

## ÇEŞİTLİ KLİNİK MATERYALLERDEN ÜRETİLEN ANAEROP MİKROORGANİZMALAR

Fatma KEKLİKOĞLU\*, Duygu FINDIK\*, Bülent BAYSAL\*

\* S.Ü.T.F. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,

### ÖZET

Bu çalışmada çeşitli kliniklerde yatan ve anaerobik infeksiyon şüphesi olan hastalardan alınan farklı materyallerin anaerobik kültürü yapılmıştır. Toplam 84 materyalin 22'sinden 23 anaerobik bakteri izole edilmiştir. Bu anaerobik bakterilerin 19'u saf anaerop, 3'ü anaerop-aerop karışık olarak izole edilmiştir. 20 pelvik inflamatuvar hastalık olgusundan izole edilen 9 anaerobik bakteriden 5'i gram pozitif anaerobik kok, 2'si Bacterokles, 1'i Fusobacterium, 1'i Propionibacterium, 51 infertilite olgusundan cul-de-sac'dan laparoskopla alınan kültürlerden üreyen 5 anaeroptan 3'ü Peptostreptococcus, 1'i Proplonibacterum, 1'i anaerobik Lactobacillus, 1 douglas absesinden izole edilen 2 anaeroptan 1'i Propionibacterium ve 1'i Peptostreptococcus olarak idantifiye edilmiştir. Ayrıca 5 Pleuropulmoner infeksiyondan 2 Peptostreptococcus, 1 akut parotit olgusundan Bacteroides, 1 nekrotizan fasii olgusundan da Peptostreptococcus üremiştir. API 20A sistemiyle yapılan 10 anaerobik bakterinin tiplendirmesinde 4 gram pozitif sporsuz basil Lactobacillus jensenii 1 gram negatif basil Fusobacterium mortiferum 1 gram pozitif sporlu basil Clostridium butyricum olarak tiplendirilmiş, bir Gram pozitif kok ise API 20 sistemiyle tiplendirilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Anaerop mikroorganizmalar

### SUMMARY

#### Anaerobic Microorganisms That Isolated From Various Clinical Samples

In this study anaerobic cultures of the specimens which were taken from hospitalized patients with suspicion of anaerobic infection were made. From 22 of the 84 specimens 23 anaerobic bacteria were isolated. 19 of them were pure anaerop and 3 of them were mix cultures (aerop+anaerop). of the 9 anaerobic bacteria which were isolated from patients with pelvic inflamatuvar disease 5 were gram positive anaerobic cocci, 2 were Bacteroides, 1 was Fusobacterium and 1 was Propionibacterium. Of the 5 anaerobic bacteriae which were isolated from the cul-de-sac of 51 infertility patients with laparoscopy, 3 were Peptostreptococci, 1 was Propionibacterium, 1 was anaerobic Lactobacillus. From 2 anaerobes isolated from one douglas abscess one was Propionibacterium and the other was Peptostreptococcus. From 5 pleuropulmonary infections 2 Peptostreptococci and from 3 wond infections 1 Peptostreptococcus and 1 Clostridium were isolated. From one gingivitis Peptostreptococcus, from one necrotizing fasciitis Peptostreptococcus were isolated. 10 of the anaerobic bacteriae were idantified by API 20A system; 4 anaerobes as P. intermedius, 2 anaerobes as P. niger, 1 anaerop as L.jensenii, 1 anaerop as F. mortiferum, 1 anaerop as 4 C. butyricum. One Gram positive coccus couldn't be identified by API 20A system.

Key Words: Anaerop microorganisms

### GİRİŞ

Aneorobik bakteriler ilk kez 1863'de Pasteur tarafından tanımlanmıştır. Anaerobik bakterilerin oksijene duyarlı olmaları, üreyebilmek için özel ortamlar ve besiyerleri gerektirmeleri, fakültatif

anaerop ve anaerobik bakterilerin sıklıkla birlikte görülmeleri onların üretilmesini güçleştirmektedir (1).

İnsanlarda mukokütanöz yüzeylerdeki normal florada anaerop bakteriler hakimdir. Anaerobik bak-

teriler barsakta aerobik bakterilerden 1000 kat, deri, ağız, üst solunum sistemi ve kadın genitoüriner sisteminde ise 5-10 kat daha fazladır. Önceleri normal floranın zararsız kommensalleri olduğu düşünülen bu bakteriler günümüzde konağın direnci düştüğünde ve vücutta anaerob bakterilerin üremesini sağlayan doku hasarı ve gerekli redoks potansiyeli durumu olduğunda infeksiyon oluşturan fırsatçı patojenler olarak tanımlanmaktadır (1,2,3).

Anaeroplara oluşan infeksiyonların çoğu polimikrobik infeksiyonlardır ve bu infeksiyonlarda etken patojenin kaynağı hemen daima en yakın floradır yani endojendir. Sadece sporlu çomakların neden olduğu infeksiyonların bir bölümünde ve ısı- rık yaralarında kaynak vücut dışında yani eksojendir. Bugün anaerobik infeksiyon kuşkusıyla yapılan kültürlerin en az % 25'inden anaerob bakteri üretilmektedir ve bunların %7-10 kadarı saf anaerob kültürlerdir (4).

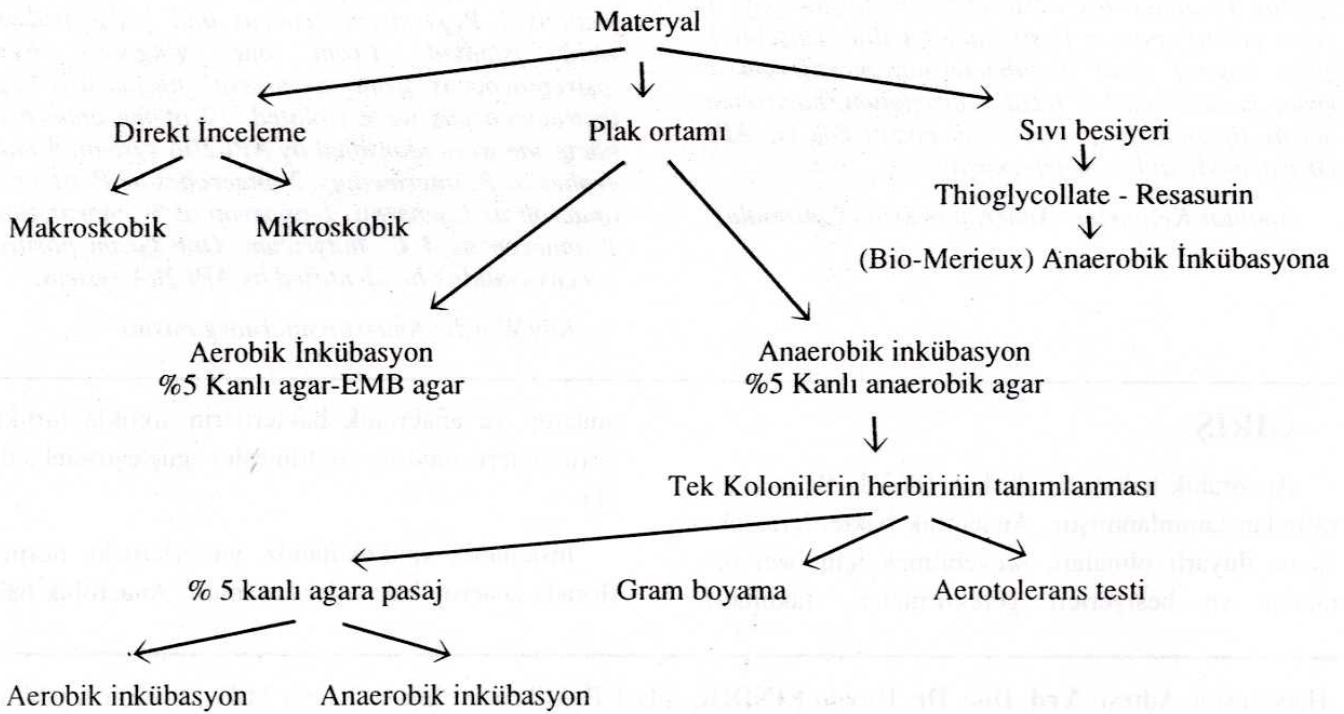
Bu çalışma hastanede yatan ve anaerobik infeksiyon şüphesi olan 84 hastadan anaerobik mikroorganizma üreme sıklığının araştırılması ve üre-

yen bu mikroorganizmaların klasifikasyonu amacı ile yapılmıştır.

## MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada çeşitli kliniklerde yatan anaerobik infeksiyon şüphesi olan 84 hastanın infeksiyon yerine göre uygun şekilde alınan materyaller anaerobik bakteriler yönünden incelenmiştir. Akut ve kronik pelvik infeksiyon düşünülen hastalardan ve infertifite yönünden araştırılan hastalardan laparoskopiyile cul-de-sac'dan örnek alınmıştır. Eğer materyal yetersizse cul-de-sac 2-5 ml steril serum fizyolojikle yıkanıp kültür için reaspire edilmiştir. Akciğer infeksiyonu düşünülen hastalardan trans-trakeal aspirasyonla materyal alınmıştır. Abse ve yaralardan ise o bölge povidon iyotla silinip % 70'lik etil alkolle iyot uzaklaştırıldıktan sonra enjektör veya eküvyonla derinden materyal alınmıştır. (5,6,7,8). Materyal makroskobik görünümü ve kokusu açısından değerlendirilmiştir. Ekimler materyal alınır alınmaz hasta başında uygun besiyerlerine yapılmıştır. Materyalin incelenmesinde izlenen yol şema 1'de özetlenmiştir.

Şema 1. Anaerobik bakteri izolasyonunda izlenen yol (9)



Anaerobik ortam anaerobik jarda Gas-Pak (Oxoid) kullanılarak sağlanmıştır (10,11,12).

Tüm ekimler 37 derecede inkübe edilmiştir. Anaerobik kültürler negatif kabul edilinceye kadar 10 gün bekletilmiştir. Anaerob ortamda üreyen bakterilerin koloni ve mikroskopik özelliklerine göre cins tayini yapılmıştır. Anaerob olduğuna karar verilen mikroorganizmaların bir kısmı API 20A sistemiyle tiplendirilmiştir (13).

## BULGULAR

84 hastadan alınan ve anaerobik bakteri yönünden incelenen materyallerin 19'unda saf anaerobik bakteri izole edilmiştir. 3 materyalde ise aerob bakteriyile birlikte anaerob bakteri izole edilmiştir. Bir materyalde ise 2 tür anaerob bakteri izole edilmiştir. Böylece toplam 22 anaerob pozitif kültürden 23 anaerobik bakteri izole edilmiştir. Örneğin alındığı yere göre üreyen anaerob sayısı Tablo 1'de özetlenmiştir. İzole edilen anaerobik mikroorganizmaların cinsleri ve infeksiyon yerine göre dağılımı ise Tablo II'de özetlenmiştir.

API 20A sistemiyle yapılan 10 anaerobik bakterinin tiplendirilmesinde 4 gram pozitif kok pep-

tostreptococcus intermedius (P. Intermedius), 2 gram pozitif kok Peptococcus niger (P. niger), 1 gram pozitif sporsuz basil Lactobacillus jensenii (L. jensenii), 1 gram negatif basil Fusobacterium mortiferum (F. mortiferum), 1 gram pozitif sporlu basil olarak tiplendirilmiş, 1 gram pozitif kok ise API 20A sistemiyle tiplendirilememiştir. API20A ile tiplendirilen mikroorganizmaların dağılımı ise Tablo III'de özetlenmiştir.

## TARTIŞMA

Anaerob bakteriler insan vücudunda yaygın olarak kolonize olur ve uygun ortam sağlandığında eksojen veya endojen anaerobik infeksiyonlara neden olurlar. Bu bakterilerin laboratuvar şartlarında üremeleri özel teknikleri gerektirdiğinden izolasyonları güç olmaktadır. Ancak hayatı tehdit eden infeksiyonlara neden oldukları için izole edilmeleri zorunludur. Sıklıkla pleurupulmoner, intraabdominal ve kadın genital sistem infeksiyonlarına neden olurlar. Bu konuyla ilgili pek çok çalışma yapılmıştır ve yapılan çalışmalarda anaerobik kültürlerden izole edilen anaerobik bakteri üreme insidansının %5.4 ile %49.3 arasında değiştiği gözlenmiştir (14,15,16,17,18,19).

Tablo 1. Anaerobik kültürü alınan hastalarda ön tanı, materyalin alınma şekli, hasta sayısı ve üreme

Ön Tanı	Materyali alınma Şekli	Hasta Sayısı	İzole Edilen Anaerob Sayı
Akut ve kronik PID	Laparaskopi	20	9
Primer ve sekonder infertilite	Laparaskopi	51	5
Douglas absesi	Laparaskopi abse aspirasyonu	1	2
Akciğer infeksiyonu ve malignansı	Transtrakeal aspirasyon	4	1
Ampiyem	Enjektörle aspirasyon	1	1
Yara	Derin Aspirasyon	3	2
Akut parotitis	Enjektörle aspirasyon	1	1
Abse	Enjektörle aspirasyon	1	0
Nekrotizan fasiitis	Enjektörle aspirasyon	1	1
Gingivitis	İğne ile aspirasyon	1	1
<b>TOPLAM</b>		<b>84</b>	<b>23</b>

Tablo 2. İzole edilen anaerobik mikroorganizmaların cinsleri ve enfeksiyon yerlerine göre dağılımı.

ÜREYEN MİKROORGANİZMALAR

İnfeksiyon	Propionibacterium türleri	Peptostreptococcus ve Peptococcus türleri	Bacterioides türleri	Fusobacterium türleri	Clostridium türleri	Anaerobik Lactobacillus türleri	Toplam
PID	1	5	2	1	-	-	9
Primer ve sekonder infertilite	1	3	-	-	-	1	5
Douglas absesi	1	1	-	-	-	-	2
Akciğer enfeksiyonu	-	1	-	-	-	-	1
Ampiyem	-	1	-	-	-	-	1
Yara	-	1	-	-	1	-	2
Akut parotitis	-	-	1	-	-	-	1
Nekrotizan fasiitis	-	1	-	-	-	-	1
Gingivitis	-	1	-	-	-	-	1
Toplam (%)	3 (%13)	14 (%60.8)	3(%13)	1(%4.3)	1(%4.3)	1(%4.3)	23

Tablo 3. API 20A ile tiplendirilen mikroorganizmalar ve örneklerin alındığı enfeksiyonlar

Mikroorganizma	Sayı	İnfeksiyon Bölgesi
Peptostreptococcus intermedius	3	Pelvik inflamatuvar hastalık
Peptostreptococcus intermedius	1	Transtrakeal aspirasyon
Peptococcus niger	2	Pelvik inflamatuvar hastalık
Fusobacterium mortiferum	1	Pelvik inflamatuvar hastalık
Lactobacillus jensenii	1	Pelvik inflamatuvar hastalık
Clostridium butyricum	1	Yara

Davis ve ark. (16) çeşitli klinik materyallerden %14.7 oranında anaerob bakteri üretmişlerdir. Martin (14) isimli bir araştırmacı 2 yıldan uzun bir sürede yaptığı çalışmada çeşitli materyallerden alınan 27588 örnekten 7324'ünde (%27) anaerobik bakteri üretmiştir. Bourgalde ve ark. (17) 3.5 yıl süren araştırmalarında 10817 anaerobik kültürden 2223'ünde (%20.5) pozitif kültür sonucu elde etmişlerdir. Pannichi ve ark. (18) 4 yıllık bir çalışmada anaerobik

enfeksiyondan şüphelenilen 2000 örnekten 395'inde (%19.7) anaerob üreme gözlemişlerdir. B. fragilis ve Peptostreptococcus'lar en sık izole edilen anaeroplara olarak dikkat çekmiştir. Leanos ve ark. (19) yaptıkları çalışmada 1753 pürülan materyal ve kan kültürlerinin 95'inden (%5.4) 130 anaerobik bakteri izole etmişlerdir. En sık rastladıkları anaerob bakteriler, Bacterioidisler (%44.6), Clostridium'lar (%19.2), Propionibacterium'lar (%15.7), Fu-

sobacterium'lar (%7.7) ve gram pozitif koklar (%7.7) olmuştur. Ellner ve ark. (20) vücut sıvıları, abse ve yaralardan yaptıkları anaerobik kültürlerde en sık izole edilen türü *Bacteroides fragilis* olarak saptamışlardır. Töreci ve ark (21) çeşitli klinik materyalden izole ettikleri 337 anaerop bakteriden 175'ini *Bacteroides*, 164'ünü *Peptostreptococcus*, 24'ünü *Clostridium* türleri, 6'sını *P. acnes*, *Actinomyces* türleri olarak idantifiye etmişlerdir.

Bu çalışmada 84 materyal çalışılmış ve bunların 22'sinden 23 tür anaerobik bakteri üretilmiştir. Çalışmamızda anaerobik mikroorganizma üreme oranı % 26.1 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada en sık izole edilen etken patojen *Peptococcus* ve *Peptostreptococcus*'lar olmuştur ve *Bacterioides* gibi sık izole edilen etken patojenlerin az üremesinin, vaka sayısının sınırlı olması, inkübasyon ve izolasyon yöntemleri, infeksiyon bölgelerinin farklı olması ve selektif besiyeri kullanılmamasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Çünkü tek nonselektif bir besiyerinin kullanılması ile anaeroplara % 77'si saptanmakta, ancak ilaveten kanamisin- vankomisin eklenmiş kanlı agar gibi selektif bir besiyerinin kullanılması ile bu oran % 94'e kadar artmaktadır (22).

Berry ve ark. (23) anaerobik jarda ürettikleri 347 anaerobik bakteriyi API 20A ile tiplendirerek *Bacteroides*'leri % 43, *Peptococcus*'ları % 26, *Peptostreptococcus*'ları % 13, *Veillonella*'ları % 7, *Fusobacterium*'ları % 7, *Clostridium*'ları % 2 olarak saptamışlardır. En sık üreyen anaerop bakterinin *Bacteroides* ve *Peptostreptococcus* türleri olduğunu bildirmişlerdir. Allen ve ark. (24) çeşitli klinik materyalden ürettikleri toplam 114 anaerobik bak-

terinin API 20A ile identifikasyonunda 27 gram negatif basil, 4 gram pozitif sporluve sporsuz basil, 1 gram pozitif kok olmak üzere 32 tanesini tiplendirmişlerdir.

Çalışmamızda API 20A ile yapılan tiplendirmede 4 gram pozitif kok *P. intermedius*, 2 gram pozitif kok *P. niger*, 1 gram pozitif sporsuz basil *L. jensenii*, 1 gram negatif basil *F. mortiferum*, 1 gram pozitif sporlu basil *C. butyricum* olarak tiplendirilmiştir. 1 gram pozitif kok ise API 20A ile tiplendirilememiştir. Summanen ve ark. (13) da bir çalışmada API 20A ile üreyen anaeroplara % 17.5'ini tiplendiremediklerini bildirmişlerdir.

Vücudun çeşitli bölgelerinde normal flora olarak bulunan ve potansiyel patojen olan anaerobik bakteriler, uygun redoks potansiyeli oluştuğunda çevre dokulara da yayılarak endojen ya da eksojen olarak patojen hale geçebilmekte ve yüksek morbidite veya mortaliteye yol açan önemli anaerobik infeksiyonlara neden olabilmektedir. Anaerobik bakterilerin üretilmesi materyalin alınmasından identifiikasyona kadar olan aşamalarda özel yöntemler ve selektif besiyerleri kullanımını gerektirmektedir. Bu konuda pek çok yeni teknik geliştirilmesine rağmen anaeroplara üretilmesi güç olmakta ve özel bir ilgi gerektirmektedir (25).

Sonuç olarak anaerobik infeksiyonların tedavisi de diğer bakterilerden farklı olduğundan şüpheli anaerobik infeksiyonların kesin tanısında anaerobik kültür yapılmasının ve üreme sonucuna göre uygun tedavi yönteminin seçilmesinin gerekliliğini vurgulamak istiyoruz.

## KAYNAKLAR

1. Joklik WK, Willet HP, Amos DB; Zinsser Microbiology. Appleton Century Crofts, 1984; 679-693.
2. Gını PC, Chukudebeleu WO: Pelvic abcess in gynecologic patients. Int J Gynaecol Obstet. 1981; 19: 245-249.
3. Finegol SM, Anaerobes: Problems of controversies in bacteriology, infections and susceptibility testing. Rev. Infect Dis. 1990; 12 (2): 223-230.
4. Gökşen Y: Cerrahide anaerop infeksiyonların önemi. Ankem 1992; 6(2): 350-353.
5. Dowell VR: Methods for isolation of anaerobes in the clinical laboratory. American Journal of Medical Technology. 1975; 41 (11): 402-410.
6. Külekçi G, Efeoğlu A, Balkanlı O, Ang Ö: Erişkin periodontitisli hastalarda siyah pigmentli anaeroplara (*Bacteroides*: *Porphyromonas/Prevotella*) ağız içi dağılımı. Türk Mikrobiol Cem Derg. 1993; 23: 15-20.
7. Chow AW, Malkasian KL, Marshall JR, Gruze LB: The bacteriology of acute pelvic inflammatory disease. Am J Obstet Gynecol. 1975; 122 (7): 876-879.

8. Kirshon B, Faro S, Philips LE, Preuett K: Correlation of ultrasonograph and bacteriology of the endocervix and posterior cul-de-sac of patients with severe pelvic inflammatory disease: Sexually Transmitted Disease. 1988; April-June: 103-107.
9. Baron EJ, Tenover FC, Tenover FC: Diagnostic Microbiology, Toronto 1990; 477-505.
10. Boyd RF, Hoeil BG; Basic Medical Microbiology, London 1991; 75-102.
11. Pelczar MJ, Chan ESC, Krieg NR: Microbiology. New York. 1986; 108-113, 177-189.
12. Collee JG, Watt B, Fowler EB, Brown R: An evaluation of the gaspak system in the culture of anaerobic bacteria. Jappt Bact 1972;35 (1): 71-82.
13. Summanen P, Somer HJ: Comparative evaluation of Rap ID ANA and API 20A for identification of anaerobic bacteria. Eur-J Clin Microbiol Infect Dis. 1988; 7(6): 771-775.
14. Martin WJ: Isolation and identification of anaerobic bacteria in the clinical laboratory. Mayo Clin Proc. 1974; 49: 300-308.
15. Martin WJ: Practical method for isolation of anaerobic bacteria in the clinical laboratory. Applied Microbiology. 1971;2 (6): 1168-1171.
16. Davis CE, Hunter WJ, Ryan JL, Brude AL: Simple method for culturing anaerobes. Applied Microbiology. 1973;25 (2):216-221.
17. Bourgalt AM, Rosenblatt JE, Fitzgerald RH: Peptococcus magnus: A significant human pathogen. Annals of Internal Medicine. 1980;93: 244-248.
18. Panichi G, Di-Rosa R, Enrico P, Babodieri S: Anaerobic bacteria and bacterial infections: Perspectives on treatment and resistance in Italy. Rev Infect Dis. 1990; 12 (2): 152-156.
19. Leanos B, Guiscafne H, Guerra R, et al: Infections by anaerobes in children: frequency of isolation and antimicrobial resistance. Bol Med Hosp Infanta Mex 1989; 46(7): 455-462.
20. Ellner PD, Granato PA, May CB: Recovery and identification of anaerobe: a system suitable for routine clinical laboratory. Applied Microbiology, 1973; 26(6): 904-913.
21. Töreci K, Gürler N: İstanbul'da izole edilen anaerob bakterilerin antibiyotiklere ve ornidazole duyarlılıkları, Ankem 1992; 6(2): 354-358.
22. Wang WD, Ngao L, Guans Xia X, Ya-Pin Z: Anaerobic infections of burns. Burns 1985; 11(3): 192-196.
23. Berry PL, Taylor E, Phillips L: The use of an anaerobic incubator for the isolation of anaerobes from clinical samples. J Clin Pathol 1982; 35: 1158-1162.
24. Allen MA, Lyrich MM: Experiences with anaerobes. Med Lab Sci 1990; 47: 337-346.
25. Hofstad T: Utility of newer techniques for identification of pathogenic anaerobic bacteria. Clin Infect Dis 1994; 18(4): 250-252.