



Anaerop Bakterilerin Tanımlanmasında Çeşitli Yöntemlerin Karşılaştırılması ve Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıkların Araştırılması

Comparison of Various Methods for Identification of Anaerobic Bacteria and Investigation of Sensitivity to Antibiotics

Selin UĞRAKLI¹([iD](#)), Metin DOĞAN²([iD](#))

¹ Konya İl Sağlık Müdürlüğü, Halk Sağlığı Laboratuvarı, Konya, Türkiye

² Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Cite this article as: Uğraklı S, Doğan M. Anaerop bakterilerin tanımlanmasında çeşitli yöntemlerin karşılaştırılması ve antibiyotiklere karşı duyarlılıkların araştırılması. FLORA 2022;27(2):383-94.

ÖZ

Giriş: Bu çalışmada, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na anaerop infeksiyon şüphesiyle kabul edilen klinik örneklerden izole edilen anaerop bakterilerin farklı yöntemlerle tanımlanması ve çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıkların belirlenmesi hedeflenmiştir.

Materyal ve Metod: Çalışmaya, Ağustos 2019 ile Mart 2020 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen 197 klinik örnek dahil edilmiştir. Örnekler anaerop kültür teknikleri kullanılarak inkübe edilmiş ve elde edilen izolatlar, konvansiyonel yöntemler, an-ident diskleri, API 20 A paneli ve Vitek 2 yarı otomatize sistem uyumlu ANC kartlar aracılığıyla tanımlanmıştır. İzolatların penisilin G, sefoksitin, klindamisin, metronidazol, imipenem, piperasilin/tazobaktam, seftolozan/tazobaktam duyarlılıkları konsantrasyon gradiyent yöntemiyle belirlenmiştir.

Bulgular: Anaerop bakteri üremesi saptanan 37 klinik örnekten 46 anaerop bakteri izole edilmiş ve bu izolatların %69.6'sını gram-pozitif anaeroplara, %30.4'ünü gram-negatif anaerop bakterilerin oluşturduğu tespit edilmiştir. Gram-negatif anaeroplardan en sık *Prevotella* spp. (n= 7) ve *Bacteroides fragilis* grup (n= 5) izole edilmiştir. Gram-pozitif anaeroplardan ise en sık *Clostridium* spp. (n= 9) ve *Peptostreptococcus* spp. (n= 8) soyutlanmıştır. API 20A ile Vitek 2 ANC arasındaki cins ve tür düzeyinde uyum sırasıyla %79.5 (35/44), %43.2 (19/44) olarak tespit edilmiştir. En yüksek direnç penisiline (%38.6) karşı saptanmıştır. Sefoksitin, klindamisin, metronidazol, piperasilin/tazobaktam ve imipenem duyarlılık oranları ise sırasıyla %93.2; %65.9; %84.1; %93.2 ve %100 olarak bulunmuştur. Yeni antimikrobiallerden seftolozan-tazobaktamın MİK değerinin bakteri türüne göre geniş bir aralıkta (0.032-12 mg/L) değişkenlik gösterdiği; en yüksek MİK değerlerine *B. fragilis* grup suşlarında rastlanırken; en düşük MİK seviyeleri *Veillonella* spp. (MİK= 0.25 mg/L) ve *Fusobacterium* spp. (MİK= 0.5 mg/L) izolatlarında tespit edilmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak; rutinde sıkça kullanılan anaerop tanı testleri arasındaki performans karşılaştırmasının yapıldığı bu çalışmanın verileri; tanımlama sonucu ile klinik ya da antibiyotik duyarlılık profillerinde uyumsuzluk olması durumunda tanının farklı bir tanı testi ile desteklenmesi gerektiğini göstermektedir. İzolatlarımızdan birinin, laboratuvarımızda soyutlanan ilk metronidazol dirençli *B. fragilis* kökeni olması; gelişebilecek direnç yönünden takibini gerektirmektedir. Ülkemizde seftolozan-tazobaktamın anti-anaerop etkinliğinin araştırıldığı bildiğimiz kadarıyla bu ilk çalışmanın sonuçları; saptanan MİK değerlerinin literatür ile uyumlu olarak bakteri türleri arasında oldukça değişkenlik göstermesi, daha çok bakteri türü ve sayısını içeren çalışmalara gereksinim olduğunu düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Anaerop bakteri; Antibiyotik duyarlılık; Direnç

Geliş Tarihi/Received: 18/01/2022 - Kabul Ediliş Tarihi/Accepted: 08/06/2022

©Telif Hakkı 2022 Flora. Makale metnine www.floradergisi.org web adresinden ulaşılabilir.

Çevrim içi Yayın Tarihi: 12.09.2022

ABSTRACT

Comparison of Various Methods for Identification of Anaerobic Bacteria and Investigation of Sensitivity to Antibiotics

Selin UĞRAKLI¹, Metin DOĞAN²

¹ Public Health Laboratory, Konya Provincial Directorate of Health, Konya, Türkiye

² Department of Medical Microbiology, Necmettin Erbakan University Meram Faculty of Medicine, Konya, Türkiye

Introduction: In this study, it was aimed to identify anaerobic bacteria isolated from clinical specimens admitted to Necmettin Erbakan University Meram Faculty of Medicine Hospital, Microbiology Laboratory with suspicion of anaerobic infection via different methods and to determine the antibiotic susceptibility against several antibiotics.

Materials and Methods: The study included 197 clinical specimens sent for anaerobic culture between August 2019 and March 2020. The samples were incubated using anaerobic culture techniques and the isolates obtained were identified by conventional methods, an-ident discs, API 20 a panel and Vitek 2 semi-automatic system compatible ANC cards. Penicillin G, cefoxitin, clindamycin, metronidazole, imipenem, piperacillin/tazobactam, ceftolozane /tazobactam susceptibilities of isolates were determined by concentration gradient method.

Results: A total of 46 anaerobic bacteria were isolated from 37 (18.8%) samples; 69.6% of these isolates were gram-positive anaerobic bacteria and 30.4% were gram-negative anaerobes. The most frequently isolated anaerobic bacteria were *Clostridium* spp. (n= 9) and *Peptostreptococcus* spp. (n= 8) in gram-positives; *Prevotella* spp. (n= 7) and *Bacteroides fragilis* group (n= 5) in gram-negatives. The compatibility between API20A panels and ANC cards was determined 79.5% (35/44), 43.2% (19/44) of test strains at the genus and species levels respectively. The highest rate of resistance was detected against penicillin G (38.6%). Cefoxitin, clindamycin, metronidazole, piperacillin/tazobactam and imipenem sensitivity rates were 93.2%, 65.9%, 84.1%, 93.2% and 100% respectively. The MIC value of ceftolozane-tazobactam, one of the new antimicrobials, varied in a wide range (0.032-12mg/L) according to the bacterial species. While the highest MIC values were found in *B. fragilis* group strains, the lowest levels were detected in *Veillonella* spp. (MIC= 0.25) and *Fusobacterium* spp. (MIC= 0.5 mg/L) isolates.

Conclusion: As a result, the data of this study, which is one of the limited number of studies evaluating the performance among anaerobic diagnostic tests frequently used in routine; suggested that the diagnosis should be supported by a different diagnostic test in case of inconsistency between the identification result and clinical or antibiotic susceptibility profiles. One of our isolates was the first strain of metronidazole resistant *B. fragilis* isolated in our laboratory in which requires monitoring of susceptibility profiles. To our knowledge, this is the first study to evaluate the efficacy of ceftolozane/tazobactam on anaerobic clinical isolates from our country. Ceftolozane/tazobactam activity was detected in great variability between bacterial species in accordance with the literature data. So, it is need optimized studies including more bacterial species and numbers.

Key Words: Anaerobic bacteria; Antibiotic susceptibility; Resistance

GİRİŞ

Anaerop bakteriler insan endojen mikroflorasının önemli üyeleri olup; oral, gastrointestinal sistem, kadın genital sistem ve deri başta olmak üzere, vücudumuzun çeşitli anatomik bölgelerinde değişen oranlarda bulunurlar^[1]. Bu bakteriler çoğunlukla fırsatçı mikroorganizmalar olup; anaerobik enfeksiyona zemin hazırlayan çeşitli durumlarda enfeksiyon etkeni olabilirler^[2]. İlişkili olduğu durumlar, lokalize apsenden hayatı tehdit eden enfeksiyonlara kadar geniş bir aralıkta değişim göstermektedir^[3]. Bu sebeple çoğu zaman göz ardı edilen bu patojenlere; gerekli önem verilmeli

ve rutin laboratuvar işleyişinde tanımlama ve ileri araştırma çalışmaları yapılmalıdır^[4].

Anaerop bakterilerin klinik numunelerden izole edilmeleri ve tanımlanmalarının oldukça güç olduğu iyi bilinmektedir^[1]. Kültür için kullanılacak özel besi yerleri, anaerobik ortam koşullarının sağlanması ve uzun süreli inkübasyon anaerop bakteri izolasyonunda elzemdir^[5]. Gelişen teknoloji, tanısal mikrobiyoloji laboratuvarlarına yenilikler ve kolaylıklar getirmektedir. Ancak geliştirilen her yöntemin rutin tanı laboratuvarlarımızda uygulanması, kapasite ve getireceği ek maliyet problemlerinden dolayı mümkün olmayabilir^[6,7].

Anaerobik bakteriyoloji laboratuvarlarında geleneksel metotlar ile tür düzeyinde tanımlama hem zor hem de yoğun çaba gerektirmektedir. Rapid ID 32A, API 20A ya da Vitek 2 ANC kart (BioMérieux, Marcy-l'Etoile, France) gibi ticari sistemler pratik ve hızlı olmakla birlikte; veri tabanlarının kısıtlı olmasına rağmen cins düzeyinde güvenilir tanımlamaya imkan sağlamaktadır^[8,9]. Ayrıca periferden merkeze geniş bir alanda pratik kullanım imkanı bulması, ulaşılabilir ve kolay yorumlanabilir olması nedeniyle bu ilk başvuru tanı testlerinin, anaerop bakteri tanı akışındaki yerini daha uzun yıllar koruyacağını düşünmekteyiz.

Anaerop bakterilerde son yıllarda artan antibiyotik direnci anaerop bakteri infeksiyonlarında ampirik tedavi seçeneklerinin öngörülmesini kısıtlamaktadır^[10]. Anaerop bakterilere yönelik ulusal ölçekte aktif bir sürveyans ağının bulunmaması; periyodik aralıklara bölgesel antibiyotik direnç oranlarının belirlenmesinin önemini ve gerekliliğini ortaya koymaktadır^[2,5,11]. Anaerop bakterilere etkili antibiyotiklerden penisilin/beta laktamaz inhibitörlerine (ampisilin-sulbaktam/piperasilin-tazobaktam) tüm dünyada azalmış duyarlılıkların bildirilmesi anaerop bakteri kaynaklı infeksiyonların tedavisinde yeni antimikrobiyallerin kullanımını düşündürmüştür^[12]. Bunlardan seftolozan-tazobaktam 2014 yılında komplike intraabdominal infeksiyonlarda metronidazolle kombine kullanım endikasyonu ile FDA onayı almış, yeni bir oksimino-sefalosporindir^[13-15]. Anti-anaerop etkinliğinin bakteri türleri arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir^[12,14]. Ancak bildiğimiz kadarıyla bu yeni antibiyotik grubunun anaerop bakteriler üzerindeki etkinliğini değerlendiren ülkemizden bildirilmiş henüz bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, anaerop etken tespitinde rutin tanıda sıkça kullanılan geleneksel yöntemler, API 20A ve Vitek 2 ANC tanı sistemlerinin performanslarının karşılaştırması ile sistem uyumlarının incelenmesi, çeşitli antibiyotiklere karşı direnç düzeyini belirlemesi ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Çalışma için Necmettin Erbakan Üniversitesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 17.02.2017 tarih ve 2017/804 sayılı

karar ile onay alındı. Çalışmaya 1 Ağustos 2019 ile 25 Mart 2020 tarihleri arasında hastanemizin çeşitli kliniklerinden anaerop infeksiyon şüphesiyle merkez laboratuvarına gönderilen 197 klinik örnek dahil edildi. Apse ve sıvı materyallerin büyük çoğunluğu steril kapaklı enjektörlerde, doku örnekleri ise steril kaplarda ya da tarafımızdan kliniklere temin edilen hazır ticari tiyoglikolatlı sıvı besiyerlerinde (Orbak, Türkiye) laboratuvarımıza dakikalar içerisinde ulaştırıldı. Kan örneği ve bazı sıvı bazlı numunelerin (periton sıvısı, plevra sıvısı) ekimi için hem transport hem de kültür ortamını sağlayan otomatize kan kültür cihazımızla uyumlu BD BACTEC™ *Lytic Anaerobic medium* (Becton-Dickinson, Sparks, MD, ABD) kan kültür şişeleri kullanıldı ve şişe içine 3-10 mL materyal hasta başında inoküle edilerek ulaştırıldı.

Örnekler bekletilmeden değerlendirilmeye alındı. Uygun şartlarda alınmayan ve taşınmayan örnekler ile pamuklu eküvyonla alınan yüzeysel sürüntü örnekleri çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya alınan numunelerin makroskopik özellikleri (materyalin nekrotik doku içermesi, kanlı, pürülan olması, sülfür granülleri içermesi ve kötü koku) öncelikli olarak değerlendirildi. Gram boyama ile direkt mikroskopik incelemesi ve aerop/anaerop kültürleri yapıldı. Aerop kültür için %5 insan kanlı agar ve *eosin methylen blue* (EMB) agara ekimi yapıldı. Aerop koşullarda 35-37°C'de 24 saat inkübe edilmek üzere etüvlere yerleştirildi. Anaerop kültür için temel besiyeri olarak %5 defibrine koyun kanı ve vitamin K₁ (1µg/mL) eklenerek *Scheadler* agar laboratuvarımızda hazırlandı. Selektif besiyeri olarak hazır olarak temin edilen *Bacteroides* safra eskülün (BSE) agar (Orbak, Ankara, Türkiye) kullanıldı. Tiyoglikonatlı sıvı besiyerleri ise; Gram boyamada bakteri varlığına rağmen kültürde üremenin saptanmadığı ya da çok az bakteri kolonisi tespit ettiğimiz örneklerde yeniden ekim için kullanıldı.

Anaerop kültür için hazırlanan plaklar 2.5 L kapasiteli anaerop jarlara (AnaeroJar, Oxoid, İngiltere) ve ticari anaerop plastik posetlere konuldu. Anaerop ortam sağlayıcı olarak AnaeroGen (Thermo Scientific, Oxoid, İngiltere) paketler kullanıldı. Ortamın denetimi için rezasurin emdirilmiş kağıt stripler Anaerotest (Oxoid, İngiltere) kullanıldı. Yerleştirilerek striplerin bir-iki

saat içinde maviden beyaza renk değişimi gözlemlendi. Plaklar anaerop atmosfer koşullarında 36°C'de azami 48 saat inkübasyona bırakıldı ve gereği halinde yedi güne uzatıldı. Sonrasında sadece anaerop ekimde üreyen kolonilere aerotolerans testi uygulandı ve buna göre zorunlu anaerop özellik gösteren izolatlar tanımlamaya alındı.

İzolatların Tanımlanması

Soyutlanan anaerop bakterilerin tanımlanmasında; makroskopik koloni görünümü, mikroskopik morfoloji, Gram boyanma özellikleri, antibiyotik tanımlama diskleri ve biyokimyasal testlerden faydalanılarak konvansiyonel yöntemlerle tanımlama yapıldı. Kolistin (10 µg), kanamisin (1000 µg), vankomisin (5 µg), eritromisin (60 µg), penisilin (2 units), rifampisin (15 µg) disklerinden oluşan "Anldent" diskler (Oxoid, İngiltere) öncesinde, hazırlanan bakteri süspansiyonundan homojen ekim yapılmış *Scheadler* besiyerine yerleştirildi. Ardından 48 saatlik anaerop şartlardaki inkübasyon sonrası disklerle duyarlılık durumlarına göre bakteri cinsine karar verildi. Ayrıca API 20A ticari hazır paneller kullanılarak bakterilerin biyokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi sonucu tanımlama yapıldı. Eş zamanlı olarak koloniler Vitek 2 (BioMérieux, Fransa) yarı otomatize sistem uyumlu Vitek ANC kart ile üretici firma önerileri doğrultusunda çalışılarak identifikasyon sağlandı.

Antibiyotik Duyarlılık Testi

Çalışmamızda, ana plaklardan saflaştırma yapılarak pasajlanmış bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek amacıyla; benzil-penisilin G (PG), klindamisin (CM), metronidazol (MZ), imipenem (IP), sefoksitin (FX) içeren E-test (BioMérieux, Fransa) stripleri ile piperasilin tazobaktam (TPZ) ve seftolozan-tazobaktam (C/T) antibiyotiklerini içeren gradiyent şerit testleri (Liofilchem, İtalya) kullanıldı. Antibiyotik duyarlılık testi (ADT) üretici firma önerileri doğrultusunda uygulandı. ADT çalışmasında *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 standart suşu kullanılarak kalite kontrol sağlandı. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri öncelikli olarak EUCAST Version 10.0¹⁶ klinik sınır değerlere göre yorumlandı. Ancak bu dökümanda sınır değer belirtilmeyen sefoksitin için CLSI kriterlerine göre değerlendirme yapıldı. Her iki rehberde de anaerobik bakterilerde sınır değeri

belirtilmeyen seftolozan-tazobaktam için MİK₅₀ değerleri belirlendi.

BULGULAR

Anaerop infeksiyon şüphesiyle çalışmaya dahil edilen 197 klinik numune incelenerek aerop ve anaerop kültürleri yapıldı. Bu örneklerin 22'sinde (%11.2) sadece anaerop, 78'inde (%39.6) sadece aerop/fakültatif anaerop, 15'inde (%7.6) hem aerop hem de anaerop olmak üzere toplamda numunelerin 115'inde (%58.4) bakteri üremesi tespit edildi. Çalışmada en fazla anaerop bakteri izole edilen klinik numune grubunu; apse 17/76 (%22.4), drenaj 7/52 (%13.5) ve biyopsi 6/26 (%23.08) örnekleri oluşturdu. Örneklerin türü ve izole edilen aerop/anaerop bakteri sayı dağılımları Tablo 1'de verilmiştir.

Anaerop üreme saptanan 37 örnekten toplam 46 adet anaerop bakteri izole edildi. Örneklerin dokuzunda birden fazla anaerop bakteri üremesi saptandı. Her bir anaerop üreme başına ortalama 1.2 adet anaerop bakteri üremesi oldu. Çalışmamızda soyutlanan 46 anaerop etkenin 44'ünde API 20A veya Vitek ANC kartların en az biriyle (Tablo 2); bu suşların 41'inde ise her iki sistemle de identifikasyon sağlandı. API 20A tarafından tanımlanamayan bir izolat; ANC kart tarafından *Lactobacillus hilgardii* olarak tanımlanmamayan iki izolat ise, API 20A ile *B. fragilis* ve *Fusobacterium nucleatum* olarak isimlendirildi. Her iki sistemle de belirlenemeyen iki suşun tanımlanmasında geleneksel yöntemlerden faydalanıldı. İzolatlar sırasıyla 'gram-pozitif anaerop kok' ve 'gram-pozitif anaerop basil' olarak belirlendi.

Her iki ticari panellerde tanımlanamayan iki izolatı göz ardı ettiğimizde API 20A ve Vitek ANC kartın anaerop bakteri identifikasyonundaki cins düzeyindeki uyumu 35/44 (%79.5) olarak saptandı. Cins düzeyinde uyumlu olan 35 izolatın 19'unda (%43.2) tür düzeyinde de uyumluluk mevcuttu. Cins düzeyinde uyumlu olan ancak tür düzeyinde uyumun olmadığı 16 anaerop bakteri tespit edildi. Bu durumun bakterilerin altısında her iki ticari sistemin de farklı türleri işaret etmesinden kaynaklandığını; 10'unda uyumsuzluğun sistemlerden en az birinin tür düzeyinde ayırım yapamamasından kaynaklandığı belirlendi.

Tablo 1. Çalışmaya alınan klinik örneklerin türü ve üretilen anaerop bakterilerin örneklerle göre dağılımı

Çalışmaya alınan örneğin türü	Çalışmaya alınan örnek sayısı (%)	Sadece anaerop bakteri izole edilen örnek sayısı (%)	Sadece fakültatif anaerop bakteri izole edilen örnek sayısı (%)	Miks* üreme görülen örnek sayısı (%)
Apse	72 (36.5)	6 (8)	30 (42)	11 (15)
Biyopsi	26 (13.2)	5 (19)	12 (47)	1 (4)
Bos	1 (0.5)	0	0	0
Drenaj	52 (26.4)	4 (7.7)	22 (42)	3 (5.8)
Kesi yeri	2 (1)	0	1 (50)	0
Periton sıvısı	7 (3.5)	2 (28.6)	0	0
Plevra sıvısı	5 (2.5)	2 (40)	0	0
Kan	2 (1)	2/2	0	0
Sinoviyal sıvı	9 (4.6)	0	2	0
Yara kültürü	21 (10.7)	1 (4.8)	11 (52.4)	0
Toplam	197	22	78	15

*Miks üreme: Fakültatif anaerop ve anaerop bakterinin birlikte izole edildiği örnekler.

İzole edilen 46 süşun 44'üne antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek için gradiyent strip test (Etest, BioMérieux, Fransa) yöntemi uygulandı. API20A'ya göre bakteri tanımlanması yapılan izolatların antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına ilişkin veriler Tablo 3'te özetlenmiştir.

TARTIŞMA

Anaerop bakterilerin izolasyon ve identifikasyonunda yaşanan güçlükler, bu bakterilere yönelik çalışmalarını sınırlamakta; ancak başarılı anaerop kültür uygulamaları olan merkezlerde değişen oranlarda anaerop etkenler soyutlanabilmektedir.^[2,5,17] Demir ve arkadaşları^[1] tarafından yapılan çalışmada örneklerin 28'inde (%10), anaerop gram-negatif basil ürettiği bildirilmiştir. Çuha-Demir ve arkadaşları^[18] kan kültüründen soyutladıkları anaerop etken pozitiflik yüzdesini yıllara göre sırasıyla %0.1; %0.15; %0.2 olarak bulduklarını ve en sık izole edilen türün *Bacteroides fragilis* grubu (%34.2) olup, bunu sırasıyla *Cutibacterium* spp. (%23.7), gram-pozitif anaerop koklar (GPAK) (%14.5), *Actinomyces* spp. (%12) ve *Clostridium* spp.'nin (%9.4) takip ettiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise 197 klinik örneğin 37'sinden (%18.8) 46 anaerop bakteri izole edildi. Anaerop bakteri üremesi olan örneklerin 22'sinde (%11.2) sadece anaerop, 15'inde (%7.6) hem aerop hem de anaerop bakterilerin birlikte ürettiği saptandı.

Soyutlanan izolatların %69.6'sını gram-pozitif anaeroplardan, %30.4'ünü gram-negatif anaerop etkenler oluşturmaktaydı. Gram-pozitif anaeroplardan en sık *Clostridium* spp. (n= 9) ikinci sıklıkta *Peptostreptococcus* spp. (n= 8) izole edilirken; gram-negatif anaeroplardan en fazla *Prevotella* spp. (n= 7) ve *B. fragilis* grup (n= 5) soyutlanmıştır.

Günümüzde yeni nesil dizileme teknolojisine dayalı 16S RNA sekanslama yöntemi anaerop bakterilerin tanımlanmasına büyük kolaylıklar getirmiştir. Bu metod ile sonuçların pratik, hızlı, güvenilir ve yeni bakteri türlerinin keşfine imkan vermesi ile referans yöntem olarak kabul görmüştür. Ancak verilerin analizinde biyoinformatik yetkinlik gerekmesi ve rutin mikrobiyolojik tanıda tek başına kullanımları şu an için maliyet-etkin olmaması sebebiyle kullanımı sınırlıdır.^[19] Son yıllarda kullanımı giderek artan MALDI-TOF (Matriks Destekli Lazer Desorpsiyon İyonlaştırma Uçuş Zamanı) teknolojisi mikrobiyolojik tanımlamanın hızlı, güvenilir ve pratik olarak gerçekleşmesine olanak verir. Fakat bu yenilikçi sistemin kullanımı ile materyal başı maliyet ucuz olarak değerlendirilse de; gerek cihaz gerekse teknik-bakım maliyetleri rutin laboratuvarların pek çoğu için halen pahalıdır.^[7] Bu sebeple mevcut ulaşılabilir ticari sistemlerin veri tabanının geliştirilmesi ve tutarsızlıkların gide-

Tablo 2. Klinik örneklerden soyutlanan anaerop etkenlerin API20A ve VITEK 2 ANC kart ile karşılaştırılması tanımlanması

API 20A panel*	VITEK ANC
<i>Actinomyces meyeri/odontolyticus</i>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>
<i>Actinomyces meyeri/odontolyticus</i>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>
<i>Actinomyces meyeri/odontolyticus</i>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>
<i>Actinomyces naeslundii</i>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>
<i>Actinomyces viscosus</i>	<i>Actinomyces viscosus</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Clostridium clostriforme</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Prevotella disiens</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Prevotella oralis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	Tanımlanamadı
<i>Bacteroides ovatus/thetaiotaomicron</i>	<i>Bacteroides stercoris</i>
<i>Clostridium beijerinckii/butyricum</i>	<i>Clostridium clostriforme</i>
<i>Clostridium beijerinckii/butyricum</i>	<i>Clostridium bifermentans</i>
<i>Clostridium beijerinckii/butyricum</i>	<i>Clostridium bifermentans</i>
<i>Clostridium clostriforme</i>	<i>Clostridium group</i>
<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Clostridium clostriforme</i>
<i>Clostridium innocuum</i>	<i>Clostridium innocuum</i>
<i>Clostridium spp.</i>	<i>Clostridium innocuum</i>
<i>Clostridium tertium</i>	<i>Clostridium tertium</i>
<i>Clostridium tertium</i>	<i>Clostridium tertium</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Tanımlanamadı
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Anaerococcus prevotii</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Fingoldia magna</i>
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Prevotella bivia</i>	<i>Prevotella bivia</i>
<i>Prevotella intermedia/disiens</i>	<i>Prevotella disiens</i>
<i>Prevotella intermedia/disiens</i>	<i>Prevotella disiens</i>
<i>Prevotella intermedia/disiens</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>Prevotella intermedia/disiens</i>	<i>Prevotella disiens</i>

Tablo 2. Klinik örneklerden soyutlanan anaerop etkenlerin API20A ve VITEK 2 ANC kart ile karşılaştırılması (devamı)

API 20A panel*	VITEK ANC
<i>Prevotella melaninogenica/oralis</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Prevotella melaninogenica/oralis</i>	<i>Prevotella oralis</i>
<i>Streptococcus constellatus</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>
Tanımlanamadı	<i>Lactobacillus hilgardii</i>
Tanımlanamadı	Tanımlanamadı
Tanımlanamadı	Tanımlanamadı
<i>Veionella spp.</i>	<i>Veionella spp.</i>

*Bakteri isimleri alfabetik sıraya göre dizilerek tablo oluşturulmuştur.

rilebilmesi için özellikle kısıtlı sayıda çalışmanın bulunduğu anaerop bakterilere yönelik yöntem performanslarının karşılaştırıldığı uygulamalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada anaeroplara tanımlanmasında geleneksel yöntemler, API 20A panel ve Vitek 2 ANC kart ile eş zamanlı tanımlama çalışmaları yapıldı. Yöntemler arası uyum cins ve tür düzeyinde değerlendirildi.

Her iki panelle de tanımlanamayan iki izolat göz ardı edildiğinde API 20 A ve Vitek 2 ANC kartın anaerop bakteri tanımlamasındaki cins düzeyindeki uyumu 35/44 (%79.5) olarak; cins seviyesinde uyumlu olan 35 süşun 19'unda (%43.2) tür düzeyinde de uyumluluk söz konusuydu.

Park ve arkadaşları^[20] tarafından yapılan çalışmada anaerop tanımlama yöntemlerinden API 20A panel ve Vitek 2 ANC otomatize sistem ile referans metod 16S rRNA dizi analizi karşılaştırılmıştır. İlgili çalışmada API 20A, Vitek 2 ANC ve 16S rRNA ile sırasıyla %15.4; %54.3; %94.3 tür düzeyinde doğru ve uyumlu tanımlama yapılırken; cins düzeyinde %42.3; %77.1 ve %100 oranlarında identifikasyon sağlandığı bildirilmiştir.

Wang ve arkadaşları^[21] tarafından yapılan çalışmada *B. fragilis* gruba ait 137 anaerop bakterinin tanımlanmasında Vitek 2 ANC kart ile 16S rRNA gen sekans analizi metodu karşılaştırılmıştır. Buna göre veri tabanında yer almayan *Bacteroides intestinalis*'in Vitek 2 ANC tarafından *B. ovatus* olarak tanımlandığı bildirilmiştir. Ayrıca iki adet *B. fragilis* izolatının ANC tarafından *B. stercoralis* ve bir süşunun ise *B. uniformis* olarak yanlış tanımlanması bildirilmiştir.

Bu çalışmada ise API 20A ve Vitek 2 ANC arasında uyumsuzluk saptanan izolatlarda sonuçların geleneksel yöntemler ile uyumu da değerlendirildi. API 20A ve geleneksel yöntemler ile tam uyum gösteren ancak ANC kartın uyumsuz sonuç verdiği üç süş, API 20A ve ANIDENT diskler tarafından *B. fragilis* olarak tanımlandı. Eskülin hidrolizi de tespit edilen bu izolatlar, ANC tarafından *C. clostriforme*, *P. disiens* ve *P. oralis* olarak tanımlanmıştı. Wang ve arkadaşlarının verilerine benzer olarak çalışmamızda *B. fragilis* izolatlarının tanımlanmasında ANC kartın cins düzeyinde kategorik uyumsuzluğunu tespit edildi. *B. fragilis* gibi klinik izolatlarda sıkça karşılaşılan, artan antibiyotik direnci ve yüksek virülans özelliklerine sahip bir anaerop bakteri türünün Vitek 2 ANC kart ile yanlış tanımlanmasının dikkate değer olduğunu düşünmekteyiz. API 20A tarafından *Streptococcus constellatus* olarak tanımlanan izolat, ANC ile *Peptoniphilus asaccharolyticus* olarak tanımlanmıştı. İlgili süşun antibiyotik duyarlılık profili değerlendirildiğinde metronidazol duyarlı olarak bulundu. Ancak *S. constellatus* gibi pek çok mikroaerofilik streptokok türünün ise metronidazole dirençli olduğu bilinmektedir^[22]. Bu sebeple tanımlanan anaerop bakteri türü ile antibiyotik duyarlılık testi birlikte değerlendirilmeli ve uyumsuzluk durumunda tanımlama gözden geçirilmelidir. Bu amaçla en azından iki sistemle fikir birliğine varılamayan ya da tanımlanamayan bakteriler için 16S rRNA dizi analizinin yapılması faydalı olacaktır.

Son dekadlarda artan antibiyotik direnç oranları nedeniyle anti-anaerop etkili antibiyotiklerin

Tablo 3. Tanımlanan anaerop* bakterilerin antibiyotik duyarlılık oranları

	Üreyen anaerop bakterileri sayısı n (%)										C/T MIC ₅₀ (mg/L)
	PG (%)	FX (%)	IP (%)	MZ (%)	CM (%)	TPZ (%)					
<i>Actinomyces</i> spp. ^Y	5	4 (80)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	5 (100)	2 (40)	5 (100)	6		
<i>Bacteroides fragilis</i>	4	0 (0)	2 (50)	4 (100)	3 (75)	4 (100)	3 (75)	4 (100)	2		
<i>Bacteroides ovatus/ thetaiotaomicron</i>	1	0 (0)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	8		
<i>Clostridium beijerinckii/ butyricum</i>	2	0 (0)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	0.032		
<i>Clostridium tertium</i>	2	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	1		
<i>Clostridium innocuum</i>	2	1 (50)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	1 (50)	1 (50)	6		
<i>Clostridium clostriforme</i>	2	0 (0)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	1 (50)	1 (50)	2		
<i>Clostridium bifermentans</i>	1	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	2		
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	1	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	1 (100)	0 (0)	8		
<i>Peptostreptokok</i> spp.	10	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)	6 (60)	10 (100)	2		
<i>Peptoniphilus assacchorolyticus</i>	4	2 (50)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	2 (50)	4 (100)	1		
<i>Prevotella intermedia/disians</i>	4	3 (75)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	4 (100)	3 (75)	4 (100)	2		
<i>Prevotella melaninogenica/ oralis</i>	2	1 (50)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	1 (50)	2 (100)	2		
<i>Prevotetella bivia</i>	1	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	2		
<i>Fusobacterium</i> spp.	1	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0.5		
<i>Streptococcus consellatus</i>	1	0 (0)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	6		
<i>Veionella parvula</i>	1	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0.25		
Toplam	44	27 (61.4)	41 (93.2)	44 (100)	37 (84.1)	41 (93.2)	29 (65.9)	41 (93.2)	2		

n: Örneklere üreyen bakteri sayısını göstermektedir. PG: Penisilin G, FX: Sefoksitin, IP: İmipenem, MZ: Metronidazol, CM: Klindamisin, TPZ: Piperasilin/tazobaktam, C/T: Sefzolozan/tazobaktam, MIC₅₀: İzolatların %50'sinde üremeyi baskılaya etkinliği olan konsantrasyon.

*API20A'ya göre tanımlanan bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları Tablo 2'de verilmiştir. ^Ymetranidazole doğal dirençli.

Tablo 4. Tanımlanan anaerop bakterilerin Gram boyanma özelliklerine göre sınıflamada antibiyotik duyarlılık oranları

	Üreyen anaerop bakteri sayısı									
	n (%)	PG (%)	FX (%)	IP (%)	MZ (%)	CM (%)	TPZ (%)	C/T MIC* ₅₀		
Gram-pozitif kok	15 (34.1)	12 (80)	15 (100)	15 (100)	15 (100)	9 (60)	15 (100)	2		
Gram-pozitif sporlu basil	9 (20.5)	4 (44)	9 (100)	9 (100)	9 (100)	7 (78)	7 (78)	2		
Gram-pozitif sporsuz basil	6 (13.7)	4 (67)	5 (83)	6 (100)	0* (0)	3 (50)	5 (83)	6		
Gram-negatif kok	1 (2.3)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	1 (100)	0.25		
Gram-negatif basil	13 (29.5)	6 (46)	11 (85)	13 (100)	12 (92)	9 (69)	13 (100)	2		
Toplam	44 (100)	27 (61.4)	41 (93.2)	44 (100)	37 (84.1)	29 (65.9)	41 (93.2)	2		

*Gram-pozitif sporsuz basillerden *Actinomyces* spp. metronidazole doğal dirençli.

ampirik olarak kullanımı özellikle *B. fragilis* gibi virülansı yüksek izolatların duyarlılıkları için öngörülemez hale gelmiştir^[15]. Anaerop bakterilerin duyarlılık paternleri coğrafi bölgelere, hatta aynı merkezde kliniklere göre farklılık göstermekle beraber çalışmalar, en aktif antibiyotiklerden metronidazol, piperasilin-tazobaktam ve karbapenemlere dahi direnç geliştiğini göstermiştir^[2,23]. Bu sebeple, her merkezin güncel antibiyotik direnç oranlarını belirlemesi ve ampirik tedavi şemalarını gözden geçirmesi gerekmektedir^[2].

Anaerop bakteriler arasında çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılığın azaldığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Demir ve arkadaşlarının çalışmasında izole edilen anaerop etkenlerde en yüksek direnç oranları penisiline (%78.5) ve sefoksitine (%21.4) karşı bildirilmiştir. Klindamisine direnç en fazla *B. fragilis* izolatlarında (%28.5) tespit edilmiş ve bu susların hiçbirinde metronidazol direnci saptanmamıştır^[1]. Ülger ve arkadaşlarının^[25] 100 *B. fragilis* izolatu ile gerçekleştirdikleri çalışmada, susların tamamı imipenem, amoksisilin klavulonat ve metronidazol duyarlı bulunmuştur. Ancak 2013 yılında Ülger ve arkadaşları^[26] tarafından aynı merkezin ilk metronidazol dirençli *Bacteroides thetaiotaomicron* susunun izole edildiği bildirilmiştir^[26].

Sunulan çalışmada, 14'ü gram-negatif olmak üzere 44 anaerop bakteriye antibiyotik duyarlılık testi çalışıldı ve sonuçları değerlendirildi. Buna göre; çalışmamızda penisiline duyarlılık %61.4 olarak bulundu. Ancak çalışılan izolatlardan *B. fragilis* kökenleri (n= 4) için penisilin direnci %100, *Clostridium* spp. (n= 9) için %55.5, *Prevotella* spp. (n= 7) için %28.6 ve gram-pozitif koklardan *Peptoniphilus* spp. (n= 6) için %34.4 oranında saptandı. *Peptostreptococcus* spp. (n= 8) ve *Fusobacterium* spp. (n= 1) izolatlarında penisilin direnci saptanmadı. Bakteri türüne ve bölgesel olarak değişkenlik göstermekle beraber genel olarak penisilin en yüksek direncin görüldüğü antibiyotik grubunu oluşturmaktadır.

Çalışmamızda sefoksitin, metronidazol, piperasilin-tazobaktam ve klindamisin için saptanan direnç oranları sırasıyla %7; %15.9; %7 ve %34.1'dir. Fakat tüm izolatlar birlikte değerlendirildiğinde sefoksitin için saptanan düşük direnç oranları *B. fragilis* (n= 4) izolatları için %50 ola-

rak tespit edildi. İmipeneme hiçbir izolatta direnc gözlenmedi. Metronidazol direnci saptanan yedi klinik izolata altısının intrinsek direnci bulunan *Actinomyces* ve *Lactobacillus* türü bakterilerin oluşturduğu belirlendi. Soyutlanan bir *B. fragilis* kökeninde ise; metronidazol direncinin saptanması duyarlılık profillerinin yakından takip edilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızda en yüksek direnc penisilin ve klindamisine karşı gözlemlendi. İzolatlarımız üzerinde etkinliği en iyi olan piperasilin-tazobaktam ve imipenemdi.

Seftolozan-tazobaktam çoklu-ilaç direnci olan gram-negatiflerin sebep olduğu infeksiyonlarda kullanılan ve anaerop etkenler üzerindeki etkinliğini değerlendiren literatürde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır^[12,14,15]. *Armstrong* ve arkadaşlarının^[14] seftolozan-tazobaktamın anaerop bakteriler üzerindeki etkinliğini araştırdıkları çalışmada MİK değerlerinin *B. fragilis* grup için değişkenlik gösterdiğini, *B. thetaiotaomicron* ve *B. vulgatus* için saptanan MİK₉₀= 64 mg/L olarak; *B. fragilis* ve *B. stercoris* için ise MİK₉₀= 2 mg/L olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. *Armstrong* ve arkadaşlarının çalışmasına benzer sonuçlar elde ettiğimiz bu çalışmada, tespit edilen MİK düzeyleri 0.032-12 mg/L arasında değişkenlik göstermekteydi. Seftolozan-tazobaktam için en yüksek MİK değerleri *B. fragilis* grup izolatlarında rastlanırken; en düşük MİK seviyeleri *Veillonella* spp. (MİK= 0.25 mg/L) ve *Fusobacterium* spp. (MİK= 0.5 mg/L) izolatlarında saptandı. Tüm izolatları birlikte değerlendirdiğimizde seftolozan-tazobaktamın MİK₅₀= 2 mg/L olarak belirlendi. Ancak *B. fragilis* (n= 4) suşları için MİK (0.064-12 mg/L) arasında yer alırken; bu tür için MİK₅₀= 2 mg/L olarak tespit edildi. *Clostridium* spp. izolatlarında saptadığımız seftolozan-tazobaktam MİK değerleri (0.032-6 mg/L) Snyderman ve arkadaşlarının^[15] çalışmasında olduğu gibi *Clostridium* türleri (0.5-≥256 mg/L) arasında değişkenlik gösterdiği saptandı.

Tanısal mikrobiyolojideki son teknolojik gelişmelere rağmen anaerop bakteriyoloji laboratuvarlarında geleneksel yöntemler, ticari yarı otomatize sistem ve panellerin en merkezden perifer tım laboratuvarlarda uygulanabilir ve ulaşılabilir olması nedeniyle yerini koruyacağını düşünüyoruz. Çalışmamız rutinde sıkça kullanılan ticari anaerop

identifikasyon testleri arasındaki performans karşılaştırmasının yapıldığı sınırlı sayıdaki çalışmadan biridir. Soyutlanan izolat sayısının az olması çalışmamızın kısıtlılıklarındandır. Ancak sonuçlarımızın yöntemler arası gerekli standardizasyonun sağlanması adına ileride daha fazla bakteriyi dahil ederek yapılan optimize çalışmalara kaynak oluşturacağını düşünmekteyiz. İzolatlarımızdan birinin hastanemizde tespit edilen metronidazol dirençli ilk *B. fragilis* izolatı olmasının dikkate değer ve periyodik duyarlılık çalışmaları ile takibinin gerekli olduğu kanısındayız. Ayrıca çalışmamız bildiğimiz kadarıyla seftolozan-tazobaktamın anaerop bakteriler üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği ülkemizden ilk çalışmadır. İlgili antibiyotik için MİK değerinin bakteri türleri arasında oldukça değişkenlik gösterdiği ve anaeroplara karşı etkisini kavrayabilmemiz için daha çok bakteri türü ve sayısını içeren geniş çaplı çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

ETİK KURUL ONAYI

Çalışma için Necmettin Erbakan Üniversitesi Necmettin Erbakan İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 17.02.2017 tarih ve 2017/804 sayılı karar ile onay alındı. Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından tez çalışmaları için 171518012 proje numarası ile desteklenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

YAZAR KATKISI

Anafikir/Planlama: SU, MD

Analiz/Yorum: SU, MD

Veri Sağlama: SU

Yazım: SU

Gözden Geçirme ve Düzeltme: MD, SU

Onaylama: MD, SU

KAYNAKLAR

1. Demir C, Keşli R. Identification of anaerobic gram-negative bacilli isolated from various clinical specimens and determination of antibiotic resistance profiles with E-test methods. *Mikrobiyol Bul* 2018;52(1):72-9. <https://doi.org/10.5578/mb.66175>

2. Doğan M, Baysal B. Identification of anaerobic bacteria isolated from various clinical specimens and determination of antibiotic susceptibilities. *Mikrobiyol Bul* 2010;44(2):211-9.
3. Lee E, Degener J, Welling G, Veloo A. Evaluation of the Vitek 2 ANC card for identification of clinical isolates of anaerobic bacteria. *J Clin Microbiol* 2011;49(5):1745-9. <https://doi.org/10.1128/JCM.02166-10>
4. Mutlu E, Yücesoy M. Anaerop bakterilerde beta-laktamaz aktivitesinin ve antibiyotik duyarlılığının agar dilüsyon ve E test yöntemleri ile belirlenmesi. *İnfeksiyon Derg* 2003;17(3):275-80.
5. Özcan N, Saat N, Atmaca N. Klinik örneklerden soyutlanan anaerop bakterilerin in vitro antibiyotik duyarlılıkları. *Flora* 2020;25(2):245-55. <https://doi.org/10.5578/flora.68705>
6. Süzük Yıldız S. "In-House" Tween® 80 yöntemi ile pozitif kan kültürlerinden mikroorganizmaların MALDI-TOF MS yöntemi ile doğrudan tanımlanması: Deneysel ve klinik çalışma. *Mikrobiyol Bul* 2020;54(4):523-34. <https://doi.org/10.5578/mb.69849>
7. Osa M, Belo MC, Dela Merced Z, Villanueva AMG, Mauhay J, Celis A, et al. Performance of MALDI-TOF mass spectrometry in the Philippines. *Trop Med Infect Dis* 2021;6(3):112. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed6030112>
8. Rennie RP, Brosnikoff C, Turnbull L, Reller LB, Mirrett S, Janda W, et al. Multicenter evaluation of the Vitek 2 anaerobe and *Corynebacterium* identification card. *J Clin Microbiol* 2008;46(8):2646-51. <https://doi.org/10.1128/JCM.00450-08>
9. Mory F, Alauzet C, Matuszeswski C, Riegel P, Lozniewski A. Evaluation of the new Vitek 2 ANC card for identification of medically relevant anaerobic bacteria. *J Clin Microbiol* 2009;47(6):1923-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.01778-08>
10. Ülger Toprak N. İstanbul'da iki merkeze ait *Prevotella* türlerinin gradiyent test yöntemiyle belirlenen antimikrobiyal ilaç duyarlılığı. *Mikrobiyol Bul* 2020;54(2):246-56. <https://doi.org/10.5578/mb.69309>
11. Akgül Ö, Söyletir G. Antimicrobial susceptibility of pathogenic gram-positive anaerobic cocci: Data of a university hospital in Turkey. *Mikrobiyol Bul* 2020;54(3):404-17. <https://doi.org/10.5578/mb.69556>
12. Rong SMM, Rodloff AC, Stingu C-S. Diversity of antimicrobial resistance genes in *Bacteroides* and *Parabacteroides* strains isolated in Germany. *J Glob Antimicrob Resist* 2021;24:328-34. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.01.007>
13. Akyüz S. Yoğun bakım hastalarından izole edilen çoklu antibiyotik dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarında seftolozan-tazobaktamın çeşitli antibiyotik kombinasyonları ile in vitro etkinliğinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2020;54(1):154-62. <https://doi.org/10.5578/mb.68981>
14. Armstrong ES, Farrell DJ, Palchak M, Steenbergen JN. In vitro activity of ceftolozane-tazobactam against anaerobic organisms identified during the ASPECT-clAI study. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;60(1):666-8. <https://doi.org/10.1128/AAC.01964-15>
15. Snyderman DR, McDermott LA, Jacobus NV. Activity of ceftolozane-tazobactam against a broad spectrum of recent clinical anaerobic isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(2):1218-23. <https://doi.org/10.1128/AAC.02253-13>
16. Kahlmeter G, Brown D, Goldstein F, MacGowan A, Mouton R, Odenholt I, et al. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, 2021.
17. Özdemir B, Mumcuoğlu İ, Akıncı E, Acar Kaya İ, Sertçelik A, Bodur H. Anaerop infeksiyon saptanan vakaların klinik özellikleri, etkenlerin tür düzeyinde dağılımı ve anaerop bakteremilerde fatalite. *Flora* 2020;25(4):506-15. <https://doi.org/10.5578/flora.69469>
18. Demir-Cuha M, Hazirolan G. Anaerobic bacteria isolated from blood cultures in Hacettepe University Faculty of Medicine Hospital between 2017 and 2019: A Three-year evaluation/Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2017-2019 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen anaerop bakteriler: Üç yıllık bir değerlendirme. *KLİMİK Derg* 2020;33(3):286-92. <https://doi.org/10.5152/kd.2020.58>
19. Roy S, LaFramboise WA, Nikiforov YE, Nikiforova MN, Roubort MJ, Pfeifer J, et al. Next-generation sequencing informatics: Challenges and strategies for implementation in a clinical environment. *Arch Pathol Lab Med* 2016;140(9):958-75. <https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0507-RA>
20. Park GC, Jang SJ, Lee MJ, Kook J-K, Kim MJ, Kim YS, et al. Comparison of the Vitek 2, API 20A, and 16s rRNA gene sequencing for the identification of anaerobic Bacteria. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2015;18(1):20-6. <https://doi.org/10.5145/ACM.2015.18.1.20>
21. Wang Y, Chen X-F, Xie X-L, Xiao M, Yang Y, Zhang G, et al. Evaluation of VITEK MS, Clin-ToF-II MS, Autof MS 1000 and VITEK 2 ANC card for identification of *Bacteroides fragilis* group isolates and antimicrobial susceptibilities of these isolates in a Chinese university hospital. *J Microbiol Immunol Infect* 2019;52(3):456-64. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2018.12.009>
22. Brook I. Spectrum and treatment of anaerobic infections. *J Infect Chemother* 2016;22(1):1-13. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.10.010>
23. Eminoğlu S, Tekeş B, Sayın E, Ülger Toprak N. Agarda dilüsyon ve deneme aşamasındaki EUCAST disk difüzyon yöntemi ile saptanan *Bacteroides fragilis* grubu izolatlarına ait antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarının karşılaştırılması, *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg* 2021;51(2):109-18.
24. Clinical, Institute LS. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria; approved standard. *Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA*; 2012.
25. Toprak NU, Yağcı A, Celik C, Cakici O, Söyletir G. Comparison of antimicrobial resistance patterns of enterotoxin gene positive and negative *Bacteroides fragilis* isolates. *Mikrobiyol Bul* 2005;39(2):145-52.

26. Sayın E, Soyad A, Dane F, Söyletir G. The first metronidazole-resistant *Bacteroides* species isolated at Marmara University Hospital: *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Mikrobiyol Bul* 2013;47(4):717-21. <https://doi.org/10.5578/mb.5064>

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Dr. Selin UĞRAKLI

Konya İl Sağlık Müdürlüğü,

Halk Sağlığı Laboratuvarı,

Konya-Türkiye

E-posta: dr.selinyumakci@gmail.com