

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/44675082>

Identification of anaerobic bacteria isolated from various clinical specimens and determination of antibiotic susceptibilities

Article in *Mikrobiyoloji Bulteni* · April 2010

Source: PubMed

CITATIONS

6

READS

342

2 authors:



Metin Doğan

51 PUBLICATIONS 232 CITATIONS

SEE PROFILE



Bülent Baysal

29 PUBLICATIONS 303 CITATIONS

SEE PROFILE

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

IDENTIFICATION OF ANAEROBIC BACTERIA ISOLATED FROM VARIOUS CLINICAL SPECIMENS AND DETERMINATION OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITIES

Metin DOĞAN¹, Bülent BAYSAL²

¹ Karaman Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Karaman. (metin_dogan42@yahoo.com)

² Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.

ÖZET

Anaerop bakterilerin izolasyonlarında, tanımlanmalarında ve duyarlılık testlerinin rutin olarak uygulanmasındaki güçlükler nedeniyle, ampirik tedavinin belirlenmesi açısından önem taşıyan bölgesel antibiyotik duyarlılık oranlarının belirlenmesi zorlaşmaktadır. Bu çalışmada, anaerobik enfeksiyon şüphesi olan hastaların klinik örneklerinden izole edilen anaerobik bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya, 20 Mart-30 Ekim 2007 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen 100 klinik örnek (36 kan, 31 apse, 12 periton sıvısı, 7 eklem sıvısı, 7 plevra sıvısı, 3 biyopsi, 3 BOS ve 1 cerrahi yara) dahil edilmiştir. Anaerop koşullarda alınan ve taşınan tüm örneklerin hem normal atmosferde konvansiyonel kültürleri hem de Wilkins Chalgren agar, Schaedler agar ve kıymalı buyyon besiyerleri kullanılarak anaerop kültürleri yapılmıştır. İzole edilen anaerobik bakteriler, konvansiyonel yöntemlerle ve API 20 A paneli (BioMerieux, Fransa) ve AN-IDENT Discs (Oxoid, İngiltere) testleri kullanılarak tanımlanmıştır. İzolatların penisilin G, klindamisin, sefoksitin, metronidazol, piperasilin-tazobaktam (PTc) ve imipeneme karşı duyarlılıkları E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmamızda örneklerin 14 (%14)'ünden anaerop bakteri izolasyonu yapılmış, bu örneklerin 7'sinde aynı anda birden fazla anaerop bakteri saptanırken, 8 örnekte anaerop ve fakültatif anaerop bakterilerin (4 *Escherichia coli* ve 4 *Enterococcus* spp.) birlikte ürediği gözlenmiştir. Anaerop bakteri izolasyonu yapılan 14 örneğin 8'inin apse, 6'sının ise periton sıvısı örnekleri olduğu belirlenmiştir. İzole edilen toplam 22 anaerop suş; *Bacteroides fragilis* (n= 6), *B. fragilis* dışı *Bacteroides* spp. (n= 2), *Bacteroides caccae* (n= 2), *Clostridium* spp. (n= 2), *Fusobacterium necrophorum/nucleatum* (n= 1), *Prevotella intermedia/disiens* (n= 1), *Peptococcus niger* (n= 2), *Peptostreptococcus* spp. (n= 5) ve *Lactobacillus acidophilus/lensenii* (n= 1) olarak tanımlanmıştır. Çalışmada, 6 *B. fragilis* izolatından 2'sinin beta-laktamaz enzimi ürettiği saptanmış diğer anaerop suşlarda beta-laktamaz varlığı tespit edilmemiştir. Tüm izolatların PTc ve imipeneme karşı duyarlı olduğu görülmüş, en yüksek direnç oranı ise penisiline karşı (9/22; %41) saptanmıştır. Anaerop gram-pozitif koklar (n= 7) bütün antibiyotiklere duyarlı iken; anaerop gram-negatif basillerin (n= 12) 9'u peni-

* Bu çalışma Tıpta Uzmanlık Tezi çalışması olarak yapılmıştır.

siline, 4'ü klindamisine, biri metronidazole dirençli, gram-pozitif basillerin (n= 3) ise 2'si metronidazole, biri klindamisine ve biri sefoksitine dirençli olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, Konya Bölgesinde anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılığının araştırıldığı bu ilk çalışmanın verileri, izolat sayısının az olmasına rağmen; ampirik tedavide penisilin tercih edilmemesi gerektiğini, klindamisin kullanımı için antibiyotik duyarlılık çalışmaları yapılmasının uygun olduğunu, metronidazol ve sefoksitin ampirik tedavide güvenle kullanılabileceğini, imipenem ve piperasilin-tazobaktamın ise dirençli suşlar ve komplike enfeksiyonların tedavisi için saklanması gerektiğini düşündürmüştür.

Anahtar sözcükler: Anaerop bakteriler, antibiyotik duyarlılık testi, duyarlılık oranları.

ABSTRACT

Routine isolation, identification and susceptibility testing of anaerobic bacteria present several difficulties leading to defects in the determination of local susceptibility patterns which will guide empirical treatment protocols. This study was carried out to identify the anaerobic bacteria isolated from various clinical materials obtained from the suspected patients with anaerobic infection and to determine the antibiotic susceptibilities against several antibiotics. One hundred clinical specimens (36 blood, 31 abscess, 12 peritoneal fluid, 7 joint fluid, 7 pleural fluid, 3 biopsies, 3 cerebrospinal fluids and 1 surgical wound) that were examined in our laboratory during March 20-October 30 2007, were included in the study. The specimens were collected and transported under anaerobic conditions and inoculated to conventional aerobic media and to Wilkins Chalgren agar, Schaedler agar and chopped-meat broth for anaerobic isolation. Isolated anaerobic bacteria were identified with API 20A panels (Bio-Merieux, France) via conventional methods and by the help of AN-IDENT Discs (Oxoid, England). Penicillin G, clindamycin, cefoxitin, metronidazole, piperacillin/tazobactam and imipenem susceptibility tests were performed with E- test method. Twenty two anaerobic bacteria were isolated from 14 clinical specimens; 7 of the specimens yielding the growth of more than one type of anaerobic bacteria and 8 specimens yielding both anaerobic and facultative anaerobic bacterial (4 *Escherichia coli* and 4 *Enterococcus* spp.) growth. Anaerobic bacteria were isolated in 89 abscess and in 6 peritoneal fluid specimens. The distribution of the anaerobic bacteria identified among these specimens were as follows: *Bacteroides fragilis* (n= 6), *Bacteroides* spp. other than *B.fragilis* (n= 4), *Clostridium* spp. (n= 2), *Fusobacterium necrophorum/nucleatum* (n= 1), *Prevotella intermedia/disiens* (n= 1), *Peptococcus niger* (n= 2), *Peptostreptococcus* spp. (n= 5), and *Lactobacillus acidophilus/lenseii* (n= 1). Beta-lactamase activity was detected only in 2 of the 6 *B.fragilis* isolates. All of the isolates were susceptible to imipenem and piperacillin/tazobactam. The highest rate of resistance was detected against penicillin G (9/22; 41%). While anaerobic gram-positive cocci (n= 7) were found to be sensitive to all antibiotics, the rate of resistance among anaerobic gram-negative bacilli were 75% (9/12) to penicillin, 33.3% (4/12) to clindamycin, 8.3% (1/12) to metronidazole. Among anaerobic gram-positive bacilli (n= 3), 2 were resistant to metronidazole, one to clindamycin and one to cefoxitin. The results of this first anaerobic antimicrobial susceptibility testing study performed at Konya area in Turkey revealed that penicillin was not appropriate in empirical treatment of anaerobic infections, clindamycin susceptibility should be tested before use, metronidazole and cefoxitin could be used in empirical treatment and imipenem and piperacillin/tazobactam should be saved for the treatment of complicated infections and infections caused by resistant bacteria.

Key words: Anaerobic bacteria, antibiotic susceptibility tests, susceptibility rate.

GİRİŞ

Anaerop bakteriler, insan vücudundan normal flora elemanı olarak izole edilebilmektedir. Bu bakteriler çoğunlukla saprofit mikroorganizmalar olup, anaerop enfeksiyona zemin hazırlayan çeşitli durumlarda enfeksiyon etkeni olabilirler¹. Anaerop enfeksiyonların

tedavisinde, apse drenajı, devitalize dokuların debridmanı, kapalı yüzey enfeksiyonlarının açılarak hava ile temasının sağlanması ve obstrüksiyonların giderilmesi gibi cerrahi işlemler öncelikli yaklaşımlardır. Bu yaklaşımlara ilave olarak antimikrobiyal tedavinin uygulanması da gerekmektedir¹⁻³.

Anaerop bakterilerin izolasyon ve tanımlanmasındaki güçlüklerle ek olarak, anaerop duyarlılık testlerinin rutin olarak uygulanması da zor ve zaman alıcıdır⁴. Bu durum, anaeroplardan duyarlılık oranlarının belirlenmesini zorlaştırmaktadır; oysa bölgesel antibiyotik duyarlılıklarının bilinmesi, ampirik tedavinin belirlenmesi açısından önemlidir. Nitroimidazoller, karbapenemler, kloramfenikol, beta-laktam-beta-laktamaz inhibitörleri, penisilin, sefoksitin ve klindamisin antibiyotik duyarlılık çalışmalarında yer alması gereken başlıca antibiyotiklerdir^{3,4}.

Bu çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerop bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örnekler

Bu çalışmaya, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesinin çeşitli kliniklerinden, 20 Mart-30 Ekim 2007 tarihleri arasında, anaerop bakteri enfeksiyonu açısından incelenmek amacıyla Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen 100 klinik örnek (36 kan, 31 apse, 12 periton sıvısı, 7 eklem sıvısı, 7 plevra sıvısı, 3 biyopsi, 3 beyin omurilik sıvısı ve 1 cerrahi yara) dahil edildi. Çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Etik Kurul izni alındı.

Apse ve sıvı örnekler enjektörle havası alınmış şekilde, doku örnekleri ise küçük kaplarda ve steril serum fizyolojik içerisinde hemen laboratuvara ulaştırıldı. Kan kültürü ve bazı sıvıların ekimi için Bactec Plus Anaerobic F (Becton-Dickinson, Maryland, ABD) otomatize kültür sistemi kullanıldı ve şişe içine 3-10 ml materyal hasta başında inoküle edildi.

Örnekler laboratuvara ulaşır ulaşmaz değerlendirmeye alındı. Örneğin makroskobik görünümü ve kokusu değerlendirilip kaydedildi. Anaerop şartlarda alınmayan veya uygun koşullarda taşınmayan örnekler çalışma dışı bırakıldı. Normal flora içerebilecek örnekler için klinikle görüşüldü, örneğin uygun olduğuna karar verilmesi durumunda çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya alınan tüm örnekler hem %5 koyun kanlı ve EMB (Eosin Methylene Blue) agar besiyerlerine ekilerek normal atmosferde 37°C'de inkübe edildi; hem de anaerop kültürleri yapıldı. Örneklerden aynı zamanda Gram boyama için direkt preparat hazırlandı ve mikroskobik olarak incelendi.

Anaerobik Kültür Koşulları ve İzolatların Tanımlanması

Örneklerin anaerop kültürleri için, taze hazırlanmış %5 koyun kanlı Wilkins Chalgren agar (Oxoid, İngiltere), Schaedler agar (Oxoid, İngiltere) ve karbonhidratlı kıymalı (Cooked Meat Medium) buyyon (Oxoid, İngiltere) kullanıldı. Sıvı besiyeri kullanılmadan ön-

ce, 10-15 dakika kaynayan suda bekletilerek redükte edilmesi sağlandı; 35-37°C'ye kadar soğutuldu ve sonra ekim yapılarak etüve kaldırıldı.

Ekim yapılan katı besiyerleri, 2.5 L kapasiteli anaerop kavanoza (Anaerobar; Oxoid, İngiltere) yerleştirilerek 37°C'de 48 saat inkübe edildi. Anaerobik atmosferi sağlamak amacıyla, Microbiology Anaerocult A (Merck, Almanya) paketleri kullanıldı. Atmosferin kontrolü için rezasurin emdirilmiş kağıt şerit kullanıldı ve şerit renginin pembeden beyaza dönüşmesi gözlemlenirken işlemler geçerli kabul edildi.

Inkübasyon süresi sonunda, anaerop ve normal atmosfer koşullarında üreyen mikroorganizmaların koloni morfolojileri değerlendirildi ve Gram boyamaları yapıldı. Her iki ortamda aynı morfolojik yapıya sahip koloniler ürettiğinde, izolatlar fakültatif anaerop bakteri olarak kabul edildi. Yalnızca anaerop şartlarda üreyen kolonilerin morfolojik görünüşleri ve pigment oluşumu incelendi. Farklı görünümdeki bütün kolonilerin anaerobik pasajları ve normal atmosfer ortamında pasajları yapıldı ve yukarıda anlatılan inkübasyon işlemleri uygulandı. Yalnızca anaerop ortamda üreyen kolonilerden tanımlama işlemleri gerçekleştirildi.

Katı besiyerlerinde anaerop şartlarda üreme olmaması halinde, sıvı besiyerine yapılan ekimler değerlendirildi. Dipte bulanıklık saptanan örneklerden, yukarıdaki katı besiyerlerine pasaj yapılarak hem anaerop hem de normal atmosfer koşullarında daha önce bahsedildiği şekilde inkübasyona bırakıldı. Üreme olmayan örnekler anaerop şartlarda 7 gün daha inkübe edildi ve bu süre sonunda yine üreme olmayan örnekler negatif olarak değerlendirildi.

İzole edilen anaerop bakterilerin tanımlanması için; antibiyotik tanı disk testi [kolistin (10 µg), kanamisin (1000 µg) ve vankomisin (5 µg); AN-IDENT Discs, Oxoid, İngiltere], %20'lik safralı buyyonda üreme durumu, pigment oluşumu, katalaz reaksiyonu ve indol oluşumu incelendi. Ayrıca API 20A (BioMerieux, Fransa) paneli kullanılarak bakterinin biyokimyasal reaksiyonları araştırıldı. Bu testlerden elde edilen sonuçların birlikte değerlendirilmesiyle bakterilerin tanımlanması yapıldı.

Antibiyotik Duyarlılık Testi

İzole edilen anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları, benzil-penisilin G (PG), imipenem (IP), klindamisin (CM), metronidazol (MZ), piperasilin-tazobaktam (PTC; tazobaktam 400 µg) ve sefoksitin (FX) içeren E-test şeritleri (AB Biodisk, İsveç) kullanılarak araştırıldı. Standart suş olarak *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 kullanıldı.

İzolatların beta-laktamaz enzim üretimlerinin araştırılması amacıyla, kromojen bir sefalosporin olan nitrosefin (Oxoid, İngiltere) içeren süspansiyon kullanıldı. Pembe-kırmızı renk değişiminin saptanması, beta-laktamaz pozitifliği şeklinde yorumlandı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 100 örneğin 60'ında üreme saptanmamış; 14 örnekte anaerop ve 25 örnekte fakültatif anaerop bakteri izolasyonu yapılmış; bir örnekte ise *Candida* spp. üremesi olmuştur. Anaerop üreme görülen 14 örneğin 7'sinde aynı anda birden fazla

anaerop bakteri saptanırken, 8 örnekte anaerop ve fakültatif anaerop bakterilerin birlikte ürediği gözlenmiştir. Buna göre, bakteri üremesi olan 39 örnekten toplam 22 anaerop ve 33 fakültatif anaerop (14'ü gram-negatif basil, 19'u gram-pozitif kok) izolat elde edilmiştir. Anaerop ve fakültatif anaerop bakterilerin birlikte izole edildiği 8 örnekte, eşlik eden fakültatif bakterilerin *Escherichia coli* (n= 4) ve *Enterococcus* spp. (n= 4) olduğu saptanmış; 2 örnekten ikişer tür fakültatif anaerop, 4 örnekten ise ikişer tür anaerop bakteri izole edilmiştir. Anaerop bakteri izolasyonu yapılan 14 örneğin 8'inin apse, 6'sının ise periton sıvısı örnekleri olduğu belirlenmiştir. Anaerop üreme saptanan örneklerin kliniklere göre dağılımı ise Tablo I'de verilmiştir.

Üç örneğin Gram boyamasında mikroorganizma varlığı görülmesine rağmen, kültürlerinde üreme olmamış; buna karşın Gram boyamasında mikroorganizma görülmeyen bir örneğin kültüründe bakteri üremesi saptanmıştır.

Anaerop bakterilerin tanımlanması sonucu elde edilen veriler ve bu izolatların test edilen antibiyotiklere direnç durumları Tablo II'de gösterilmiştir. *Bacteroides* spp. olarak değerlendirilen iki izolat API 20A kiti ile *Bacteroides* cinsinin çeşitli türlerini göstermiştir. Bu izolatlar %20'lik safıralı besiyerinde ürememiştir. Yapılan diğer testler de göz önüne alınarak bu izolatlar *Bacteroides* spp. (*B.fragilis* dışı) olarak tanımlanmıştır.

Çalışmada, 6 *B.fragilis* izolatından 2'sinin beta-laktamaz enzimi ürettiği saptanmış diğer anaerop suşlarda beta-laktamaz varlığı tespit edilmemiştir.

Tablo I. İzole Edilen Anaerop Bakterilerin Kliniklere ve Örneklere Göre Dağılımı

Klinik (çalışmaya alınan örnek sayısı)	Anaerop üreme saptanan örnek sayısı/ üreme saptanan toplam örnek sayısı
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları (50)	1/14
Genel Cerrahi (11)	5/7
Ortopedi (7)	0/1
Dahiliye (5)	1/4
Çocuk Cerrahisi (4)	3/3
Acil Servis (3)	1/2
Kadın Hastalıkları ve Doğum (3)	2/2
Beyin Cerrahisi (2)	1/1
Göğüs Cerrahisi (2)	0/2
İntaniye (2)	0/2
Kalp Damar Cerrahisi (1)	0/1
Diğer (10)*	-
Toplam (100)	14/39

* Kulak Burun Boğaz (n= 6), Plastik Cerrahi (n= 1), Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım (n= 1), Cildiye (n= 1), Üroloji (n= 1).

Tablo II. Tanımlanan Anaerop Bakteriler ve Antibiyotiklere Direnç Durumları (n= 22)

Bakteri (izolat sayısı)	Dirençli suş sayısı*					
	PG	IP	CM	MZ	PTc	FX
<i>Bacteroides fragilis</i> (6)	5	0	2	0	0	0
<i>B. fragilis</i> dışı <i>Bacteroides</i> spp. (2)	2	0	0	0	0	0
<i>Bacteroides caccae</i> (2)	1	0	1	0	0	0
<i>Clostridium</i> spp. (2)	0	0	1	1	0	0
<i>Fusobacterium necrophorum/nucleatum</i> (1)	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus acidophilus/lensenii</i> (1)	0	0	0	1	0	1
<i>Peptococcus niger</i> (2)	0	0	0	0	0	0
<i>Peptostreptococcus</i> spp. (5)	0	0	0	0	0	0
<i>Prevotella intermedia/disiens</i> (1)	1	0	0	0	0	0

* İzolat sayıları az olduğu için yüzde oranları verilmemiştir.

PG: Penisilin G, IP: Imipenem, CM: Klindamisin, MZ: Metronidazol, PTc: Piperasilin-tazobaktam, FX: Sefoksitin.

TARTIŞMA

Doğada ve insan vücudu florasında aerobik mikroorganizmalarla birlikte bol miktarda bulunan anaerop bakteriler uygun ortam bulduklarında çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmekte ve bu enfeksiyonlar genellikle polimikrobiyal karakter göstermektedir¹. Anaerop bakterilerin izolasyon ve tanımlamalarının güç olması, bu bakterilerle yapılan çalışmalarını sınırlamakta ve ancak başarılı anaerop kültür çalışması yapılan laboratuvarlarda, çeşitli klinik örneklerden değişen oranlarda anaeroplara izole edilebilmektedir^{1,4}. İstanbul'da yapılan bir çalışmada, çeşitli klinik örneklerden etken olarak anaerop bakteri izolasyon oranı %9 (127/1503)'dur⁵. Nozokomiyal kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonu etkenlerinin araştırıldığı bir çalışmada da, 78 hastadan 98 mikroorganizma izole edilmiş; ancak bu izolatlardan yalnızca bir tanesinin anaerop bakterisi (*Bacteroides* spp.) olduğu bildirilmiştir⁶. Kanser hastalarında anaerobik bakteriyemi insidansının araştırıldığı bir çalışmada, 117.834 kan kültürü incelenmiş ve pozitif kan kültürlerinin %0.6'sından anaerop bakteri izole edildiği rapor edilmiştir⁷. Başka bir çalışmada, pnömoni tanısı ile hastanede yatan 210 hastanın %9'unda kesin, %11'inde olası etken olarak anaerop bakteriler tanımlanmıştır⁸. Bizim çalışmamızda, 100 hastaya ait klinik örneklerin 14 (%14)'ünden 22 anaerop bakteri suşu izole edilmiştir. Anaerop bakteri izolasyonu yapılan 14 örneğin 8'inin apse, 6'sının ise periton sıvısı örnekleri olduğu dikkati çekmiş ve klinik örnek tipinin anaerop bakteri izolasyon oranlarını etkilediği düşünülmüştür.

Özel kültür koşullarında izole edilebilen anaerop bakterilerin tanımlanmasında; koloni özellikleri, Gram boyanma özellikleri ve morfolojik yapıları, pigment oluşturma özellikleri ve biyokimyasal testler kullanılmaktadır. Ayrıca, ticari olarak temin edilen API 20A test paneli de birçok laboratuvarında ve çalışmada anaerop bakterilerin tanımlanmasında kullanılan testlerdendir^{1,9,10}. Çalışmamızda, anaerop bakterilerin farklı katı besiyerlerinde üremesinin değerlendirilmesi amacıyla Wilkins Chalgren agar ve Schaedler agar olmak üzere iki besiyerine ayrı ayrı ekim yapılmış; izole edilen tüm anaerop bakterilerin her iki besiyerinin

de de ürettiği gözlenmiştir. Çalışmamızda, üç örneğin Gram ile boyalı preparatlarında mikroorganizma görüldüğü halde aerop ve/veya anaerop bakteri izolasyonu yapılamamış olması; örneğin alınması ya da taşınmasında gerekli/yeterli koşulların sağlanamamasından veya hastanın antibiyotik kullanımından kaynaklanmış olabileceğini düşündürmüştür.

Sunulan çalışmada, izolatların tanımlanmasında konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra API 20A test panelleri de kullanılmıştır. İki izolat dışında diğer suşlar, bu testin tanımlama tablosunda bulunan bakteri türleri ile uyumlu sonuç vermiş ve ona göre tanımlanmıştır. API 20A, bu iki izolatın tanımlanmasında *Bacteroides* cinsini işaret etmiş, ancak tür düzeyinde tanımlama sağlayamamıştır. Bakteri tanımlamasında kullandığımız diğer yöntemler de göz önüne alınarak, bu iki izolat *B.fragilis* dışı *Bacteroides* spp. olarak tanımlanmıştır. Dolayısıyla çalışmamızda izole edilen 22 anaerop bakterinin 10'unun *Bacteroides* spp., beşinin *Peptostreptococcus* spp., ikisinin *Peptococcus* spp., ikisinin *Clostridium* spp. ve birer adedinin *Fusobacterium*, *Lactobacillus* ve *Prevotella* türleri olduğu belirlenmiştir (Tablo II). *Bacteroides* türleri, özellikle de *B.fragilis*, perfore apandisit ve peritonit gibi alt abdominal enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan anaerop bakterilerdir^{5,11-15}. Anaerop enfeksiyonlarda etken olarak ikinci sırayı ise genellikle peptostreptokoklar almaktadır⁵. Bizim çalışmamızda da izolatların %45.5 (10/22)'ini *Bacteroides* türleri oluşturmuş; *B.fragilis* izolasyon oranı %27.3 (6/22), *Peptostreptococcus* spp. izolasyon oranı ise %22.7 (5/22) olarak belirlenmiştir. Ancak çalışmamızda izole edilen anaerop bakteri sayıları az olduğundan, bakterilerin türlere göre dağılımının ayrıntılı karşılaştırması yapılamamıştır.

Anaerop bakteri enfeksiyonları çoğunlukla polimikrobiyal olup, anaerop bakterilerle birlikte, fakültatif anaeroplara veya mikroaerofil mikroorganizmalar da bu enfeksiyonlardan izole edilebilmektedir^{1,16}. Çeşitli çalışmalarda, anaerop bakteri enfeksiyonlarında en sık izole edilen fakültatif anaerop türünün *E.coli* olduğu bildirilmiştir^{7,11}. Bizim çalışmamızda da, anaerop bakteri izolasyonu yapılan örneklerde %57 (8/14) oranında fakültatif anaerop bakterilerinin (*E.coli* ve *Enterococcus* spp.) eşlik ettiği gözlenmiş, bu durumun karışık kültürlerin, daha ziyade batın içi apse ve periton sıvısı örneklerinden elde edilmiş olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Anaerop bakterilerde beta-laktamaz varlığının araştırılmasında nitrosetin disk testinin güvenilir bir yöntem olduğu ve *Bacteroides* türlerinde %25-92 arasında değişen oranlarda beta-laktamaz pozitifliği saptandığı bildirilmektedir^{12,17}. Bu çalışmada, nitrosetin metodu kullanılarak *B.fragilis* izolatlarının %33 (2/6)'ünde beta-laktamaz varlığı belirlenmiş, diğer anaerop izolatlarımızda ise beta-laktamaz üretimi saptanmamıştır.

Anaerop bakteriler için duyarlılık testlerinin rutinde uygulanması "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" tarafından önerilmektedir¹⁸. Anaerop duyarlılık testleri; (a) virülansı yüksek bakterilerin (*B.fragilis*, *Clostridium perfringens*, *Porphyromonas*, *Prevotella* ve *Fusobacterium* spp. gibi) izole edilmesi halinde, (b) coğrafi bölgeler ve yerel hastanelere göre duyarlılıkların belirlenmesi amacıyla, (c) ampirik tedaviye cevap vermeyen enfeksiyonlarda ve (d) normalde steril olan sıvılardan anaerop bakteri izole edildiğinde yapılmalıdır. Çalışmamızda, anaerop izolatların antibiyotik duyarlılık testleri CLSI'nın¹⁸ kabul ettiği E-test yöntemi ile yapılmıştır.

Çeşitli ülkelerde anaerop bakteriler için yapılan duyarlılık çalışmalarında en yüksek direnç penisiline karşı bildirilmiştir¹⁸⁻²³. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da, toplam anaerop izolatlarımızda en yüksek direnç penisiline karşı (9/22; %41) gözlenmiştir. Yeni Zelanda'da yapılan bir çalışmada, *Bacteroides* türlerinin klindamisine %86, sefoksitine %89, piperasilin-tazobaktam (PTc) ve imipenem %99 ve metronidazole %100 duyarlı olduğu bildirilmiştir¹⁹. Fransa'da yapılan bir çalışmada ise, *Bacteroides* spp. suşlarının duyarlılık oranları imipenem ve metronidazol için %99, sefoksitin için %87 ve klindamisin için %67 olarak verilmektedir²⁰. Çalışmamızda, izole edilen 10 *Bacteroides* spp. suşunun 8 (%80)'inin penisiline, 3 (%30)'ünün klindamisine dirençli olduğu belirlenmiş; sefoksitin, PTc, imipenem ve metronidazole karşı dirençli suşa rastlanmamıştır (Tablo II). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, *Bacteroides* türlerinde penisiline karşı saptanan direnç oranı bizim çalışmamızın bulgularına benzerdir^{5,9,24-27}. İmipenem duyarlılığı ise Şengöz ve arkadaşları⁵ tarafından %85 oranında verilirken, diğer araştırmacılar^{9,26,27} bu oranın %95'in üzerinde olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda belirlenen klindamisine duyarlılık oranı (%70), İstanbul'da Gürler ve arkadaşlarının²⁵ yaptığı çalışma ile İzmir'de Mutlu ve arkadaşlarının²⁷ yaptığı çalışmanın sonuçlarına benzer, diğer çalışmalarda^{5,9,24,26} saptanan oranlardan ise daha yüksektir. Yapılan bu çalışmalarda, *Bacteroides* spp. izolatlarının metronidazole duyarlılık oranları %42-100 arasında verilmektedir^{5,9,24,26,27}.

Peptostreptokoklar ile yapılan duyarlılık çalışmalarında ise, imipenem %100, metronidazole %97-100 ve diğer antibiyotiklere ise %72-94 arasında değişen oranlarda duyarlılık bildirilmektedir^{21,22}. Bizim çalışmamızda bu gruptaki mikroorganizmalarda (*Peptostreptococcus* spp., *Peptococcus* spp.) hiçbir antibiyotiğe direnç gözlenmemiştir.

Görüldüğü gibi, anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık oranları bölgelere ve merkezlere göre değişiklik göstermektedir. Bizim çalışmamızda elde edilen veriler; ampirik tedavide penisilin tercih edilmemesi gerektiğini, klindamisin kullanımı için antibiyotik duyarlılık çalışmaları yapılmasının uygun olduğunu, metronidazol ve sefoksitin ampirik tedavide güvenle kullanılabilceğini, imipenem ve piperasilin-tazobaktamın ise dirençli suşlar ve komplike enfeksiyonların tedavisi için saklanması gerektiğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, Konya Bölgesinde anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılığının araştırıldığı ilk çalışma özelliğini taşıyan bu çalışmamızın, izolat sayısının az olmasına rağmen, hastanemizdeki anaerop enfeksiyonların ampirik tedavisinde yol gösterici olabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Winn WC, Koneman EW, Allen SD, et al (eds). The Anaerobic Bacteria, pp: 877-944. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 2006. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
2. Sanders CV, Aldridge KE. Current antimicrobial therapy of anaerobic infections. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1992; 11: 999-1011.
3. Keşli R. Antianaerobik antibiyotikler ve anaerop bakterilerin antimikrobik duyarlılık testleri. Kocatepe Tıp Derg 2001; 3: 23-9.
4. Ülger Toprak N. Duyarlılık çalışmaları. XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 14-18 Mart 2007, Antalya, Türkiye.
5. Şengöz G, Yaşar K, Berzeg D ve ark. Klinik örneklerden izole edilen anaerop bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2005; 35: 107-12.

6. Suljagic V, Cobeljic M, Jankovic S, et al. Nosocomial bloodstream infections in ICU and non-ICU patients. *Am J Infect Control* 2005; 33: 333-40.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. Arpin C, Dubois V, Rogues AM, et al. Cross-infection due to imipenem-resistant *Bacteroides fragilis* associated with a totally implantable venous port. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3032-4.
11. Bennion RS, Thompson JE, Baron EJ, Finegold SM. Gangrenous and perforated appendicitis with peritonitis: treatment and bacteriology. *Clin Ther* 1990; 12: 31-43.
12. 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.
13. Durmaz B, Taştekin N. Anaerop ön tanıli hastaların klinik örneklerinden izole edilen anaerobik bakteriler. *Mikrobiyol Bul* 1997; 31: 13-20.
14. Bahar H, Mamal Torun M, Demirci M. Yara enfeksiyonlarında anaerop bakterilerin dağılımı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003; 33: 42-6.
15. Ercis S, Tunçkanat F, Haşçelik G. Anaerop enfeksiyon şüpheli hastalardan izole edilen anaerop bakteriler. *Mikrobiyol Bul* 2005; 39: 447-54.
16. Özbakkaloğlu B. Sporsuz anaerop bakteri enfeksiyonları. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 15-19 Ekim 2001, Adana, Türkiye.
17. Appelbaum PC, Spangler SK, Jacobs MR. β -lactamase production and susceptibilities to amoxicillin, amoxicillin-clavulanate, ticarcillin, ticarcillin-clavulanate, cefoxitin, imipenem, and metronidazole, of 320 non-*Bacteroides fragilis* *Bacteroides* isolates and 129 *Fusobacteria* from 28 US centers. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1546-50.
18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. Approved Standard. Document no. M11-A6. 2004, 6th ed. NCCLS/CLSI, Villanova, PA.
19. 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.
20. Behra-Miellet J, Calvet L, Mory F, et al. Antibiotic resistance among anaerobic gram-negative bacilli: lessons from a French multicentric survey. *Anaerobe* 2003; 9: 105-11.
21. Brazier JS, Hall V, Morris TE, Gal M, Duerden BI. Antibiotic susceptibilities of gram-positive anaerobic cocci: results of a sentinel study in England and Wales. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 224-8.
22. Kommedal O, 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.
23. Wybo I, Pierard D, Verschraegen I, et al. Third Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 132-9.
24. Bozkurt H, Gündüçoğlu H, Bayram Y ve ark. Klinik örneklerden izole edilen anaerob bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. *Van Tıp Derg* 2004; 11: 85-91.
25. Gürler N, Zandi H, Töreci K. Anaerop gram negatif çomakların duyarlılıklarının belirlenmesinde agar dilüsyon, E test ve buyyonda disk elüsyon yöntemlerinin karşılaştırılması. *ANKEM* 1997; 11: 487-92.
26. Keşli R. Çeşitli klinik örneklerden izole edilerek tanımlanan anaerob bakteriler ve E-test yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2001. Erzurum.
27. Mutlu E, Yücesoy M. Anaerop bakterilerde beta-laktamaz aktivitesinin ve antibiyotik duyarlılığının agar dilüsyon ve E test yöntemleri ile belirlenmesi. *İnfeksiyon Derg* 2003; 17: 275-80.