

70539

T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN ANAEROP  
BAKTERİLER VE YENİ SINIFLANDIRMA  
KRİTERLERİNE GÖRE İDENTİFİKASYONU**

**YÜKSEK LİANS TEZİ**

**Neşe TAŞTEKİN**

**Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Bengül DURMAZ**

**7.ÜNİVERSİTE  
DÖRDÜNCÜ ANATEKİN HASTANE  
MALATYA İL MERKEZİ**

**MALATYA**

**1998**

## **İÇİNDEKİLER**

|                                     | Sayfa     |
|-------------------------------------|-----------|
| <b>I. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>       | <b>1</b>  |
| <b>II. GENEL BİLGİLER.....</b>      | <b>3</b>  |
| <b>III. MATERİYAL VE METOD.....</b> | <b>30</b> |
| <b>IV. BULGULAR .....</b>           | <b>35</b> |
| <b>V. TARTIŞMA.....</b>             | <b>41</b> |
| <b>VI. SONUÇLAR.....</b>            | <b>45</b> |
| <b>VII. ÖZET.....</b>               | <b>46</b> |
| <b>VIII. KAYNAKLAR.....</b>         | <b>47</b> |

## TABLO LİSTESİ

Sayfa:

|   |    |
|---|----|
| <b>Tablo 1.</b> Anaerop bakterilerin sınıflandırılması .....                                      | 5  |
| <b>Tablo 2.</b> İnsan normal florasındaki aerop bakterilerin anaerop bakterilere oranı .....      | 7  |
| <b>Tablo 3.</b> Anaerop bakterilerin virülsans faktörleri .....                                   | 8  |
| <b>Tablo 4.</b> Başlıca anaerop infeksiyon tipleri .....  | 10 |
| <b>Tablo 5.</b> Anaerop infeksiyon tiplerinin insidansı.....                                      | 11 |
| <b>Tablo 6.</b> Anaerop kültür için uygun örnek alma yöntemleri .....                             | 13 |
| <b>Tablo 7.</b> Anaerop kültür için örneklerin kabulü .....                                       | 14 |
| <b>Tablo 8.</b> Anaerop Gr (-) bakterilerin 2.seviyede identifikasiyonu ve gruplandırılması ..... | 19 |
| <b>Tablo 9.</b> Anaerop Gr (+) bakterilerin 2.seviyede identifikasiyonu ve gruplandırılması ..... | 20 |
| <b>Tablo 10.</b> Bacteroides fragilis grubunun 2.ve 3.seviyede identifikasiyonu .....             | 21 |
| <b>Tablo 11.</b> Sakkarolitik pigmentsiz Gr (-) basillerin 2.ve 3.seviyede identifikasiyonu ..... | 22 |
| <b>Tablo 12.</b> Pigmentsiz Gr (-) basillerin 2.ve 3.seviyede identifikasiyonu .....              | 23 |
| <b>Tablo 13.</b> Pigmentli Gr (-) basillerin 2.ve 3.seviyede identifikasiyonu .....               | 24 |
| <b>Tablo 14.</b> Fusobakterium türlerinin özellikleri .....                                       | 25 |
| <b>Tablo 15.</b> Peptostreptococcus türlerinin 2.ve 3.seviyede identifikasiyonu .....             | 26 |
| <b>Tablo 16 (a).</b> Gr (+) sporlu basillerin 2.ve 3.seviyede identifikasiyonu .....              | 27 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Tablo 16 (b) Gr (+) sporlu basillerin 2.ve 3.seviyede identifikasiyonu .....</b>          | <b>28</b> |
| <b>Tablo 17. Gr (+) sporsuz basillerin 2.ve 3.seviyede identifikasiyonu .....</b>            | <b>29</b> |
| <b>Tablo 18. Anaerop infeksiyon tanısı ile gönderilen 160 örneğin kültür sonuçları .....</b> | <b>35</b> |
| <b>Tablo 19. Klinik örneklerden izole edilen anaerop bakteriler .....</b>                    | <b>39</b> |
| <b>Tablo 20. Klinik örneklerden izole edilen aerop bakteriler .....</b>                      | <b>40</b> |

## **TEŞEKKÜR**

Bu çalışmaların gerçekleşmesinde büyük katkıları bulunan danışman hocam Sayın, Prof. Dr. Bengül DURMAZ'a ve yetişmemde emeği geçen hocalarım, sayın Prof. Dr. Rıza DURMAZ'a, hocam sayın Doç. Dr. İbrahim Halil ÖZEROL'a, ayrıca mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışan başta uzman Mehmet TEVFİK olmak üzere diğer arkadaşlarımı ve bu tezin bilgisayarda yazımını gerçekleştiren Hacer ERDOĞAN'a teşekkürü borç bilirim.

## **GİRİŞ VE AMAÇ**

Piyojenik ya da piyogenik olmayan ciddi prognoz gösteren infeksiyonlardan etken olarak saflaştırılan anaerop bakteriler, bazen tek başlarına önemli anaerop infeksiyonlara sebep olabildiği gibi fakültatif ya da aerop bakterilerle birlikte miks anaerop enfeksiyonlara da neden olabilirler.

Anaerop mikroorganizmalar, vücutun birçok bölümünde normal flora üyesi olarak bulunurlar. Normal deri ve mukozal bariyerlerin bozulması sonucu travma ya da cerrahiye bağlı doku incinmelerinde, solunum ve safra yolları veya gastrointestinal sistem tikanıklıklarında gelişen doku nekrozunda fırsatçı patojen olarak infeksiyonlara sebep olurlar.

Aerop bakteriler mukozal yüzeylere yakın yerlerde bulunurken, anaerop bakteriler vücutun daha derin kısımlarında, kapalı boşluklarda oksijenden mahrum bölgelerde yerlesirler.

Anaerop bakterilerin hastadan izole edilebilmesi için; mutlaka oksijen ile temas edilmeden, kısa sürede işleme alınması gereklidir. Aksi takdir de; anaeropların izolasyonu çok zordur. Ayrıca pahalı tekniklerin gerekliliği ve klinisyen ile mikrobiyolog arasındaki diyalogun iyi kurulamamasından dolayı bu mikroorganizmaların izole edilmesi güç olmaktadır.

Anaerop infeksiyon şüpheli materyal uygun şartlarda alınıp, hemen laboratuvara gönderilip ve en kısa zamanda kültürü yapılabılırse (uygun anaerop besiyeri seçimi ve anaerop sistemin kurulması) anaerop bakterilerin izolasyonu mümkün olabilmektedir.

Materyalin, laboratuvara anaerop transport ortamında gönderilmesinin zorunluluğu ve anaerop kültürün bilgi, deneyim ve ekipman gerektirmesi nedeniyle, pekçok laboratuvar rutin olarak anaerop kültür yapmamakta ve anaerop enfeksiyon düşünüldüğünde çoğunlukla ampirik tedavi başlanmaktadır.

Bu çalışma ile uygun transport sistemleri ve anaerop üretim koşulları kullanılarak, anaerop bakterilerinin izolasyonu ve yeni taksonomik değişikliklere göre tiplendirilmeleri yapılarak, hastanemizdeki anaerop infeksiyonların bakteriyolojisinin belirlenmesi amaçlandı.

## **GENEL BİLGİLER**

Anaerop bakteriler oksijen varlığında üremeleri inhibe olan mikroorganizmalardır.

Bakteriler, O<sub>2</sub> varlığında üremeleri ve enerji gereksinimlerini karşılamalarına göre aerop veya anaerop olarak sınıflandırılırlar. Aeroplар son elektron alıcısı olarak oksidatif yolda O<sub>2</sub>'nin kullanırken, anaeroplар organik bileşiklerden fermantatif yolla enerjilerini sağlayabilirler ve son elektron alıcısı olarak Karbon (C), Kükürt (S) gibi elementleri kullanırlar: O<sub>2</sub> toleransına göre zorunlu anaerop bakteriler iki gruba ayrılırlar. Birde beş veya daha fazla O<sub>2</sub> ile karşılaşınca agar yüzeyinde koloni yapamayanlar **kesin zorunlu anaeroplар** ve % 2-8 oranında O<sub>2</sub> bulunması durumunda üreyebilen **ılımlı zorunlu anaeroplар** olarak adlandırılırlar. Kesin zorunlu anaeroplар tipik olarak normal floranın üyesi iken, birçok anaerop infeksiyonlar ılımlı anaeroplар tarafından meydana getirilirler.

Son elektron alıcısı olarak O<sub>2</sub>'ni kullanan mikroorganizmalar toksik, oksijen-redüksiyon ürünleri oluştururlar. Bu ürünler içinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hidroksil radikalleri, oksijen ve süperoksit anyonları sayılabilir. Bu metabolik son ürünler; DNA'da kırılmalara sebep olabilirler. Mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri için hayatı öneme sahip bazı enzim sistemlerini inaktive ederek, hücrelerin lipit bileşimini bozarlar.

Oysa birçok aerop ve fakültatif anaerop mikroorganizmalar; katalaz, peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzimleri (SOD) üreterek bu son toksik ürünlerden kendini koruyabilmektedir. İlk zamanlar anaeroplар üzerine O<sub>2</sub>'nin toksik etkisinin bu koruyucu enzimlerin olmamasına bağlıyordu. Ancak şimdi

birçok *Bacteroides* türleri ve diğer anaerop mikroorganizmaların  $O_2$  ile karşılaştıktan sonra indüklenen SOD üretebildiği anlaşılmıştır. SOD seviyesi genellikle Gr (-) bakterilerde, Gr (+)'lere göre daha yüksektir ve ılımlı zorunlu anaerop bakterilerin  $O_2$  toleransının derecesi ile uyumluluk gösterir.

*Bacteroides*, *Peptostreptokok* ve *Propionibakterium* cinsindeki bazı türlerin katalaz üretebildiği bildirilmiştir. Fakat katalaz üretimi, türler arasında değişkendir ve  $O_2$  toleransı ile uyumlu değildir.

Anaeroplarda peroksidaz aktivitesi gösterilememiştir. SOD gibi bazı enzimler bu nedenle kesin olarak  $O_2$  toleransında ve bazı anaeropların virulansında önemli rol oynar. Ancak diğer bazı anaeroplar, (*C1. perfiringens* gibi) koruyucu enzimleri olmadığı halde 72 saat kadar uzun süre  $O_2$ 'ne dayanıklı olmalarının sebebi bilinmemektedir (1).

### **Anaerop Bakterilerin Sınıflandırılması**

Tıbbi önemi olan muayene maddelerinden, sık olarak izole edilen anaerop bakterilerin Gram yöntemi ile boyanma ve morfolojik özelliklerine göre sınıflandırılması Tablo 1'de gösterilmektedir (2, 3).

**Table 1:** Anaerop bakterilerin sınıflandırılması

| I . Gr (+) boyananlar  | II. Gr(-) boyananlar  |
|--|---|
| <b>a) Kok şeklinde olanlar :</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Coprococcus</li><li>- Gemella</li><li>- Streptococcus</li><li>- Peptococcus</li><li>- Peptostreptococcus</li><li>- Ruminococcus</li></ul>   | <b>a) Kok şeklinde olanlar:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Acidaminococcus</li><li>- Megasphaera</li><li>- Veillonella</li></ul>   |
| <b>b) Çomak şeklinde olanlar:</b> <ol style="list-style-type: none"><li>1) Sporlu çomaklar<ul style="list-style-type: none"><li>Clostridium</li></ul></li><li>2) Sporsuz çomaklar<ul style="list-style-type: none"><li>- Actinomyces</li><li>- Bifidobacterium</li><li>- Eubacterium</li><li>- Lactobacillus</li><li>- Propionibacterium</li></ul></li></ol> | <b>b) Çomak şeklinde olanlar :</b> <ul style="list-style-type: none"><li>- Bacteroides</li><li>- Bilophila</li><li>- Desulfomonas</li><li>- Fusobacterium</li><li>- Leptotrichia</li><li>- Megamonas</li><li>- Mitsuokella</li><li>- Prevotella</li><li>- Porphyromonas</li></ul> |

### **Anaerop Bakterilerin Normal Floradaki Yeri ve Önemi**

İnsan vücudunun çeşitli bölgelerinde yerleşen normal mikrobiyal floradaki bakterilerin türleri veya türlerinin total sayısı 500 kadardır. Bir kısmı normal koşullarda zararsız saprofitik durumda bulunurken, konak müdafasının bozulması ile potansiyel patojen duruma geçerler. Trakea, özefagus, mide, ince bağırsağın başlangıcı, üst idrar yolları (böbrek, üreter, idrar kesesi) endojen flora içermez. Ancak bu bölgelerde zaman zaman sınırlı sayıda geçici olarak bakterilere rastlanabilir (4).

İnsan normal mikrobiyal florasında aerop bakterilerle birlikte anaerop bakterilerde bulunurlar. Özellikle deri ve mukozalar, üst solunum yolları,

**Table 2:** İnsan normal florasındaki anerop bakterilerin aerop bakterilere oranları (1).

| Sistemler                 | Toplam bakteri sayısı | Anaeropların aeroplara oranı |
|---------------------------|-----------------------|------------------------------|
| Nazal yıkantılar          | $10^3 - 10^4$         | 3 -5:1                       |
| Tükrük                    | $10^8 - 10^9$         | 1:1                          |
| Diş yüzeyi                | $10^{10} - 10^{11}$   | 1:1                          |
| Gingival yarıklar         | $10^{11} - 10^{12}$   | 1.000:1                      |
| Gastrointestinal sistem   |                       |                              |
| Mide                      | $10^2 - 10^5$         | 1:1                          |
| İnce bağırsağın üst kısmı | $10^2 - 10^4$         | 1:1                          |
| Ileum                     | $10^4 - 10^7$         | 1:1                          |
| Kolon                     | $10^{11} - 10^{12}$   | 1.000:1                      |
| Genital sistem            |                       |                              |
| Vagina                    | $10^8 - 10^9$         | 3 -5:1                       |
| Endocervix                | $10^8 - 10^9$         | 3 -5:1                       |

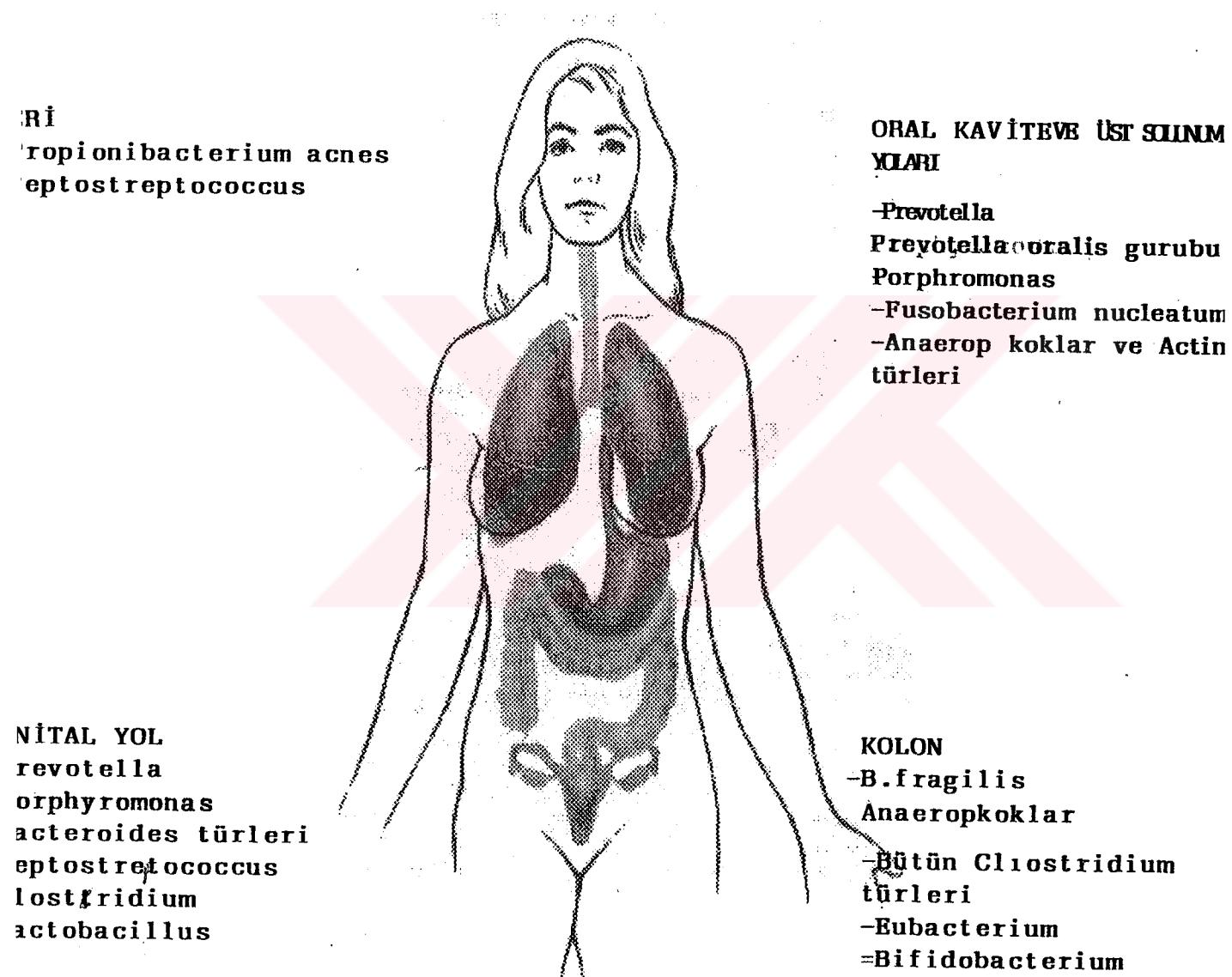
Bağırsaklarda ve genitoüriner sistem florasında fazla sayıda anaerop bakteri olması bu bölgelerde  $O_2$  konsantrasyonunun düşük olmasından kaynaklanır. Oysa deri, ağız, burun ve boğaz devamlı  $O_2$ 'ne maruz kalan bölgelerdir ve bu bölgelerde de predominant olarak anaerop bakteriler bulunmaktadır. Bu tezat durum şöyle açıklanmaktadır (5): Aerop ve fakültatif anaerop bakteriler, metabolizmalarında  $O_2$ 'ni kullanarak ortamda anaerop bakterilerin yerleşip üremesine imkan verirler. Ayrıca anaerop bakteriler açık olan bu bölgelerde, tonsillar kriptler gingival yarıklar ve kıl folikülleri gibi havadan korunmuş kısımlarına yerleşirler. Enfeksiyonlara karşı vücutun özgül olmayan doğal direncinde rol oynayan deri veya mukozaların hasar gördüğü travma, ameliyat, yabancı cisim, malignite vb. durumlarda normal flora elemanlarından olan anaerop bakteriler infeksiyonlar oluştururlar (1, 3, 6).

Pijojenik ve pijojenik olmayan infeksiyonların patogenezinde rol oynayan anaerop bakterilerin virulans faktörleri Tablo 3'de özetlenmiştir.

gastrointestinal sistem ve kadın vajen mikrobiyal florası anaerop bakterileri içerir.

Şekil 1'de anaerop bakteri cinslerinin normal mikrobiyal florada bulunduğu yerler görülmektedir (5).

**Şekil 1:** Normal mikrobiyal florada anaerop bakteriler.



Hatta bazı vücut kısımlarında, mikrobiyal florada anaerop bakterilerin sayısı aerop bakterilerinden daha fazladır (Tablo 2).

**Tablo 3:** Anaerop bakterilerin virulans faktörleri (1, 4).

| <b>Virulans faktörleri</b>  | <b>Etkileri</b>   |
|---|---|
| 1- Peritanel mezotel hücrelerine yapışma  | Peritonit   |
| 2-Gingival yarıklardaki epitel hücrelerine yapışma  | Periodontal hastalıklar   |
| 3- Kapsül yapısı  | Makrofajların fagositozunu engelleyerek apse oluşumuna neden olur |
| 4- Süperoksit dismutaz (SOD) ve Katalaz enzimi  | Bakterinin aerotoleransını sağlar                                 |
| 5- İmmunoglobulin proteaz   | İmmunoglobulinleri parçalayarak bağışıklık sistemini etkiler      |
| 6- Kollagenaz enzimi<br>Hyalurodinaz enzimi<br>Neuraminidaz enzimi<br>Fibrinolizin enzimi | Doku harabiyeti ve parçalanmaya neden olurlar.                    |
| 7- Lipopolisakkartitler   | İltihap, kemik erimesi ve dişeti hastalıklarına neden olurlar     |
| 8- Leukotoksin  | Çeşitli hücrelere sitotoksiktir                                   |
| 9- Butirat  | Sitotoksik etki gösterir.   |
| 10- Kemotaksinin suda çözünen inhibitörleri   | Inflamator cevabın engellenmesinde rol oynarlar                   |
| 11- Nitrat redüktaz   | Nitratı nitrite dönüştürür  |
| 12- Üreaz   | Üreyi hidroliz eder   |
| 13- Lesitinaz   | Lisitinleri eritir.   |
| 14- DNA az  | DNA'yı parçalar   |
| 15- Lipaz   | Yağları eritir  |
| 16- Kapsül  | Cl.perfiringens'te hareketi engeller                              |
| 17- Ekzotoksin  | Sinir sistemlerini etkiler  |

**Anaerop infeksiyon şüphesi doğuran pek çok ipucu vardır (2, 5).**

Bunlar; 1- Materyaldeki kötü koku

- 2- Alınan materyallerin mukozal yüzeye yakın olması
- 3- İnsan ve hayvan ısrığına bağlı sekonder enfeksiyonlar olması.
- 4- Dokuda gaz oluşumu
- 5- Önceden aminoglikozit grubu antibiyotik (Gentamisin veya Amikasin) alınmasına rağmen tedavinin etkili olmaması
- 6- Doku nekrozu
- 7- Kanlı eksudada siyah renk olması ve bu eksudaların ultraviyole ışığı altında kırmızı floresan vermesi (Örn; Prevotella veya Porphyromonas enfeksiyonlarında olduğu gibi)
- 8- Akıntıda sülfür granüllerinin varlığı (Actinomycosis varlığını düşündürür)
- 9- Özel morfolojik karakterlerin Gram boyamada görülmesi
- 10- Hastadan alınan eksudada Gram boyama sonucunda organizmalar görüldüğü halde, aerop kültüründe üremenin olmaması
- 11- Karekteristik kolonilerin anaerop agar plaklarında görülmesi (F.nucleatum ve Cl.perfringens)
- 12- Agar besiyeri ve sıvı besiyerlerinde anaeropların besiyerlerinin dip kısmında üremesi

Anaerop infeksiyonlar, gerek endojen gerekse eksojen kaynaklı anaerop bakteriler tarafından oluşturulurlar. Tüm organ ve dokularda infeksiyonlar görülebilir (Tablo 4).

**Tablo 4:** Başlıca anaerop infeksiyon tipleri şunlardır (2, 4)

| <b>Yerleşim Bölgesi</b>  | <b>İnfeksiyon tipleri</b>   |
|--------------------------|---|
| Baş ve Boyun             | Beyin apsesi<br>Gingivitis<br>Kronik sinüzit<br>Kronik otit<br>Odontojenik ve orafarengéal enfeksiyonlar                |
| Solunum Sistemi          | Aspirasyon pneumonisi<br>Nekrotizan pneumoni<br>Akciğer Apsesi<br>Ampiyem (Erişkin)                                     |
| Gastro İntestinal Sistem | Peritonit, batın içi apse<br>Septik abortus ve endometrit   |
| Genital Sistem           | Bortholium bezi apsesi<br>Bakteriyel vaginit  |
| Cilt ve Yumuşak Doku     | Nekrotizan fascit<br>Krepitan sellütit<br>Gazlı gangren<br>Dekibütis ülseri<br>Diyabetik ayak ülseri<br>Isırık yaraları |

Anaerop infeksiyon tiplerinin insidansı table 5'de özetlenmiştir.

**Table 5:** Anaerop infeksiyon tiplerinin insidansı (1, 2, 4)

| <b>İnfeksiyon tipleri</b>    | <b>İnsidans (%)</b> |
|------------------------------|---------------------|
| Bakteremi                    | 5-20                |
| <b>Santral sinir sistemi</b> |                     |
| Beyin apseleri               | 89                  |
| Subdural apse                | 10                  |
| Meningitis                   | ± 1-2               |
| <b>Baş ve boyun</b>          |                     |
| Göz                          | 38                  |
| Kronik sinüzit               | 50                  |
| Kronik otit                  | 30-60               |
| Peridental apseler           | 100                 |
| Düger oral infeksiyonlar     | 94-100              |
| <b>Pleuropulmoner</b>        |                     |
| Aspirasyon pneumonisi        | 85-90               |
| Akciğer apseleri             | 93                  |
| Nekrotizan pneumoni          | 85                  |
| Ampiyem                      | 76                  |
| <b>Intra abdominal</b>       |                     |
| Peritonit ve apseler         | 90-95               |
| <b>Genital yollar</b>        |                     |
| Pelvik Peritonitler          | > 55                |
| Tubo-Ovarian apseler         | 92                  |
| Vulvovaginal apseler         | 74                  |
| Gazlı gangren ( myonekrozis) | 100                 |
| İdrar yolları                | < 1                 |

#### Rutin Anaerop Kültür İçin Muayene Maddelerinin Alınması (2, 5):

Anaerop örnek alınmada özellikle 2 noktaya dikkat edilmelidir;

- 1) Normal flora ile kontaminasyondan sakınmak
- 2) O<sub>2</sub>'nin öldürücü etkisine maruz bırakmayacak şekilde kısa sürede laboratuvara ulaşımak

Povidon iyot ile temizlenen bölgelerden aspirasyonla elde edilen muayene maddeleri anaerop kültür için en uygundur. Aspirasyon materyali ≤ 0,2 ml ise

(beyin dokularında olduğu gibi) ya eğilip bükülen plastik bir katater kullanılır ya da direkt iğnesiz şırınga ile numune alınır. İğne ucu değiştirilerek alınan materyal anaerop transport şişelerine boşaltılır.

Derin drene yaralardan, sinüsten antiseptikle temizlendikten sonra sinüsün derinliklerinden materyal kürete edilir veya plastik katater ile derinden eksüda alınır. Eküyon sokularak üst kısımdan sürülerek alınan numunelerden sekonder olarak kontaminasyonlar oluşabileceğinden uygun değildir.

Perioral (normal flora ile birlikte bulunduğuundan dikkatli alınmalıdır) ve gingival apselerden materyalin aspire edilmesi en uygun yöntemdir.

Solunum yolu sekresyonlarından ve akciğer dokusundan, perkütanoz aspirasyon veya transtrakeal aspirasyon ile alınan torasentez sıvısı, akciğer biyopsisi, korumalı sistem ile alınmış bronşial fırça tekniği örnekleri uygundur. Anaerop kültür için uygun örnek alma yöntemleri tablo 6'da özetlenmiştir (2, 4).

**Tablo 6:** Anaerop kültür için uygun örnek alma yöntemleri

| <u>Örnek Alınacak Kısım</u> | <u>Uygun Örnek</u>   | <u>Örnek alma yöntemi</u>  |
|-----------------------------|--|--|
| Baş ve Boyun                | Aspirat<br>Doku biyopsisi  | Perkutanöz iğne aspirasyonu<br>Cerrahi ile   |
| Pulmoner                    | Akciğer aspiratı<br>Doku biopsisi<br>Derin bronşiyal<br>Sekresyonlar | Akciğer aspirasyonu ile<br>Cerrahi ile<br>Transtrakeal apirasyon veya<br>korumalı bronşiyal fırça ile  |
| Eklem                       | Eklem sıvısı   | Perkutanöz iğne aspirasyonu  |
| Abdominal                   | Peritoneal sıvı<br>Apse içeriği<br><br>Safra<br>Doku biyopsisi       | Perkutanöz iğne aspirasyonu<br>Cerrahi veya CT ya da<br>ultrasyon ile (barsak içeriği ile<br>kontaminasyondan kaçınılmalıdır.)<br>Cerrahi ile<br>Cerrahi ile |
| Kemik                       | Biyopsi<br><br>Aspirat   | Cerrahi ile kürete edilerek veya<br>kazınarak<br>Deri yüzeyi ile temas edilmeden<br>derin doku aspirasyonu   |
| Diğer yumuşak dokular       | Doku biyopsisi<br>Aspirat<br>Doku                                    | Cerrahi ile<br>Perkutanöz iğne aspirasyonu<br>Kürete edilerek  |
| İdrar                       | Kesedeki idrar   | Suprapubik aspirasyon  |

**Tablo 7:** Anaerop kültür için materyallerin kabulu (7)

| Uygun Materyaller  | Uygun Olmayan materyaller  |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- Aspiratlar</li> <li>- Safra</li> <li>- Kan</li> <li>- Kemik iliği</li> <li>- Bronkoskopik, korunmuş fırça ile alman materyal</li> <li>- Kuldosentez Örneği</li> <li>- Fallop tüplerinden alınmış materyal</li> <li>- Actinomycetes türleri için IUD (intra uterin alet)</li> <li>- Yumurtalıkta alınmış materyal</li> <li>- Plasenta (Sezeryan yolu ile)</li> <li>- Sinüs aspiratı</li> <li>- Clostridium türleri için Gaita</li> <li>- Cerrahide alınmış sürüntü</li> <li>- Cerrahide alınmış doku</li> <li>- Transtrakeal aspirat</li> <li>- Uterusdan endometrial aspirat</li> <li>- Suprapubik aspirat ile alınmış idrar</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bronkoalveolar yıkantı (Korunmamış)</li> <li>- Servikal sürüntü</li> <li>- Endotrakeal aspirat</li> <li>- Kontamine endoservikal sürüntü</li> <li>- Akıntı</li> <li>- Nazofarangeal sürüntü</li> <li>- Perineal sürüntü</li> <li>- Prostatik veya seminal sıvı</li> <li>- Expektore edilmiş balgam</li> <li>- Gaita veya rektal örnekler</li> <li>- Boğaz sürüntüsü</li> <li>- Trakeostomi aspiratı</li> <li>- Üretral sürüntü</li> <li>- Katater ile alınan idrar</li> <li>- Orta akım idran</li> <li>- Vajinal veya vulval sürüntü</li> </ul> |

**Anaerop örneklerin transportu (2, 4, 5):** Anaerop kültür için gönderilen numuneler en kısa sürede işleme alınmalıdır ve uygun besiyerlerine ekilerek hemen işlem bitirilmelidir. Besiyerleri hazır değil ve beklenmesi gerekiyorsa, oda ısısında anaerop transport ortamında en fazla 24 saat bekletilmelidir. Transport sisteminin yanısıra anaerop şüpheli klinik materyal  $\geq 2\text{ml}$  ise havası alınmış ve iğnesi kıvrılmış enjektör içersinde de laboratuvara gönderilebilir.

Aspire edilerek alınmış mayı 2 ml'den daha az ise, anaerop transport besiyerine konularak laboratuvara gönderilir.

Eküvyon ile alınmış örnek, anaerop kültür için uygun değildir. Ancak örnek başka şekilde alınamıyorsa son başvurulacak yöntemdir. Bu koşulda, eküvyon çubuk anaerop transport tüpünün içindeki agarın dibine kadar daldırılarak Laboratuvara gönderilmelidir. Transport ortamına konulmuş anaerop örnek asla buzdolabına koyulmamalıdır. Soğuk O<sub>2</sub>'nin difüzyonunu hızlandırır.

**Anaerop Kültür Yöntemleri (1, 2, 9):** Anaerop bakterileri üretmek için seçici ve seçici olmayan besiyerlerine ekim yapılır. Seçici olmayan temel anaerop besiyeri olarak Brucella agar, Schaedler agar, CDC agar ve Brain-heart infüzyon agar besiyerlerinden birisi kullanılır. Bu besiyerlerine % 5 koyun, at veya tavşan kanı, Vitamin K<sub>1</sub> ve hemin ilave edilerek anaerop bakterilerin daha iyi üremeleri sağlanır. Bu besiyerlerinden Schaedler ve CDC agar besiyerleri Gr (+) anaerop bakterileri daha iyi üretirken, Brain-heart infüzyon besiyeri (% 0,05 maya özütü) anaerop bakterilerin kültürü için daha az kullanılır.

Seçici besiyeri olarak; Bacteroides Safran Agar (BSEA), Kanamisin-Vankomisin Laked Kanlı Agar (KVLA) ve Fenil Etil Kanlı Agar (FEA) daha sık kullanılır.

### **Anaerop İnkübasyon Yöntemleri (2, 4, 5, 8)**

**1- Kavanoz tekniği:** Anaerop kavanoz 3 lt'lik hava sızdırmayacak şekilde, lastik contalı olup polietilen'den yapılmıştır. İçinde anaerop koşullar oluştugunda yaklaşık 300 mm Hg içeren negatif bir basınç oluşur.

Kültür için, ekimi yapılmış seçici ve seçici olmayan besiyerleri, içersinde anaerop ortam sağlanmış bu sistemlere koyulur. Bu kavonozlar daha kompleks inkübasyon metodları kadar iyi sonuç verirler. Kavanoz tekniği, özellikle plak besiyeri için (primer ve subkültür plakları) kullanılır. Kavanoz içersine hidrojenli bir gaz karışımı ( $\text{CO}_2 + \text{H}_2$ ) ilave edilir. Kavanoza yerleştirilen katalizör (palladyum tanecikler) varlığında, kavanoz içindeki  $\text{O}_2$  ile verilen gaz karışımındaki  $\text{H}_2$  birleşerek su oluşturur ve böylece anaerop ortam sağlanmış olur. Kavanoz içersine konulan katalizör her inkübasyondan sonra aktive edilmelidir. Anaerop koşulların oluştugunun göstergesi olarak indikatör kağıdı kullanılır. Kavanozda  $\text{O}_2$  kalması renksiz indikatör kağıdını renklendirir (İndikatör kağıdı metilen mavi ile hazırlanmışsa mavileşir, resazurin ile hazırlanmış ise pembeleşir).

Kavanozda  $\text{O}_2$  tamamen tükenmiş yani anaerobiozis kurulmuş ise indikatörün rengi beyazlaşır. Kavanoz içinde anaerobiosis sağlanması 2 farklı metot ile olabilir.  
1- Anaerop gaz üretici kitler ; 10 ml su eklendiğinde,  $\text{H}_2$  ve  $\text{CO}_2$  gazları oluşturan Gas-Pak zarf sistemleridir.

**2- Doldurup-boşaltma tekniği;** Azot gazı ile kavanoz 2 kez doldurulup boşaltılır.

Son olarak %90 N<sub>2</sub>, %5-10 H<sub>2</sub> ve %5-10 CO<sub>2</sub> gaz karışımı ile doldurulur. Bu yöntem ile kavanoz içinde anaerop koşullar daha çabuk sağlanır.

**2- Anaerop Kabin Tekniği:** Çok fazla anaerop örnek kültürü yapılan laboratuvarlar için kavanoz tekniğine göre daha ekonomiktir. Kavonozdaki gibi indikatör ve katalizör sistemler bulunur. Doldurulup boşaltma tekniği kullanılarak anaerop koşullar kabin içinde sağlanır.

**3- Roll Tüp Tekniği:** Roll tüp tekniğinde önceden indirgenmiş ve anaerop olarak steril edilmiş besiyerleri O<sub>2</sub>'siz gaz akımı içinde tüplere doldurulur. Hemen ağızları lastik ve metal kapşonla kuşatılır. Bu şekilde ticari olarak kullanımına hazır hale getirilmiş olur. Tüp içersine enjektör ile ekim yapılır.

**4- Şeffaf Torba Tekniği:** Bu tekniği kullanan iki sistem vardır. A) GasPak Pouch (BBL) denen şeffaf torbalar katalizsizdir, sıvı reagen paketi ve bir metilen mavili indikatörü içerir. B) Bio-Bag Environmental Chamber anaerop gaz üretici ampül, indikatör ampülü ve katalizör içeren şeffaf torba sistemidir.

Torba teknikleri tek kullanımlığı olduğu için pahalı yöntemlerdir.

### **Anaerop Bakteri İdentifikasiyon Yöntemler (2, 4, 9, 10, 22)**

Üç seviyede yapılır:

**Birinci seviyede:** Anaerop olarak saflaştırılan bakterinin aerotolerans testi, Gram boyası ve koloni morfolojisine göre yapılır.

**İkinci seviyede:** Anaerop identifikasiyon için özgül antibiyotik disklerine (Kanamisin-Vankomisin-Kolistin) duyarlılık veya dirençlilik sonuçları, katalaz,

indol, nitrat reaksiyonları, safrada üreme, lipaz, lesitinaz, üreaz aktiviteleri, hareket özelliği ve daha bir çok basit testlerle 2.seviyede identifikasiyonu yapılır (Tablo 8-9).

Üçüncü seviye: Anaerop izolatın şeker fermantasyon testleri yapılarak ve glikoz metabolizması sonucu oluşturduğu yağ asitleri gaz-sıvı kromatografi yöntemi ile ölçüerek 3.seviyede identifikasiyon yapılır.

Üçüncü seviyede identifikasiyon pahalı ve fazla iş yükü gerektirdiğinden referan laboratuvarında yapılması önerilmektedir.

Birinci, ikinci ve üçüncü seviyede anaerop bakteri identifikasiyonu yapabilmek için gerekli bilgiler Tablo 8'den 18'e kadar verilmiştir (2, 9).

**Tabelo 8** Anaerop Gr (-) bakterilerin 2.seviyede identifikasiyonu ve gruplandirilmasi (2)

|                                 | Pigment | Kanamycin | Vancomycin | Colistin | %20 safrada<br>üreme | R | R | R | R | R | R | Nitrat | F - F ihtiyaci | F - F ihtiyaci | Indol | Katalaz | Lipaz | Üreaz | Hareket |
|---------------------------------|---------|-----------|------------|----------|----------------------|---|---|---|---|---|---|--------|----------------|----------------|-------|---------|-------|-------|---------|
| <i>B.fragilis</i> group         | -       | R         | R          | R        | -                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| <i>B.ureolyticus</i> group      | -       | S         | R          | S        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | V     | V       |
| <i>B. gracilis</i>              | -       | S         | R          | S        | V                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| <i>B. ureolyticus</i>           | -       | S         | R          | S        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| <i>Wolinella/Campylobacter</i>  | -       | S         | R          | S        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | +       |
| <i>Bilophila</i> sp             | -       | S         | R          | S        | R                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| <i>Fusobacterium</i> sp         | -       | S         | R          | S        | V                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| <i>F. necrophorum</i>           | -       | S         | R          | S        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| <i>F.nucleatum</i>              | -       | S         | R          | S        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| <i>F.mortiferum/varium</i>      | -       | S         | R          | S        | R                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| <i>Porphyromonas</i> sp.        | +       | R         | S          | R        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| Pigmentli <i>Prevotella</i> sp. | +       | R         | R          | V        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| <i>P.intermedia</i>             | +       | R         | R          | V        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| Diger- <i>Prevotella</i> sp.    | -       | R         | R          | V        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| Gram-negative koklar            | -       | S         | R          | S        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |
| <i>Veillonella</i> sp.          | -       | S         | R          | S        | S                    | - | - | - | - | - | - | -      | -              | -              | -     | -       | -     | -     | -       |

F-F : Format - Fumarat ihtiyaci

**Tablo 9** Anaerop Gr (+) bakterilerin 2. seviyede identifikasiyonu ve gruppalandırılması (2)

|                               | Bakteri morfolojisı | Spor testi | K              | V              | C | SPS | İndol | Nitrat Katalaz | Arginin Stimulasyonu | Kırmızı floresan | Reverse CAMP | Box kar Çift zonlu Şekli | Üreaz β-hemoliz testi |
|-------------------------------|---------------------|------------|----------------|----------------|---|-----|-------|----------------|----------------------|------------------|--------------|--------------------------|-----------------------|
| Anaerobik gram-positif koklar | C                   | -          | V              | S              | R | V   | V     | -              | V                    | -                | -            | -                        | -                     |
| P. anaerobius                 | C/CB                | -          | R <sup>s</sup> | S              | R | S   | -     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| P. asaccharolyticus           | C                   | -          | S              | S              | R | R   | +     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| P. hydrogenalis               | C                   | -          | S              | S              | R | R   | +     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| Clostridium türleri           | B                   | +          | V              | S <sup>R</sup> | R | V   | V     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| Nagler (+) Cl türleri         | B                   | +          | S              | S              | R | V   | V     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| C. perfringens                | B                   | +          | S              | S              | R | -   | V     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| C. bifermantans               | B                   | +          | S              | S              | R | +   | -     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| C. sordellii                  | B                   | +          | S              | S              | R | +   | -     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| Nagler (-) Cl türleri         | B                   | +          | V              | S <sup>R</sup> | R | V   | V     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| C. difficile                  | B                   | +          | S              | S              | R | -   | -     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| Spor oluşturmayan basiller    | CB/B                | -          | S              | S <sup>R</sup> | R | V   | V     | V              | V                    | V                | V            | V                        | V                     |
| P. acnes                      | B                   | -          | S              | S              | R | -   | -     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |
| E. lentum                     | CB/B                | -          | S              | S              | R | -   | -     | -              | -                    | -                | -            | -                        | -                     |

C: Kok  
CB: Koko basil  
B: Basil

K: Kanamisin  
V: Vankomisin

C: Colistin

Tablo 10 Bacteroides fragilis grubunun 2. ve 3. seviyede identifikasiyonu (2, 9)

|                     | FERMANTASYON   |       |         |                   |          |            |         |         |           |        | asitleri<br>üreme |
|---------------------|----------------|-------|---------|-------------------|----------|------------|---------|---------|-----------|--------|-------------------|
|                     | %20 safra      | İndol | Katalaz | Eskulin hidrolizi | Arabinoz | Cellobinoz | Raminoz | Sucrozo | Tribhaloz | Ksiloz |                   |
| Bacteroides caccae  | +              | -     | +       | +                 | +        | +          | +       | +       | -         | -      | +                 |
| B. distasonis       | +              | -     | +-      | +                 | -+       | +          | +       | +       | -         | -      | ApS (paa ib iv I) |
| B. eggertii         | +              | +     | -       | +                 | +        | -+         | -+      | -       | -         | -      | ApS (ib iv I)     |
| B. fragilis         | +              | -     | +       | +                 | -+       | +-         | -       | +       | -         | -      | ApS paa (ib iv I) |
| B. merdae           | +              | -     | +       | +                 | +        | V          | +       | +       | -         | -      | ApS (ib iv)       |
| B. ovatus           | +              | +     | +       | +                 | +        | +          | +       | +       | +         | +      | ApS paa (ib iv I) |
| B. stercoris        | +              | +     | -       | +                 | -        | -+         | +       | +       | -         | V      | ApS (ib iv)       |
| B. thetaiotaomicron | +              | +     | +       | +                 | +        | +          | +       | +       | -         | V      | ApS paa (ib iv I) |
| B. uniformis        | + <sup>w</sup> | +     | V       | +                 | +        | -W         | +       | -W      | V         | +      | ApS (ib iv)       |
| B. vulgatus         | +              | -     | +       | -                 | +        | +          | +       | -       | +         | +      | ApS               |

**Tablo 11** Sakkarolitik pigmentsiz Gr (-) basillerin 2. ve 3.seviyede identifikasiyonu (2, 9)

|                                     | FERMANTASYON |          |            |        |           |        |        |                   |       |                     |   |                      |
|-------------------------------------|--------------|----------|------------|--------|-----------|--------|--------|-------------------|-------|---------------------|---|----------------------|
|                                     | %20 safrada  | Arabinoz | Cellobinoz | Laktaz | Salisilin | Sucroz | Ksiloz | Eskulin hidrolizi | İndol | $\alpha$ -Fukusidaz | $\beta$ -acetilglukoz $\beta$ -Ksilliodaz | PYG'den yağ asitleri |
| <i>B. splanchnicus</i>              | +            | +        | -          | -      | -         | -      | -      | -                 | +     | +                   | +   | ApS ib b iv 1        |
| <i>Leptotrichia buccalis</i>        | +            | -        | +          | +      | +         | +      | -      | -                 | +     | +                   | +   | L (as)               |
| <i>Mitsuokella</i>                  | -            | +        | +          | +      | -         | W      | -      | V                 | -     | +                   | +   | AS                   |
| <i>dentalis</i>                     |              |          |            |        |           |        |        |                   |       |                     |   | ALS                  |
| <i>M.mutaciida</i>                  | +            | +        | +          | +      | +         | +      | +      | +                 | -     | +                   | +   |                      |
| <i>Prevotella bivia</i>             | -            | -        | -          | -      | -         | -      | -      | -                 | -     | -                   | -   | A iv S (ib)          |
| <i>P.buccae</i>                     | -            | +        | +          | +      | +         | +      | +      | +                 | +     | +                   | +   | AS (p ib iv I)       |
| <i>P.buccalis</i>                   | -            | -        | -          | -      | -         | -      | -      | -                 | -     | -                   | -   | a iv s               |
| <i>P.disiens</i>                    | -            | -        | -          | -      | -         | -      | -      | -                 | -     | -                   | -   | AS (p ib iv)         |
| <i>P.heparinolytica</i>             | -            | +        | +          | +      | +         | +      | +      | +                 | +     | +                   | +   | AS (p iv)            |
| <i>P.oralis</i>                     | -            | -        | -          | -      | -         | -      | -      | -                 | -     | -                   | -   | AS (I)               |
| <i>P.oris</i>                       | -            | -        | -          | -      | -         | -      | -      | -                 | -     | -                   | -   | AS (p ib iv)         |
| <i>P.oulorum</i>                    | -            | -        | -          | -      | -         | -      | -      | -                 | -     | -                   | -   | AS                   |
| <i>P.veroralis</i>                  | -            | -        | -          | -      | -         | -      | -      | -                 | -     | -                   | -   | a S                  |
| <i>P.zoogloformans</i> <sup>1</sup> | -            | -        | V          | -      | -         | -      | -      | -                 | -     | -                   | -   | APS (ib iv)          |

<sup>1</sup> Broth kültür

Tablo 12 Pigmentsiz Gr (-) basillerin 2. ve 3. seviyede identifikasiyonu (2, 9)

|                            | Glikoz | İndol | Nitrat Redüksiyon | F-F İniyacı | Üreaz | Eskulin hidrolizi | Jelatin hidrolizi | Katalaz | Hareket | Desulfoviridin | PYG'den yağ | asitleri          |
|----------------------------|--------|-------|-------------------|-------------|-------|-------------------|-------------------|---------|---------|----------------|-------------|-------------------|
| Fermantasyon               |        |       |                   |             |       |                   |                   |         |         |                |             |                   |
| Anaerohabdus furcosus      | W      | -     | -                 | -           | -     | -                 | +                 | -       | -       | -              | -           | al (s)            |
| Bilophila wadsworthia      | -      | -     | +                 | -           | +     | -                 | -                 | -       | -       | W              | -           | A (s)             |
| Bacteroides capillosus     | W      | -     | -                 | -           | -     | +                 | -                 | -       | -       | -              | -           | as (pl)           |
| B. coagulans               | -      | +     | -                 | -           | -     | -                 | -                 | -       | -       | -              | -           | a (pls)           |
| B. forsythus               | -      | -     | -                 | -           | -     | -                 | +                 | -       | -       | -              | -           | AS                |
| B. gracilis                | -      | -     | -                 | +           | -     | -                 | -                 | -       | -       | -              | -           | a S               |
| B. pneumosintes            | -      | -     | -                 | -           | -     | -                 | -                 | -       | -       | -              | -           | a (ls)            |
| B. putredinis              | -      | +     | -                 | -           | -     | -                 | -                 | -       | -       | -              | -           | a P ib b IV S (I) |
| B. tectum                  | W      | -     | -                 | -           | -     | -                 | +                 | -       | -       | -              | -           | A P S ib iv paa   |
| B. ureolyticus             | -      | -     | -                 | +           | -     | -                 | -                 | -       | -       | -              | -           | AS                |
| ampylobacter/Wolinella sp. | -      | -     | +                 | +           | -     | -                 | -                 | -       | -       | -              | -           | a S               |
| Desulfomonas sp            | -      | -     | V                 | -           | V     | -                 | -                 | -       | -       | -              | +           | A                 |
| Tissierella praeacuta      | -      | -     | V                 | -           | -     | -                 | +                 | -       | -       | -              | -           | A p ib BIv s (I)  |

Tablo 13 Pigmentli Gr (-) basillerin 2. ve 3.seviyede identifikasiyonu (2, 9)

|                                  | FERMANITASYON |       |         |        |           |        |         |        |   |   | β-N-asetil<br>glukoz aminidaz | Tripsin | PYG'den yağ<br>asitleri |
|----------------------------------|---------------|-------|---------|--------|-----------|--------|---------|--------|---|---|-------------------------------|---------|-------------------------|
|                                  | Indol         | Lipaz | Katalaz | Glukoz | Cellübioz | Laktoz | Salisin | Sukroz | Eskiülin hidrolizi $\alpha$ -Glukosidoz $\alpha$ -Fukosidaz | V |                               |         |                         |
| Bacteroides levii                | -             | -     | V       | +w     | -         | -      | -       | -      | -   | - | -                             | -       | APB iv ib s             |
| B. macacae                       | +             | -     | +       | +      | -         | -      | -       | -      | -   | - | -                             | -       | a P b iv ib S           |
| B. salivosus                     | -             | -     | +       | -      | -         | -      | -       | -      | -   | - | -                             | -       | AB ib iv PAA            |
| Porphyromonas<br>asaccharolytica | +             | -     | -       | -      | -         | -      | -       | -      | -   | - | -                             | -       | Ap ib B IV              |
| P. endodontalis                  | +             | -     | -       | -      | -         | -      | -       | -      | -   | - | -                             | -       | Ap ib B IV              |
| P. gingivalis                    | +             | -     | -       | -      | -         | -      | -       | -      | -   | - | -                             | -       | Ap ib B IV PAA          |
| Prevotella corporis              | -             | -     | -       | +      | -         | -      | -       | -      | -   | - | -                             | -       | Ap ib iv S (b)          |
| P. dentitcola                    | -             | -     | -       | +      | -         | -      | +       | -      | -   | - | -                             | -       | AS (ib iv D)            |
| P.intermedia                     | +             | +     | -       | +      | -         | -      | -       | -      | -   | - | -                             | -       | A iv S (p ib)           |
| P.loescheii                      | -             | V     | -       | +      | +         | -      | +       | V      | -   | - | -                             | -       | AS (I)                  |
| P.melaninogenica                 | -             | -     | -       | -      | -         | -      | +       | -      | -   | - | -                             | -       | AS (ib iv D)            |

**Tablo 14** Fusobacterium türlerinin özelliklikleri (2, 9)

|                             | FERMANTASYON |                   |       |                   |               |         | PROPIONAT'TAN |   |         |
|-----------------------------|--------------|-------------------|-------|-------------------|---------------|---------|---------------|---|---------|
|                             | Indol        | %20 safrada üreme | Lipaz | Eskulin hidrolizi | Laktoz (ONPG) | Fruktoz | Laktat        |   | Treomin |
| <i>F. goniiformans</i>      | +            | -                 | -     | -                 | -             | -       | -             | - | +       |
| <i>F. mortiferum</i>        | -            | +                 | -     | +                 | +W            | -       | -             | - | +       |
| <i>F. naviforme</i>         | +            | -                 | -     | -                 | -             | -       | -             | - | -       |
| <i>F. necrophorum</i>       | +            | +                 | -     | -                 | -W            | +       | -             | - | +       |
| <i>F. nucleatum</i>         | +            | -                 | -     | -                 | -W            | -       | -             | - | +       |
| <i>F. pseudonecrophorum</i> | +            | +                 | -     | -                 | -W            | +       | -             | - | +       |
| <i>F. russii</i>            | -            | -                 | -     | -                 | -             | -       | -             | - | -       |
| <i>F. ulcerans</i>          | -            | +                 | -     | -                 | -             | -       | -             | - | +       |
| <i>F. varium</i>            | V            | +                 | V     | -                 | W+            | -       | -             | - | +       |

Tablo 15 Peptostreptokok türlerinin 2. ve 3. seviyede identifikasiyonu (2, 10)

|                                     | FERMAN TASYON |              |                 |        |           |        |        |       |                  |                       |                      |
|-------------------------------------|---------------|--------------|-----------------|--------|-----------|--------|--------|-------|------------------|-----------------------|----------------------|
|                                     | Indol         | Butirik asid | Isocaproik asit | Glikoz | Cellobioz | Laktoz | Maltoz | Üreaz | Alkalen fosfataz | Hücre büyütülüğü >0,6 | PYG'den yağ astıleri |
| Peptostreptococcus asaccharolyticus | +             | +            | -               | -      | -         | -      | -      | -     | -                | -                     | B (1 p)              |
| P.hydrogenalis                      | +             | +            | -               | +      | -         | -      | -      | -     | -                | -                     | BA                   |
| P.prevotii                          | -             | +            | -               | -W     | -         | -      | -W     | -W    | -                | -                     | B (A 1 P)            |
| P.tetradius                         | -             | +            | -               | +      | -         | -      | +      | +     | +                | -                     | BL ( a p)            |
| P.anaerobius                        | -             | +            | +W              | -      | -         | -W     | -W     | -     | -                | -                     | AIC (ib b iv)        |
| P.productus                         | -             | -            | -               | +      | +         | +      | +      | -     | -                | -                     | AI s                 |
| P.micros                            | -             | -            | -               | -      | -         | -      | -      | -     | -                | -                     | A                    |
| P.magnus                            | -             | -            | -               | -      | -         | -      | -      | -     | -                | -                     | A                    |

Tablo 16 (a) Gr (+) sporlu basillerin 2. ve 3. seviyede identifikasiyonu (2, 11)

|                            | jelatin             | Glukoz              | Lestimaz            | Lipaz               | İndol               | PYG'de              | Aerop               | Üreaz               | Süt            | Laktoz     | Maltoz         | Fruktoz        | Cello- | Arabinoz | Mannoz | Ksiloz | Nitrat              | Spor            | PYG'den          |
|----------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------|------------|----------------|----------------|--------|----------|--------|--------|---------------------|-----------------|------------------|
|                            | hidrolizi fermentas | hidrolizi fermentas | hidrolizi fermentas | hidrolizi fermentas | hidrolizi fermentas | hidrolizi fermentas | hidrolizi fermentas | hidrolizi fermentas | reaksiyonu     | reaksiyonu | reaksiyonu     | reaksiyonu     | bioz   | bioz     | bioz   | bioz   | reduksiyonu oluşumu | yağ asitleri    |                  |
|                            | yonu                | yonu                | yonu                | yonu                | yonu                | yonu                | yonu                | yonu                | yonu           | yonu       | yonu           | yonu           | yonu   | yonu     | yonu   | yonu   | yonu                | yonu            | yonu             |
| charolytic proteolytic     |                     |                     |                     |                     |                     |                     |                     |                     |                |            |                |                |        |          |        |        |                     |                 |                  |
| <i>nifertians</i>          | +                   | +                   | +                   | -                   | +                   | (+)                 | (+)                 | -                   | d              | -          | W              | V              | -      | -        | -      | -      | -                   | OS              | A (ibbivicil)    |
| <i>ordellii</i>            | +                   | +                   | +                   | -                   | +                   | (+)                 | (+)                 | -                   | d              | -          | W <sup>t</sup> | V              | -      | -        | -      | -      | -                   | OS              | A (pibbiv ic l)  |
| <i>erfringes</i>           | +                   | +                   | +                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | d <sup>e</sup> | +          | +              | -              | -      | -        | -      | -      | V                   | OS <sup>2</sup> | A BL (p s)       |
| <i>ovyi type A</i>         | +                   | +                   | +                   | -                   | +                   | -                   | -                   | -                   | c              | -          | V              | -              | -      | -        | -      | -      | -                   | OS              | A P B            |
| <i>adaveris</i>            | +                   | +                   | -                   | +                   | -                   | +                   | +                   | -                   | d              | -          | -              | -              | -      | -        | -      | -      | -                   | OS              | ABBibv (pvcilis) |
| <i>epicum</i>              | +                   | +                   | -                   | -                   | +                   | -                   | -                   | -                   | d <sup>e</sup> | -          | -              | V              | -      | -        | -      | -      | -                   | OT              | A B (l s)        |
| <i>ifficile</i>            | +                   | +                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | cd             | +          | +              | + <sup>w</sup> | -      | -        | -      | -      | V                   | OS              | A B (p l)        |
| <i>utrificum</i>           | +                   | +                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -              | -          | + <sup>w</sup> | -              | -      | -        | -      | -      | -                   | OS              | AibB iifC (vl)   |
| <i>charolytic</i>          | +                   | +                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | d              | -          | -              | -              | -      | -        | -      | -      | -                   | OT              | AibBiv (pvcilis) |
| charolytic non-proteolytic |                     |                     |                     |                     |                     |                     |                     |                     |                |            |                |                |        |          |        |        |                     |                 |                  |
| <i>barattii</i>            | -                   | +                   | +                   | -                   | -                   | +                   | -                   | -                   | -              | c          | + <sup>w</sup> | + <sup>w</sup> | +      | +        | -      | -      | -                   | RS              | A BL (p s)       |
| <i>certium</i>             | -                   | +                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | +              | c          | +              | +              | +      | +        | -      | V      | -                   | OT              | A BL (s)         |
| <i>buryricum</i>           | -                   | +                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | c              | +          | +              | +              | +      | +        | +      | -      | -                   | OS              | A B (l s)        |

**Tablo 16 (b)** Gr (+) spori basillerin 2. ve 3. seviyede identifikasiyonu (2, 11)

|               | jelatin             | Glukoz | Lestimaz     | Lipaz    | İndol | PYG'de    | Aerop     | Üreaz     | Süt       | Laktoz         | Maltoz         | Fruktoz        | Cellobioz | Arabinoz       | Mamoz          | Ksiloz    | Nitrat    | Spor            | PYG'den   |                |
|---------------|---------------------|--------|--------------|----------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------|----------------|----------------|-----------|----------------|----------------|-----------|-----------|-----------------|-----------|----------------|
|               | hidrolizi fermentas | yonu   | Butirik asit | iso asit | üreme | reaksiyon | reaksiyon | reaksiyon | reaksiyon | reaksiyon      | reaksiyon      | reaksiyon      | reaksiyon | reaksiyon      | reaksiyon      | reaksiyon | reaksiyon | reaksiyon       | reaksiyon |                |
| mucurum       | -                   | +      | -            | -        | -     | +         | -         | -         | -         | -              | -              | +              | -         | +              | -              | -         | -         | OT              | ABL (s)   |                |
| mosum         | -                   | +      | -            | -        | -     | -         | -         | -         | c         | +              | +              | -              | -         | -              | -              | -         | -         | OT <sup>2</sup> | A L (s)   |                |
| ostroidiforme | -                   | +      | -            | -        | -     | -         | -         | -         | c         | V              | + <sup>w</sup> | +              | V         | V              | + <sup>w</sup> | +         | +         | OS <sup>2</sup> | A (1 s)   |                |
| henoides      | -                   | +      | -            | -        | -     | -         | -         | -         | c         | W <sup>t</sup> | +              | +              | +         | - <sup>w</sup> | + <sup>w</sup> | V         | +         | OS              | A (1 s)   |                |
| araputrificum | -                   | +      | -            | -        | -     | -         | -         | -         | c         | +              | +              | -              | -         | -              | -              | -         | -         | OT              | ABL (s)   |                |
| stani         | +                   | -      | -            | -        | -     | +-        | +         | -         | -         | -              | -              | d <sup>r</sup> | -         | -              | -              | -         | -         | -               | RT        | ApB (1 s)      |
| astiforme     | +                   | -      | -            | -        | -     | -         | -         | +         | -         | -              | -              | d <sup>s</sup> | -         | -              | -              | -         | -         | -               | S         | AB iv İB (pic) |
| ubterminale   | +                   | -      | -            | -        | -     | -         | -         | -         | -         | -              | -              | d <sup>r</sup> | -         | -              | -              | -         | -         | -               | OS        | AbivIV (pics)  |
| istolyticum   | +                   | -      | -            | -        | -     | -         | -         | -         | -         | -              | -              | d              | -         | -              | -              | -         | -         | -               | OS        | A (1 s)        |
| mosum         | +                   | -      | -            | -        | -     | -         | -         | -         | -         | -              | -              | d              | -         | -              | -              | -         | -         | -               | OS        | A (1 s)        |

#### PYG: Pepton-maya özetli-glikoz broth

A: Asitic asit

B: Butirik asit

L: Laktik asit

IC: Isokaproik asit

S: Suksinik asit

P: Propionik asit

IV: Isovalerik asit

PAA: Fenil asetik asit

#### O: Oval

S: subterminal

T: terminal

Yağ asitleri için: küçük harfler az mikarda üretimi, büyük harfler çok mikarda üretimi gösterir.

c: Koagülasyon

d: Sindririm

w: Zayıf

V: değişken

**İablo 17 Gr (+) sporsuz basillerin 3. seviyede identifikasiyonu (2, 10)**

|                             | Nitrat | Katalaz | Indol | Eskulin hidrolizi | Jelatin hidrolizi | Üreaz pigmenti | Koloninin kırmızı Toleransi | Oksijen        | Glikoz | Arabinoz | Mannoz | Rafinoz | Tribhaloz | PYG'den yağ asitleri |
|-----------------------------|--------|---------|-------|-------------------|-------------------|----------------|-----------------------------|----------------|--------|----------|--------|---------|-----------|----------------------|
| <i>Citromyces</i> sp        | +      | -+      | -     | +/-               | V                 | +              |                             |                | +      | +        | +      | +       | +         | A S (L)              |
| <i>C. israelii</i>          | +-     | -       | -     | +                 | -                 | -              | AM                          | +              | +      | -        | -      | -       | -         | A L S                |
| <i>C. odontolyticus</i>     | +-     | -       | -     | +/-               | -                 | +/-            | AM                          | +              | -      | -        | -      | -       | -         | A S                  |
| <i>C. naeslundii</i>        | +      | -       | -     | +                 | +                 | +              | MF                          | +              | -      | +        | +      | +       | +         | A L S                |
| <i>C. viscosus</i>          | +-     | +       | -     | +                 | +/-               | -              | AM                          | +              | -      | +        | +      | V       |           | A L S                |
| <i>C. meyeri</i>            | -      | -       | -     | +/-               | -                 | -              | AM                          | +              | -      | -        | -      | -       | -         | A S                  |
| <i>C. georgiae</i>          | +-     | -       | -     | +/-               | -                 | -              | F                           | +              | -      | -        | -      | -       | -         | A S (I)              |
| <i>C. gerencseriae</i>      | +-     | -       | -     | +                 | -                 | -              | AM                          | +              | -      | +/-      | +/-    | +/-     | +/-       | A S                  |
| <i>C. tropionibacterium</i> | V      | V       | -+    | V                 | V                 | +              | AM                          | +              | -      | -        | -      | -       | -         | A P                  |
| <i>P. acnes</i>             | +      | +       | +/-   | -                 | -                 | +              | AM                          | +              | AM     | +        | +      | +       | +         | A P (iv L s)         |
| <i>P. granulosum</i>        | -      | +       | -     | -                 | -                 | -              | AM                          | +              | AM     | +        | +      | +       | +         | A P (iv s)           |
| <i>P. avidum</i>            | -      | +       | -     | -                 | +                 | +              | AM                          | + <sup>w</sup> | AM     | +        | +      | +       | +         | A P (iv s)           |
| <i>P. propionicus</i>       | +      | -       | -     | -                 | -                 | V              | AF                          | +              | A      | +/-      | +/-    | +/-     | +/-       | A P (I s)            |
| <i>Eubacterium</i> sp       | V      | -       | -+    | V                 | V                 |                |                             |                | A      | -        | -      | -       | -         | a B (I s)            |
| <i>E. nodatum</i>           | -      | -       | -     | -                 | -                 | -              |                             |                | A      | -        | -      | -       | -         | (a I s)              |
| <i>E. lentum</i>            | +      | -+      | -     | -                 | -                 | -              |                             |                | A      | -        | -      | -       | -         | L (a) [ L>a ]        |
| <i>Lactobacillus</i> sp     | -+     | -       | -     | -                 | -                 | V              | AMF                         | +/-            | AM     | +        | +      | +       | +         | A L A > L ]          |
| <i>Bifidobacterium</i>      | -      | -+      | -     | -                 | +/-               |                |                             |                |        |          |        |         |           |                      |

## **MATERYAL VE METOD**

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi (Turgut Özal Tıp Merkezi) Mikrobiyoloji Laboratuvarında Aralık 1994 - Kasım 1997 tarihleri arasında gerçekleştirilen bu çalışmada çeşitli kliniklerden gönderilen anaerop infeksiyon şüpheli muayene maddelerinden uygun 160 adedi işleme alındı.

Anaerop koşullarda laboratuvara ulaştırılan bu 160 muayene maddesine sırasıyla direkt preparat, aerop ve anaerop kültürler yapıldı. Kliniklerden anaerop şüpheli materyallerin anaerop transport ortamları içinde gönderilmesi istendi. Transport ortamı yanı sıra havası alınmış ve iğnesi kıvrılmış enjektör içerisindeki materyallerde kabul edildi. Bu şekilde gönderilen materyaller kültür için işleme alındı. Anaerop transport ortamı olarak; Carry Blair transport ortamı içeren vida kapaklı tüpler (doku biyopsileri ve eküvyonla alınmış numuneler için) veya şişeler (aspirasyon sıvılar için) hazırlandı. Kliniklere verilirken kaynatılarak difuze olmuş O<sub>2</sub>'ni uçuruldu.

### **Laboratuvara Kabul Edilen Örneklerin İşlenmesi**

**Direkt preparat hazırlandı:** Gram boyası ile boyanarak, gram özelliği ve bakteri morfolojisi kaydedildi.

**a) Aerop kültür yapıldı:** Temel olarak Triptik Soya Koyun Kanlı Agar (TSA) ve Eozin Metilen Blue (EMB) besiyerlerine ekim yapıldı. Klinik materyale bağlı olarak aerop bakteriler için olan diğer besiyerlerinden de faydalandı. 48 saat 35°C'de inkubasyondan sonra üretilen aerop bakterilerin bilinen aerop bakteri identifikasiyon yöntemleri ile tanımlamaları yapıldı.

**b) Anaerop Kültür yapıldı:** Temel anaerop üretim besiyeri olarak; Brucella Koyun Kanlı Agar kullanıldı. Seçici besiyeri olarak ise; Bacteroides Safra Esculin Agar (BSEA) ve Kanamisin-Vankamisin Laked Blood Agar kullanıldı. Bütün besiyerleri ya taze olarak hazırlanmış ya da anaerop kavanoz içinde bekletilmiş olarak kullanıldı.. Besiyerlerine hemen ekimler yapıldı.

Besiyerleri (2);

**Brucella Agar Besiyeri:**

|  |         |
|--|---------|
| Brucella agar (Difco veya BBL)             | 43 g    |
| Vitamin K <sub>1</sub> solusyonu (1 mg/ml) | 1 ml    |
| Distile su                                 | 1000 ml |
| Defibrine koyun kanı                       | 50 ml   |
| Hemin (5 mg/ml)                            | 1 ml    |

**Bacteroides Safra Esculin Agar (BSEA):**

|                                 |         |
|---------------------------------|---------|
| Triptik soy agar                | 40 gr   |
| Oxgall                          | 20 gr   |
| Esculin                         | 1 gr    |
| Ferrik amonyum sitrat           | 0.5 gr  |
| Hemin solüsyonu (5 mg/ml)       | 2 ml    |
| Gentamisin solüsyonu (40 mg/ml) | 2.5 ml  |
| Distile su                      | 1000 ml |

**Kanamisin-Vankomisin Laked Kanlı Agar (KVLB):**

|  |         |
|--|---------|
| Brucella agar                              | 43 gr   |
| Hemin solüsyonu (5 mg/ml)                  | 1 ml    |
| Vitamin K <sub>1</sub> solüsyonu (1 mg/ml) | 1 ml    |
| Kanamisin solüsyonu (100 mg/ml)            | 0.75 ml |
| Vankomisin solüsyonu (7.5 mg/ml)           | 1 ml    |
| Distile su                                 | 1000 ml |
| Laked (dondurulmuş çözülmüş) kan           | 50 ml   |

**Anaerop inkübasyon yöntemi :** Anaerop Kavanozlar kullanıldı. Kavanoz içinde oksijensiz ortam, anaerop gaz üreten zarf (0XOID) koyularak sağlandı.

**Anaerop izolasyon ve identifikasiyon:**

Anaerop kavanozlar içinde en az 48 saat inkübasyona bırakılan kültürler, incelendiğinde aerop kültürde üremeyen, fakat anaeropta üreyen her farklı koloniden çukulatamsı agar besiyerine (%5-10 CO<sub>2</sub>'li atmosferde **aerotolerans test**) ve brusella besiyerine (anaerop atmosferde) subkültürler yapıldı. Her koloniden gram boyası yapıldı. Koloni morfolojisi incelendi ve kaydedildi. Aerotolerans testinde üremeyen, anaerop koşulda üreyen bakteriler anaerop bakteri olarak kabul edildi. *Bacteroides Safra Eskulin Agar (BSEA)* besiyeri, safraya dirençli *B.fragilis* grup bakteriler için seçici olmaktadır. Bu besiyerinde gentamisine dirençli aerop bakteriler ve mayalarda üreyebildi. Ancak bunların koloni büyüklükleri 1 mm'den küçüktü.

*B.fragilis* grup üyeleri besiyerindeki eskulini hidroliz ettiğinden koyu gri siyah renkli koloniler oluşturdu.

Fuzobakterum türleri kenarları şeffaf koloniler oluşturmaları ve bütirik asit üretiminden dolayı, kokuşmuş ve ekşimsi kötü koku oluşumu ile ayırt edildi. Uçlara doğru incelen nokta şeklinde sonlanan ince fusoform basiller şeklinde görülen ve *brucella* kanlı agarda kolonilerin etrafındaki agarı yeşillendiren beyaz ekmek kıvrıltısı şeklinde gri-beyaz benekli koloniler oluşturan anaerop basiller *Fusobacterium nucleatum* olarak birinci seviyeden tanımlandı.

Kanlı agarda kahverengi-siyah pigmentli koloniler oluşturan anaeron Gr (-) *Porphyromonas* ve *Prevotella* türleri olarak değerlendirildi.

Gri beyaz, opak kolonileri 0,5-2mm büyüklüğünde olan Gr (+) anaerop koklara Peptostreptokok denildi.

Clostridiumlar ise sporlu, genellikle “R” tipi büyük koloniler oluşturması ile tipikdi. Böylece Gram özelliğine ve koloni morfolojilerine göre 1.seviyeden anaerop bakterilerin identifikasiyonları yapıldı. Vankomisin duyarlı gram pozitif sporlu basiller Clostridium olarak adlandırıldı.

Anaerop bakterilerin 2.seviyede identifikasiyonları için Brucella besiyerine saf kültürleri yapılarak, Kanamisin ( $1000 \mu\text{g}$ ), Vankomisin ( $5 \mu\text{g}$ ) ve Kolistin ( $10 \mu\text{g}$ ) diskleri yerleştirildi ve 48 saat anaerop inkübasyona kaldırıldı. Bu özgül identifikasiyon antibiyotiklerine dirençlilik ve duyarlılıklarına göre, %20 oranında safra içeren BSEA’da üremeleri ile safraya dirençlilik özelliği, spot indol, katalaz, nitrat ve üreaz testleri, spor ve pigment oluşturma özelliklerini incelendi ve Tablo 8 ve Tablo 9’dan faydalananlarak bakterilerin cins seviyesinde bazen de tür seviyesinde tanımlanmaları yapıldı. Buna göre Kanamisin, Vankomisin ve Kolostine dirençli, BSEA besiyerinde üreyen Gr (-) anaerop basiller *B.fragilis* grup olarak adlandırıldı (Tablo 8). Kanamisin ve Kolistine duyarlı, Vankomisine dirençli, indol pozitif, katalaz negatif, Gr (-) fusiform anaerop basiller *Fusobacterium* olarak adlandırıldı. Vakomisine duyarlı, BSEA’da üremeyen, indol pozitif, katalaz negatif, Gr (-) anaerop basiller *Porphyromonas* türleri olarak adlandırıldı. Vankomisine dirençli pigmentli veya pigmentsiz BSEA’da üremeyen Gr (-) anaerop basiller ise *Prevotella* türleri olarak adlandırıldı (Tablo 8).

## **İdentifikasiyonda kullandığımız testler:**

**1- Katalaz testi:** %15'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi kullanılır. Lam üzerine 1 damla %15'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatılarak bunun üzerine brucella besiyerinde tahta çubukla aldığımız bakteri kolonileri ezilir. Kabarcıkların görülmesi testin pozitif olduğunu gösterir.

**2- Spot İndol testi:** Paradimethyaminocinamaldeyde maddesi kullanılır. Bu madde kurutma kağısına damlatılarak Brucella besiyerinden tahta bir çubukla alınan anaerop şüpheli bakteri kolonileri bu kurutma kağısına sürülür. 30 sn içerisinde oluşan mavi renk indol spot testinin pozitif olduğunu gösterir. Kahverengi-siyah pigmentli koloniler spot indol testi ile yeşil renk verir.

**3- Nitrat testi:** Saf kültür halinde pasaj yapılan Brucella besiyeri üzerine nitrat diskleri yerleştirilerek anaerop ortamda 48 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda disk üzerine anaerop bakteriler için Nitrat ayıracı A ve B (DIFCO) damlatılır nitrat diskinin pembe renk olması testin pozitifliğini gösterir.

**4- Spor testi:** Özellikle Clostridiumlar için yapılır. Bu yon içinde bu bakteri kültüründen 2 + bulanıklık olacak şekilde bakteri süspansiyonu hazırlanır bu buyyon 1 hafta oda ısısında anaerop koşulda bekletilir. 1 damla Brucella agar besiyerine ekilerek anaerop ortama kaldırılır (Prespor test). 1 damla kültür ayrıca çukulata agara ekilerek CO<sub>2</sub>'li ortama konulur. Bir hafta beklemiş bu bakteri süspansiyonun kendi hacmi kadar % 95'lik Ethanol eklenerek oda ısısında yarımsaat bekletilir. Bu karışımından 1 damla alınarak anaerop besiyerinede pasaj yapılır (Postspor test). Sonunda üreme durumu değerlendirilir. Prespor test ve Postspor testlerde üremenin olması spor varlığını gösterir. Negatif sonuç ise; prespor test de üreme varken postspor kültürde üreme olmamasıdır.

## BULGULAR

Mikrobiyoloji Laboratuvarına anaerop infeksiyon tanısı ile gönderilen 160 klinik materyalden yapılan kültürden 49’unda (% 31) üreme olmadı. Üreme olan 111 kültürün 32’sinde (% 28) anaerop ve aerop bakteri birlikte, 31’inde sadece anaerop bakteri (% 28) ve 48’inde (% 43) sadece aerop bakteri üredi (Tablo 18).

**Tablo 18:** Anaerop infeksiyon tanısı ile gönderilen 160 örneğin kültür sonuçları

| Örnekler (n)                  | Aerop<br>üreme | Anaerop<br>üreme | Aerop +<br>Anaerop üreme | Bakteri<br>üremedi |
|-------------------------------|----------------|------------------|--------------------------|--------------------|
| - Apse materyali (47)         | 20             | 12               | 11                       | 4                  |
| - Eklem mayı (13)             | 2              | 1                | 6                        | 4                  |
| - Yara sürüntüsü (17)         | 8              | 3                | -                        | 6                  |
| - İnterabdominal mayı (20)    | 4              | 4                | 9                        | 3                  |
| - Derin doku aspiratı (6)     | -              | -                | 1                        | 5                  |
| - Doku parçası (2)            | -              | 1                | -                        | 1                  |
| - Kan kültürü (12)            | 4              | 4                | 1                        | 3                  |
| - Debrıtmən materyali (1)     | -              | -                | 1                        | -                  |
| - Endometrium materyali (10)  | 2              | 2                | 2                        | 4                  |
| - Kulak akıntı materyali (7)  | 2              | 1                | 1                        | 3                  |
| - Sinüs materyali (1)         | 1              | -                | -                        | -                  |
| - Gangrendokus (2)            | 2              | -                | -                        | -                  |
| - BOS (6)                     | -              | -                | -                        | 6                  |
| - Perikardiyal sıvı (1)       | -              | -                | -                        | 1                  |
| - Korneal sıvı (2)            | 1              | -                | -                        | 1                  |
| - Safra (1)                   | -              | -                | -                        | 1                  |
| - Kist sıvısı (2)             | -              | -                | -                        | 2                  |
| - Cilt altı materyali (2)     | -              | -                | -                        | 2                  |
| - Beyin apsesi (3)            | -              | 1                | -                        | 2                  |
| - Bül tabanı (1)              | -              | 1                | -                        | -                  |
| - Kemik iliği aspirasyonu (1) | 1              | -                | -                        | -                  |
| - Plevral mayı (2)            | 1              | -                | -                        | 1                  |
| - İnsizyon materyali (1)      | -              | 1                | -                        | -                  |
| <b>TOPLAM (160)</b>           | <b>48</b>      | <b>31</b>        | <b>32</b>                | <b>49</b>          |

Kültürü yapılan 47 apse materyalinin 23’ünde (% 49) izole edilen anaerop bakteri suşlarının 11’i Porphyromonas, 7’si Bacteroides fragilis grup üyesi, 6’sı Clostridium, 4’ü Fusobacterium (1’i F.nucleatum) ve 3 tanesi pigmentli Prevotella

türü, 2'si pigmentsiz *Prevotella* türü ve 1'i *Eubacterium* türü idi (Tablo 19). Sadece aerop üreme olan toplam 20 apse materyalinden izole edilen aerop bakterilerinin 16'sı *Enterobacteriaceae* üyesi (9 *E.coli*, 3. *Proteus*, 3 *Enterobakter*, 1 *Klebsiella* türü), 12'si *Staphylococcus* türü ( 8 *S.aureus*, 3 koagulaz negatif *Staphylococcus*) 3'ü *Pseudomonas aeruginosa*, ve birer adet viridan streptokok ile difteroid basil idi (Tablo 20). Ayrıca 4 kültürde ise herhangi bir bakteri üremesi gözlenmedi.

Anaerop infeksiyon tanısı ile gönderilen 13 eklem mayı örnekinden 7'sinde (% 54) anaerop bakteri izole edildi. Bu izolatların 3'ü *Bacteroides fragilis* grup üyesi, 2'ser adeti *Fusobacterium*, pigmentli *Prevotella* ve *Peptostreptokok* türleri, 1'i *Veillonella* türü idi (Tablo 19). Eklem mayı örneklerinde aerop bakteri olarak; 4 *S.aureus*, 3 *Enterobacteriaceae* üyesi, birer adet *P. aeruginosa* ve viridan streptokok önerken (Tablo 20) 4 örnekte bakteri üremesi olmadı (Tablo 20).

Intraabdominal bölgeden alınmış mayilerden yapılan 20 kültürden 13'ünde (% 65) anaerop bakteri üremesi oldu. Bu üreyen anaerop bakterilerin 6'sı *B.fragilis* grup üyesi, 3 adeti pigmentli *Prevotella* ile *Peptostreptokok*, 2'si *Clostridium* türleri ve 1'i *Eubacterium* türü olarak tanımlandı (Tablo 19). Izole edilen aerop bakterilerin 10'u *Enterobacteriaceae* (5 *E.coli*, 3 *Enterobacter* ve 2 *Proteus*) üyesi 2'ser adedi sırasıyla *P. aeruginosa*, *S.aureus* ve Viridan Streptokok idi. 3 örnekte ise bakteri üremesi olmadı.

Gönderilen 17 yara sürüntüsünden 3'ünde (% 18) anaerop bakteri izole edildi. Bunlardan 2'si *Porphyromanas*, 1'i *Peptostreptokok* idi (Tablo 19). Üreyen aerop bakterilerin 4'ü *S.aureus*, 3'ü koagülaz (-) *Staphylococcus*, 2 adeti

*P.aeruginosa*, birer adeti *E.coli* ve Kontaminant *Basillus Subtilis* idi (Tablo 3). Altı örnekte ise herhangi bir bakteri üremesi olmadı.

Cerrahi ile alınmış 2 ayrı doku parçasından 1'inde saf kültür *B.fragilis* üremesi olurken diğerinde bakteri üremesi gözlenmedi.

Altı derin doku aspiratından 1'inde aerop-anaerop karışık kültür halinde *Peptostreptokok* ve *Clostridium* türü olmak üzere 2 ayrı cins anaerop bakteri izole edildi (Tablo 19). İzole edilen 1 adet aerop bakteri *S.aureus* iken (Tablo 20) 5 örnekte ise herhangi bir aerop-anaerop bakteri izole edilemedi.

Kültürü yapılan 12 kan örneğinden 5'inde (% 42) anaerop bakteri izole edildi. Üreyen anaerop bakterilerin 3'ü *B.fragilis* grub iken 1'er adedi *Clostridium* ve pigmentli *Prevotella* idi (Tablo 19). Aerop üreme olan 4 kan kültüründe ise 1'er adet *E.coli*, Viridan Streptokok, Staphylokok ve difteroid basil izole edildi (Tablo 20). Üç örnekte ise herhangi bir aerop- anaerop bakteri üremesi olmadı. Yedi adet kulak akıntı materyalinin 2'sinde anaerop bakteri üremesi gözlendi. Bunlardan 1'i *Prevotella* ve diğer *Veillonella* türü idi (Tablo 19). Onbir kulak akıntı materyalinden *P.aeruginosa*, koagülaz (-) *Staphylococcus* ve difteroid basil saflaştırıldı (Tablo 20). Üç örnekte ise bakteri üretilemedi.

Laboratuvar'a gelen 3 beyin apsesi materyalinden birinde anaerop bakteri olarak *Porphyromonas* üretildi. Beyin apselerinde aerop üreme olmadı (Tablo 19). İki beyin apsesi örneğinde ise herhangi bir bakteri üremesi olmadı (Tablo 18). Bir depritman materyalinde anaerop bakteri olarak *B.fragilis* ve *Porphyromonas* birlikte üredi (Tablo 19). Aerop bakteri olarak ise *E.coli* ve *P.aeruginosa* izole edildi (Tablo 20).

Bir insizyon materyalinde anaerop bakteri izole edilmesine rağmen bakterinin tanımlaması yapılamadı. Laboratuvara gönderilen 6 BOS, 2 cilt altı materyali, sinüs materyali, gangren dokusu, korneal sıvı, kemik iliği aspirasyonu ve plevral mayı örneklerinde anaerop üreme olmadığı (Tablo 18).



**Tablo 19:** Klinik örneklerden izole edilen anaerop bakteriler:

| Örnekler              | B.fragilis | Fusobac  | Porphy    | Prevotella |          | Veillo-  | Peptostrep | Clost-    | Eubac-   |
|-----------------------|------------|----------|-----------|------------|----------|----------|------------|-----------|----------|
|                       | grup       | terium   | romonas   | P'li.      | P.'siz   | nella    | tococcus   | ridium    | terium   |
| ose materyali         | 7          | 4        | 11        | 3          | 2        | -        | -          | 6         | 1        |
| lem mayı              | 3          | 2        | -         | 2          | -        | 1        | 2          | -         | -        |
| ra sürüntüsü          | -          | -        | 2         | -          | -        | -        | 1          | -         | -        |
| ra Abdominal mayı     | 6          | 1        | -         | 3          | 1        | -        | 3          | 2         | 1        |
| erin doku aspirati    | -          | -        | -         | -          | -        | -        | 1          | 1         | -        |
| oku parçası           | 1          | -        | -         | -          | -        | -        | -          | -         | -        |
| ebritman materyali    | 1          | -        | 1         | -          | -        | -        | -          | -         | -        |
| ulak akıntı materyali | -          | -        | -         | 1          | -        | 1        | -          | -         | -        |
| idometrium materyali  | 1          | 1        | 1         | -          | -        | -        | -          | -         | -        |
| an                    | 3          | -        | -         | 1          | -        | -        | -          | 1         | -        |
| eyin apsesi           | -          | -        | 1         | -          | -        | -        | -          | -         | -        |
| il tabani             | -          | -        | -         | -          | -        | -        | 1          | -         | -        |
| <b>OPLAM (81)</b>     | <b>22</b>  | <b>8</b> | <b>16</b> | <b>10</b>  | <b>3</b> | <b>2</b> | <b>8</b>   | <b>10</b> | <b>2</b> |
|                       | (%27)      | (%10)    | (%20)     | (%12)      | (%4)     | (%2,5)   | (%20)      | (%12)     | (%2,5)   |

P'li : Pigmentli

P'siz : Pigmentsiz

**Tablo 20:** Klinik örneklerden izole edilen aerop bakteriler

| Örnekler            | Enterbacteria<br>ceae türleri | Pseudomonas<br>aeruginosa | Staphylococcus<br>türleri | Streptococcus<br>türleri | Bacillus<br>subtilis | Difteriod<br>basil |
|---------------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------|--------------------|
| Apse materyali      | 16                            | 3                         | 12                        | 1                        | -                    | 1                  |
| Eklem mayı          | 3                             | 1                         | 4                         | 1                        | -                    | -                  |
| İnterAbdominal mayı | 10                            | 2                         | 2                         | 2                        | -                    | -                  |
| Yara sürüntüsü      | 1                             | 2                         | 7                         | -                        | 1                    | -                  |
| Derin doku aspirati | -                             | -                         | 1                         | -                        | -                    | -                  |
| Debritman mat.      | 1                             | 1                         | -                         | -                        | -                    | -                  |
| Kulak akıntı mat.   | -                             | 1                         | 1                         | -                        | -                    | 1                  |
| Endometrium mat.    | 1                             | -                         | 2                         | -                        | -                    | -                  |
| Kan kültürü         | 1                             | -                         | 1                         | 1                        | -                    | 2                  |
| Gangrendokusu       | -                             | -                         | 1                         | -                        | 1                    | -                  |
| Bül tabanı          | -                             | -                         | -                         | 1                        | -                    | -                  |
| Kemikiliği aspiras. | 1                             | -                         | -                         | -                        | -                    | -                  |
| Plevral mayı        | -                             | 1                         | -                         | -                        | -                    | -                  |
| <b>TOPLAM</b>       | <b>34</b>                     | <b>11</b>                 | <b>31</b>                 | <b>6</b>                 | <b>2</b>             | <b>5</b>           |

## TARTIŞMA

Anaerop bakteriler toksin ve enzimleri, kapsüler polisakkaritleri ve hücre duvarındaki lipopolisakkaritleri gibi birçok virulans faktörleri ile günümüzde, klinik olarak oldukça önemli kabul edilen patojenler haline gelmişlerdir (1,2,7,8).

Bu çalışmada anaerop infeksiyon şüpheli 160 klinik materyalin %57'sinden anaerop bakteri üretildi. Anaerop bakteri üretilen toplam 63 kültürden 32'si (% 51) aerop/anaerop polimikroiyal üreme gösterirken 31'inde (% 49) yalnız anaerop bakteri üredi. Bu bulgunun da gösterdiği şekilde anaerop bakterileri aerop bakterilerle birlikte karışık infeksiyonlarda sinerjik rol oynadıkları gibi tek başına da enfeksiyonlarda önemli rol olabilmektedirler.

Kültür yapılan 49 örnekte (% 31) bakteri üremedi. Bunun sebepleri olarak; materyalin laboratuvara geç ulaştırılması, renklenmiş yani O<sub>2</sub>'lenmiş anaerop transport tüplerine materyalin alınması gibi anaerop bakteriyi O<sub>2</sub>'ne maruz bırakan sebepler olabileceği gibi, materyalin özellikle infeksiyon odağından alınamaması, kültür alınmadan önce hastaya antibakteriyel ilaç verilmesi gibi etkenleride sayabiliriz. Bizce bu sebeplerden en etkili olanı anaerop transport ortamının usulüne uygun kullanılmamasıdır. Bu konunun önemi birkaç araştırmada da vurgulanmıştır (12, 13).

Bulgularımız gösteriyor ki; anaerop infeksiyonlardan sorumlu olarak izole edilen toplam 80 anaerop bakterinin %73'ü Gram (-) anaerop basillerdi. B.fragilis grup anaerop Gram (-) basiller, anaerop etkenler içerisinde 22 izolat ile birinci sırayı almaktı idi.

Literatürde de Gram (-) anaerop basillerin klinik infeksiyonlarında en sık karşılaşılan anaeroplardır olduğu ve anaerop bakteri üretilen örneklerin yarısından daha fazlasından sorumlu oldukları bildirilmektedir (2, 9).

Ayrıca safraya dirençli *B. fragilis* grup anaeroplarda bu tip infeksiyonlardan en sık izole edilen bakteriler olduğu ve bu gruptaki bakterilerin antibiyotiklere diğer pek çok anaerop bakteriden daha dirençli olduğu belirtilmektedir. (9,5,12,14,16)

*B. fragilis* grup bakteriler normal kolon florasında bulunur ve buradan endojen kaynaklanarak intraabdominal infeksiyonlardan sıkılıkla izole edilirler (2, 4). Bizim çalışmamızda da *B. fragilis* grup bakteriler intraabdominal bölge mayilerinden ve apselerden daha fazla izole edildi. Apselerin hangi anatomik bölgelerden olduğu kliniklerden bildirilmediğinden intraabdominal kaynaklı olup olmadığı yorumlanamadı. Ancak *B. fragilis* grubu bakterilerin polisakkartit kapsülünün apse oluşumunu indüklediği bilinmektedir (3).

Bu çalışmada intraabdominal bölgeden alınmış mayilerden %65, eklem mayilerinden %54, apselerden %49 ve kan kültürlerinden %42 oranlarında anaerop bakteri üretilirken, yara sürüntülerinde bu oranın %11'e düşmesi kapalı boşluklardan, aspire edilerek veya edilmeden (kan örneklerinde olduğu gibi), alınan materyallerde anaerop bakteri izolasyon şansının arttığını bir kez daha vurgulamaktadır.

En yüksek oranda anaerop bakteri ürettiğimiz intraabdominal infeksiyonlar, polimikrobiyal özellik göstermekte idi. Bu sonuç da birçok araştırma sonuçları ile uyum içindedir (3, 17). Toplam 20 intraabdominal mayı kültüründen 13'ünde (%65)

aerop-anaerop üreme görüldü. Bu tip infeksiyonların bakteriyolojisini *B.fragilis* ve Enterobacteriaceae grup üyeleri oluşturmaktadır (Tablo 19 ve 20).

Birçok farklı çalışmanın derlendiği bir araştırmada intraabdominal infeksiyonların %65-%94’ünde en az bir anaerop bakteri üretildiği ve en sık izole edilen anaerop bakterinin de *B.fragilis* olduğu bildirilmiştir (21).

Yüzde 54 ile ikinci sıklıkta anaerop bakteri izole edilen eklem mayilerinin bakteriyolojisini, Gram (-) anaerop basiller, *Staphylococcus* ve Enterobacteriaceae üyeleri oluşturmaktadır. Anaerop üreme olan 7 kültürden 6’sı aerop-anaerop karışık bakteri, diğeri ise saf anaerop bakteri içeriyordu. Eklem infeksiyonlarında anaerop bakteri izolasyon oranının %42 ile %63 arasında olduğu bildirilmektedir (12, 18).

Apselerin anaerop bakteri izolasyon oranı %49 olarak bulundu. Yapılan diğer çalışmalarla apsenin bulunduğu vücut bölgelerine göre değişen oranlarda olmakla beraber, anaerop bakteri izolasyon oranları bizim bulduğumuzdan daha yüksek olarak bildirilmektedir. Bu oranlar beyin apselerinde %89, peritonsiller apselerde %82-94, pilonidal apselerde %88, perirektal apselerde %77, yumuşak doku apselerinde %60 ve kutanoz apselerde %62 olarak rapor edilmektedir (2, 19).

Bizim araştırma sonuçlarımıza göre çeşitli apselerden sorumlu anaerop bakteriler olarak, *B.fragilis* ve *Porhyromonas* cinsi anaerop bakterilerle birlikte, Enterik bakteriler ve *Staphylococcus* türleri bulunmuştur.

On iki kan kültürünün 5’inde anaerop bakteri üretildi. Bunların 1’i karışık bakteri kültürü şeklinde idi. Kontaminasyon olarak değerlendirildi. Anaerop kan kültürleri ile ilgili bir başka araştırmada 20 kan kültüründen 48 anaerop bakteri izole edildiği bildirilmekte ve bizim ki, ile benzer olarak en sık izole edilen anaerop

bakteri *B.fragilis* olduğu, diğer bakterilerin ise *Clostridium* ve *Porphyromonas* türleri olduğu rapor edilmektedir (20).

Çalışmamızda anaerop şüpheli infeksiyonlardan en sık izole edilen bakteriler olarak *B.fragilis*'den (%27) sonra, *Porphyromonas* (%20), Pigmentli *Prevotella* (%12), *Fuzobacterium* (%10), *Clostridium* (%12) ve *Peptostreptokok* (%10) türleri olmuştur. Diğer araştırmalarda da klinik muayene maddelerinden benzer bakteri cinsleri izole edilmektedir (14, 15, 20).

*Porphyromonas* ve *Prevotella* cinsleri daha önceki yıllarda *Bacteroides* cinsi içinde sınıflandırılmakta idi. Son yıllarda anaerop bakterilerin sınıflandırılmalarında daha kapsamlı araştırmaların yapılabilmesi, bu anaerop Gram (-) basillerin ayrı birer cins olarak tanımlanmasına sebep olmuştur.

Sonuç olarak, anaerop infeksiyondan şüphelenilen hastalardan patojen etkenlerin izolasyonu için, anaerop transport sistemleri kullanılması ve oksijene maruz bırakılmadan klinik materyallerin alınması klinisyenler uyarılıp, laboratuvara en kısa sürede ulaştırılırsa, zor üretilen anaerop bakterilerin izolasyon şansı artar. Böylece Türkiye genelinde saflaştırılan anaerop bakteriler belli bir referans laboratuvarında toplanarak antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması sağlanabilir. Bunun sonucu anaerop bakterilerin direnç durumları antianaerobik tedavi protokolları geliştirilerek anaerop infeksiyonlarda daha etkin ampirik tedavi sağlanabilir.

## **SONUÇLAR**

- 1- Anaerop infeksiyon şüphesi ile gönderilen 160 klinik materyalin % 57'sinden anaerop bakteri üretildi.
- 2- Anaerop bakteri üretilen toplam 63 kültürden 32'sinde (% 51) aerop/anaerop bakteri birlikte üreyerek polimikroiyal özellik gösterirken 31'inde (% 49) yalnız anaerop bakteri üredi.
- 3- En fazla anaerop bakteri üretilen materyal %65 ile intraabdominal bölgeden olurken bunu %54 ile eklem mayileri, %49 ile apse materyalleri, %42 ile kan kültürleri takip etti.
- 4- Üreyen anaerop bakterilerden ilk sırayı *B.fragilis* grubu üyeleri (%27) alırken bunu *Porphyromonas* (%20), *Clostridium* (%12), pigmentli *Prevotella* (%12), *Fusobacterium* (% 10) ve *Peptostreptokok* (%10) türleri izlemiştir.
- 5- Anaerop infeksiyonlarının polimikroiyal olma özelliğinden dolayı, saflaştırılan aerop bakterilerden ilk sırayı *Enterobacteriaceae* türleri alırken bunu *S.aureus* ve *P.aeruginosa* izlemiştir.
- 6- Anaerop bakteriyolojide son identifikasiyon yöntemleri kullanılarak pigmentli ve pigmentsiz *Prevotella* ve *Porphyromonas* gibi Gr (-) anaerop basillerin yeni sınıflandırılmaya göre identifikasiyonları sağlandı.

## **ÖZET**

Bu çalışmada anaerop enfeksiyon şüpheli hastalarda bakteriyolojik tanı için Aralık 1994- Kasım 1997 tarihleri arasında Laboratuvarımıza gönderilen 160 örnekten aerop ve anaerop kültür yapılmış ve izole edilen bakteriler tanımlanmıştır.

Kültürlerden 49'unda (% 31) üreme saptanmazken, üreme olan 111 kültürün 32'sinde (% 29) anaerop ve aerop bakteri birlikte, 31'inde (% 28) yalnız anaerop bakteri ve 48'inde (% 43) yalnız aerop bakteri üretilmiştir. Bu örneklerde toplam olarak tanımlanan anaerop suş sayısı 81'dir.

En fazla anaerop bakteri üretilen materyal %65 ile intraabdominal mayiler olmuştur. Bunu %54 ile eklem mayileri, %49 ile apse materyalleri, %42 ile kan kültürleri takip etmiştir.

B.*fragilis* grup üyeleri %27 ile en sık izole edilen anaerop bakteri olmuştur. Klinik materyallerden diğer izole edilen anaerop bakteriler %20 *Porphyromonas*, %12 pigmentli *Prevotella*, %12 *Clostridium*, %10 *Fusobacterium* türleri, %10 *Peptostreptococcus*, %4 pigmentsız *Prevotella*, % 2,5 ile *Veillonella* ve *Fusobacterium* türleri olarak saptanmıştır.

## KAYNAKLAR

- 1- Ballows A, Hausler W.J, Herman K.L, Isenberg H, Shadomy N.J. General processing of specimens for Anaerobic Bacteria. In Balows A (ed). Manual of Clinical Microbiology. 1991, S.488-504
- 2- Summanen P, Baron E.J, Citron D.M, Strong C.A, Wexler H.M, Finegold S.M. Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual. 1993, 5<sup>th</sup> Ed. Belmont, California.
- 3- Gürler Nezahat: Anaerop bakterileri sınıflandırılması ve nomenklatür değişiklikleri. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. 1996, S:97-103. Antalya
- 4- Finegold S.M, George W.L, Mulligan M.E. Anaerobic Infections. Disease A.Month Classic. 1986, S. 7-23. Chicago, London
- 5- Finegold S.M, BAron E.J, Wexler H.M. Anaerobic Infections. A Clinical Guide to. 1992, S. 7-17. Los Angeles, California
- 6- Hentges D.J. The Anaerobic microflora the Human Body. In Finegold S.M (ed). Clinical Infectious Diseases. 1993, S.175-180. Chicago
- 7- Murray P.R, Baron E.J, Pfaller M.A, Tenover F.C, Yolken R.H. Anaerop bacteriology. 1995, 6<sup>th</sup> Ed. Manual of Clinical Microbiology s.20. Washington DC
- 8- Willis A.T. Anaerobic Bacteriology. Clinical and Laboratory Practice. 3th Ed. Butter Worths. S: 15-18. Boston-London
- 9- Hannele R, Jousimines Somer, Finegold S.M: Bacteroides, Porphyromanas, Prevotella, Fusobacterium and other Anaerobic Gram-negative Bacteria. In

- Murray P.R, Baron E.J, Pfaller M.A, Tenover F.C, Yolken R.H (ed). Manual of Clinical Microbiology. 1995, 6<sup>th</sup> Ed. S: 603-620. Washington D.C
- 10- Sharon L.H, Vernard J.M.: Peptostreptococcus, Propionibacterium, Eubacterium and other Gram-positive Bacteria. In Murray P.R, Baron E.J, Pfaller M.A, Tenover F.C, Yolken R.H (ed). Manual of Clinical Microbiology. 1995, 6<sup>th</sup> Ed. S: 587. Washington D.C
- 11- Andrew B.O. and Stephen D.A: Clostridium, In Murray P.R, Baron E.J, Pfaller M.A, Tenover F.C, Yolken R.H (ed). Manual of Clinical Microbiology. 1995, 6<sup>th</sup> Ed. S: 574. Washington D.C
- 12- Durmaz B. Anaerop infeksiyon ön tanılı hastaların klinik örneklerden izole edilen anaerobik bakteriler. Mikrobiyoloji Bülteni. 1996, S:13-20. Ankara
- 13- Hill G.B: Effects of storage in an aerobic transport system on bacteria in known polymicrobial mixtures and in clinical specimens. Journal of Clinical Microbiology 1978, S: 680-688
- 14- Brook H, Frazier E.H. The Anaerobic Bacteriology of Perirectal Abscesses. Journal of Clinical Microbiology. 1997, S.2974-76. ABD
- 15- Looney W.J, Gallusser a.J, Modde H.K: Evaluation of the ATB32A system for identification of anaerobic bacteria isolated from clinical specimens. Journal of Clinical Microbiology. 1990, S:1519-24
- 16- Töreci Kurtuluş: Anaerop Bakteriyolojisiniin Tarihiçesi ve önemi XXVII: Türk mikrobiyoloji Kongresi.1996, Antalya s: 93-95
- 17- Sayek İskender: Anaerobik infeksiyonlar ve Tedavisi XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Antalya. S: 114-114

18- Finegold S.M: Anaerobic Bacteria in Human Diseases. 1977, Academic Press, New York.

19- Somer H.J, Savolainen S, Makitie A: Bacteriological findings in peritonisller abscesses in young adults. Clin. Infect. Dis. 1993, 16 (Suppl 4): 292-298

20- Peraino V.A, Cross S.A, Goldstein E.JC.: Incidence and Clinical Significance of Anaerobic Bacteremia in a Community Hospital. Clinical infectious Diseases. 1993, S:288-291

21- Nichols R.I, Smith Y.W: Wound and intraabdominal infections. Microbiological considerations and approaches to treatment. Clin. Infect. Dis. 1993, (Suppl 4): 266-272