

# Anaerob Bakteriler; İzolasyon, İdentifikasyon, Yeni Türlerin Oluşturduğu Hastalıklar

## *Anaerobic Bacteria; Isolation, Identification, Diseases Caused by New Species*

Erdal Özbek<sup>✉</sup>, Selahattin Atmaca<sup>✉</sup>

Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

**Atf/Cite as:** Özbek E, Atmaca S. Anaerob bakteriler; izolasyon, identifikasyon, yeni türlerin oluşturduğu hastalıklar. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2024;54(1):1-14.

### Öz

Anaerob bakterilerin izolasyon ve identifikasyonunda kullanılan yeni teknolojik gelişmeler bu bakterilere ilgiyi artırsa da ülkemizde hala tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında bu bakteri grubu yeterli ilgiyi görmemektedir. Laboratuvara getirdiği fazla iş yükü, konu ile ilgili ara eleman eksikliği ve klinik yaklaşımda etiyojisinde anaerob bakteri düşünülen enfeksiyonlarda ampirik tedavi yaklaşımı bu ilgisizliğin sebepleri arasında sayılabilir. Dünyada ve ülkemizde anaerob bakteri laboratuvarlarında süre gelen bir standardizasyon sorunu mevcuttur. Anaerob bakterilerin identifikasyonunda matris yardımcı laser desorbsiyon/iyonizasyon kütle spektrometresi (MALDI-TOF/MS) yönteminin son yıllarda rutin laboratuvarlarda kullanıma girmesiyle birlikte anaerob bakterilerin tanımlanması kolaylaşmış ve sistemin kullanıldığı yerlerde standardizasyona katkı sağlamıştır. Ancak sınırlı ekonomik koşulların getirdiği zorluklar nedeniyle bu teknik yeterince yaygınlaşmamıştır. Bu nedenle anaerob bakteri laboratuvarlarında standardizasyon hala önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu derlemede; Anaerob bakteriyoloji laboratuvarında standardizasyona katkı sağlanması amacıyla, anaerob bakteri şüpheli materyallerin laboratuvara taşınması, izolasyon ve identifikasyon aşamalarında dikkat edilmesi gereken ve kabul gören kuralları özetlenmiş, anaerob bakteri izolasyonun ve identifikasyonunda kullanılan teknikler basitten karmaşığa doğru karşılaştırılarak özetlenmiştir. Ayrıca, kommensal mikrobiyotanın üyesi olan anaerob bakterilerden bilhassa yeni tanımlanan cins ve türlerin güncel klinik çalışmalarda ortaya çıkan özelliklerinin sunulması amaçlanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Anaerob Bakteri, Tanımlama, Standardizasyon, Yeni türler

### ABSTRACT

Although new technological developments used in the isolation and identification of anaerobic bacteria arouse interest, this bacterial group still does not receive sufficient attention in medical microbiology laboratories in our country.

The workload they bring to laboratory, lack of adequate staff and the empirical treatment applications in infections with anaerobic bacteria in the clinical approach, could all be the possible reasons of this insufficient attention.

There is an ongoing standardization problem in anaerobic bacteria laboratories in the world and in our country. With the introduction of the matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-TOF/MS) method in the identification of anaerobic bacteria in routine laboratories in recent years, the identification of anaerobic bacteria has become easier, and it contributed to standardization. However, due to the limitations of the economic standards, this technique is not common and therefore, standardization is still an important problem in laboratories for anaerobic bacteria detection.

In this review, the current transportation, isolation and identification procedures of anaerobic bacteria-suspect materials in the laboratory were summarized from simple to complex, with an aim to contribute to the standardization in anaerobic bacteriology laboratory. In addition, characteristics of the newly defined genera and species of anaerobic bacteria, which are the members of commensal microbiota mentioned in current clinical studies, was presented as well.

**Keywords:** Anaerobic Bacteria, Identification, Standardization, New species

### Alındığı tarih / Received:

02.08.2023 / 02.August.2023

### Kabul tarihi / Accepted:

10.11.2023 / 10.November.2023

### Yayın tarihi / Publication date:

25.03.2024 / 25.March.2024

### ORCID Kayıtları

E. Özbek 0000-0002-8593-224X

S. Atmaca 0000-0002-2730-5790

✉ erdalozbek@outlook.com

## GİRİŞ

Yeni geliştirilen anaerob ortam yaratma teknikleri ve özel besiyerleri, anaerob kültür işlemlerini kolaylaştırmıştır. Bu sayede, günümüzde uygun alınmış klinik örneklerde anaerob bakterilerin üretilebilme olasılıkları, geçmişle kıyaslandığında önemli ölçüde artmıştır. Yanı sıra, yeni geliştirilen moleküler teknikler, örneğin 16S rRNA'yı hedefleyen polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tabanlı testler ile enfeksiyon etkeni olarak belirlenen birçok yeni cins ve türde anaerob bakterinin saptanmasına neden olmuştur. Üst düzey tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarında, hızlı biyokimyasal testlere dayalı tanı yöntemlerinin yanı sıra, matris yardımcı laser desorbsiyon/ionizasyon gibi kütle spektrometresi (MALDI-TOF/MS) yönteminin kullanıma girmesiyle birlikte anaerob bakterilerin tanımlanması daha da kolaylaşmıştır. Bu teknikler sayesinde, yeni cins ve türde anaerob bakteriler hakkında kısa zamanda önemli ölçüde bilgi birikimi olmuştur. MALDI-TOF/MS yönteminde mikroorganizmalara ait biyomoleküllerin (protein, peptid, şeker) ve büyük organik moleküllerin (polimer, dimer, makromolekül) iyonize edildikten sonra elektrik ve/veya manyetik alandan geçirilmekte bu moleküllerin hareket hızlarına göre analizleri yapılmaktadır. Bu yöntemde, moleküllerin hareket hızlarındaki farklılıkların oluşturduğu spektrumlara ait grafiksel görüntüler elde edilir ve sistem entegre yazılımını kullanarak bu verileri veri tabanında yer alan mikroorganizmalar ile benzerliğine göre cins ve tür bazında tanımlar<sup>(1-4)</sup>.

Ülkemiz de tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarlarının, anaerob bakterilerin izolasyon ve identifikasyonuna dair laboratuvar koşullarında hala bir standardizasyonun mevcut olmadığı bilinmektedir. Anaerob bakterilerle ilgili herhangi bir izolasyon ve identifikasyon yapmayan laboratuvarlar arasında, çok ileri teknik olanaklara sahip olanların da mevcut olduğu bilinmektedir.

Mikrobiyotamızda yerleşik kommensal anaerob bakterilerin bölgesel dağılımını bilmek, enfeksiyon

anında izole edilen anaeroplara en doğru şekilde tanımlayıp bildirilebilmesi açısından önemlidir.

Bu derlemenin yazılmasında amaçlar; insan mikrobiyotasında yer alan, önceden bilinen ve yeni tanımlanmış cins ve türde anaerob bakterilerin klinik önemine vurgu yapmak ve anaerob bakteri laboratuvarlarında anaerob ortamların yaratılması, materyallerin toplanması, taşınması ve etkenlerin doğru tanımlanması konusunda en basitten karmaşığa doğru bilgiler verilerek bu laboratuvarlarının yayınlştırılması ve standardizasyonuna katkı verilmesidir.

## Genel Bilgiler

İnsan mikrobiyotasında anaerob bakteriler ilk olarak 19. yüzyılda tanımlanmıştır. O dönemin mevcut teknikleri ile ancak miks enfeksiyonlarda görülüp tanımlanan bu bakteriler uzun süre göz ardı edilmiştir. Anaerobik bakterilerin bugün bildiğimiz şekliyle tanımlanması, ilk olarak 1977 yılında Finegold tarafından yapılmış, araştırmacı oksijen konsantrasyonunun %18'in altında olduğu atmosferik koşullarda üreyebilen bakterileri anaerob olarak tanımlamıştır. Daha sonra havada serbest oksijen bulunmadığında ya da çok az bulunduğu üreyen mikroorganizmalar olarak bildirilen bu bakterilerin üretilme ortamındaki oksijeni gidermek için basitten karmaşığa doğru değişik yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler, besiyerinin redüksiyon şiddetinin artırılması ve/veya atmosferdeki oksijenin etkisinin giderilmesini esas almaktadır. Bu ortamın sağlanabilmesi için de; biyolojik, kimyasal ve mekanik metodlar olarak tanımlanmış, bu sayede geliştirilen farklı uygulamalar ile anaerob bakterilerin üretilmesi mümkün kılınmıştır<sup>(5)</sup>.

Oksijenin anaerob bakteriler üzerine çeşitli olumsuz etkileri vardır. Bunlar büyümenin yavaşlaması, durması ve bakterinin ölümü şeklinde ortaya çıkar. Anaerob bakterilerin oksijenle karşılaştıklarında enzimsel faaliyetlerinin bloke olması gibi genel bir teori kabul görse de oksijene karşı bu duyarlılığın cins

ve tür düzeyinde farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. *Clostridium novyi* gibi bazı türler ancak %0.5'ten daha az oksijen bulunan ortamlar da üreyebildikleri halde *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens* ve bazı *Provetalla* ve *Porphyromonas* türleri %2-8 gibi oksijen seviyesi bulunan ortamlarda bile üreyebilmektedirler<sup>(6,7)</sup>.

Anaerop bakterilerin oksijene karşı olan duyarlılıklarındaki bu farklılıkları açıklamak için çeşitli teoriler öne sürülmüştür. Bir görüşe göre, bakteriyel oksijen metabolizmasının sonucu oluşan hidrojen peroksit bakterilerin ölümüne yol açmaktadır. Ancak başta *B. fragilis* olmak üzere en sık görülen patojen anaeroplara hidrojen peroksidi parçalayan katalaz enzimini üreterek kendilerini korudukları görülmüştür. Oksijene kısmi direnç gösteren ve aerotoleran grup olarak tanımlanan anaerop bakterilerin oksijen toleransını sağlayan bir diğer enzim ise süperoksit dismutaz (SOD) enzimidir. Bu enzim sayesinde anaerop bakteriler oksijen ve suyun oksijeni gibi süperoksit köklerini azaltarak bu maddelerin potansiyel öldürücü etkilerini zayıflatırlar. Yapılan çalışmalarda oksijen toleransı ile SOD konsantrasyonları arasında bir korelasyon olduğu görülmüştür<sup>(7-9)</sup>.

Anaerop bakterilerin tanımlanmasında son dönemlerde kullanılan kütle spektrometresine dayalı MALDI-TOF/MS cihazları bu bakterilerin hızlı ve doğru tanımlanmasına neden olmuştur. Tanımlamayı kolaylaştıran ve önemli ölçüde hızlandıran bu teknik sayesinde tıbbi önemi olan anaerop bakterilerin tür düzeyinde isimlendirilmesi, bu bakteriler ile olan enfeksiyonlara dair farkındalık ve ilgiyi artırmıştır. Örneğin kolon kansinoması ve sepsislerde *B. fragilis*, kronik tonsilitlerde *Fusobacterium necrophorum* diyabetli ve immun sistemi baskılanmış kişilerde diğer anaeroplara tanımlanması bu teknik sayesinde kolaylaşmıştır. Ne yazık ki cihazların maliyeti nedeniyle özellikle orta ve küçük ölçekli laboratuvarlarda yaygınlaşmamıştır. Bunun yanı sıra laboratuvarlarda farklı anaerop bakteri tanımlanmasının farklı düzeylerde ve farklı yöntemlerle yapılması gerek ülkemizde gerekse dünyada anaerop bakteri tanımlanmasında ortak

standartların oluşumunu kısıtlamış ve laboratuvarlar arasında önemli farklılıklara neden olmuştur<sup>(10,11)</sup>.

### **Kommensal İnsan Mikrobiyota Üyesi Anaerop Bakteriler ve Anaerop Enfeksiyonlardaki Yeri**

Mukokutanöz yüzeylerin çoğu anaerop ve aerop bakterilerden zengin mikrobiyota içerir. Anaerobik bakteriler, bazı vücut bölgelerinde çok yüksek yoğunlukta (kolon, gingiva çatlağı, anaerop/aerop oranı yaklaşık 1000/1'dir) olmakla birlikte mikrobiyotamızda bölgesel olarak farklı kantitatif oranlarda bulunurlar. Oral kavite, nazal geçişler, orofarinks ve nazofarinksten oluşan üst solunum yollarının değişik anatomik bölgelerinde kompleks bir mikrobiyota dağılımı vardır. Yanak mukozası, diş, diş eti, gingiva çatlakları, dil ya da tükürük sekresyonu birbiri ile karşılaştırıldığında hepsinin farklı yoğunlukta anaerop bakteri popülasyonlarına sahip oldukları görülmektedir. Anaerop mikrobiyota açısından beklenilmeyen bir şekilde dil papilla aralarındaki düşük oksidasyon-redüksiyon (OR) değeri (-30, -40 milivolt), bu bölgede anaerop kolonizasyona olanak verir. *Veillonella parvula* bu bölgede görülen anaerop gram negatif kok olup tükürükteki konsantrasyonu yaklaşık mililitrede 10<sup>8</sup>'e kadar çıkabilmekte ancak bu bakteriler yutulduklarında mide asiditesince parçalanırlar. Yine bu bölgedeki gingiva çatlaklarında OR değeri -300, -400 milivolt civarı olup kolon bölgesine benzer miktarda anaerop bakteri yoğunluğu mevcuttur<sup>(12)</sup>.

Deri mikrobiyotasında belirli bir oranda anaerob bakteri bandırır. Bunlar arasında en fazla miktarda bulunanı, gram pozitif anaerop bir basil olan *Cutibacterium acnes*'tir. Ayrıca perine ve alt ekstremitelerin bazı bölgelerinde *Bacteroides* spp. ve *Fusobacterium* spp. bakterilerinde bulunur. Deri yüzeyi hafif asidik ve ısı 37°C'nin altındadır. Derideki doğal açıklıklar (porlar, saç folikülleri ve ter bezlerinden) salgılanan lizozim ve toksik lipidler bakteriler için öldürücüdür. Ancak bu sistem bir anlamda derideki bakteri kantitasyonunu belirler ve mikrobiyota için dengeleyici bir işlevi görür. Deride enfeksiyonlardan koruyan bir diğer mekanizma

SALT (Skin associated lymphoid tissue) sistemine ait hücrelerdir. SALT bakteriyel yayılmayı sınırlandıran ve bakterilerin dolaşıma geçmesini engelleyen immünolojik bir doku sistemidir. Bu iki mekanizmaya ek olarak, deri dokusu içerisinde yer alan keratinositler asidik bir ortam yaratarak sitokinlerle birlikte bakterilerin öldürülmesine ve sindirilmesine katkı sağlarlar<sup>(13)</sup>.

Gastrointestinal sistem, kadın genital organları, ürogenital sistem çeşitli düzeylerde ve konsantrasyonlarda anaerob mikrobiyota içeren bölgelerdir.

Anaerob bakteri enfeksiyonları, genellikle kendi mikrobiyotamız kaynaklı endojen kökenli enfeksiyonlardır. Enfeksiyona neden olan *F. necrophorum* gibi bazı anaerob bakteriler hasar görmüş mukozal ve kutanöz bölgeleri enfekte ederek steril dokulara doğru yayılırken, *Clostridium tetani* gibi bazı anaeroplara harap olmuş dokuda uygun OR değeri potansiyelinde ürer fakat dokuya yayılma yetenekleri olmadığından salgıladıkları toksin ile enfeksiyona neden olurlar.

Anaerob bakterilerin izolasyonunda ve tanımlanmasında gelişen teknikler ile birçok anaerob bakteri yeniden cins ve tür düzeyinde sınıflandırılmıştır. Ek olarak enfeksiyon etkenlerinin yeni özelliklerinin tanımlanmasına neden olmuştur. Örnek verecek olursak; *Robinsoniella peoriensis* gram pozitif sporlu hareketsiz bir bakteri olup, domuz gübresinde keşfedilmiştir. Bu bakteri antimikrobiyal duyarlılığı, epidemiyolojisi ve genel patolojisi tam bilinmese de yumuşak doku, protez eklem enfeksiyonları ve sepsiste etken olarak belirlenmiş, identifikasyonla ilgili biyoşimik testlerde, API 20A ve API Rapid ID 32A (bioMérieux Inc, Fransa) panellerinde *Clostridium clostridioforme* ile yüksek oranda (%88-%96) korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Son yıllarda *R. peoriensis*'in karın içi, kan dolaşımı, yumuşak doku ve protez eklem/donanım enfeksiyonları dahil olmak üzere insan enfeksiyonlarında giderek daha fazla izole edildiği bildirilmiştir. *Solobacterium moorei*, immün sistemi zayıf kişilerde bakteriyemi etkeni olarak izole

edilmiş olup, oksijene toleransı olmayan sporsuz ve insan dışısında da saptanabilen bir bakteridir. Kolonizasyonu yüksek olan kişilerde ağız kokusuna (halitosis) neden olan bir bakteri olarak da bazı çalışmalarda bildirilmiştir<sup>(14)</sup>. Yapılan çalışmalarda, *S. moorei*'nin neden olduğu enfeksiyon vakaları başlıca kan dolaşımı ve cerrahi yara enfeksiyonlarını içerilmektedir. Bu enfeksiyonlar, farklı kanser türleri, immün sistemin baskılanması, tromboz ve diğer bakteriyel ve viral enfeksiyonlar gibi hazırlayıcı faktörlerle ilişkilendirilmiştir<sup>(15,16)</sup>. *Turicibacter sanguinis*'in depresyon gelişimine katkıda bulunduğu bildirilen bir lipopolisakarit (LPS) endotoksini inhibe ederek barsakta serotonin salınımını artırdığı bu yolla depresyon gelişimi üzerine negatif etki gösterdiği bildirilmektedir. *T. sanguinis* bazı çalışmalarda da bakteriyemi etkeni olarak bildirilmiştir<sup>(17)</sup>.

İnsanlarda normal barsak mikrobiyotasının bir üyesi olan *Ruminococcus gnavus* zorunlu anaerob koşullarda üreyebilen gram pozitif bir koktur. *Ruminococcus* cinsi ilk olarak 1948'de tanımlanmış daha sonra gelişen teknoloji sayesinde 16S rRNA dizi analizi ile *Clostridiales* takımının bir parçası olan *Blautia* cinsine bağlanmıştır. Barsak mikrobiyotasından sıklıkla izole edilen bu kommensal bakteri glikosidaz aktivitesine sahiptir. Bu enzim bakteriye mukolitik özellik kazandırmakta bu da bakterinin barsak epiteli ile yakın temas kurmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda *R. gnavus*'ün toksik ve muhtemelen kanserojen metabolik ara ürünler üreten ve bunun sonucu olarak da lokal enflamasyona neden olan beta-glukuronidase aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir. Bazı araştırmalar, barsak florasında *R. gnavus*'ün kantitatif olarak fazla bulunmasını, enflamatuvar barsak hastalıkları (özellikle Crohn hastalığı), spondiloartrit, bebeklerde solunum allerjileri, yeni doğanlarda ekzama gibi hastalıklarla ilişkilendirmektedir<sup>(18)</sup>. İnsan enfeksiyonlarında ilişkisi çok nadir olarak bildirilen bir diğer anaerob bakteri cinsi *Oscillibacter*'dir. *Oscillibacter* cinsi 2007'den beri bilinmektedir. 16S rRNA dizi analizi yöntemi ile tanımlanan bu bakteri ile ilgili çok nadir araştırma bulunmakta olup, bunlardan bir tanesi Danimarka'da bir hastanede 2001'den 2010'a kadar olan zaman diliminde *Oscillibacter ruminantium*'nin etken olarak tanımlandığı dört bakteriyemi vakasını içermektedir<sup>(19)</sup>.

## Anaerob Materyallerin Kabul Edilmesinde Temel Kurallar

Ülkemizde ve dünya da anaerob bakteri laboratuvarlarında önceden de belirttiğimiz gibi bir standardizasyonun olmaması ve uygulamadaki farklılıklar bir problemdir. Her klinisyenin konuya farklı yaklaşımı, materyalin alınması ve taşınması sırasındaki farklı uygulamalar ile izolasyon ve identifikasyondaki farklı teknikler enfeksiyon etkeni olarak kabul edilen anaerob bakterilerin raporlandırılmasında hastane ve Laboratuvarlar arasında belirgin bir farklılık göstermesine neden olmaktadır. Bunun yanı sıra izole edilen anaerob bakterinin antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasında kullanılan farklı yöntemler ve in-vitro sonuçlarının klinik ile uyumsuzluğu ciddi problemler yaratmaktadır.

Tüm bu sorunların en aza indirilebilmesi için anaerob numunelerin toplanması, taşınması ve anaerobik mikrobiyolojide uyulması gereken en temel kurallar şöyle sıralanabilir;

- 1) Örnekler mutlaka antibiyotik kullanılmadan önce alınmalıdır.
- 2) Yara enfeksiyonlarında açık apselerden derin aspire sıvısı veya doku örneği tercih edilmelidir.
- 3) Aspire ve doku biyopsilerinde swap olarak tanımlanan pamuklu silgiçler yerine (bunlar kurumaya meyillidirler ve yağ asidi gibi inhibitör madde içerirler) uçlarında sentetik lifli iplikçiklerden yapılmış bezler olması tercih edilmelidir.
- 4) Örneklerin transferi için, oksijenle karşılaştığında renk veren inhibitörlerin (metilen mavisi, resazurin) olduğu Stuart's, Cary-Blair veya Amies besiyerleri gibi uygun taşıyıcı besiyerleri kullanılmalıdır.
- 5) Taşıyıcı besiyerleri bekletilirken buzdolabı gibi düşük ısı bir ortama konulmamalı (Düşük ısı oksitlenmeyi başlatır ve serbest oksijen miktarını artırır), oda ısısında bekletilmelidir.
- 6) Materyaller en geç iki saat içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır, ulaştırılamıyorsa uygun koşullarda bekletilmiş olmalıdır. Bu şekilde gelen örneklerden; transport besiyerinde renk değişimi olmayan ve bekleme süresi 8 ile 48 saat aralığında olanlar kabul edilmelidir. Gelen materyallerin bekleme süresi hacim ve volümleri ile doğru orantılıdır. Hacimleri ne

kadar büyük ve volümü yüksek ise bekleme süresi o kadar uzayabilir.

Anaerob bakteriyoloji laboratuvarında numune kabul ve ret kriterleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Tablo 2 anaerob bakterilerin klinik açıdan önemli enfeksiyonlarda yaygın saptanma oranlarını göstermektedir. Vücut bölgelerine göre sık rastlanan anaerob bakteriler Tablo 3'te verilmiştir.

**Ağız boşluğu:** Anaerob bakteriler ağız mikrobiyotasının %90'ını içerir. Tablo 3'te gösterilen anaerob bakteriler oral kavitede ve komşu dokulardaki enfeksiyonlar da çok sık olarak izole edilirler. Dental enfeksiyonların çoğunda bu bakteriler rol oynar. Bunlar pulpitis, peri apikal veya dental apse ve perimandibular bölge enfeksiyonlarıdır. Bu üç enfeksiyon, endodontik enfeksiyon olarak başlayıp periapikal bölgeye ve sonra da fasiaların mandibulaya bağlantılarının yarattığı potansiyel boşluklara ilerleme göstererek oluşurlar. Genellikle ağrı ve şişlikle kendini gösteren ve klinik olarak tanımlanması çok önemli olan bu enfeksiyonlardan en tipisi Ludwig anjini'dir. Piyore ve gingivitis gibi diş eti enfeksiyonlarında da anaerob hakimiyeti yüksektir.

Nadir görülen bir gingivitis formu olan akut nekrotizan ülseratif gingivitis, bazen Vincent anjini ya da çukur ağız olarak da adlandırılır. Bu hastalık kısmen fulminant karakterli olup şiddetli ağrı, çürük kokusu, doku harabiyeti ve pseudomembran oluşumu ile karakterizedir.

Bir diğer ağız mukozası enfeksiyonu gangrenöz stomatittir. Bu enfeksiyon bazen yüzde ve kemik dokuda hızla ilerleyerek şekil bozukluklarına neden olabilirler.

Bu bölgede kolonize olup nadir görülen etkenler;

*Tannerella forsythia*; gram negatif, anaerob, hareketsiz, pigment oluşturmeyen bir bakteridir. Flamantöz görünümde, subgingival kavitede yerleşen bakteri, yaptığı periodontal hastalıklarda bağ dokusu yıkımı ve alveoler kemik rezorpsiyonunununa neden olabilir.

**Tablo 1. Anaerop mikrobiyolojide kabul edilme ve ret kriterleri (6 no.lu kaynaktan uyarlanmıştır)**

Enfeksiyon Bölgesi	Kabul Edilebilenler	Ret Edilmesi Gerekenler
Kan	8-10 ml/standart kan kültür şişesi (vücut ağırlığına göre hesaplanarak) alınmış venöz kan	Kateter veya kateter ucu örnekleri
Merkezi Sinir Sistemi	Doku biyopsileri, iğne aspirasyonları	Yüzeysel sürüntüler
Periodontal Bölge	Apse aspiratları, Subgingival cep örnekleri (Periodontal küret ve kanaldan)	Yüzeysel gingival veya ağız sürüntüleri
Baş ve Boyun Bölgesi	Perkütan iğne aspiratları Cerrahi Örnekler Lemiere sendromu için alınan aspiratlar Aktinomyces sülfür granülleri için alınan örnekler Doku biyopsileri	Ağız, burun ve boğaz sürüntüleri (Lemiere sendromu için alınan sürüntüler hariç)
Kulak	Orta kulak iltihaplarından steril mikropipetlerle alınan aspire sıvılar	Yüzeysel materyaller
Göz	Korneal kazıma Vitreus sıvısı İğne aspiratları Konjonktival sürüntü	Yüzeysel materyaller
Apseler	Kapalı apseler (Kontamine olmayan dokudan ve cerrahi numunelerden aspire edilmiş sıvılar Fistül ve Sinüslerden elde edilen aspirasyon materyalleri	Cilt/Mukozal yüzeylerden alınmış sürüntü örnekleri ve irin
Akciğer Bölgesi	Plevral sıvı, Transtrekeal aspiratlar, Akciğer doku biyopsisi Derin bronşiyal sekresyonlar (Çift lümenli kateter ile çekilmiş)	Nazofaringeal bölgeden pamuklu silgiçle alınmış sürüntü Balgam
Karın Boşluğu	Periton ve asit sıvı aspiratlar, Cerrahi biyopsiler, Safra aspiratları	İleostomi/Kolostomi örnekleri
Dışkı	Sadece <i>Clostridium difficile</i> ve <i>Clostridium botulinum</i> için kullanılır	Diğer anaerop bakteriler aranmaz
Kadın Genital Yolları	Doku biyopsileri Pelvik enfeksiyonları aspiratları (Kuldosentez yoluyla) Peritoneal sıvı Endometriyal numuneler (Korumalı kateterle) Cerrahi numuneler	Servikal/Vajinal sürüntüler (Bakteriyel vajinoz hariç)
Kemik	Aspiratlar Kemik biyopsileri	Silgiçle alınmış yumuşak doku örnekleri
Eklem ve Protezler	Aspire edilmiş sinoviyal sıvılar (Kan kültür şişelerine) Anaerobik ortama bırakılmış periprostetik biyopsiler	Silgiçle alınmış yüzeysel yara ve sürüntüler
Yara ve Yumuşak doku örnekleri	Derin biyopsi örnekleri Derin yara örnekleri Yüzeyi steril tuzlu su ve alkolle temizlenmiş debridman edilmiş yaradan alınan aspirasyon sıvısı	Yüzey ve irin sürüntüleri
Dekübit veya Cilt Ülserleri	İğne ile alınmış aspire ve doku biyopsileri Derin lezyonlardan alınmış örnekler	Yüzeysel materyaller ve sürüntüler
Diyabetik Ayak Ülserleri	Kemik biyopsisi (Debride edilmiş veya cerrahi olarak alınmış)	Yüzeysel doku örnekleri
İdrar	Mesane idrarı (Suprapubik mesane aspiratları)	İdrar veya Kateter idrarı

*Capnoctophaga* türleri; gram negatif fusiform görünümde anaerop bakteriler olup oral bölgenin kommensal üyesidirler. Bu bakteri grubu, mikroskopik görünüm suş ve kültür koşullarına bağlı olarak boyut ve görünümü değişiklik gösterebilen “polimorfik” yapıdadırlar. Kolonilerinde turuncu renkli pigment oluşturabilen ve kapnofilik (üreme için

belirli bir CO<sub>2</sub> seviyesine ihtiyaç duyulması) özelliği olan *Capnoctophaga* türlerinin identifikasyonları güçtür. Tanımlama 16S rRNA dizi analizi veya kütle spektrometresine bağlı yöntemlerle (MALDI-TOF/MS) yapılabilir. Fırsatçı patojen olarak kabul edilen *Capnoctophaga* türleri, kişinin bağışıklık durumuna bağlı olarak farklı enfeksiyonlara da neden olabilirler.

Tablo 2. Anaerop bakterilerin klinik açıdan önemli enfeksiyonlarda yaygın saptanma oranları (6 no.lu kaynaktan uyarlanmıştır)

Bölge	En Yüksek (%70-100)	Yüksek (% 40-70)	Orta derece (% 13-45)	Düşük (% 4-10)	Çok Düşük (< %1)
<b>Baş ve Boyun</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diş ve ağız enfeksiyonlarının çoğu</li> <li>• Baş ve boyundaki apseler</li> <li>• Diş kökü ve kanal enfeksiyonları</li> <li>• Peritonsiller apseler</li> <li>• Kronik sinüzit</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kronik otitis media</li> <li>• Mastoiditis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Oküler enfeksiyonlar</li> <li>• Dakriyosistit</li> <li>• Travma sonrası endoftalmi</li> <li>• Perfore olmuş kornea ülserleri</li> <li>• Servikal lenfadenitler</li> <li>• Seröz otitis media</li> <li>• Tonsillit</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Akut sinüzitler</li> <li>• Akut otitis media</li> </ul>	
<b>Kan</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• İntraabdominal sepsis</li> <li>• Septik abortus</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bakteriyemi</li> <li>• (Ağız ameliyat sonrası ve diş çekimi)</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bakteriyemi (Endokardit nedeni)</li> </ul>	
<b>Merkezi Sinir Sistemi</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Beyin apseleri</li> <li>• Subdural ampiyem</li> </ul>			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Şant enfeksiyonları</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Menenjit</li> </ul>
<b>Deri ve Yumuşak Doku</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gazlı gangren</li> <li>• Meme apseleri</li> <li>• Sinerjik nekrotizan selülit</li> <li>• Perianal ve perirektal apseler</li> <li>• Enfekte diyabetik gangren</li> <li>• Pilonidal apseler</li> <li>• Travma sonrası enfeksiyonlar</li> <li>• Akne vulgaris</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Yara enfeksiyonları</li> <li>• Apseler</li> <li>• Selülit</li> <li>• Nekrotizan fasciit</li> <li>• Isırık yaraları</li> <li>• Diyabetik ayak enfeksiyonları</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• İmpetigo</li> </ul>		
<b>Karın</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Karın içi enfeksiyonların çoğu</li> <li>• Apendikuler apseler</li> <li>• Asit ve karaciğer hücre apseleri</li> <li>• Apandisit</li> <li>• Peritonit</li> <li>• Ameliyat sonrası karın enfeksiyonları</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Karaciğer apseleri</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Safra yolu enfeksiyonları</li> </ul>		
<b>Antibiyotiğe bağlı Diyareler</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pseudomembranoz enterokolit (<i>Clostridium difficile</i>)</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Clostridium difficile</i> ve <i>Clostridium perfringens</i> aranabilir</li> </ul>		
<b>Eklem bölgeleri ve Kemik</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ortopedik cihazlara bağlı enfeksiyonlar</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Osteomyelitis ve Ortopedik cihaz dışı enfeksiyonlar</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Protetik kemik enfeksiyonları</li> </ul>	
<b>Ürogenital Bölge</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kadın genital enfeksiyonları</li> <li>• Pelvik enflamatuvar hastalıkları</li> <li>• Pelvik apseler</li> <li>• Endometritis</li> <li>• Vajinal apseler</li> <li>• Bakteriyel vajinozis</li> </ul>				<ul style="list-style-type: none"> <li>• Üriner sistem enfeksiyonları</li> </ul>
<b>Akciğer</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Akciğer apseleri</li> <li>• Aspirasyon pnömonisi</li> <li>• Nekrotizan pnömoni</li> <li>• Plevral ampiyem</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bronşektazi, Nazokomiyal pnömoni</li> </ul>		

Tablo 3. Vücut bölgelerine göre sık rastlanan anaerob bakteriler

Vücut bölgesi	Sık rastlanan anaerob bakteriler
Ağız boşluğu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Actinomyces</i> spp., <i>Eubacterium</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp.</li> <li>• <i>Atopobium</i> spp.</li> <li>• <i>Parvimonas</i> spp., <i>Peptostreptococcus</i> spp.</li> <li>• <i>Prevotella</i> spp. (<i>Prevotella intermedia</i>, <i>Prevotella oralis</i>, <i>Prevotella melaninogenica</i>)</li> <li>• <i>Porphyromonas</i> spp. (<i>Porphyromonas gingivalis</i>)</li> <li>• <i>Fusobacterium</i> spp. (<i>Fusobacterium nucleatum</i>, <i>Fusobacterium necrophorum</i>)</li> <li>• <i>Veillonella</i> spp.</li> <li>• <i>Capnocytophaga</i> spp</li> <li>• <i>Tannerella forsythia</i></li> </ul>
Kadın Alt Genital Bölgesi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Lactobacillus</i> spp.</li> <li>• <i>Fingoldia</i> spp.</li> <li>• <i>Peptoniphilus</i> spp.</li> <li>• <i>Peptostreptococcus</i> spp.</li> <li>• <i>Cutibacterium</i> spp.</li> <li>• <i>Clostridium</i> spp.</li> <li>• <i>Actinomyces</i> spp.</li> <li>• <i>Eubacterium</i> spp.</li> <li>• <i>Prevotella</i> spp.</li> <li>• <i>Bacteroides</i> spp.</li> <li>• <i>Parabacteroides</i> spp.</li> <li>• <i>Fusobacterium</i> spp.</li> <li>• <i>Veillonella</i> spp.</li> <li>• <i>Atopobium</i> spp.</li> </ul>
Kolon	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Bacteroides</i> spp. (<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>)</li> <li>• <i>Parabacteroides</i> spp.</li> <li>• <i>Prevotella</i> spp.</li> <li>• <i>Porphyromonas</i> spp.</li> <li>• <i>Fusobacterium</i> spp.</li> <li>• <i>Veillonella</i> spp.</li> <li>• <i>Bilophila</i> spp. (<i>Bilophila wadsworthia</i>)</li> <li>• <i>Faecalibacterium prausnitzii</i></li> <li>• <i>Peptostreptococcus</i> spp.</li> <li>• <i>Blautia</i> spp.</li> <li>• <i>Coprococcus</i> spp.</li> <li>• <i>Clostridium</i> spp. (<i>Clostridium ramosum</i>, <i>Clostridium perfringens</i>)</li> <li>• <i>Eubacterium</i> spp.</li> <li>• <i>Eggerthella</i> spp.</li> <li>• <i>Collinsella</i> spp.</li> <li>• <i>Lactobacillus</i> spp.</li> <li>• <i>Bifidobacterium</i> spp.</li> </ul>
Üretra	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gram pozitif anaerob koklar</li> <li>• <i>Bacteroides</i> spp.</li> <li>• <i>Parabacteroides</i> spp.</li> <li>• <i>Prevotella</i> spp.</li> <li>• <i>Fusobacterium</i> spp.</li> </ul>
Konjonktiva	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gram pozitif anaerob koklar</li> <li>• <i>Cutibacterium</i> spp. (<i>Cutibacterium acnes</i>)</li> </ul>
Üst Solunum Yolu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gram pozitif anaerob koklar</li> <li>• <i>Cutibacterium</i> spp.</li> <li>• <i>Actinomyces</i> spp.</li> <li>• <i>Prevotella</i> spp.</li> <li>• <i>Fusobacterium</i> spp.</li> <li>• <i>Veillonella</i> spp.</li> </ul>
Deri Yüzeyi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gram pozitif anaerob koklar</li> <li>• <i>Fingoldia</i> spp.</li> <li>• <i>Cutibacterium</i> spp.</li> <li>• <i>Eubacterium</i> spp.</li> </ul>



Bu bakteriler genellikle periodontal ceplerden apikal ve periodontal apselerden izole edilirler. Alveoler kemik kaybına ve diş hareketliliğinin artışıyla diş kaybına da neden olabilirler. Aynı zamanda kas iskelet sistemi enfeksiyonları, akciğer enfeksiyonları, maternal-fetal enfeksiyonlar, endokardit ve menenjit etkeni olabildiğini gösteren yayınlar da mevcuttur<sup>(20)</sup>. Ayrıca bu bakteri türlerinin pediatrik, onkolojik ve hematolojik hastalarda klinik olarak önemlerini vurgulayan değişik çalışmalar mevcuttur. *Capnoctophaga* türlerinden, *Capnoctophaga canimorsus* ve *Capnoctophaga cynodegmi* köpek ısırıkları ile bulaşır ve bağışıklığı baskılanmış hastalarda potansiyel olarak trombotik trombositopenik purpura ve hemolitik üremik sendrom ile komplike hale gelen sepsislere neden olabilirler<sup>(21)</sup>.

*Atopobium* türleri; oral kavite mikrobiyotasında bulunan ve daha önce laktobasilluslar içerisinde sınıflandırılan gram pozitif anaerop basillerdir. Son yıllardaki çalışmalarda en sık bakteriyel vajinozis (BV) etkeni olarak kabul edilmektedir. Özellikle laktobasillusların hidrojen peroksit üretimi, vajinal pH ve flora üzerinde etkileri sonucu olarak *Atopobium* kolonizasyonu ve buna bağlı bakteriyel vajinozis geliştiğini bildiren çalışmalar mevcuttur<sup>(22)</sup>.

Kadın Alt Genital Bölgesi: Seksüel yolla geçenlerin dışındaki kadın genital organ enfeksiyonlarının çoğunda anaerop bakterilerin etken olduğu bildirilmektedir. Bu bölgede yoğun olarak mikrobiyotada bulunan ve herhangi bir nedenle endojen olarak enfeksiyon etkeni olabilecek anaerop bakteriler Tablo 3'te belirtilmiştir.

1970 yılları öncesi bu bölgede anaerop enfeksiyon etkeni olarak daha ziyade *Peptostreptococcus*'ların rolü vurgulanmıştır. Daha sonraları *B. fragilis*'in önemini vurgulayan çalışmalar öne çıkmışsa da potansiyel olarak yukarıda tanımlanan tüm anaeroplara enfeksiyon etkeni olabileceğini bildiren yayınlar mevcuttur<sup>(23)</sup>.

Kadın genital sistem enfeksiyonları Bartholin bezi apseleri, adnekslerdeki apseler, pyometrit, endometrit, pelvik selülit, salpanjit, pelvik tromboflebit, amniyonit ve jinekolojik cerrahi ile

obstetrik işlemleri izleyen enfeksiyonlardır. Bu enfeksiyonlarda anaeroplara varlığını gösteren en önemli ip uçları kötü kokulu akıntı, yumuşak dokuda gaz oluşumu, materyallerden yapılan Gram boyamada poliyomikrobiyal görüntüdür. Bu bölgede anaerobik enfeksiyonların tanımlanmasında en büyük zorluk kültür için uygun materyalin elde edilebilmesidir.

Kolon: Kolon bağırsaktaki bakterilerin %99'unu anaerop bakteriler oluşturur (Tablo 3).

*Collinsella* türleri; barsakta aminoasit metabolizmasında rol aldığı bildirilmiş olup obezite ile ilgili tartışılmaktadır<sup>(24)</sup>.

*Eggerthella* türleri; tek tek, çiftler veya zincirler halinde büyüyen hareketsiz, sporsuz, anaerob gram pozitif basillerdir. Karaciğer ve anal apseler, ülseratif kolit, sistemik bakteriyemi etkeni olarak tespit edilmiş vakalar mevcuttur. Bu bölgedeki vakaların büyük çoğunluğunun patofizyolojisinde kolon florasının mukoza bariyerini aşması söz konusudur<sup>(25)</sup>.

*Sarcina* türleri; Clostriceae familyasına ait gram pozitif koklardır. Bu cinsin çeşitli türleri kalın barsak ve deri mikrobiyotasında yer almaktadır. Bölünme esnasında oluşturdukları küboidal hücresel birlikteliklerinden dolayı Latince palet anlamına gelen "*Sarcina*" adını almışlardır. En önemli türü *Sarcina ventriculi* olup düşük pH'da canlı kalması tipik özelliğidir. İlk olarak 1842'de tanımlanmış bir bakteridir. Çok nadir olarak sindirim sisteminde enfeksiyon yapabilmektedir. Hematoksilien-Eozin boyası ile boyanmış gastrik örneklerde gösterilmiştir<sup>(26)</sup>.

*Blautia* cinsi; Ruminococcus cinsinden anaerob gram pozitif bir bakteri olup, en önemli türü *Blautia obeum*'dur. Bu türün çocuklarda *Vibrio cholera* enfeksiyonunun iyileşme sürecinde ve mikrobiyotanın normalleşmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. *V. cholera*'nın patojenitesini azalttığına yönelik bildirimlerde vardır. *B. obeum* hücre dışı bileşikleri algılayarak, barsak epitel hücrelerinde, hücre içi sinyal iletimi (transdüksiyon)

yollarını etkinleştirir. Bu etki G proteinlerin eşli reseptörleri üzerinden gerçekleşir. Buna bağlı olarak, butirik asit ve asetik asit üreterek obeziteyi azaltan bir etkisi olduğu da iddia edilmektedir<sup>(27)</sup>.

*Bilophila* cinsi; gram negatif, zorunlu anaerop, katalaz pozitif, safra dirençli, asakorolitik (kompleks karbonhidratları hidrolize etmeyen bakteri grubu) basillerdir. En önemli türü *Bilophila wadsworthia* olup, zor tanımlanabilen bakterilerdir. Bu türün farklı enfeksiyonlarla bağlantılı olduğunu bildiren çalışmalar yayımlanmıştır. Katalaz pozitif olması ve sülfid türevi bir amino asit olan tuarini hidrojen sülfür üretiminde kullanması önemli özellikleridir. Bakteri aynı zamanda üreaz aktivitesi pozitifdir. Düzensiz hücre duvarlarından dolayı pleomorfiktir. Yavaş üreyen bir bakteri olduğundan tanısı güçtür. Esculin Agar'da merkezi siyah olan şeffaf koloniler oluşturur ve kolonilerin ortasının siyah olması bakterilerin ürettiği hidrojen sülfat tarafından oluşturulan demir sülfittir. Safra ve piruvat bakterinin büyümesini uyaran iki önemli faktördür. Katalaz deneyinde; çok hızlı katalaz aktivitesi göstermesi nedeniyle, reaksiyon esnasında hızlı bir şekilde kabarcık oluşturup patlar görünüm tipiktir. Bu bakteriyi tanımlamanın en iyi yolu gaz-likit kromotografisi ile ara ürünleri olan asetik asit ve butirik asidin belirlenmesidir. *B. wadsworthia*, ürerken meydana gelen ana süreçlerden biri bakterinin siyah koloni oluşturmasında sorumlu hidrojen sülfür üretimidir. Hidrojen sülfid üretimi insan barsak mikrobiyotasına bağlıdır. Bağırsakta hidrojen sülfid üretiminin kardiyak sistemi korumaya yönelik bazı faydalarının olduğu ileri sürülse de bazı hastalıkların patolojisine katkıda bulunduğu dair bilgiler vardır. Hidrojen sülfid üretimi bağırsak epitelinin mukus tabakasına zarar vererek irritabl bağırsak hastalığı (IBD) ve kolorektal kanserle ilişkilendirilmiştir<sup>(28)</sup>.

*Bilophila wadsworthi* çoğunlukla alt gastrointestinal sistemde bulunur. Bu bakteri apandisit (apandisitli hastalarda sık izole edilen üçüncü), gangrenöz apandisit ve karaciğer apseli hastaların kan kültürlerinde yaygın olarak izole edildiğinden, öldürücü olarak kabul edilir. Bakterinin sağlıklı kişilerin dışkı örneklerinin yanı sıra, çok nadir de olsa tükürük ve vajinal örneklerden de izole edildiği bildirilmiştir. Enfeksiyon etkeni olarak mandibular osteomyelit,

aksiller hidroadenitis supurativa, sepsis kolesistit ve bartholinit'ten sorumlu olduğu görülmüştür<sup>(29)</sup>.

*Faecalibacterium* cinsi; bilinen tek türü *Faecalibacterium prausnitzii* olup gram pozitif anaerop ve mezofilik özellikle basillerdir. İnsan barsak mikrobiyotasında önemli bir yer tutar. Hareketsizdir, spor oluşturmaz, asetatın butirik asit ve anti-enflamatuvar etkili şikimik ve salisilik asit üretir. Farklı araştırmalar bağırsakta kantitatif olarak *F. prausnitzii* bakterisinin azalmasının enflamatuvar etkileşimlere karşı savunma mekanizmasını zayıflattığı, bu bakterinin proinflamatuvar sitokinlerin uyarılmasında önemli olduğunu göstermiştir<sup>(30)</sup>.

Üretra: Anaerop bakteriler üriner sistem enfeksiyonlarında çok nadir izole edilirler. Anaeropların dahil olduğu üriner sistem enfeksiyonları, para-peri üretral selülit veya apse, akut veya kronik üretrit-sistit, akut veya kronik prostatit, prostatik ve skrotal apseler, periprostatik flegmon, üretrit, periüretrit, piyelit, piyelonefrit, böbrek apsesi gibi enfeksiyonlardır. Enfeksiyonun belirlenmesinde materyal idrar ise mutlaka subrapubik aspirasyon alınmalıdır. Üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilebilen anaeroplar tablo 3'te belirtilmiştir.

Konjonktiva: En savunmasız ve en hassas vücut bölgesidir. Göz yaşı da tükürükte olduğu gibi, lizozim, laktoferrin, slgA içerir. Göz kırpmaya refleksi de antibakteriyel bir koruyucu hareket olarak sayılabilir. Bu bölgede etken olabilecek anaerop bakteriler Tablo 3'te yer almaktadır.

Üst Solunum Yolu: Akciğer apseli hastalarda anaerop bakterilerin kaynağı olarak gingiva çatlakları çok önemlidir. Tükürük belirli bir anaerop bakteri içermesinden dolayı burada bulunan *Veillonella* türleri de potansiyel akciğer enfeksiyonu etkeni olarak akılda tutulmalıdır. Bu bölgede anaerobik enfeksiyonlara zemin hazırlayan bir başka kolaylaştırıcı faktör bronşektazidir. Yabancı cisimler, bronşiyal stenoz ya da neoplazm nedeniyle oluşan bronş obstrüksiyonu bu bölgede anaerop enfeksiyonlara zemin hazırlayabilir. Bu bölgedeki enfeksiyon etkeni olabilecek anaerop bakteriler Tablo 3'te gösterilmiştir.

Deri Bölgesi (Yüzeyi): Deri hafif asidik (pH 5.5) ve ısı 37°C nin altındadır. Bakterilerin çoğu metabolik faaliyetlerini sürdürebilmeleri için nötr pH ve 37°C gibi optimal koşullara gereksinim duyarlar. Derideki doğal açıklık olan porlar, saç folikülleri, ter bezleri ve buradan salgılanan lizozim ve toksik lipidler bakteriler için öldürücüdür.

Deride kommensal olarak bulunan önemli anaerob bakteri *Cutibacterium acnes*'tir. Akne vulgaris enfeksiyonuna neden olur. Bu bakteri "otoriter anaerob" olarak bilinmesine rağmen %100 oksijenli ortamları tolere edebildiği ancak büyümesinde yavaşlama olduğu rapor edilmiştir. Deri aerob bakterilerin yanında belirli bölgelerde (Perine bölgesi, koltuk altı, kadınlarda göğüs altı) sınırlı da olsa *Cutibacterium (Propionibacterium)* türlerinin dışında anaerob bakterilerin oluşturduğu bir mikrobiyotaya sahiptir. Bu bölgedeki anaerob bakteriler Tablo 3'te belirtilmiştir.

### Anaerob Kültürlerde Örneklerin İşlenmesi

Klinik mikrobiyoloji Laboratuvarlarının anaerob bakteri şüpheli örnekleri kabul edebilmesi için seviye 1 ve seviye 2 anlamında temel ekipmanlara sahip olması gerekir. Seviye 3 izole edilen bir bakterinin identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılabilmesi için laboratuvarların seviye 3'te olması gerekir. Laboratuvarın seviye 4 tanımlanmasına girmesi için MALDI-TOF/MS ve/veya 16S rRNA dizi analizi gibi moleküler testleri yapıp nihai tanıyı koyabilecek ekipman ve teçhizata sahip olmalıdır. Uygun koşullarda alınıp gönderilen numuneler tiyoglikolatlı ortamda homojenize edilmelidir.

Materyalin direk boyama ile birlikte bazen çok özel işlemlere tabi tutulması gerekebilir. Örneğin *Actinotignum schaalii* bir anaerob patojen olarak kısa bir sürede ancak Gram boyama ile belirlenebilir. Çünkü bu bakteri üreyebilmek için uzun süre anaerobik ortamda inkübasyona ihtiyaç duyar. Bazen Gram boyama hassasiyeti bir anaerob bakteriyi tanımlamada kültüre göre daha hassas ve belirleyici olabilir. Örneğin derin apse ve sinüs yollarından alınan materyallerde direk mikroskopi ve Gram boyamada görülen ipliksi görünüm veya gram pozitif

çubuk görünümü Actinomyceslerin tanısı anlamında önemlidir. Alınan bir materyal transport bir besi yeri ile anaerob bakteri izolasyonu amaçlı laboratuvara gönderildiğinde seçici olmayan kanlı ağara veya tekrar tiyoglikolatlı bir besiyerine ekilebilir. At veya koyun kanlı, K1 vitamini ve hemin bakımından zengin besiyerleri anaerob bakterilerin üremesi için uygundur. Ayrıca ilk materyalden elde edilen Gram boyama sonucuna göre, kanamicin, vankomisin safralı agar, fenil etil alkollü agar, yumurta sarısı agarı gibi gram negatif anaerob basillerin üremesini kolaylaştırıcı besiyerleri de kullanılabilir. Bunun yanı sıra örneğin bir dışkı örneğinden *Clostridioides difficile* izolasyonu gerekiyorsa dışkı örneği klasik sikloserin-sefoksitin-fruktoz agar gibi kromojenik ortamlara ekim yapılabilir. Anaerob bakterilerin koloni oluşturmada uzun inkübasyon süresine ihtiyaç duyması hem klinisyen hem de laboratuvar açısından sıkıntılı bir durumdur. Bu bazen 3 ile 5 gün arasında değişebildiği gibi, eklem protez enfeksiyonlarında izole edilebilen *Cutibacterium* türleri için sıvı ortamda 14 güne kadar inkübasyon süresi gerekebilir<sup>(31)</sup>.

### Anaerob Bakteri Laboratuvarlarının Seviye Kategorileri<sup>(31)</sup>

**Seviye 1:** Laboratuvar anaerob kültür örneklerini kabul eder ve sadece anaerob bakterilerin var olup olmadığını belirler ve bildirir.

**Seviye 2:** Majör anaerob bakterileri gruplarını belirler. Kesin identifikasyon ve antibiyogram için izolatları referans laboratuvarlarına gönderir.

**Seviye 3:** Anaerob bakterileri fenotipik ve enzimatik düzeyde testler sonucunda tür ve cins düzeyinde identifiye eder, "bazen" antibiyogram sonuçlarını verir.

**Seviye 4:** Anaerob bakterilerin izolasyonundan sonra 16S rRNA gen sekansı veya MALDI-TOF-MS teknolojisi ile identifikasyon ve kantitatif düzeyde antibiyogram sonucu verir.

### Anaerobik İnkübasyon Teknikleri

Anaerob rutin laboratuvarlarda Hungate tüpü yöntemi yerine anaerobik kavanozlar ve torbalar almıştır.

Değişik sistemlerin anaerob izolasyonda kendine ait avantaj ve dezavantajları vardır. Glove-box gibi ileri ve pahalı anaerobik ortam yaratılan sistemler yavaş üreyen anaerob bakterilerin günlük incelenmesine olanak sağlarken, anaerob kavanoz ve poşetler anaerob bakterilerin izolasyonunda daha fazla işlem gerektiren yöntemlerdir. Bu tip yöntemler de kavanoz ve poşetler 48 saat önceden açılmamalıdır. Aerotoleran olmayan anaeroplara en küçük bir oksijen seviyesine maruz kaldıklarında ölürler ve üreyemezler. Anoxomat gibi otomatik cihazlar oksijen maruziyetini kısıtlarlar ki bu da anaerob bakterilerin üreme şansını artırır. Eğer klinik veriler ve Gram boyama sonuçları *C. perfringens* gibi hızlı üreyen gazlı gangren etkenini işaret ediyorsa plaklar ayrı inkübe edilip erken açılmalarına imkan sağlanmalıdır<sup>(32)</sup>.

Poşet ve kavanoz gibi yöntemlerde metilen mavisi ve resazurin emdirilmiş kağıtların kavanoz ve poşette görülebilecek bir ortama bırakılması oksijen konsantrasyonunun gözlemlenmesinde kullanılan en basit yöntemlerdendir. Bu boyalar oksijen seviyesi düştükçe yani redüklenme esnasında renk kaybederler ve en düşük oksijen konsantrasyonunda renksizleşirler. Bunun dışında ortamdaki oksijen seviyesinin düştüğünü veya ortamın redüklemediğini farklı yöntemlerle de deneyebiliriz. Örneğin Simon Sitrat besiyerlerine nonfermantatif bir bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa* inkübasyonu yapıp üremeyi ve reaksiyonu takip etmekte temel bir yöntemdir. Bunun yanı sıra aerotoleran bir bakteri olan *C. perfringens*'in 5 mg metronidazol diski ile inkübasyonu sonucu ile de anaerob ortamın oluşup oluşmadığı tespit edilebilir. Anaerob ortamın yaratılmasında ayrıca oksiraz denilen oksijen giderici enzimlerde önerilmiştir. Oksiraz içeren plaklar 1990'lar da geliştirilmiş bu sayede daha az maliyetli bir ortam sağlanmıştır. Bu enzimin mevcut olduğu Oxyplaytler geleneksel anaerobik yöntemlere göre standart bir inkübasyon ortamında aerobik olarak inkübe edilme olanağı sağlar. Bu plaklarda materyalin inkübasyonundan sonra içindeki oxyrase enzimi oksijeni indirger ve anaerob bakterilerin üremesini sağlar. Anaerobik inkübasyon sistemlerinin kullanımını ortadan kaldırmak için başka bir yöntemde kullanılan besiyerine askorbik asit, glutatyon, ürik asit, gibi indirgeyici maddeleri katma yöntemidir. Diğer bir

yöntem de kimyasal metod olarak bilinen Burri-Wright metodunun petri kutusunda uygulanmasıdır. Prigallik asit (Pirogallol) alkalen bir ortamda havanın oksijenini absorbe eder. Küçük bir zarf içerisine bırakılan pirogallik asit maddesine sodyum hidroksit çözeltisi damlatılır ve petri kutusunun kapak kısmı ters çevrilerek ortasına bu zarf yapıştırılır. Ekim yapılmış petri kutusunun kapağı ters çevrilir parafinlenir ve 37°C de inkübasyona bırakılır. Bu yöntemler anaerob bakteri prosedürlerini basitleştirse de izolasyon ve identifikasyon şansı gelişmiş yöntemlere göre daha azdır ve çok dikkat isteyen yöntemlerdir. Anaerob bakterilerin tanısında üreyen kolonilerin makroskopik olarak bir büyütle incelenmesi tanıda ilk aşamadır. Üreyen farklı koloni tipleri incelenir, her birinden Gram boyama incelenmesi yapıldıktan sonra ayrı plaklara pasajlanmalıdır. Anaerob ortamda saflaştırılan (1-6 gün inkübasyon) bu kolonilerin farklı karbonhidrat ve substratlarla olan ilişkileri, Gram boyama görünümündeki morfolojileri incelenerek ilk tanı kanaati oluşabilir. Bunun yanı sıra basitten karmaşığa doğru farklı tanı yöntemleri kullanılabilir. Basit disk yönteminde kullanılan kanamisin, vankomisin, kolistin ve safra disklerine olan duyarlılık örneğin gram negatif basil tarzı anaeroplara tanımlanmasında kullanılan en temel yöntemlerdendir. Bunun yanı sıra gaz-likit kromatografisi ile belirlenebilen ara ürün ve enzimler bu bakterilerin sınıflandırılmasında önemlidir. Ultraviyole ışınına maruz kalan kolonilerin renk vermesi, ayrıca bazı anaerob kolonilerin pigment oluşturması (*Prevotella*, *Porphyromonas* spp. siyah pigment oluşturması) bazen tanıda belirleyici faktörlerdir. Anaerob bakterilerin metabolik faaliyetlerinin yavaş olması, bazı biyokimyasal testlere karşı reaktif olmamaları bu tip tanı yöntemlerinde karşılaşılan sorunlardandır<sup>(32)</sup>. Son yıllarda kullanılan MALDI-TOF/MS gibi cihazlar anaeroplara tanımlanmasında iyi bir performans göstermiştir. Bu yöntemle bakteri türlerinin belirlenen kütleleri referans suşlarla karşılaştırılarak tanımlama yapılır ve isimlendirilir. Ancak metodun pahalı olması en önemli dezavantajlardandır.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

**Finansman:** Yoktur/bildirilmemiştir.

**Conflict of Interest:** No conflict of interest was declared by the authors.

**Funding:** None/not declared.

## KAYNAKLAR

1. Li Y, Shan M, Zhu Z, et al. Application of MALDI-TOF MS to rapid identification of anaerobic bacteria. BMC Infect Dis. 2019;19(1):941. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4584-0>
2. Barba MJ, Fernández A, Oviaño M, Fernández B, Velasco D, Bou G. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of anaerobic bacteria. Anaerobe 2014;(30):126-8. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.09.008>
3. Biswas S, Rolain JM. Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. J Microbiol Methods. 2013;92(1):14-24. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.10.014>
4. Garner O, Mochon A, Branda J, et al. Multi-centre evaluation of mass spectrometric identification of anaerobic bacteria using the VITEK® MS system. Clin Microbiol Infect. 2014;20(4):335-9. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12317>
5. Finegold SM. Anaerobic Bacteria in Human Disease. New York, NY, USA: Academic Press; 1977.
6. Nagy E, Boyanova L, Justesen US, et al. How to isolate, identify and determine antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in routine laboratories. Clin Microbiol Infect. 2018;24(11):1139-48. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.02.008>
7. Saat N. Klinik örneklerden izole edilen anaerop bakterilerin konvansiyonel yöntem ve MALDI-TOF MS ile tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıkları [Tıpta uzmanlık tezi]. Diyarbakır: Dicle Üniversitesi, 2018.
8. Uğraklı S. Anaerop bakterilerin tanımlanmasında çeşitli yöntemlerin karşılaştırılması ve bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıkların araştırılması [Tıpta uzmanlık tezi]. Konya: Necmettin Erbakan Üniversitesi, 2020.
9. Tally FP, Goldin BR, Jacobus NV, Gorbach LV. Superoxide dismutase in anaerobic bacteria of clinical significance. Infect Immun. 1977;16(1):20-5. <https://doi.org/10.1128/iai.16.1.20-25.1977>
10. Botta GA, Arzese AR. Diagnostic anaerobic bacteriology in Italy: state of the art. Italian Anaerobic Study Group. Clin Infect Dis. 1997;25(Suppl 2):S246-48. <https://doi.org/10.1086/516213>
11. Peeters B, Magerman K, Waumans L, Cartuyvels R. Laboratory survey and literature review of anaerobic bacteriology: foundations of a clinically orientated and evidence-based workup for anaerobic cultures. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016;86(1):15-22. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.06.004>
12. Weghoff M C, Bertsch J, Müller V. A novel mode of lactate metabolism in strictly anaerobic bacteria. Environ Microbiol. 2015;17(3):670-7. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12493>
13. Güvenir M, Kaptanoğlu A, Süer K. *Propionibacterium acnes*'in mikrobiyoloji dünyasındaki yeri ve önemi. Turk J Dermatol. 2018;12:183-6. <https://doi.org/10.4274/tdd.34>
14. Shen D, Chen R, Ye L, Luo Y, Tang YW. *Robinsoniella peoriensis* bacteremia in a patient with pancreatic cancer. J Clin Microbiol. 2010;48(9):3448-50. <https://doi.org/10.1128/JCM.00477-10>
15. Barrak I, Stajer A, Gajd M, Urban E. Small, but smelly: the importance of *Solobacterium moorei* in halitosis and other human infections. Heliyon. 2020;6(10):e05371. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05371>
16. Pedersen RM, Holt HM, Justesen US. *Solobacterium moorei* bacteremia: identification, antimicrobial susceptibility and clinical characteristics. J Clin Microbiol. 2011;49(7):2766-68. <https://doi.org/10.1128/JCM.02525-10>
17. Fung TC, Vuong HE, Luna CDG, et al. Intestinal serotonin and fluoxetine exposure modulate bacterial colonization in the gut. Nat Microbiol. 2019;4(12):2064-73. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0540-4>
18. Henke MT, Kenny DJ, Cassilly CD, Clardy J. *Ruminococcus gnavus*, a member of the human gut microbiome associated with Crohn's disease, produces an inflammatory polysaccharide. PNAS. 2019;116(26):12672-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1904099116>
19. Sydenham TV, Arpi M, Klein K, Justesen US. Four cases of bacteremia caused by *Oscillibacter ruminantium*, a newly described species. J Clin Microbiol. 2014;52(4):1304-07. <https://doi.org/10.1128/JCM.03128-13>
20. McGuire MK, Nunn ME. Prognosis versus actual outcome. III. The effectiveness of clinical parameters in accurately predicting tooth survival. J Periodontol. 1996;67(7):666-74. <https://doi.org/10.1902/jop.1996.67.7.666>

21. Dal T, Dal MS. Akut myeloid lösemili hastada *Capnocytophaga ochracea* bakteremisi: Bir olgu sunumu. Van Tıp Derg. 2011;18(2):121-4.
22. Mendling W, Palmeira-de-Oliveira A, Biber S, Prasauskas V. An update on the role of *Atopobium vaginae* in bacterial vaginosis: what to consider when choosing a treatment? A mini review. Arch Gynecol Obstet. 2019;300(1):1-6.  
<https://doi.org/10.1007/s00404-019-05142-8>
23. Sweet RL. Anaerobic infections of the female genital tract. Am J Obstet Gynecol. 1975;122(7):891-901.  
[https://doi.org/10.1016/0002-9378\(75\)90736-x](https://doi.org/10.1016/0002-9378(75)90736-x)
24. Gomez-Arango LF, Barrett HL, Wilkinson SA, et al. Low dietary fiber intake increases *Collinsella abundance* in the gut microbiota of overweight and obese pregnant women. Gut Microbes. 2018;9(3):189-201.  
<https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1406584>
25. Gardiner BJ, Tai AY, Kotsanas D, et al. Clinical and microbiological characteristics of *Eggerthella lenta* bacteremia. J Clin Microbiol. 2015;53(2):626-35.  
<https://doi.org/10.1128/JCM.02926-14>
26. Tuuminen T, Suomala P, Vuorinen S. *Sarcina ventriculi* in blood: the first documented report since 1872. BMC Infect Dis. 2013;(13):169.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-169>
27. Liu X, Mao B, Gu J, et al. *Blautia*-a new functional genus with potential probiotic properties? Gut Microbes. 2021;13(1):1-21.  
<https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1875796>
28. Peck SC, Denger K, Burcher A, Irwin SM, Balskus EP, Schleheck D. A glycol radical enzyme enables hydrogen sulfide production by the human intestinal bacterium *Bilophila wadsworthia*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019;116(8):3171-6.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1815661116>
29. Finegold S, Summanen P, Gerardo S H, Baron E. Clinical importance of *Bilophila wadsworthia*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1992;11(11):1058-63.  
<https://doi.org/10.1007/BF01967799>.
30. Parsaei M, Sarafraz N, Moaddab SY, Leylabadlo EH. The importance of *Faecalibacterium prausnitzii* in human health and diseases. New Microbes New Infect. 2021;43:100928.  
<https://doi.org/10.1016/j.nmni.2021.100928>
31. CLSI. Principles and Procedures for Detection of Anaerobes in Clinical Specimens: Approved Guideline. M56. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
32. Willis AT. Anaerobic Bacteriology: Clinical and Laboratory Practice. 3rd ed. Butterworth-Heinemann, Elsevier; 1977.  
<https://doi.org/10.1016/C2013-0-06208-1>