

15326

T. C.
DICLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Başkanı :
Prof. Dr. Eralp ARIKAN

**DEĞİŞİK ENFEKSİYON KAYNAKLARINDAN
ANAEROB BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE
İDENTİFİKASYONU**

(DOKTORA TEZİ)

Arş. Gör. Selahattin ATMACA

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. Eralp ARIKAN

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

DİYARBAKIR — 1991

İÇİNDEKİLER

SAYFA

I- TEŞEKKUR	2
II- GİRİŞ	3
III- GENEL BİLGİLER	5
IV- MATERYAL VE METOD	14
V- BULGULAR	16
VI- TARTIŞMA	22
VII- SONUÇ	31
VIII- ÖZET	33
IX- SUMMARY	34
X- LİTERATÜRLER	35

TEŞEKKÜR:

Doktora tezimi hazırlamamda büyük yardım ve desteğini gördüğüm, danışmanım başta Sayın Prof.Dr.Eralp ARIKAN olmak üzere, Mikrobiyoloji Anabilim Dalında görevli bulunan tüm öğretim üye ve yardımcılarına en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tezimin hatasız yazılışına gayret gösteren teknisyen Abdullah OGUZ'a da ayrıca teşekkür ederim.

Arş.Gör.Selahattin ATMACA

DIYARBAKIR - 1991

GİRİŞ:

Anaerobik bakteriler derken aklımıza oksijenli ortamda üremeyen bakteri grubu gelmektedir. Bu grubun sayısal ve tür olarak çok geniş boyutlara ulaşmalarına karşın modern tıpta aşırı bir gecikme ile yeni yeni gündeme alınmış ve tıbbi mikrobiyolojideki etkinlikleri her geçen gün daha da anlamlı olmaya başlamıştır.

Doğada özellikle spor formda yaygın olarak bulunan bu mikroorganizmaları insan, hayvan barsağı kapsamında ve bazı vücut boşluklarının normal florasında görmek mümkündür (14,18,28).

Aslında, anaerob mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonların-gerçek anlamda klinik-laboratuvar ilişkileri kurulduğu taktirde-aeroblar kadar etkin oldukları ve tedavide birçok güçlükler gösterdikleri bilinmektedir (4,26,33).

Her bakteriyolog veya laboratuvarcı teorik olarak konunun önemini bildiği halde nedense gereken özeni göstermediği dikkat çekicidir. Ancak bu özen sadece laboratuvarcıya bağlı olmayıp klinisyenin de aynı dikkati ve özeni göstermesini gerektirmektedir. En azından laboratuvarcıyı bu konuda zorlayıcı tedbirler alma açısından uyarmaları gereklidir. Aslında rutin bakteriyolojik tetkiklerle hiçde zor olmayan ve fazla özen istemeyen yöntemlerle anaerobla-

rın izolasyonu ve identifikasyonu kolaylıkla yapılabilmektedir. Bütün mesele klinisyenin ve laboratuvarcının çok basit kurallara riayet etmelerine bağlıdır. Örneğin, klinisyenin hangi materyalden ne tür bakteri aranacağını hangi materyalden anaerob kültür isteneceğini, laboratuvara hangi koşullarda ve ne kadar sürede ulaştırılacağını laboratuvarcının da hangi besiyerlerini ve kültürasyon yöntemini kullanılacağını bilmesi yeterlidir.

Bu basit kurallarla insan sağlığına verilen değer boyutları değişecek ve tedavi edici hekimin de yüzü gülecektir. Üstelik beraberinde başta ekonomik olmak üzere birçok konularda da rahatlık getireceğini ayrı bir olay olarak düşünmek gerekmektedir.

Bu düşünceler çerçevesinde kendi hastahane laboratuvarımızda anaerob enfeksiyon olayının objektif olarak seyrini incelemek ve olumlu olumsuz yönleri ile irdelemek istedik. Çeşitli kliniklerden gönderilen çeşitli materyallerden anaerob bakteri izole etme sıklığı ile izolasyona etki eden faktörleri ortaya çıkarmaya çalıştık. Gecikilmiş olmakla beraber anaerob laboratuvarının modernizasyonunu ve klinisyenlerin dikkatini bu yöne doğru çekmeyi ayrı bir amaç olarak planladık.

GENEL B İ L G İ L E R :

Anaerob bakterilerle ilgili ilk bilgilerimiz Pas-tör'e dayanmaktadır (21). Daha sonra Zuber ve Veillon 1894' de bunların, insanlar için patojen olabilecekleri savını ortaya koymuşlardır (32,33). 1930'lu yıllara kadar anaeroblar konusunda bir durgunluk dönemi dikkati çekmekte, ancak bu yıldan sonra Meleney ve Smith yeniden anaerob konusuna bir aktivasyon getirmişlerdir. Öyle ki 2. Dünya Savaşı sonuna kadar anaeroblar konusunda sadece bir kaç raporla olay sürdürülebilmiştir (21). Anaerobik Jar'ın 1958 yılında Stokes tarafından kullanılması ile enfeksiyonlardaki anaerob etkinliği daha bariz hale gelmiştir (36). Keza anaeroblar konusundaki besiyerlerinin geliştirilmesi ile izolasyon oranlarında gittikçe artış görülmeye başlanmıştır. Bu artış Virginya'da Polyteknik Enstitüsünün araştırmaları ile 60'lı yıllardan sonra daha da bir yoğunluk kazanmış ve nihayet 77 yıllarında aynı enstitünün, çalışmalarıyla Glove-box, Anaerobik Jar, Roll-streak gibi teknikler geliştirilerek, enkübasyon, izolasyon ve identifikasyon konularında her türlü kolaylıklar ortaya konulmuştur (2,22).

Anaeroblar hakkında kapsamlı klasik bilgilere yer vermeksizin kısaca bazı özelliklerinden, sınıflandırılmalardan söz etmekte yarar addetmekteyiz. Bunları özet başlıklar halinde verecek olursak;

1-Anaerob bakterilerin sınıflandırılması:Sınıflandırma-
da aşağıda belirtilen kriterler göz önünde bulundurularak
yapılmıştır.Buna göre

- a) O₂'ye ilgi,
- b) Kolonisel özellikler,
- c) Pigment,
- d) Hemoliz,
- e) Gram boyası reaksiyonu,
- f) Morfoloji,
- g) Sporlar,
- h) Biyokimyasal testler,
- ı) Antibiyotiklere karşı hassasiyet,
- i) Hayvanlarda patojenite,toksite ve toksin nötralizasyonu (23).

Bu genel kriterlere göre son sınıflandırma şu şekildedir.

ANAEROB BAKTERİLERİN SINIFLANDIRILMASI:

Anaerobik Gram-negatif
basiller,

Familya I.Bacteroidaceae

Genus I. Bacteroides

B.asaccharolyticus

B.bivius

B.buccae

B.capillosus

|

Sporlu Gram - pozitif
basiller,

Genus Clostridium

C.baratii

C.bifermentans

C.botulinum

C.butyricum

C.cadaveris

| | /...

I	II
B.corporis	Genus C.chauvoei
B.disiens	C.clostridioforme
B.distasonis	C.difficile
B.eggerthii	C.hastiforme
B.fragilis	C.histolyticum
B.gingivalis	C.innocuum
B.intermedius	C.limosum
B.melaninogenicus	C.novy
Genus I. B.oralis	C.paraputrificum
B.oris	C.perfringens
B.ovatus	C.ramosum
B.praecutus(now Tissi- erella praeacuta 18)	C.septicum
B.putredinis	C.sordellii
B.splanchnicus	C.sphenoides
B.thetaiotaomicron	C.sporogenes
B.uniformis	C.subterminale
B.ureolyticus	C.tertium
B.veroralis	C.tetani
B.vulgatus	Düzenli Sporsuz Gram- pozitif basiller
B.zoogloformans	Genus Lactobacillus
Familya I. Bacteroidaceae	L.acidophilus
Genus II. Fusobacterium	L.casei
F.gonidiaformans	L.catenaforme ^a
	L.gasseri
	/...

I		II
F.mortiferum		L.plantarum
F.naviforme		L.salivarius
	Düzensiz Gram - pozitif basiller	
F.nucrogenes	Genus	Arachnia
F.necrophorum		A.propionica
F.nucleatum	Genus	Propionibacterium
F.perfoetens		P.acnes
F.prausnitizii		P.granulosum ^b
F.russii	Genus	Eubacterium
F.varium		E.aerofaciens
Genus III. Leptotrichia		E.alactolyticum
Genus IV. Butyrivibrio		E.brachy
Genus V. Succinimonas		E.combesii
Genus VII. Anaerobiosprillum		E.contortum
Genus VIII. Wolinella		E.lentum
Genus IX. Selenomonas		E.limosum
Genus X. Anaerovibrio		E.moniliforme
Genus XI. Pectinatus		E.nodatum
Genus XII. Acetivibrio		E.tenue
Genus XIII. Lachnospira		E.timidum
Anaerobik Gram-negatif koklar,	Genus	Actinomyces
Familya I. Veillonellaceae		A.israelii
Genus I. Veillonella		A.meyeri
		/....

	I		II
	V.atypica		A.naaslundii
	V.dispar		A.odontolyticus
	V.parvula		A.viscosus
Genus II.	Acidaminococcus	Genus	Bifidobacterium
	A.fermentans		B.dentium(erikso-
Genus III.	Megasphaera		nii) (23).
	M.elsdenii		

Anaerobik Gram-pozitif koklar,

Genus	Peptococcus
	P.niger
Genus	Peptostreptococcus
	P.anaerobius
	P.asaccharolyticus
	P.indolicus
	P.magnus
	P.micros
	P.productus
	P.prevotii
	P.tetradus

2-Anaerobik Bakterilerde Kültür Yöntemleri: Anaerob bakteriler ancak havada serbest oksijen bulunmadığı yada çok az bulunduğu zaman ürerler. Bu nedenle anaerob bakterilerin kültürünün yapıldığı ortamdan oksijeni gidermek şarttır. Kültür ortamındaki oksijenin etkisini aynı besiyerinin bir

tarafına oksijeni çok seven bir bakteri ile veya ekim yapılan petri kutusunun üst kısmına süzgeç kagıdı içinde bulunan ve havanın oksijenini absorbe eden Pirogallik asit ile giderebildiğimiz gibi en son geliştirilen anaerobik sistemler oldukça iyi sonuçlar vermektedir. Bunlar;

-Anaerobik Jar Yöntemi: En çok A.B.D'de kullanılan bir yöntemdir. Bu sistemde ana prensip sülfirik asit içeren GasPak kitlerinin Jar içinde reaksiyonuna girmesi ve O₂'nin tüketilmesi esasına dayanır.

-Anaerobik Glave-box Yöntemi: Bu sistemle araştırmacı hava ile temas etmeksizin örneklerle çalışabilmekte ve anaerobik bakterilerdeki izolasyon ve tanımlama tekniklerini alet için de yürütebilmektedir.

-Roll-Streak Yöntemi: Virginia Polyteknik Enstitüsü tarafından geliştirilmiş bu yöntem özellikle hayvanlarda anaerobik bakterilerin kültivasyonu için geliştirdikleri değişik bir silindirik tüp tekniğidir (12,22,23,25).

Bu amaçlarla kullanılan besiyerleri tablo II'de gösterilmiştir (3,23).

Örnek çeşitleri	Besiyerleri
Merkezi Sinir Sistemi..... Apseleri	Anaerobik Kanlı Agar Thiyoglikolatlı Besiyeri
Göz içi sıvısı apseleri.....	Anaerobik Kanlı Agar Anaerobik Feniletıl Agar Thiyoglikolatlı Besiyeri
Akciger.....	Anaerobik Kanlı Agar Anaerobik Feniletıl Agar Thiyoglikolatlı Besiyeri
Karın içi apseleri.....	Anaerobik Kanlı Agar Anaerobik Feniletıl Agar Kanamycin-Vankomcin Agar Thiyoglikolatlı Besiyeri
Üreme ve boşaltım organları..	Anaerobik Kanlı Agar Anaerobik Feniletıl Agar Kanamycin-Vankomycin Agar Thiyoglikolatlı Besiyeri
Kas dokusu.....	Anaerobik Kanlı Agar Anaerobik Feniletıl Agar Et(parçalanmış)-Glikozlu Besiyeri Neomycin-yumurta sarısı Agar
Kan ve idrar dışındaki vücut sıvıları.....	Anaerobik Kanlı Agar Thiyoglikolatlı Besiyeri

Tablo II:Çeşitli Örneklerden Anaerobik Bakterilerin İlk izolasyonu için önerilen besiyerleri.

3-Anaerobik Bakteri Enfeksiyonları:Clostridial ve non-Clostridial anaerob bakteriler tarafından oluşturulan enfeksiyonlar eksojen ve endojen orjinli olmak üzere 2 ana başlık altında toplanabilir (23,32,34).

a) Eksojen orjinli anaerobik enfeksiyonlar,

-Botulizm ve yara botulizm'i,

-Clostridium perfringens gastroenteriti,

-Tetanoz,

-Krepitan selülit,

-Bening süperfisyel enfeksiyonlar

-insan ve hayvan ısırıklarını takip eden enfeksiyonlar

b) Endojen orjinli anaerobik enfeksiyonlar:

-Herhangi bir organda apse,

-Actinomycoz,

-Apandisit ve kolesistif komplikasyonlar,

-Krepitan ve non-krepitan selulit,

-Clostridial myonekroz,

-Periodontal enfeksiyonlar,

-Endokardit,

-Beyindeki apseyi takiben menenjit,

-Osteomyelit,

-Otitis media,

-Peritonit,

-Toraks ampiyemi,

-Sinuzit,

-Tetanoz,

-Septik artrit,

insan normal florasındaki anaerob bakterilerin görölme yerleri ve sıklıkları izolasyon açısından büyük

yarar sağlayacağından bunu tablo III'de vermeyi uygun bulduk (37).

SPORSUZ BASILLER		DERİ	USY	AĞIZ	BARSAK	DIŞ GENİ-TAL BÖLGE	URETRA	VAJEN
Gram (+)	Clostridium	0	0	+	2	0	+	+
	Actinomyces	0	1	1	+	0	0	0
	Bifidobacterium	0	0	1	2	0	0	+
	Eubacterium	+	+	1	2	U	U	+
	Lactobacillus	0	0	1	1-2	0	+	2
	Propionibakterium	2	1	+	+	U	0	1
Gram (-)	Bacteroides	0	1	2	2	1	1	1
	Fusobacterium	0	1	2	+	1	1	+
Kok-lar	Gram-pozitif	1	1	2	2	1	+	2
	Gram-negatif	0	1	2	+	0	U	1

Semboller: U, Bilinmiyor

1. Genelde mevcut

0, Bulunmuyor veya nadir

2. Çok sayıda mevcut

+

Düzensiz

Tablo III: İnsan normal florasındaki anaerob bakterilerin görülme sıklığı.

MATERYAL VE METOD :

1-Incelenen örnekler: Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderilen 75'i vajen,10'u maksiller sinüs aspirasyon sıvısı ve 30'u periodontal apse şüpheli toplam 115 materyal anaerob ve aerob bakterileri izole etme sıklığı yönünden incelendi.

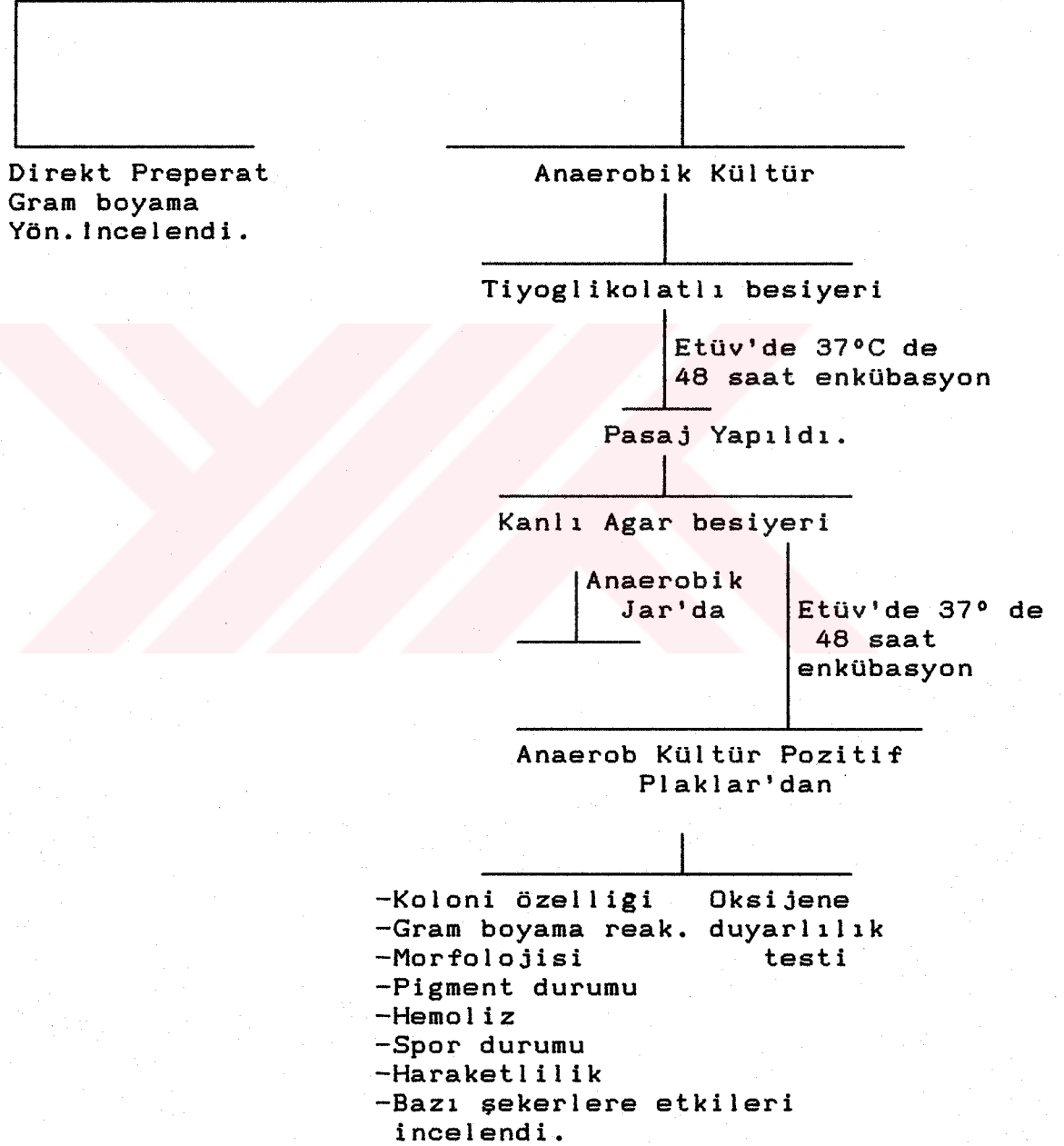
2-Kültürel Yöntemler:Kültürel incelemelerde anaerob bakterilerin izolasyonu için transport besiyeri olarak tiyoglikolatlı besiyerleri,katı besiyeri olarak'da kanlı agar besiyerleri kullanılmıştır. Anaerobik ortamın oluşması ise standart özel kapaklı Anaerobik Jar ve Gas Genarating Kit ile sağlanmıştır. Ureyen anaerob bakterilerin tanımlanması klasik rutin yöntemlerle yapılmıştır (3,15,21,23).

Aerobik mikroorganizmaların izolasyonu için sıvı besiyeri olarak kanlı buyyon,katı besiyerleri olarakta kanlı agar,EMB (Eozin Metilen Blue) ve saburoud dekstroz agar besiyerleri kullanıldı.İzole edilen aerob bakterilerin tanımlanması klasik yöntemler kullanılarak yapıldı (3,16,21,23).

* Oxoid Limited,Basingstoke,Hampshire,England.

3-Anaerobik Bakterilerin İzolasyonunda kullandığımız yöntem:

MATERYAL



BULGULAR :

Laboratuvarımıza gönderilen 75'i vajen, 10'u maksiller sinüs sıvısı ve 30'u periodontal apse şüpheli toplam 115 materyal anaerob ve aerob bakterileri izole etme sıklığı yönünden incelendi.

İncelenen 75 vajen apse kültüründen izole edilen 12 adet anaerob bakterilerin dağılımı ve toplam vajen kültür sayısına göre yüzde oranları Tablo IV'de gösterilmiştir.

İzole edilen bakteri	Suş Sayısı	%
Peptostreptococcus	3	4
Peptococcus	3	4
Veillonella	2	2.6
Anaerobik Difteroid Basil	2	2.6
Bacteroides	2	2.6
T O P L A M	12	16

Tablo IV:75 vajen kültüründen izole edilen anaerob bakterilerin dağılımı ve toplam vajen kültür sayısına göre yüzde oranları.

Anaerob kültür ortamında vajen apselerinden Gram-Pozitif anaerob koklar toplam % 8 oranı ile birinci sıklıkta izole edilmiştir.

Periodontal apse şüpheli 30 diş materyalinden izole edilen 12 adet anaerob bakterilerin dağılımı ve toplam periodontal apse materyaline göre yüzde oranları tablo V'de gösterilmiştir.

izole edilen bakteri	Suş Sayısı	%
Peptococcus	6	20
Peptostreptococcus	5	16.6
Fusobacterium	1	3.3
T O P L A M	12	40

Tablo V: 30 periodontal apse şüpheli diş materyalinden izole edilen anaerob bakterilerin dağılımı ve toplam periodontal materyale göre yüzde oranları.

Periodontal apse şüpheli diş kökü materyallerinden anaerob kültür sonucu % 20 bir oranla Peptococcus cinsi bakteriler birinci sıklıkta izole edilmiştir.

Sinüzit şüpheli 10 hastanın maksiller sinüs boşluklarından aspire edilen sıvı materyallerinden izole edilen anaerob bakterilerin dağılımı ve toplam sinüs sıvısı materyaline göre yüzdeleri tablo VI'da gösterilmiştir.

izole edilen bakteri	Suş Sayısı	%
Peptococcus	2	20
Fusobacterium	1	10
T O P L A M	3	30

Tablo VI: 10 maksiller sinüs sıvısı materyalinden izole edilen anaerob bakterilerin dağılımı ve toplam sinüs sıvısına göre yüzde oranları.

75'i vajen,10'u maksiller sinüs sıvısı ve 30'u periodontal apse şüpheli toplam 115 materyalden izole edilen anaerob bakterilerin dağılımı ile izole edilen anaerob bakterilere göre ve incelenen tüm örneklere göre yüzde oranları tablo VII'de gösterilmiştir.

IZOLE EDİLEN ANAEROB BAKTERİLER	Materyal Sayısı	Vajinal apse materyali	Periodontal apse materyali	Sinüziyal sıvı materyali	Toplam materyal
		75	30	10	115
Peptococcus	A	3	6	2	11
	B	11.1	22.2	7.4	40.7
	C	2.6	5.2	1.7	9.5
Peptostreptococcus	A	3	5	-	8
	B	11.1	18.5	-	29.6
	C	2.6	4.3	-	6.9
Bacteroides	A	2	-	-	2
	B	7.4	-	-	7.4
	C	1.7	-	-	1.7
Fusobacterium	A	-	1	1	2
	B	-	3.7	3.7	7.4
	C	-	0.8	0.8	1.7
Veillonella	A	2	-	-	2
	B	7.4	-	-	7.4
	C	1.7	-	-	1.7
Anaerob Difteroid Basil	A	2	-	-	2
	B	7.4	-	-	7.4
	C	1.7	-	-	1.7
toplam anaerob bakteri		12	12	3	27

A=izolasyon sayısı.B=izole edilen tüm anaerob bakterilere göre yüzde oranları(%).C=incelenen tüm örneklere göre % oranları.
Tablo VII:115 materyalden izole edilen anaerob bakterilerin dağılımı ve yüzde oranları.

Ayrıca toplam 115 materyalin anaerob ve aerob kültür sonuçlarına göre,yalnız anaerob,aerob üreme gösteren olgu sayısı ile karışık üreme gösteren ve üreme olmayan olgu sayısı tablo VII'de gösterilmektedir.

MATERYAL	Toplam olgu sayısı	Yalnız anaerob bakteri üreyen olgu sayısı		Yalnız aerob bakteri üreyen olgu sayısı		Karışık üreme gösteren olgu sayısı		Üreme olmayan olgu sayısı	
	Sayı	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Vajinal apse materyali	75	8	10,6	17	22,6	4	5,3	46	6,13
Periodontal apse materyali	30	7	23,3	5	16,6	5	16,6	13	43
Sinüziyal sıvı materyali	10	2	20	3	30	1	10	4	40
TOPLAM	115	17	14,8	25	21,7	10	0,8	63	55

Tablo VIII:115 materyalin anaerob ve aerob kültür sonuçlarına göre,yalnız anaerob,aerob üreme gösteren olgu sayısı ile karışık üreme gösteren ve üreme olmayan olgu sayısı.

Yine toplam 115 materyalden izole edilen toplam 35 adet aerob bakterilerin dağılımı tablo IX'da gösterilmektedir.

izole edilen bakteri	Vajen K.	P.apse K.	Sinüziyal sıvı K.	TOPLAM
Patojen Staphylococcus	11	2	4	17
B.hem-Streptococcus	3	-	-	3
E.coli	5	-	-	5
Proteus ssp.	1	-	-	1
Pseudomonas ssp.	1	-	-	1
Neisseriae ssp.	-	8	-	8
Toplam izole edilen bakteri sayısı	21	10	4	35

Tablo IX : Toplam 115 materyalden izole edilen aerob bakterilerin dağılımı.

TARTIŞMA :

Anaerob bakteriler, insan normal florasının bir kısmını oluşturabildikleri gibi organizmadaki bakteriyel enfeksiyonların çoğundan sorumludurlar (13,19,20).

Sporsuz anaerob bakteriler apse, sepsis, kronik sinüzit, diş iltahapları, akciğer enfeksiyonları, genital organ enfeksiyonlarının nedeni olabilirler. Bunun yanı sıra sporlu anaeroblar ise gazlı gangren tetanoz ve bazı travmatik kökenli enfeksiyonların etkenidirler (13,14,19).

Son yıllarda anaerobik bakterilerin artan önemi bu bakterilerin izolasyonunun ve izolasyon yöntemlerinin geliştirilmesi konusuna hız kazandırmıştır. Araştırmacılar şüpheli klinik örneklerden anaerob bakterilerinin izolasyonunun hatasız yapılabilmesi için materyalin uygun transport besiyeri ile laboratuvara taşınmasının, gelişmiş kültivasyon yönteminin kullanımının ve spesifik besiyerinin seçiminin gerekliliğini belirtmektedirler. Çalışmalarını kültivasyon yöntemlerinin ve besiyerlerinin mukayesesi yönünde hız kazandıran araştırmacılar oldukça verimli sonuçlar almışlardır (1,24,27)

1958 yılında Stokes adlı araştırmacının Anaerobik Jar'ı kullanmasından sonra, dünya'da ve ülkemizde bakteriyel enfeksiyonlarda anaerobik bakterilerin sıklığı konu-

sunda bir çok çalışma yapılmıştır (36).

Ülkemizde 1975 yılında Çetin ve arkadaşları çoğu cerahat materyali olmak üzere, yaptıkları çalışmalarında toplam 12 adet anaerob bakteri izole etmişler ve bunların tümünün sporsuz anaerob bakteriler olduğunu bildirmişlerdir. İzole edilen bu bakterilerin 4'ünü anaerobik difteroid basil, 2'sini Bacteroides, 1'ini Peptostreptococcus, 1'ini Peptococcus ve geri kalan 4'ünü ise Gram-pozitif düz hareketli anaerob bakteriler olarak tanımlamışlardır (13). Aynı araştırmacılar 1979 yılında benzer bir çalışmada 25 adet anaerob bakteri izole ettiklerini, izole ettikleri bu bakterilerin 11'inin Bacteroides, 8'ini Peptostreptococcus, 3'ünün Peptococcus, 2'sinin Propionibacterium, 1'inin ise Clostridium cinsi bakteriler olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında Bacteroides ve Gram-pozitif anaerob kokların enfeksiyonlarda sıklıkla etken olan mikroorganizmalar olduklarını belirtmişlerdir (14). Yine ülkemizde başka bir çalışmada, Dzer, 72 periodantal apse şüpheli diş kökü materyalinden toplam 38 adet Gram-pozitif anaerob kok izole etmiştir (29).

1986 yılında Hacettepe Üniversitesinde 75 değişik klinik örnek üzerinde yapılan bir çalışmada ise toplam 22 anaerob bakteri izole edilmiştir. Araştırmacıların izole ettikleri anaerob bakterilerin 13'nü Peptostreptococcus, 5'

ini Peptococcus, 2'si mikroaerofil Streptococcus, 1'ini Veillonella,9'unu Bacteroides,4'ünü Fusobacterium,4'ünü de Gram-pozitif sporsuz anaerob basiller oluşturmaktadır(38).

Biz de,çalışmamızda izole ettiğimiz 27 anaerob bakteriden 19'unun Gram-pozitif anaerob koklardan oluştuğunu gözledik.Bu sonuç bizde;Gram-pozitif anaerob kokların anaerobik bakteriyel enfeksiyonlarda etken olduklarını destekleyen bir kanaat uyandırmıştır.Ancak,literatür kaynaklarımız göstermektedirki,Bacteroides cinsi anaerob mikroorganizmaların neden olduğu anaerob bakteriyel enfeksiyonlar,Gram-pozitif anaerob koklardan sayıca daha fazladır (5,7,10,35,39).

Kendi çalışmamızda dahil olmak üzere,yukarıda anlatılan çalışmalarda her ne kadar belli bir oranda anaerob bakteriler izole edilmişse de,bu oranların dış kaynaklı literatür bilgileriyle uygunluk göstermediği dikkat çekicidir.Örneğin biz,maksiller sinuziyal sıvı materyallerinden 2'si Peptococcus ve 1'i Fusobacterium olmak üzere 3 adet,yani % 33 oranında anaerob bakteri üretirken,Brook tarafından yapılan benzer bir çalışmada ise 72 sinuziyal sıvı materyalinin yaklaşık % 80'nin de anaerob bakteri üretilmiştir.Araştırmacı 72 sinuziyal sıvı materyalinin 66 tanesinde bakteri ürettiğini bildirirken,58 sinuziyal sıvı materyalinden de toplam 131 anaerobik bakteri izole etmiş-

tir (6).Her iki çalışmada izole edilen anaerob bakteri oranlarını yüzde olarak ifade edersek farkın çok büyük olduğu görülmektedir.

Şunu özellikle belirtmek isteriz ki bir anaerob bakterinin izolasyonu laboratuvarcı kadar laboratuvar imkanları ve bunun yanı sıra klinikçiye de bağlıdır.Örneğin Bacteroides cinsi anaeroblar oksijene karşı çok duyarlı bakteriler olup anaerob bakteri enfeksiyonlarının çoğundan da sorumludurlar.Bu nedenle Bacteroides şüpheli bir enfeksiyondan alınan materyalin,klinikçi tarafından çok süratli bir şekilde laboratuvara gönderilmesi şarttır (11).

Bu bilgiler ışığında şu karşılaştırmayı yapmak olayı daha da açıklığa kavuşturabilmek açısından yararlıdır. Biz anaerobik bakteri şüpheli 75 vajinal apse kültüründen 3'ü Peptococcus,3'ü,Peptostreptococcus,2'si Veillonella,2'si anaerobik difteroid basil ve 2'si Bacteroides olmak üzere toplam 12 anaerob bakteri izole edebilirken,Parker ve Jones adlı araştırmacılar sadece 10 vajinal apse materyalinden 7 anaerob kok,3 Bacteroides cinsi anaerobları üretmişlerdir.Aynı araştırmacılar Bartholin apselerinin sorumluluğunun çoğunun anaerob bakterilere ait olduğunu bildirirlerken,Bartholin apseli 45 hastanın 34'ünde anaerob bakterilerle enfekte olduklarını gözlemişlerdir (30).Benzer bir çalışmada araştırmacılar 28 Bartholin apse şüpheli

klirik 6rneklerden 48 adet anaerob bakteri izole ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı şekilde araştıricılar çalışmalarında Bacteroides ve Peptostreptococcus'ların birinci sıklıkta 6reyen anaerob bakteriler olduğunu ifade etmişlerdir (9).

Araştıricıların bu kadar y6ksek oranda materyallerden anaerobları izole etme sıklığı, teknik olanaklarının yanı sıra her materyal için geliştirdikleri spesifik besiyerlerinin etkisinin b6y6k olduğu s6z konusudur. 1989 yılında Sheppard'a vajinal sekrasyonlu 76 hasta materyalini, Kanamycin ve Vankomycin içeren besiyerlerine ekimini yapmış ve bu besiyerinde sadece Gram-negatif basillerin 6redigini -44'6 Bacteroides, 1'i Fusobacterium — g6rmüş-t6r. Aynı araştıricı benzer bir çalışmasında ise Nalidilik Asit-Tween 80 besiyerinin Gram-pozitif anaerob koklar için ideal olduğunu ifade etmiştir (31). Buradan řu sonucu ı-karmak m6mk6nd6r; Eėer anaerob bakteri ř6pheli enfeksiyonlarda materyalin alımı ve laboratuvara g6nderilmesinde dikkat edilecek hususlar yanında, materyallerin 6nerilen spesifik besiyerlerine ekilmesi anaerob bakterilerin izolasyon şansını artıracaktır (1,24,27).

Ulkemizde yapılan çalışmalarda bu spesifik besiyerlerinin kullanılmaması, anaerob bakterilerin izolasyon sıklığındaki oranın d6ř6k olmasının bir başka nedenidir kana-

atindeyiz.Bu konuda dış kaynaklı örnekleri çoğaltmak ve olayın boyutlarını görmek mümkündür.Downes,abdominal-apse şüpheli hasta materyallerini aynı anda Kanamycin-agar ve Nalidilik Asit-Tween 80 besiyerine ekim yaparak anaerobik bakterilerin 2 farklı besiyerindeki izole edilme sıklığını gözlemiştir (7).Araştıracının bulduğu sonuçlar Sheppard'ın bulduğu sonuçlarla büyük bir paralellik göstermektedir.Downes,Sheppard'ın çalışmasında olduğu gibi Kanamycin-agar besiyerine ekilen materyallerden Gram-negatif anaerob basillerin sıklıkla üredigini ve Gram-pozitif anaerob kokların inhibe olduğunu,buna karşılık Nalidilik Asit-Tween 80 besiyerinde hem Gram-pozitif anaerob kokların,hemde Gram-negatif anaerob basillerin üredigini gözlemiştir (31).

Wren adlı araştıracı yukarıdaki çalışmalara benzer fakat daha geniş bir araştırmasında Nalidilik-Asit-Tween 80 besiyerinin tüm anaerobların izolasyonu için uygun bir besiyeri olduğunu,anaerobik enfeksiyonların çoğundan sorumlu Gram-negatif anaerob basillerden Bacteroidesler için ise,Nalidilik-Asit-Tween 80 besiyeri ile birlikte Kanamycin-agar,Kanamycin-Vankomycin agar,Neomycin agar,Neomycin-Vankomycin agar'ın ideal olduğunu çalışmalarıyla belirtmişlerdir.Aynı araştıracı Rifamycin agar besiyerinin tüm anaerobları tamamen inhibe ettiğini bildirmiştir (40).

1980'li yılların bir çok dönemlerinde A.B.D ve Avrupa'da anaerobik bakterilerin bakteriyel enfeksiyonlardaki sıklığı üzerine değişik laboratuvarlarda yapılan çalışmalarda Bacteroides, Gram-pozitif anaerob kok ve Clostridium cinsi anaerobların sıklıkla izole edildiği bildirilmiştir (5,8,17,18). 1986 yılında Downes ve arkadaşları 46 değişik klinik örnekten, 34'ü B. fragilis, 10'u B. melaninigenicus, 7'si diğer Bacteroides, 33'ü Peptococcus, 7'si Peptostreptococcus, 2'si Fusobacterium, 2'si Veillonella, 6'sı Clostridium olmak üzere 101 anaerob bakteri izole etmişlerdir (17). Aynı araştırmacı bir başka çalışmasında 46'sı B. fragilis, 10'u pigmentli Bacteroides, 2'si Gram-negatif kok 25'i Clostridium, 13'ü Fusobacterium, 10'u Gram-negatif anaerob basil, 5'i Actinomyces, 11'i Eubacterium, 3'ü Lactobasillus, 2'si Propionibacterium, 2'si Gram-pozitif sporsuz basil, 25'i Peptostreptococcus, 5'i mikroaerofil Streptococcus ve 12'si de yine değişik Bacteroidesler olmak üzere toplam 171 adet anaerob bakteri izole etmişlerdir. Her iki araştırmada Bacteroides ve Gram-pozitif anaerob kokların yüksek oranda sıklığı görülmektedir (18). Aynı şekilde Brook 3 farklı çalışmasında diğer araştırmacılar gibi, Bacteroides, Gram-pozitif anaerob kok ve Clostridium'ları yüksek oranda izole ettiğini bildirmiştir. Brook 15 ayrı apse materyalinden toplam 47 anaerob bakteri izole ederken bunların 14'nün Peptostreptococcus, 15'nin Bacteroides, 3'nün

Veillonella,4'nün Eubacterium,5'inin Clostridium,3'nünün Propionibacterium ve 4'nün Fusobacterium olduğunu,diger bir çalışmasında abdominal-abse şüpheli 511 hasta örneklerinden 985 bakteri izole ettiğini ve bunların da 549'nun anaerob bakteriler olduğunu,123 enfekte safra sıvılarından yaptığı çalışmada ise 70 anaerob bakteri izole ettiğini bildirmiştir (5,7,8).

Tüm çalışma boyunca karşılaştığımız literatür bilgileri dış ülkelerdeki gelişmiş teknik olanaklara sahip laboratuvar ve araştırmacıların klinik örneklerden izole ettikleri anaerobik bakteri sıklığı ile daha kısıtlı imkanlara sahip laboratuvarların bulduğu anaerob bakteri sıklığı hiçte uygunluk göstermemektedir.Gelişmiş teknik olanaklara sahip laboratuvarların,çalıştıkları klinik örneklerin en az 1 veya 2 katı oranında anaerob bakteri izole edebildikleri gözlenirken,kısıtlı imkanlara sahip laboratuvarların benzer klinik örneklerden izole ettikleri anaerob bakterilerin oranı,örneklerin bir katını bile bulamamaktadır.Burada şunu özellikle belirtmek isteriz ki bir anaerob bakterinin izolasyonu klinik örneğin doğru seçilmesi,alınması ve laboratuvara çok dikkatli ve uygun transport besiyeriyle gönderilmesi temeline dayanır (11).Buda laboratuvar'da çalışan kişi kadar klinik örneği alan ve gönderen klinikçiye de büyük bir sorumluluk yüklemektedir.Uygun klinik örneğin laboratuvara gönderildikten sonra materyalin hızlı

bir şekilde en uygun besiyerine ekilmesi ve en gelişmiş kultivasyon yönteminin kullanılması anaerob bakterilerin izolasyon şansını artırır. Buda laboratuvarcıya düşen önemli bir yükümlülüktür. Bütün bu koşulların yanı sıra klinikçinin de konu ile ilgili yeterince bilgilendirilmesi şarttır. Çünkü çalışmanın herhangi bir safhasında yapılacak hata yanıltıcı sonuçlara ve hekimin yanlış bilgiler edinmesine yol açacaktır.



SONUÇ :

Çalışmamızda toplam 115 klinik örnekten % 23,5 oranında anaerob bakteri izole ettik.Elde ettiğimiz bu anaerob bakteri izolasyon oranının literatür bilgilerinin çok altında olduğunu gözledik.Bu farklılığın oksijene karşı çok duyarlı olan anaerob bakterilerin,materyalin alınması ve taşınması esnasında yapılan teknik hatalardan kaynaklandığı kanaatine vardık.Bu nedenle sonuç olarak şunu söyleyebilirizki,anaerobik mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonların tanı ve tedavisi klinik laboratuvar ilişkilerinin gerçek anlamda kurulmasıyla mümkündür.Her ne kadar bir anaerob bakteriyi izole etmek laboratuvarcının görevi ise de bu olayın başarısı materyali alan ve gönderen hekimin belli başlı kurallara riayet etmesi ve bu konuda kendini bilgilendirmesine bağlıdır.

Giriş kısmında da belirtildiği üzere,aslında rutin bakteriyolojik tetkiklerle hiçte zor olmayan ve fazla özen istemeyen yöntemlerle,anaerobların izolasyonu ve identifikasyonu mümkündür.

Anaerob bir bakterinin uygun materyalden izolasyonu aşağıda anlatılan bazı kurallara bağlıdır.Bunlar;

- 1)Uygun materyalin seçilmesi,

- 2) Materyalin oksijenle minimal temasta bulunacak şekilde alınması ve laboratuvara uygun transport besiyeriyle gönderilmesi,
- 3) Laboratuvara gönderilen materyalin en uygun besiyerine ekilmesi,
- 4) En uygun kultivasyon yönteminin kullanılmasına bağlıdır.

Literatür bilgileri, Brucella Blood agar, Nalidillik Asit-Tween-80 besiyerlerinin anaerob bakteri izolasyonunda kullanılması en ideal besiyerleri olarak belirtilirken, Anaerobik Jar'ında kultivasyon yöntemlerinde en pratik ve kullanılır olduğunu açıklamaktadır. Uygulaması çok güç olmayan bu işlemler sayesinde bir çok enfeksiyon hastalığının etkeni olan anaerob bakteriler izole edilebilecek, tedavide karşılaşılan güçlükler asgariye indirilecektir. Bu nedenle, her laboratuvarın ve laboratuvarcının göz ardı edilen bu konuyla dikkatli bir şekilde ilgilenmesi ve klinisyeninde gerekli özeni göstermesi şarttır.

OZET :

Anaerob kültür yöntemleriyle, anaerob koşulların hazırlanmasında çok basite indirgenen teknikler sayesinde, bugün anaerob bakteri izolasyonu sorun olmaktan çıkmıştır. Bu sayede de anaerobların bir çok enfeksiyonlardan en az anaeroblar kadar sorumlu oldukları geregini ortaya koymuştur.

Bu çalışmada, basit anaerob izolasyon ve identifikasyon yöntemleri kullanılarak, değişik materyallerden anaerob bakteri izole etme sıklığı ile izole edilen bakterilerin grlme sıklıkları üzerinde durulmuştur. Çalışmada 75'i vajen, 10'u maksiller sinz sıvısı ve 30'u periodontal apse şüpheli toplam 115 klinik örnek, anaerob bakteriler yönünden incelendi. Incelenen 115 klinik örneğin % 23,5'de anaerob bakteri izole edilirken, Gram-pozitif anaerob kokların ilk sırayı aldıkları görüldü. İzolasyon sıklığının yurt içi çalışmalarla uygunluk gösterdiği halde, yurt dışı çalışmalarıyla uyumsuzluk içinde olduğu gözlendi ve izolasyon oranlarının farklılığının nedenleri üzerinde duruldu.

SUMMARY :

In this study the frequency of anaerob bacteria has been researched. Of 115 doubtful clinical samples 75 vagen, 10 fluid maxillar sinus and 30 periodontal abceses were examined.

Of 115 Clinical samples 23,5 % isolated anaerob bacteria were found. Gram-pozitive anaerob coccus were dominant. The findings were found to be the same with the results obtained in our country but different with the results found in America and Europe countries.

L I T E R A T U R E :

- 1-Allan A:New medium selective for Fusobacterium Species and differential for Fusobacterium necrophorum.J.Clin. Microbiol.13:666,1981.
- 2-Allan S D: Development and evaluation of on improved anaerobic Jar Procedure-Abstracts of the Annual Meeting of American Society for Microbiology.Abstraet. c.142:59,1977.
- 3-Allan S D, Siders JA and Marler LM: Isolation and examination of anaerobic bacteriol.Manual of clinical Microbiology,ed.4, American Society for Microbiolgy. Washington,D.C,1985.
- 4-Bilgehan H:Klinik Mikrobiyoloji. Ege Univ. Bilgehan Basımevi.Izmir,1973.
- 5-Brook I:Comparison of two transport systems for recovery of aerobic and anaerobic bacteria from abscesses. J.Clin.Microbiol.25:2020,1987.
- 6-Brook I:Bacteriology of chronic maxillary sinusitis. (Armed Froces Radiobiol.Res.Inst-Bethesda.Md.20814) Ann Otorinol Laryngol.98(6):426,1989.
- 7-Brook I:Aerobic and anaerobic Microbiology of Biliary tract disease.J.Clin.Microbiol.27:2373,1989.
- 8-Brook I:A 12 years study of aerobic and anaerobic bacteria in intra-abdominal and postsurgical abdominal wound infections. (Armed Forces Radiobiol-Res.Inst.

- Bethesda, Md. 20814-5145, USA) Surg Gynecol obstet. 169(5): 387, 1989.
- 9-Brook I: Aerobic and anaerobic Microbiology of Bartholin's abscesses. (Naval Med. Cent. Bethesda, Md. 20814) Surg Gynecol obstet. 169(1):32, 1989.
- 10-Christakis G Lympelopoulou M and Kattrachoure A: Anaerobics and their resistance to antibiotics in wound infections of cancer patients. (Microbiol. Lab. Metaxas Moml. cancer Hosp Piraeus.) Acta Microbiol Hell-34(3): 242, 1989.
- 11-Collee J G: Factors contributing to the loss of anaerobic bacteria in transit from the patients to the laboratory. Infection 8(suppl 2):145, 1980.
- 12-Çetin E T: Pratik mikrobiyoloji. Menteş Matbaası. 1st, 1968.
- 13-Çetin E T, Töreci K, Bozkaya E: Muayene maddelerinden izole edilen sporsuz anaerob bakteriler. 1st. Tıp Fak. Mecm. 38:322, 1975.
- 14-Çetin E T, Töreci K, Tosunoglu N: 1979 yılında cerrahetden izole edilen anaerob bakteriler. 1st. Tıp Fak. Mecm. 45:21, 1982.
- 15-Dowell V R: Methods for isolation of anaerobes in the clinical laboratory. Am. J. Med. Technol. 41:32, 1975.
- 16-Dowell V R, Hawkins T M: Laboratory methods in anaerobic bacteriology-COC laboratory manual. Center for

- Disease Control, U.S. Dept. of Health and Human Services,
Pub. No 81, 1981.
- 17-Downes J, Stern L, Anrew J H: A Comparison of selective media for the isolation of anaerobic bacteria from Clinical material. *Pathology*. 18:141, 1986.
- 18-Downes J, Mangels J, Holden J, Ferraro J M and Baron J E: Evaluation of two single-late incubation systems and the anaerobic chamber for the cultivation of anaerobic bacteria. *J. Clin. Mikrobiol.* 28:246, 1990.
- 19-Finegold M S, Rosenbolt E J, Sutter L V, Attaberg R H: Anaerobic infections. 3. Kalamazoo, 1976.
- 20-Gupta U: Anaerobic bacteria in human infections A review. *Indian Practitioner* 31:271, 1978.
- 21-Güven S: Anaerob mikroorganizmalar ve bakteriyolojik muayene metodları. *Pendik Veteriner ve Araştırma Ens. Yayınları No:4-Istanbul*, 1972.
- 22-Holdema L V, Cate E P and Moore W E: Anaerobe laboratory manual, ed. 4, Blacksburg. Virginia Polytechnic Ins. and State University, 1977.
- 23-Howard J B, Ducate J M: Clinical and pathogenic microbiology. The C.V. Mosby Company. St. Louis., Washington, D.C. Toronto, 1987.
- 24-Hunt D E, Jones J V and Dowel J R: Selective medium for the isolation of *Bacteroides gingivalis*. *J. Clin Microbiol.* 23:441, 1986.

- 25-Jones G L, Whaley D N and Dower S M: Use of Flexible Anaerobic Glove box. Atlanta, 1977.
- 26-Lasserre R: Anaerobic infections treatment and Prophylaxis, Hon Kong (Roche), 1981.
- 27-Lee K: Selective medium for isolation of *Bacteroides gracilis*. J. Clin. Microbiol. 28:1747, 1990.
- 28-Nobles E R: *Bacteroides* infections. Am. Surg. 177:601, 1973.
- 29-Özer M A: Diş kökenli enfeksiyonlarda bakteriyel ajanların antibiyotiklere karşı hassasiyetlerinin karşılaştırılması. Doktora tezi, 1984.
- 30-Parker R T and Jones C P: Anaerobic Pelvic infections and development in hyperbaric oxygen therap. Am. J. of obstetrics and Gynecology. 36:645, 1966.
- 31-Sheppard A, Commarata C and Martin D: Comparison of different medium bases of the semiavantitative isolation of anaerobes from vaginal secretions. J. Clin. Microbiol. 28:455, 1990.
- 32-Sherwood L, Gorbach M D, Bartlett M D, John G: Anaerobic infections (First of Three Parts). N. Engl. J. Med.: 1117, 1974.
- 33-Sherwood L, Gorbach M D, Bartlett M D, John G: Anaerobic infections (Third of Three Parts). N. Engl. J. Med.: 1284, 1974.

- 34-Sherwood L, Gorbach M D, Batlett M D, John G:Anaerobic infections.N.Engl.J.Med.:1234,1974.
- 35-Shimda K, Inamatsu T and Yamashiro M:Anaerobic bacteria in biliary disease in elderly patient J.Clin.Inf. Diseases.135:850,1977.
- 36-Stokes E J:Anaerobes in routine diagnostic cultures. Lancet 1:668,1958.
- 37-Sutter V L : Wadsworth anaerobic bacteriology manuel, ed.4,Belmont,Calrf:Star Publishing Co,1985.
- 38-Tunçkanat F, Günol A: Anaerobik bakterilerin çeşitli enfeksiyonlardaki rolü ve antibiyotiklere duyarlılık durumları.Mikrobiyoloji Bülteni.20:230,1986.
- 39-Wilson WR: Anaerobic bacteremia. Mayo. Clin. Proc.47: 639,1972.
- 40-Wren MWD:Multiple selective media for the isolation anaerobic bacteria from Clinical Specimen.J.Clin Path. 33:61,1980.