



Klinik Örneklerden Soyutlanan Anaerob Bakterilerin İn Vitro Antibiyotik Duyarlılıkları

In Vitro Antibiotic Susceptibilities of Anaerobic Bacteria Isolated from Clinical Samples

Nida ÖZCAN¹(iD), Neriman SAAT²(iD), Selahattin ATMACA¹(iD)

¹ Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

² Samsun Halk Sağlığı Laboratuvarı, Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye

* Bu çalışmanın bir bölümü, 38. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (4-8 Kasım 2018, Antalya)'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Makale atfı: Özcan N, Saat N, Atmaca N. Klinik örneklerden soyutlanan anaerob bakterilerin in vitro antibiyotik duyarlılıkları. FLORA 2020;25(2):245-55.

ÖZ

Giriş: İnsan ağız, gastrointestinal sistem, genitoüriner sistem ve cilt mikrobiyotasının önemli bir bölümünü oluşturan anaerob bakteriler, ekzojen veya endojen kaynaklı ciddi infeksiyonlara neden olabilir. Anaerob infeksiyonların örnekleme, ekimi ve inkübasyonu özel koşullar gerektirir. İzole edilen anaerob bakterilerin geleneksel yöntemlerle tanımlanması da emek yoğun ve zaman alıcıdır. Mikrobiyolojik tanı ve direnç testlerinin uzun sürede sonuçlanması anaerob infeksiyonlarda ampirik antibiyotik tedavisini gerekli kılar. Ampirik tedavilere yol göstermesi açısından anaerob bakterilerin bölgesel duyarlılık profillerinin saptanması ve belirli periyodlarla izlenmesi çok önemlidir. Bu çalışma ile, laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerob mikroorganizmaların matriks aracılı lazer desorpsiyon/iyonizasyon-uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) ile tanımlanması ve bu mikroorganizmaların antimikrobiyal direnç profillerinin gradiyent test yöntemiyle belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışmaya, Nisan 2017-Nisan 2018 tarihleri arasında anaerob kültür istemiyle gönderilen 368 klinik örnek dahil edildi. Örnekler anaerob kültür teknikleri kullanılarak inkübe edildi ve elde edilen izolatlar MALDI-TOF kütle spektrometresi ve fenotipik yöntemlerle tanımlandı. İzolatların kloramfenikol, metronidazol, penisilin G, imipenem ve sefoksitine karşı antimikrobiyal direnci gradiyent test yöntemiyle belirlendi.

Bulgular: Örneklerin 73 (%19.8)'ünden toplam 104 anaerob bakteri izole edilmiş; en sık soyutlanan etkenler, sırasıyla *Bacteroides* (n= 16), *Actinomyces* (n= 15), *Prevotella* (n= 12), *Cutibacterium* (n= 12) ve *Peptoniphilus* (n= 8) türleri olarak tespit edilmiştir. Toplam 65 izolata antibiyotik direnç testi çalışılmıştır. Gram-pozitif kokların %61.1'i, gram-negatif bakterilerin %33.3'ü metronidazole dirençli bulunmuştur. Gram-pozitif basillerin yaklaşık %15.4'ü, gram-negatif basillerin ise yaklaşık %14.3'ü sefoksitin ve imipenem karşı dirençli bulunmuştur. Sefoksitin ve imipenem direnç oranları gram-pozitif koklarda %11.1 ve %22.2 olarak saptanmıştır.

Sonuç: Çalışma, bölgemizde saptanan anaerob bakterilere dair verilerin sunulduğu ilk çalışmadır. Metronidazol ve imipenem direncin yüksek olması, ayakta hastalarda metronidazol, hastanede yatan hastalarda ise karbapenem kullanımının yüksek olmasıyla ilişkili olabilir. Bölgesel antibiyotik duyarlılıklarının saptanması ampirik tedavileri yönlendirmenin yanı sıra akılcı antibiyotik kullanım politikalarının geliştirilmesinde de önemli rol oynar.

Anahtar Kelimeler: *Bacteroides*; *Actinomyces*; *Prevotella*; Antibiyotik direnci

Geliş Tarihi/Received: 27/07/2019- Kabul Ediliş Tarihi/Accepted: 03/03/2020

©Telif Hakkı 2020 Flora. Makale metnine www.floradergisi.org web adresinden ulaşılabilir.

Çevrimiçi Yayın Tarihi: 22.06.2020

ABSTRACT

In Vitro Antibiotic Susceptibilities of Anaerobic Bacteria Isolated from Clinical Samples

Nida ÖZCAN¹, Neriman SAAT², Selahattin ATMACA¹¹ Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, University of Dicle, Diyarbakir, Turkey² Department of Clinical Microbiology, Samsun Public Health Laboratory, Samsun, Turkey

Introduction: Anaerobic bacteria, which constitute a significant part of human mouth, gastrointestinal tract, genitourinary system and skin microbiota can cause serious infections of exogenous or endogenous origin. Sampling, cultivation and incubation of anaerobic infections require special conditions. Empirical antibiotic therapy is frequently preferred for anaerobic bacterial infections due to long lasting microbiological diagnosis. Periodic monitoring of regional resistance data is essential to guide empirical treatments. In this study, it was aimed to identify anaerobic microorganisms isolated from various clinical samples sent to our laboratory by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight, mass spectrometry (MALDI-TOF MS) and to determine the antimicrobial resistance profiles of these microorganisms by gradient-test method.

Materials and Methods: The study included 368 clinical specimens sent for anaerobic culture between April 2017 and April 2018. Samples were incubated using anaerobic culture techniques and the isolates obtained were identified by MALDI-TOF mass spectrometry and phenotypic methods. Antimicrobial resistances of the isolates against chloramphenicol, metronidazole, penicillin G, imipenem and cefoxitin were determined by gradient test method.

Results: A total of 104 anaerobic bacteria were isolated from 73 (19.8%) samples; the most frequently isolated anaerobic bacteria were *Bacteroides* (n= 16), *Actinomyces* (n= 15), *Prevotella* (n= 12), *Cutibacterium* (n= 12) and *Peptoniphilus* (n= 8) species. Antibiotic susceptibility testing was performed for 65 isolates. Metronidazole resistance among gram-positive bacilli, gram-positive cocci and gram-negative bacteria was found as 96.2%, 61.1% and 33.3%, respectively. About 15.4% of gram-positive bacilli and 14.3% of gram-negative bacilli were resistant against both cefoxitin and imipenem. Among gram-positive cocci, cefoxitin and imipenem resistance rates were found as 11.1% and 22.2%, respectively.

Conclusion: This is the first study to present data on anaerobic bacteria detected in our region. High resistance to metronidazole and imipenem may be associated with increased use of metronidazole in outpatients and carbapenem in hospitalized patients. Determination of regional antibiotic susceptibility plays an important role in developing rational antibiotic use policies as well as guiding empirical treatments.

Key Words: *Bacteroides*; *Actinomyces*; *Prevotella*; Antibiotic resistance

GİRİŞ

Toprakta, deniz, göl ve bataklıklarda yaygın olarak görülen anaerop bakteriler insanda ağız, gastrointestinal sistem, genitouriner sistem ve deri mikrobiyotasının önemli kısmını oluşturur. Anaerop bakteriler, ekzojen veya endojen kaynaklı infeksiyonlara neden olabilir^[1]. Bu infeksiyonların tanısında örnek alımı, taşınması, kültürü ve izolasyonu özel koşullar gerektirir. Kültür için kullanılacak özel besiyerleri, anaerop atmosfer koşullarının sağlanması ve uzatılmış inkübasyon, anaerop bakteri izolasyonunun en önemli bileşenleridir^[2]. Anaerop bakterinin izolasyon sonrası geleneksel yöntemlerle tanımlama süreci de emek yoğun ve zaman alıcıdır. Saflaştırma subkültürleri ve sonrasında tanımlayıcı antibiyotik disklerine karşı duyarlılık saptanmasını gerektirir^[1]. Son yıllarda

rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılmaya başlanan matriks aracılı lazer dezorpsiyon/iyonizasyon-uçuş zamanı kütle spektrometresi [Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS)] anaerop bakterilerin tanımlanmasında önemli ölçüde zaman ve emek tasarrufu sağlamaktadır. Kütle spektrometre yöntemiyle, kültürde üreyen anaerop bakterilerin %70'den fazlasının cins ve tür düzeyinde doğru tanımlanabildiği bildirilmiştir^[3-5]. Ülkemizde yürütülen çok merkezli bir çalışmada Ülger Toprak ve arkadaşları, *Prevotella* cinsine ait 508 izolatan tanımlanmasında kütle spektrometreyi 16S rRNA yöntemiyle karşılaştırmış; kütle spektrometre ile izolatların %90.4'ünün cins düzeyinde, %83.1'inin ise tür düzeyinde doğru tanımlandığını belirtmişlerdir^[6].

Anaerop bakteri infeksiyonlarının büyük kısmı polimikrobiyaldir ve çoğunlukla duyarlılık testine gerek duyulmadan ampirik tedavi başlanır. Amerika kaynaklı "Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)" kılavuzu, polimikrobiyal anaerop infeksiyonlarda duyarlılık testi gerektiğinde en dirençli izolat için test yapılmasını önermektedir^[7]. Gerek CLSI, gerekse Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testler Komitesi (EUCAST), anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) temelli testlerle çalışılmasını önerir^[7-9]. Altın standart yöntem olan agar dilüsyon yöntemi emek-yoğun bir çalışma gerektirdiğinden rutin laboratuvarlarda tercih edilmez, genellikle referans laboratuvarlarda kullanılır. Katı besiyerinde difüzyon yoluyla MİK saptayabilen gradiyent test yöntemi, agar ve sıvı dilüsyon yöntemlerine kıyasla kolay uygulanabilir bir yöntem olduğundan anaerop bakterilerin duyarlılık tespitinde rutin laboratuvarlarda en sık tercih edilen yöntemdir.

Anaerop bakteri infeksiyonlarında kullanılacak antibiyotikler sınırlı sayıdadır. Amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, klindamisin, imipenem, meropenem, doripenem, ertapenem ve metronidazol, CLSI dokümanlarında gram-pozitif ve gram-negatif anaerop bakteriler için öncelikli test edilecek ve raporlanacak antibiyotiklerdir. Gerektiğinde çalışıp kısıtlı bildirilmesi gereken antibiyotikler ise sefoksitin, sefotetan, seftizoksim, seftriakson, kloramfenikol, moksifloksasin ve tetrasiklin olarak belirlenmiştir. Penisilin ve ampisilin gram-pozitif bakterilerde öncelikli test edilmesi gereken grupta, gram-negatif bakterilerde ise kısıtlı bildirilmesi gereken grupta yer alır^[7]. CLSI verilerinden farklı olarak EUCAST dokümanlarında, ampisilin, amoksisilin ve piperasilinin beta-laktamaz inhibitörü içermeyen formlarıyla beraber tikarsilin ve tikarsilin-klavulanik asit için de MİK sınır değerleri belirtilmiştir. EUCAST'ın güncel dokümanlarında anaerop bakterilere etkili antibiyotik listesinde doripenem yer almazken, sefoksitin ve tetrasiklin için MİK sınır değerleri belirtilmemektedir^[8].

Anaerop bakterilerde son dekadlarda artan antibiyotik direnci anaerop bakteri infeksiyonlarında ampirik tedavi seçeneklerinin öngörülmesini zorlaştırmaktadır^[10-12]. Farklı ülke ve bölgelerden

anaerop bakterilere dair farklı duyarlılık profilleri bildirilmektedir. Amerika ve Avrupa'dan 1990-2010 yılları arasında anaerop bakterilerle ilgili yayınların irdelendiği bir çalışmada, antibiyotiklere göre değişmekle beraber antibiyotik direncinin genel olarak artma eğiliminde olduğu bildirilmiştir^[13]. Ülger Toprak ve arkadaşlarının yürüttüğü, Avrupa'nın farklı bölgelerini de içeren çok merkezli bir çalışmada *Prevotella* cinsine ait toplam 508 izolat meropenem, imipenem, tigesiklin, piperasilin/tazobaktam ve metronidazole direnç saptanmazken ampisilin, tetrasiklin, klindamisin ve moksifloksasin direnç oranları sırasıyla %51.2, %36.8, %33.7 ve %18.3 olarak saptanmıştır^[14]. Tayvan'da yapılan bir çalışmada ise klinik örneklerden sıklıkla izole edilen anaerop bakterilerden *Fusobacterium* spp., *Prevotella* spp. ve *Bacterioides fragilis* grubu bakterilerde karbapenem direncinin son 10 yılda artış gösterdiği bildirilmiştir^[15]. Bakterilerdeki direnç genlerinin aktarılabilir özellik taşıması dirençli izolatların yayılımı konusunda dikkatli olmayı gerektirmektedir^[16]. Anaerop bakterilerin direnç paternlerinin bölgesel ve periyodik izlemi anaerop bakteriyel infeksiyonların tedavi başarısı için elzemdir.

Bu çalışmada, laboratuvarımıza gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerop mikroorganizmaların MALDI-TOF MS ile tanımlanması ve bu mikroorganizmaların antimikrobiyal direnç profillerinin gradiyent test yöntemiyle belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Çalışma için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 16.12.2016 tarih ve 346 sayılı karar ile onay alındı.

Çalışmaya, Nisan 2017-Nisan 2018 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Hastanesinin çeşitli kliniklerinden anaerop kültür istemiyle merkez laboratuvarı bakteriyoloji birimine gönderilen 368 klinik örnek dahil edildi. Anaerop kültür istemi yapılan örneklerin büyük kısmı steril enjektör içinde, büyük doku parçaları ise laboratuvarımızda hazırlanan tiyoglikolatlı sıvı besiyerleri (TSB) (Oxoid, İngiltere) içerisinde dakikalar içerisinde laboratuvara ulaştırıldı. Örnekler makroskopik (örneklerin pürülan, kanlı olması, kötü koku ve sülfür gra-

nülleri içermeleri gibi) değerlendirmeden hemen sonra %5 defibrine koyun kanı eklenmiş Brusella agar (Oxoid, İngiltere) besiyerine ekildi. Mikroskopik inceleme (lökosit varlığı, bakterilerin Gram boyanma ve morfolojik özellikleri, spor içerip içermemeleri) ile eş zamanlı olarak aerop besiyerlerine de ekim yapıldı. Enjektör içinde gelen örnekler ek olarak geri dönüş sıvısı için kullanılan TSB'ye bırakıldı^[17].

Anaerop ekim yapılan besiyerleri, anaerop ortam oluşturucu paketler -AnaeroPack™ (Mitsubishi Gas Chemical, Japonya)- ile birlikte BD GasPak™ EZ (Becton Dickinson, ABD) konteynir sistemlere bırakıldı. Anaerop ortam kontrolü için resazurin emdirilmiş kağıt stripler -Anerotest (Oxoid, İngiltere)- konteynir içine yerleştirilerek striplerin 1-2 saat içinde maviden beyaza dönüştüğü gözlemlendi^[18].

Anaerop konteynir sistem ile aerop ekim yapılan besiyerleri 35-37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası aerop ve anaerop üremeler karşılaştırıldı. Üreme olmayan örneklerde anaerop inkübasyon beş güne uzatılarak, bulanıklık gözlenen tiyoglikolatlı besiyerlerinden tekrar ekimler yapıldı.

Besiyerinde üreyen etkenlerin tanımlanmasında koloninin makroskopik görünümü, mikroskopik morfoloji ve Gram boyanma özelliği dikkate alındı. Aerotolerans test için BKA ve çikolata agar besiyerine (RTA, Türkiye) eş zamanlı subkültürleri yapılan etkenlerden çikolata agar besiyerinde %5-10 CO₂'li ortamda üremeyip BKA besiyerinde üreyenler tanımlama diskleri ve kütle spektrometre ile tanımlandı. Antibiyotik tanı disk testi için kanamisin (1000 µg), kolistin (10 µg), ve vankomisin (5 µg) diskleri (Bioanalyse, Türkiye) kullanıldı^[19]. Saf kültürlerden 0.5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonlarından BKA besiyerine homojen ekim yapıldı. Her besiyerine kolistin, kanamisin ve vankomisin disklerinden birer adet bırakıldı, 48 saatlik anaerop inkübasyon sonrası disklere duyarlılık durumlarına göre bakteri cinsine karar verildi^[1,18,19].

Kütle spektrometre ile tanımlanma için besiyerinde üreyen koloni, ekstraksiyon işlemi uygulanmaksızın çelik plak üzerindeki dairesel alanlara sürüldü. Kuruyan örneklerin üzerine sırasıyla formik

asit ve Bruker matris çözeltisi (Bruker HCCA: α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid) eklendi, ardından çelik plak Microflex LT (Bruker Daltonics, Almanya) cihazına bırakılarak 2-20 kDa kütle aralığında, pozitif lineer modda lazer atışları uygulandı. İyonizasyon sonucu elde edilen spektrum görüntüleri Maldi Biotyper 3.1 (Bruker Daltonics, Almanya) sisteminin veri tabanındaki spektrumlarla karşılaştırılarak analiz edildi. Cins düzeyinde tanımlama için 1.7'den yüksek skorlar, tür düzeyinde tanımlama için ise 2'den yüksek skorlar kabul edildi^[20].

İzolatların antimikrobiyal direncini belirlemek için kloramfenikol, metronidazol, penisilin G, imipenem ve sefoksitin gradiyent test stripleri (Liofilchem, Italy) kullanıldı. Antibiyotik duyarlılık testi (ADT) için üretici firma önerisi doğrultusunda 0.5 McFarland bulanıklığındaki bakteri süspansiyonunun homojen yayıldığı BKA besiyerlerine gradiyent test stripleri yerleştirildi. CLSI, anaerop bakteri ADT'si için en ideal katı besiyeri olarak koyun kanı yanı sıra vitamin K ve hemin ilave edilmiş Brusella agar besiyerini önermekle birlikte BKA veya Wilkins Chalgren agarda elde edilen MİK değerlerini de eşdeğer saymaktadır^[7]. İnkübasyon sonrası elde edilen MİK değerleri, sefoksitin için CLSI, diğer antibiyotikler için EUCAST Version 8.0 kriterlerine göre yorumlandı^[8,21]. Her ADT çalışması sırasında *B. fragilis* ATCC 25285 standart izolatu da test edilerek kalite kontrol uygulandı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 368 örneğin 229 (%62.2)'unu apse, 52 (%14.1)'sini doku, 38 (%10.3)'ünü eklem sıvısı, 25 (%6.8)'ini plevra, 16 (%4.3)'ünü periton sıvısı, 8 (%2.2)'ini cerrahi operasyon sırasında alınan kulak örnekleri oluşturmuştur. Anaerop bakteriler örneklerin 73 (%19.8)'ünden izole edilmiş; bu örneklerin 50 (%13.6)'sinde sadece anaerop etkenler, 23 (%6.3)'ünde ise anaerop bakterilerin yanı sıra aerop/fakültatif anaerop etkenler de üretilmiştir. Anaerop üreme saptanan 73 örnekten toplam 104 adet anaerop bakteri soyutlanmış; her bir anaerop üreme başına ortalama 1.5 adet anaerop bakteri üremesi olmuştur. Anaerop bakterilerin büyük kısmı (n= 52) apse örneklerinden izole edilirken; doku, eklem, plevra, kulak ve periton örneklerinden sırasıyla 24, 12,

Tablo 1. Anaerop kültür istemi ile gelen örnek türleri ve üreme durumları

Örnek türü	Apse	Doku	Ekleme sıvısı	Plevra sıvısı	Periton sıvısı	Kulak	Toplam
Örnek n (%)	229 (62.2)	52 (14.1)	38 (10.3)	25 (6.8)	16 (4.4)	8 (2.2)	368 (100)
Tek başına anaerop üreme (n)	22	16	7	3	1	1	50 (13.6)
Karışık (anaerop ve diğer*) üreme (n)	9	3	2	4	2	3	23 (6.3)
Diğer* üreme (n)	83	1	1	2	0	1	88 (23.9)
Üreme yok (n)	115	32	28	16	13	3	207 (56.2)
Üreyen anaerop mikroorganizma (n)	52	24	12	11	5	8	104

n: Sayı.
* Aerop, fakültatif anaerop bakteri ve mantar üremeleri.

11, 8 ve 5 anaerop bakteri izole edilmiştir (Tablo 1). Klinik örneklerden en sık (n= 16) soyutlanan *Bacteroides* izolatlarının 10'u *B. fragilis*, ikisi ise *Bacteroides thetaiotaomicron* olarak tür düzeyinde, dört izolat ise cins düzeyinde tanımlanmıştır. *Bacteroides* türleri en fazla karın içi (n= 6) ve perianal (n= 4) bölgelerden izole edilmiştir. *Actinomyces*, *Prevotella*, *Cutibacterium* ve *Peptoniphilus* türlerinden sırasıyla 15, 12, 12 ve 8 izolat tanımlanmıştır. Toplam 15 *Actinomyces* izolatı kütle spektrometre ile *Actinomyces odontolyticus* (n= 4), *Actinomyces oris* (n= 3), *Actinomyces radingae* (n= 3), *Actinomyces europeus* (n= 1), *Actinomyces schaalii* (n= 1) ve *Actinomyces* spp. (n= 3) olarak tanımlanmıştır. *Actinomyces* türleri en fazla baş-boyun ve cilt apselerinden izole edilmiştir. *Prevotella* spp., *Bacteroides* cinsinden sonra en sık izole edilen gram-negatif anaerop bakteriler olup en fazla baş-boyun, eklem ve kulak örneklerinden izole edilmiştir. Bir başka gram-negatif etken olan *Fusobacterium* spp. izolatlarının ikisi karın içi, ikisi ağız içi lezyonlardan, biri de baş-boyun bölgesinden izole edilmiştir. Bakteriyel vajinoz etkenlerinden olan *Mobilincus* spp. izolatlarının ikisi de vulva ve vajen örneklerinde saptanmıştır. Tanımlanan anaerop bakterilerin izole edildikleri vücut bölgelerine göre dağılımı Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tanımlanan 104 anaerop bakteriden 39'u sub-kültür işlemleri sırasında üretilmemiştir.

ADT çalışılan toplam 65 izolatın 26 (%40)'sını gram-pozitif basiller, 18 (%27.7)'ini gram-pozitif

koklar, 21 (%32.3)'ini de gram-negatif bakteriler (20 basil, 1 kok) oluşturmuştur. Anaerop bakteriyel infeksiyonlarda sıklıkla kullanılan metronidazole gram-pozitif koklarda %61.1, gram-negatif bakterilerde %33.3 oranında direnç saptanmıştır. Gram-negatif basillerin %76.2'si, gram-pozitif kokların %50'si ve gram-pozitif basillerin %30.8'i penisiline dirençli bulunmuştur. Kloramfenikole direnç gram-negatif basillerin %42.9'unda, gram-pozitif basillerin %19.2'sinde, gram-pozitif kokların ise %16.7'sinde tespit edilmiştir. Gradyent test çalışılan beş antibiyotikten en düşük oranda direnç saptananlar sefoksitin ve imipenem olmuştur. Her iki antibiyotiğe karşı gram-pozitif basillerin %15.4 (4/26)'ü, gram-negatif basillerin ise %14.3 (3/21)'ü dirençliyken; gram-pozitif koklarda sefoksitine direnç %11.1 (2/18), imipeneme direnç ise %22.2 (4/18) olarak belirlenmiştir. İmipeneme dirençli 11 izolatın altısı çalışmadaki tüm antibiyotiklere; beşi ise diğer antibiyotiklerin en az ikisine dirençli bulunmuştur (Tablo 3).

TARTIŞMA

Anaerop bakteriler normal insan vücut florasının önemli üyeleri olup gastrointestinal sistem, kadın genital sistemi, deri ve ağız başta olmak üzere, vücudun pek çok bölgesinde yer alır. Bağışıklık sisteminin zayıflaması ve vücudun anatomik bütünlüğünün zarar görmesi sonucunda, mortalite ve morbiditesi yüksek anaerop infeksiyonlar görülebilmektedir^[1]. Antibiyotik direnci dünya çapında hızla artarken, farklı coğrafyalardan dirençli anaerop bakteriler de bildirilmektedir^[10,11,15,22].

Tablo 2. Tanımlanan bakterilerin vücut bölgelerine göre dağılımı

Üreyen etkenler	Vücut bölgeleri													Toplam
	Baş-boyun	Cilt ve ekleri	Kanın içi	Eklem	Plevra	Ağız içi	Kulak	Meme	Vulva-vajen	Perianal skrotum	Üretra/skrotum	Beyin-spinal kord		
<i>Bacteroides</i> spp.	1	1	6	1	1	1	1	2	4	1	1	1	16	
<i>Actinomyces</i> spp.	5	3	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	15	
<i>Prevotella</i> spp.	3	4	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	12	
<i>Cutibacterium</i> spp.	2	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	12	
<i>Peptoniphilus</i> spp.	1	2	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	8	
<i>Parvimonas micra</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	6	
<i>Finegoldia magna</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	
<i>Fusobacterium</i> spp.	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	5	
<i>Clostridium</i> spp.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	
<i>Porphyromonas</i> spp.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	
<i>Veillonella</i> spp.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	
<i>Lactobacillus</i> spp.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	
<i>Anaerococcus</i> spp.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	
<i>Mobilicoccus</i> spp.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>Bulleidia extracta</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>Dialister pneumosintes</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
<i>Eggerthia</i> spp.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Toplam	16	13	12	12	11	9	8	7	6	6	2	2	104	

Tablo 3. İzole edilen anaerop bakterilerin antibiyotiklere direnç durumları

Bakteri adı	n (%)	Antibiyotiklere dirençli bakteri (n)					
		IMI	MTR	FOX	C	P	
Gram-pozitif basiller	<i>Cutibacterium</i> spp.	10	1	10	0	2	1
	<i>Actinomyces</i> spp.	10	1	10	1	1	2
	<i>Lactobacillus</i> spp.	3	2	3	2	1	1
	<i>Eggerthia</i> spp.	2	0	2	0	1	2
	<i>Bulleidia extracta</i>	1	0	0	1	0	1
	Toplam n (%)	26 (100)	4 (15.4)	25 (96.2)	4 (15.4)	5 (19.2)	8 (30.8)
Gram-pozitif koklar	<i>Peptoniphilus</i> spp	5	2	3	2	1	4
	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1	0	1	0	0	1
	<i>Anaerococcus</i> spp.	5	1	4	0	0	2
	<i>Finegoldia magna</i>	3	1	2	0	2	2
	<i>Parvimonas micra</i>	3	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	1	0	1	0	0	0
Toplam n (%)	18 (100)	4 (22.2)	11 (61.1)	2 (11.1)	3 (16.7)	9 (50)	
Gram-negatif basiller	<i>Bacteroides fragilis</i>	6	1	2	2	4	6
	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	1	0	0	0	0	0
	<i>Prevotella</i> spp.	6	0	0	0	2	5
	<i>Porphyromonas</i> spp.	2	1	1	1	1	1
	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	2	0	1	0	0	0
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1	0	1	0	0	1
	<i>Dialister pneumosintes</i>	1	0	1	0	0	1
	<i>Mobilincus</i> spp.	1	1	1	0	1	1
	<i>Veillonella parvula*</i>	1	0	0	0	1	1
Toplam	21 (100)	3 (14.3)	7 (33.3)	3 (14.3)	9 (42.9)	16 (76.2)	
Genel Toplam	65	11 (16.9)	43 (66.2)	9 (13.8)	17 (26.2)	33 (50.8)	

n: İzolat sayısı, IMI: İmipenem, MTR: Metronidazol, FOX: Sefoksitin, C: Kloramfenikol, P: Penisilin G.

Çalışmamızda anaerop bakteriler 368 klinik örneğin 73 (%19.8)'ünden izole edilmiş; bu örneklerin 50 (%13.6)'sinde sadece anaerop, 23 (%6.3)'ünde ise anaerop bakterilerin yanı sıra aerop/fakültatif anaerop etkenler soyutlanmıştır. Ülkemizde anaerop bakterilere dair yapılan az sayıda çalışmada farklı oranlarda anaerop bakteri üremeleri saptanmıştır. Ankara'da 1999-2004 yılları arasında yapılan bir çalışmada 394 klinik örneğin 75 (%20.5)'inde aerop ve anaerop etkenler birlikte, 28 (%7.6)'inde ise tek başına anaerop bakteriler izole edilmiştir^[23]. Erzurum'da 2000 yılına ait bir çalışmada 100 klinik örnekten 40'ında birer anaerop izolat soyutlanmıştır^[24]. Bozkurt ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptıkları 238 klinik

örneğin dahil edildiği çalışmada, 39 (%16.4) anaerop izolat patojen olarak değerlendirilmiştir^[25]. Demir ve Kesli, bir yıllık zaman diliminde 278 klinik örnekten 28 anaerop bakteri soyutlanmıştır^[26]. Doğan ve Baysal, Konya'da 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada 100 klinik örneğin sekizinde anaerop ve fakültatif anaerop, yedisinde çoklu anaerop bakteri ürediğini bildirmişlerdir^[27]. Uysal ve arkadaşlarının Cumhuriyet Üniversitesi'nin yedi yıllık verilerini inceledikleri bir çalışmada 543 örneğin 134 (%24.6)'ünde anaerop bakteri soyutlanmıştır^[28]. Eskişehir Osmangazi Üniversitesinde 2007-2008 yılları arasında yürütülen bir tez çalışmasında 14 aylık bir süre içinde 241 klinik örneğin 31 (%12.9)'inden anaerop etkenler,

17 (%7)'sinden anaerop ve aerop etkenler izole edilmiştir^[29]. Parapnömonik efüzyonu olan 236 hastanın 66 (27.9%)'sında plevral sıvı örneklerinde anaerop bakteriler soyutlanmıştır^[30].

Bacteroides (16/104), *Actinomyces* (15/104), *Prevotella* (12/104), *Cutibacterium* (12/104) ve *Peptoniphilus* (8/104) cinsleri çalışmamızda en fazla soyutlanan anaerop bakterilerdi. Uysal ve arkadaşlarının çalışmasında *Bacteroides* spp. (%29.9), *Peptostreptococcus* spp. (%23.1) ve *Cutibacterium* spp. (%20.2) en fazla izole edilen anaerop bakteriler olarak bildirilmiştir^[28]. Slovenya'da üçüncü basamak bir hastanede izole edilen 2673 anaerop bakteri MALDI-TOF MS yöntemi ile tanımlanmış; *B. fragilis* grubu (n= 817, %31), gram-pozitif koklar (n= 589, %22), *Prevotella* spp. (n= 313, %14) ve *Cutibacterium* spp. (n= 225, %8) en sık saptanan bakteriler olarak bildirilmiştir^[2]. Demir ve Kesli'nin 278 klinik örneği dahil ettikleri çalışmada 28 anaerop gram-negatif basilin 14'ü *B. fragilis* grup, dokuzu *Prevotella* spp., beşi de *Fusobacterium* spp. olarak tanımlanmıştır^[26]. Keşli ve Çelebi'nin 100 klinik örnekten izole ettikleri 40 anaerop bakterinin 11'i *B. fragilis* grup, beşi gram-pozitif sporlu basil, ikisi *Fusobacterium* spp. olarak bildirilmiştir^[24]. Bozkurt ve arkadaşlarının 2002 yılında 238 klinik örneğin dahil edildiği çalışmalarında *Actinomyces israelii* (14/39) ve *Cutibacterium acnes* (9/39) en sık saptanan etkenler olarak bildirilmiştir^[25]. Eskişehir'de Argun Türkkkan ve Kiremitçi'nin tez çalışmasında en fazla izole edilen anaerop etkenler *Bacteroides* spp. (14/54), *Porphyromonas* spp. (10/54) ve *Peptostreptococcus* spp. (10/54) olarak bildirilmiştir^[29]. Ampiyem örneklerinin incelendiği çalışmada ise en sık soyutlanan anaerop bakteriler *Peptostreptococcus* spp. (n= 41, %34.8), *B. fragilis* (n= 28, %23.7), *P. acnes* (n= 17, %14.4) ve *P. melaninogenica* (n= 8, %6.8) olarak bildirilmiştir^[30]. Rusya'da bir kanser araştırma merkezinde gram-pozitif anaerop kokların incelendiği bir çalışmada toplam 81 izolatin büyük kısmını *Fingoldia magna* (n= 38, %47) ve *Peptoniphilus harei* (n= 23, %28) izolatlarının oluşturduğu; diğer izolatların *Parvimonas micra* (n= 8), *Peptostreptococcus anaerobeus* (n= 7), *Anaerococcus vaginalis* (n= 4) ve *Peptoniphilus gorbachii* (n= 1) olduğu bildirilmiştir^[31].

Çalışmamızda ADT çalışılan gram-pozitif basilin neredeyse tamamı (25/29) metronidazole dirençli bulunmuştur. Bu durum *Actinomyces*, *Cutibacterium*, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri başta olmak üzere spor oluşturmeyen gram-pozitif anaerop basillerin çoğunda bulunan intrinsek direncin göstergesidir^[7].

Çalışmamızda gram-pozitif kokların yarıdan fazlası (11/18), gram-negatif bakterilerin ise üçte biri (7/21) metronidazole dirençli bulunmuştur. Anaerop bakterilerle ilgili oldukça geniş bir derlemede, gerek Avrupa gerekse Amerika'da gram-pozitif kok ve gram-negatif basillerde metronidazol direncinin oldukça düşük (< %1) olduğu bildirilmiştir^[13]. Ülkemizden bildirilen oranlar ise değişkenlik göstermektedir. Van'da 39 anaerop (26'sı gram-pozitif basil) izolatin dahil edildiği çalışmada metronidazole direnç %94.9 ile en yüksek oranda bildirilirken aynı çalışmada klindamisin, karbenisilin, sefotaksim, tetrasiklin, sefoksitin ve kloramfenikole direnç oranları sırasıyla %56.4, %48.7, %38.4, %35.9, %33.3 ve %12.8 olarak saptanmıştır^[25]. Konya'da 22 izolat ile yapılan bir çalışmada gram-pozitif koklarda metronidazol direnci bildirilmezken, 12 gram-negatif basilin 1 (%8.3)'inde, üç gram-pozitif basilin ikisinde metronidazole direnç saptanmıştır^[27]. Afyon'da 28 anaerop izolatin test edildiği çalışmada tüm izolatların metronidazole duyarlı olduğu bildirilmiştir^[26]. 2010-2016 yılları arasında dokuz Avrupa ülkesinden 7008 anaerop izolatin dahil edildiği bir sürveyans çalışmasında gram-pozitif ve gram-negatif izolatlar arasında en düşük direncin meropenem ve metronidazole karşı olduğu belirtilmiştir (sırasıyla %0-1.7 ve %0-1.9)^[32]. Wybo ve arkadaşları 2012 yılında yürüttükleri bir çalışmada, 403 anaerop izolatin %8'inin metronidazole dirençli olduğunu bildirmişlerdir^[33]. Metronidazole direnç, Avrupa'da çok düşük, ülkemizin diğer bölgelerinde ise düşük oranlarda bildirilirken, Van ve Diyarbakır'da saptanan yüksek oranlar dikkat çekmektedir. Antibiyotik direnç profilleri ülke-ler, bölgelere hatta hastanelere göre değişkenlik gösterebilir. Belirli antibiyotiklerin yüksek oranda kullanımı dirençli izolatların seleksiyonuna ve yayılımına yol açabilir. Çalışmamızda saptanan yüksek metronidazol direncinin, bölgemizde antibiyotiğin yüksek oranda irrasyonel kullanımına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Giardiyaz gibi

bağırsak paraziter hastalıklarının sık görüldüğü bu bölgelerde akut gastroenterit tedavisinde ampirik metronidazol kullanım oranının yüksek olması metronidazol direncine katkı sağlamış olabilir. Anaerop infeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan metronidazole bu düzeyde direnç gelişmesi endişe vericidir. Akılcı antibiyotik kullanımının önemini gösteren bu veriler metronidazolün endikasyon dışı kullanımlarının azaltılmasına yönelik ciddi önlemler alınmasını gerekli kılar.

ADT çalıştığımız gram-pozitif basillerin %30.8'inde, gram-pozitif kokların %50'sinde, gram-negatif bakterilerin ise %76'sında penisilin G'ye direnç saptanmıştır. Kloramfenikol direnci gram-negatif basillerde %42.9 iken gram-pozitif basil ve koklarda nispeten daha düşük oranlarda (sırasıyla %19.2 ve %16.7) bulunmuştur. İmipenem ve sefoksitine direnç, sırasıyla %16.9 ve %13.8 ile düşük oranlarda saptanmış ancak özellikle imipenem direncin literatür verilerine göre yüksekliği dikkat çekmiştir. Belçika'da 2012 yılında, 403 anaerop izolatın dahil edildiği bir çalışmada EUCAST sınır değerleri dikkate alındığında izolatların %60'ının penisiline, %30'unun klindamisine dirençli olduğu; piperasilin-tazobaktam, amoksisilin-klavulanik asit, meropenem ve kloramfenikole direncin ise sırasıyla %9, %6, %4 ve %2 olduğu bildirilmiştir^[33]. Ülger Toprak ve arkadaşlarının *Bacteroides* cinsine ait bakterilerde karbapenem direnciyle ilgili yayınında 66 izolatın %27'sinde karbapenemaz metallo-beta-laktamaz geni olan *cfiA* geninin saptandığı, ancak 66 izolatın besinde fenotipik olarak karbapenem direnci görüldüğü bildirilmiştir^[34]. Son yıllarda karbapenem grubu antibiyotik kullanımı ve bunun getirisi olan karbapenem direncinin artmasının anaerop bakterileri de etkilemesi kaçınılmazdır.

Doğan ve Baysal'ın 2010 yılına ait Konya'da yaptıkları çalışmada soyutlanan tüm izolatların imipenem ve piperasilin-tazobaktama duyarlı oldukları, 22 izolattan dokuzunun penisiline dirençli olduğu, gram-pozitif kokların çalışılan tüm antibiyotiklere duyarlı oldukları saptanmıştır. Gram-negatif basillerde penisilin ve klindamisin dirençleri sırasıyla %75 (9/12) ve %33.3 (4/12) olarak saptanırken toplam üç adet gram-pozitif basilden birer izolatın klindamisin ve sefoksitine dirençli olduğu belirtilmiştir^[27]. Afyon'da 28 gram-negatif

izolatın dahil edildiği çalışmada penisilin, sefoksitin ve klindamisine sırasıyla %78.5, %21.4 ve %17.8 direnç saptanırken moksifloksasin, imipenem, meropenem, ertapenem ve doripeneme direnç saptanmamıştır^[26].

Çalışmamızda dirençli izolat oranının görece yüksek olmasında çalışılan izolat sayısının azlığının etkisi olduğunu düşünmekteyiz. Bu çalışma bölgemize ait anaerop etkenler ve antibiyotik direnç paternlerinin paylaşılmasına dair bir başlangıç niteliğinde olup daha çok sayıda izolatın dahil edildiği periyodik izlemlerle bu verilerin artırılması umudunu taşımaktayız. Bölgesel direnç verileri ampirik tedavilere yol göstermenin yanı sıra akılcı antibiyotik kullanımı ile ilgili önlemler konusunda da önemli veriler sağlar. Metronidazol ve imipenem direncin yüksek olması, bölgemizde ayaktan hastalarda metronidazol, hastanede yatan hastalarda ise karbapenem kullanımının yeniden gözden geçirilmesini ve antibiyotikleri akılcı kullanmaya yönelik önlemlerin artırılmasını gerekli kılacaktır.

Çalışmamızın bir diğer eksikliği, anaerop etkenlerin tanımlanmasında altın standart olan 16S rRNA sekanslama yönteminin kullanılmamış olmasıdır. Gerek bakterilerin tiplendirilmesi gerekse dirençli izolatlarda dirence yol açan genlerin gösterilmesi açısından moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü (DÜBAP) tarafından TIP-17-01 no'lu proje ile desteklenmiştir.

ETİK KURUL ONAYI

Çalışma için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 16.12.2016 tarih ve 346 sayılı karar ile onay alındı.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

YAZAR KATKISI

Anafikir/Planlama: Tüm yazarlar

Analiz/Yorum: SA

Veri sağlama: NÖ, NS

Yazım: NÖ

Gözden Geçirme ve Düzeltme: Tüm yazarlar

Onaylama: Tüm yazarlar

KAYNAKLAR

1. Winn WJ, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, et al. The anaerobic bacteria. In: Koneman EW (ed). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 7th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2017:984-1074.
2. Jeverica S, Kolenc U, Mueller-Premru M, Papst L. Evaluation of the routine antimicrobial susceptibility testing results of clinically significant anaerobic bacteria in a Slovenian tertiary-care hospital in 2015. *Anaerobe* 2017;47:64-9.
3. Nagy E, Becker S, Kostrzewa M, Barta N, Urban E. The value of MALDI-TOF MS for the identification of clinically relevant anaerobic bacteria in routine laboratories. *J Med Microbiol* 2012;61:1393-400.
4. Veloo ACM, Erhard M, Welker M, Welling GW, Degener JE. Identification of gram-positive anaerobic cocci by MALDI-TOF mass spectrometry. *Syst Appl Microbiol* 2011;34:58-62.
5. Barba MJ, Fernandez A, Oviano M, Fernandez B, Velasco D, Bou G. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of anaerobic bacteria. *Anaerobe* 2014;30:126-8.
6. Ülger Toprak N, Alida CMV, Urban E, Wybo I, Justesen US, Jean-Pierre H, et al. Performance of mass spectrometric identification of clinical *Prevotella* species using the VITEK MS system: a prospective multi-center study. *Anaerobe* 2018;54:205-9.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 28th Edition*; 2018.
8. EUCAST. *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters- Version 8.0.*; 2018.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. *M07-A10 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Tenth Edition.*; 2015.
10. Karlowsky JA, Walkty AJ, Adam HJ, Baxter MR, Hoban DJ, Zhanel GG. Prevalence of antimicrobial resistance among clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group in Canada in 2010-2011: CANWARD surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:1247-52.
11. Nagy E, Urban E, Nord CE. Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience. *Clin Microbiol Infect* 2011;17:371-9.
12. Brook I. Antibiotic resistance of anaerobic bacteria. In: Mayers DL, Lerner SA, Quelette M, Sobel JD (eds). *Antimicrobial Drug Resistance*. Totowa, NJ: Humana Press, 2009:873-99.
13. Gajdacs M, Spengler G, Urban E. Identification and antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: Rubik's cube of clinical microbiology? *Antibiot* 2017;6:25.
14. Ülger Toprak N, Veloo ACM, Urban E, Wybo I, Justesen US, Jean-Pierre H, et al. A multicenter survey of antimicrobial susceptibility of *Prevotella* species as determined by Etest methodology. *Anaerobe* 2018;52:9-15.
15. Liu CY, Huang YT, Liao CH, Yen LC, Lin HY, Hsueh PR. Increasing trends in antimicrobial resistance among clinically important anaerobes and *Bacteroides fragilis* isolates causing nosocomial infections: emerging resistance to carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:3161-8.
16. Urban E, Soki J, Brazier JS, Nagy E, Duerden BI. Prevalence and characterization of *nim* genes of *Bacteroides* spp. isolated in Hungary. *Anaerobe* 2002;8:175-9.
17. Holden J, Hall GS. Collection, transport, and processing of clinical specimens. In: Garcia LS (ed). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2010:4.2.1.
18. Mangels JI. Incubation techniques for anaerobes. In: Garcia LS (ed). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2010:4.5.1.
19. Summanen P. Rapid disk spot tests, and other rapid or primary methods, anaerobes. In: Garcia LS (ed). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2010:4.6.1.1.
20. MALDI Biotyper CA System-Clinical Application for Identification of Microorganisms. Billerica, MA; 2014.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute. *M56-A Principles and Procedures for Detection of Anaerobes in Clinical Specimens; Approved Guideline*, 2014.
22. Hedberg M, Nord CE. Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:475-88.
23. Ercis S, Tunçkanat F, Haşçelik G. Anaerobik enfeksiyon şüpheli hastalardan izole edilen anaerop bakteriler. *Mikrobiyol Bul* 2005;39:447-54.
24. Keşli R, Çelebi S. Çeşitli klinik örneklerden izole edilerek tanımlanan anaerob bakteriler ve E-test yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Derg* 2010;40:87-96.
25. Bozkurt H, Güdücüoğlu H, Bayram Y, Gülmez S, Kutulay N, Bozkurt N, et al. Klinik örneklerden izole edilen anaerob bakteriler ve antibiyotik duyarlılıkları. *Van Tıp Derg* 2004;11:85-91.
26. Demir C, Keşli R. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen gram-negatif anaerob basillerin tiplendirilmesi ve antibiyotik direnç profillerinin E-test yöntemi ile belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul* 2018;52:72-9.
27. Doğan M, Baysal B. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerob bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul* 2010;44:211-9.
28. Bilge Uysal E, Çelik C, Alan Ç, Kaya H, Gözel MG, Bakıcı MZ. Klinik örneklerden izole edilen anaerobik bakteriler: yedi yıllık değerlendirme. *Cumhuriyet Tıp Derg* 2014;36:327-31.
29. Argun Türkan A, Kiremitçi A. Klinik örneklerden soyutlanan anaerob bakterilerin tanımlanması ve E-test yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. 2008.

30. Demirci M, Gemicioglu B, Saribas S, Taner Z, Mamal-Torun M, Karatoka B, et al. A retrospective analysis of anaerobic bacteria isolated in 236 cases of pleural empyema and their prevalence of antimicrobial resistance in Turkey. *Clin Lab* 2018;64:1269-77.
31. Shilnikova II, Dmitrieva NV. Evaluation of antibiotic susceptibility of gram-positive anaerobic cocci isolated from cancer patients of the NN Blokhin Russian Cancer Research Center. *J Pathog* 2015;2015:648134.
32. Rodloff AC, Dowzicky MJ. In vitro activity of tigecycline and comparators against a European collection of anaerobes collected as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.) 2010–2016. *Anaerobe* 2018;51:78-88.
33. Wybo I, Van den Bossche D, Soetens O, Vekens E, Vandoorslaer K, Claeys G, et al. Fourth Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:155-61.
34. Ülger Toprak N, Uzunkaya OD, Soki J, Soyletir G. Susceptibility profiles and resistance genes for carbapenems (cfiA) and metronidazole (nim) among *Bacteroides* species in a Turkish University Hospital. *Anaerobe* 2012;18:169-71.

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Uzm. Dr. Nida ÖZCAN

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Diyarbakır-Türkiye

E-posta: nida.ozcan@dicle.edu.tr