. genellikle diğer bakterilerle mikst olarak yara ve apselerde yer alabilirler .

Mobilincus spp vajinal örneklerde nonpesifik vajinit veya bakteriyel vajinozlu kadınlarda diğer anaeroplara beraber bulunur. İlk kez 1984 yılında tanımlanmıştır.

Sağlıklı kadınlarda da kolonize olabilen mikroorganizmalardan biridir. Bakteri 3-5 günde, renksiz, şeffaf, S tipi ve bazen yayılan koloniler meydana getirir (10).

Sporsuz Anaerop Gram Pozitif Basillerde Direnç Mekanizması

Eubacterium grup, Actinomyces, Propionibacterium ve Bifidobacterium penisilin, sefalosporin, sefamisin, karbapenem ve β -laktam- β -laktamaz inhibitör kombinasyonuna genellikle duyarlıdır.

Lactobacilius spp. sefalosporinlere değişken olarak duyarlıdır ve sadece penisilin ile inhibe olurlar. Çoğu metronidazole ve vankomisine dirençlidir (41).

b. Spor Oluşturan Anaerop Gram Pozitif Basiller

Tüm spor oluşturan gram pozitif anaerop basiller *Clostridium* türleri olarak sınıflandırılır. Sporlar örnekten veya kültürde üreyen kolonilerden hazırlanan yaymalarda her zaman görülmezler. Spor seleksiyonu için ısı veya alkol ile muamele gereklidir (11).

Clostridium'lar sporun hücre içerisinde lokalizasyonuna göre terminal sporlu, subterminal sporlu ve santral sporlu olarak gruplandırılırlar (11).

Anaerop gram pozitif basillerdeki önemli sorunlardan biri *Clostridium* ve bazı sporsuz basillerin gram negatif boyanabilmesidir. *C.tertium*, *C.carnis*, *C.histolyticum* ve nadiren *C.perfringens* aerotolerandır. Aerotoleran *Clostridium*'lar fakültatif anaerop *Bacillius* spp.ile karışabilir. *Clostridium*'lar sporlarını yalnızca anaerop ortamda yapar ve katalazları negatiftir. *Bacillius*'lar sporlarını hem aerop hem de anaerop ortamda yapar ve katalaz pozitifler.

C. perfringens klinik örneklerden en sık izole edilen türdür. Bunu *C.clostridioforme*, *C.innocuum* ve *C.ramosum* izler. Basiller yük vagonu gibi dizilir ve kanlı agarda beta hemoliz yaparlar (10).

Sporlu Anaerop Gram Pozitif Basillerde Direnç Mekanizmaları

C. perfringens genel olarak penisilin dahil birçok antianaerobik ajanlara çok duyarlıdır. Buna karşın *perfringens* dışı *Clostridium* türleri ve *C.difficile*'nin penisiline invitro duyarlılıkları değişkendir. *Perfringens* dışı *Clostridium* türleri arasında klindamisin, penisilin, sefalosporin ve imipenem'e direnç gözlenmektedir (41).

Anaerop bakteriler arasında en yüksek makrolid-linkozamid-streptogramin (MLS) direnci *C.difficile* kökenlerinde(%67)gösterilmiştir (6,27, 29).

Klindamisin direnci *C.perfringens*'de *erm Q* ve *erm P* ile ve *C.difficile*'de *erm B* ile bağlantılıdır. Bu genlerin β -laktam direnci ile ilişkisi saptanmamıştır (46).

Tetrasiklin direnci *C.perfringens* türleri arasında %10-76'dır. Efluks protein *tet A*, ribozomal koruma tip proteini *tet B* kodlanarak meydana gelir. *C.difficile* suşları arasında klindamisin direnci oldukça yaygın olup, yapılan bir çalışmada >%90 olarak bildirilmiştir. Direnç *erm* geninden kaynaklanmakta ve transfer edilebilir özelliktedir (46).

Bununla beraber florokinolon direnci *C.difficile* arasında yeni bir potansiyel problemdir. *C.difficile*'e bağlı salgınlar gatifiksasin ve levofloksasin kullanımı ile rapor edilmiş, salgın suşlarının çoğunda yüksek MIC değerleri elde edilmiştir. *C.difficile* ve *C.perfringens* suşlarında florokinolon direncinin *gyr A* ve *gyr B* mutasyonları, *C.perfringens* 'de ise topoizomeraz IV nükleotid değişikliği sonucu geliştiği saptanmıştır (41).

2.4 Anaerop İnfeksiyonlar

2.4.1. Baş-Boyun İnfeksiyonları

a. Ağız Ve Diş İnfeksiyonları

Periodontal hastalıklar (Gingivitis, periodontitis...), diş implant çevresi infeksiyonları, kök kanalı infeksiyonları, dentoalveolar infeksiyonlar sayılabilir.

Diğer normal vücut mikrofloraları gibi ağız florası da fırsatçı patojen mikroorganizmalar olarak endojen infeksiyonların kaynağını oluşturur. *B.fragilis* ağız florasında bulunmaz, ağız boşluğu ve solunum yolları infeksiyonlarında bildirilmesi yanlış identifikasyonu gösterir. Baş boyun infeksiyonlarında anaeroplara göre dört kat fazla sıklıkla soyutlanmaktadır.

b. Ludwig Anjini

Sublingual ve submandibular boşlukların bilateral infeksiyonudur. En sık dentoalveolar apse etkenleri *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* spp ve anaerop streptokokların izole edildiği alveolar apseler gibi karışık anaerop infeksiyonlardır.

c. Cerahatli Çene Osteomyelitleri;

Eski çalışmalarda *S.aureus* en sık izole edilirken, günümüz mikrobiyolojik teknikler etkenlerin dentoalveolar apse etkenleriyle aynı olduğunu göstermiştir. Çene osteomyelitleri ağız florasından kaynaklanan mikst anaerop infeksiyonlardır.

d. Aktinomikoz

Endojen, granümatöz bir hastalıktır. En sık boyun ve yüz bölgesinde görülmektedir. 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.

e. Rinosinüzit

Tedavi edilmeyen, kronikleşen olgularda nazofareks ve ağız florası kaynaklı anaeroplara sayısı artar. Anaeroplara baskın olduğu polimikrobiyal infeksiyonlardır. Özellikle *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium* sp., *Peptostreptococcus* spp. en sık anaerop etkenlerdir.

f. Otitis Media

Kronik otitis media genellikle anaeroplara (*Porphyromonas* spp. ve *Prevotella* spp, *B.fragilis*) üstün olduğu, *S.aureus* ve gram negatif basillerin etken olduğu polimikrobiyal infeksiyonlardır.

g. Lemierre Sendromu

Akut farenjit veya tonsilitin internal juguler vene süpüratif tromboflebitten dolayı sepsise ilerleyen şeklidir. Başlıca etken anaerop *Fusobacterium necrophorum*'dur (47).

2.4.2. Batın içi infeksiyonlar

İntraabdominal infeksiyonların mortalitesi %3-5 dolaylarındadır. Organ yetmezliği ile karakterize penetran abdominal travma'larda mortalite %60'dan fazladır. İntraabdominal infeksiyonlar yaygın peritonit şeklindedir (48).

a. Peritonitler

Sekonder peritonit intraabdominal kaynaklı bir infeksiyon veya içi boş organların delinmesi sonucu ortaya çıkar. Etkenler çoğunlukla endojen kaynaklıdır. En önemli endojen kaynak gastrointestinal sistemdir (49).

İntestinal kolon florası 10^{12} bakteri /gram dışkı içerir. Baskın olarak anaeroplarda bulunur. *B.fragilis* grup üyeleri ve *Bifidobacterium* türleri özellikle kolon florasında bol miktarda bulunurlar. Sekonder peritonitte çoğunlukla bu sistem içindeki mikroorganizmalar birlikte etken olur (3,49).

b. İnteraabdominal Apseler

Çoğunlukla polimikrobiyaldir. En sık 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. Bunların başında karaciğer gelir (49).

Batın içi apseler- abdominal, pelvik ve renal- en sık anaerop mikroorganizma üretilen materyaller oluşmuştur. Bu pek çok anaerop bakterinin abdominal apse etiyolojisinde yer almasına bağlanmaktadır. Yapılan çalışmada kranyal fokal enfeksiyöz süpürasyonlar birinci sırada, batın içi apseler ikinci sırada yer almıştır. Vasküler, obstrüktif, inflamatuvar barsak lezyonları anaerop infeksiyon kaynağı olabilir. İnteraabdominal apselerin çoğu travma, perforasyon, inflamasyon ve intraabdominal organ infeksiyonları gibi sebepler sonrası gelişir. Postoperatif apseler operasyon sırasında kontaminasyon veya anastomozlardan olan kaaklarla meydana gelir (50).

Cerrahi işlem, apendisit rüptürü, kolon kanseri perforasyonu gibi barsak mukozasının bütünlüğünü bozan durumlarda özellikle *B.fragilis* sıklıkla intraabdominal, perirektal apselere ve peritonite sebep olur (49).

2.4.3. Santral Sinir Sistemi (SSS) İnfeksiyonları

SSS infeksiyonları genellikle gürültülü seyreden, kısa sürede ölüm ve kalıcı sekelle sonlanabilen infeksiyonlardır. Bu nedenle SSS anaerop infeksiyonları, etiyolojik açıdan ihtimaler arasında değerlendirilmediği ya da uygun tedavinin geciktiği olgularda kötü prognoz ile sonlanabileceği için dikkatli olunması gereklidir. Beyin apselerininin %20-40'ında primer odak bilinmemektedir (51).

Beyin apsesi komşuluk yolu, hematogen yayılım veya travma sonucu gelişebilir ve %25 olguda ise kardiyak veya pulmoner kaynaklı hematogen yayılım söz konusudur. Hematogen yayılım sonucu gelişen beyin apseleri genellikle çokludur. Bunlarda % 40-60 olguda anaeroplara (anaerop streptokok, *B.fragilis*) tek başına veya aerop bakterilerle birlikte etkindir (48).

Anaerop bakteri menenjitleri çok sık görülmez. Ancak nekrotizan enterokolit, barsak perforasyonu, kronik otit ve serebrospinal sıvı shunt infeksiyonları varlığında menenji gelişebilir. *B.fragilis* en sık rastlanan etiyolojik ajandır.

Beyin apselerinin % 20-40 'ında kronik otit ve kronik sinüzit predispozan olarak rol oynar. Temporal beyin apseleri daha sıktır. *Bacteroides* türleri beyin apselerinden diğer anaerop bakteriler ve streptokok türleri ile mikst infeksiyon olarak izole edilirler (51).

Beyin apselerinin en az yarısında anaeroplara tek başına veya polimikrobiyal olarak etken olduğu için anaerop bakteri kültürleri ve duyarlılık testleri mutlaka yapılmalıdır (50).

2.4.4. Akciğer İnfeksiyonları

Alt solunum yollarından kontamine olmamış örneklerin alınabilmesi sonucu (1970 -1980 yılları arasında transtrakeal aspirasyonun kullanımı ile) anaerop bakterilerin alt solunum yolları infeksiyonlarındaki sıklığı gösterilmiştir. Bu gelişmelere karşın halen bir pulmoner infeksiyon etkeni olarak anaeroplara sıklıkla gözden kaçmaktadır. Bunun doğal sonucu olarak da antibiyotik tedavi seçimi hatalı yapılabilmektedir.

Anaeroplara etken olduğu akciğer infeksiyonlarının patofizyolojileri ve klinik bulguları benzerlik göstermektedir. Sıklıkla aspirasyon pnömonisi şeklinde başlamakta genellikle tedavi eksikliğine bağlı olarak hastalık akciğer apsesi ve nekrotizan pnömoni tablolarına ilerlemektedir. Aspirasyon sonucu solunum yolu normal florasındaki anaeroplara pnömoniyeye neden olabilirler. Sıklıkla etken *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., *Porphyromonas* spp'dir. Pnömoni sonrası gelişen ampiyem sıklıkla polimikrobiyaldir (48, 52, 53).

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 etkendir.

En sık rastlanan anaerop etkenler *Peptostreptococcus* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium nucleatum*'dur. Normal orofarengal floranın bir elemanı olmamasına rağmen *B.fragilis* olguların %15'inde etken olarak karşımıza çıkmaktadır.

Ampiyem olgularının %24'ünde aerop koklar, %35'inde anaeroplara tek başına, %41'inde ise aerop ve anaerop etkenler birlikte izole edilmektedir (53).

2.4.5. Pelvik İnfeksiyonlar

Bu grup infeksiyonlar arasında gebelik sırasında görülen infeksiyonlar, jinekolojik girişimlerle ilgili infeksiyonlar ve cinsel yolla bulaşan pelvik inflamatuvar hastalıklar (PİH) yer almaktadır (54).

Pelvik apseler PİH, apandisit veya divertikülit sonrası gelişebilir (50). Gebelik sırasında intraamniotik infeksiyonlar, postpartum endometrit, epizyotomi, postabortal infeksiyonlar yaygın olarak görülmektedir. Sıklıkla *B.fragilis* ve streptokoklar etkendir.

PİH'da *Prevotella* spp. ve peptostreptokoklar en sık etkendir. Tuboovaryen apse PİH'in en önemli komplikasyonlarından biridir. Anaerop olarak en sık *B.fragilis* ve *Prevotella* spp. etkendir. Ayrıca *Actinomyces* türleri özellikle *A.israelii* PİH ve tuboovaryen apse etkeni olabilir. Pelvik aktinomikozun rahim içi araç (RIA) ile birlikteliği bildirilmiştir (54).

2.4.6. Kemik Ve Yumuşak Doku İnfeksiyonları

a. Osteomyelit

Hematojen yol ile gelişen osteomyelitlerde anaerop etkenler nadiren görülür. Ancak travma ve kırık sonrası uzun kemiklerde, damar yetmezliğinin varlığında, odontojenik infeksiyonlar, kronik sinüzit, kronik otitte kafa kemiklerinde ve diyabetik bası yaraları ile gelişen osteomyelitlerde anaerop bakteriler önemli rol oynar. En sık *Peptostreptococcus* spp., *Clostridium* spp., *B.fragilis* grup soyutlanmaktadır (55).

b. Krepitan (Anaerop) Selülit

1. Klostridial Anaerop Selülit

Deri altında oluşmuş olan ölü dokuların nekrotizan bir infeksiyonudur. Genellikle infeksiyon bölgesinde yaygın gaz oluşumu ile seyredir. En sık *C.perfringens* daha az sıklıkla *C.septicum* ve diğer *Clostridium* türleri ile oluşur. Etken, derialtı dokuya, genellikle perkütan yolla; kirli bir travmatik yara ve ameliyat bölgesinden ulaşır, çok nadir olarak lösemili veya granülositopenik hastalarda *C.septicum* bakteriyemileri sırasında ulaşır (56).

2. Klostridial Olmayan Anaerop Sellülit

Sadece etken farkı vardır. Klinik tablo, tanı ve tedavi yaklaşımları *Clostridium* selülit ile aynıdır. *Bacteroides* spp., peptostreptokoklar ve peptokoklar en sık etkendir (55,56).

c. Nekrotizan Fasiit

Sık görülmeyen fakat ciddi seyirli bir infeksiyondur. Yüzeysel fasya ve derialtı yağ dokusunun akut ve hızla ilerleyen nekrotizan bir selülit olarak tanımlanabilmektedir. Lezyonun üzerini örten deri de olaydan etkilenir. Tip I; polimikrobiyaldir. En sık etken *Bacteroides* spp., peptostreptokoklar ve bir veya daha fazla fakültatif anaerop'dır.

Fournier gangreni; Genital organlarda görülen nekrotizan fasiit tipidir. Etiyolojide anaerop bakteriler başta olmakla birlikte, fakültatif anaeroplara anaeroplara birlikte bulunur (55). Lezyon skrotum civarında sınırlı kalabileceği gibi perine ve karın duvarına da yayılım gösterebilir. Özellikle obez ve diyabetik hastalarda karın duvarına yayılım olursa önü alınmayacak şekilde hızlı bir seyir gösterir. Testisler kendi özel arterleri ile beslendikleri için sağlam kalırlar. Ölüm oranı %20 civarındadır (56).

d. Sinerjistik Nekrotizan Sellülit (gram negatif anaerop kütanöz gangren, nekrotizan kütanöz myozit, sinerjistik nonklostridial anaerop miyonekroz)

Tüm cilt tabakalarını tutan nekrotizan fasiittir. İnfeksiyonda anaerop ve fakültatif anaerop bakteriler birlikte bulunur (57). Öldürücü bir infeksiyondur. %50 hastada bakteremi gelişir. Tedaviye rağmen ölüm oranı %35'tir (56).

e. Progresif Bakteriyel Sinerjistik Gangren (Meleney Sinerjistik Gangren)

Deri ve fasiya'nın ilerleyici nekrotizan infeksiyonudur. Lezyonun yeni gelişmekte olan sınırından alınan kültürlerinde mikroaerofilik veya anaerop streptokoklar etken olarak saptanır (55).

f. Diyabetik Ayak

Doku kültürlerinde kontaminasyon olarak kabul edilen bakteriler etken olabilir (ör; *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium* türleri). Bazı çalışmalarda koagulaz-negatif stafilokoklar %40'a varan oranlarda infeksiyon etkeni olarak bildirilmişlerdir

Hem kemik hem de yumuşak doku infeksiyonlarında birden çok etken izole edilebilir. Anaeroplardiyabetik ayağın ciddi yumuşak doku infeksiyonlarında etken olarak daha sık, osteomyelitlerinde ise daha az izole edilirler. Yumuşak doku ve kemik doku kültür sonuçları her zaman uygunluk göstermez (%6-13 arasında farklılık var). Tüm olası patojenleri saptayabilmek amacı ile kemik ve yumuşak doku kültürleri birlikte alınmalıdır. En sık etken *S.aureus*, fakültatif anaeroplardve gram negatif basillerdir. Ciddi seyirli formunda bu etkenler anaerop gram pozitif koklar ve *Bacteroides* türleri ile birlikte bulunur (57,58).

2.4.7. Klostridial İnfeksiyonlar

Clostridium'lar tetanoz, gazlı gangren (miyonekroz), botulizm veya gıda zehirlenmesi gibi klasik hastalıklara yol açar (11).

a.Tetanoz

C.tetani'nin nörotoksin niteliğindeki ekzotoksini (tetanospazmin) ile oluşan, iskelet kaslarında yaygın rijidite ve konvulzif spazmlarla karakterize, akut ve sıklıkla fatal seyirli, aşılama ile korunabilen bir hastalıktır (59).

b.Gazlı Gangren (Klostridial Miyonekroz)

C.perfringens, *C.histolyticum*, *C.novyi*, *C.septicum* ve *C.bifermentans* histotoksik grupta yer alırlar (11). Olguların %80-95'inde etken *C.perfringens*, %10-40'ında *C.novyi*, %5-15'inde *C.septicum*'dur (60). *C.perfringens*'in infeksiyon patogenezinde önemli role sahip olan α - toksin (lesitinaz; fosfolipaz-c) tüm suşlar tarafından üretilir (11).

c. Botulizm

C.botulinum'un nörotoksini tarafından oluşturulan nöroparalitik bir hastalıktır. Dört ayrı formda görülür. Gıda zehirlenmesi, bebek botulizmi, yara botulizmi, iatrojenik botulizm. *C.botulinum*'un A,B,Cα,D,E,F ve G harfleri ile gösterilen birbirinden farklı nörotoksinler üreten yedi serotipi vardır (61). A,B ve E insan botulizmi ile ilişkilidir. Flask tip paralizi ve ölüme yol açabilir (11).

d. Psödomembranöz Enterokolit (PMEC)

Basit bir diyareden hayatı tehdit eden kolite kadar geniş bir hastalık spektrumu vardır. *C.difficile* antibiyotik kullanımına bağlı diyare ve kolitin en sık ve en iyi bilinen etkenidir. Sağlıklı erişkinlerde herhangi bir probleme yol açmadan barsak florasında az sayıda bulunur (62).

2.4.8. Anaerob Bakteremi Ve Kateter İnfeksiyonları

Anaerob bakteremi nadir görülen infeksiyonlardır fakat yüksek mortalite ile sonuçlanabilir (3).

Yapılan son çalışmalarda hastanede yatan hastalarda bakteremi epizodlarının %0.5-9'u anaeroplara saptanmıştır (63). Görülme sıklığı coğrafik, demografik ve özellikle yaş ile ilişkili olarak farklılık gösterir. Çeşitli çalışmalarda anaerob bakteremilerin %49'unun GİS kaynaklı olduğu bulunmuş, %6'sında ise kaynak bulunamamıştır. Erken dönemde peritonit ve bakteremi aeroblar tarafından, daha geç dönemlerde apse komponenti anaeroblarca oluşur. En önemli anaerob patojen olarak tanımlanan *B.fragilis* normal kolonik floranın % 0.5 ini oluşturur.

Anaerob bakteremi intraabdominal proseslerle oldukça bağlantılıdır (22). Mukozit kan yolu ile infeksiyon için risk faktörü olarak değerlendirilir. Ayrıca hematolojik malignansiler, profilaktik kinolon kullanım öyküsü, cerrahi ve geniş spektrumlu antimikrobiyal tedavi diğer risk faktörleri arasında sayılmaktadır. 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 artırır.

Aynı mikroorganizma için 2 veya daha fazla pozitif kan kültürü, tek bir kan kültürü pozitif ve 35°C'nin üzerinde ateş varlığı veya infeksiyon odağı bilinen hastada pozitif kan kültür sonucu; klinik olarak anlamlı olabilir. Tek bir kan kültür

şişesinde *Propionibacterium* izolasyonu kontaminant olarak değerlendirilmelidir (63).

İlk olarak 1945 yılında Meyer tarafından kullanılmaya başlanan plastik iv kateterler, ilaç, sıvı, transfüzyon ya da parenteral beslenme amacıyla günümüzde sık olarak uygulanmaktadır. Bu araçların kullanımlarında en önemli sorun olan kateter infeksiyonu değişik kaynaklara göre % 3-27 arasında değişmektedir. Bu tür infeksiyonlarda rol oynayan mikroorganizmalar hastane ortamına özgülük göstermektedir ve her hastane için ayrıca saptanması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda santral venöz kateterlerde infeksiyon riskinin periferik katetere göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Mortalite katetere bağlı sepsis olgularında %80'e ulaşabilmektedir. Yapılan çalışmalarda % 0-12 arasında sepsis oranı bildirilmiştir. Anaerob kültür, kateter infeksiyonuna yönelik birçok çalışmada göz ardı edilmiştir. Çalışmaya dahil edildiği durumlarda ise *Propionibacterium* spp. ve *Clostridium* spp. üretildiğinden bahseden az sayıda yayın vardır (64).

2.5 Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Anaerob'lar için antibiyotik duyarlılık testleri sık yapılmadığı halde bireysel izolatlar ve sürveyans için yapılmaktadır (65).

2004 yılında Clinical and Laboratory Standarts İnstitute (CLSI) tarafından anaerob bakterilerin duyarlılıkları için iki standartize methodlar önerilmektedir (65, 66).

Agar Dilusyon Yöntemi: CLSI (NCCLS) tarafından referans yöntem olarak kabul edilmektedir (67). Test edilen tüm anaerob'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 (41).

Broth Mikrodilusyon: *B.fragilis* grup üyeleri için standart yöntem olan agar dilusyon ile oldukça uyumludur. Tek bir izolatın birden fazla antibiyotiğe eş zamanlı duyarlılığı tanımlamak için kullanılır. *Bacteroides* dışı anaeroblar için çoğunun zayıf üremesinden dolayı yüz güldürücü değildir. CLSI günümüzde *Bacteroides* dışı anaeroblar için bu methodu önermemektedir (41).

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 (65, 66).

Broth disk elüsyon ve disk difüzyon methodları standart metodlarla uyumda yetersiz olup, önerilmemektedir (41). Anaerop bakterilerin üretilmelerindeki güçlüklerin yanı sıra, rutinde kullanılacak ucuz ve pratik yöntemlerin bulunmaması, bu bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık özelliklerini tespit etme çabalarını ve isteğini azaltmaktadır. Anaerop bakterilerin duyarlılık testlerinin standardizasyonu için, 1997 yılından beri birtakım değişiklikler yapılmıştır (27).

Beta-laktamaz testi; Kromojenik sefalosporin (nitrosefin) yöntemi ile beta-laktamaz aktivitesi araştırılabilir, belirli anaerop bakterilerin bazı beta-laktam ilaçlara direncini saptamak amacı 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 (66).

Duyarlılık testlerinde, anaerop bakterilere etkili olabilecek antimikrobiklerin seçilmesi gerekmektedir. Önerilen antimikrobiklerin içinde penisilin (veya ampisilin), sefoksitin(veya sefotetan), piperasilin, karbapenemler, β -laktam- β -laktamaz inhibitörleri, klindamisin, kloramfenikol ve nitroimidazol türevleri yer almaktadır (66).

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 (6).

Ülkemizde yapılan kayıtlara geçmiş çalışmalar 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 (27).

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Etik kurul tarafından 07.04.2006 tarihinde, 2006/17 sayılı karar ile onaylandı. Ocak 2007 - Mart 2008 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Rektörlüğü Eğitim Uygulama ve Araştırma Hastanesinin çeşitli kliniklerinden fakültemiz Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına gelen klinik örnekler anaerop bakteriler yönünden incelendi. Toplam 241 anaerop infeksiyon şüpheli örnek çalışmaya dahil edildi. Örneklerin öncelikle makroskopik değerlendirilmeleri yapılarak, hazırlanan preparatlar Gram boyama yöntemi ile incelendi. Örnekler aerop ve fakültatif anaerop bakterileri de içerebileceği için anaerop inkübasyon için bir seçici olmayan anaerop blood agar (%5 koyun kanlı) ve seçici besiyerleri (BBE, KVLB, PEA) kullanıldı. Aerop inkübasyon için %5 koyun kanlı agar, EMB agar ve çikolatamsı agara ekim yapıldı. Dokuda ve diğer steril örneklerde bulunabilen az miktardaki anaerop mikroorganizmaları çoğaltmak ve yedekleme (back-up) amacıyla ayrıca %1 hemin ve vitamin K₁ içeren tiyoglikolat'lı buyyon kullanıldı. Kan örnekleri ise Bactec Plus anaerop şişelerinde (BD, ABD) laboratuvarımıza ulaştırıldı. Anaerop koşullar Gas-Pak sistemiyle sağlandı. Üreyen bakterilerin aerotolerans kontrolleri yapıldıktan sonra, anaerop olduğu kesinlik kazanan şuşların besiyerindeki koloni morfolojileri incelendi, antibiyotik içeren identifikasyon diskleri uygulanarak duyarlılıkları saptandı. İdentifikasyon akış şemaları kullanılarak tanımlandı. Tanımlanamayan şuşlar API 20A identifikasyon sistemine alındı. Tüm izolatların imipenem, tigesiklin, linezolid, klindamisin, metronidazol, tikarsilin-klavulonik asit, sefoksitine invitro direnç durumu araştırıldı. Antibiyotik duyarlılık testi anaerop kanlı besiyerinde, E-test yöntemi ile yapıldı. Bakterilerin beta-laktamaz aktiviteleri nitrosefin testi ile değerlendirildi. *B.fragilis* ATCC 25285 kökeni besiyerleri ve antibiyotik duyarlılık testleri için kalite kontrol suşu olarak kullanıldı.

3.1.Anaerop Kültür İşlemi

3.1.1. Anaerop kültür için örneklerin toplanması ve taşınması

Klinik örneğin normal flora ile kontamine edilmeden alınması ve hemen laboratuvara iletilmesi önemlidir (14). Anaerop kültür için doğru örnek alımı ve

taşınması amacıyla hastanemizdeki tüm ilgili klinik birimler bilgilendirildi. Örnek alımı ve taşınması için gerekli prosedür listesinin yer aldığı tablolar tüm kliniklere gönderildi (11, 12) (tablo3.1.a,b,c).

Tablo.3.1.a **Anaerop kültür için uygun ve uygun olmayan örnekler**

Vücut Bölgesi	Uygun Örnekler	Uygun Olmayan Örnekler
Baş-boyun	Yüzey dekontaminasyonu sonrası alınan aspirasyon örneği, biyopsi , aspirasyon yapılmadığında alınan anaerop sürüntü	Boğaz veya nazofaringeal sürüntü, gingival sürüntü, eküvyonla alınmış yüzeyel sürüntü
Akciğer	Transtrakeal aspirat, biyopsi, korunmuş fırça ile alınan bronkoskopik örnek, Plevra sıvısı	Balgam (ekspektore veya indüklenmiş), Endotrakeal aspirat, Bronkoskopik örnek (korunmuş fırça hariç)
Merkez sinir sistemi	İğne/enjektör ile alınan apse aspiratı, biyopsi, cerrahi olarak alınan anaerop sürüntü	Aerop sürüntü örneği
Karın	Periton sıvısı, İğne/enjektör ile alınan apse aspiratı, Safra sıvısı, biyopsi, cerrahi olarak alınan anaerop sürüntü	Aerop sürüntü örneği
Üriner sistem	Suprapubik aspirat	Miksiyon idrarı, Kateter idrarı
Genital sistem	Kuldoskopi örneği, Endometrial aspirat (korunmuş) İğne/enjektör ile alınan apse aspiratı, biyopsi, cerrahi olarak alınan anaerop sürüntü, RIA (<i>Actinomyces</i> spp veya <i>Eubacterium nodatum</i>)	Vajinal sürüntü Servikal sürüntü Üretral sürüntü
Kemik-Eklemler Deri-Yumuşak doku	İğne/enjektör ile alınan apse aspiratı, biyopsi, cerrahi olarak alınan anaerop sürüntü, sinus kanalından iğne/kateterle alınan aspirat, açık yara kenarından derin aspirat (deri antisepsisi sonrası), ülser yüzeyinden derin aspirat (deri antisepsisi sonrası)	Eküvyonla alınmış yüzeyel sürüntü örnekleri Dekübitüs ülser yüzeyi, yanık yarası,diyabetik ayak yüzeyel sürüntü, eküvyonla alınmış yüzeyel sürüntü örnekleri
Kalın barsak	Sadece <i>C.difficile</i> ve <i>C.botulinum</i> (kültür ve toksin arama) , Dışkı	

Tablo.3.1.b **Anaerop Kültür için örnek alma yöntemleri ve transport sistemleri**

Örnek	Alınma Yöntemi	Transport Sistemi*
Apse	Sağlam doku yüzeyinin 1 dk. povidon-iyotla dezinfeksiyonu sonrası (povidon-iyot öncesi etanol de uygulanabilir) örnek iğne veya enjektörle alınır	Anaerop transport sistemi (Port-A-Cul vial vb) veya Enjektörle (hava boşluğu bırakılmadan)
Yüzeyel örnek (dekübitüs dahil)	Punch biyopsisi veya Yüzey dekontaminasyonu sonrası alınan iğne/enjektör aspiratı Not: Sürüntü örnekleri uygun değil!	Port-A-Cul jar veya steril burgulu kap Port-A-Cul vial veya enjektör
Kan ve idrar dışı steril vücut sıvıları	Deri yüzeyi dezenfekte edilir, iğne veya enjektörle örnek (3-10ml) alınır	Anaerop kan kültür şişesi (Bactec Lytic/10 Anaerobic F)

Tablo.3.1.c Anaerop infeksiyon özellikleri ve örnek alımı ve transport yöntemleri

Anaerop infeksiyonu düşündüren özellikler	Anaerop kültür için örnek alımı ve taşınması
Kötü kokulu, kirli görünümlü cerahat Nekrotik doku Kan dolaşımı yetersizliği Dokuda sarı sülfür granülleri Lezyonların mukoza yüzeyine yakınlığı Isırık sonrası gelişen infeksiyonlar Altta yatan hastalık varlığı	1. Port-A-Cul transport sistemine (sıvı örnekler için vial, doku için jar) alınan örnekler oda sıcaklığında 24 saatte mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmalıdır. 2. Enjektöre (sıvı örnekler) veya steril burgulu kaba alınan (dokular ve miktarı fazla sıvı) örnekler oda sıcaklığında 15 dakikada laboratuvarına ulaştırılmalıdır 3. Anaerop kan kültür şişesine alınan steril örnekler oda sıcaklığında 24 saatte laboratuvarına ulaştırılmalıdır.

*Anaerop kültür örnek alımı ve transportu için gerekli tüm malzeme Mikrobiyoloji Laboratuvar'dan sağlanabilir.

Aerop ve anaerop mikroorganizmaların transport sırasında canlılığını korumak için Port-A-Cul viyal ve jarları (BD, ABD) kullanıldı. Klinik örneklerden küçük hacimli vücut sıvıları Port-A-Cul viyallere, doku parçaları ise Port-A-Cul jarlara alındı (7). Port-A Cul ile transportu yapılmayan örnekler ise enjektör, steril kapaklı kap veya eküvyonlu transport besiyeri ile laboratuvarımıza ulaştırıldı.

3.1.2 Örneklerin İşlenme Prosedürü

a. Makroskopik İnceleme

Örneğin kalitesi ve doğası hakkında özellikler kaydedildi (12).

b. Örneğin Hazırlanması

Belirgin pürülan örnekler mikroorganizmanın homojen dağılması için vortekslendi. Doku örnekleri 1ml sıvı besiyerinde (THIO/Chopped meat) homojenize edildi. Pürülan olmayan geniş hacimli örnekler santrifüj edildi, kültür ve mikroskopi için sediment kullanıldı (12).

b. Gram boyama

Anaerop kültür için kabul edilen örneklerden iki adet yayma preparat hazırlandı. Yaymaların fiksasyonu metanol ile (1dakika) yapıldı. Gram boyamada sekonder boya olarak safranin yerine bazik fuksin kullanıldı (11-13)

3.1.3. Örneklerin Kültür Ekimi

1. Besiyeri Seçimi

Anaerop kültür için gönderilen tüm örnekler gönderilme koşulları uygun olmayanlar dahil gecikme olmadan işleme alındı. Anaerop inkübasyon için seçici olmayan anaerop kanlı besiyeri (%5 koyun kanlı) ve seçici besiyerleri (BBE, KVLB, PEA), aerop inkübasyon için %5 koyun kanlı agar, EMB agar ve çikolatamsı agar kullanıldı (12,13).

Broth besiyerleri olarak tiyoglikolatlı buyyon (Merck, Germany) kullanıldı. Besiyeri hazırlanıp otoklav ile steril edildikten sonra soğutularak %1 hemin-vitamin K₁ (BD, ABD) ilave edildi. 4-5 ml Falkon tüplerine dağıtıldı ve oda sıcaklığında bekletildi (12,13).

Kan örnekleri otomatize sistem anaerop kan kültür şişelerine alınmış olarak gönderildi (Bactec Lytic/10 Anaerobic /F, BD, ABD) (15).

Seçici Olmayan Anaerop Besiyerleri

Anaerop Bazal Agar (AnBAP) (Oxoid, İngiltere)

Bütün anaeroplara ilk izolasyonu için anaerop bazal agar kullanıldı. Toz besiyeri tartıldıktan sonra cam balon içine konuldu. Distile su ile karıştırılıp, besiyeri eridikten sonra, 121 °C 'de 1,5 atmosfer basınçta 15 dakika süre ile sterilize edildi. Besiyeri 45 °C 'ye kadar soğutulduktan sonra içerisine % 5 oranında insan kanı ilave edildi. Lüzum halinde günlük veya gün aşırı hazırlandı. Besiyerleri oda sıcaklığında hava geçirmeyen plastik kaplarda bekletildi (12,13).

Seçici Anaerop Besiyerleri

a.Kanamisin-Vankomisinli Kanlı Agar (Kanamycin-vancomycin laked blood agar=KVLB Agar)

Anaerop Bazal Agar (AnBAP) (Oxoid, CM 0972)'dan %5 kan ilave edilerek hazırlandı. -20°C'de donmuş kan, besiyeri hazırlanırken önce 35-37°C 'de hızla çözüdürerek veya bir gece 2-8 °C 'de yavaşça eriterek, daha sonra 48-50 °C'de bekletilip; otoklavlanıp soğutulmuş besiyerine %5 oranında ilave edildi

Kanamisin-vankomisin stok solusyonu hazırlandı. 200mg kanamisin 10ml distile suda çözünür (0.2000g.) 15mg vankomisin 5ml distile suda çözündürülüp, ependorflara 0.5'er ml kanamisin ve 0.25 ml vankomisin dağıtarak -70 °C 'de saklandı. Her 100 ml besiyerine bir ependorf içeriği ilave edildi.

Bacteroides spp. ,*Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., ve *Veilonella* spp. izolasyonu için selektif besiyeri olarak kullanıldı (12,65).

b. Fenil Etil Alkollü Agar (PEA) (BD, ABD)

Besiyerine % 5 oranında insan kanı ilave edilerek hazırlandı. Gram pozitif ve gram negatif zorunlu anaerop bakterileri üretmek için kullanıldı (12).

c . Bacteroides Safrahl Eskülin Agar (BBE)

1 litre besiyeri için triptik soy agar (45.0g), oxbile (Oxgal) (20.0g), eskülin (1.0g), ferrik amonyum sitrat (0.5g), hemin (12.0g), gentamisin (100mg) ilave edilerek hazırlandı.

İzolasyon ve *B.fragilis* grubu ve *Bilophila wadsworthia* 'nın ön identifikasyonu için kullanıldı (10, 12,15).

Aerop Besiyerleri

Aerop kanlı besiyeri (Oxoid, İngiltere), Eozin Metilen Blue(EMB) besiyeri (Oxoid, İngiltere), Çikolatamsı besiyeri (Oxoid, İngiltere) kullanıldı.

2. İnokülasyon Prosedürü

Hazırlanmış örnekler uygun aerop, anaerop ve sıvı besiyerlerine ekildi. Katı besiyerlerine pürülan örnekten 1 damla, pürülan olmayan örnekten 2-3 damla, sıvı besiyerlerine ise 0.5-1.0 ml inoküle edildi (12).

3. İnkübasyon

Anaerop inkübasyon için anaerop kavanoz sistemi kullanıldı (GasPak jar, BD, ABD) Anaerop ortam sağlamak için GasPak Anaerop System Envelope kullanıldı. Gas Pak anaerop sistem zarfı işaretli yerden kesilerek içerisine 10ml su ilave edildi. Suda eriyen tabletler reaksiyona girerek Hidrojen ve karbondioksit gazı oluşturmaktadır. Reaksiyonun oluşması için katalizör olarak paladyum kullanıldı.

Ortamda anaerop şartların sağlandığını kontrol etmek için indikatör (Anaerobic İndicator, Oxoid BR 55) anaerop jar içine yerleştirildi. Anaerop ortamın sağlandığı rengin beyaz renge dönüşmesi ile anlaşıldı. Paladyum katalizör her kullanım sonrası 160°C’de 1 saat süreyle sterilizatörde tutulmak suretiyle reaktifte edildi.

Klinik örneklerden tek koloni ekimi yapılarak 35°C-37°C ‘de inkübe edildi. Aerop kültürler 24-48 saat inkübe edildi. Anaerop besiyerleri en az 48 saat inkübe edildi. 48saatte üreme göstermeyen plaklar en az 5 gün inkübe edildi (10, 13).

3.1.4. Kültürlerin Değerlendirilmesi

a. Aerotolerans Testi

Anaerop besiyerinde üreyen şüpheli tüm koloniler hem çikolatamsı agara ekilip CO₂’li etüvde, hem de anaerop kanlı besiyerine ekilerek anaerop ortamda inkübe edildi. Çikolatamsı agarda üreme olmaması, anaerop kanlı besiyerinde üreme olması durumunda aerotolerans testi pozitif olarak değerlendirilerek, izolatın anaerop olduğu kabul edildi (11, 13).

b. İzolatların pasajı

Her bir farklı koloni morfortipi Gram Boyası ile boyanarak incelendi. Seçici olmayan anaerop kanlı agardaki koloni morfortipleri fakültatif ve zorunlu anaeroplara ile sıklıkla benzer koloni görünümüne sahip oldukları için selektif anaerop besiyerlerine saf pasajları yapıldı.

Primer plaklarda üreme yoksa Tiyoglikolatlı buyyon incelendi. Gram boyamada mikroorganizma görüldüğünde katı besiyerlerine pasajlar yapıldı (11,13).

c. İdentifikasyon Testleri

1. Ön İdentifikasyon

Tiplendirme amacıyla özel potensli antimikrobiyal diskler kullanıldı. AnBAP besiyerine pasajlanan saf izolatlara gram negatif anaerop bakteriler için kanamisin (1mg), kolistin (10µg), vankomisin (5 µg), rifampisin, penisilin, üre ve nitrat diskleri, gram pozitif koklar için SPS diskleri uygulandı (10, 11, 12,13).

a. Özel Potensli Antimikobiyal Diskler

Kanamisin (1mg), kolistin (10µg), vankomisin(5 µg) için inkübasyon sonrası inhibisyon zon çapının ≥ 10 mm olması duyarlı olarak değerlendirildi. Sonuçlar identifikasyon akış şeması ile değerlendirildi. Tür ve/veya cins düzeyinde ön identifikasyon yapıldı (11,12).

b. SPS (Sodium Polyanethol Sulfonate) Diski

Gram pozitif anaerop kok izole edildiğinde SPS'ye duyarlı olan *Peptostreptococcus anaerobius*'u identifiye etmek için SPS diskleri kullanıldı. SPS diskleri (1mg) gram pozitif bakteri pasajlanmış agar üzerine konarak anaerop şartlarda inkübe edildi. İnhibisyon zon çapı ≥ 12 mm ise duyarlı olarak değerlendirildi (11,12).

c. Floresans

Besiyeri üzerinde siyah pigmente koloniler Wood lambasında uzun dalga boylu UV ışığında (366nm) incelendi . Pigmente *Porphyromonas* spp. ve *Prevotella* spp.'nin identifikasyonu için floresans varlığı araştırıldı (11).

d. Nitrat Redüksiyon Testi

Nitrat diskleri AnBAP 'a yapılan saf pasajın en yoğun bölgesine konarak 37°C anaerop olarak inkübe edildi. 48 saat sonunda disk plaktan alınıp temiz bir petri veya lama konularak, üzerine bir damla nitrat A ve bir damla nitrat B damlatılarak 5 dakika bekletildi. Reagent ilavesinden sonra kırmızı renk oluşumu pozitif sonuç olarak tanımlandı. Renk oluşumu gözlenmeyen disk üzerine çinko tozu döküldü. Kırmızı renk oluşumu negatif sonuç olarak yorumlandı (11, 12).

e. Katalaz Testi

Anaeroplara için %15 'lik hidrojen peroksit kullanıldı. Plastik veya tahta bir öze ile lam üzerine alınan koloni üzerine bir damla H₂O₂ damlatıldı. Gaz baloncuklarının oluşması pozitif olarak yorumlandı (11).

f. Spot- İndol Testi

Triptofan içeren besiyerleri kullanıldı ve p-dimetylaminocinnemaldehide (DMCA) kullanıldı. Filtre kağıdına alınan bir koloni üzerine bir damla reagent

damlatıldığında 30 saniyede mavi veya yeşil renk oluşumunda test pozitif, pembe veya turuncu renk oluşumunda ise test negatif olarak değerlendirildi (11).

2. Diğer İdentifikasyon Testleri

Mikrobiyokimyasal sistemler; özel potensli antibiyotikler ile tanımlanamayan izolatlar tür ve cins düzeyinde identifikasyon için mikrobiyokimyasal testler uygulandı.

16 adet karbonhidrat ve üre, katalaz, jelatin, eskülin, indol'ü içeren toplam 21 adet biyokimyasal reaksiyonun test edilebildiği API 20A (bioMérieux, inc.) kullanıldı. 3 McFarland standardında hazırlanan bakteri süspansiyonu üreticinin talimatına göre kuyucuklara dağıtıldı. 24 Saat anaerop poşetlerde, 35°C'de inkübe edilerek, gerekli reagentler damlatıldı. Sonuçlar özel yazılım programının yüklendiği bilgisayarda değerlendirildi. API 20A mikrobiyokimyasal test sistemi için kalite kontrol suşu olarak *C.perfringens* (ATCC 13124) kullanıldı (12).

3.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Çalışmamızda elde ettiğimiz tüm izolatlar identifikasyon sonrası E-test yöntemi ile duyarlılık testi yapıldı.

E- test yöntemi:

Üretici firma'nın önerileri doğrultusunda uygulandı (AB, Biodisk, İsveç). Anaerop buyyon'da izolatın 1 McFarland bulanıklıkta süspansiyonu hazırlandı. Süspansiyon anaerop kanlı besiyerine yayıldıktan sonra E-test şeritleri yerleştirildi. Anaerop kavanozlarda 24-72 saat süreyle, 35°C'de inkübe edilerek değerlendirildi. Değerlendirmede eliptik inhibisyon zonunun şerit ile kesdiği nokta minimal inhibisyon konsantrasyonu (MiK) değeri olarak belirlendi. Kalite kontrol *B.fragilis* (ATCC 25285) ile yapıldı (66, 67).

Nitrosefin Testi

β -laktamaz aktivitesine kromojenik sefalosporinaz (nitrocefin, sticks, Oxoid, İngiltere) yöntemi ile bakıldı. En az 30 dakika beklenerek, kırmızı renk değişimi pozitif olarak değerlendirildi. Pozitif sonuç alındığında izolat penisilin G ve ampisiline dirençli kabul edildi (66).

3.3. Suşların Saklanması

Tüm anaerop izolatlar kaymağı alınmış süt tozu (skim milk) ile hazırlanmış vida kapaklı suş saklama tüpleri, gliserollü triptik soy Broth içeren boncuklu tüpler ve STGG besiyeri olmak üzere üç ayrı ortamda -70°C 'de saklandı.

STGG besiyerinin hazırlanışı (2.0g Skim milk, 3.0g tryptone soy broth, 0.5g glucose, 10ml glycerol 100ml distile suda çözündürülüp, otoklavlandıktan sonra 2ml'lik vidalı kapaklı tüplere dağıtıldı. $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı (68).

3. BULGULAR

Çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerop suşlar; geleneksel yöntemler ve API 20A (BioMerieux, Fransa) sistemiyle tanımlandı. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları E-test yöntemi ile, aerop izolatların tanımlanması Microscan WalkAway (Dade Behring, ABD) veya Phoenix (BD, ABD) otomatize identifikasyon sistemleriyle gerçekleştirildi.

Toplam 241 adet klinik örneğin aerop ve anaerop kültürü yapılmıştır. Anaerop isteği yapılan örneklerden 68'si (%28.2) enjektör ile, 95'i (%39.4) kan kültür şişesi (Bactec Plus Anaerop şişe, BD, ABD), 35'i (%14.5) steril burgulu kapaklı kap ile, 28'i (% 11.6) Port-a-Cul jar veya viyal transport sistem(BD, ABD) ile, 15'ü (%6.2)' ü eküvyonlu transport sistem (Stuart) ile laboratuvarımıza ulaştırılmıştır (tablo 4.1).

Port-a Cul ile gelen örneklerin14'ünde (%50), steril burgulu kapaklı kap ile gelen örneklerden 7'sinde (%20), eküvyonlu sistem ile gönderilen örneklerden 1'inde (%6.6), enjektör ile gelen örneklerin 4'ünde (%5.8), anaerop kan kültür şişesiyle gelen örneklerin 4'ünde (% 4.2)'sinde anaerop üreme gözlemlendi (tablo 4.1).

Tablo 4.1: Anaerop örneklerin transport yöntemleri ve üreme oranları

TRANSPORT TÜRÜ	Örnek sayısı ve %	ANAEROP Üreme sayısı ve %
Burgu kapaklı steril kap	35 (% 14.5)	7 (% 20)
Enjektör	68 (% 28.2)	4 (% 5.8)
Port-a-cul viyal/ jar	28 (% 11.6)	14 (% 50)
Transport besiyeri	15 (% 6.2)	1 (% 6.6)
Anaerop kan kültür şişesi	95(% 39.4)	4 (% 4.2)
TOPLAM	241	31(% 12.8)

Örneklerin 69'u (%28.6) apse (batıniçi, intrauterin, göz kapağı, boyun, Karaciğer, iliopsoas, gluteal..), 38'i (%15.7) steril vücut sıvısı (BOS, plevral mayi, göz içi sıvısı), 5'i (%2) püy, 3'ü (%1.24) diyabetik ayak, 4'ü (%1.6) Fornier gangreni, 2'si (%0.8) doku, 2'si(%0.8) rahim içi araç, 1'i (%0.4) apendektomi materyali ve 22'si (%9.1) yara yeri örneği idi. Toplam 241 örneğin 146'sı kan dışı örnek ve 95'i (%39.4) kan örneği idi (tablo 4.2).

Kan dışı 146 örneğin 27'sinde (%18.59) anaerop üreme saptandı. Üreme saptanan 27 örnekten 50 adet anaerop bakteri soyutlandı. Her bir anaerop üreme

başına 1.8 adet anaerop bakteri üremesi oldu.

Anaerop ve aerop kültür yapılan 241 örnekten üreme saptanan örneklerin 31'inde (% 12.9) anaerop, 17'sinde (%7) hem aerop hem de anaerop üreme saptandı. Üreme saptanan örneklerden toplam 169 mikroorganizma izole edilmiş olup bunların 54'i anaerop bakteri, 108'i aerop/ fakültatif anaerop bakteri ve 4'si Candida türü ve 3'ü küf idi.

69 apse örneğinden 14'ünde anaerop, 8'sinde aerop ve anaerop bakteri soyutlandı. Apse örneklerinde 29 anaerop bakteri ve 55 aerop bakteri izole edildi.

241 örnekten 95'i (%39.4) kan kültürü olarak laboratuvarımıza ulaştı ve 4'ünde (%4.2) anaerop üreme oldu. Bu örneklerden 18 aerop ve 4 anaerop bakteri üredi (tablo 4.2).

Tablo.4.2 Anaerop kültürü yapılan örnek türleri ve üreme oranları

Örnek türü	SAYI (%)	Sadece aerop üreyen kültür sayı (%)	Anaerop üreyen kültür sayı (%)	Aerop ve anaerop üreyen Kültür sayı (%)	Anaerop üreyen mo	Aerop üreyen mo	Üreme olmayan kültür sayısı
Apse	69 (28.6)	39(56.5)	14 (20.2)	8 (11.5)	29	55	16
Steril sıvı (kan dışı)	38 (15.7)	4(10.5)	1(2.6)	1(2.6)	2	8	33
Kan	95(39.4.)	13(13.6)	4(4.2)	1(1)	4	18	78
Püvy	5(2)	4	---	----		3	1
Diabetik ayak biyopsisi	3(1.24)	--	2	2	2	7	1
Fornier gangreni	4 (1.6)	--	4	3	8	3	-
Doku	2 (0.8)	--	---	----		6	2
RİA*	2 (0.8)	1	1	----	1	1	-
Apendektomi	1(0.4)		1	1	1	1	-
Yara yeri	22(9.1)	13(59)	4(18.1)	1(4.5)	7	13	5
Toplam	241	74 (30.7)	31 (12.9)	17 (7)	54	115	136(56.4)

*RİA:Rahim içi araç

Anaerop infeksiyon ön tanısı ile gönderilen apse örneklerinden 32'i gram negatif, 21'i gram pozitif ve 2'si maya olmak üzere toplam 55 adet aerop üreme gözlemlendi. Gram negatif bakterilerden en sık *E.coli* ve gram pozitiflerden en sık *S.aureus* izole edildi (tablo 4.3).

Tablo 4.3 Apse örneklerinde aerop üreyen mikroorganizmaların dağılımı

APSE ÖRNEKLERİ	GRAM NEGATİF BAKTERİLER SAYI							GRAM POZİTİF BAKTERİLER SAYI							MAYA	TOPLAM
	<i>K.pneumoniae</i>	<i>E.coli</i>	<i>A.baumannii</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>Proteus spp</i>	<i>Brucella sp</i>	<i>S.aureus</i>	KNS	<i>Enterococcus Spp.</i>	<i>Differoid</i>	<i>Listeriae</i>	<i>S.pneumoniae</i>	<i>C.albicans</i>		
Toplam =69																
Apse	2	3						3	1		1		1			11
İntrakranial apse	1							2	1							4
Boyun apsesi								1								1
Retroperitonel apse										1		1				2
AC apsesi			1	1												2
Pelvik apse		1							1	1						3
Uyluk apsesi								1								1
Meme apsesi			1							1						2
Batıniçi apse	2	4	2					3						1		12
Vulvar apse								1								1
İntrauterin apse/ Tubaovarian apse	1			1												2
Perianal- Perirektal apse	1	3		1		1										6
İliopsoas apse	2	1					1							1		5
Pankreas apsesi					1											1
Karaciğer apsesi										1						1
Gluteal apse		1														1
TOPLAM	9	13	4	3	1	1	1	11	3	4	1	1	1	2	55	
	32							21								2

Anaerop infeksiyon ön tanısı ile gönderilen steril vücut sıvılarının 11'i gram pozitif, 13'ü gram negatif ve 2'si küf mantarı olmak üzere toplam 26 aerop üreme gözlemlendi. Gram negatif bakterilerden en sık *E.coli* ve gram pozitiflerden en sık KNS ve *Enterococcus spp.* izole edildi (tablo 4.4)

Tablo 4.4. Steril vücut sıvısı örneklerinde üreyen aerop mikroorganizmaların dağılımı

STERİL VÜCUT SIVILARI	GRAM POZİTİF BAKTERİLER SAYI				GRAM NEGATİF BAKTERİLER SAYI					KÜF SAYI	TOPLAM
	<i>S.aureus</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	KNS	<i>Aerop sporlu basil</i>	<i>E.coli</i>	<i>Proteus sp</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>A.baumannii</i>	<i>H.influenzae</i>	<i>A.fumigatus</i>	
Batın İçi Mayi					1			1			2
AC mayi (plevral mayi)									1	2	3
BOS			1								1
Kan	1	4	2	1	6	3	1				18
Eklem Mayi	1		1								2
TOPLAM	2	4	4	1	7	3	1	1	1	2	26
	11				13					2	

Anaerop infeksiyon ön tanısı ile gönderilen diğer örnekler grubunda 17'si gram negatif, 14'ü gram pozitif ve 1'i küf, 2'i maya olmak üzere toplam 34 aerop mikroorganizma izole edildi. Gram negatif bakterilerden en sık *E.coli* ve gram pozitiflerden en sık KNS soyutlandı (tablo 4.5).

Tablo 4.5 Apse ve steril vücut sıvısı örnekleri dışındaki örneklerde üreyen aerop mikroorganizmaların dağılımı

DİĞER ÖRNEKLER	GRAM POZİTİFBAKTERİLER SAYI				GRAM NEGATİF BAKTERİLER SAYI					MANTAR SAYI		TOPLAM
	<i>S.aureus</i>	KNS	<i>Enterococcus sp</i>	Difteroid	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>Serratia</i>	<i>Proteus sp</i>	<i>A.baumannii</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>C.albicans</i>	
Yara Yeri	1	3	2		3	1	2			1		13
Doku	1	1	1						3			6
Püy	1				1						1	3
Diyabetik ayak		1	1	1	1	2		1				7
RİA*											1	1
Apendektomi					1							1
Fornier Absesi		1			2							3
TOPLAM	3	6	4	1	8	3	2	1	3	1	2	34
	14				17					3		

*RİA: Rahim içi araç

3 perianal apse, 4 yara yeri, 4 fornier absesi, 3 akciğer absesi, 2 diyabetik ayak biyopsisi, 4 kan ve birer adet meme absesi, batınıçi apse, inguinal apse, göz absesi, apendektomi materyali, boyun absesi, intrakraniyal apse, rahim içi araç, plevral sıvı, gluteal apse ve kaynağı bilinmeyen apse örneğinde anaerop üreme saptandı (tablo 4.6).

Toplam 241 örneğin 31'inde (%12.9) anaerop, 17'sinde (%7) aerop ve anaerop üreme saptandı. Anaerop üreme görülen örneklerin 10'unda (%32.2) 1, 21'inde (% 67.7) ise 2-3 farklı cinse ait anaerop bakteri üredi (tablo 4.6).

Anaerop kültürlerden toplam 54 adet anaerop bakteri izole edildi. Bunun 14'ü *Bacteroides* spp.(8 *B.fragilis* ve 6 *Bacteroides fragilis* dışı *Bacteroides fragilis* grup), 10'u *Porphyromonas* spp., 5'i *Prevotella* spp, 4'ü *Veilonella* spp., 1'i *Fusobacterium* sp., 10'i *Peptostreptococcus* spp., 3 'si *Propionibacterium* spp., 5'i *Clostridium* spp ve 2'si *Actinomyces* spp. idi (tablo4.6)

Tablo 4.6 Anaerop üreme olan 31 örneğe ait transport ve üreme bilgileri

No	Örnek Türü	Transport Şekli	Aerop Üreme	Anaerop Üreme
1	Meme apsesi	Enjektör	<i>E. faecalis</i> <i>A. baumannii</i>	<i>Porphyromonas</i> sp <i>Veilonella</i> sp
2	Akciğer apsesi	Enjektör	<i>A. baumannii</i> <i>H. influenzae</i>	<i>Porphyromonas</i> sp <i>Veilonella</i> sp
3	Batın içi apse	Port-A-Cul	<i>E. coli</i> <i>C. albicans</i>	<i>B. fragilis</i> <i>B. fragilis</i> grup
4	Akciğer apsesi	Burgulu Kapaklı	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. fragilis</i> grup <i>Fusobacterium</i> sp
5	İnguinal apse	Port-A-Cul		<i>Porphyromonas</i> sp <i>Propionibacterium</i> sp
6	Göz kapağı apsesi	Port-A-Cul		<i>Prevotella</i> sp <i>Peptostreptococcus</i> sp <i>B. corrodens</i>
7	Perianal apse	Port-A-Cul	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Porphyromonas</i> sp <i>Propionibacterium</i> sp
8	Yara yeri	Burgulu Kapaklı		<i>Veilonella</i> sp <i>Peptostreptococcus</i> sp
9	Perianal apse	Port-A-Cul	<i>E. coli</i>	<i>B. thetaiotaomicron</i> <i>A. neaslundi</i>
10	Apendektomi	Port-A-Cul	<i>E. coli</i>	<i>B. fragilis</i>
11	Yara yeri	Port-A-Cul		<i>Porphyromonas</i> sp <i>Peptostreptococcus</i> sp
12	Boyun apsesi	Port-A-Cul		<i>Peptostreptococcus</i> sp <i>Prevotella</i> sp
13	Kan	Bactec Şişesi		<i>Peptostreptococcus</i> sp
14	Diyabetik ayak	Port-A-Cul	<i>E. faecalis, P. aeruginosa</i>	<i>Veilonella</i> sp
15	Kan	Bactec Şişesi		<i>B. fragilis</i>
16	Diyabetik ayak	Port-A-Cul	<i>Corynebacterium</i> sp	<i>C. perfringens</i>
17	Apse	Port-A-Cul		<i>Peptostreptococcus</i> sp <i>Prevotella</i> sp <i>B. fragilis</i>
18	Fornier gangreni	Burgu Kapaklı	<i>E. coli</i>	<i>Prevotella</i> sp <i>Porphyromonas</i> sp
19	Fornier gangreni	Burgu Kapaklı		<i>Porphyromonas</i> sp <i>B. fragilis</i> grup
20	İntrakranial apse	Enjektör		<i>Peptostreptococcus</i> sp <i>C. putrificium</i>
21	Yara yeri	Port-A-Cul		<i>C. tetani</i>
22	Rahim içi araç	Burgu Kapaklı		<i>A. israelii</i>
23	Plevral sıvı	Port-A-Cul	<i>A. fumigatus</i>	<i>Peptostreptococcus</i> sp <i>Prevotella</i> sp
24	Perianal apse	Port-A-Cul	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. fragilis</i> <i>Porphyromonas</i> sp
25	Gluteal apse	Port-A-Cul		<i>C. butyricum</i> <i>Porphyromonas</i> sp
26	Fornier gangreni	Burgu Kapaklı	<i>E. coli</i>	<i>B. fragilis</i> <i>Porphyromonas</i> sp
27	Fornier gangreni	Burgu Kapaklı	Koagulaz negatif stafilokok	<i>B. fragilis</i> <i>C. clostridioforme</i>
28	Kan	Bactec Şişesi	Enterococcus sp	<i>Peptostreptococcus</i> sp
29	Kan	Bactec Şişesi		<i>Propionibacterium</i> sp
30	Akciğer apsesi	Port-A-Cul	<i>S. aureus</i>	<i>B. fragilis</i>
31	Yara yeri	Transport besiyeri	<i>E. coli, Serratia</i> sp.	<i>B. urealyticus</i> <i>Peptostreptococcus</i> sp.
			Toplam = 22	Toplam = 54

34 gram negatif ve 17 gram pozitif toplam 51 anaerop bakteriye E-test ile antibiyotik duyarlılık testi yapıldı (Tablo 4.7).

Bacteroides fragilis suşlarında, metronidazol ve imipenem için direnç oranları 1/8, sefoksitin için 2/8, klindamisin için 5/8 olarak saptandı. Birer suş da sefoksitin, klindamisin ve tigesikline orta derecede duyarlı olarak saptandı. Tüm izolatlar linezolid ve tikarsilin-klavulonik asite duyarlı bulundu (tablo 4.7).

Bacteroides fragilis dışı BFG suşları imipenem, tikarsilin-klavulonik asit ve linezolide %100 duyarlı bulundu. Tigesiklin ve metronidazole birer suş dirençli bulundu. Suşların yarısı klindamisine dirençliydi. Sefoksitin ve klindamisine 1/6 oranında orta derecede duyarlılık saptandı (tablo 4.7).

Prevotella ve *Porphyromonas* suşlarının tümü sefoksitin, tigesiklin, imipenem, tikarsilin-klavulonik asit ve linezolide duyarlı bulundu. *Prevotella* spp.'de metronidazol'e 1/5 ve klindamisin'e 2/5 direnç saptandı (tablo 4.7).

Porphyromonas suşlarında metronidazol'e 2/10 ve klindamisin'e 3/10 direnç saptandı (tablo 4.7).



Şekil. 4.1: *Porphyromonas* sp.; vankomisin duyarlı, kanamisin, kolistine dirençli, gram negatif basil

Veilonella spp. tigesiklin, imipenem, tikarsilin-klavulonik asit, metronidazol ve linezolide duyarlı, sefoksitine 1/4 ve klindamisine 2/4 direnç saptandı (tablo 4.7).

İzole edilen tek *Fusobacterium* sp. tigesiklin, imipenem, tikarsilin-klavulonik asit, sefoksitin, metronidazol ve linezolide duyarlı, klindamisine dirençli bulundu (MIC > 256 µg/ml).

Anaerop gram pozitif 20 bakteri izole edildi. Bunların 17'sine antibiyotik duyarlılık testi yapıldı. *Peptostreptococcus* spp. için sefoksitin, tigesiklin, imipenem,

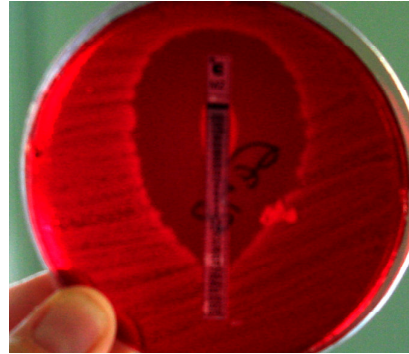
tikarsilin-klavulonik asit ve linezolid'e duyarlı olarak saptanmıştır. Metronidazole 5/10 ve klindamisine 2/10 direnç saptanmıştır (tablo 4.7).



Şekil. 4.2: *P.anaerobius*; vankomisin duyarlı, 12mm'den büyük zon çapı olan SPS

3 *Propionibacterium* spp. izole edilmiş, kanda üreyen *Propionibacterium acnes* suşuna kontaminant olarak değerlendirilerek antibiyotik duyarlılık testi yapılmamıştır. Suşların hepsi sefoksitin, tigesiklin, imipenem, klindamisin, tikarsilin-klavulonik asit ve linezolide duyarlı bulunmuş, metronidazole 1/2 oranında direnç saptanmıştır (tablo 4.7).

5 *Clostridium* suşunun 4'üne antibiyotik duyarlılık testi yapıldı. Suşların hepsi sefoksitin, tigesiklin, imipenem, klindamisin, tikarsilin-klavulonik asit ve linezolide duyarlı bulundu. Metronidazole ve sefoksitine 1/4 oranında direnç saptandı (Tablo 4.7).



Şekil. 4.3. *C.perfringens*'in E-test yöntemi ile yapılan duyarlılık testi

Antibiyotik duyarlılık testi yapılan bir *Actinomyces* suşu sefoksitin, tigesiklin, imipenem, klindamisin, tikarsilin-klavulonik asit, linezolid ve metronidazole duyarlı bulundu (tablo 4.7).

Bacteroides grubu bakterilerin 8'i *Bacteroides fragilis* ve 6'sı *Bacteroides fragilis* dışı BFG olarak tanımlandı. β -laktamaz üretimi *B.fragilis* suşlarının 7/8'inde ve *Bacteroides fragilis* dışı BFG için 4/6'sında saptandı. *Bacteroides* suşları bir arada değerlendirildiğinde 11/14'inde β -laktamaz saptandı.

Prevotella suşlarının 3/5'inde, *Porphyromonas* suşlarının 1/10'unda, *Peptostreptococcus* suşlarının 1/10'unda ve *Clostridium* suşlarının 1/5'inde, tüm anaerop izolatların (% 31.48) 17/54'sinde β - laktamaz varlığı tespit edildi (Tablo 4.7).

Tablo. 4.7. Anaerop klinik izolatların antibiyotik duyarlılık sonuçları

Bakteri (sayı) (β-laktamaz oranı)	MİK (µg/ml)			Duyarlı n	ODD n	Dirençli n
	Aralık	% 50	% 90			
<i>B. fragilis</i> grup (14) (β-laktamaz oranı 11/14)						
Tikarsilin/klavulonat	<0.016-12	0.125	4	14/14	0	0
Sefoksitin	0.094-256	8	24	10/14	2/14	2/14
İmipenem	0.047-32	0.25	1	13/14	0	1/14
Klindamisin	<0.016-256	256	256	4/14	2/14	8/14
Metronidazol	<0.016-256	0.125	4	12/14	0	2/14
Linezolid	0.064-1.5	0.50	1	14/14	0	0
Tigesiklin	0.064-16	0.50	3	12/14	1/14	1/14
<i>B. fragilis</i> (8) (β-laktamaz oranı 7/8)						
Tikarsilin/klavulonat	<0.016-12	0.125	6	8/8	0	0
Sefoksitin	0.25->256	3	64	5/8	1/8	2/8
İmipenem	0.094-32	0.25	1	7/8	0	1/8
Klindamisin	<0.016-256	256	256	2/8	1/8	5/8
Metronidazol	<0.016-256	0.125	0.38	7/8	0	1/8
Linezolid	0.19-1	0.25	0.75	8/8	0	0
Tigesiklin	0.19-12	0.5	3	7/8	1/8	0
<i>B. fragilis</i> dışı BFG (6) (β-laktamaz oranı 4/6)						
Tikarsilin/klavulonat	0.016-0.5	0.125	0.38	6/6	0	0
Sefoksitin	0.094-24	8	12	5/6	1/6	0
İmipenem	0.047-1	0.19	0.5	6/6	0	0
Klindamisin	0.023->256	4	>256	2/6	1/6	3/6
Metronidazol	0.032->256	0.125	4	5/6	0	1/6
Linezolid	0.064-1.5	0.75	1.5	6/6	0	0
Tigesiklin	0.064-16	0.125	2	5/6	0	1/6
<i>Prevotella</i> spp. (5) (β-laktamaz oranı 3/5)						
Tikarsilin/klavulonat	<0.016-6	<0.016	0.094	5/5	0	0
Sefoksitin	0.125-1.5	0.19	1	5/5	0	0
İmipenem	0.064-0.38	0.094	0.25	5/5	0	0
Klindamisin	<0.016-256	<0.016	8	3/5	0	2/5
Metronidazol	<0.016-32	0.032	0.25	4/5	0	1/5
Linezolid	0.19-2	0.25	0.5	5/5	0	0
Tigesiklin	0.064-1.5	0.38	1	5/5	0	0
<i>Porphyromonas</i> spp.(10) (β-laktamaz oranı 1/10)						
Tikarsilin/klavulonat	<0.016-0.75	<0.016	0.064	10/10	0	0
Sefoksitin	<0.016-12	0.25	4	10/10	0	0
İmipenem	0.047-0.38	0.064	0.19	10/10	0	0
Klindamisin	0.016->256	0.5	>256	7/10	0	3/10
Metronidazol	<0.016-256	0.07	>256	8/10	0	2/10
Linezolid	<0.016-1.5	0.19	1.5	10/10	0	0
Tigesikli	<0.016-1	0.25	1	10/10	0	0

Tablo. 4.7. Anaerop klinik izolatların antibiyotik duyarlılık sonuçları- devamı

Bakteri (sayı) (β-laktamaz %)	MİK (µg/ml)			Duyarlı n (%)	ODD n (%)	Dirençli n (%)
	Aralık	% 50	% 90			
<i>Veilonella</i> spp. (4) (β-laktamaz oranı 0)						
Tikarsilin/klavulonat	<0.016-6	0.023	0.5	4/4	0	0
Sefoksitin	0.094-256	1.5	8	3/4	0	1/4
İmipenem	0.094-0.5	0.19	0.32	4/4	0	0
Klindamisin	<0.016-256	0.38	8	2/4	0	2/4
Metronidazol	0.023-2	0.094	0.19	4/4	0	0
Linezolid	0.25-1.5	0.50	1	4/4	0	0
Tigesiklin	0.125-1.5	0.50	1	4/4	0	0
<i>Peptostreptococcus</i> spp.(10) (β-laktamaz oranı 1/10)						
Tikarsilin/klavulonat	0.016-2	0.016	0.38	10/10	0	0
Sefoksitin	0.032-4	1.5	4	10/10	0	0
İmipenem	0.032-0.38	0.094	0.19	10/10	0	0
Klindamisin	0.047->256	0.19	>256	8/10	0	2/10
Metronidazol	0.016->256	0.25	>256	5/10	0	5/10
Linezolid	0.19-1.5	0.5	1	10/10	0	0
Tigesiklin	0.064-1.5	0.5	1.5	10/10	0	0
<i>Propionibacterium</i> spp(3*) (β-laktamaz oranı 0)						
Tikarsilin/klavulonat	0.016-1.5			2/2	0	0
Sefoksitin	0.19-6			2/2	0	0
İmipenem	0.064-0.38			2/2	0	0
Klindamisin	0.047-0.32			2/2	0	0
Metronidazol	4-256			1/2	0	1/2
Linezolid	0.064-0.25			2/2	0	0
Tigesiklin	0.25-1.5			2/2	0	0
<i>Clostridium</i> spp. (5*) (β-laktamaz oranı 1/5)						
Tikarsilin/klavulonat	0.016-2	0.016	0.064	4/4	0	0
Sefoksitin	0.38-256	0.5	2	3/4	0	1/4
İmipenem	0.125-4	0.125	0.75	4/4	0	0
Klindamisin	0.016-2	0.064	2	4/4	0	0
Metronidazol	0.19-256	0.19	0.25	3/4	0	1/4
Linezolid	0.19-1	0.5	1	4/4	0	0
Tigesiklin	0.064-3	1	1.5	4/4	0	0
Tüm anaeroplara (51*) (β-laktamaz oranı 17/54 ^{&})						
Tikarsilin/klavulonat	0.016-12	0.047	2	51/51	0	0
Sefoksitin	0.016-256	1.5	24	45/51	2/51	4/51
İmipenem	0.032-32	0.125	0.75	50/51	0	1/51
Klindamisin	0.016-256	0.5	256	31/51	2/51	18/51
Metronidazol	0.016-256	0.125	256	39/51	0	12/51
Linezolid	0.016-2	0.5	1.5	51/51	0	0
Tigesiklin	0.016-16	0.5	2	49/51	1/51	1/51

*1 *Propionibacterium*, 1 *Clostridium* ve 1 *Actinomyces* izolatına antibiyotik duyarlılık testi yapılmadı. [&]Tüm izolatlara (n=54) ait orandır.

5. TARTIŞMA

Anaerop bakteriler insan ve hayvan patojenleri arasında önemli yere sahip olup, ciddi hatta fatal seyirli infeksiyonlara neden olabilen mikroorganizmalardır. Anaerop bakterilerin izolasyonu güç ve zaman alıcı olsa da kültür altın standarttır. Anaerop bakterilerin izolasyon, tanımlanma ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde hala bazı sorunlar bulunmaktadır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarında anaerop bakterilerin soyutlanabilmesi için örnek alımı ve taşınması, besiyeri seçimi, besiyeri kalitesi ve inkübasyon koşulları gibi tüm faktör ve aşamaların optimum düzeyde tutulması önemlidir (5, 6, 10, 69).

Çalışma süresince toplam 241 adet klinik örneğin anaerop kültürü yapılmıştır. En çok örnek anaerop kan kültür şişesine alınmış olarak gönderilmiştir. Diğer örneklerin önemli bir kısmı enjektöre alınmış olarak laboratuvarımıza ulaştırılmıştır. Bu tür örnekler için temin ettiğimiz Port-a-Cul sistemi nispeten daha az tercih edilmiştir. Tüm örneklerin %12.9'unda anaerop bakteri üremesi olmuştur (tablo 4.2). En yüksek üreme oranının Port-a-Cul sistemine alınmış olan örneklerde (%50) olması dikkat çekicidir. Çalışmamızda, Port-a-Cul sisteminin yerine tercih edilen enjektör ve steril kap ile gelen örneklerde çok daha düşük oranlarda anaerop üreme gözlenmiştir (sırasıyla %5.8 ve %20). Eküvyonlu transport sistemiyle gelen örneklerin ise sadece birinden (%6.6) anaerop bakteri soyutlanabilmiştir (Tablo 4.1). Anaerop kültürü yapılacak örneklerin taşıma ortamı ve süreleri ile ilgili kurallara uymak kültürde üretme şansını ciddi oranda arttırmaktadır. Klinik örnekteki anaeroplara en az 24 saat süreyle canlı tutabildiği gösterilmiş olan Port-a-Cul ve benzeri sistemler, anaerop örneklerin taşınmasında önerilmektedir (70,71). 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 faktörlere de büyük ölçüde bağlıdır (11-13,69). Yaptığımız çalışmada anaerop kan kültürlerinin %4.2'sinde anaerop üreme saptanmıştır (Tablo 4.1). Genel olarak anaerop kan kültürlerinde anaerop üreme oranları %0.5 ile %9 arasında değişmektedir (72). Torun ve ark (73) anaerop kan kültürü yapılan 871 örnekten %0.8 oranında anaerop bakteri soyutlamışlardır. Anaerop kültür yaptığımız klinik örnekler arasında anaerop üreme oranları en yüksek olanlar; Fornier gangreni (4/4), apse (14/69) ve yara yeri (4/22) olarak tespit

edilmiştir (Tablo 4.2). Genel olarak apse ve yara yeri örnekleri, anaeroplara en sık izole edildiği örnekler arasında yer almaktadır (10, 11).

Çalışmamızda örneklerin %7'sinde hem anaerop hem de aerop, %5.8'inde sadece anaerop, %30.7'sinde sadece aerop üreme saptanmıştır. Örneklerin %56.4'ünde üreme olmamıştır (Tablo 4.2). Erciş ve ark. (74) anaerop kültür yapılan 367 örneğin %20.5'inde aerop ve anaerop birlikte üremesi, %7.6'sında sadece anaerop üreme saptamışlardır. Durmaz ve ark. (75) 114 örnekte %17.5 ve %24.6, bir diğer çalışmada (76) ise 91 örnekte %31.9 ve %12.1 oranında sırasıyla aerop-anaerop üreme ve sadece anaerop üreme bildirmişlerdir. Bizdeki nispeten düşük üreme oranları kan kültürlerinin fazlalığına bağlı olabilir. Kan kültürleri bizim çalışmamızda örneklerin yaklaşık %40'ını oluştururken, Erciş ve ark.'nın (74) ve Durmaz ve ark.'nın (76) çalışmalarında örneklerin sırasıyla sadece %1.4 ve %5.5'ini kan kültürleri oluşturmuştur. Adı geçen çalışmalarda en çok kültürü yapılan örnekleri apse ve yara yeri gibi anaerop üreme şansı daha yüksek olan örnekler oluşturmuştur (74, 76). Ayrıca çalışmamızda aerop ve/veya anaerop üreme olmayan örnek sayısı nispeten fazla idi (%56.4). Buna karşın aerop ve/veya anaerop üreme olmayanların oranını Erciş ve ark.(74) ve Durmaz ve ark.(76) sırasıyla %32.7 ve %25 olarak bildirmişlerdir. Örnek alımı ve taşınmasındaki uygunsuzluk, örnek almadan önce empirik antibiyotik tedavisi gibi faktörler de anaerop üreme oranını etkilemiş olabilir (11-13).

Ayrıca çalışmamızda anaerop üreme saptanan 31 örnekte 54 adet anaerop bakteri soyutlanmış olup, bunların 10'unda (%32.3) bir, 21'inde (%67.7) birden fazla anaerop bakteri üremiştir. En fazla *Bacteroides fragilis* grup (n:14), *Porphyromonas* spp. (n:10) ve *Peptostreptococcus* spp. (n:10) soyutlanmıştır (Tablo 4.2 ve Tablo 4.6). *B. fragilis* grup üyeleri anaerop kültür yapılan örneklerden en sık soyutlanan bakterilerdir (10,13). *Bacteroides* izolatlarının çoğu diyafram altı örneklerden soyutlanmıştır. Anabilim dalımızda 1994-1995 yılları arasında Şengül (77) tarafından yapılan doktora tez çalışmasında *B. fragilis* grup üyelerinin, peptostreptokoklardan sonra en sık soyutlanan anaeroplara olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda anaerop izolatlar arasında *Peptostreptococcus* türleri ile birlikte ikinci sırada yer alan *Porphyromonas* türlerinin çoğu perine/perianal bölgeden olup bunlardan üçü Fornier gangreninden izole edilmiştir. *Porphyromonas* türleriyle

yakın ilişkili olan *Prevotella* türleri nispeten daha az sayıda (n:5) soyutlanmıştır. Pigmente *Prevotella-Porphyromonas* türleri tüm dünyada anaeroplarda arasında genel olarak *Bacteroides* türlerinden sonra en sık soyutlanan bakterilerdir (10). Bahar ve ark. (78) diyabetik ayak örneklerinden en sık *Porphyromonas* türlerini izole ettiklerini bildirmişlerdir. Şengül'ün (77) çalışmasında ise *Porphyromonas* suşları 75 anaerop suşun sadece 3'ünü oluşturmuştur. Bizim çalışmamızda izolatlarımız arasında *Porphyromonas* türleri ile birlikte ikinci sırada yer alan *Peptostreptococcus* türleri, anaerop infeksiyonlarda sıklıkla izole edilen bakterilerdir (10). Ülkemizde yapılan çalışmalarda gram pozitif anaerop koklar genellikle *Bacteroides* türlerinden sonra en fazla izole edilen anaerop bakterilerdir (50,74,75). Genel bir değerlendirme yapacak olursak çalışmamızda soyutladığımız anaeroplarda cins-tür dağılımları literatür bilgileriyle örtüşmektedir.

Anaerop izolatların rutin antibiyotik duyarlılık testi dünyanın birçok yerinde nadiren uygulanmaktadır. Anaeroplarda üretmenin zorluğu, maliyetinin yüksekliği ve teknik alt yapının yetersizliği gibi nedenlerle, klinik açıdan anaerop olduğu düşünülen infeksiyonlarda genellikle empirik antibiyotik tedavisine baş vurulmaktadır. Buna karşın *B. fragilis* grup başta olmak üzere anaerop bakteriler arasında antibiyotik direnci, direnç genlerinin yayılması ve dirençli suşların neden olduğu infeksiyonlarda uygunsuz tedaviye bağlı klinik başarısızlıklar ile ilgili veriler son yıllarda artan sıklıkta bildirilmektedir (41,79). Artan direnç sorunu nedeniyle CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), antibiyotiklere duyarlılık profili öngörülemez ve oldukça virulan olan *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Clostridium* türleri ile *Bilophila wadsworthia* ve *Sutterella wadsworthensis*'e antibiyotik duyarlılık testi yapılmasını tavsiye etmektedir. Ayrıca beyin apsesi, endokardit, bakteremi, osteomyelit, artrit, protez/greft infeksiyonları gibi steril vücut bölgelerine ait infeksiyonlardan anaerop bakteri soyutlandığında da antibiyotik duyarlılık testi yapılması gerektiği belirtilmektedir. Duyarlılık testi yapılmasını gerektirebilecek diğer endikasyonlar arasında tedavide başarısızlık, belirli bölge veya hastanede periyodik olarak duyarlılık profilinin izlenmesi, yeni bir antibiyotik test edilmesi sayılabilir (10,13,79). Anaerop izolatların antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılacak antibiyotikler izolatın cins ve türüne, β -laktamaz üretip üretmemesine, izole edildiği yere göre değişiklikler gösterse de genel olarak penisilin (veya

ampisilin), β -laktamaz inhibitörlü penisilinler, sefoksitin, imipenem (veya diğer karbapenemlerden biri), klindamisin, kloramfenikol ve metronidazol önerilmektedir (27, 79).

Anaeroplarda antibiyotik duyarlılık testinde referans yöntem olarak agarda dilüsyon testi kabul edilmektedir. Ancak, agarda dilüsyon zahmetli bir yöntemdir ve az sayıda izolat test edilmek istendiğinde pratik değildir. Aerop bakterilerde yaygın olarak kullanılan ve referans test olan 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 izolatin test edilmesinde önerilen, oldukça pratik ve güvenilir bir yöntemdir (10,13,41,79). Çalışmamızda da izolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde E test kullanılmıştır.

Çalışmamızda tüm anaerop izolatlar arasında 17/54 oranında β -laktamaz üretimi gözlenmiştir. Beklendiği gibi β -laktamaz üretimi en fazla *B. fragilis* grubunda saptanmıştır (11/14) (Tablo.4.7). Yapılan çeşitli çalışmalarda *B. fragilis* grubunda yer alan bakterilerin %76-100 oranında β -laktamaz ürettiği bildirilmiştir. Ülkemizde ise çeşitli çalışmalarda bu oran %72 ile %96 arasında değişmektedir (27). *B. fragilis* grubu bakterilerin penisilin ve ampisiline direncinde en yaygın mekanizma β -laktamaz üretimidir. Bu β -laktamazların çoğu, β -laktamaz inhibitörleri ile inhibe olmaktadır. Diğer direnç mekanizmalarından penisilin bağlayıcı proteinlerde (PBP) değişiklik ve porin geçirgenliğinde azalma oldukça nadir gözlenmektedir (79). Çalışmamızda, test ettiğimiz β -laktam/ β -laktamaz inhibitörü kombinasyonu olan tikarsilin/klavulonata karşı hiçbir izolatta direnç saptanmazken, bu antibiyotik için duyarlılık sınır değerinin oldukça altında MİK₉₀ değeri elde edilmiştir (32 μ g/ml'ye karşılık 2 μ g/ml). Snyderman ve ark. (30) 1997-2000 yılları arasında izole edilen 2673 adet *B. fragilis* grubu bakteride tikarsilin/klavulonata direnç oranını ve MİK₉₀ değerini %1.2 ve 16 μ g/ml olarak bildirmişlerdir. Behra-Miellet ve ark. (80) çalışmalarında 359 *B. fragilis* grup izolatin %2.2'sini tikarsilin/klavulonata dirençli bulmuşlardır. Birçok çalışmada *B. fragilis* grupta β -laktam/ β -laktamaz inhibitör kombinasyonlarına direncin oldukça düşük düzeyde (genellikle %2'nin altında) olduğu bildirilmektedir (41).

Sefalosporin grubu antibiyotikler, sefamisinler (sefoksitin, sefotetan) ve seftizoksim hariç anaeroplara karşı genellikle zayıf etkinliğe sahiptir. *B. fragilis* grubunda sefoksitin direncinin 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 (29, 30, 41, 80, 81). Bizim elde ettiğimiz sonuçlar yukarıdaki verilerle uyumludur. Buna göre *B. fragilis* grup suşlarında 2/14 oranında sefoksitin direnci saptanırken, *Prevotella* ve *Porphyromonas* suşlarında sefoksitin direnci saptanmamıştır (Tablo 4.7). Ülkemizde yapılan bir çalışmada (36), *B. fragilis* grubuna ait 138 suşun %81.8'i sefoksitine dirençli bulunmuştur. Yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde bu bakteri grubunda birbirinden oldukça farklı sefoksitin direnç oranları (%3-89) gözlenmektedir (27).

Anaerop bakteriler arasında karbapenem grubu antibiyotiklere (imipenem, meropenem, ertapenem) direnç gelişimi oldukça nadir gözlenmektedir. Direnç gelişimi metallo β -laktamaz, porin direnci veya PBP'lerdeki değişime bağlı olabilir. Tüm dünyada *B. fragilis* grup suşları arasında imipeneme %0-2 arasında direnç bildirilmiştir (1,29,30,80-85). Çalışmamızda batın içi apse materyalinden soyutladığımız bir *B. fragilis* suşu dışında hiçbir izolatta imipenem direnci gözlenmemiştir (Tablo 4.7). Bu izolatın diğer antibiyotiklere duyarlı olarak değerlendirilmesi, direncin efluks pompası yada porin kaybı nedeniyle olabileceğini akla getirmektedir. Ülkemizde, Ülger ve ark. (86) 45 adet *B. fragilis* grup suşlarının ikisinde imipenem direnci tespit etmişlerdir. Torun ve ark. (36) ise 138 *B. fragilis* grup suşunda imipenem direncine rastlamamışlardır.

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 genellikle mobil genetik yapılarda (plasmid ve transpozon) lokalize olduğundan bakteriden bakteriye kolayca aktarılabilir (41). Klindamisin direnci günümüzde anaeroplarda arasında artış gösterme eğilimindedir. Son yirmi yılda özellikle *B. fragilis* grup üyeleri arasında klindamisin direnci tüm dünyada önemli boyutlara ulaşmış olup

çoğu çalışmalarda %10-40 direnç oranları elde edilmiştir. Bu nedenle klindamisin anaerop infeksiyonların empirik tedavisinde artık önerilmemektedir (1,29,30,41,81). 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 (41,80,85,87). *Bacteroides* dışındaki anaeroplarda klindamisine direnç nispeten daha düşük oranlarda seyretmekle birlikte son yıllarda direnç oranlarında artışa dikkat çekilmektedir. *Prevotella*, *Fusobacterium* ve *Porphyromonas* suşlarının ortalama %10'unda, peptostreptokok suşlarının ise %7-20'sinde klindamisine direnç gözlemlendiği bildirilmektedir (41,79). Çalışmamızda *B. fragilis* grup suşlar arasında oldukça yüksek oranda (8/14) klindamisin direncine rastlanmıştır. İlginç olarak *B. fragilis* suşları, *B. fragilis* dışı *Bacteroides* suşlarına göre klindamisine daha dirençli bulunmuştur (5/8'e karşılık 3/6). Çalışmamızda soyutlanan *Bacteroides* dışı suşlardan *Veilonella*, *Prevotella*, *Porphyromonas* ve peptostreptokok suşlarının *Bacteroides* suşları kadar olmasa da yukarıda belirtilen çalışmalara göre daha yüksek oranlarda klindamisin direnci göstermesi dikkat çekicidir (Tablo 4.7). Diğer taraftan ülkemizde *B. fragilis* grup üyelerinde %3.6-55, *Bacteroides* dışı gram negatif anaeroplarda %0-42 ve peptostreptokoklarda %18-21 oranlarında bildirilen direnç değerleri dikkate alındığında, bizim çalışmamızda saptadığımız direnç oranlarının ülkemiz verileriyle uyumlu olduğu görülecektir (27). Ayrıca saptanan bu yüksek direnç oranları, suşların az sayıda olmasına, bölgesel farklılığa ve ülkemizde linkozamid grubu antibiyotiklerin yaygın kullanımına bağlı olabilir.

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 gerekir. Plazmid veya kromozomal kaynaklı olabilen *nim* genleri (*nimA-G*) tarafından kodlanan nitroimidazol redüktaz enzimi, metronidazol direncinde en önemli mekanizmayı oluşturmaktadır. Bakterinin ürettiği nitroimidazol redüktaz enzimi, ilacın normal redüksiyonunu sağlayan ferredoksinle yarışarak prodrugun 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 (41,79). Snyderman ve ark. (82), ABD’de 1997-2004 dönemini kapsayan *B. fragilis* grupla ilgili ulusal izlem çalışmasında 5,225 suştan sadece birini metronidazole dirençli bulmuşlardır. Batı Avrupa, Ortadoğu, Asya, Afrika ve Kanada’dan ise seyrek de olsa metronidazole dirençli *Bacteroides* türleri giderek artan sıklıkta bildirilmektedir. Metronidazol direnci, başta *P. acnes* ve *Actinomyces* türleri olmak üzere en fazla sporsuz gram pozitif anaerob basillerde gösterilmiştir. Anaerob gram pozitif kokların ise %5-10’unun metronidazol direnç gösterdiği ortaya konmuştur (41). Ülkemizde metronidazol direncine ait veriler oldukça değişkenlik göstermektedir. *B. fragilis* grup üyelerinde %0-37.5, peptostreptokoklarda %12.5-23 oranlarında direnç değerleri bildirilmiştir (27,36,50,88). Çalışmamızda *Bacteroides fragilis* grubundaki 14 suşun ikisinde, 5 *Prevotella* suşunun birinde ve 10 *Porphyromonas* suşunun ikisinde metronidazole direnç gözlenmiştir. Metronidazol direnci en fazla peptostreptokok suşlarında saptanmıştır (5/10). Diğer gram pozitiflerden antibiyotik duyarlılık testi yapılan iki *Propionibacterium* ve 4 *Clostridium* suşları arasında metronidazol dirençli birer tane suş tespit edilmiştir (tablo 4.7). Ülkemize ait yüksek düzey metronidazol direnç verileri irdelenmeye değer olsa gerektir. İntraabdominal ve intrapelvik operasyonlar gibi birçok cerrahi girişim öncesi nitroimidazol türevlerinin infeksiyon profilaksisinde yaygın kullanılıyor olması yüksek direnci tek başına açıklamaya yetmeyebilir. Çünkü, bu antibiyotikler tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Akılda tutulması gereken belki de en önemli olasılık, metronidazol E-testinin test koşullarından ve besiyeri kalitesinden büyük ölçüde etkileniyor olması ve bunun sonucunda yalancı direnç gözlenmesidir (79). Bu nedenle özellikle E testle dirençli olduğu saptanan izolatta bu direnç agar dilüsyonla doğrulanmalı veya besiyeri kalitesi, inkübasyon şartları vb faktörler dikkate alınarak E-test tekrarlanmalıdır. Teste mutlaka uygun standart suş dahil edilmelidir. Ayrıca ülkemizde paraziter infeksiyonların nispeten sık görülmesi nedeniyle antiparaziter ilaç olarak da kullanılması yüksek direnci belirleyen faktörlerden biri olarak akla gelmektedir. Ülkemizde görülen yüksek düzeyde metronidazol direnci ayrıca dirençli klonların yaygınlığına ve buna bağlı bölgesel

farklılıklara veya henüz ortaya konmamış fakat yaygın olan başka bir direnç mekanizmasına bağlı olabilir.

Linezolid, yeni bir sınıf olan oksazolidinonların ilk üyesidir. Bakteri ribozomunun 50S alt ünitesine bağlanarak bakteride protein sentezini engellemektedir. Daha çok aerop gram pozitif koklara karşı test edilen linezolidin anaerop bakterilere karşı etkinliği ile ilgili veriler nispeten az sayıdadır. Aerop bakterilere benzer şekilde, linezolidin gram pozitif anaeroplara karşı gram negatif anaeroplara göre daha iyi etkinliğinin olduğu bildirilmektedir. Genel olarak gram negatif anaeroplarda daha yüksek MİK₉₀ değerleri saptanmakla birlikte elde edilen MİK değerleri yine de duyarlılık sınırları içinde kalmakta, linezolid direnci nadir olarak görülmektedir (89). Belçika'da yapılan ve 2003-2005 yıllarına ait toplam 443 gram negatif ve pozitif anaerop suşun duyarlılık profilinin araştırıldığı bir süveyans çalışmasında tüm anaeroplarmın %1'inin linezolide dirençli olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada linezolidin MİK₉₀ değerinin 4µg/ml olduğu, MİK aralığının ise 0.03-16 µg/ml arasında değiştiği gösterilmiştir. Linezolide direncin sadece altı suşta (*B. fragilis*, *B. ovatus*, *B. uniformis*, *B. wadsworthia*, *Eubacterium* sp, *Clostridium subtermina*) görüldüğü bildirilmiştir (81). Linezolidin, *Fusobacterium* suşlarına karşı etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada ise suşların hiçbirinde direnç gözlenmemiştir. Bu çalışmada linezolid için MİK₉₀ değeri 0.5 µg/ml, MİK aralığı ise 0.016-1 µg/ml olarak belirlenmiştir (89). Araştırmamızda tüm suşlar linezolide duyarlı bulunmuş olup, MİK₉₀ değeri ve MİK aralığı sırasıyla 1.5 µg/ml ve 0.016-2 µg/ml olarak saptanmıştır. Linezolid için en yüksek MİK₉₀ değerleri *B. fragilis* dışı *Bacteroides* grup ve *Porphyromonas* suşlarında gözlenmiştir (1.5 µg/ml). Çalışmamızda linezolid direnci saptanmamış olması sevindiricidir ve bu durum ilacın ülkemizde henüz çok yaygın kullanılmamasına bağlı olabilir.

Tigesiklin, tetrasiklin grubunda yer alan yeni bir antibiyotiktir. Bir glisilsiklin olan tigesiklin, bakteri ribozomunda 30S alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe etmektedir. Diğer tetrasiklinlerde yaygın gözlenen direnç mekanizmaları olan ribozomal koruma ve dışa atım pompa sisteminden etkilenmediği bildirilmektedir (90). Tigesiklinin anti-anaerop etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalar az sayıdadır. İspanyada 2000-2002 yıllarına ait toplam 400 *Bacteroides* suşunu kapsayan çalışmaya göre tigesiklinin 8 µg/ml

konsantrasyonunda suşların %89.8'inin inhibe olduğu bildirilmiştir. Çalışmanın yapıldığı sırada tigesiklin için henüz onaylanmış direnç sınır değerleri belli olmadığından direnç yüzdesi belirtilmemiştir. Günümüzde tigesiklin için onaylanmış direnç sınır değeri ($\geq 16 \mu\text{g/ml}$) dikkate alındığında bu çalışmada *Bacteroides* suşları arasında tigesiklin direncinin yaklaşık $< \%10$ olduğu söylenebilir. Adı geçen çalışmada tigesikline ait MİK₉₀ değeri ve MİK aralığı sırasıyla $8 \mu\text{g/ml}$ ve $\leq 0.01 - >16 \mu\text{g/ml}$ olarak bulunmuştur (86). Nadir görülen 396 anaerob bakteriyi kapsayan bir çalışmada, test edilen tüm gram pozitif anaeroplara tigesikline duyarlı bulunmuştur. Orta derece duyarlı bulunan (MİK: $8 \mu\text{g/ml}$) bir *Prevotella oralis* suşu dışında tüm gram negatif anaeroplara da tigesikline duyarlı olduğu (%99.7) gösterilmiştir (90). Belçika'da yapılan ve anaeroplara duyarlılık profilinin araştırıldığı bir sürveyans çalışmasında *B. fragilis* suşlarının %18'i ve *B. fragilis* dışı *Bacteroides*'lerin %21'i tigesikline dirençli bulunmuştur. Tigesikline direnç saptanan diğer türler arasında ise oldukça düşük oranlar bildirilmiştir (*Prevotella* ve *Clostridium*'da %2, sporsuz gram pozitif anaerob basillerde %3). Adı geçen çalışmada *B. fragilis* ve *B. fragilis* dışı *Bacteroides* suşlarında tigesiklin için MİK₉₀ değeri her iki grupta $8 \mu\text{g/ml}$ iken, MİK aralıkları sırasıyla $0.25-32 \mu\text{g/ml}$ ve $0.125-32 \mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır (81). Bizim çalışmamızda ise *B. fragilis* suşları arasında tigesikline direnç saptanmazken, sadece bir suşun $8 \mu\text{g/ml}$ 'de inhibe olduğu (orta derece dirençli) gözlenmiştir. Diğer taraftan *B. fragilis* dışı *Bacteroides* suşlarından biri (1/6) tigesikline dirençli bulunmuştur. Tüm *B. fragilis* grup üyeleri bir arada değerlendirildiğinde suşların %7.1'inin tigesikline direnç gösterdiği söylenebilir. Çalışmamızda *B. fragilis* grubuna ait suşların %90'ı $< 3 \mu\text{g/ml}$ tigesiklin konsantrasyonunda inhibe olurken, $0.064-16 \mu\text{g/ml}$ arasında değişen MİK değerleri elde edilmiştir. Bu çalışmada orta derecede dirençli ve dirençli 2 *Bacteroides* suşu dışında test edilen hiçbir suşta tigesiklin direncine rastlanmamıştır.

Sonuç olarak, anaeroplara; infeksiyon etyolojisinde oldukça önemli bir yere sahip olmalarına karşın, anaerob bakteriyoloji oldukça zahmetlidir, sabır ve deneyim ister, nispeten de yüksek maliyetlidir. Anaerob kültür istemi yapmanın dışında, örneğin alınma şekli, alınma zamanı, alındığı ortam ve laboratuvara ulaştırılması gibi oldukça kritik öneme sahip pre-analitik evre büyük ölçüde klinisyene bağlıdır. Bu yüzden, optimum sonuç için klinisyenle sıkı işbirliği yapılması gerekir. Klinik

örneklerin Port-a-Cul gibi anaerop transport sistemlerine alınarak laboratuvara ulaştırılması izolasyon şansını ciddi oranda arttırabilir. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı açısından ise, besiyerlerinin günlük olarak hazırlanarak oda sıcaklığında tutulması, izolasyon, tanımlama ve duyarlılık testlerinde standart yöntemlere uyulması büyük önem taşımaktadır. Özellikle bazı türlerde veya cinslerde belirli antibiyotiklere önceden öngörülemeyen düzeylerde direnç gözlenmesi bu çalışmadaki dikkat çekici bulgulardan biridir. Rutinde duyarlılık testi yapılması gerekmemekle birlikte, en azından dirençli olma ihtimali olan suşlara uygulanmalı veya suşlar toplanarak belirli aralıklarla çalışılıp duyarlılık durumu izlenmelidir. Duyarlılık testi yapma imkanı olmayan durumlarda en azından suşun beta-laktamaz üretip üretmediğini saptamak penisilin ve ampisilin direncini tespit için pratik bir yaklaşım olacaktır. Ayrıca, antibiyotik duyarlılık testi yapılmasının, akılcı antibiyotik kullanımına yardımcı olabileceği gibi anaeroplardaki direnç durumu ile ilgili ülkemiz verilerine katkı sağlayabileceği düşüncesindeyiz.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya alınan 241 adet klinik örneğin çoğunu kan (%39.4) ve enjektör (%28.2) içerisine alınmış örnekler oluşturmaktaydı.
2. Gelen örneklerin 136'sında (%56.4) aerop ve/veya anaerop üreme olmazken 74'ünde (%30.7) sadece aerop, 31'inde (%12.9) anaerop ve 17'sinde (%7) aerop ve anaeroplara birlikte üretildi.
3. Örneklerin laboratuvara transport şekli dikkate alındığında anaerop üreme en fazla Port-a-Cul sistemiyle gelen örneklerde saptandı (%50).
4. Örnek bazında en yüksek anaerop üreme oranları, Fournier gangreni (4/4), apse (14/69) ve yara yeri (4/22) örneklerinde gözlemlendi.
5. Anaerop üreme saptanan 31 örnekte 54 adet anaerop bakteri soyutlandı. Anaerop üremelerin 10'unda (%32.3) bir, 21'inde (%67.7) birden fazla anaerop bakteri üretildi.
6. Çalışmamızda örneklerin %7'sinde hem anaerop hem de aerop, %5.8'inde sadece anaerop, %30.7'sinde sadece aerop üreme saptandı.
7. Anaerop üreme olan örneklerde en çok *Bacteroides fragilis* grup (n:14), *Porphyromonas* spp. (n:10) ve *Peptostreptococcus* spp. (n:10) izole edildi.
8. Anaerop kan kültürlerinin %4.2'sinde anaerop üreme saptanmıştır.
9. Aerop üreme olan örneklerden 115 adet aerop mikroorganizma soyutlanmış olup bunların 45'ini (%39.1) *Enterobacteriaceae* üyeleri, 29'unu (%25.7) stafilokok türleri, 4'ü *Candida* spp. ve 3'ü küf mantarları oluşturmaktadır.
10. Tüm izolatların 17/54 (%31.48), *Bacteroides fragilis* grup izolatlarının ise 11/14'inde beta-laktamaz varlığı saptandı.
11. Tikarsilin/klavulonat ve linezolid direnç saptanmazken, test edilen antibiyotikler arasında en yüksek oranda dirençlilik klindamisin ve metronidazole sırasıyla 18/51 ve 12/51 olarak karşı gözlemlendi. Klindamisine direnç en fazla *Bacteroides fragilis* grup (8/14) ve *Veilonella* (2/4) izolatlarında saptandı. Metronidazole direnç en fazla peptostreptokok izolatları arasında gözlemlendi (5/10). *Bacteroides fragilis* grup izolatlarında ise metronidazol direnci 2/14 olarak saptandı.
12. Anaerop infeksiyonların yaygın görülmesi, yüksek mortalite ve morbidite ile seyretmesi, klinik tanıda zorluk, tedavinin cins ve türler arası farklılık göstermesi ve

artan direnç nedeniyle etken patojenlerin tanımlanması ve direnç paternlerinin belirlenmesinin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Aldridge K.E, O'Brien K. In vitro susceptibilities of the *B.fragilis* group species: Change in isolation rates significantly affects overall susceptibility data. J Clin Microbiol. 2002; 64: 4349-52.
2. Aldridge K.E. The occurrence, virulence, and antimicrobial resistance of anaerobes in polymicrobial infections. Am J Surg. 1995;169(5A Suppl):2S-7S.
3. 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.
4. Trinh S, Reysset G. Detection by PCR of the nim genes encoding 5-nitroimidazole resistance in Bacteroides spp. J Clin Microbiol. 1996;34:2078-8.
5. Torun M.M, Bahar H., çeşitli klinik örneklerden izole edilen *B.fragilis* grubu bakterilerin bakterilerin antimikrobilyellere direnç durumları, β -laktamaz aktiviteleri, 2000, Aknem dergisi 14 (no :1) :104-110.
6. Hecht DW. Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments. Clin Infect Dis. 2004; 39:92-7.
7. Gürler N. Anaerop bakterilerde kısıtlı antibiyogram. 4. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Program ve Özet Kitabı. 17-19 Mayıs 1999, İstanbul, s126-131.
8. Gürler N, Anaerop bakteriyolojide neredeyiz?, Tanıya yönelik çalışmalar, XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı. 12-16 Eylül 2006, Antalya, s329-334.
9. Finegold SM. Anaerobic bacteria: General concepts in: Mandell G, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. NewYork Churchill Livingstone, 2000: p2519.

10. 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.
11. Engelkrik PG, Duben-Engelkrik J. Anaerobes of Clinical Importance. Textbook of Diagnostic Microbiology. 3rd ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2007, p:587-664.
12. Mangels JJ. Anaerobic Bacteriology. In: Isenberg HD, editor. Clinical Microbiology Procedures Handbook. Washington DC: ASM Press; 2004. p.4.11-4.12.6.
13. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Anaerobic Bacteriology, Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier; 2007, p:455-477.
14. Finegold SM, Tenover FC. Anaerobic gram negative Bacilli, Medical microbiology ed. Samuel Baron, The University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996, 4th, Section:1.
15. James PA, Al-Shafi KM. Clinical value of anaerobic blood culture: a retrospective analysis of positive patient episodes. J Clin Pathol. 2000; 53:231-3.
16. Tunçkanat F. Anaerob bakterilerin genel özellikleri: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt 2, 2002: s1705-1718.
17. Löfmark S, Fang H, Hedberg M,. Inducible metronidazole resistance and *nim* genes in clinical *Bacteroides fragilis* Group Isolates, Antimicrobial Agents and chemotherapy, 2005, p.1253-1256.
18. Goldstein EJC, Clinical anaerobic infections, Anaerobe, 1999, 5:p347-350.
19. Willis A.T. Abdominal sepsis: In Duerdan B.I. and Drasar B.S.(ed.) Anaerobes in human disease. Wiley -Liss, New York, 1991, p.197-223.
20. 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.
21. Zaleznik D, Fineberg 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.
 22. Goldstein E.J.C. Intraabdominal Anaerobic Infections: Bacteriology and Therapeutic Potential of Newer Antimicrobial Carbapenem, Flouroquinolone and Desflouroquinolone, Therapeutic Agents, *Clin infect diseases*, 2002; 35 (Suppl 1) :p106-11.
 23. Rotstein O, Pruet T.L., Sorenson J.J., Fiegal V.D, Nelson R.D. and Simmons R.L., A *Bacteroides* by product inhibits human polymorphonuclear leukocyte function . *Arch. Surg.* 1986; 121: 81-88.
 24. Rocha E.R., Selby T., Coleman J.P. and Smith C.J, Oxidative stres response in an anaerobe, *Bacteroides fragilis*: a role for catalase protection against hydrogen peroxide .*J.Bacteriol.* 1996; 178: 6895-6903.
 25. Moncrief J.S, Obiso Jr.R, Banoso L.A, Kling J.J, Wright R.L, Tansell R.L.V, Lyerly D.M. and Wilkins T.D., The enterotoxin of *Bacteroides fragilis* is a metalloproteaz . *Infect. Immun.* 1995; 63:175-181.
 26. Nord CE, Hedberg M, Resistance to β -Lactam antibiotics in anaerobic bacteria , *Rev Infect Dis.* 1990; 12(suppl 2) : p231-234.
 27. Ülger Toprak N. Anaerop Bakteriyolojide Neredeyiz? Duyarlılık Çalışmaları. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı. 12-16 Eylül 2006, Antalya, s335-43.
 28. 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.

29. 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.
30. Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Ruthazer R, Goldstein JC, Finegold SM, Harrell LJ, Hecht DW, Jenkins SG, Pierson C, Venezia R, Rihs 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.
31. Koeth LM, Good CE, Appelbaum PC, Goldstein EJC, Rodloff AC, Claros M, Dubreui LJ. Surveillance of susceptibility patterns in 1297 European and US anaerobic and capnophilic isolates to co-amoxiclav and five other antimicrobial agents. *J Antimicro. Chemoth* 2004 (53): p1039-1044.
32. Ülger TN., Yağcı A., Çelik C, Çakıcı Ö, Söyletir G., Enterotoksin geni pozitif ve negatif *Bacteroids fragilis* izolatlarının antibiyotiklere direnç durumlarının karşılaştırılması., *Microbiyol bült.* 2005; 39: 145-152.
33. Rogers MB, Parker AC, Smith CJ, Cloning and characterization of endogenous cephalosporinase gene, *cep A*, from *B.fragilis* reveals a new subgroup of ambleur class A beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993; 37: 2391-400.
34. Thompson JS, Malmay 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.
35. Fang H, Edlund C, Nord CE, Hedberg M. Selection of Cefoxitin-resistant *Bacteroides thetaiotaomicron* mutants and mechanisms involved in beta-lactam resistance. *Clin Infect Dis.*, 2002; 35: S 47-53.

36. Torun M.M. Anaerob bakterilerde direnç mekanizmaları. 4. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Program ve Özet Kitabı. 17-19 Mayıs 1999, İstanbul, s105-18.
37. Roberts MC., Distribution of tetracycline and Makrolid-linkozamid-streptograminB resistance genes in anaerobic bacteria, Clin infect disease 1995;(suppl1):p20
38. 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.
39. 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. Antimic Agents and chemoth., 1994; 38: p1047-51.
40. Trinh S, Haggoud A, Reysset G, Sebald M, Plasmids pIP 419 and pIP 421 from *Bacteroides*: 5-mitroimidazole resistance genes and their upstream insertion sequence elements. Microbiolgy, 1995;141 (part4): p927-35.
41. Hecht D.W., Anaerobes: Antibiotic resistance, clinical significance and the role of susceptibility testing. Anaerobe; volume 12, 2006; 12:115-21.
42. 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.
43. Roberts MC, Update on acquired tetracycline resistance genes. FEMS Microbiol Lett, 2005; 245: p195-203.
44. 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.

45. Ackermann G, Degner A, Cohen SH, Silva Jr J, Rodloff AC. Prevalence and association of macrolide-lincosamide-streptogramin B (MLS (B)) resistance with resistance to moxifloxacin in *Clostridium difficile*. J Antimicrob Chemother, 2003; 51: p599-603.
46. 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.
47. Külekçi G, Baş-Boyun Bölgesi İnfeksiyonları, Önemli ve sorunlu anaerop bakteri infeksiyonları (ed. Ulusoy S,Leblebicioğlu H), 2005; p37-56.
48. Leblebicioğlu H., Anti-anaerop tedavi, 4. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Program ve Özet Kitabı. 17-19 Mayıs 1999, İstanbul, s88-97.
49. Ural O, Batıniçi infeksiyonlar, Önemli ve sorunlu anaerop bakteri infeksiyonları (ed. Ulusoy S,Leblebicioğlu H), 2005; p57-66.
50. Şengöz G, Yaşar K, Berzeg D, Yıldırım F, Şengöz A, Elmi Ş, Durdu Y, Nazlıcan Ö. Klinik örneklerden izole edilen anaerop bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyoloji Cem Derg., 2005; 35: 107-113.
51. Beşiroğlu BA, Santral sinir sisteminin anaerop infeksiyonları, Önemli ve sorunlu anaerop bakteri infeksiyonları (ed. Ulusoy S,Leblebicioğlu H) , 2005; p67-80.
52. Finegold SM, Lung abscess. İn: Mandell GM, Benett JE, Dolin R., Principles and practice of infectious diseases. Philadelphi: Churchill Livigstone, 2000: p751-755.
53. Yamazhan T, Anaeroplaraın etken olduğu AC infeksiyonları, Önemli ve Sorunlu Anaerop Bakteri İnfeksiyonları. (ed. Ulusoy S,Leblebicioğlu H), 2005: p81-90.
54. 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 Anaerob Bakteri İnfeksiyonları (ed. Ulusoy S, Leblebicioğlu H), 2005, 103-132.
 56. Beşiroğlu BA, Derialtı doku infeksiyonları ve apseler, Klimik Dergisi., Cilt 14, sayı: 3, 2003; s147-149.
 57. Lipsky BA., Osteomyelitis of the foot in diyabetic patients, Clin Infect Dis., 1997; 25(6): p1318-26.
 58. Ertuğrul MB., Baktiroğlu S., Aksoy M., Çalangu S., Diyabetik ayak ve infeksiyonu, Klimik Derg., 2004;17(1): s3-12.
 59. Kaya A, Tetanoz, Önemli ve Sorunlu Anaerob Bakteri İnfeksiyonları (ed. Ulusoy S, Leblebicioğlu H) 2005; p113-142.
 60. Akduman D, Gazlı gangren (Klostridial miyonekroz), Önemli ve Sorunlu Anaerob Bakteri İnfeksiyonları (ed. Ulusoy S, Leblebicioğlu H) 2005; p143-152.
 61. Özgüneş İ, Botulizm, Önemli ve Sorunlu Anaerob Bakteri İnfeksiyonları (ed. Ulusoy S, Leblebicioğlu H), 2005; p153-168.
 62. Taşova Y, İnal S, Pseudomembranöz enterokolit, Önemli ve Sorunlu Anaerob Bakteri İnfeksiyonları (ed. Ulusoy S, Leblebicioğlu H) 2005; p169-198.
 63. Zahar JR, Farhat H, Chachaty E, Meshaka P, Antoun S, Nitenberg G., Incidence and Clinical significance of anaerobic bacteremie in cancer patients: a 6-year retrospective study. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2005; p724-729.
 64. Gürbüz P, Ağalar C, Usubütün S, Türkyılmaz R. SSK Ankara Eğitim hastanesi'ndeki İnvasküler kateter infeksiyonu etkenleri ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi, Klimik dergisi. Cilt 12, sayı 2. 1999, s:69-72.

65. National committee for clinical laboratory standarts: Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 6th ED,2004 Document no. M11-A6.
66. Tunçkanat F, Anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri, Ankem derg.13 (no.3), 1999; s325-331.
67. Glomaud C.L., Houssaye S, L.Milhaiha, J.C.Ghnassia, E-test antibiotics susceptibility of strict anaerobic bacteria, Antimicrobial susceptibility, Anaerobe 9; 2003; p 281-284.
68. Katherine L.J., Bronsdon MA, Dagan R, Yagupsky P, Janco J, Eliot J, Whitney CG, Yang YH, Robinson LGE, Schwartz B, Carlone GM, Evaluation of a medium (STGG) for transport and optimal recovery of S.pneumoniae from nasal secretions collected during field studies, Journal of Clinical microbiol. 2001; p1021-1024.
69. Torun M.M. Anaerop bakteri infeksiyonları: Kültürde sorunlar, Klimik 2003 , XI. Türk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Kitabı. 30 Mart-03 Nisan 2003, İstanbul, s25-9.
70. Citron D.M., Warren Y.A, Hudspeth M.K, Goldstein 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.
71. 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.
72. Brook I. Anaerobic bacterial bacteremia: 12-year experience in two military hospitals. J Infect Dis. 1989;160: 1071-5.
73. Torun MM, Bahar H, Köksal F, Samastı M, Yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden üretilen anaerop bakteriler ve antimikrobik maddelere duyarlılıkları. XV. Antibiyotik Kemoterapi Kongresi, Ankem Dergisi. 2000; 14.

5-10 Haziran 2000, Antalya, s 164 (poster no:64).

74. Ercis S, Tunçkanat F, Hasçelik G, Anaerop infeksiyon şüpheli hastalardan izole edilen anaerop bakteriler. Mikrobiol Bült. 2005; 39:447-54.
75. Durmaz B, Aktaş E, Altınışik N. Anaerop infeksiyon şüpheli hastalardan alınan örneklerde kültür sonuçlarının değerlendirilmesi, poster, XXX. Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı. 2002; 30 Eylül-05 Ekim 2002, Antalya, s299 (poster no:P03-01).
76. Durmaz B, Taştekin N. Anaerop infeksiyon ön tanılı hastaların klinik örneklerinden izole edilen anaerop bakteriler. Mikrobiyol bülten.1996; 31: 13-20.
77. Şengül M. Klinik Örneklerden Anaerop Etkenlerin İzolasyonu, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora tezi. Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 1995.
78. Bahar H, Torun MM, Değirmenci M. Yara infeksiyonlarında anaerop bakterilerin dağılımı. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2003; 33:42-6.
79. 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.
80. Behra-Miellet J, Calvet L, Muller C, Chomarat M, Beziau MC, Bland S, JuveninME, Fosse T, Goldstein F, Jaulhac B ,Dubreuil. Antibiotic resistance among anaerobic Gram-negative bacilli: lessons from a French multicentric survey. Anaerobe. 2003;9: 105-11.
81. 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.Third Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. J Antimicrob Chemother. 2007;59: 132-9.

82. 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, Rihs 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.
83. Roberts SA, Shore KP, Paviour SD, Holland D, Morris AJ, Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in New Zealand: 1999-2003, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2006; 57:992-8.
84. Goldstein EJC, Citron DM, Vaidya SA, Warren YA, Tyrrell KL, Merria CV, Fernandez H, In vitro Activity of 11 antibiotics against 74 anaerobes isolated from pediatric intra-abdominal infections. *Anaerobe.* 2006;12:63-6.
85. Teng LJ, Hsueh PR, Tsai JC, Liaw SJ, Ho SW, Luh KT. High Incidence of Cefoxitin and Clindamycin Resistance among Anaerobes in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46: 2908-13.
86. Ulger Toprak N, Celik C, Cakıcı O, Soyletir G. Antimicrobial susceptibilities of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides thetaiotaomicron* strains isolated from clinical specimens and human intestinal microbiota. *Anaerobe* 2004;10: p255-9.
87. Betriu C, Culebras E, Gómez M, Rodríguez-Avial I, Picazo JJ. In vitro activity of tigecycline against *Bacteroides* species. *J Antimicrob Chemother.* 2005;56: 349-52.
88. Mutlu E, Yücesoy M, Bakterilerde Beta-Laktamaz Aktivitesinin Ve Antibiyotik Direncinin Agar Dilüsyon ve E Test Yöntemleri İle Belirlenmesi. *İnfeksiyon Dergisi.* 2003, 17:275-280.
89. Daeschlein G, Hoehne C, Assadian O, Daxboeck F, Meinel C, Kramer A, Kekule AS. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 58:789-93.

90. Goldstein EJC, Citron DM, Warren YA, Tyrrell KL, Merriam CV, Fernandez HT. In Vitro Activities of Dalbavancin and 12 Other Agents against 329 Aerobic and Anaerobic Gram-Positive Isolates Recovered from Diabetic Foot Infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:2875-79.