

**T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

ANABİLİM DALI BAŞKANI

Prof. Dr. Bülent Baysal

**ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
ANAEROP BAKTERİLERİN TANIMLANMASI VE
ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

Dr. Metin Doğan

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Bülent Baysal

Konya

2008

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Anaerop Bakterilerin Tarihçesi.....	3
2.2 Bakterilerin Oksijen ile Olan İlişkileri	3
2.3 Klinik Örneklerden Sık İzole Edilen Anaerop Bakteriler ve Sınıflama.....	6
2.4 Anaerop Bakterilerin Flora Üzerindeki Dağılımı ve Önemi.....	7
2.5 Anaerop Bakterilerin Patojenitesi ve Virulans Faktörleri.....	8
2.6 Anaerop Bakterilerin Neden Olduğu İnfeksiyonlar, İnfeksiyonun Özellikleri ve Bu Bakterilerin Tedavide Kullanım Çalışmaları.....	10
2.7 Klinik Örneklerin Seçimi, Alınması ve Nakli.....	14
2.7.1 Örneğin seçimi	14
2.7.2 Örneğin alınması.....	15
2.7.3 Örneğin nakli.....	15
2.8 Anaerop Kültür İçin Kullanılan Besiyerleri ve Besiyeri Seçimi.....	17
2.9 Anaerop İnkübasyon Sistemleri ve İnkübasyon Şartları.....	19
2.9.1 Anaerop kavanoz teknikleri (Anaerobic jar techniques)	19
2.9.2 Anaerop kabin (Anaerobic glove box = Anaerobic chamber).....	20
2.9.3 Anaerop plastik torbalar (Anaerobic disposable plastic bags).....	20
2.9.4 Roll tüp sistemi (The roll-streak system = Roll tube system)	20
2.9.5 Anaerop saklama kavanozu (Anaerobic holding jar).....	20
2.9.6 Anaerop bakterilerin inkübasyon şartları.....	21
2.10 Anaerop Bakteri İnfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı.....	21
2.11 Anaerop Bakterilerde Tedavi ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri.....	25
2.12 Beta Laktamaz Üreten Anaerop Bakteriler.....	27
2.13 Anaerop Bakteriler İçin Uygulanan Duyarlılık Test Yöntemleri.....	28
3. GEREÇ ve YÖNTEM	29
3.1 Kullanılan Besiyerleri ve Hazırlanması.....	31
3.1.1 Schaedler Anaerop Agar.....	31
3.1.2 Wilkins-Chalgren Anaerop Agar.....	31
3.1.3 Cooked Meat Medium (Kıymalı Buyon)	32
3.2 Anaerobik İnkübasyon ve Denetlenmesi	32
3.3 Bakterilerin İzolasyonu.....	33
3.4 İzole Edilen Anaerop Bakterilerin Biyokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi ve Tanımlanması İçin Yapılan İşlemler	34

3.5 Beta Laktamaz Üreten Bakterilerin Belirlenmesi	36
3.6 Antimikrobik Duyarlılık Testi (E-test)	37
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	42
6. ÖZET	57
7. ABSTRACT	58
8. KAYNAKLAR	59
9. TEŞEKKÜR	64

TABLULAR

Tablo I. Klinik önemi olan ve/veya klinik örneklerden sıklıkla izole edilen Anaerop bakteriler	1
Tablo II. Normal insan florasında bulunabilen anaerop bakteriler.....	7
Tablo III. Anaerop infeksiyonlar için predispozan faktörler.....	9
Tablo IV. Anaerop infeksiyonlara predispozan klinik faktörler.....	9
Tablo V. Gram negatif anaerop bakterilerin virulans faktörleri.	10
Tablo VI. İnsan vücudunda sık görülen endojen ve ekzojen kaynaklı anaerop bakteri infeksiyonları.....	11
Tablo VII. Çeşitli infeksiyonlarda anaerop infeksiyonların nisbi görülme sıklıkları.....	12
Tablo VIII. Çeşitli infeksiyonlardan sıklıkla izole edilen anaerop bakteriler.	12
Tablo IX. Anaerop kültür için örneklerin alınmasında infeksiyonun yerine göre yapılması gereken işlemler.....	16
Tablo X. Anaerop bakteri izalasyonunda kullanılan besiyerleri.....	17
Tablo XI. Anaerop bakterilerin koloni özelliklerine göre muhtemel tanısı	22
Tablo XII. Gram boyamada anaerop bakterilerin morfolojik görünümüne göre ön tanı.....	22
Tablo XIII. Antibiyotik içeren disklerle göre anaerop bakterilerin ön tanısı.....	23
Tablo XIV. Hızlı tanı testlerinin yapılmasıyla bazı anaerop bakterilerin tanımlaması	24
Tablo XV. Anaerop bakterilerde çeşitli antimikrobiklere karşı görülen direnç mekanizmaları.....	27
Tablo XVI. Kabul edilen örneklerin kliniklere göre dağılımı ve izole edilen mikroorganizma sayıları.	40
Tablo XVII. Kabul edilen klinik örneklerin türü ve üretilen anaerop bakterilerin bu örneklere göre dağılımı.....	40
Tablo XVIII. Tanımlanan anaerop bakterilerin antimikrobik duyarlılık oranları ve beta laktamaz üreten suşlar.....	41
Tablo XIX. Çeşitli merkezlerde klinik örneklerden izole edilen anaerop bakterilerin oranı.....	43
Tablo XX. Yurt dışında çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalara göre anaerop bakterilerin duyarlılık oranları.....	52
Tablo XXI. Türkiye’de çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalara göre anaerop bakterilerin duyarlılık oranları.....	54

1. GİRİŞ

Anaerop bakteriler, doğada ve insan florasında bol miktarda bulunmaktadır. İnsan vücudunda, deri, gastrointestinal sistem, vajen ve burun gibi birçok organdan normal flora bakterileri olarak anaerop bakteriler izole edilebilmektedir.

Anaerop bakterilerin çoğu saprofit olup, patojen olanların sayısı oldukça azdır. Bu bakteriler normal koşullarda infeksiyon oluşturmazken, doku hasarı gibi redoks potansiyelinin düştüğü durumlarda ve fakültatif anaerop bakterilere sekonder olarak infeksiyon etkeni olabilmektedir.

Anaerop bakteriler insanlarda ciddi ve ağır infeksiyonlara neden olabilmektedir. Klinik muayene örneklerinden değişen oranlarda anaerop bakteri izole edildiği, başarılı anaerop çalışması yapılan laboratuvarlardan bildirilmektedir. İzolasyon ve identifikasyonda karşılaşılan güçlüklerden dolayı, anaerop bakteri infeksiyonları çoğu zaman gözden kaçabilmektedir ve bu durum morbidite ve mortaliteyi olumsuz etkilemektedir. Özellikle ekzojen kaynaklı anaerop bakteri infeksiyonları olmak üzere, bu infeksiyonlar için uygun girişimsel tedavi ve uygun antimikrobik tedavi başlanmazsa, ölümlerle sonuçlanan durumlar ortaya çıkabilmektedir.

Çeşitli vücut bölgelerinde oluşan anaerop bakteri infeksiyon etkenlerinin bilinmesi, empirik tedavinin belirlenmesi açısından önemlidir. Aynı zamanda anaerop ajanlara karşı birçok bölgede artan direncin bildirilmesi, zaman zaman antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi gereğini ortaya koymaktadır.

Klinik örneklerin alınması ve laboratuvara ulaştırılmasında yeterli özenin gösterilmemesi ve laboratuvarın uygun izolasyon stratejilerini belirlememesi nedeniyle bu bakterilerin izolasyonunda başarısızlıklar yaşanmaktadır. Bu nedenle birçok laboratuvar anaerop bakterilerin izolasyon ve tanımlanmasında başarısız kalmaktadır ve bu yüzden birçok bölgenin antibiyotik direnç profilleri bilinmemektedir.

Günümüzde anaerop bakterilere karşı artan direncin görülmesiyle birlikte, özellikle eğitim ve araştırma hastanelerinde, anaerop bakterilerin izolasyon,

tanımlanma ve antibiyotik duyarlılığının araştırılması konusuna daha fazla önem vermeye başlanmıştır.

Mikrobiyoloji uzmanlarının anaerop bakteriler konusunda bilgi ve becerilerinin artırılması, bununla birlikte klinisyenlerin de anaerop bakteriler konusunda bilgilendirilmeleri, bu bakterilerin tedavisinde başarı şansını arttıracak bir gerçektir.

Bu çalışmada, hastanemizde anaerop kültür çalışmalarının gözden geçirilmesi, hastanemiz ve laboratuvarımız için uygun olabilecek etkin çalışmanın planlaması hedeflenmektedir. Bununla birlikte çeşitli klinik örneklerde infeksiyon etkeni olan anaerop bakterilerin izolasyon oranlarının belirlenmesi, izole edilen anaerop mikroorganizmaların tanımlanması ve bu mikroorganizmaların çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Anaerop Bakterilerin Tarihçesi

İnsanlar, havasız ortamda canlılığın mümkün olabileceğine uzun süre ihtimal vermemişlerdir. Birçok canlının yaşayabilmesi için mutlak gerekli olan oksijen, anaerop bakteriler için toksik etki göstermektedir. Anaerop bakteriler oksijensiz ortamda yaşayabilen mikro canlılardır ve insanda flora elemanı olarak bulunan en yaygın mikroorganizmalardandır.

Hipokrat tetanoz hastalığını ilk olarak M.Ö. 4. yüzyılda tarif etmiştir. Fakat anaerop bakterilerin varlığının gösterilmesi ve invitro olarak üretilmeleri yüz yıllar sonra olmuştur. 17. Yüzyıl'da, Antonie Van Leeuwenhoek geliştirdiği mikroskopla havasız ortamda yaşayabilen ve hareket eden canlıların varlığından bahsetmiştir. Pasteur 1860'lı yıllarda havasız ortamda bazı mikroorganizmaları üretmiştir ve daha sonra *Clostridium* cinsi bakteriler izole edilmiştir. Pasteur, 1877 de Jubert ile birlikte yürüttüğü çalışmaların sonucunda *Clostridium septicum*'u üretmiştir. Veillon ve Zuber, 1800'lü yılların sonunda, anaerop bakterilerin kötü kokulu cerahatler ve çeşitli infeksiyonlarda etken olduğundan bahsetmişlerdir. 1960'lı yıllara kadar anaerop bakterilerle ilgili çalışmalar *Clostridium* cinsi üzerine yoğunlaşırken, günümüzde anaerop bakterilerin virülans özellikleri ve antimikrobiyal tedaviye yanıtlarıyla ilgili çalışmalar yapılmaktadır (1-3).

Günümüzde ilerleyen teknolojiyle birlikte, anaerop bakterilerin izolasyonu, tanımlanması ve bu mikroorganizmaların patojenite özellikleri ile ilgili çalışmalarda, diğer yöntemlerle birlikte, moleküler yöntemler de başarılı bir şekilde kullanılabilir hale gelmiştir (4,5).

2.2 Bakterilerin Oksijen ile Olan İlişkileri

Aerobik solunumda son hidrojen alıcısı atmosferdeki oksijendir. Anaerobik solunumda son hidrojen alıcısı ise, oksijen dışında, N, S ve C gibi maddeleri kullanarak NH_3 , H_2S ve CH_4 gibi ürünler oluşturan maddelerdir (6). Anaerop bakteriler terminal elektron alıcısı olarak oksijeni kullanamazlar ve ihtiyacı olan enerjiyi fermentasyon yoluyla sağlarlar. Moleküler oksijen anaerop bakterilerin birçoğu için değişik derecede öldürücü etki gösterir.

Bakteriler oksijen ve karbondioksit ile olan ilişkilerine göre aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir (1,7,8):

I. Anaerop bakteriler: Oksijen varlığında üremesi engellenen bakterilerdir.

A. Zorunlu (obligate) anaerop bakteriler: Zorunlu anaeroplara oksijen varlığında üreyebilme özelliklerine veya oksijene olan tolerans yeteneklerine göre tekrar ikiye ayrılırlar.

a. Kesin zorunlu (obligate) anaeroplara: %0,5 den fazla miktarda oksijen maruz kalınca agar yüzeyinde üreyemezler. Bu bakterilere *Clostridium haemolyticum*, *C.novyi tip B* ve *Selenomonas ruminatum* ve *Treponema denticola* örnek gösterilebilir. Bu bakterilerin on dakika kadar havaya maruz kalmaları canlılıklarını yitirmelerine neden olur.

b. Orta derecede zorunlu (moderate obligate) anaeroplara: Bunlar %2-8 (ortalama %3) aralığındaki oksijen varlığında üreyebilirler. Bu bakterilere örnek olarak *Bacteriodes fragilis*, pigmentli *Prevotella* ve *Porphyromonas* grupları, *Fusobacterium nucleatum* ve *C.perfiringes* gösterilebilir. Klinik laboratuvarlarından izole edilen anaerop bakterilerin çoğu orta derecede zorunlu anaeroplardır.

B. Aerotoleran anaeroplara: Aerotoleran anaerop kelimesi ise, oda havasındaki veya %5-10 CO₂ inkübatöründeki agarda kısıtlı üreyen, fakat anaerobik şartlarda iyi üreyen bakteriler için kullanılır. Örnek olarak *C.histolyticum* ve *C.tertium* gösterilebilir.

II. Fakültatif anaeroplara: Aerop ve anaerop şartlar altında üreyebililen bakterilerdir (Ör: *E.coli* ve *S.aureus*).

III. Mikroaerofiller: Terminal elektron alıcısı olarak oksijeni kullanırlar. Fakat aerop bir inkübatörde (%21 O₂) bulunan katı besiyerinin yüzeyinde üreme göstermezler ve tamamen anaerop şartlarda ise minimal üreme gösterirler, optimal olarak %5 oksijenli ortamda ürerler (Ör: *C.jejuni*, *B.abortus*).

IV. Zorunlu aeroplara: Üreyebilmeleri için %15-21 oksijene ihtiyacı olan bakterilerdir (Ör: *Mycobacterium*, *C.diphtheriae*).

Anaerop bir bakterinin üretilmesi için iki faktör çok önemlidir:

1. Ortamın oksidasyon-redüksiyon potansiyeli (redoks potansiyeli = Eh) ve ortam pH'ının uygun olması
2. Ortamda bulunan oksijen ve hidrojen gazlarının konsantrasyonunun uygun olması

Anaerop bakteriler oksijen metabolizması için gerekli olan sitokrom sistemi ve süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz gibi enzimleri içermediklerinden, bu bakteriler için oksijen toksik etki göstermektedir (1,6,7).

Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksit radikallerinin daha az toksik olan hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürdüğü reaksiyonu katalizler. Katalaz enzimi ise, hidrojen peroksidin su (H_2O) ve oksijene (O_2) dönüşümünü sağlayan basamakta etkilidir. Bu enzimlerin yokluğu oksijen metabolizmasının toksik ürünleri olan süperoksit anyonu (O_2^-) serbest hidroksil radikali (OH), serbest oksijen (O_2) ve hidrojen peroksidin (H_2O_2) birikimine neden olmakta ve böylece bakteri üzerine toksik etki göstermektedirler (1,6,7).

Ortamda oksijen konsantrasyonu arttıkça bakteri üzerine iki fazlı hasar meydana gelmekte ve bakteriyostatik (faz I) ve/veya bakterisidal (faz II) etkiler görülmektedir. Faz I'de anaerop bakteri oksijene maruz kaldığında bakterinin gelişiminde yavaşlama veya tam bir durma meydana gelir, bu etki geri dönüşlü olabilir. Eğer bakteri oksijene maruz kalmaya devam ederse Faz II dönemine geçilir ve bakteri canlılığını yitirir, olay geri dönüşsüzdür (1).

Anaerop bakterilerin bulunduğu ortamla ilgili önemli bir parametre ortamın oksidasyon-redüksiyon (redoks) potansiyelidir ve biyolojik kimyasal bir sistemin elektron değişimine olan meylinin bir göstergesidir. Oksidasyon elektron kayıdır, redüksiyon ise elektron kazanılmasıdır. Ortamdaki oksidasyon şiddeti yüksek Eh değerleri, redüksiyon şiddeti ise düşük Eh değerleri verir (1,6,7).

Anaerop bakterilerin üremesi için redoks potansiyeli düşük besiyerleri kullanılır. Bu amaçla güçlü redüktan özelliğe sahip olan sistein ve sodyum tiyoglikolat gibi bileşimler besiyerine ilave edilir. Et parçaları, glikoz, sodyum sülfid, bazı demir bileşikler, kıyma, karaciğer, balık eti, besiyerine konulacak demir parçaları da redüktan olarak kullanılabilir. Bunlar besiyerlerinin oksidasyon-redüksiyon potansiyelini düşürüp anaeroplara üremelerini mümkün kılar. Bu redüktan ajanların ortama ilave edilmesinin diğer bir sebebi ise ortamda çözünmüş halde bulunan oksijeni bağlamak veya azaltmaktır (1,8).

2.3 Klinik Örneklerden Sık İzole Edilen Anaerop Bakteriler ve Sınıflama

Daha önceleri anaerop bakterilerin sınıflandırılması, bakterilerin morfolojik görünüşleri ve fenotipik karakterlerine göre yapılmıştır. Modern genetik veya moleküler biyolojik tekniklerin taksonomik çalışmalarda kullanılması ile bu alanda belirgin gelişmeler olmuştur. Bu yöntemlerin kullanılmasıyla, taksonomik sınıflamada değişiklik yapılması gündeme gelmiş ve 2001-2004 yıllarında sınıflamada bazı değişikliklere gidilmiştir (9-11).

Klinik önemi olan ve/veya klinik örneklerden sıklıkla izole edilen anaerop bakterilerin Gram boyama ve morfolojik özelliklerine göre sınıflaması Tablo I'de özetlenmiştir.

Tablo I. Klinik önemi olan ve/veya klinik örneklerden sıklıkla izole edilen anaerop bakteriler (7,11).

Gram negatif çomaklar	
Bacteroides fragilis grubu	<i>B. fragilis</i> , <i>B.thetaiotaomicron</i> , <i>B.distasonis</i> , <i>B.ovatus</i> , <i>B.vulgatus</i>
Diğer Bacteroides'ler	<i>B.ureolyticus</i>
Porphyromonas	<i>P.asaccharolytica</i> , <i>P.gingivalis</i> , <i>P.endodontalis</i>
Pigmentli Prevotella	<i>P.melaninogenica</i> , <i>P.denticola</i> , <i>P.loescheii</i> , <i>P.intermedia</i> , <i>P.corporis</i> , <i>P.tanneriae</i> , <i>P.nigrescens</i>
Pigmentsiz Prevotella	<i>P.oralis</i> grup, <i>P.bivia</i> , <i>P.disiens</i> , <i>P.oris/buccae</i>
Fusobacterium	<i>F.nucleatum</i> , <i>F.necrophorum</i> , <i>F.mortiferum</i> , <i>F.varium</i>
Bilophila wadsworthia	
Anaerobik koklar	
Gram pozitif koklar	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , <i>Finogoldia magna</i> , <i>Micromonas micros</i> , <i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i> , <i>Anaerococcus prevotii</i> , Mikroaerofilik streptokoklar, (<i>S.intermedius</i> dahil)
Gram negatif koklar	<i>Veillonella</i> spp.
Gram pozitif çomaklar	
Sporsuz Gram pozitif çomaklar	
Actinomyces	<i>A.israelii</i> , <i>A.meyerii</i> , <i>A.naeslundii</i> , <i>A.odontolyticus</i> , <i>A.viscosus</i>
Propionibacterium	<i>P.propionicum</i> , <i>P.acnes</i>
Bifidobacterium	<i>Bifidobacterium dentium</i>
Eubacterium	<i>E.limosum</i> , <i>Eggerthella lenta</i> (<i>Eubacterium lentum</i>)
Sporlu Gram pozitif çomaklar	
Clostridium	<i>C.perfringens</i> , <i>C.clostridioforme</i> grup, <i>C.inoocuum</i> , <i>C.ramosum</i> , <i>C.difficile</i> , <i>C.bifermentans</i> , <i>C.sporogenes</i> , <i>C.septicum</i> , <i>C.novyi</i> , <i>C.histolyticum</i> , <i>C.sordelli</i> , <i>C.botulinum</i> , <i>C.tetani</i>

2.4 Anaerop Bakterilerin Flora Üzerindeki Dağılımı ve Önemi

Anaerop bakteriler insan florasının büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Normal florayı oluşturan bu bakteriler, konağın sağlığının korunması bakımından önemli role sahiptirler (1,2). Bu bakteriler insan vücudunda, ağız, üst solunum yolları, burun, gastrointestinal sistem, vajina gibi dış ortamla irtibatlı mukoza yüzeyleri ve deride flora elemanı olarak bulunurlar. Normal insan florasında bulunabilen anaerop bakteriler Tablo II'de özetlenmiştir.

Tablo II. İnsanda flora elemanı olarak bulunabilen anaerop bakteriler (7,11).

Ağız boşluğu ve üst solunum yolu
Pigmentli <i>Prevotella</i> türleri, <i>Porphyromonas spp.</i> Pigmentli olmayan <i>Prevotella spp.</i> (özellikle <i>P.oralis</i>) <i>Bacteroides spp.</i> (ör: <i>B.ureolyticus</i>) <i>Fusobacterium spp.</i> (özellikle <i>F.nucleatum</i>) <i>Peptostreptococcus spp.</i> , <i>Veillonella spp.</i> , <i>Actinomyces</i> ve <i>Propionibacterium spp.</i>
Mide (açlıkta)
<i>Lactobacillus</i>
İnce barsak (proksimal kısmı)
<i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i>
Kalın barsak ve terminal ileum
<i>Bacteroides fragilis</i> grubu, <i>Porphyromonas spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i> , Anaerop koklar, <i>Clostridium spp.</i> , <i>Eubacterium spp.</i> , <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>Propionibacterium</i>
Genito-üriner kanal; vajina ve serviks
Pigmentli <i>Prevotella spp.</i> , Pigmentli olmayan <i>Prevotella spp.</i> , <i>Porphyromonas spp.</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , Anaerop koklar, <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> , <i>Veillonella spp.</i> , <i>Eubacterium spp.</i> , <i>Propionibacterium spp.</i>
Üretra (erkek ve kadın)
<i>Propionibacterium spp.</i> , Anaerop koklar, <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Prevotella spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i>
Deri
<i>Propionibacterium spp.</i> , Anaerop koklar

Anaerop bakterilerin floradaki oranlarının değişmesi çeşitli klinik tabloları karşımıza çıkarabilmektedir. Urban ve ark. (12) erken doğum ve Gram negatif anaerop bakterilerle oluşan periodontitis arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu

çalışma sonucunda, gebeliğin erken döneminde oluşan ve devam eden periodontitis ile erken doğum ve düşük doğum ağırlığı arasında ilişki olduğunu belirtmişlerdir.

Könönen ve ark. (13) akut otitis media hastalığı olan infantları iki yaşına kadar takip etmişler ve nazofarinks örneklerini anaerop bakteri açısından değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada, nazofarinks florasında normalde anaerop bakteri bulunmadığını bildirmişlerdir, fakat akut otitis media süresince, geçici anaerop bakteri kolonizasyonu oluştuğundan bahsetmişlerdir.

Trejo ve ark. (14) sağlıklı çocuklardan izole ettikleri 27 *Bifidobacterium* suşu izole etmişler ve bu suşların *C.difficile*'nin adhezyon yapma özelliğini nasıl etkilediğini araştırmışlardır. Bu çalışmada, *Bifidobacterium* türlerinin, *Clostridium difficile*'nin adheziv etkisini azalttığını bildirmişlerdir.

Anaerop bakteriler, normal flora elemanları olarak konağın sağlığının korunmasında önemli rol oynarlarken, normal bulunması gereken yerlerin dışında bulunması durumunda veya ortam oksijeninin düşmesi gibi herhangi bir nedenle sayılarının artması ile çeşitli infeksiyonlara neden olabilmektedir (1,7).

2.5 Anaerop Bakterilerin Patojenitesi ve Virulans Faktörleri

1960'lı yıllardan önce, insanda bilinen anaerop infeksiyonlar, daha çok klostridyal kaynaklı idi. Fakat günümüzde bu infeksiyonlar daha seyrek görülmekte olup, infeksiyon kaynağı daha çok endojen kaynaklıdır. Genelde doku bütünlüğünün bozulması, vasküler staz, doku nekrozu gibi durumlar veya diğer hazırlayıcı nedenlerle anaerop infeksiyonlar oluşmaktadır ve bu infeksiyonlar genellikle fakültatif anaeroplara karıştığı miks infeksiyonlar şeklinde görülmektedir (1,2,7,15).

Anaerop infeksiyonların patogeneğinde rol alan önemli faktörler şunlardır (2,16).

1. Anaeroplara primer kaynağı genellikle normal floradır ve çoğunlukla polimikrobiyaldir.
2. Anatomik bariyerde kırılma, cerrahi, travma, hastalık gibi durumlar,

3. Antikor cevabı, kompleman sistemi aktivasyonu, polimorfonükleer lökositler (PMNL) cevap ve hücre sel tip immün (T hücreleri) cevapta azalma ile konağın savunma mekanizmalarında bozulma,
4. Oksidasyon-redüksiyon potansiyelinde azalma,
5. Bakteriyel inokulumun miktarı,
6. Diğer mikroorganizmalar ile sinerji,
7. Mikroorganizmanın virulans özellikleri, yapışma, invazyon, bakteriye ait yüzey yapıları, toksinler ve enzimler, anaerop bakterilerin patogene zinde etkili olan faktörlerdir.

Anaerop infeksiyonlara zemin hazırlayan durumlar özet halinde Tablo III'te verilmiştir.

Tablo III. Anaerop infeksiyonu hazırlayıcı faktörler (2,16).

Genel	Azalmış redoks potansiyeli
Diabetes mellitus	Obstrüksiyon ve staz
Kortikosteroidler	Doku anoksisi
Nötropeni	Doku yıkımı
Hipogamaglobulinemi	Aerop infeksiyon
Malignite	Yabancı cisim
İmmüno süpresyon	Kalsiyum tuzları
Sitotoksik ilaçlar	Yanıklar
Splenektomi	Vasküler yetmezlik
Kollagen damar hastalıkları	

Anaerop infeksiyonlara zemin hazırlayan klinik durumlar Tablo IV'te özet halinde verilmiştir.

Tablo IV. Anaerop infeksiyonu hazırlayıcı klinik faktörler (1,16).

Malignite (lösemi, kolon, uterus, akciğer kanserleri vb.)
Ağız, gastrointestinal kanal cerrahisi veya kadınlarda pelvik bölge cerrahisi
Oral, gastrointestinal ve genital kanalın hastalığı veya travması
İnsan ve hayvan ısırıkları
Aspirasyon (alkol, anestezi, bilinç kaybı vs.)
Aminoglikozidler ve TMP-SMX gibi anaeropların dirençli olduğu ilaçların kullanılması
Ateroskleroz gibi hipoksik durumlar

Anaerop bakterilerin virulans faktörlerinden bazıları Tablo V'te özetlenmiştir.

Tablo V. Anaerop Gram negatif bakterilerin virulans faktörleri (1,2,17).

<i>B.fragilis</i>
Kapsüler polisakkarit, nöraminidaz, proteazlar, enterotoksin, hemaglütünin, fibrinolizin, fimbria, adhezinler
<i>Porphyromonas</i> türleri
Proteaz, lipopolisakkarit, kapsül, hemolizin
<i>F.necrophorum</i>
Proteaz, lipopolisakkarit, hemolizin, fosfolipaz, lökotoxin
<i>F.nucleatum</i>
Adhezin, lipopolisakkarit, proteazlar
<i>Prevotella spp.</i>
Proteaz, lipopolisakkarit

Anaerop bakterilerin virulans faktörlerinden en iyi tanımlanmış olanları *Clostridium* türleri tarafından üretilen ekzotoksinlerdir. *C.botulinum* ve *C.tetani* tarafından üretilen ekzotoksinler bilinen en potent mikrobiyal toksinlerdir. *C.perfringens*'in major toksini α toksin olan fosfolipaz C'dir. Bu enzim eritrositler, trombositler endotel hücreleri ve kas hücrelerinin hücre membranındaki lesitin ve sifingomiyelini hidrolize eder. Alfa toksin, *C.perfringens* tarafından üretilen diğer toksinlerle birlikte kapiller permeabiliteyi etkiler. Bu mikroorganizma aynı zamanda bir kollagenaz üretir. *C.tetani* tarafından üretilen tetanospazmin inhibitör nörotransmitter olan GABA ve glisin salınımını engeller, tetanolizin ise hemolitik özelliğe sahiptir. *C.botulinum* tip A toksini, hemaglütünin ve nörotoksin (asetilkolin salınımını engelleyerek gevşek paralizi oluşturur) salgılar. *C.perfringens* ve *C.difficile*'nin (toksin A enterotoksin, toksin B ise stotoksin) sitolitik toksinleri doku yıkımına, lokal beslenme bozukluğuna neden olmakta ve bakterilerin üreyebilmesi için uygun bir ortam sağlamaktır (18-23).

Porphyromonas'ın salgıladığı butirik asit memeli hücre kültürlerinde sitotoksik etkiye sahip iken, *Bacteroides* türlerince oluşturulan suksinik asit polimorf nüveli lökosit (PMNL) göçünü önlemekte ve abse oluşumuna zemin hazırlamaktadır. *Propionibacterium acnes*, follikül dibinde oluşturduğu propionik asitin iritan etkisi ile komedon oluşumuna neden olmaktadır (1).

2.6 Anaerop Bakterilerin Neden Olduğu İnfeksiyonlar, İnfeksiyonun Özellikleri ve Bu Bakterilerin Tedavide Kullanım Çalışmaları

Anaerop bakteriler insanda, hemen hemen bütün organlarda infeksiyona yol açabilirler. Bu bakterilerin sebep olduğu infeksiyonlar eksojen ve endojen kaynaklı olabilir. Travma, vasküler staz, doku nekrozu gibi durumlarda veya fakültatif anaerop bakterilerin oluşturduğu infeksiyonların etkisiyle dokulardaki oksijen miktarının ve oksidasyon-redüksiyon potansiyeli azalmasıyla, zorunlu anaeroplara için uygun şartlar hazırlanmış olur. Anaerop bakteri infeksiyonları çoğunlukla polimikrobiyal olup, anaeroplara yanı sıra, fakültatif anaeroplara veya mikroaerofil bakteriler de bu infeksiyonlara karışabilirler (7,24).

Tablo VI'da insan vücudunda sık olarak görülen endojen ve eksojen kaynaklı anaerop infeksiyonlar özetlenmiştir.

Tablo VI. İnsan vücudunda sık görülen endojen ve eksojen kaynaklı anaerop bakteri infeksiyonları (7).

Eksojen kaynaklı anaerop infeksiyonlar	Endojen kaynaklı anaerop infeksiyonlar
Hastane kaynaklı <i>Clostridium difficile</i> 'ye bağlı diyare	Herhangi bir organda görülen abseler
Besinlerle bulaşan botulizm	Aktinomikoz
İnfant botulizmi	Antibiyotiğe bağlı diare ve kolit
Yara botulizmi	Aspirasyon pnömonileri
<i>C.perfringens</i> 'e bağlı gastroenterit	Apandisit ve kolesistit komplikasyonları
Myonekrozis (gazlı gangren)	Krepitan olan ve olmayan sellülit
Tetanoz	Dental ve periodontal infeksiyonlar
Krepitan sellülit	Endokardit
	Menenjit (genellikle beyin abselerini takiben)
Benign süperfisiyal infeksiyonlar	Nekrotizan pnömoni
	Osteomyelit
İnsan veya hayvan ısırıklarını takiben görülen infeksiyonlar	Otitis media
İlaç kullananlarda görülen injeksiyona bağlı infeksiyonlar	Peritonit
Septik abortus	Septik artrit
	Sinüzit
	Subdural ampiyem
	Torasik ampiyem

Çeşitli infeksiyonlarda anaerop bakterilerin neden olduğu infeksiyonların nisbi görülme sıklıkları Tablo VII'de gösterilmiştir.

Tablo VII. Çeşitli infeksiyonlarda anaerop infeksiyonların göreceli görülme sıklıkları (7,11).

İnfeksiyon tipi	⁽⁷⁾ Anaerop infeksiyon sıklığı %	⁽¹¹⁾ Anaerop infeksiyon sıklığı %
Bakteremi (pozitif kültürlerde)	06-10	03-6
Aspirasyon pnömonisi	62-93	62-93
Beyin absesi	60-89	62-83
Kronik sinüzit	52	48-100
Dental/oral	90-100	67-100
Ampiyem	76	22-36
İntra abdominal/pelvik infeksiyonlar	60-100	50-94
Osteomyelit	77	22-40
Göğüs absesi	79-95	53-71
Perirektal abse	75	77-90
Gazlı gangren (klostridyal myonekroz)	85-95	100

Çeşitli infeksiyonlardan sıklıkla izole edilen anaerop bakteriler Tablo VIII'de gösterilmiştir.

Tablo VIII. Çeşitli infeksiyonlardan sıklıkla izole edilen anaerop bakteriler (1,11).

İnfeksiyon tipi	Anaerop bakteri (etken)	Açıklama
Ağız içi sinüs ve dış infeksiyonları	Anaerop koklar, <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Veillonella spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i>	Sıklıkla polimikrobiyal
İntraabdominal infeksiyonlar, karaciğer absesi ve peritonit	<i>B.fragilis spp.</i> , Diğer <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>C.perfringens</i> , Diğer <i>Clostridium türleri</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i>	Sıklıkla polimikrobiyal
Gazlı gangren	<i>C.perfringens</i> , <i>C.novyi</i> , <i>C.septicum</i>	%80-95 Polimikrobiyal
Perineal ve perirektal infeksiyonlar	<i>B.fragilis grubu</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i> , <i>Eubacterium spp.</i>	
Psödomembranöz kolit ve antibiyotikler ile ilgili ishaller	<i>C.difficile</i> , <i>C.perfringens</i> (daha az sıklıkla)	
Bakteremi	<i>Bacteroides spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i>	Klinik olarak önemli
Beyin absesi	<i>Bacteroides spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> (çok nadir olarak)	Sıklıkla polimikrobiyal
Vincent anjini ve postanjinal septisemi	<i>F.nucleatum</i> , <i>F.necrophorum</i>	
Endokardit	<i>Bacteroides spp.</i> , Gram pozitif koklar, sporsuz Gram pozitif basiller	Çok seyrek izole edilir
Kadın ürogenital sistem infeksiyonları	Anaerop Gram pozitif koklar, <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> , <i>Mobilincus spp.</i>	

Anaerobik infeksiyonlarda bizi yönlendiren bazı ipuçları bulunmaktadır. Aşağıda anaerop infeksiyon varlığını düşündüren bulgular verilmiştir (1,11,16,25).

- a.** Lezyona ait akıntı veya kötü kokunun bulunması
- b.** İnfeksiyonun yerleşim yerinin mukozal bir yüzeye yakın olması
- c.** Gazlı gangren ve Aktinomikoz gibi anaerop infeksiyonlara ait klasik klinik tablonun var olması
- d.** Eksuda örneklerinde siyah renk değişiminin gözlenmesi
- e.** UV ışığı altında örneklerin ve anaerop şartlarda beklemiş besiyerinde üreyen mikroorganizmaların flöresan vermesi
- f.** Eksuda örneğinden yapılan Gram boyamada mikroorganizma görülmesine rağmen aerop kültürde üreme olmayışı
- g.** Lezyona ait yabancı cisim (taş, toprak, kumaş parçaları vb.) bulunması
- h.** Lezyonda psödomembran bulunması
- i.** Doku nekrozu, gangren, abse oluşumu
- j.** İnsan veya hayvan ısırığı sonrası gelişen infeksiyonlar
- k.** Dokularda gaz varlığı veya akıntı olması
- l.** Septik tromboflebit
- m.** Malignitelere (özellikle kolon, uterus, akciğer) eşlik eden infeksiyon
- n.** Aminoglikozidler (neomisin, gentamisin ve amikasin), trimetoprim-sulfametaksazol, kinolonların birçoğu, monobaktamlar ve bazı sefalosporinler ile tedavide etkin sonuçların alınmadığı infeksiyonlar.

Anaerop bakteriler insanlarda çeşitli infeksiyonların oluşmasına sebep olmakta ve bazen kötü kokular oluşturmaktadır. Tsuneishi ve ark. (26) ağızlarında kötü koku olan hastalardan tonsil dokularında *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Megasphaera*, *Porphyromonas*, *Prevotella* gibi anaerop bakterileri izole etmişlerdir ve bu bakterilerin ağızda kötü kokuya neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Anaerop bakteriler akut infeksiyonlardan izole edilebildiği gibi kronik infeksiyonlardan da izole edilebilmektedir. Brook (27) yapmış olduğu çalışmada 26 akut sinüzit ve 17 kronik sinüzitli hastanın sinüs aspiratlarını bakteriyolojik yönden değerlendirmiş, akut sinüzitli hastalarda 37 fakültatif anaerop ve aerop bakteri, 27 anaerop bakteri izole ederken, kronik vakalarda 47 fakültatif anaerop ve aerop

bakteri, 68 anaerop bakteri izole etmiştir. Bu durum kronik sinüzit infeksiyonlarında anaerop bakteri izolasyonunun arttığını göstermektedir

Anaerop infeksiyonlar insanlarda daha çok endojen kaynaklı olup, klinik örneklerden sıklıkla *Bacteroides* cinsi bakteriler izole edilmektedir. Bunu sırasıyla, peptostreptokok infeksiyonları, fusobakteri infeksiyonları ve sporsuz Gram pozitif kok infeksiyonları izlemektedir (1).

Yukarıda bahsedildiği gibi, anaerop bakteriler normal flora elamanı olarak insan vücudunda çeşitli bölgelerde bulunabilmektedir ve özellikle predispozan faktörlerin olması durumunda çeşitli infeksiyonlara neden olabilmektedir. Bununla birlikte, yeni çalışmalar anaerop bakterilerin tedavide kullanılmasını gündeme getirmiştir. Anaerop bakterilerin probiyotik etkileri ve *C.difficile* gibi ishal nedeni olabilen bakterilerin adheziv etkilerine karşı bu bakterilerin anti-adheziv etkilerini araştıran çeşitli çalışmalar yapılmıştır (14,28-30). Ayrıca bu bakterilerin tümör terapisinde kullanımı ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır (31).

2.7 Klinik Örneklerin Seçimi, Alınması ve Nakli

2.7.1 Örneğin seçimi: Anaerop bakterilerin sebep olduğu infeksiyonlarda tanıyı doğru koyabilmek için uyulması gereken en önemli kural örneğin doğru seçimidir. Anaerop kültürde tanıyı doğru koymak için öncelikli olarak normal floradan sakınılmalıdır. Optimal kabul edilebilecek örnekler, steril vücut sıvıları, aspiratlar veya normalde steril olan bölgelerden alınan sıvı ve biyopsi örnekleridir. Genel bir kural olarak sıvı veya doku örnekleri tercih edilmelidir. Sürüntü örneklerinden kaçınılmalıdır (1,2,7).

Normal flora nedeni ile kontaminasyondan kaçınılamayacağı için anaerop kültür için uygun olmayan ve alınması tavsiye edilmeyen örnekler aşağıda maddeler halinde verilmiştir (1,2,7,32).

1. Boğaz ve nazofarengal sürüntü örnekleri
2. Gingival sürüntü örneği
3. Ekspektore edilen balgam
4. Nazo-trakeal ve oro-trakeal aspirasyon ile alınan balgam

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

2.7.2 Örneğin alınması: Klinik örneklerden anaerop bakterilerin izole edilebilmesi ve tanının doğru konulabilmesi için uyulması gereken ikinci kural örneğin doğru olarak alınmasıdır. Örnek alınırken öncelikli olarak, oksijen ile temasın önlenmesi için önlem alınmalıdır. Genel anlamda müköz membranlar veya ciltten örnek alınırken yüzeyin dekontaminasyon işlemi yapılmalıdır. Bu amaçla %10 povidon-iyot (betadin) uygulamasından sonra %70 alkol ile temizleme yapılmalıdır (1,7,32).

Anaerop kültür için en uygun örnek, enjektör ve benzeri aletler kullanılarak alınan örneklerdir. Doku ve biyopsi örnekleri de anaerop kültür için tercih edilebilir. Eküvyonla alınan örneklerin az materyal içermesi, normal flora üyeleri ile kontamine olma riskinin yüksek olması, bakterilerin pamuk liflerine yapışması ve pamuk liflerinin Gram boyama kalitesini düşürmesi gibi nedenlerle, mecbur kalınmadıkça eküvyonla örnek alımına başvurulmamalıdır. Gerekli durumlarda anaerop swap sistemi kullanılarak örnek alınabilir (1,7,32).

Anaerop kültür için örneklerin alınmasında infeksiyonun yerine göre yapılması gereken işlemler Tablo IX'da gösterilmiştir.

2.7.3 Örneğin nakli: Anaerop bakteriler oksijene karşı çok duyarlı olduklarından alınan örnek derhal, bekletilmeden, en hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Bakterinin canlılığını yitirmeden laboratuvara ulaştırılarak ekiminin yapılması için

Tablo IX. Anaerop kültür için örneklerin alınmasında infeksiyonun yerine göre yapılması gereken işlemler (1,16,32).

İnfeksiyonun yeri	Uygun olan örnekler ve örneğin alınma yöntemi
Merkezi sinir sistemi	BOS, abse materyali, doku biyopsisi (steril şartlarda alınan)
Dental bölge, kulak, burun, boğaz ve sinüsler	Yüzey dekontaminasyonundan sonra abseden alınan aspirasyon veya biopsi materyali Orta kulak aspiratı Paranasal sinüslerden kateter ile alınan aspirat örneği
Akciğer ve plevra	Korunmuş fırçayla yapılan transtrakeal aspirasyon Perkütan akciğer biyopsisi işlemi ile alınan örnek Torakotomi ile alınan örnek Koruyucu çift lümenli kateter ile elde edilen bronkoskobik örnekler Steril olarak alınan plevra sıvısı
Abdominal bölge	Parasentez sıvısı (steril olarak alınan periton sıvısı) USG eşliğinde veya ameliyat anında absenin derinlerinden enjektör ile alınan aspirasyon materyali İntestinal flora ile kontamine olmamış ise cerrahi örnekler Safla (Cerrahi işlem esnasında elde edilen)
Kalın barsak	Sadece <i>C.difficile</i> veya <i>C.botulinum</i> 'ün etken olduğu düşünülen durumlarda kültür veya toksin çalışmaları için gaita örneği
Kadın genital sistemi	Laparaskopi örnekleri Cerrahi ile elde edilen örnekler Endometriyal örnek (korunmuş emme küreti ile elde edilen) Kuldosentez ile alınan peritoneal sıvı Rahim içi araçlar (RIA=IUD) (sadece <i>Actinomyces</i> 'ler için)
Üriner sistem	Suprapubik aspirasyon ile elde edilen idrar
Kemik ve eklem	Eklem aralığından elde edilen aspirat (süpüratif artrit'de) Cerrahi sonrası drenaj materyalinin derin aspirasyonu veya biyopsi örneği (Ör.; Osteomyelit)
Yumuşak doku, açık yaralar	Yüzey dekontaminasyonu takiben yaranın derinliklerinden alınan biyopsi veya yara kenarından yapılan derin aspirasyon
Sinüs kanalları	Cilde açılan ağızların (orifis) dikkatlice dekontaminasyonunu takiben enjektör ile ve küçük plastik kateter ile yapılan aspirasyon
Derin abseler, anaerobik selülit, infekte vasküler gangren, klostridiyal myonekroz	Yüzey dekontaminasyonunu takiben iğne ile alınan aspirasyon örneği yada biyopsi örneği
Cerrahi örnekler	Küretaj veya biyopsi örneği
Dekubitis ve diğer yüzeysel ülserler	Yüzey temizliğinden sonra derin ceplerden aspire edilen pü veya kenardan girilerek derin dokudan elde edilen biyopsi örneği

gereken süre, örneğin cinsine, miktarına ve alınış şekline bağlıdır. Silgiç ile alınmış olan örnekler ve miktarı çok az olan örnekler anaerop transport besiyeri içinde taşınmalıdır. Anaerop transport besiyerleri, genellikle Cary-Blair ve diğer agar içeren vasatların modifiye şekilleridir ve hazır ticari ürünler bulunmaktadır. Bir ml'den daha fazla örnek içeren pürülan materyaller ve büyük doku parçaları ise birkaç saat oksijen toksisitesinden korunabilirler (1,32).

Örnek naklinde dikkat edilmesi gereken diğer bir konu ise örneğin nakledileceği ısıdır. Örnekler oda ısısında nakledilmeli, asla buzdolabına konulmamalı veya düşük ısıda nakledilmemelidir (1,16,32).

2.8 Anaerop Kültür İçin Kullanılan Besiyerleri ve Besiyeri Seçimi

Anaerop kültür için tercih edilecek besiyeri örneğin cinsine, miktarına ve laboratuvarın mali kaynaklarının gücüne bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Anaerop bakterilerin üretimi için kullanılan besiyerleri, seçici besiyerleri ve seçici olmayan genel üretim besiyerleri olmak üzere temelde iki ana gruba ayrılır. Bu besiyerleri Tablo X'da gösterilmiştir.

Tablo X. Anaerop bakteri izalasyonunda kullanılan besiyerleri (1,2,7,33).

Seçici olmayanlar	Seçici olanlar
Beyin kalp infusion agar (BHIA)	Kanamycin vancomycin kanlı agar (KVLB)
Brucella kanlı agar	Phenylethyl alcohol agar (PEA)
Colombia kanlı agar	Bacteroides bile esculin agar (BBE)
Schaedler kanlı agar	Cycloserine-cefoxitin fructose agar (CCFA)
CDC anaerop agar	Egg yolk agar (EYA)
Tiyoglikolatlı buyyon	Mobilincus agar
Fastidious anaerop agar (FAA)	Colistin-nalidixic acid kanlı agar
Kıymalı glukozlu buyyon (Chopped meat glucose broth)	
Tripticase sodium agar (TSA)	

Anaerop bakteri kültürü için kullanılacak besiyeri günlük olarak, taze hazırlanmalıdır ve kullanıncaya kadar oda ısısında, oksijenden korunmuş olarak bekletilmelidir. Buzdolabında bekletilen besiyerlerinde anaerop bakterilerin izole edilebilmesi mümkün değildir. Bekletilen besiyeri okside olacağından anaerop bakterilerin üremesi zorlaşacaktır. Sıvı besiyerlerinin kullanılmadan önce 5-15 dakika kaynatılması, besiyerinin redükte edilmesi bakımından önemlidir (1,2,7,33).

Anaerop besiyerlerine, redükleyici maddeler olarak, glikoz, sistein, tiyoglikolik asit, sodyum sülfid, askorbik asit, doku parçaları, demir gibi bazı oksidan metallerin parçaları gibi maddeler ilave edilebilir. Zenginleştirici maddeler olarak ise, %5 kan (koyun, at veya tavşan kanı), maya özeti, hemin (5 µg/ml) ve K₁ vitamini (1 µg/ml) ilave edilmelidir. Selektif besiyerleri için, kanamisin (100µg/ml), vankomisin (7,5 µg/ml), feniletal alkol (2,5g/lt), sikloserin (500mg/lt), sefoksitin (16mg/lt) gibi maddeler besiyerine ilave edilebilir(1,2,7,33).

Seçici olmayan besiyeri CDC (Centers for Disease Control and Prevention) agarda anaerop koklar iyi ürerken, Brucella agar ve Schaedler agarda anaerop Gram negatif basiller daha iyi ürerler. Sıvı besiyerleri olarak zenginleştirilmiş tiyoglikolatlı buyyon veya kıymalı glikozlu buyyon kullanılabilir (1,7,33). Wilkins ve Chalgren kendi geliştirdikleri besiyerine Wilkins-Chalgren besiyeri adını vermişlerdir ve antibiyotik duyarlılık testlerinde Brucella Agar veya Schaedler agardan daha iyi üreme olduğunu, en azından üremenin bu iki besiyerindeki kadar iyi olduğunu bildirmişlerdir (34).

Seçici besiyerleri ve bu besiyerlerinde üreyen mikroorganizmalar şunlardır (1,7,33):

Bacteroides bile esculin agar (BBE): *Bacteroides fragilis* grubunun selektif olarak üremesini artırır.

Kanamycin vancomycin kanlı agar (KVLB): *Bacteroides* ve *Prevotella* türlerinin üremesini seçici olarak destekler. Bu besiyeri, *Fusobacterium* suşlarının bazılarının üremesine izin verirken, vankomisinin 7,5 µg/ml konsantrasyonunda *Porphyromonas* türlerini üremesi inhibe olur.

Feniletal alkol koyun kanlı agar (PEA): Gram pozitif ve Gram-negatif anaeroplara birçoğunun üremesini desteklerken, fakültatif anaerop Gram-negatif basillerini üremesini inhibe eder.

Kolistin nalidiksik asit kanlı agar: Anaerop ve fakültatif anaerop Gram pozitif mikroorganizmaların üremesini seçici olarak desteklerken, Gram negatiflerin çoğunu inhibe eder.

Sikloserin-sefoksitin-fruktoz agar (CCFA): *C.difficile*'nin üretimi için kullanılır.

Egg yolk agar (EYA): *Clostridium spp.* infeksiyonundan şüphelenildiğinde veya anaerop izolatın tanımlanmasında proteolitik enzimlerin (lesitinaz veya lipaz) varlığı araştırılacak ise bu besiyeri kullanılır.

BBE (Bacteroides bile esculin agar): Safra ve gentamisin içerir ve aerop bakterilerin ve *B.fragilis* grubundan olmayan anaeroplarnın çoğunun üremesini inhibe ederler. *B.fragilis* grubu safra varlığında hızlı ürerler ve eskülinin hidrolizi ile kahverenginden siyaha kadar değişebilen renkte pigmentli koloni oluştururlar. *Fusobacterium varium* ve *F.mortiferum* suşları ise nadir olarak bu besiyerinde üreyebilir.

Yukarıda sayılan besiyerlerine ilaveten günümüzde otomatize sistemlere uyumlu anaerop kültür şişeleri de kullanılmaktadır. Bu besiyerleri vakum altında CO₂ ilavesiyle hazırlanan ve içinde Kolombiya broth, Tiyoglikolat medium, Wilkins Chalgren broth ve modifiye Schaedler broth gibi besiyerleri bulunduran sistemlerdir. Bactec Plus Anaerobic/F (resin içerir: antibiyotik bağlar), Bactec Lytic/10 Anaerobic F (litik ajan içerir), Bactec Anaerobic F, BacT/Alert, BacT/Alert FN, ESP 80N, ESP 40N gibi otomatize sistemler günümüzde kullanılmaktadır (7,32).

2.9 Anaerop İnkübasyon Sistemleri ve İnkübasyon Şartları

Anaerop bakterilerin izolasyon ve tanımlanma ve antibiyotik duyarlılık çalışmalarında anaerop ortam sağlayan çeşitli sistemler kullanılmaktadır. Bu sistemler aşağıda özetlenmiştir (2,7,32,35).

2.9.1 Anaerop kavanoz teknikleri (Anaerobic jar techniques): Anaerop atmosfer oluşturmak için en yaygın olarak kullanılan sistem anaerop jar'dır. Jarlar Gas-pak ismi altında çeşitli firmalar (BBL, Oxoid Ltd, Becton Dickinson, vs.) tarafından kullanıma sunulmuştur.

Anoxomat cihazı ise, üzerinde bulunan valf sayesinde jarın içerisindeki hava boşaltılarak yerine %80 azot (N₂), %10 hidrojen (H₂) ve %10 karbondioksit (CO₂) formülündeki gaz karışımı vererek anaerop atmosfer temin eden otomatize bir jar sistemidir.

Jarlar ilk kullanıma sunulduğu zamanlarda katalizör olarak palladyum bileşikleri kullanılmıştır, daha sonraları ise Gas-pak jar sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemde katalizör olarak palladyum kaplı alüminyum granülleri kullanılmıştır. Bu aşamadan sonra bir kullanımlık hidrojen ve karbondioksit (H_2-CO_2) gaz karışımı ortam sağlayan (Gas pak, Oxoid) ürünler geliştirilmiştir (disposable H_2-CO_2 generatör). Bu sistemde jar içerisine su ilave edilmesi gereklidir. Daha sonra ise su ilavesine ihtiyaç duyulmayan H_2-CO_2 gaz karışımı salgılayan hazır ticari ürünler kullanıma sunulmuştur (Anaero-Gen Oxoid).

2.9.2 Anaerop kabin (Anaerobic glove box = Anaerobic chamber): Anaerop kabin anaerop bakterilerin izolasyonu ve tanımlanması aşamasında yapılacak olan işlemlerin hava ile temas etmeden yapılmasını sağlayan ideal bir sistemdir. Anaerop kabin içerisine formülü %85 N_2 , %10 H_2 , %5 CO_2 olan gaz karışımı verilerek ideal anaerop ortam temin edilmektedir. Sistemin performansı rutin olarak belirli aralıklarla gözlemlenmelidir.

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

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

2.9.5 Anaerop saklama kavanozu: Azot (N_2) tankına bağlı yanyana üç adet jardan ibarettir. Bunlardan birincisine ekim yapılmamış plaklar konulur. İkincisine

daha önceden açılmış ve gerekli olduğu zaman pasaj yapılacak plaklar konulur. Üçüncü jara ise yeni ekim yapılmış plaklar konulur.

Anaerop sistemler redoks indikatörleri ile her gün denetlenmesi gerekmektedir. Bu amaç için metilen mavisi stripleri (BBL) veya rezasurin içeren stripler (Difco, Oxoid) kullanılabilir. Normalde anaerop ortamda strip renksiz olacaktır, eğer stripte renk değişikliği görülmüş ise anaerop ortamın sağlanmadığı anlaşılır (7,32).

2.9.6 Anaerop bakterilerin inkübasyon şartları: Klinik örneklerden bakterilerin ilk izolasyonu için en uygun ısı derecesi 35-37 °C (çoğu zaman 35 °C) olmasına rağmen *C.perfringes* gibi bazı bakteriler yüksek ısıda (42-47 °C) daha hızlı üremektedirler. Genel üretim besiyerine inkübasyonu yapılan bakteriler oksijene maruz kalmaksızın anaerop atmosferde en az 48 saat inkübe edilmelidir. *Actinomyces* ve *Porphyromonas* gibi yavaş üreyen anaeroplara üremelerine fırsat vermek için 48 saatte değerlendirilen plaklar atılmayarak tekrar inkübasyona bırakılmalıdır ve yedi gün kadar bekletilmelidir (1,2,7).

2.10 Anaerop Bakteri İnfeksiyonlarının Laboratuvar Tanısı

Anaerop bakterilerin tanımlanmasında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Tanımlamada izlenebilecek yöntemler aşağıda belirtilmiştir (1,7,25,36-40).

1. Materyal ve hastaya ait bilgilerin değerlendirilmesi ve materyalin incelenmesi: Muayene maddelerinin rengi, kokusu, gaz içerip içermediği, 356 nm boyunda UV ışığında flöresan verme özelliği, sülfür granülleri içerip içermediği araştırılır. Gram boyaması değerlendirilip, mikroorganizma varlığı, boyanma özellikleri, morfolojik görünümü ve lökosit varlığı kaydedilir.

2. Koloni morfolojisinin değerlendirilmesi ve UV ışığında flöresan varlığının araştırılması: Anaerop bakterilerin koloni özellikleri, pigment özellikleri ve değerlendirilmesi ve flöresan varlığının araştırılması muhtemel tanıyı belirlemede yararlıdır. Anaerop bakterilerin koloni özelliklerine göre muhtemel tanısı Tablo XI'de gösterilmiştir.

3. Mikroskopik özellikler: Üreyen kolonilerin Gram boyamaları yapılarak morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi ön tanıda oldukça değerlidir. Gram boyamada bakterilerin morfolojik görünümüne göre ön tanı Tablo XII'deki gibidir.

4. Antibiyotik disk testi: Antibiyotik içeren disklerle göre anaerop bakterilerin ön tanısı Tablo XIII'deki gibidir.

Tablo XI. Anaerop bakterilerin koloni özelliklerine göre muhtemel tanısı (1,7,25).

Özellik	Muhtemel Etken
Renk/pigment	
Kahverengi-siyah koloni	Gram negatif çomak: <i>Porphyromonas spp.</i> , <i>Prevotella spp.</i>
Kırmızı, pembe, ten, sarı	Gram pozitif kok: <i>Peptococcus niger</i>
Yoğunluk (şeffaf koloni)	Gram pozitif çomak: <i>Actinomyces spp.</i> , <i>B.ureolyticus</i>
UV ışığında flöresan verme	
Tuğla kırmızısı	Gram negatif çomak: <i>Porphyromonas spp.</i> , <i>Prevotella spp.</i>
Kırmızı	Gram negatif kok: <i>Veillonella spp.</i>
Açık yeşil	Gram negatif çomak: <i>F.nucleatum</i> Gram pozitif çomak: <i>C.difficile</i>
Agarı çukurlaştırma	<i>B.ureolyticus</i> , <i>B.gracilis</i> , <i>Wolinella spp.</i>
Çift zonlu hemoliz	<i>C.perfringens</i>
Yayılan koloni	<i>C.tetani</i> , <i>C.septicum</i>
Koku	
At ahır kokusu	<i>C.difficile</i>
Hoş olmayan tatlı kokusu	Gram pozitif kok: <i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
Örümcek ağı benzeri koloni	Gram pozitif çomak: <i>A.israelii</i> (genç koloni), <i>P.propionicum</i>
Azı dişi görünümlü koloni	Gram pozitif çomak: <i>A.israelii</i> (yaşlı koloni), <i>P.propionicum</i>
Beyaz, ekmek kırıntısı görünümlü	Gram negatif çomak: <i>F.nucleatum</i>
Sahanda yumurta görünümlü	Gram negatif çomak: <i>F.mortiferum</i> , <i>F.varium</i>
Buzlu cam görüntüsü	Gram negatif çomak: <i>F.nucleatum</i>

Tablo XII. Gram boyamada anaerop bakterilerin morfolojik görünümüne göre ön tanı (1,7,25,40).

Gram boyama			
pozitif		negatif	
çomak		kok	
spor			
var	yok		
<i>Clostridium spp.</i>	<i>Actinomyces spp.</i> <i>Bifidobacterium spp.</i> <i>Lactobacillus spp.</i> <i>Propionibacterium spp.</i> <i>Mobiluncus spp.</i>	<i>Peptococcus spp.</i> <i>Peptostreptococcus spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i>	<i>Bacteroides spp.</i> <i>Fusobacterium spp.</i> <i>Porphyromonas spp.</i> <i>Prevotella spp.</i>
			<i>Veillonella spp.</i>

Tablo XIII. Antibiyotik içeren disklerle göre anaerop bakterilerin ön tanısı(1,7,25,36,40).

Bakteri cinsi	Vankomisin (5µg)	Kanamisin (1 mg)	Kolistin (10 µg)
Gram-negatif	R ¹	V	V
Gram-pozitif	S ²	V	R
<i>B.fragilis</i> grubu	R	R	R
<i>B.ureolyticus</i>	R	S	S
<i>Fusobacterium spp.</i>	R	S	S
<i>Porphyromonas spp.</i>	S	R	R
<i>Veillonella spp.</i>	R	S	R
<i>Prevotella spp</i>	R	V	R

R: Dirençli, V: Değişken, S: Duyarlı

¹ *Porphyromonas spp.* vankomisin sensitiftir

² *Lactobacillus*’ün bazı türleri ve *Clostridium innocuum* türlerinin çoğu vankomisin rezistandır.

5. Biyokimyasal testler: Anaerop bakterilerin tanısında kullanılan biyokimyasal testler aşağıda sıralanmıştır:

- a. Karbonhidrat fermantasyon reaksiyonları
- b. Katalaz
- c. Eskülin hidrolizi
- d. Nitrat redüktaz (nitrat disk testi)
- e. SPS (sodyum polyanetolsulfonat) disk testi
- f. Safrada üreme varlığı
- g. Üreaz testi
- h. Lesitinaz ve lipaz reaksiyonları
- i. Format fumarat (F / F) ile üremenin stimülasyonu testi
- j. DNA-az araştırılması
- k. Jelatin hidrolizi
- l. Spor testi
- m. Hareket muayenesi
- n. İndol testi
- o. Toksin üretimi

6. Hızlı tanı testleri: Anaerop bakteriler bazı testler yapılarak hızlı bir şekilde identifiye edilebilir. Bunun için kullanılacak testler ve duyarlılık durumlarına göre bakteri tanımlaması Tablo XIV’de gösterilmiştir.

Tablo XIV. Hızlı tanı testlerinin yapılmasıyla bazı anaerop bakterilerin tanımlanması(1,7,36,38).

Anaerop bakteri	Özellikler															
	Hücre morfolojisi	Sporlar	Çift zonlu beta hemoliz	Kanamisin (1 mg)	Kolistin (10 µg)	Vankomisin (5 µg)	% 20 Safrada Üreme	Katalaz	Alanin peptidaz	İndol üretimi	Nitrat reduksiyonu	Üreaz	Lipaz	Lesitinaz	Hareket	Tuğla rengi flöresan
<i>B. fragilis</i> grubu	B	-	-	R	R	R	+	D	+	D	-	-	-	-	-	-
Diğer <i>Bacteroides</i> spp.	B	-	-	R	D	R	-	-	+	D	-	-	-	-	-	-
Pigmentli <i>Bacteroides</i> spp.	KB	-	-	R	D	D	-	-	+	O	-	-	D	-	-	+
<i>B. ureolyticus</i> grubu	B	-	-	S	S	R	-	-	-	-	+	D	-	-	-	D
<i>B. ureolyticus</i>	B	-	-	S	S	R	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>B. gracilis</i>	B	-	-	S	S	R	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Fusobacterium</i>	B	-	-	S	S	R	D	-	-	D	-	-	D	-	-	-
<i>Veillonella</i>	K	-	-	S	S	R	-	D	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Peptostreptococcus</i>	K	-	-	D	R	S	-	D	D	D	-	-	-	-	-	-
<i>Clostridium</i>	B	+	-	D	R	S	D	-	-	D	D	D	D	D	D	D
<i>C. perfringens</i>	B	+	+	S	R	S	+	-	-	-	D	-	-	+	-	-
<i>C. bifermentans</i>	B	+	-	S	R	S	D	-	-	+	-	-	-	+	+	+
<i>C. sordellii</i>	B	+	-	S	R	S	D	-	-	+	-	+	-	+	+	+
<i>C. difficile</i>	B	+	-	S	R	S	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Spor oluşturmeyan çomaklar	KB	-	-	D	R	S	D	-	D	D	D	D	D	-	-	D
<i>P. acnes</i>	B	-	-	S	R	S	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Eubacterium lentum</i>	KB	-	-	S	R	S	-	-	D	-	+	-	-	-	-	-

B: Basil

KB: Kokobasil

(-): Negatif reaksiyon

(+): Pozitif reaksiyon

R: Dirençli

S: Duyarlı

D: Değişken

7. Hazır ticari ürünler: Anaerop bakterilerin tür düzeyinde tanımlanması için, bu bakterilerin biyokimyasal özelliklerinin ve oluşturdukları bazı enzimlerin araştırılması gerekmektedir. Tür düzeyinde tanımlama için klasik yöntemle hazırlanan besiyerleri kullanılabildiği gibi, ticari olarak hazırlanmış kitler de (API 20 A, ATB 32 A, BBL Crystal gibi) kullanılabilmektedir.

Anaerop kokların virulans özellikleri ve antibiyotik direnç özellikleri bakımından fark yoktur. Bu yüzden bu gruptaki bakterilerin tür düzeyinde tayinlerinin yapılması rutin olarak çok gerekli değildir.

8. Moleküler teknikler: Anaerop bakterilerin tanımlanmasında moleküler yöntemlerin kullanılmaya başlanmasıyla, organizma grupları arasında farklılıklar ve ilişkiler daha iyi belirlenmeye başlanmıştır. Günümüzde, 16S rRNA sekans analizi, DNA hibridizasyonu, Ribotyping, SDS-PAGE (SDS-poliakrilamid jel elektroforez), (G+C) oranlarının belirlenmesi, DNA finger print, DNA problemleri gibi moleküler teknikler bu bakteriler için kullanılabilir. Ayrıca PCR (Polimerase chain reaction) teknikleri de kullanılmaya başlanmıştır ve bu yöntemlerle ilgili geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

9. İmmunolojik ve serolojik yöntemler: ELISA, OIA (Optik immunoassay), lateks aglütinasyon testi gibi yöntemler kullanılarak, toksin A, toksin B, toksin A-B ve glutamat dehidrogenaz gibi enzimler ve toksinler ölçülebilir.

10. Hayvan deneyleri: Özellikle araştırma çalışmalarında, toksin nötralizasyon çalışmaları gibi hayvan deneyleri yapılabilmektedir.

2.11 Anaerop Bakterilerde Tedavi ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Anaerop infeksiyonların tedavisinde, abse drenajı, devitalize dokuların debridmanı, kapalı yüzey infeksiyonlarının açılarak hava ile temasının sağlanması ve obstrüksiyonların giderilmesi gibi cerrahi işlemler öncelikli yaklaşımlardır. İkincisi ise antimikrobiyal tedavidir (7,41,42).

Anaerobik bakterilerin izolasyon ve tanımlanmasındaki güçlükler ilaveten, duyarlılık deneylerinde rutinde kullanılacak ucuz ve pratik yöntemlerin bulunmaması, bu bakterilerin antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi çalışmalarında isteksiz yaklaşımlara neden olmaktadır (43). Anaerop bakterilerin tedavisinde kullanılan antimikrobiklerin özellikleri ve bölgesel duyarlılıklarının bilinmesi özellikle empirik tedavinin belirlenmesi açısından önemlidir. Nitroimidazoller, karbapenemler, kloramfenikol, beta laktamaz inhibitörleri ile kombine edilmiş beta laktamlar, penisilin, sefoksitin ve klindamisin antibiyotik duyarlılık çalışmalarında test edilmelidir (7,42,43).

Anaerop bakterilerin tedavisinde kullanılan antibiyotikler ve bu antibiyotiklere karşı direnç durumları aşağıda anlatılmıştır (41-43).

Penisilin G: Başta *B.fragilis* olmak üzere birçok anaerop bakteriye karşı zayıf aktiviteye sahiptir. Çünkü bu organizmalar penisilin G'nin beta laktam halkasını parçalayarak inaktive eden beta laktamaz enzimi üretmektedirler. Karbenisilin ve tikarsilin ve üreido penisilinler (piperasilin, mezlosilin ve azlosilin) *B.fragilis* grubundan olmayan *Bacteroides*'lere karşı iyi aktivite gösterebilirler. Ülkemizde bu gruptaki antibiyotiklere karşı, özellikle *B.fragilis* gurubu olmak üzere, birçok anaerop için yüksek direnç oranları bildirilmektedir (41-43).

Sefoksitin: Sefotetan ile birlikte sefamisinler diye bilinir. Sefamisinlerin en önemli özelliği antianaerop etkinliğe sahip olmalarıdır. Üçüncü kuşak sefalosporinlerin antianaerop özellik bakımından sefoksitine üstünlüğü yoktur. Anaerop infeksiyonlarda sefoksitin dışında hiçbir sefalosporine güvenilmemelidir (41-43).

Piperasilin: Beta laktamazlar ile inaktive olurlar. *B.fragilis* grubunda %13-30 oranında direnç bildirilmektedir. Bu oran ülkemizde %12-89 olup, safraya duyarlı Gram negatif çomaklarda ise %5 olarak bildirilmiştir (41-43).

Tetrasiklinler: Şu anda anaerop bakterilerde bu ilaca karşı yaygın direnç gelişimi söz konusudur. Örneğin *B.fragilis* grubunda bu direnç oranı dünyada %80-90 iken, ülkemizde ise %43-64'dür. Doksisisiklin ve minosiklin diğerlerine göre daha etkilidirler (41-43).

Kloramfenikol: Ribozomların 50S alt birimlerine bağlanan bu ilacın anaerop bakterilere karşı etkinliği çok iyidir. Bunun muhtemel nedeni, bu ilacın yaygın yan etkilerinden dolayı tercih edilmemesi ve yaygın kullanılmamasıdır (41-43).

Klindamisin: *B.fragilis* gibi bakteriler tarafından üretilen beta laktamazlar ile inaktive edilmezler ve anaerop şartlarda aktiftir. Ancak birçok *Fusobacterium varium* ve *C.perfringens* dışındaki *Clostridium* suşları bu ilaca dirençli olabilmektedirler. Ayrıca bazı *B.fragilis* *C.perfringes* ve *Peptococcus* ve *Peptostreptococcus* suşları yine bu ilaca dirençli olabilmektedir. Direnç mekanizması muhtemelen 50S ribozomların metilasyonuna bağlıdır. Bu ilacın en önemli yan etkisi ise, *C.difficile* ile meydana gelen psödomembranöz enterokolittir (41-43).

Metronidazol: Aerop bakteriler üzerine etkisiz olan bu antibiyotikler özellikle zorunlu anaeroplara karşı bakterisidal etki gösterir (*B.fragilis* dahil). Yapılan çalışmalar ilginç olarak metronidazolün antibakteriyel etkisinin anaerop şartlarda

arttığını göstermiştir. Spor oluşturmeyan Gram pozitif sporsuz anaerob bakterilerde bu antibiyotiğe karşı direnç yüksektir (41-43).

Vankomisin: *Peptostreptokok*1ara bağlı endokordit tedavisinde ve özellikle *C.difficile* bağlı kolit tedavisinde tercih edilebilmektedir (41-43).

Beta laktam ve beta laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar: Amoksisilin-klavulanik asit, tikarsilin-klavulanik asit, ampisilin-sulbaktam, sefoperazon-sulbaktam ve piperasilin-tazobaktam gibi kombinasyonlar anaerob bakteri infeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilir (41-43).

İmipenem-Silastatin, Meropenem: Beta laktamların yeni bir sınıfı olan karbapenemlerin üyeleridirler. Diğer beta laktamlara dirençli *B.fragilis* grubunun üyelerinin de içinde bulunduğu anaerob gruplarının çoğuna karşı etkilidir (41-43).

Kinolonlar: Yeni kinolonlar haricinde anaerob bakterilere karşı etkinlikleri gösterilememiştir (41-43).

Anaerob bakterilerde görülen antimikrobiyal direnç mekanizmaları Tablo XV'te gösterilmiştir.

Tablo XV. Anaerob bakterilerde çeşitli antimikrobiklere karşı görülen direnç mekanizmaları(43,44).

Antimikrobiyal ajan	Direnç mekanizmaları
Beta laktam ajanlar	-İlacın inaktivasyonu (Beta laktamazlar) -Geçirgenliğin azalması (Gram negatif mikroorganizmalar) -Hedef bölge değişikliği (penisilin-bağlayıcı proteinler)
Klindamisin	-Hedef bölge değişikliği (23S rRNA'nın metilasyonu)
Tetrasiklin	-Hedef bölge değişikliği (ribozomal korunma) -İlacın aktif transportla dışarı atılması -Enzimatik değişikliklerle ilacın inaktivasyonu
5-Nitroimidazol türevleri	-Nitro redüktaz aktivitesinde azalma -İlaç alımında azalma
Kloramfenikol	-İlacın inaktivasyonu (nitroredüksiyon veya asetilasyon)
Aminoglikozidler	-İlaç alımının olmayışı
Kinolonlar	-Bilinmiyor (geçirgenlikte ve/veya ilaç alımında azalma)

2.12 Beta Laktamaz Üreten Anaerob Bakteriler

Bacteroides fragilis grubunun, *Fusobacterium* ve *Clostridium* türlerinin ve *Bilophila wadsworthia* türlerinin beta laktamaz ürettiği bildirilmiştir. Anaerob bakterilerde beta laktamaz varlığının araştırılmasında en güvenilir yöntem

nitrosefin disk testidir. Beta laktamaz varlığı, bakteri süspansiyonuna nitrosefinin ilavesinden sonra rengin sarıdan kırmızıya dönmesiyle anlaşılır (45).

2.13 Anaerop Bakteriler İçin Uygulanan Duyarlılık Test Yöntemleri

Anaerop bakterilerde antimikrobiklere karşı direnç gelişiminin giderek artması ve yaygınlık kazanması bu bakterilere karşı yapılacak duyarlılık deneylerinin önemini artırmıştır. Bu bakterilerin izolasyon ve tanımlanmasında yaşanan güçlükler nedeniyle ve duyarlılık testlerinin yapılması zaman alıcı olduğundan, duyarlılık deneyinin yapılması her zaman gerekli değildir.

Anaerop bakteriler için duyarlılık deneyinin yapılması gerektiği durumlar aşağıda verilmiştir (46):

- a. *Bacteroides fragilis* grubu, pigmentli *Bacteroides* spp., *Bacteroides gracilis*, *Fusobacterium* spp., *Clostridium perfringens* ve *Clostridium ramosus* gibi virulansı yüksek bakteriler izole edildiğinde antimikrobiyal duyarlılık testleri yapılmalıdır.
- b. Yeni antimikrobiyal ajanların duyarlılıklarının belirlenmesi,
- c. Coğrafi bölgelere göre duyarlılıkların belirlenmesi,
- d. Yerel hastanelerde duyarlılıkların belirlenmesi,
- e. Empirik tedaviye cevap vermeyen infeksiyonlar,
- f. Kan, plevral sıvı ve peritoneal sıvılardan izole edilen anaerop bakteriler için antimikrobiyal duyarlılık deneyleri yapılmalıdır
- g. Septik artrit ve osteomyelit gibi kronik anaerobik infeksiyonlarda kliniğin özel istemiyle duyarlılık testi yapılmalıdır.
- h. Klinisyen spesifik antibiyotik testi istediği durumlarda laboratuvarla irtibata geçmelidir.

Anaerop bakterilerin duyarlılık testleri için Agar dilüsyon yöntemi CLSI'nin (Clinical and Laboratory Standards Institute=NCCLS "National Committee for Clinical Laboratory Standards") önerdiği referans yöntemdir. Zahmetli olduğu için ve pek pratik olmadığından, bu yöntem özellikle süzveyans çalışmalarında önerilmektedir. Alternatif olarak kabul edilen, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve E-test yöntemi anaerop bakterilerin duyarlılık testlerinde kullanılabilir (46).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinden (Genel Cerrahi, Kadın Hastalıkları ve Doğum, Kalp Damar Cerrahisi, Göğüs Cerrahisi, Beyin Cerrahisi, Ortopedi, Kulak Burun Boğaz, Dahiliye, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Dermatoloji, İnfeksiyon Hastalıkları, Plastik Cerrahisi, Anestezi ve Reanimasyon Servisi, Üroloji vs.) anaerop bakteri infeksiyonu şüphesiyle, bakteri varlığının araştırılması ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi amacıyla, 20 Mart ile 30 Ekim 2007 tarihleri arasında, Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen örneklerden (periton sıvısı, plevra sıvısı, abse materyali, kesi yeri infeksiyon materyali, infekte doku biopsisi, kan, BOS, eklem sıvısı vb.) 100'ü çalışmaya alındı (Çalışma için, Etik Kurulu'nun 19 Ocak 2007 Tarih ve 2007/008 sayılı kararı ile etik kurul izni alınmıştır).

Çalışmaya başlanmadan önce, anaerop infeksiyonların özellikleri, örneğin uygunluğu, alınma şekli ve transferin nasıl yapılacağını içeren bir bilgilendirme yazısı hazırlandı ve başhekimlik aracılığıyla bütün kliniklere iletildi. Ayrıca, özellikle cerrahi klinikler olmak üzere, bazı kliniklerde örneklerin alınması ile primer olarak ilgilenen araştırma görevlileriyle birebir görüşülerek bu konuda bilgi verildi.

Abse ve sıvı örnekler enjektörle havası alınmış şekilde, doku örnekleri ise küçük kaplarda ve steril serum fizyolojik içerisinde laboratuvara ulaştırıldı. Örnekler alınır alınmaz, en geç 20 dakika içinde laboratuvara ulaştırıldı. Eğer örnek çok az ise veya sürüntü örneği tercih edilecekse hasta başında ekim yapıldı. Kan kültürü ve bazı sıvıların ekimi için Bactec Plus Anaerobic F (Becton Dickinson, Maryland, USA) otomatize kültür sistemi kullanıldı ve şişe içine 3-10 ml materyal hasta başında inoküle edildi. Örnekler (abse, kan vs.) alınırken cilt veya mukoza yüzeyleri betadinle temizlendikten sonra %70'lik alkol ile ovalanarak temizleme işlemi yapılmasına özen gösterildi.

Örnekler laboratuvara ulaşır ulaşmaz değerlendirmeye alındı. Örneğin makroskopik görünümü ve kokusu değerlendirilip kayıtları yapıldı. Anaerop şartlarda alınmayan veya taşınmayan örnekler çalışmaya alınmadı. Flora içerebilecek örnekler klinikle görüşüldükten sonra, örneğin uygun olduğuna karar verildiğinde çalışmaya alındı.

Çalışmaya alınan örneklerin %5 kanlı agara ve EMB (Eozin metilen mavisi) agara aerop ekimi yapıldı. Anaerop ekimi ise, taze hazırlanmış %5 koyun kanlı Wilkins Chalgren (Oxoid, Hampshire, İngiltere) agara, %5 koyun kanlı Schaedler (Oxoid, Hampshire, İngiltere) agara ve sıvı besiyeri olarak karbonhidratlı kıymalı (Cooked Meat Medium) buyyona (Oxoid, Hampshire, İngiltere) yapıldı. Sıvı besiyeri kullanılmadan önce, serbest oksijenin ortamdaki uzaklaştırılması amacıyla, 10-15 dakika kaynayan suda bekletilerek redükte edildi. Isı 35-37 °C'ye geldiğinde buyyonun dip kısmına ulaşacak şekilde örneğin ekimi yapıldı. Aynı zamanda Gram boyama için iki adet preperat hazırlandı ve boyamalar yapılarak mikroskopik bulgular kaydedildi. Ekimleri yapılan örnekler hemen jara (Oxoid) yerleştirilerek bölüm 3.2'de anlatıldığı şekilde anaerop ortam sağlandı ve 37 °C'de 48 saat inkübe edildi.

Anaerop ortamın denetlenmesi amacıyla resazurin içeren hazır kağıt stripler (Oxoid, Hampshire, İngiltere) kullanıldı ve sribin pembe renkten beyaz renge dönüşmesi takip edildi. Bu renk değişiminin 1-2 saatte gerçekleşmesi beklendi, eğer renk değişikliği gerçekleşmediyse jar açılarak yeniden anaerop ortam sağlanmaya çalışıldı (32).

Ekim yapıldıktan ve anaerop ortam sağlandıktan 48 sonra jar açılarak üremenin olup olmadığı gözlemlendi. Aerop ve anaerop ekimlerin her ikisi birlikte değerlendirildi. Her iki ortamda da üreme olduysa, üreyen mikroorganizmanın fakültatif anaerop bakteri olduğuna karar verildi. Bu mikroorganizmaların konvansiyonel yöntemlerle tanımlamaları yapıldı ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle Mueller-Hinton Agar besiyerinde antimikrobiyal duyarlılık tesleri yapıldı. Yalnızca anaerop şartlarda üreme olduysa, üreyen mikroorganizma anaerop bakteri olarak değerlendirildi ve bu bakterilerin identifikasyonları bölüm 3.4'te anlatıldığı şekilde yapıldı.

İzole edilen anaerop bakterilerin antimikrobiklere duyarlılıkları E test yöntemi ile belirlendi. Üreme olmayan örnekler anaerop şartlarda tekrar yedi gün daha inkübe edildi. Yedi gün sonunda üreme olmayan örnekler, üreme negatif olarak değerlendirildi.

3.1 Kullanılan Besiyerleri ve Hazırlanması

3.1.1 Schaedler Anaerop Agar (Oxoid, Hampshire, İngiltere)

Formül	gr/litre
Trypton Soya Broth (Oxoid CM129)	10.0
Pepton	5.0
Maya ekstraktı	5.0
Glukoz	5.0
Sistein HCl	0.4
Hemin	0.01
Tris tamponu	0.75
Agar	13.5
pH 7.6 ± 0.2	

Hazırlanması: Distile suyun bir litresinde 40 gr olacak şekilde yukarıda belirtilen formül karışımının süspansiyonu hazırlandı. Çözünme tamamlanıncaya kadar süspansiyon kaynatıldı. Otoklavda 121 °C'de 15 dakikada sterilizasyon yapıldı. Sıcaklık 45 °C'ye geldiğinde 0,05 µg/ml olacak şekilde K₁ (Sigma, Steinleim, Almanya) vitamini ve %5 miktarında olacak şekilde defibrine edilmiş koyun kanı eklendi ve petri kutularına dağıtıldı. Besiyerleri kullanılıncaya kadar, oda ısısında, içinde mum yakılarak oksijeni giderilmiş desikatörde karanlık ortamda korundu.

3.1.2 Wilkins-Chalgren Anaerop Agar (Oxoid, Hampshire, İngiltere)

Formül	gr/litre
Trypton	10.0
Jelatin pepton	10.0
Maya ekstraktı	5.0
Glukoz	1.0
Sodyum klorid	5.0
L-Arjinin	1.0
Sodyum piruvat	1.0
Menadion	0.0005
Hemin	0.005
Agar	10.0
pH 7.1 ± 0.2	

Hazırlanması: Distile suyun bir litresinde 43 gr olacak şekilde yukarıda belirtilen formül karışımının süspansiyonu hazırlandı. Çözünme tamamlanıncaya kadar süspansiyon kaynatıldı. Otoklavda 121 °C'de 15 dakikada sterilizasyon yapıldı. Sıcaklık 45 °C'ye geldiğinde 0,05 µg/ml olacak şekilde K₁ (Sigma, Steinleim, Almanya) vitamini ve %5 miktarında olacak şekilde defibrine edilmiş koyun kanı eklendi ve petri kutularına dağıtıldı. Besiyerleri kullanılıncaya kadar, oda ısısında, içinde mum yakılarak oksijeni giderilmiş desikatörde karanlık ortamda korundu.

3.1.3 Cooked Meat Medium (Kıymalı Buyyon) (Oxoid, Hampshire, İngiltere)

Formül	gr/litre
Kalp kası	454.0
Pepton	10.0
`Lab-Lemco' powder	10.0
Sodyum klorid	5.0
Glukoz	2.0
pH 7.2 ± 0.2	

Hazırlanması: Distile suyun 100 mililitresinde 10 gr olacak şekilde (bir tüp için 10 ml'de 1 gr) yukarıda belirtilen formül karışımının süspansiyonu hazırlandı. 15 dakika et partiküllerinin ıslanması için beklendi. Otoklavda 121 °C'de 15 dakikada sterilizasyon yapıldı. Sıcaklık 50 °C'ye geldiğinde 0,05 µg/ml olacak şekilde K₁ (Sigma, Steinleim, Almanya) vitamini ve 5 µg/ml hemin eklendi. Oda ısısında karanlık ortamda muhafaza edildi.

3.2 Anaerobik İnkübasyon ve Denetlenmesi

Anaerop inkübasyon amacıyla 2,5 lt'lik anaerop kavanozlar (jar) kullanıldı (Anaero-Jar-Oxoid). Jarın içine ekim yapılan besiyerleri yerleştirildi. Anaerop ortamın oluşup oluşmadığını kontrol etmek amacıyla resazurin emdirilmiş kağıt stripler (Oxoid, Hampshire, İngiltere) dışardan gözlenebilecek şekilde jarın içine yerleştirildi. Anaerop atmosferi sağlamak amacıyla, 2,5 lt'lik jarda anaerop ortam oluşturabilecek özellikte olan Microbiology Anaerocult A (Merck, Darmstand, Almanya) paketleri kullanıldı. Bu paketlerin üzerine 35 ml su ilave edildi ve jarın içine hemen yerleştirilip vakit kaybetmeden jarın ağzı kapatıldı. Jarda ısı artışı olması, jar içinde buhar oluşması, dinlemekle kabarcıkların oluşmasına bağlı çitirtti

seslerinin duyulması ve resazurin emdirilmiş kağıt stribin renginin pembeden beyaza dönüşmesi durumunda anaerop ortamın oluştuğu düşünöldü. Eğer stripte renk değışikliği 1-2 saat içinde oluşmamışsa yukarıda sayılan işlemler tekrarlandı. 37 °C'de 48 saat inkübasyon yapıldı. Anaerop inkübasyon ve denetlenmesi Resim I'de gösterilmiştir.



Resim I. Anaerop inkübasyon ve denetlenmesi: Sağda anaerop ortamın oluşmadığı, solda anaerop ortamın oluştuğu gözlenmektedir (Çalışmamızdan).

3.3 Bakterilerin İzolasyonu

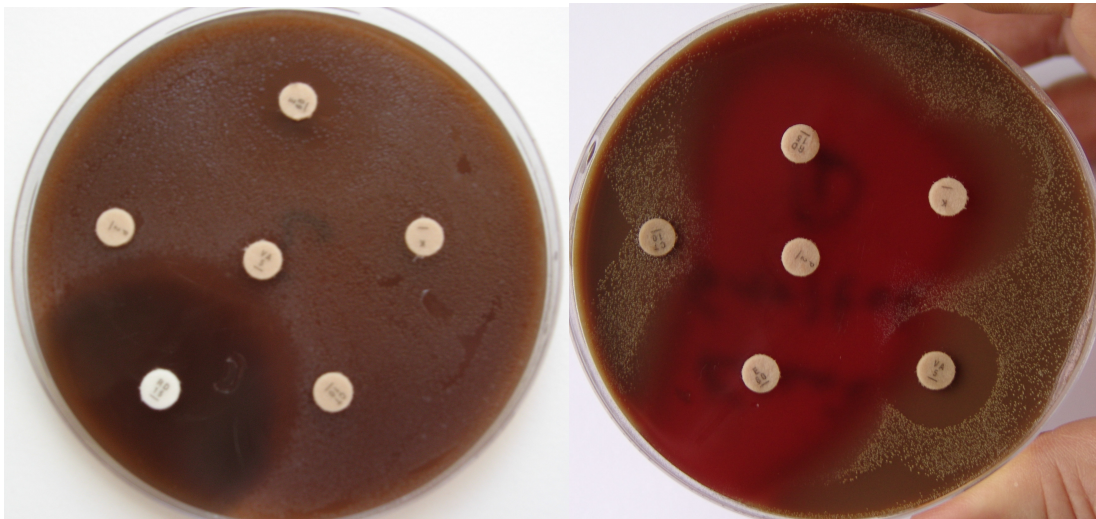
Etüvde 37 °C'de 48 saat inkübasyondan sonra jarın ağzı açıldı. Wilkins Chalgren agar ve Schaedler agara yapılan ekimler değeriendirildi. Aerop ekim veya anaerop ekimde üreme olduysa her iki koloninin Gram boyamaları yapıldı. Her iki ortamda aynı morfolojik yapıda koloniler ürediyse fakültatif anaerop bakteri ürediğine karar verildi. Yalnızca anaerop şartlarda ürediği görölen kolonilerin morfolojik görünömleri ve pigment oluşumu incelendi. Farklı görünümdeki bütün kolonilerin anaerop ve aerop pasajları yapıldı ve yukarıda anlatılan inkübasyon işlemleri uygulandı. Yalnızca anaerop ortamda üreyen koloniler identifikasyon işlemine tabi tutuldu.

Katı besiyerlerinde anaerop şartlarda bakteri üremediyse, sıvı besiyerine yapılan ekim değerlendirildi ve dipte bulanıklık olduysa anaerop katı besiyerine ve aerop besiyerine pasajları yapılarak daha önce bahsedildiği şekilde inkübasyon yapıldı.

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

İzole edilen anaerop bakterilerin tanımlanması için öncelikle antibiyotik tanı disk testi, %20 lik safralı buyyonda üreme durumu, pigment oluşumu, katalaz reaksiyonu ve indol oluşumu incelendi. Ayrıca API 20 A (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) paneli kullanılarak bakterinin çeşitli biyokimyasallara etkisi araştırıldı.

Antibiyotik tanı diskleri testi için kolistin (10 µg), kanamisin (1000 µg) ve vankomisin (5 µg) diskleri (An-Idend Discs "Oxoid, Hampshire, İngiltere") kullanıldı. Buyyon içerisinde hazırlanan süspansiyon steril pamuk silgiçler ile Schaedler agar besiyeri yüzeyine sürüldü ve antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler besiyeri yüzeyine yerleştirildi. 48 saat anaerop ortamda inkübasyondan sonra zon çapları cetvelle ölçülerek değerlendirildi. Zon çapı 10 mm'den büyük olan diskler duyarlı (S), 10 mm'den küçük olanlar ise dirençli (R) olarak değerlendirildi. İzole edilen mikroorganizmaların tanı diskleriyle değerlendirilmesi Resim II'de gösterilmiştir.



Resim II. İzole edilen mikroorganizmaların tanı diskleriyle değerlendirilmesi. Sağda Gram pozitif kok, solda Gram negatif basil (*B.fragilis*) (Çalışmamızdan).

İndol testi: Besiyeri olarak kıymalı buyyon besiyeri, ayıraç olarak kovaks ayıracı kullanıldı. Besiyerine birkaç damla kovaks ayıracı damlatılmasıyla besiyerinde kırmızı bir halkanın oluşması indol pozitif olarak değerlendirildi.

Katalaz testi: Sıvı besiyerine birkaç damla %3'lük H₂O₂ damlatılmasıyla besiyerinde hava kabarcıklarının oluşması katalaz pozitif olarak değerlendirildi.

Yüzde yirmilik safralı buyyonda üreme: % 20'lik safralı (Bile bovine "Sigma, Steinleim, Almanya") buyyon besiyerine inokulasyon yapılarak 3-4 gün anaerop şartlarda inkübasyona bırakıldı. Daha sonra tüplerde bulanıklık olup olmadığı, ekim yapılmamış bir buyyon besiyeri ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Bakteri inokülasyonu yapılan tüpte bulanıklık olduysa, bakterinin safraya dirençli olduğu, berrak kalan tüpte ise inoküle edilen bakterilerin safraya duyarlı olduğu anlaşıldı.

API 20 A (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Fransa) **paneli ile identifikasyon:** Bu panel bakterilerin aşağıdaki özelliklerini belirleyerek bakteri identifikasyonunun yapılmasına katkıda bulunmaktadır.

- İndol oluşturması ve üreaz aktivitesi
- Glikoz, mannitol, laktoz, sakkaroz, maltoz, salisin, ksiloz, arabinoz, gliserol, sellobiyoz, mannoz, melezitoz, rafinoz, sorbitol, ramnoz, trehalozdan asit oluşturmaları.
- Jelatin ve eskülini hidrolize etmeleri
- Katalaz aktivitesi.

Bu testin yapılması için, genç ve saf kolonilerden öze ile alınarak API 20 A kitinin özel besiyerine (API 20 A medium) inoküle edildi, homojenizasyon sağlandı ve McFarland 3 bulanıklığına uyacak şekilde bakteri süspansiyonları hazırlandı. Hazırlanan bakteri süspansiyonu steril pipetler ile mikro tüp denilen küçük bölmelerin hepsinin yarısını dolduracak şekilde (jelatin kuyucuğunun tamamı dolacak şekilde) dağıtıldı. İndol testi için ayrılan kuyucuğun yarısına kadar bakteri kültürü diğer yarısına ise sıvı parafin eklendi. 35-37 °C de anaerop şartlarda 24 saat inkübe edildikten sonra değerlendirilmeye alındı. Değerlendirme işlemi üretici

firma tarafından hazırlanan API 20 A kitapçığındaki değerlendirme tablosuna göre yapıldı.

İzole edilen *B.fragilis* ve *Clostridium spp.*'nin API 20 A'da çeşitli biyokimyasallara etkisi Resim III'te gösterilmiştir.



Resim III. İzole edilen mikroorganizmaların biyokimyasallara etkisinin API 20 A ile değerlendirilmesi (üstte; *B.fragilis*, altta; *Clostridium spp.*) (Çalışmamızdan).

Klasik tanı testleri ile API 20 A testinden elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirilerek bakterilerin identifiasyonu yapıldı.

3.5 Beta Laktamaz Üreten Bakterilerin Belirlenmesi

İzole edilen anaerob bakterilerde beta laktamaz enzimi üretiminin araştırılması amacıyla kromojen bir sefalosporin olan nitrosefin (Oxoid, Hampshire, İngiltere) içeren süspansiyon kullanıldı. Agar yüzeyinde saf olarak izole edilen bir koloni üzerine nitrosefin süspansiyonunun damlatılması yada temiz bir lam üzerinde damlatılan nitrosefin süspansiyonuna bir koloni bakteri eklenmesiyle beta laktamaz üretimi araştırıldı. 5 dakika içinde renk değişimi olup olmadığı araştırıldı. Pembekırmızı renk değişimi beta laktamaz enzimi üretiminin varlığı şeklinde yorumlandı.

3.6 Antimikrobik Duyarlılık Testi (E-test)

Anaerop bakterilerin antimikrobiklere duyarlılıklarının belirlenmesi için antimikrobik maddelerin MİK değerini veren E test stripleri kullanıldı. Duyarlılık deneyleri için kullanılan E test striplerinin MİK aralıkları ve kodları aşağıda verilmiştir.

Antimikrobik Madde	Kodu	MİK Aralığı (µg/ml)	Üretici Firma
1) Benzil penisilin	PG	0,016-256	(AB Biodisk, Solna-İsviçre)
2) İmipenem	IP	0,002-32	(AB Biodisk, Solna- İsviçre)
3) Klindamisin	CM	0,016-256	(AB Biodisk, Solna- İsviçre)
4) Metronidazol	MZ	0,016-256	(AB Biodisk, Solna- İsviçre)
5) Piperasilin / Tazobaktam (Tazobaktam 400 µg)	PTc	0,016-256	(AB Biodisk, Solna- İsviçre)
6)Sefoksitin	FX	0,016-256	(AB Biodisk, Solna- İsviçre)

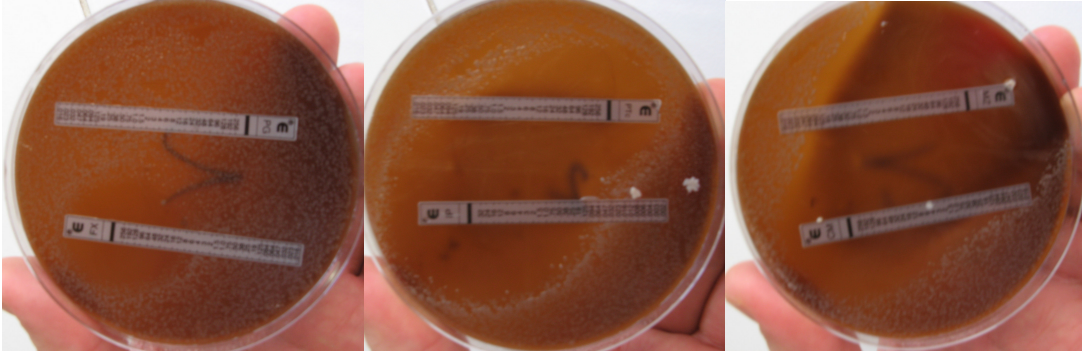
Duyarlık testi için besiyeri olarak %5 defibrine koyun kanı ilaveli Wilkins-Chalgren agar kullanıldı. Besiyeri için 9 cm çaplı petri kutuları kullanıldı. E test stripleri -20 °C'de saklandı ve kullanılmadan 30 dakika (dk) önce oda ısısına çıkartıldı. Bir petri kutusu içine 2 adet E test sribi birbirine zıt yönde olacak şekilde yerleştirildi.

Standart suş olarak *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285) kullanıldı (ATCC = American Type Culture Collection).

E testinin yapılışı: Saf ve 24-48 saatlik genç kültürlerden alınan kolonilerin, McFarland bir bulanıklığına uyacak şekilde buyyonda bakteri süspansiyonları hazırlandı. Süspansiyonu hazırlanan buyyondan steril pamuklu silgiç kullanılarak alınan örnek, Wilkins-Chalgren agar besiyerine tüm yüzeyi kaplayacak şekilde sürüldükten sonra agar plaklarının yüzeyinin kuruması için 10 dk kadar desikatör (içinde mum yakılmış kavanoz) içerisinde bekletildi. E test stripleri, steril penset yardımı ile, her bir petri kabına farklı antimikrobik içeren 2 şer adet E test sribinden birbirine zıt yönde, besiyeri yüzeyinde hava kabarcığı kalmayacak şekilde yerleştirildi. Anaerop koşullarda, jar içinde 37 °C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin bitiminde agar yüzeyinde E test striplerinin etrafında elipsoid şekilde inhibisyon zonlarının oluşumu değerlendirildi. İnhibisyon zonunun E test

stripleri ile keşiştiği noktadaki değer, MİK değerleri olarak okundu. E-testlerin değerlendirilmesinde üretici firmanın belirttiği MİK değerleri dikkate alındı ve duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak değerlendirilmiştir.

İzole edilen *B.fragilis* suşunun E testiyle antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi Resim IV'te gösterilmiştir.



Resim IV. E tes yöntemiyle *B.fragilis*'in antibiyotik duyarlılığı (Çalışmamızdan).

Üretici firmanın bildirdiği duyarlılık ve direnç değerleri aşağıda gösterilmiştir:

	S	I	R
Benzil penisilin (Penisili G)	$\leq 0,5$	1	≥ 2
İmipenem	≤ 4	8	≥ 16
Klindamisin	≤ 2	4	≥ 8
Metronidazol	≤ 8	16	≥ 32
Piperasilin/Tazobaktam	≤ 32	64	≥ 128
Sefoksitin	≤ 16	32	≥ 64

4. BULGULAR

Bu çalışmada toplam 100 örnek incelemeye alınarak aerop ve anaerop kültürleri yapıldı. Kültür ekimleri yapılan bu örneklerin 37'sinde bakteri izole edildi. Bakteri izole edilen örneklerin 14'ünden toplam 22 anaerop bakteri izole edildi. Anaerop üreme görülen 14 örneğin 7'sinde aynı anda birden fazla anaerop bakteri izole edildi. 8 örnekten anaerop ve fakültatif anaerop bakteri birlikte izole edildi. 33 örnekten fakültatif anaerop bakteri izole edildi, bunların iki tanesinden ise iki tür fakültatif anaerop bakteri izole edildi. Bir örnekten *Candida spp.* izole edildi. 60 örnekte ise üreme görülmedi. Üreme görülmeyen örneklerin üçünde Gram boyamada mikroorganizma görülmesine rağmen, bakteri üremesi görülmedi. Bir örnekte ise, Gram boyamada mikroorganizma görülmediği halde bakteri üremesi gözlemlendi.

Çalışmaya alınan örneklerin kliniklere göre dağılımı ve izole edilen mikroorganizma sayıları Tablo XVI'da gösterilmiştir. Ayrıca, klinik örneklerin cinsleri ve üretilen anaerop bakterilerin bu örneklerle göre dağılımı Tablo XVII'de verilmiştir.

Anaerop bakterilerin identifikasyonu, kolonilerin ve mikroorganizmanın boyalı preperatta morfolojik görünümünün değerlendirilmesi, mikroorganizmanın çeşitli biyokimyasallara etkisi, %20'lik safralı besiyerinde üremesi, antibiyotik tanı diski ile duyarlılık zonlarının değerlendirilmesi ve API 20 A kitinin kullanılmasıyla yapılmıştır. *Bacteroides spp.* olarak değerlendirilen iki izolat API 20 A kiti ile *Bacteroides* cinsinin çeşitli türlerini göstermiştir. Bu izolatlar %20'lik safralı besiyerinde ürememiştir. Yapılan diğer testlerde göz önüne alınarak bu izolatlar *Bacteroides spp.* (*B. fragilis* grup dışı) olarak tanımlanmıştır.

Tanımlanan anaerop bakteriler ve antimikrobik duyarlılık oranları Tablo XVIII'de gösterilmiştir.

Tablo XVI. Çalışmaya alınan örneklerin kliniklere göre dağılımı ve izole edilen mikroorganizma sayıları.

Klinik İsmi	Çalışmaya alınan örnek n	Üreme görülen örnek n (%)	Anaerop üreme görülen örnek n (%)	Fakültatif anaerop üreme görülen örnek n(%)	Miks* üreme görülen örnek sayısı (%)
Acil Servis	3	2 (67)	1 (33)	1 (33)	-
Beyin Cerrahisi	2	1 (50)	1 (50)	-	-
Çocuk Cerrahisi	4	3 (75)	3 (75)	-	-
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	50	14 (28)	1 (2)	13 (26)	-
Dahiliye	5	4 (80)	1 (20)	4 (80)	1 (20)
Cildiye	1	-	-	-	-
Genel Cerrahi	11	7 (64)	5 (45)	7 (64)	5 (45)
Göğüs Cerrahisi	2	2 (100)	-	2 (100)	-
İntaniye	2	2 (100)	-	2 (100)	-
Kadın Hastalıkları ve Doğum	3	2 (67)	2 (67)	2 (67)	2 (67)
KBB	6	-	-	-	-
Kalp Damar Cerrahisi	1	1 (100)	-	1 (100)	-
Ortopedi	7	1 (14)	-	1 (14)	-
Plastik Cerrahisi	1	-	-	-	-
Anestezi ve Reanimasyon yoğun bakım	1	-	-	-	-
Üroloji	1	-	-	-	-
Toplam	100	37 (37)	14 (14)	33(33)	8 (8)

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

Tablo XVII. Çalışmaya alınan klinik örneklerin türü ve üretilen anaerop bakterilerin bu örneklerle göre dağılımı.

Çalışmaya alınan örneğin cinsi	Çalışmaya alınan örnek sayısı	Anaerop bakteri izole edilen örnek sayısı (%)	Fakültatif anaerop bakteri izole edilen örnek sayısı (%)	Miks* üreme görülen örnek sayısı (%)
Abse	31	8 (25)	15 (48)	5 (16)
Biopsi materyali	3	-	-	-
BOS	3	-	1 (33)	-
Eklem sıvısı	7	-	1 (14)	-
Kan	36	-	9 (25)	-
Periton sıvısı	12	6 (50)	6 (50)	3 (25)
Plevra sıvısı	7	-	1 (14)	-
Kesi yeri enfeksiyonu	1	-	-	-
Toplam	100	14 (14)	33 (33)	8 (8)

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

Tablo XVIII. Tanımlanan anaerop bakterilerin antimikrobik duyarlılık oranları ve beta laktamaz üreten suşlar.

Bakteri Adı	Üreyen bakteri sayısı n (%)	PG n (%)	IP n (%)	CM n (%)	MZ n (%)	PTc n (%)	FX n (%)	Beta laktamaz üreten suş n (%)
<i>Bacteroides fragilis</i>	6 (27)	1 (17)	6 (100)	4 (67)	6 (100)	6 (100)	6 (100)	2 (33)
<i>Bacteroides spp. (B.Fragilis dışı)</i>	2 (9)	0	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	0
<i>Bacteroides caccae</i>	2 (9)	1 (50)	2 (100)	1 (50)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	0
<i>Clostridium spp.</i>	2 (9)	2 (100)	2 (100)	1 (50)	1 (50)	2 (100)	2 (100)	0
<i>F.necrophorum/nucleatum</i>	1 (5)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0
<i>Lactobacillus acidophilus/lensenii</i>	1 (5)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0	1 (100)	0	0
<i>P.niger</i>	2 (9)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	0
<i>Peptostreptococcus grup</i>	5 (23)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	0
<i>Prevotella intermedia/disiens</i>	1 (5)	0	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0
Toplam	22	13 (59)	22 (100)	18 (82)	20 (91)	22 (100)	21 (95)	2 (9)

n: Örneklerde üreyen bakteri sayısını göstermektedir

CM: Klindamisin

IP: İmipenem

PG: Penisilin G

FX: Sefoksitin

MZ: Metronidazol

PTc: Piperasilin / Tazobaktam

Bu çalışmada fakültatif anaerop bakteri olarak, toplam 14 Gram negatif basil ve 19 Gram pozitif kok izole edildi. Bu örneklerin 4'ünde ikişer tür bakteri izole edilmiştir. Fakültatif anaerop ve anaerop bakterilerin birlikte görüldüğü 8 (miks) infeksiyonda ise, fakültatif anaerop bakteri olarak, toplam 6 Gram negatif basil (4 *E.coli*) ve 4 Gram pozitif kok (*Enterococcus*) izole edildi. Bunlardan 2 tanesinde ikişer tür bakteri izole edildi. 8 adet miks infeksiyonun 4'ünde ikişer tür anaerop bakteri izole edildi.

Bu çalışmada, *B.fragilis* türü iki bakterinin beta laktamaz ürettiği gözlemlendi. Diğer anaerop bakterilerde ise beta laktamaz varlığı tesbit edilmedi.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Doğada ve insan vücudu florasında aerobik mikroorganizmalarla birlikte bol miktarda bulunan anaerop bakteriler uygun ortam bulduklarında çeşitli infeksiyonlara neden olabilmekte ve bu infeksiyonlar genellikle polimikrobiyal karakter göstermektedir (1,2,7,11).

Anaerop bakterilerin izolasyon ve identifikasyonlarının güç olması, bu bakterilerle yapılan çalışmalarda umutsuzluk oluşturmaktadır. Bunun sonucu olarak da, bölgelere göre yeterli veriler elde edilememektedir. Fakat, başarılı anaerop kültür çalışması yapılan laboratuvarlarda, anaerop çalışma için kabul edilen klinik örneklerden değişen oranlarda (%25-50) anaerop bakterilerin izole edildiği bildirilmektedir (3,7,11,43).

Robert ve ark. (47) ventilatör ilişkili pnömoni vakalarında 156 hastanın korunmuş uçlu kateterle alınan bronşial aspirat örneklerinin 14'ünden (%9) anaerop bakteri izole etmişlerdir. Spinal füzyonlu hastalarda, cerrahi sonrası infeksiyon gelişen 25 örneğin incelendiği başka bir çalışmada, 4 (%16) örnekte anaerop bakteri izole edildiği bildirilmiştir (48). İstanbul'da, çeşitli klinik örneklerde (n=1503) etken olarak anaerop bakterilerin araştırıldığı bir çalışmada (49) 127 (%9) anaerop bakteri izole etmişlerdir. Bozkurt ve ark. (50) anaerob kültür için kabul ettikleri toplam 238 örnekden 67'sinde (%28.2) infeksiyon etkeni olarak anaerop bakterileri tanımlamışlardır. İzole edilen 67 anaerob bakterinin 28 (%41.8)'i *Ruminococcus productus* olarak identifiye edilmiş ve flora elemanı olarak kabul edilmiştir (50). Nozokomiyal kaynaklı kan dolaşımı infeksiyon etkenlerinin araştırıldığı bir çalışmada (51), 78 hastadan 98 mikroorganizma izole edilmiştir, fakat bu izolatlardan yalnızca bir tanesinin anaerop bakteri (*Bacteroides spp.*) olduğunu bildirilmiştir. Kanseri hastalarında anaerobik bakteremi insidansının araştırılması amacıyla 117834 kan kültürünün incelendiği bir çalışmada (52), 46 kanser hastasının kan örneğinden (pozitif kan kültürlerinin %0,6'sı) anaerop bakteri izole edilmiştir. Field ve ark. (53) kistik fibrozisli hastalarda yaptıkları bir çalışmada, *P.aeruginosa* kolonizasyonu olan 30 hastanın balgam örneğinde, %75 oranında anaerop bakteri izole ettiklerini bildirmişlerdir. İntravenöz ilaç kullanma alışkanlığı olan endokardit teşhisi konulan bir vakada (54), kan kültüründe *Actinomyces odontolytica*, *Veillonella species* ve *Prevotella melaninogenica* izole edilmiştir.

Başka bir çalışmada (55), hastanede yatan, pnömöni teşhisi alan 210 örneğin %20'sinde (%9 kesin, %11 muhtemel etken) etken olarak anaerop bakteri tanımlanmıştır. Fakültemizde 1995 yılında yapılmış olan tez çalışmasında (56), 84 klinik materyallerden 22'sinde toplam 23 (%26) anaerop bakteri izole edilmiştir. Çeşitli merkezlerde klinik örneklerden izole edilen anaerop bakterilerin oranı Tablo XIX'da özetlenmiştir.

Tablo XIX. Çeşitli merkezlerde klinik örneklerden izole edilen anaerop bakterilerin oranı.

Kaynak (no)	Örnek cinsi	Örnek sayısı	Üreyen anaerop bakteri sayısı (%)
Robert (47)	Ventilatör ilişkili pnömöni	156	14 (9)
Brook (48)	Spinal füzyonlu hastalarda, cerrahi sonrası infeksiyon	25	4 (16)
Şengöz (49)	Çeşitli klinik örnekler	1503	127 (9)
Bozkurt (50)	Çeşitli klinik örnekler	238	67 (28.2)*
Suljagic (51)	Kan	78	1 (1)
Zahar (52)	Kanser hastalarında anaerobik bakteremi (kan)	117 834	46 (0,6)**
Julak (55)	Hastanede yatan, pnömöni	210	42 (20)
Keklikoğlu (56)	Çeşitli klinik örnekler	84	22 (26)
Bu çalışma	Abse	31	8 (25)
	Biopsi materyali	3	-
	BOS	3	-
	Eklem sıvısı	7	-
	Kan	36	-
	Periton sıvısı	12	6 (50)
	Plevra sıvısı	7	-
	Kesi yeri infeksiyonu	1	-
	Toplam		100

* 28 (%41.8) izolat *Ruminococcus productus* olarak tanımlanmış ve flora elemanı olarak kabul edilmiştir.

** Pozitif kan kültürlerinde üreyen anaerop bakteri oranını göstermektedir.

Yukarıda bahsedildiği gibi anaerop bakteriler çeşitli klinik materyallerden değişen oranlarda izole edilebilmektedir. Bu çalışmada 100 klinik örnekte anaerop bakteri varlığı incelenmiştir. Bu örneklerin 14'ünden 22 tane anaerop bakteri izole edilmiştir, 3 örnekte ise Gram boyamada mikroorganizma görülmesine rağmen, kültürde bakteri izole edilememiştir.

Bahsedilen çalışmaların bazılarında yüksek oranda anaerop bakteri izole edildiği bildirilirken, bazı çalışmalarda daha düşük oranlar bildirilmiştir (47-

52,55,56). Çalışmamızda abse örneklerinin %25'inde, periton mayi örneklerinin %50'sinde anaerop bakteri izole edilirken, bütün örneklerin %14'ünde anaerop bakteri izole edilmiştir. Çeşitli klinik örneklerin incelendiği çalışmada Şengöz ve ark. (49) %9 oranında anaerop bakteri izole ederlerken, Van'da yapılan çalışmada (50) %28, fakültemizde yapılan bir çalışmada (56) ise %26 oranında anaerop bakteri izole edilmiştir. Birinci çalışmada bizden daha düşük oranda anaerop bakteri izole edilirken, diğer iki çalışmada daha yüksek oranda anaerop bakteri izole edilmiştir. Fakat Van'da yapılan çalışmada izole edilen anaerop bakterilerin %42'si flora elemanı olarak kabul edildiğinden, anaerop bakteri izolasyon oranları bu çalışmadakine yakındır.

Çeşitli çalışmalarda görüldüğü gibi, özellikle kan örneklerinde oldukça düşük oranlarda anaerop bakteri izole edilebilmektedir (51,55). Bu çalışmada kan kültürü örneklerinde, eklem sıvısı örneklerinde ve BOS örneklerinde anaerop bakteri izole edilememiştir. Bu örneklerin toplamı, bu çalışmaya alınan örneklerin %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır. Klinisyenlerin anaerop infeksiyon şüphesiyle incelenmek üzere laboratuvarımıza gönderdikleri bu örnekleri irdelediğimizde, 36 kan kültürü örneğinin hepsini immünosüpresif hastalar oluşturmaktadır. Bu hastalar için ateş etyolojisi araştırılması amacıyla kan kültürü yapılmıştır ve 9 örnekten (%25) fakültatif anaerop bakteri izole edilirken, anaerop bakteri izole edilememiştir. Yukarıda da bahsedildiği gibi (51,55) kan örneklerinde çok düşük oranlarda anaerop bakteri izole edilmektedir. Çalışmamızda incelenen anaerop kan kültürü sayısı anaerop bakteri izolasyon oranını belirtmek için yetersizdir. Daha fazla kan örneğinin incelenmesi ve genel durumu kötü olan, immünosüpresif hastaların kan örneklerinin incelenmesi anaerop bakteri izolasyon şansını artıracaktır.

Plevra sıvısı örnekleri ve eklem sıvısı örnekleri incelendiğinde, bu örneklerin daha çok sıvı birikimi etyolojisinin araştırıldığı ve etiyolojide mikroorganizmaların dışlanmasının amaçlandığı örnekler olduğu gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada, infeksiyon etkeni olarak anaerop bakteri araştırılması isteminin yeterince yapılmadığı gözlemlenmiştir. Klinisyenlerle birebir görüşülerek anaerop bakterilerin önemi vurgulanmıştır. Ayrıca örneklerin alınması ve laboratuvara ulaştırılması konusunda dikkat edilecek konular görüşülmüş, kliniklerle laboratuvar arasında iyi bir iletişimin kurulması ile anaerop bakteri

izolasyon şansının yükseleceği vurgulanmıştır. Bu durum anaerop istemlerin daha düzenli ve uygun yapılmasına katkıda bulunmuştur.

Bu çalışmada, Gram boyamada mikroorganizma görüldüğü halde bakteri izole edilemeyen üç örneğin aerop ve anaerop ekimlerinde bakteri izole edilememiştir. Her üç örneğin ekimi için de, laboratuvarımızda uyguladığımız rutin işlemler uygulanmıştır. Anaerop ekimler takip edilmiştir ve örneklerin laboratuvarımıza ulaşmasından itibaren, diğer anaerop ekimler için uygulanan rutin işlemler uygulanmıştır. İnkübasyon şartlarının uygun olduğu ve ortam kontrolü için kullanılan resazurin emdirilmiş kağıt stribin pembe renkten beyaza dönmüş olduğu gözlemlenmiştir. Tekrar yapılan anaerop inkübasyonda yedi gün sonunda üremenin olmadığı gözlemlenmiştir. Bu örneklerde bakteri izole edilememesinin nedeni, örneğin alınması veya taşınmasında anaerop koşulların yeterince sağlanamamış olması veya bakteri üremesini inhibe eden maddelerin yüzey temizleyicisi olarak kullanıldıktan sonra temizliğin yetersiz yapılması olabilir. Ayrıca, antibiyotik kullanıldığı halde bize bu durumun bildirilmemesi, bakteri izole edilememesinin nedeni olabilir.

Anaerop bakterilerin identifikasyonunda, bakterilerin kültür besiyerinde ve Gram boyamalarında morfolojik görüntüleri ve pigment durumlarının incelenmesinin yanında bazı biyokimyasal testlerin incelenmesi yardımcı olmaktadır. API 20 A test paneli anaerop bakterilerin identifikasyonunda kullanılan testlerdendir (2,7,38).

Ülger ve ark. (57) *Bacteroides* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmada identifikasyon için API 20 A panelini kullanmışlardır. Başka bir çalışmada (58), 191 Gram-negatif anaerop bakterinin tanımlanmasında API 20 A ve Rap Ana System'inden faydalanılmıştır. *Bacteroides suşlarının* karakterizasyonunun belirlendiği bir çalışmada (59), diğer metodlarla birlikte API 20 A panelinden de faydalanılarak tanımlama yapılmıştır.

Bu çalışmada bakterileri identifikasyonunda klasik yöntemlerin dışında API 20 A test panelleri de kullanılmıştır. İki örnek dışında diğer bakteri türleri bu testin identifikasyon tablosunda bulunan bakteri türleri ile uyumlu sonuç vermiştir ve ona göre tanımlanmıştır. API 20A, iki izolatin tanımlanmasında *Bacteroides* türlerini

işaret etmiş, fakat yeterli identifikasyonu sağlayamamıştır. Bu iki izolat %20 safralı besiyerinde ürememiştir. Bu izolatlar morfolojik görünüşleri, biyokimyasallara etkileri ve antibiyotik tanı diskleri kullanılarak yapılan inhibisyon değerlendirilmesine göre *Bacteroides spp.* (*B.fragilis* grup dışı) olarak tanımlanmıştır.

Yapılan tanımlama çalışmasında, izole edilen 22 anaerop bakterinin, 10'unun (%45) *Bacteroides* cinsinden olduğu, 7 tanesinin (%32) ise Gram pozitif anaerop bakteri (2 *P.niger*, 5 *Peptostreptococcus grup*) olduğu gözlemlenmiştir.

Ohm-Smith ve ark. (60) pelvik infeksiyonu olan hastalardan anaerop bakteri olarak en sık *Bacteroides* cinsini izole etmişlerdir. Diğer bir çalışmada (61), perfore apandisit ve peritonit vakalarının hemen hemen hepsinde *B.fragilis* grubundan bakteriler izole edilmiştir. Anaerop bakterilerin cerrahi infeksiyonlarda etken olma insidansını araştırılmıştır ve en sık olarak *B.fragilis* grubunun tanımlandığı bildirilmiştir (62). Plevral ampiyemi olan 198 hasta örneğinde, en sık olarak Gram pozitif anaerobik kok (n=52) ve *Fusobacterium* (n=51) izole edilmiştir (63). Başka bir çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 364 anaerop bakterinin 120'sinin (%33) *Bacteroides* grubundan olduğunu bildirilmiştir (64). Boyanova ve ark. (65) 118 hastanın baş boyun abselerinde, en sık *Prevotella* (n=49), daha sonra sırasıyla *Fusobacterium spp.* (n=22), *Actinomyces spp.* (n=21), anaerobik kok (n=20) ve diğer bakterileri izole etmişlerdir. 200 klinik örneğin incelendiği bir çalışmada (66), 22 *B.fragilis* grup, 2 *P.melaninogenica*, 2 *P.asaccharolytica*, 4 *Fusobacterium spp.*, 2 *Veillonella*, 14 *Bifidobacterium spp.*, 12 *A.israelii* ve diğerleri 22 olmak üzere toplam 80 anaerop bakteri izole edilmiştir. Şengöz ve ark. (49) klinik örneklerden izole ettikleri 127 izolatın 60'ını (%47) *Bacteroides* grubu olarak, 37'sini (%29) *Peptostreptococcus spp.* olarak tanımlamışlardır.

Yayınlanan çalışmalarda da bahsedildiği gibi, infeksiyonun yerine göre izole edilen bakteri cinsi değişmekle birlikte en sık izole edilen anaerop bakteri *Bacteroides* grubudur. Bu çalışmada da en sık, *Bacteroides* grubu, daha sonra Gram pozitif anaerobik koklar izole edilmiştir, fakat izole edilen anaerop bakteri sayıları yetersiz olduğundan bakterilerin türlere göre dağılımının ayrıntılı karşılaştırması yapılmamıştır.

Anaerop bakteri infeksiyonları çoğunlukla polimikrobiyal olup, anaerop bakterilerle birlikte, fakültatif anaeroplara veya mikroaerofil mikroorganizmalar da bu infeksiyonlardan izole edilebilmektedir (7,24).

Aldridge (62) polimikrobiyal cerrahi infeksiyonlarda anaerop bakterilere, fakültatif anaerop olarak en sık *E. coli*'nin eşlik ettiğini, sonra sırasıyla *Proteus*, *Klebsiella* ve *Enterobacter spp.* ve Gram pozitif kokların eşlik ettiğini bildirmiştir. Başka bir çalışmada ise, gangrenöz ve perforat apandisit olgularından izole edilen anaerop bakterilere, en sık olarak *E. coli*'nin eşlik ettiğini belirtilmiştir (61). Saini ve ark. (67) pelvik inflamatuvar hastalığı olan hastaların, cul-de-sac aspirat mayilerinde infeksiyonun %43 oranında polimikrobiyal etkenli olduğunu ve anaerop bakterilere en sık olarak sırasıyla, *Escherichia coli*, koagülaz negatif stafilokoklar, *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin eşlik ettiğini bildirmişlerdir. Kansere hastalarının kan kültürü örneklerinde infeksiyon etkenlerinin araştırıldığı bir çalışmada (52), anaerop bakteri infeksiyonlarına en sık *Escherichia coli*'nin eşlik ettiğinden bahsedilmiştir.

Bu çalışmada tanımlanan anaerop bakteri infeksiyonlarına % 57 oranında fakültatif anaerop bakterilerinin eşlik ettiği gözlemlenmiştir. Miks infeksiyonlarda, fakültatif anaerop bakterilerden en sık, *E.coli* ve *Enterococcus spp.* izole edilmiştir. Bu sonuçların diğer çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür. Fakat diğerlerinden farklı olarak, *Enterococcus spp.*'nin bu çalışmada sık izole edilen mikroorganizmalardan olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada daha çok batın içi abses ve periton mayi kültürlerinde miks infeksiyonlar gözlemlenmiştir. Diğer çalışmalardan farklı şekilde enterokok izole edilmiş olması bu durumla açıklanabilir.

Anaerop bakteriler için beta laktamaz üretimi ilk kez *B. fragilis* grubunda tanımlanmış ve beta laktamaz üretimi en yüksek oranda bu bakteri grubunda saptanmıştır. *Bacteroides fragilis* grubuna ilaveten, *Fusobacterium* ve *Clostridium* türlerinin ve *Bilophila wadsworthia* türlerinin beta laktamaz ürettiği bildirilmiştir. Anaerop bakterilerde beta laktamaz varlığının araştırılmasında nitrosefin disk testi güvenilir test yöntemlerindedir (45, 68).

Nakano ve ark. (69) *B.fragilis* suşlarında beta laktamaz üretimini nitrosefin disk difüzyon yöntemiyle göstermiştir ve moleküler yöntemlerle, beta laktamaz üreten standart *Bacteroides* kontrol suşu kullanarak bulgularını doğrulamışlardır. Ohm-Smith ve ark. (60) çalışmalarında *B.fragilis* grubunda %92 oranında beta laktamaz enziminin varlığını tesbit etmişler ve 129 adet *Peptostreptococcus* suşunun hiçbirinde beta laktamaz pozitif suşa rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Appelbaum ve ark. (68) ise nitrosefin disk yöntemiyle beta laktamaz üretimini araştırmışlardır ve *B.fragilis* grubunda %65, *F.mortiferim* suşlarında %77 ve *F.varium* suşlarında ise % 50 oranında beta laktamaz pozitif suşun varlığını bildirmişlerdir. Keşli ve ark. (66) nitrosefin yöntemiyle 80 anaerop bakteriden 20'sinde (%25) beta laktamaz varlığını göstermişlerdir. Nyfors ve ark. (70) çocukluk (infant) döneminde, oral florada bulunan *Fusobacterium nucleatum*'ün beta laktamaz üretme insidansının, yaşla birlikte arttığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, izole edilen *B.fragilis* suşlarının %33'ünde beta laktamaz üretimi nitrosefin metoduyla gösterilirken, izole edilen diğer mikroorganizmalarda beta laktamaz üretimi negatif olarak değerlendirilmiştir.

Virulansı yüksek bakteriler izole edildiğinde, coğrafi bölgeler ve yerel hastanelere göre duyarlılıkların belirlenmesi amacıyla, empirik tedaviye cevap vermeyen infeksiyonların oluşması durumunda ve normalde steril olan sıvılardan anaerop bakteri izole edildiğinde antimikrobiyal duyarlılık deneyleri yapılmalıdır. Antibiyotik duyarlılık deneyi için E testi CLSI'nın (NCCLS) kabul ettiği testlerdendir (46). Çalışmamızda antibiyotik duyarlılık testleri CLSI'nın kabul ettiği E test yöntemi ile yapılmıştır.

Anaerop bakterilerin çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılığının azaldığını bildiren yayınlar bulunmaktadır. Mory ve ark. (71) 2005 yılında kan kültüründe izole ettikleri *Prevotella spp.* suşunu metronidazolle tedavi etmeye çalışmışlardır ve tedavide başarısız kalmışlardır. Bu vakanın bölgelerinden bildirilen ilk metronidazol dirençli suş olduğunu belirtmişlerdir (71). Schapiro ve ark. (72) daha önce Avrupa ve Afrika'da bildirilen metronidazol direnciyle ilişkili *nimA* genini, 2002 yılında Amerika'da bir vakadan izole edilen *B.fragilis* suşunda göstermişlerdir.

Estonya'da yapılan bir çalışmada (73) üç yıl boyunca (1999-2002) klinik örneklerden izole edilen 416 anaerop bakterinin antibiyotik duyarlılıkları Wilkins-Chalgren Agar'da E test metoduyla araştırılmıştır. Bu bölgede metronidazol tedavi amacıyla çok fazla kullanılmasına rağmen, bu antibiyotiğe karşı direnç Gram negatif anaeroplara için gözlenmemiştir. Bununla birlikte klindamisin daha az oranda tüketildiği halde artan dirençten bahsedilmiştir.

Namavar ve ark. (74) Hollanda'da, 145 anaerop bakterinin antibiyotik duyarlılık deneylerinde E-test yöntemini kullanmışlardır. Yaptıkları bir çalışmada, *B.fragilis* grubunda imipenem, piperasilin/tazobaktam, sefoksitin ve metronidazole karşı dirençli suşa rastlamadıklarını bildirmişlerdir, fakat *B.thetaiotaomicron* suşlarına karşı %9 oranında klindamisin direncinden bahsetmişlerdir (74). *P.bivia* olarak tanımladıkları 20 suşun ve *F.nucleatum* olarak tanımlanan 15 suşun hiçbirisinde piperasilin/ tazobaktam, imipenem, sefoksitin, klindamisin ve metronidazole dirençli suşa rastlamadıklarını bildirmişlerdir. İzole ettikleri 33 *Peptostreptococcus* suşunun %3 oranında metronidazole karşı dirençli olduğunu, fakat bu grupta piperasilin/ tazobaktam, imipenem, sefoksitin ve klindamisine karşı dirençli suşa rastlamadıklarını bildirmişlerdir (74).

Lewis ve ark (75) İngiltere'de akut oral infeksiyonu olan 78 hastadan 188 anaerop bakteri izole ederek, E-test yöntemi ile penisiline karşı direnç oranlarını araştırmışlardır. Bu çalışmada izole edilen 5 *P.melaninogenica* suşundan 2'sinin, *Prevotella spp.* olarak tanımlanan 39 suştan 26'sinin penisiline dirençli olduğunu, *P.asoccharolyticus* olarak tanımlanan bir suşun penisiline duyarlı olduğunu, *Fusobacterium nucleatum* olarak tanımlanan 5 suşun tamamının penisiline duyarlı olduğunu, *Fusobacterium spp.* olarak tanımlanan 11 suştan 1 tanesinin penisiline dirençli olduğunu belirlemişlerdir. İzole ettikleri 33 *Peptostreptococcus* suşundan sadece bir tanesinin penisiline dirençli olduğunu bildirmişlerdir (75).

Sanchez ve ark (76) izole ettikleri 103 *Peptostreptococcus spp.* suşunun %12,6'sının metronidazole, % 7,8'inin klindamisine dirençli olduğunu E-test yöntemi ile belirlemişlerdir.

Yapılan çalışmalarda, anaerop bakteriler için en yüksek antibiyotik direnci penisiline karşı bulunmuştur ve bu çalışmalardaki çeşitli antibiyotiklerin duyarlılık oranları Tablo XX'de gösterilmiştir (63,64,68).

Hindistan'da yapılan bir çalışmada (67), *Peptostreptococcus spp.* için penisilin, klindamisin, metronidazol ve sefoksitin duyarlılık yüzde oranları sırasıyla; 67, 83, 100, 83 ve Gram negatif anaerop bakteriler için duyarlılık yüzde oranları ise sırasıyla; 28, 100, 100, 86 olarak bildirilmiştir.

Fransa'da yapılan çok merkezli bir çalışmada (77), *B.fragilis* suşlarının (n=189) imipenem, klindamisin, metronidazol ve sefoksitine duyarlılık oranları sırasıyla; 98, 79, 99, 89, *Bacteroides spp.* (*B.fragilis* dışı) suşlarının (n=170) duyarlılık yüzde oranları sırasıyla; 100, 55, 100, 85 ve *B. fragilis* grup suşlarının (n=359) duyarlılık yüzde oranları sırasıyla; 99, 67, 100 ve 87 olarak bildirilmiştir.

İngiltere'de çok merkezli bir çalışmada (78), 113 *Peptostreptococcus spp.* suşunun penisilin, imipenem, klindamisin, metronidazol, piperasilin/ tazobaktam ve sefoksitine duyarlılık yüzde oranları sırasıyla; 93, 100, 93, 100, 100 ve 100 olarak bulunmuştur.

Norveç'te kan kültürü örneklerinde 1998-2003 yılları arasında üreyen anaerop bakterilerin, penisilin, imipenem, klindamisin, metronidazol ve piperasilin/ tazobaktam için antibiyotik duyarlılık yüzde oranları *B.fragilis* grubu için (n=101) sırasıyla, 2, 100, 62, 100 ve 80, *Prevotella spp.* için (n=13) sırasıyla, 62, 100, 77, 100 ve 92, *Fusobacterium spp.* için (n=11) sırasıyla, 91, 100, 100, 100 ve 100, *Peptostreptococcus spp.* için (n=32) sırasıyla, 84, 100, 72, 97 ve 94, *Clostridium spp.* için (n=43) sırasıyla, 91, 93, 58, 98 ve 98 olarak belirlenmiştir (79).

Letournel-Glomaud ve ark. (80) yaptıkları çalışmada 105 Gram pozitif suşun; 37'sini (%35) penisilin için orta duyarlılıkta tesbit ederlerken, amoksisilin/klavulanik aside bütün suşları duyarlı bulmuşlardır. İmipeneme, iki *Lactobacillus* suşu hariç duyarlı bulunurken, 18 (%17) suş klindamisine dirençli, 50 (%48) suş ise metronidazole dirençli bulunmuştur. Aynı çalışmada, 89 anaerobik Gram negatif suşun; 72'si (%81) penisilin için orta duyarlılıkta bulunurken, hepsi amoksisilin/klavulanik aside duyarlı, bir *Veillonella* suşu hariç imipeneme duyarlı,

19 suş (%21) klindamisine dirençli ve 88 suş (%98) metronidazole duyarlı (bir *Prevotella oris* dirençli) bulunmuştur (80).

Behra-Miellet ve ark. (81) klinik örneklerden izole edilen 337 anaerob bakteride yapmış oldukları duyarlılık çalışmasında; ertapenem, amoksisilin, amoksisilin/klavulanik asid, tikarsilin/ klavulanik asid, piperasilin/ tazobaktam, sefoksitin, imipenem, klindamisin ve metronidazol için direnç oranlarını sırasıyla; %2.1, %51.3, %2.4, %1.2, %1.5, %7.1, %0.6, %22 ve %1.5 olarak bildirmişlerdir.

Yunanistan'da yapılan çalışmada (82), 249 Gram negatif anaerob bakterinin antibiyotik duyarlılıkları; penisilin için %15, imipenem için %99, klindamisin için %69, metronidazol için %95 ve sefoksitin için %74 olarak bulunmuştur.

Belçika'da çok merkezli yapılan bir çalışmada (83) antibiyotik duyarlılığı açısından 443 anaerob izolat incelenmiştir. Yapılan çalışmada, *Fusobacterium spp.* haricindeki Gram negatif basillerin büyük bir kısmı, penisiline dirençli bulunmuştur. Bütün grupların piperasilin/ tazobaktam, metronidazol, kloramfenikol, meropenem ve amoksisilin/ klavulanik aside duyarlılıkları yüksek bulunmuştur (*Bacteroides fragilis* daha düşük). Sefoksitin, sefotetan ve klindamisin duyarlılığı ise düşük (özellikle *B.fragilis* grubu için sırasıyla 62%, 52% ve 48%) bulunmuştur (83). Belçika'da anaerob bakterilerin antibiyotik duyarlılık oranlarının önceki yıllara göre değişmediği, klindamisinin ise duyarlılığının azaldığı bildirilmiştir (83). Antibiyotik duyarlılıkları; penisilin için %34, imipenem için %98, klindamisin için %63, metronidazol için %95, piperasilin/ tazobaktam için %96 ve sefoksitin için %78 olarak bildirilmiştir (83).

Avrupa ve Amerika'da yapılan çok merkezli bir çalışmada (84), penisilin, imipenem, klindamisin, metronidazol için yapılan duyarlılık araştırmasında, *B.fragilis* (n=293) için duyarlılık yüzde oranları sırasıyla; 5, 98, 80, 100, *Prevotella spp.* (n=303) için duyarlılık yüzde oranları sırasıyla; 58, 100, 92, 100, *P.anaerobius* (n=92) için duyarlılık yüzde oranları sırasıyla; 92, 74, 99, 99 ve 100 olarak bildirilmiştir.

Yurt dışında çeşitli merkezlerde yapılan çalışmaların antibiyotik duyarlılık oranları Tablo XX'de özetlenmiştir.

Tablo XX. Yurt dışında çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalara göre anaerob bakterilerin duyarlılık oranları

Bakteri adı	Çalışmanın yapıldığı yer (kaynak no)	Çalışma/ yayın yılı**	Çalışılan suş sayısı	ANTİBİYOTİKLER					
				PG/AM* (%)	IP (%)	CM (%)	MZ (%)	PTc (%)	FX (%)
<i>B.thetaiotaomicron</i>	Hollanda (74)	1992	23	9	100	91	100	100	100
<i>B.fragilis</i>	Hollanda (74)	1992	40	13	100	100	100	100	100
<i>P.bivia</i>	Hollanda (74)	1992	20	90	100	100	100	100	100
<i>F. nucleatum</i>	Hollanda (74)	1992	15	100	100	100	100	100	100
<i>C.perfringens</i>	Hollanda (74)	1992	8	100	100	100	100	100	100
<i>Peptostreptococcus</i>	Hollanda (74)	1992	33	97	100	100	97	100	100
<i>Peptostreptococcus</i>	Amerika (76)	1992	103	89		93	87		
<i>Bacteroides spp.</i> (Beta laktamaz +)	Amerika(68)	1990	207	41	100		100		100
<i>Bacteroides spp.</i> (Beta laktamaz -)	Amerika(68)	1990	113	99	100		100		100
<i>Fusobacterium spp.</i> (Beta laktamaz +)	Amerika(68)	1990	53	64	100		100		100
<i>Fusobacterium spp.</i> (Beta laktamaz -)	Amerika(68)	1990	76	97	100		100		100
Gram - anaerob bakt.	Bulgaristan(63)	2003	80	63	90	88	99		90
Gr. + anaerob bakt.	Bulgaristan(63)	2003	52	79	100	84	42		100
<i>Bacteroides fragilis</i>	Yeni Zellenda(64)	2003	49	2	96	88	100	98	84
<i>B.fragilis grup</i>	Yeni Zellenda(64)	2003	51	0	100	82	100	100	92
<i>B.ureolyticus</i>	Yeni Zellenda(64)	2003	10	100	100	100	100	100	100
<i>Fusobacterium spp.</i>	Yeni Zellenda(64)	2003	47	98	100	100	100	100	100
<i>Peptostreptococcus spp</i>	Hindistan(67)	2003	6	67		83	100		83
Gram - anaerob bakt.	Hindistan(67)	2003	7	28		100	100		86
<i>B. fragilis</i>	Fransa (77)	2000	189		98	79	99		89
<i>Bacteroides spp (B. fragilis dışı)</i>	Fransa (77)	2000	170		100	55	100		85
<i>B. fragilis grup</i>	Fransa (77)	2000	359		99	67	100		87
<i>Peptostreptococcus spp</i>	İngiltere(78)	2002	113	93	100	93	100	100	100
<i>B. fragilis group</i>	Norveç(79)	2003	101	2	100	62	100	80	
<i>Prevotella spp.</i>	Norveç(79)	2003	13	62	100	77	100	92	
<i>Fusobacterium spp.</i>	Norveç(79)	2003	11	91	100	100	100	100	
<i>Peptostreptococcus spp</i>	Norveç(79)	2003	32	84	100	72	97	94	
<i>Clostridium spp.</i>	Norveç(79)	2003	43	91	93	58	98	98	
Anaerob bakteriler (karışık)	Fransa (81)	2003	337	49	99	22	99	98	93
Gram - anaerob bakt.	Yunanistan(82)	2005	249	15	99	69	95		74
Anaerob bakteriler (karışık)	Belçika (83)	2005	443	34	98	63	95	96	78
<i>B.fragilis</i>	Avrupa ve Amerika(84)	2000	293	5	98	80	100		
<i>Prevotella spp.</i>	Avrupa ve Amerika(84)	2000	303	58	100	92	100		
<i>P.anaerobius</i>	Avrupa ve Amerika(84)	2000	92	74	99	99	100		
Bu çalışma			22	59	100	82	91	100	95

Gürler ve ark. (85) Gram negatif anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık oranlarını E test yöntemiyle, sefoksitin için %80, klindamisin için %85 olarak belirlemişlerdir.

Bozkurt ve ark. (50) 67 anaerop bakterinin antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları bir çalışmada, anaerop bakterilerin sefoksitine %33, karbenisiline %49, klindamisine %56 ve metronidazole %95 oranlarında direnç gösterdiklerini tebit etmişlerdir.

Ülger ve ark. (57) yapmış oldukları çalışmada, *B.fragilis*'in penisiline %9, imipenem %97, klindamisine %64, metronidazole %100 ve sefoksitine %92 oranlarında duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. *B.thetaiotaomicron* için duyarlılık oranları ise sırasıyla, %0, %100, %67, %100 ve %88 olarak bildirilmiştir (57).

Keşli ve ark. (86) toplam 40 anaerop bakterinin klindamisin, sefoksitin, imipenem, metronidazol, penisilin, piperasilin / tazobaktam karşı direnç oranlarını E test yöntemiyle araştırmışlar ve direnç oranlarını Gram negatif bakteriler (n=16) için sırasıyla; 50, 25, 0, 6, 69, 19, Gram pozitif bakteriler (n= 24) için sırasıyla; 54, 25, 4, 38, 67, 25 olarak belirlemişlerdir. Toplam direnç oranı ise, İmipenem için %2.5, piperasilin/ tazobaktam için %22.5, sefoksitin için %25, metronidazol için %25, klindamisin için % 52.5, penisilin için % 67.5 olarak bulunmuştur (86).

İzmir'de yapılan bir çalışmada (87) 27 anaerop bakterinin antibiyotik duyarlılık oranları, imipenem; %96, klindamisin; %82, metronidazol; %100 ve sefoksitin; %89 olarak bulunmuştur.

Şengöz ve ark. (49) klinik örneklerden izole ettikleri 127 anaerop izolatin antibiyotik duyarlılık yüzde oranlarını, penisilin, imipenem, klindamisin, metronidazol, piperasilin/ tazobaktam ve sefoksitin için *B.fragilis* (n=15) grubunda sırasıyla; 0, 75, 50, 64, 75, 63, *Bacteroides spp.* (n=35) için sırasıyla; 35, 13, 87, 51, 70, 92, 83 ve *Peptostreptococcus spp.* (n=22) için sırasıyla; 22, 50, 92, 59, 44, 92, 87 olarak bildirmişlerdir.

*Penisilin G duyarlılık çalışmaları yoksa ampisilin yada amoksisilin çalışmaları dikkate alınmıştır.

**Çalışma yılı yayında belirtilmeyenler için yayın yılı dikkate alınmıştır.

CM: Klindamisin

IP: İmipenem

PG: Penisilin G

FX: Sefoksitin

MZ: Metronidazol

PTc: Piperasilin / Tazobaktam

Türkiye’de çeşitli merkezlerde yapılan çalışmaların antibiyotik duyarlılık oranları Tablo XXI’de özetlenmiştir.

Tablo XXI. Türkiye’de çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalara göre anaerob bakterilerin duyarlılık oranları.

Bakteri adı	Çalışmanın yapıldığı yer (kaynak no)	Çalışma/ yayın yılı**	Çalışılan suş sayısı	ANTİBİYOTİKLER					
				PG/AM* (%)	IP (%)	CM (%)	MZ (%)	PTc (%)	FX (%)
<i>Bacteroides ovatus</i>	Erzurum(86)	2001	6	17	100	33	83	50	67
<i>B. thetaiotamicron</i>	Erzurum(86)	2001	3	0	100	0	100	100	67
<i>Bifidobacterium spp.</i>	Erzurum(86)	2001	7	0	100	42	42	57	57
<i>Actinomyces israelii</i>	Erzurum(86)	2001	6	33	100	42	67	67	50
Anaerob bakteriler (karışık)	Van (50)	2002	67			44	95		67
<i>B.fragilis</i>	İstanbul(57)	2002	33	9	97	64	100		92
<i>B.thetaiotaomicron</i>	İstanbul(57)	2002	12	0	100	67	100		88
Anaerob bakteriler (karışık)	İzmir (87)	2003	27		96	82	100		89
<i>B.fragilis</i>	İstanbul (49)	2005	15	0	75	50	64	75	63
<i>Bacteroides spp.</i>	İstanbul (49)	2005	35	13	87	51	70	92	83
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	İstanbul (49)	2005	22	50	92	59	44	92	87
Gram – anaerob bakteriler	İstanbul (85)	1997	86			85			80
Türkiye toplam/ ortalama			319	13,5	94,7	51,6	78,6	76,1	74,2
<i>Bacteroides spp.</i>	Bu çalışma	2007	10	20	100	70	100	100	100
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	Bu çalışma	2007	7	100	100	100	100	100	100
Diğer anaeroplarda	Bu çalışma	2007	5	80	100	80	60	100	80
Bu çalışma toplam/ ortalama			22	59	100	82	91	100	95

*Penisilin G duyarlılık çalışmaları yoksa ampisilin yada amoksisilin çalışmaları dikkate alınmıştır.

**Çalışma yılı yayında belirtilmeyenler için yayın yılı dikkate alınmıştır.

CM: Klindamisin IP: İmipenem PG: Penisilin G

FX: Sefoksitin MZ: Metronidazol PTc: Piperasilin / Tazobaktam

Bu çalışma antibiyotik duyarlılığı açısından karşılaştırıldığında; yurt dışında yapılan çalışmaların duyarlılık oranlarıyla, bu çalışmanın duyarlılık oranı benzer bulunmaktadır. Hemen hemen bütün çalışmalarda anaerob bakteriler için en yüksek antibiyotik direnç oranı penisine karşı bildirilmiştir. İmipenem ve piperasilin/ tazobaktam ise bu bakteriler karşı en duyarlı antibiyotikler olarak bildirilmiştir. Bu

çalışmada da bu verilerle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Metronizol direnci bu çalışmada özellikle Gram pozitif mikroorganizmalarda biraz yüksek bulunmuştur. Bu durum metronidazol duyarlılık oranlarını düşürmektedir. İzole edilen Gram pozitif mikroorganizma sayısının bu çalışmada az sayıda olması bu durumun nedeni olabilir.

İmipenem, klindamisin, metronidazol, piperasilin/ tazobaktam ve sefoksitin için bu duyarlılık yüzde oranları sırasıyla (yurt dışı:bu çalışma); 99:100, 83:82, 97:91, 98:100 ve 94:95 şeklinde bulunmuştur. Sadece metronizol için altı puanlık bir fark bulunmaktadır. Bu çalışmada Gram pozitif mikroorganizmalarda metronidazol direnci yüksek bulunmuştur. Bu durum metronidazol duyarlılık oranlarını düşürmektedir. Duyarlılık çalışmasına alınan Gram pozitif mikroorganizma sayısının bu çalışmada az sayıda olması bu durumun nedeni olabilir. Daha fazla sayıda mikroorganizma için duyarlılık çalışmasının yapılması ile bu oranlar daha uyumlu olabilir.

Türkiye’de yapılan çeşitli çalışmalar dikkate alınırca, bu çalışmada duyarlılık oranları genel olarak daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, Bacteroides grubunda, bu çalışma da dahil olmak üzere bütün çalışmalarda penisiline karşı yüksek direnç olduğu görülmektedir. İmipenem duyarlılığı ise bütün bakteri grupları için, bir merkezde %85’lerde iken diğer merkezlerde %95’in üzerindedir. Bu çalışmada da imipenem dirençli suş izole edilmemiştir. Klindamisin direnci İstanbul’da Gürler ve ark.nın yaptığı çalışma (85) ve İzmir’de Mutlu ve ark.nın (87) yaptığı çalışmayla benzer olup diğer çalışmalardan daha yüksek duyarlılık oranları görülmektedir. Metronidazol duyarlılığı sadece bir merkezde daha düşük bulunmuş olup, diğer merkezlerle duyarlılık oranları benzerdir. Bu antibiyotiğe direnç özellikle Gram negatif anaerop bakteriler için düşük oranda bildirilmiştir. Piperasilin/ tazobaktam için antibiyotik duyarlılığı yalnızca iki merkezden bildirilmiş olup, İstanbul’da Sengöz ve ark. (49) tarafından yapılan çalışmada bu antibiyotik için duyarlılık oranı bizim çalışmamızdan biraz daha düşüktür. Bu antibiyotik için Erzurum’dan (86) bildirilen duyarlılık oranı her ikisinden de düşük bulunmuştur. Sefoksitin duyarlılık oranı, bu çalışma ile Mutlu ve ark. (87) ve Ülger ve ark.nın (57) yapmış oldukları çalışmalarda benzer olup, diğer çalışmaların duyarlılık oranları daha düşük bulunmuştur.

Hastanelerde, klinisyenlerle iyi bir diyaloğun sağlanması infeksiyon etkeni olarak anaerop bakterilerin daha yüksek oranda izole edilmesine ve empirik tedavi için antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesine katkıda bulunacaktır. Bütün ekibin anaerop bakteri çalışmaları konusunda eğitilmesi ve zaman zaman çalışmaların takip edilmesiyle eksikliklerin giderilmesi, klinik örneklerden anaerop bakteri izolasyon başarısını arttıracaktır. Anaerop bakteri infeksiyonlarında etkin bir çalışma ile, izolasyon, identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık çalışmalarında başarı sağlanacaktır.

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerde anaerop bakteri olarak en sık *B.fragilis* izole edilirken, ikinci sıklıkla *Peptostreptococcus* cinsi izole edilmiştir. *Bacteroides* grubu başta olmak üzere yüksek oranda penisilin direnci görüldüğünden empirik tedavide tercih edilmemelidir. Klindamisin direnci ise daha düşük oranlarda olduğundan antibiyotik duyarlılık çalışma sonucuna göre bu antibiyotiğin tercih edilmesi önerilebilir. Metronidazol ve sefoksitine ise düşük oranda direnç gözlemlendiğinden empirik tedavide bu antibiyotikler tercih edilebilir, ama antibiyotik duyarlılık deneylerinin yapılması daha faydalı olabilir. İmipenem ve piperasilin/ tazobaktama direnç gözlemlenmemiştir, bu yüzden bu antibiyotiklerin dirençli suşlar için saklanması fayda vardır.

ÖZET

Amaç: Bu çalışma anaerobik infeksiyondan şüphelenilen hastaların çeşitli kliniklerden alınan materyallerinden izole edilen anaerob bakterilerin tanımlanması ve bazı antibiyotiklerin duyarlılık oranlarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve yöntem: 2007 yılında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi, Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarında, 100 klinik örnek anaerob bakteri izolasyonu için incelendi. Örnekler, %5 defibrine koyun kanı ilave edilmiş Sheadler agar, Wilkins Chalgren agar ve kıymalı buyona ekildi. Kan örnekleri Bactec Plus Anaerobic F şişelerine inoküle edildi ve firmanın otomatize sisteminde inkübe edildi.

İzole edilen anaerobik bakteriler, konvansiyonel yöntemler, API 20 A paneli ve An-Ident Discs testleri kullanılarak identifiye edildi. Penicillin G, klindamisin, sefoksitin, metronidazol, piperasilin/tazobaktam ve imipenem duyarlılıkları her bir izolat için E test metodu ile belirlendi.

Bulgular: 14 klinik örnekten 22 anaerob bakteri izole edilmiştir, 10 izolat *Bacteroides* grubundan, 7 izolat *Peptostreptococcus* grubundan ve beş izolat da diğer gruplardan idi. En yüksek direnç oranı penisiline karşı (%41) bulunurken, klindamisin, sefoksitin, metronidazol, piperasilin/tazobaktam ve imipenem duyarlılık oranları ise sırası ile %82, %95, %91, %100 ve %100 olarak bulunmuştur.

Sonuç: Çalışmamızda yüksek oranda penisilin direnci görüldüğünden empirik tedavide penisilin tercih edilmemelidir. Metronidazol ve sefoksitin empirik tedavide tercih edilebilir, ama antibiyotik duyarlılık deneylerinin yapılması daha faydalı olacaktır. İmipenem ve piperasilin/ tazobaktama direnç gözlemlenmemiştir, bu yüzden, bu antibiyotiklerin dirençli suşlar için saklanması fayda vardır.

Anahtar kelimeler: Anaerob bakteriler, antibiyotikler, duyarlılık oranları

ABSTRACT

THE IDENTIFICATION OF ANAEROBIC BACTERIA ISOLATED FROM VARIOUS CLINICAL MATERIALS AND DETERMINATION OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY

Objective: This study was carried out to identify anaerobic bacteria isolated from various clinical materials suspected patients with anaerobic infection, and to determine antibiotic susceptibility rates against to some antibiotics.

Material and method: One hundred specimens were examined for isolation anaerobic bacteria in Central Microbiology Laboratory of Meram Medical Faculty Selcuk University in 2007. The specimens were inoculated to Scheadler agar and Wilkins Chalgren agar added 5 % defibrinated sheep blood and cooked meat buyyon, incubated at 37 °C in anaerobic jar. The blood specimens were inoculated to Bactec Plus Anaerobic F and incubated at this automatized sistem.

Isolated anaerobic bacteria were identified with API 20 A panels, conventional methods and An-Ident Discs also used for identification of anaerobic bacteria. Penicillin G, clindamycin, cefoxitin, metronidazole, piperacillin/tazobactam and imipenem susceptibility tests were performed with E test method for isolated each anaerobic bacteria.

Results: Twenty two anaerobic bacteria isolated from 14 clinical specimens, 10 isolates were *Bacteroides* group, seven isolates were *Peptostreptococcus* group and five isolates were other groups. The highest rate of resistance was detected against to penicillin G (41 %) and the susceptibility rates for clindamycin, cefoxitin, metronidazole, piperacillin/tazobactam and imipenem were 82%, 95%, 91%, 100% and 100% respectively.

Conclusion: In our study, because of penicilline resistance rate was high, penicilline should not be preferred at empirical treatment. Metronidazole and cefoxitin may be preferred, but making antibiotic susceptibility test will be more useful. Resistance to imipenem and piperacillin/tazobactam was not detected. For this reason, storage of these antibiotics for resistant bacteria is beneficial.

Key words: Anaerobic bacteria, antibiotics, susceptibility rate.

KAYNAKLAR

1. Kıyan M. Anaerop bakteriler. In: Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 611-22.
2. Gürler N. Anaerop infeksiyonlar ve laboratuvar tanısı. In: Ulusoy S, Leblebicioğlu H (ed). Anaerop Bakteri İnfeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp, 2005: 9-34.
3. Töreci K. Anaerop bakteriyolojinin tarihçesi ve önemi. XXVIII. Türk Mikrobiyolojisi Kongresi, 7-10 Mayıs 1996, Antalya/Türkiye.
4. Song Y. PCR-based diagnostics for anaerobic infections. *Anaerobe* 2005;11: 79-91.
5. Nakano V, Gomes TAT, Vieira MAM, Ferreira RC, Avila-Campos MJ. bft gene subtyping in enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* isolated from children with acute diarrhea. *Anaerobe* 2007; 13 : 1-5.
6. Bilgehan H. Mikroorganizmaların metabolizması ve enzimleri. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, 2002: 103-19.
7. Winn WC, Koneman EW, Allen SD, Procop GW, Janda WM, Schreckenberger PC, et al. The Anaerobic Bacteria. Konemans Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 877-944.
8. Bilgehan H. Mikroorganizmaların beslenmesi ve üretilmesi. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınevi, 2002: 71-102.
9. Hardie JM. Application of chemotaxonomic techniques to the taxonomy of anaerobic bacteria. *Scand J Infect Dis* 1989; 62: 7-14.
10. Finegold MS. Changes in taxonomy, anaerobes associated with humans, 2001-2004. *Anaerobe* 2004;10: 309-12.
11. Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron DM, Baron EJ, Wexler HM, Finegold MS. Intraduction to anaerobic bacteriology. *Anaerobic Bacteriology Manuel*. California: Star Publishing Company, 2002: 1-21.
12. Urban E, Radnai M, Novak T, Gorzo I, Pal A, Nagy E. Distribution of anaerobic bacteria among pregnant periodontitis patients who experience preterm delivery. *Anaerobe* 2006;12: 52-7.
13. Könönen E, Syrjanen R, Takala A, Jousimies-Somer H. Nasopharyngeal carriage of anaerobes during health and acute otitis media by two years of age. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2003; 46: 167-72.
14. Trejo FM, Minnaard J, Perez PF, De Antoni GL. Inhibition of clostridium difficile growth and adhesion to enterocytes by *Bifidobacterium* supernatants. *Anaerobe* 2006;12: 186-93.
15. Bartlett JG. Anaerobic gram negative rods: Bacteroides, Fusobacterium. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). *Infectious Diseases*. Philedelphia: WB Saunders, 1992. 1570-80.
16. Finegold SM. Anaerobic bacteria: General concepts. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infection Diseases*. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2156-73.
17. Duerden BI. Virulence factors in anaerobes. *Clin Infect Dis* 1994;18: 253-9.
18. Bartlett JG. *Clostridium tetani*. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). *Infectious Diseases*. Philedelphia: WB Saunders, 1992: 1580-3.
19. Hatheway CL. *Clostridium botulinum*. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). *Infectious Diseases*. Philedelphia: WB Saunders, 1992: 1583-7.
20. Bleck TP. *Clostridium tetani*. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infection Diseases*. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2173-8.
21. Bleck TP. *Clostridium botulinum*. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infection Diseases*. New York: Churchill Livingstone, 1995: 2178-82.
22. Kıyan M. Anaerop, sporlu, gram pozitif basiller. In: Ustaçelebi Ş (ed). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 624-50.
23. Birengel S. Klostridiyal infeksiyonlar (Klinik Özellikler). X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 15-19 Ekim 2001, Adana/Türkiye.

24. Özbakkaloğlu B. Sporsuz anaerop bakteri enfeksiyonları. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 15-19 Ekim 2001, Adana/Türkiye.
25. Gürler N. Anaerop bakteri enfeksiyonlarını laboratuvar tanısı. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 15-19 Ekim 2001, Adana/Türkiye.
26. Tsuneishi M, Yamamoto T, Koeguchi S, Tamaki N, Fukui K, Watanabe T. Composition of the bacterial flora in tonsilloliths. *Microbes and Infection* 2006; 1-6.
27. Brook I. Bacteriology of acute and chronic ethmoid sinusitis. *J Clin Microbiol* 2005;43:3479-80.
28. Sullivan A, Barkholt L, Nord CE. *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus F19* prevent antibiotic-associated ecological disturbances of *Bacteroides fragilis* in the intestine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; 52: 308-11.
29. Rousseau V, Lepargneur JP, Roques C, Remaud-Simeon M, Paul F. Prebiotic effects of oligosaccharides on selected vaginal lactobacilli and pathogenic microorganisms. *Anaerobe* 2005; 11: 145-53.
30. Falagas ME, Betsi GI, Athanasiou S. Probiotics for the treatment of Women Bacterial Vaginosis. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:657-64.
31. Mellaert LV, Barbe S, Anne J. Clostridium Spores as Anti-tumour Agents. *TRENDS in Microbiology* 2006;14:190-6.
32. Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron DM, Baron EJ, Wexler HM, Finegold MS. Specimen collection and anaerobic culture techniques. *Anaerobic Bacteriology Manuel*. California: Star Publishing Company 2002: 23-42.
33. Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron DM, Baron EJ, Wexler HM, Finegold MS. Processing clinical specimens and isolation procedures. *Anaerobic Bacteriology Manuel*. California: Star Publishing Company 2002: 43-54.
34. Wilkins TD, Chalgren S. Medium for use in antibiotic susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy* 1976; 10: 926-8.
35. Brazier JS, Smith SA. Evaluation of the Anoxomat; a new technique for anaerobic and microaerophilic clinical bacteriology. *J Clin Pathol* 1989; 42: 640-4.
36. Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron DM, Baron EJ, Wexler HM, Finegold MS. Preliminary identification methods. *Anaerobic Bacteriology Manuel*. California: Star Publishing Company, 2002: 55-75.
37. Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron DM, Baron EJ, Wexler HM, Finegold MS. Rapid, Cost-Efficient identification methods using preformed enzyme tests. *Anaerobic Bacteriology Manuel*. California: Star Publishing Company, 2002: 75-81.
38. Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron DM, Baron EJ, Wexler HM, Finegold MS. Advanced identification methods. *Anaerobic Bacteriology Manuel*. California: Star Publishing Company, 2002: 81-133.
39. Hofstad T. Utility of newer techniques for classification and identification of pathogenic anaerobic bacteria. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 250-52.
40. Gürler N. Tanıya yönelik çalışmalar. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 12-16 Eylül 2006, Antalya/Türkiye.
41. Sanders CV, Aldridge KE. Current antimicrobial therapy of anaerobic infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11: 999-1011.
42. Keşli R. Antianaerobik antibiyotikler ve anaerop bakterilerin antimikrobik duyarlılık testleri. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2001;3: 23-9.
43. Ülger (Toprak) N. Duyarlılık çalışmaları. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 12-16 Eylül 2006, Antalya/Türkiye.
44. Rasmussen BA, Bush K, Tally FP. Antimicrobial resistance in anaerobes. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 110-20.
45. Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron DM, Baron EJ, Wexler HM, Finegold MS. Susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Anaerobic Bacteriology Manuel*. California: Star Publishing Company, 2002: 143-64.
46. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria; approved standard. 6th ed. Villanova, PA: NCCLS 2004. Document no. M11-A6.

47. Robert R, Nanadoumgar H, Chatellier D, Veinstein A, Frat JP, Grollier G. Protected telescopic catheter also allows anaerobic bacteria isolation in patients with ventilatory-acquired pneumonia. *Intensive Care Med* 2006; 32:322-4
48. Brook I, Frazier EH. Aerobic and anaerobic microbiology of surgical-site infection following spinal fusion. *J. Clin. Microbiol* 1999; 37: 841-3
49. Şengöz G, Yaşar K, Berzeg D, Yıldırım F, Şengöz A, Elmi Ş, ve ark. Klinik örneklerden izole edilen anaerob bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005; 35:107-13.
50. Bozkurt H, Güdücüoğlu H, Bayram Y, Gülmez S, Kutulay N, Bozkurt EN, ve ark. Klinik örneklerden izole edilen anaerob bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. *Van Tıp Dergisi* 2004; 11:85-91.
51. Suljagic V, Cobeljic M, Jankovic S, Mirovic V, Markovic-Denic L, Romic P, et al. Nosocomial bloodstream infections in ICU and non-ICU patients. *Am J Infect Control* 2005;33:333-40.
52. Zahar JR, Farhat H, Chachaty E, Meshaka P, Antoun S, Nitenberg G. Incidence and clinical significance of anaerobic bacteraemia in cancer patients: a 6-year retrospective study. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 724-9.
53. Field TR, McDowell A, Patrick S, Elborn JS, Tunney MM. Detection of anaerobic bacteria in the sputum of patients with Cystic Fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis* 2005; 4: 34-58
54. Oh S, Havlen PR, Hussain N. A Case of polymicrobial endocarditis due to anaerobic organisms in an injection drug user. *J Gen Intern Med* 2005; 20:C1-C2.
55. Julak J, Stranska E, Rosova V, Geppert H, Spanel P, Smith D. Bronchoalveolar lavage examined by solid phase microextraction, gas chromatography-mass spectrometry and selected ion flow tube mass spectrometry. *J Microbiol Meth* 2006;65: 76- 86.
56. Keklikoğlu F. Çeşitli klinik materyallerden anaerobik mikroorganizmaların üretilmesi (Uzmanlık Tezi). Konya: S.Ü. Tıp Fakültesi, 1995.
57. Ulger (Toprak) N, Celik C, Cakici O, Soyletir G. Antimicrobial susceptibilities of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides thetaiotaomicron* strains isolated from clinical specimens and human intestinal microbiota. *Anaerobe* 2004;10: 255-9.
58. Hill GB, Ayers OA, Everett BO. Susceptibilities of anaerobic Gram-negative bacilli thirteen antimicrobials and β lactamase inhibitor combinations. *J Antimicrob Chemother* 1991; 28: 855-67.
59. Arpin C, Dubois V, Rogues AM, Menard F, Gavinet AM, Maire JM, et al. Cross-infection due to imipenem-resistant *Bacteroides fragilis* associated with a totally implantable venous port. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 3032-4.
60. Ohm-Smith MJ, Sweet RL. In vitro activity of cefemetazole, cefotetan, amoxicillin-clavulanic acid, and other antimicrobial agents against anaerobic bacteria from endometrial cultures of women with pelvic infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31: 1434-7.
61. Bennion RS, Thompson JE, Baron EJ, Finegold SM. Gangrenous and perforated appendicitis with peritonitis: Treatment and bacteriology. *Clinical Therapeutics* 1990; 12; 31-43.
62. Aldridge KE. Anaerobes in polymicrobial surgical infections: Incidence, pathogenicity, and antimicrobial resistance. *Eur J Surg* 1994; 573: 31-7.
63. Boyanova L, Djambazov V, Gergova G, Iotov D, Petrov D, Osmanliev D, et al. Anaerobic microbiology in 198 cases of pleural empyema: a Bulgarian study. *Anaerobe* 2004; 10: 261-7.
64. Roberts SA, Shore KP, Paviour SD, Holland D, Morris AJ. Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in New Zealand: 1999-2003. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 992-8.
65. Boyanova L, Kolarov R, Gergova G, Deliverska E, Madjarov J, Marinov M, et al. Anaerobic bacteria in 118 patients with deepspace head and neck infections from the University Hospital of Maxillofacial Surgery, Sofia, Bulgaria. *Journal of Medical Microbiology* 2006; 55: 1285-9.

66. Kesli R, Celebi S. The identification of anaerobic bacteria isolated from various clinical materials and antibiotic susceptibility tests made with E-test method. The 6th Biennial Congress of the Anaerobe Society of the Americas, 29 June-2 July 2002, Park City/ USA.
67. Saini S, Gupta N, Aparna, Batra G, Arora DR. Role of anaerobes in acute pelvic inflammatory disease. *Indian Journal of Medical Microbiology* 2003; 21:189-92.
68. Appelbaum PC, Spangler SK, Jacobs MR. β Lactamase production and susceptibilities to amoxicillin, amoxicillin-clavulanate, ticarcillin, ticarcillin-clavulanate, ceftiofexim, imipenem, and metronidazole, of 320 Non-*Bacteroides fragilis* *Bacteroides* isolates and 129 *Fusobacteria* from 28 US centers. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1546-50.
69. Nakano V, Padilla G, Marques MV, Avila-Campos MJ. Plasmid-related β -lactamase production in *Bacteroides fragilis* strains. *Research in Microbiology* 2004;155: 843–6.
70. Nyfors S, Könönen E, Syrjänen R, Komulainen E, Jousimies-Somer H. Emergence of penicillin resistance among *Fusobacterium nucleatum* populations of commensal oral flora during early childhood. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; 51: 107–12.
71. Mory F, Carlier JP, Alauzet C, Thouvenin M, Schuhmacher H, Lozniewski A. Bacteremia Caused by a Metronidazole-Resistant *Prevotella* sp. Strain. *Journal Of Clinical Microbiology* 2005; 43: 5380–83.
72. Schapiro JM, Gupta R, Stefansson E, Fang FC, Limaye AP. Isolation of metronidazole-resistant *Bacteroides fragilis* carrying the *nimA* nitroreductase gene from a patient in Washington State. *Journal Of Clinical Microbiology* 2004; 42: 4127–29.
73. Loivukene K, Naaber P. Antibiotic susceptibility of clinically relevant anaerobes in Estonia from 1999 to 2001. *Anaerobe* 2003; 9: 57–61.
74. Namavar F, Severin WPJ, Stobberingh E, Smeets T, MacLaren DM. The sensitivity of clinical isolates of anaerobic species to piperacillin – tazobactam and other antimicrobial agents. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34: 415-9.
75. Lewis MAO, Parkhurst CL, Douglas CWI, Martin MV, Absi EG, Bishop PA, et al. Prevalence of penicillin resistant bacteria in acute suppurative oral Infection. *J Antimicrob Chemother* 1995: 35; 785-91.
76. Sanchez ML, Jones RN, Croco JL. Use of the E-test to assess macrolide-lincosamide resistance patterns among *Peptostreptococcus species*. *The Antimicrobial Newsletter* 1992; 8: 45-52.
77. Behra-Miellet J, Calvet L, Mory F, Muller C, Chomar M, Blezian MC, et al. Antibiotic resistance among anaerobic Gram-negative bacilli: lessons from a French multicentric survey. *Anaerobe* 2003; 9: 105–11.
78. 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. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2003; 52: 224–8.
79. Kommedal Ø, Nystad TW, Bølstad B, Digranes A. Antibiotic susceptibility of blood culture isolates of anaerobic bacteria at a Norwegian University Hospital. *APMIS* 2007; 115: 956–61.
80. Letournel-Glomaud C, Houssaye S, Milhaiha L, Ghnassia JC. E-test antibiotics susceptibility of strict anaerobic bacteria. *Anaerobe* 2003; 9: 281–4.
81. Behra-Miellet J, Dubreuil L, Calvet L. Evaluation of the in vitro activity of ertapenem and nine other comparator agents against 337 anaerobic bacteria. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2006;28: 25–35.
82. Katsandri A, Avlami A, Pantazatou A, Petrikos GL, Legakis NJ, Papaparaskevas J, et al. In vitro activities of tigecycline against recently isolated Gram-negative anaerobic bacteria in Greece, including metronidazole-resistant strains. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2006; 55: 231–6.
83. Wybo I, Pierard D, Verschraegen I, Reynders M, Vandoorslaer K, Claeys G, et al. Third Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 132–9.

84. Koeth LM, Good CE, Appelbaum PC, Goldstein EJC, Rodloff AC, Claros M, et al. Surveillance of susceptibility patterns in 1297 European and US anaerobic and capnophilic isolates to co-amoxiclav and five other antimicrobial agents. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 1039–44.
85. Gürler N, Zandi H, Töreci K. Anaerob Gram negatif çomakların duyarlılıklarının belirlenmesinde agar dilüsyon, E test ve buyyonda disk elüsyon yöntemlerinin karşılaştırılması. *ANKEM Derg* 1997; 11: 487-92.
86. Keşli R. Çeşitli klinik örneklerden izole edilerek tanımlanan anaerob bakteriler ve E-test yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi (Uzmanlık Tezi). Erzurum: A.Ü. Tıp Fakültesi, 2001.
87. Mutlu E, Yücesoy M. Anaerob bakterilerde beta-laktamaz aktivitesinin ve antibiyotik duyarlılığının agar dilüsyon ve E test yöntemleri ile belirlenmesi. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 2003; 17: 275-80.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalıŐmalarımnda bana her konuda yardımcı olan ve çeşitli bilimsel çalışmalara, kurslara ve kongrelere katılmamı teŐvik ederek iyi bir eğitim almamı sağlayan tez hocam ve anabilim dalı baŐkanımız Sayın Prof. Dr. Bülent Baysal'a ve eğitimimde faydalandığım hocalarım Prof. Dr. İnci Tuncer, Prof. Dr. Mahmut Baykan, Prof. Dr. Duygu Fındık ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet Özdemi'r'e, yanlarında nükleer tıp rotasyonunu tamamladığım Doç. Dr. Oktay Sarı ve Yrd. Doç. Dr. Güngör TaŐtekin'e, anaerop bakteriler konusunda tecrübelerinden yararlandığım Prof. Dr. Nezahat Gürler'e, birlikte çalıŐtıđımız ve bilgi paylaşımında bulunduğumuz asistan arkadaşlarıma, çalıŐmalarımnda her zaman yanımda yer alan tüm mikrobiyoloji laboratuvarı personeline, hayatım boyunca bana hep destek olan annem ve babama, uzmanlık eğitimi döneminde fedakârlıktan hiç kaçınmayan sevgili eŐime ve kızlarıma teşekkür ederim.