

Klinik örneklerden izole edilen anaerobik bakteriler: Yedi yıllık değerlendirme

Anaerobic bacteria isolated from clinical specimens: Seven-year review

Elif Bilge Uysal*, Cem Çelik, Çağlar Alan, Havva Kaya, Mustafa Gökhan Gözel, Mustafa Zahir Bakıcı

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (Yrd. Doç. Dr. E. B. Uysal, Yrd. Doç. Dr. C. Çelik, Arş. Gör. Ç. Alan, Arş. Gör. H. Kaya, Prof. Dr. M. Z. Bakıcı), Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı (Yrd. Doç. M. G. Gözel), Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, TR-58140 Sivas

Özet

Amaç. Anaerob bakteriler önemli patolojilere neden olabilen bakteriler olmasına rağmen kültür ve izolasyonda yaşanan zorluklar nedeniyle sıklıkla gözden kaçmaktadırlar. Bu çalışmada 2006-2013 yılları arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na, anaerob enfeksiyon ön tanısı ile gönderilen örneklerden izole edilen anaerob bakterilerin, dağılımlarının incelenmesi amaçlanmıştır. **Yöntem.** Çalışmaya çeşitli kliniklerden anaerob bakterilerin üretimine uygun şekilde alınarak gönderilen 543 örnek dahil edilmiş, örnekler laboratuvar kayıtlarından geriye dönük olarak incelenmiştir. **Bulgular.** Çalışılan örneklerin 409'unda (%75,3) üreme görülmezken, 134 örnekte (%24,6) çeşitli anaerob bakteriler üretilmiştir. Çalışmamızda izole ettiğimiz anaerob bakteriler arasında da en fazla üreyen bakterinin *Bacteroides* spp. (%29,9) olduğu görülürken, ikinci sırada *Peptostreptococcus* spp. (%23,1), üçüncü sırada *Propionibacterium* spp. (%20,2) izole edilmiştir. **Sonuç.** Anaerob bakterilerin üretilmesi güç, zaman alıcı ve daha pahalı olmasına rağmen klinik örneklerden uygun şekilde alınıp gönderildiğinde önemli miktarda anaerob bakteri enfeksiyon etkeni olarak izole edilebilmektedir. Anaerob bakterilerin klinik örneklerden tanımlanması ile anaerob etkenli enfeksiyonların daha isabetli bir şekilde tedavi edilebilmesine olanak sağlanacağı kanaatindeyiz. Çalışmamız sonucunda ortaya koyduğumuz yerel verilerin anaerob bakterilere bağlı enfeksiyonların takip ve tedavisinde yarar sağlayarak bu konudaki literatüre katkı sunacağını düşünüyoruz.

Anahtar sözcükler: Anaerob bakteriler, anaerob enfeksiyon, *bacteroides* spp

Abstract

Aim. Although anaerobic bacteria are a group of bacteria that can cause significant pathological changes, they are frequently overlooked due to the difficulties in culturing and isolation. This study aims to investigate the distributions of anaerobic bacteria isolated from the specimens sent to the Microbiology Laboratory of the Cumhuriyet University School of Medicine between the years 2006-2013 based on a preliminary diagnosis of anaerobic infection. **Methods.** This study includes 543 samples properly collected from various clinics, these samples were retrospectively examined using laboratory records. **Results.** While there was no growth in 409 (75.3%) of the study samples, various anaerobic bacteria were grown on 134 (24.6%) samples. Our study found the highest growth rate (29.9%) to be in *Bacteroides* spp. among the anaerobic bacteria isolated in our study, followed by *Peptostreptococcus* spp. (23.1%), and *Propionibacterium* spp. (20.2%). **Conclusions.** As a result, although growing anaerobic bacteria is difficult, time-consuming and more expensive, it is possible to isolate a significant amount of anaerobic bacteria as infectious agents when clinical samples were properly collected and sent. We consider that describing anaerobic bacteria will allow for a more accurate treatment of such infections. We think that the local data obtained with this study will offer benefits in following and treating infections caused by anaerobic bacteria and contribute to the current literature.

Keywords: Anaerobic bacteria, anaerobic infection, *bacteroides* spp

Geliş tarihi/Received: 06 Haziran 2014; **Kabul tarihi/Accepted:** 18 Ağustos 2014

*İletişim adresi:

Dr. Elif Bilge Uysal, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, TR-58140 Sivas. E-posta: elifbilgeuysal@gmail.com

Giriş

Anaerob bakteriler üreyebilmek için ortamdaki serbest oksijenin uzaklaştırılmasına gereksinim duyan, normal atmosferde veya %5-10 karbondioksitli ortamda katı besiyerlerinde üreyemeyen bakterilerdir [1]. İnsan vücudunda anaerob bakteriler ağız boşluğu, gastrointestinal sistem, kadın genital organları ve cilt florasında bulunmaktadır. Anaerob infeksiyonların oluşmasında en önemli faktör, normal florada bulunan bu bakterilerin anatomik bütünlüğün bozulması sonucunda, buldukları bölgeden başka bölgelere özellikle de steril vücut bölgelerine geçmeleridir [2].

Anaerob bakteriler daha çok endojen yol ile bakteremi, beyin apsesi, karaciğer apsesi, peritonit, intraabdominal apse, yara infeksiyonları, jinekolojik infeksiyonlar, apendisit, pseudomembranoz kolit, osteomyelit septik artrit oluştururken, eksojen yol ile de gram pozitif sporlu basillerle infeksiyonlar meydana getirir [3, 4].

Anaerob bakteriler vücudun herhangi bir bölgesinde çok çeşitli infeksiyonlara neden olmakla beraber, bu infeksiyonlardan izole edilen türler sınırlı sayıdadır. Yapılan çalışmalar insandan alınan örneklerde üretilen anaerob bakterilerin çoğunluğunu *Bacteroides* başta olmak üzere *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* ve *Prevotella* türleri olduğunu göstermektedir [4].

Bu çalışmada 2006-2013 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, anaerob infeksiyon ön tanısı ile gönderilen örneklerden izole edilen anaerob bakterilerin dağılımlarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem

Çalışmaya, Ocak 2006-Ocak 2013 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na çeşitli kliniklerden anaerob kültür amacıyla, uygun şekilde alınarak gönderilen 543 örnek dahil edildi. Sürüntü şeklinde alınan numuneler reddedildi. Uygun taşıma besiyerine alınan veya enjektöre çekilerek havası alınmış şekilde laboratuvara gönderilen örnekler ise kabul edildi. Örnekler laboratuvar kayıtlarından geriye dönük olarak incelendi. Hastaların aynı örneğine ait birden fazla kültür istemi olanlardan sadece biri çalışmaya dâhil edildi.

Anaerob kültür için, örnekler laboratuvara gelir gelmez, Schaedler agara, %5 koyun kanı ve K1 vitamini (1 µg/mL) eklenerek hazırlanan anaerob kanlı agara, aerob bakterilerin üretimi için de %5'lik koyun kanlı agar (Salubris) ve EMB (eosin methylene blue) agar besiyerlerine ekildi. Ekim yapılan anaerob besiyerleri, anaerob kavanoza yerleştirilerek kuru sistem gaz paketi (AnaeroGen-Oxoid, Basingstoke, UK) ile oksijensiz ortam sağlandı. Anaerob ortamın kontrolü için indikatör olarak anaerob indikatör (Oxoid, Basingstoke, UK) kullanıldı. Anaerob bakterileri üretebilmek için, besiyerleri anaerob ortamda 35-37 °C'de 48 saat inkübe edildi.

İnkübasyon sonunda anaerob besiyerlerinde üreyen her koloniden anaerob agar ve çukulata agara pasaj yapılarak bakterinin aerob ya da aerotoleran olup olmadığı kontrol edildi. Anaerob ortamda üreyip %5-10 CO₂'li ortamda çukulata agarda üremeyen bakteriler anaerob bakteri olarak değerlendirildi. Anaerob olarak üreyen farklı kolonilerden Gram boyama yapıldı ve preparatlar bakterinin boyanma özelliği ve spor oluşumu yönünden incelendi. İdentifikasyon için yarı otomatize bir sistem olan "BBL Crystal System" (BectonDickinson, USA) kullanıldı.

Bulgular

Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 543 örneğin dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Çalışılan örneklerin 409'unda (%75,3) üreme görülmezken, 134 örnekte (%24,6) çeşitli anaerob bakteriler üretilmiştir.

Tablo 1. Anaerob infeksiyon ön tanısı ile gönderilen örneklerin dağılımı.

Örnek	Sayı (%)	Tek başına üreyen anaerob bakteri sayısı	Aerop bakterilerle birlikte üreyen anaerob bakteri sayısı	Üreyen toplam anaerob bakteri sayısı (%)
Vücut sıvıları	109 (20,1)	3	4	7 (1,3)
Plevra sıvısı	23	1	-	1
Perikard sıvısı	9	-	-	-
Periton sıvısı	36	2	4	6
Vitreus sıvısı	31	-	-	-
BOS	5	-	-	-
Eklem Sıvısı	5	-	-	-
Apse	168 (30,9)	23	37	60 (11,1)
Yara*	120 (22,1)	12	18	30 (5,5)
Kan	5 (0,9)	1	-	1 (0,2)
Kemik ve yumuşak doku	61 (11,2)	9	6	15 (2,8)
İntrakranial apse	32 (5,8)	4	5	9 (1,6)
Kist sıvısı	41 (7,5)	6	3	9 (1,6)
Kateter	7 (1,3)	2	1	3 (0,5)
Toplam	543	60 (11,1)	74 (13,5)	134 (24,6)

*Diabetik ayak, dekübit yarası vb.

Üreyen anaerob bakterilerden 60'ı tek başına ürerken, 74'ü beraberinde başka aerop bakterilerle üremiştir. Anaerob bakterilerle birlikte üreyen toplam 74 aerop bakterinin 34 tanesini gram pozitif bakteriler oluştururken, 40'ını gram negatif bakteriler oluşturmuştur. Tanımlanan anaerob bakterilerin türlerine ve örnek tiplerine göre dağılımı Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Tanımlanan bakterilerin türlerine ve vücut örneklerine göre dağılımı.

Örnek	Peptostreptococcus spp	Propionibacterium spp	Porphyromonas spp	Fusobacterium spp	Bacteroides spp.	Prevotella spp	Clostridium spp	Actinomyces spp	Eubacterium spp.	Toplam (%)
Vücut sıvıları										7 (5,2)
Plevra sıvısı					1					1
Perikard sıvısı										
Periton sıvısı					6					6
Vitreus sıvısı										
BOS										
Eklem sıvısı										
Apse	12	3	3	11	23	7			1	60 (44,8)
Yara*	11	4	1	1	9	3	1			30 (22,4)
Kan					1					1 (0,7)
Kemik ve yumuşak doku	3	9		2				1		15 (11,2)
İntrakranial apse	2	4		1		2				9 (6,7)
Kist sıvısı	3	4					1	1		9 (6,7)
Kateter		3								3 (2,3)
Toplam (%)	31 (23,1)	27 (20,2)	4 (2,9)	15 (11,2)	40 (29,9)	12 (8,9)	2 (1,5)	2 (1,5)	1 (0,8)	134

*Diabetik ayak, dekübit yarası vb.

Tartışma

Anaeroblar, aerop bakterilerle beraber deri ve mukozaların normal bakteriyel florasını oluştururlar. Bu bakterilerin doku hasarı sonucu steril vücut boşluklarına geçmesiyle anaerobik infeksiyon, aerop bakterilerin de infeksiyona dahil olması ile de polimikrobiyal infeksiyon meydana gelir. Ancak infeksiyona sebep olan bakteriler anaeroblar ise hem zor izole edilir, hem de sıklıkla gözden kaçırılır [5].

Hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarına çalışmamız tarihleri arasında anaerob infeksiyon ön tanısı ile gönderilen örneklerin çoğunluğundan hem aerop hem de anaerob etkenlerin beraber izole edildiği görülmüştür (Tablo 1). Üreme saptanan 134 örneğin 74'ünde hem aerop hem de anaerob bakteriler ürerken, 60 örnekten sadece anaerob

bakteriler izole edilmiştir. Polimikrobiyal bakteri üreyen örnekler bakıldığında 40 örnekte gram negatif bakteriler, 34 örnekte de gram pozitif bakterilerin ürettiği görülmüştür. Çeşitli çalışmalarda da çoğunlukla gram negatif bakterilerin, anaerob bakterilere eşlik ettiği görülmüştür [6, 7].

Anaerob bakterilerin izole edildiği vücut örnekleri incelendiğinde; Durmaz ve ark. [8] 65 anaerob bakteri ürettiği çalışmada en fazla üremeyi apse örneklerinden elde ettiklerini bildirmişlerdir. Yine Ercis ve ark. [9] 217 anaerob üremenin 102'sini, Şengöz ve ark. [10] 127 anaerob üremenin 61'ni, Kiremitçi ve ark. [11] 33 anaerob üremeden 15'ini apse örneklerinden izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bizim de çalışmamızda en fazla anaerob bakteri üretilen örnek grubu apse (%44,8) örnekleridir.

Anaerob kültürlerden izole edilen bakteriler incelendiğinde en fazla *Bacteroides* türlerinin izole edildiği bildirilmektedir [8-11]. Çalışmamızda anaerob bakteriler arasında en fazla *Bacteroides* spp. (%29,9)'nin izole edildiği görülürken, ikinci sırada %23,1 oranında *Peptostreptococcus* spp. üçüncü sırada %20,2 oranında *Propionibacterium* spp. izole edilmiştir.

İntrakranial apse örneklerinden izole ettiğimiz anaerob bakteriler daha çok üst solunum yolları ve oral florada üreyen bakteriler olan *Propionibacterium* spp. (n=4), *Peptostreptococcus* spp. (n=2), *Prevotella* spp. (n=2), *Fusobacterium* spp. (n=1)'dir. Moal ve ark. [12] ve Brook [13] kranial apseli çocuklardan aldığı örneklerde en fazla üreyen bakterilerin üst solunum yolları ve oral florada yer alan *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., *Actinomyces* spp. ve *Bacteroides* türleri gibi anaeroblar olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle oral florada yer alan anaerob bakterilerin çeşitliliğinden dolayı bu bölgeden üretilen bakteriler de çok farklı olabilmektedir.

Vücudun çeşitli bölgelerinden alınan yara örneklerinden en fazla tanımladığımız anaerob bakteri *Peptostreptococcus* spp. (n=11), *Bacteroides* spp. (n=9) ve *Propionibacterium* spp. (n=4)'dir. Değişik çalışmalarda yara örneklerinin alındığı yere bağlı olarak farklı bakterilerin ürettiği görülmüştür. Bozkurt ve ark. [14] çalışmalarında laboratuvara gönderilen 10 yara örneğinin beşinde üreme saptamışlar ve üreyen anaerob bakterilerin *Actinomyces israelii*, *Eubacterium rectale* ve *Propionibacterium acnes* olduğunu bildirmişlerdir. Durmaz ve ark. [8] çalışmalarında 11 yara sürüntüsünün hiçbirinde anaerob bakteriye rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Bahar ve ark. [15] 526 yara örneğini inceledikleri çalışmalarında, örneklerin %41'inde anaerob bakteri saptamışlar ve en fazla üreyen anaerob bakterilerin *Clostridium* spp., *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp. ve *Bacteroides* spp. olduğunu ve bunların çoğunlukla cerrahi yara, dekübit yarası, diabetik ayak yarası örneklerinden izole edildiğini belirtmişlerdir. Bowler [16]'in 2001'de çeşitli araştırmacıların çalışmalarını ele aldığı yazısında ise, yaralardan en sık üretilen anaerobik bakterilerin *Bacteroides* spp. ve *Peptostreptococcus* spp. olduğu görülmüştür.

Peritoneal sıvı örneklerinden izole edilen anaerob bakteriler değerlendirildiğinde Brook ve ark. [17] 2000 yılında yaptıkları çalışmada 79 peritonitli hastadan elde edilen 110 örneğin 17'sinde *Bacteroides* spp. başta olmak üzere *Peptostreptococcus* sp.p, *Clostridium* spp., *Fusobacterium* spp. ve *Prevotella* spp. ürettiğini bildirmiştir. Mosdell ve ark. [18]'nin apendisit sonrası peritonit gelişen hastalarda yaptıkları çalışmalarında da en fazla *Bacteroides fragilis*'in ürettiği görülmüştür. Çalışmamızda yukarıdaki çalışmalara benzer olarak peritoneal sıvı olarak laboratuvara gönderilen 36 örneğin altısında *Bacteroides* spp. ürettiği görülmüştür.

Plevra sıvıları incelendiğinde, Bartlett ve ark. [19] 193 plevra örneğini inceledikleri araştırmalarında, çoğunlukla *Peptostreptococcus* spp., *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. ve *Fusobacterium* spp. ürettiklerini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 23 plevral örnek laboratuvara gönderilmiş, bunlardan birinde *Bacteroides* spp. üretilmiştir. Üretilen bakteri sayısı az olmasına rağmen hem plevral hem peritoneal örneklerde üretilen bakteriler diğer çalışmalarda üretilenlerle uyumludur.

Sonuç olarak; anaerob bakterilerin üretilmesi güç, zaman alıcı ve daha pahalı olmasına rağmen klinik örneklerden uygun şekilde alınıp gönderildiğinde önemli miktarda anaerob bakterinin infeksiyon etkeni olarak izole edilebildiği görülmektedir. Antimikrobiyal duyarlılık testleri yapılmasa dahi bakteri tanımlamalarının yapılmasının bu tip infeksiyonların daha isabetli bir şekilde tedavi edilebilmesine olanak sağlayacağını, ayrıca çalışmamız sonucunda ortaya koyduğumuz lokal verilerin anaerob bakterilere bağlı infeksiyonların takip ve tedavisinde yarar sağlayarak bu konudaki literatüre katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Torun MM. Anaerob bakteri infeksiyonları: Kültürde sorunlar, *Klinik Derg* 2003; 16: 25-8.
2. Görenek L. Anaerob bakteri infeksiyonlarında klinik sorunlar, *Klinik Derg* 2003; 16: 36-8.
3. Ulusoy S, Leblecioğlu H. Önemli ve sorunlu anaerob bakteri infeksiyonları; Anaerob infeksiyonlar ve laboratuvar tanısı, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2005: 13.
4. Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji: Anaerob bakteriler, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara 1999: 612-5.
5. Naidoo S, Perovic O, Richards GA, Duse AG. Clinically significant anaerobic bacteria isolated from patients in a South African academic hospital: Antimicrobial susceptibility testing, *S Afr Med J* 2011; 101: 732-4.
6. Doğan M, Baysal B. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerob bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi, *Mikrobiyol Bült* 2010; 44: 211-9.
7. Bennion RS, Baron EJ, Thompson JE, Downes J, Summanen P, Talan DA et al. The bacteriology of gangrenous and perforated appendicitis-revisited, *Ann Surg* 1990; 211: 165-71.
8. Durmaz B, Taştekin N. Anaerob infeksiyon ön tanılı hastaların klinik örneklerinden izole edilen anaerob bakteriler, *Mikrobiyol Bült* 1997; 31: 13-20.
9. Ercis S, Tunçkanat F, Haşçelik G. Anaerobik infeksiyon şüpheli hastalardan izole edilen anaerob bakteriler, *Mikrobiyol Bült* 2005; 39: 447-54.
10. Şengöz G, Yaşar K, Berzeg D, Yıldırım F, Şengöz A, Elmi Ş ve ark. Klinik örneklerden izole edilen anaerob bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2005; 35: 107-13.
11. Kiremitçi A, Türkkan AA, Akgün Y, Durmaz G, Kaşifoğlu N. Klinik örneklerden anaerob bakterilerin soyutlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi, *Ankem Derg* 2008; 22: 132-44.
12. Le Moal G, Landron C, Grollier G, Bataille B, Roblot F, Nassans P et al. Characteristics of brain abscess with isolation of anaerobic bacteria, *Scand J Infect Dis* 2003; 35: 318-21.
13. Brook I. Aerobic and anaerobic bacteriology of intracranial abscesses. *Pediatr Neurol* 1992; 8: 210-4.
14. Bozkurt H, Güdücüoğlu H, Bayram Y, Gülmez S, Kutulay N, Bozkurt EN ve ark. Klinik örneklerden izole edilen anaerob bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları, *Van Tıp Derg* 2004; 11: 85-91.
15. Bahar H, Torun MM, Demirci M, Sever N, İstanbullu A. Yara infeksiyonlarında anaerob bakterilerin dağılımı, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003; 33: 42-6.
16. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 244-69.
17. Brook I, Frazier H. Aerobic and anaerobic microbiology in intra-abdominal infections associated with diverticulitis, *J Med Microbiol* 2000; 49: 827-30.
18. Mosdell DM, Morris DM, Fry DE. Peritoneal cultures and antibiotic therapy in pediatric perforated appendicitis. *Am J Surg* 1994; 167: 313-6.
19. Bartlett JG. Anaerobic bacterial infections of the lung and pleural space: *Clin Infect Dis* 1993; 16: 248-55.