

10. ANTİMİKROBİK KEMOTERAPİ GÜNLERİ

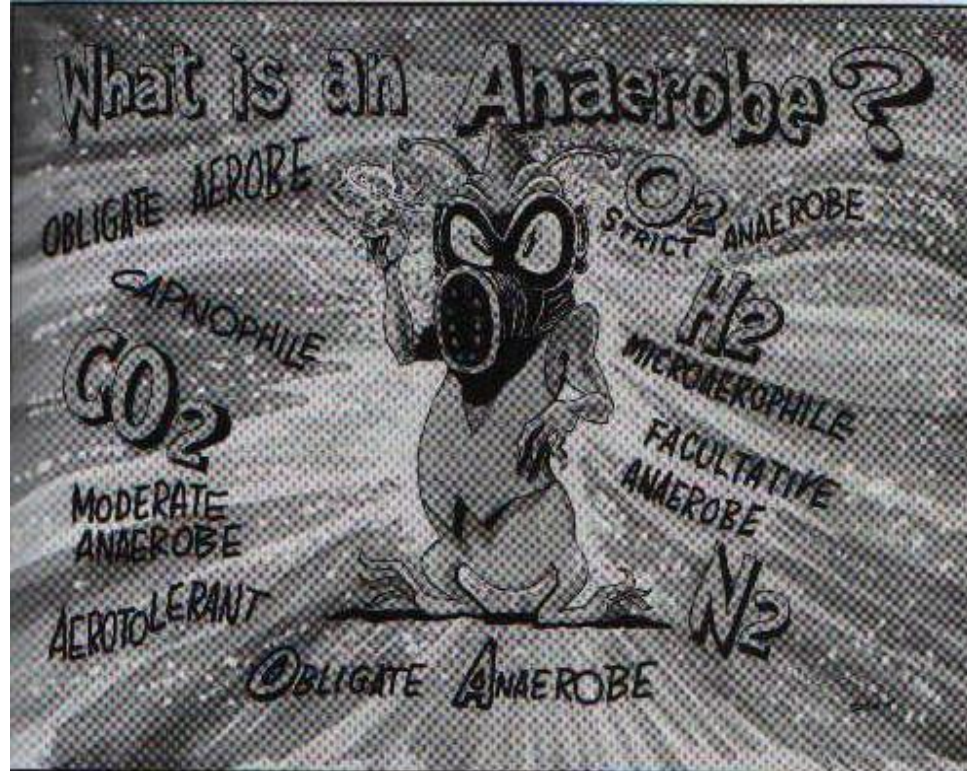


ANAEROPLARDA TANIMLAMA

Nurver (Toprak) Ülger

Marmara Üniversitesi , Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Anaerop bakteriler;



Oksijen varlığında canlılıklarını
sürdüremiyen μ organizmalar

SKIN

Propionibacterium spp. (3)
P. acnes
P. granulosum
P. avidum
Peptostreptococcus spp. (2)
Eubacterium spp. (1)

URETHRA

Bacteroides spp. (2)
Fusobacterium spp. (2)
Clostridium spp. (1)
Eubacterium spp. (1)
Lactobacillus spp. (1)
Peptostreptococcus spp. (1)

VAGINA

Lactobacillus spp. (3)
Peptostreptococcus spp. (3)
Bacteroides and *Prevotella* spp. (2)
(esp. *P. bivia* and *P. disiens*)
Propionibacterium spp. (2)
Veillonella spp. (2)
Clostridium spp. (1)
Bifidobacterium spp. (1)
Eubacterium spp. (1)
Fusobacterium spp. (1)
Mobiluncus spp. (variable)

UPPER RESPIRATORY TRACT (other than the mouth)

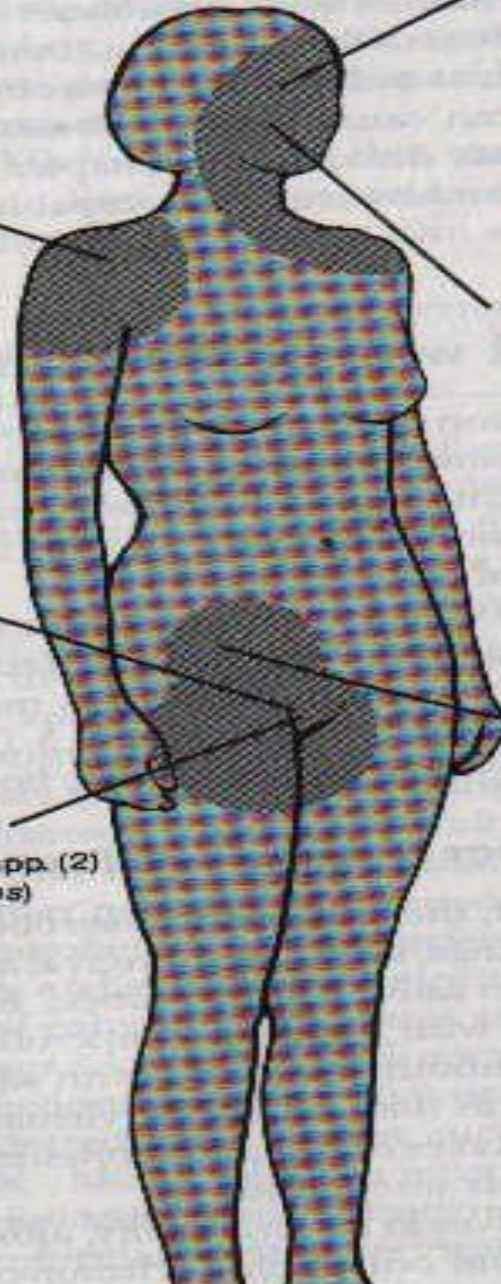
Actinomyces spp. (2)
Bacteroides spp. (2)
Fusobacterium spp. (2)
(esp. *F. necrophorum*)
Peptostreptococcus spp. (2)
Propionibacterium spp. (2)
Streptococcus spp. (2)
Veillonella spp. (2)
Eubacterium spp. (1)

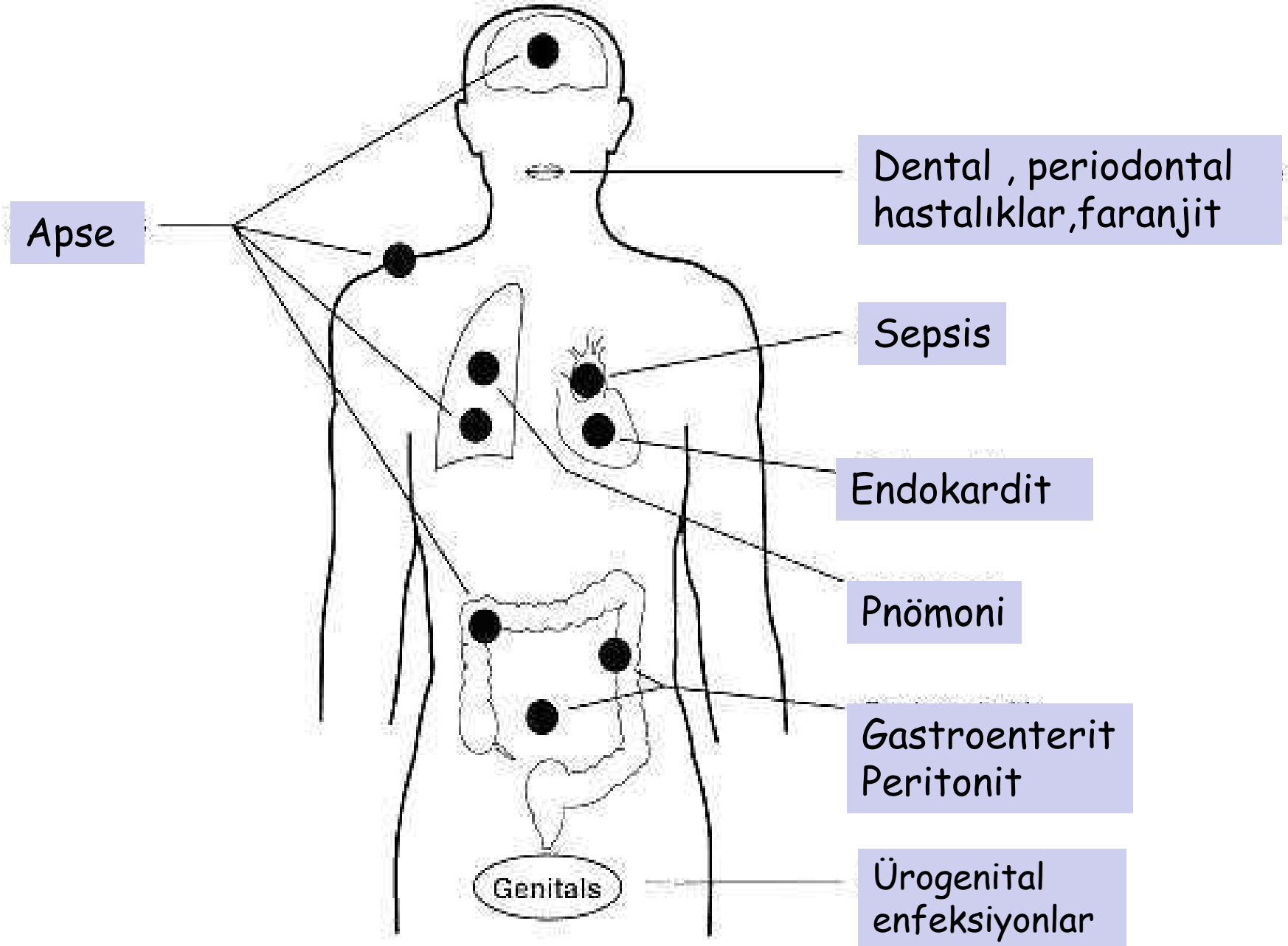
ORAL CAVITY

Bacteroides and
Porphyromonas spp. (3)
Fusobacterium spp. (3)
Peptostreptococcus spp. (3)
Veillonella spp. (3)
Actinomyces spp. (2)
Bifidobacterium spp. (2)
Eubacterium spp. (2)
Lactobacillus spp. (2)
Clostridium spp. (1)
Propionibacterium spp. (1)

COLON

Bacteroides spp. (3)
(esp. *B. vulgatus*,
B. thetaiotaomicron,
and *B. distasonis*)
Bifidobacterium spp. (3)
(esp. *B. adolescentis*)
Clostridium spp. (3)
(esp. *C. ramosum* and
C. perfringens)
Eubacterium spp. (3)
(esp. *E. aerofaciens* and
E. lentum)
Peptostreptococcus spp. (3)
(esp. *P. productus*)
Lactobacillus spp. (2-3)
(esp. *L. acidophilus*)
Actinomyces spp. (1)
Fusobacterium spp. (1)
Propionibacterium spp. (1)





Anaerop bakteriler

- ağır infeksiyonlar yapabilirler
- tanımlanmaları zor
- etkenlerin az bir kısmı eksojen kaynaklı
- çoğunluğu kişinin kendi normal florasından
- karışık infeksiyonlara neden olabilir,
- yavaş üreme gösterir

kültürü sonuçlandırmak için uzun süre geçmektedir

Anaerop infeksiyonu düşündüren ip uçları:

- Periodontal hastalıklar, aspirasyon pnömonisi, intra-abdominal enfeksiyonlar
- Doku zedelenmesi & zayıf vasküler perfüzyon
- Dokuda gaz varlığı
- Apse oluşumu
- Pis kokulu akıntı
- Sülfür granüllerin varlığı

Anaerop enfeksiyonlara özgü bulgular Ø

Anaerop kültürlerde başarılı sonuç alabilmek için;

- Uygun klinik örneklerin, uygun şekilde alınması
- Örneklerin endojen mikroflora ile kontaminasyonunun önlenmesi
- Örneėin laboratuvara nakli sırasında O₂ ile temas etmemesi
- Laboratuvarda dikkatli bir şekilde hemen işleme alınması gerekmektedir

Uygun olmayan örnekler

- Balgam
- Boğaz, ağız sürüntüsü
- Gastrik aspirat
- Orta akım idrar
- Vajinal sürüntü

Uygun örnekler

- Apseden aspirat
- Kan
- Normalde steril vücut sıvısı

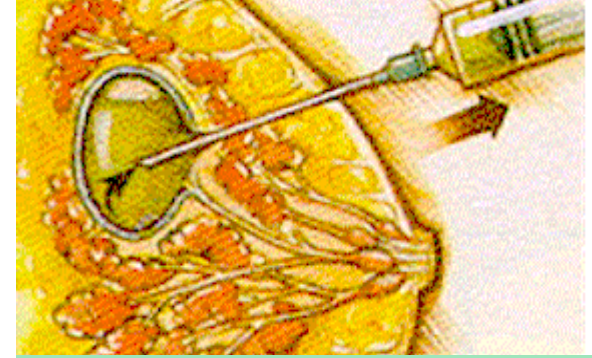
Plevra
perikard
BOS
eklem

SIVILARI

- Akciğer, doku, endometrium biyopsisi
- Suprapubik alınan idrar

Derin yaralar veya apseler

- Apseler kan örneği alır gibi antisepsi, sonra aspirasyon (povidon iyot, % 70'lik alkol ile)
- Yaralarda, lezyon steril SF ile yıkanır, üst katman bistüri ile uzaklaştırıldıktan sonra dipten biyopsi alınır
- Biyopsi alınamıyorsa temizlikten sonra dip kısma SF enjekte edilip tekrar aspire edilebilir



İğne ile aspirasyon



Cerrahi biyopsi

Derin yaralar

- Eküvyon ile alınan örnekler, anaerop kültür için kabul edilemez.



Transport

- Steril vücut sıvıları / apse materyali, anaerop transport ortamına enjekte edilir
- Transport ortamın bulunmadığı durumlarda; enjektörde

15 dakika içinde
laboratuvarında olmalıdır!

İstek formu eksiksiz
doldurulmalı



Örneklerin ekilmesi

Anaerop ortam

Anaerop kanlı agar

- Fenil etil alkol (FEA) agar
- *Bacteroides* safra eskülin (BSE) agar
- Kanamisin-vankomisin lize kanlı (KVLK) agar*

Aerop Ortam

- Kanlı agar
- Çikolata agar
- Mac Conkey agar

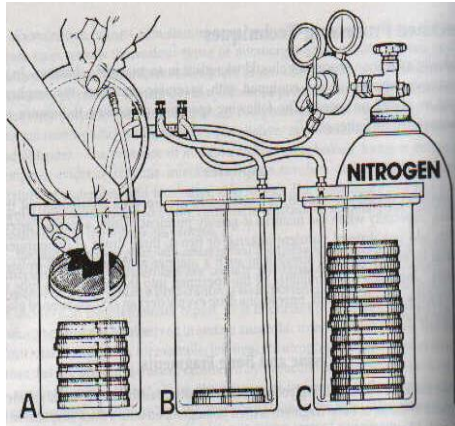
AZALTMA YÖNTEMİYLE EKİM

Tiyoglikolat besiyeri

**5% H_2 , 10% CO_2 ,
85% azot**



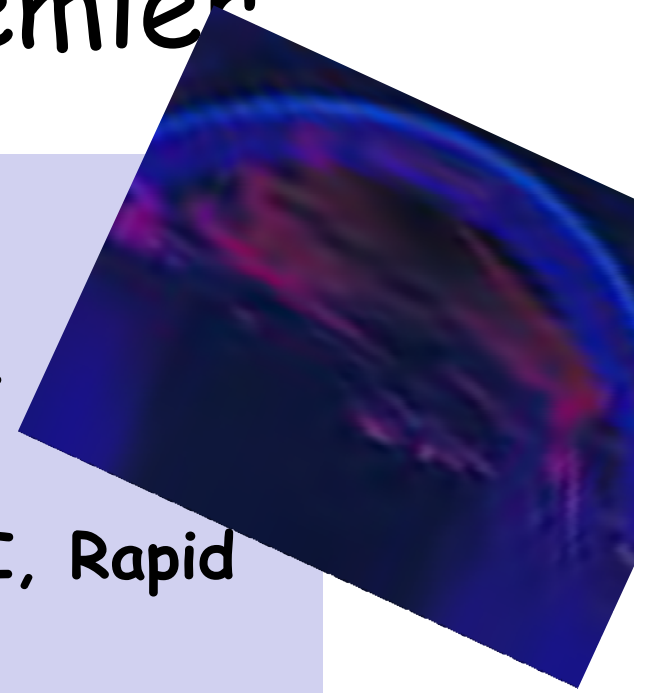
5% H_2 , 10% CO_2 ,
85% azot



Kullanılan klasik yöntemler

- Koloni ve mikroskopik görünüşleri
- Seçici ayırt edici agar (BBE)
- Katalaz, spot indol, üreaz, nitrat redüksiyonu, lipaz
- Tanımlama kitleri: RapID ANA II, Rapid ID 32A
- Biyokimyasal testler
- Kısa ve uzun zincirli yağ asitlerinin tespiti için GLC (Gaz likit kromatografisi)

Aerotolerans testi
UV ışığında floresans +



Direk baki

C. perfringens



Seçici ve ayırtedici besiyeri



- Bacteroides- safra-eskülin-gentamisin agar
- B. fragilis grubu bakteriler, Alistipes, Bilophila.
- Safraya dirençli Fusobacterium
- mortiferum F. varium
- Yüksek düzeyde gentamisine direnli Enterokok

Seici ve ayırtedici besiyeri

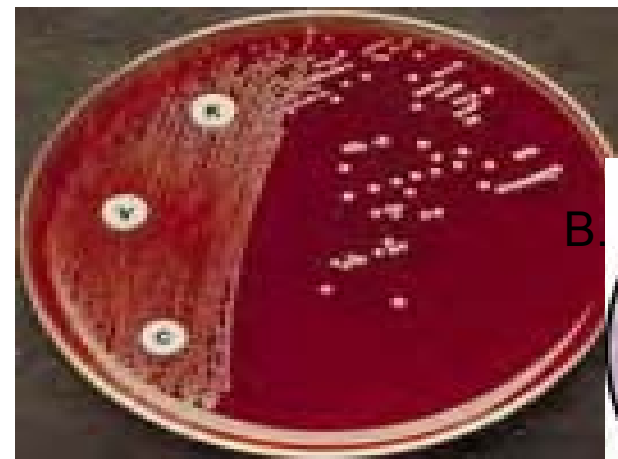
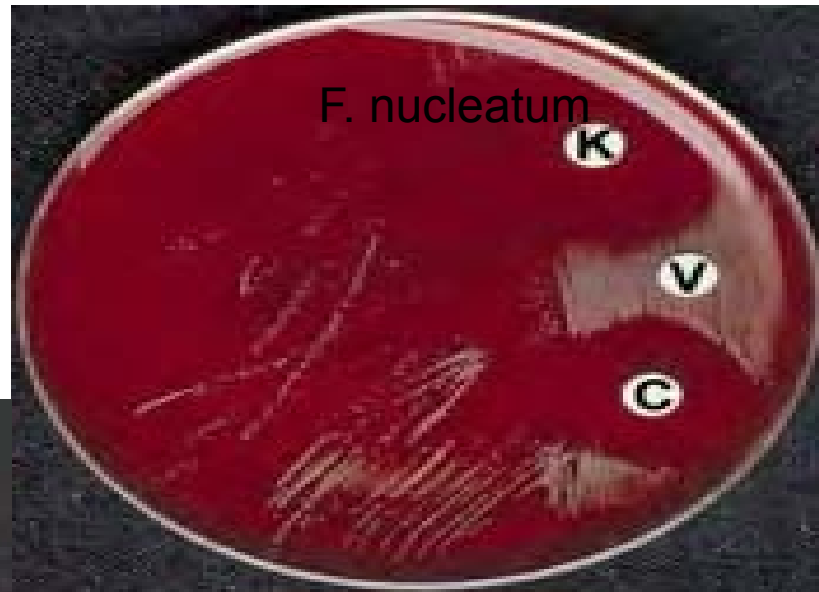
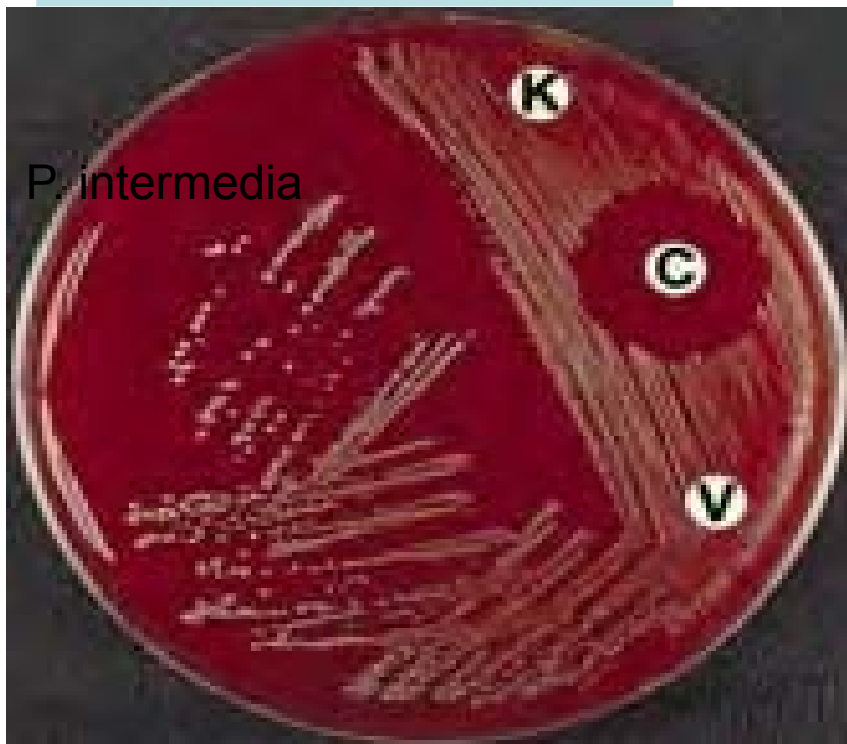
KVLBA

- Gram pozitif bakteriler, enterikleri baskılayıcı etki
- Bacteroides, Prevotella, Alistipes bazı fusobacterium , Van-D Clost. innocuum!)
- Prev. melaninogenica grubu bakterilerin pigmentasyonu ↗



İdentifikasyon Diskleri

vankomisin 5 ug,
kanamisin 1000 ug
Kolistin 10 ug

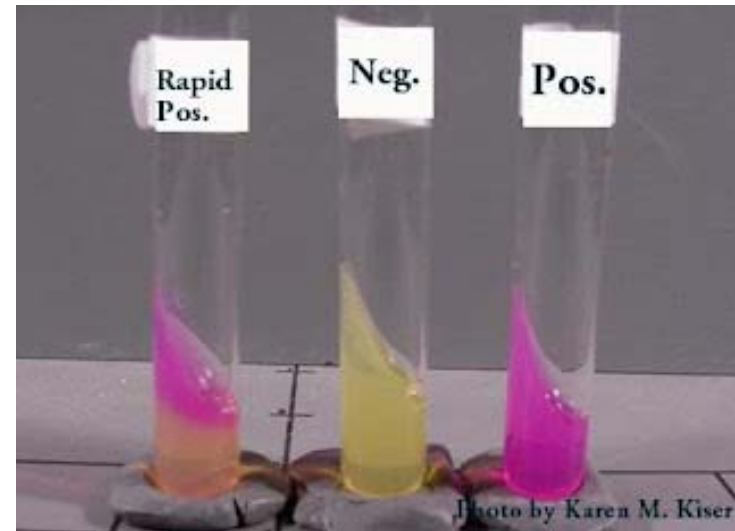


Spot indol

p-dimethylaminocinnamaldehyde
Örn: *F.necrophorum*



Üreaz aktivitesi



Anaeroplara örneklerde bulunma oranı

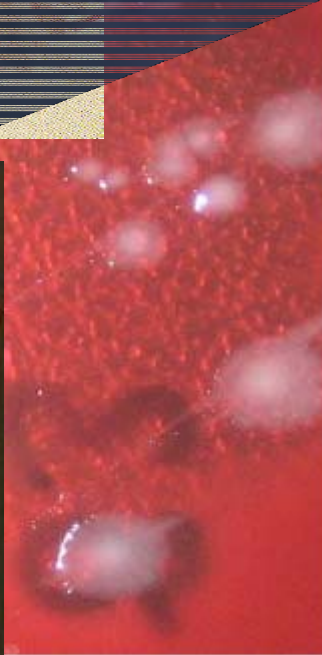
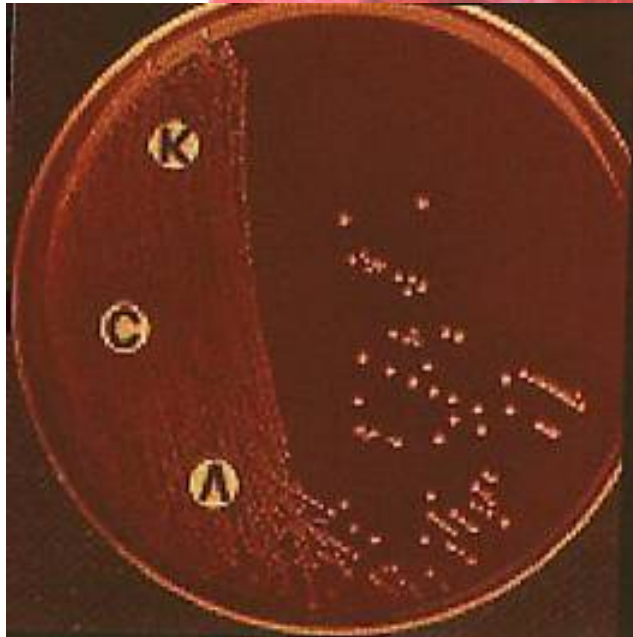
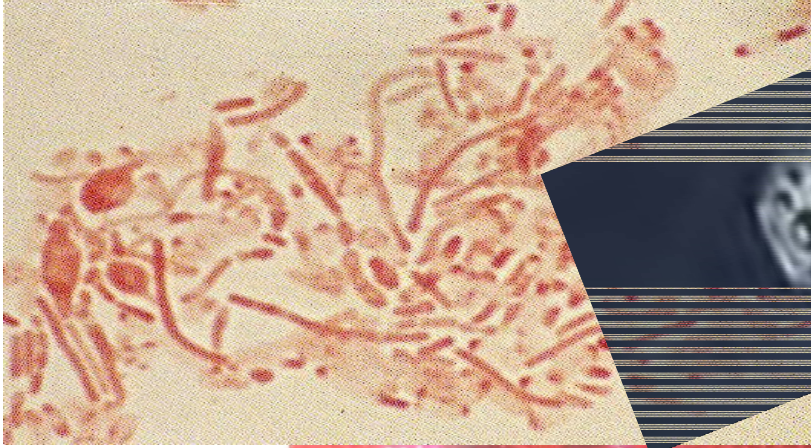
- | | |
|----------------------------|----------|
| • B. fragilis group | %35 |
| - B. fragilis | (%40-50) |
| - B. thetaiotaomicron | (%20) |
| • Prevotella-Porphyromonas | %15-20 |
| • Fusobacterium | % 5-10 |
| • Anaerobik koklar | %25-30 |
| • Clostridium | %8-15 |
| • Non-sporeforming GPB | %5-10 |

Gram negatif çomakların ayırımı

	Safra	Van	Kanam	Kolist	Katal	Nit
<i>B. fragilis</i> grp	D	D	D	D	+	-
<i>Prevotella</i>	H	D	D	D/H	-	-
<i>Porphyromonas</i>	H	H	D	D	-	-
<i>Fusobacteria</i>	H/D	D	H	H	-	-
<i>Bilophila</i>	D	D	H	H	+	+
<i>Desulfovibrio</i>	H/D	D	H	D	- ⁺	+
<i>C. ureolyticus</i> grp.	H/D	D	H	H	- ⁺	+

22nd ECCMID, 2012, Diane .M. Citron, EW04: Practical approach to diagnose mixed anaerobic infections in "real time"

Bacteroides fragilis grubu



- Safrayı tolere edebilen (BBE)

K, CT, V ve P'e dirençli

Katalaz +

Virülansı ↗ (Kapsül)

Antibiyotiklere direnç

Parabacteroides

distasonis, merdae,

goldsteinii, johnsonii,

gordonii

Prevotella spp.

- Oral, pelvik, abdominal ve yumuşak doku enfeksiyonlarında
- Safralı ortamda inhibisyon
- Eskülini hidrolize eder,
- Siyah renk
- Kanamisin, Vankomisine dirençli, kolistine değişken
- Genellikle katalaz, indol negatif



GENUS *FUSOBACTERIUM*

F. gonidiaformans

F. mortiferum

F. naviforme

F. necrogenes

F. necrophorum subsp. *fundiliforme*

necrophorum

F. nucleatum subsp. *animalis*

fusiforme

nucleatum

polymorphum

vincentii

F. periodonticum

F. russii

F. ulcerans

F. varium

Fusobacterium spp

	safra	Nit	Indol	Lipaz	Esk
F. nucleatum	H	-	+	-	-
F. necrophorum	H ^D	-	+	+	-
F. gonidiaform	H	-	+	-	-
F. mortiferum	D	-	-	-	-/+
F. varium	D	-	+ ⁻	- ⁺	-

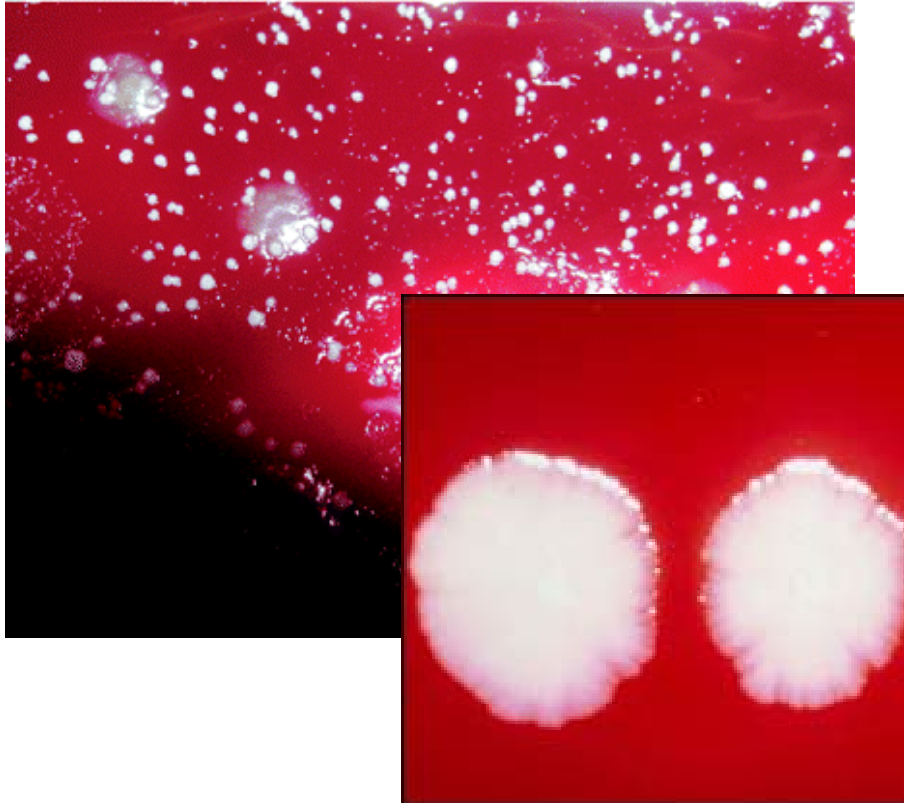
22nd ECCMID, 2012, Diane .M. Citron, EW04: Practical approach to diagnose mixed anaerobic infections in "real time"

Fusobacterium nucleatum

- En çok izole edilen tür
- Vücutta tüm enfeksiyon odaklarından bulunabilir
- Polimikrobiyal veya saf

Fusobacterium nucleatum

B

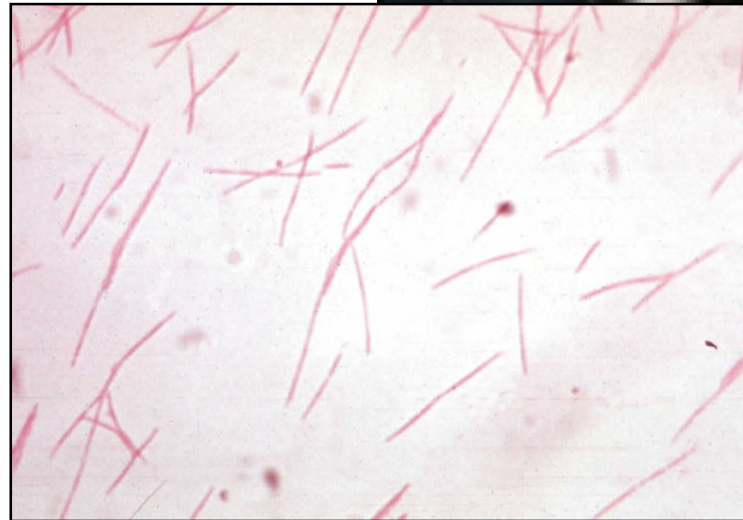


Koyun kanlı agarda:

- 1-2 mm çaplı
- Hafifçe tümsek
- Düzensiz kenarlı koloniler
- Farklı tipte ve büyüklükte koloniler

Fusobacterium nucleatum

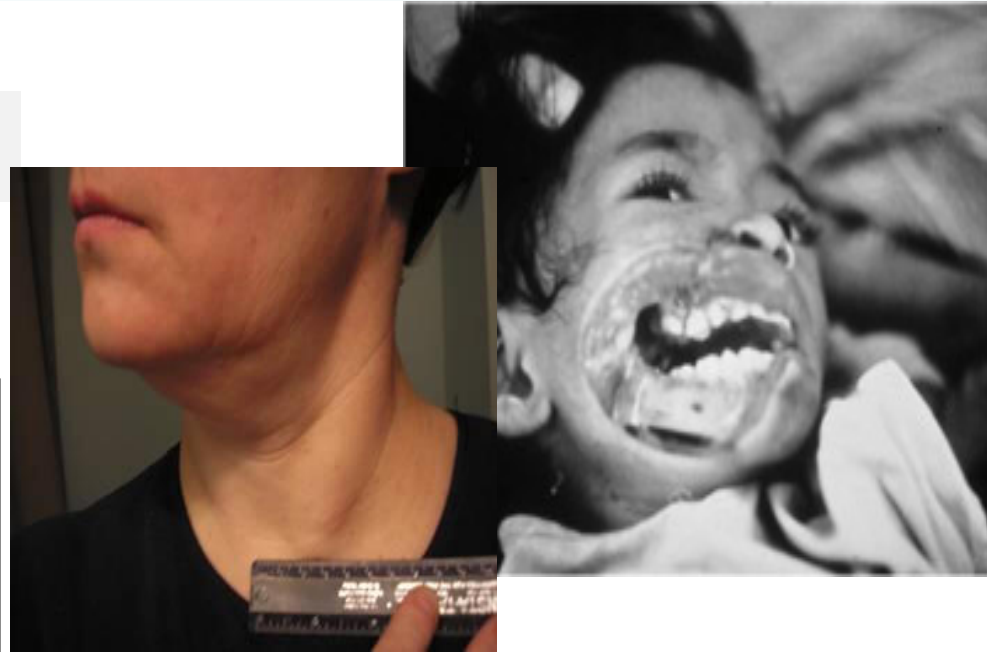
- Uzun, ince filamentler
- 5-10 μm büyüklükte
- indole pozitif; lipaz negatif



Fusobacterium necrophorum

Virölansı yüksek

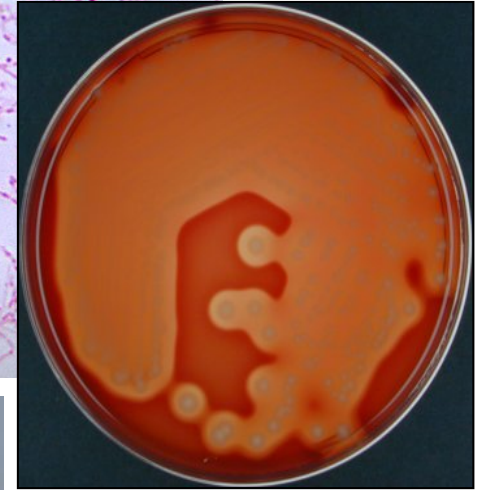
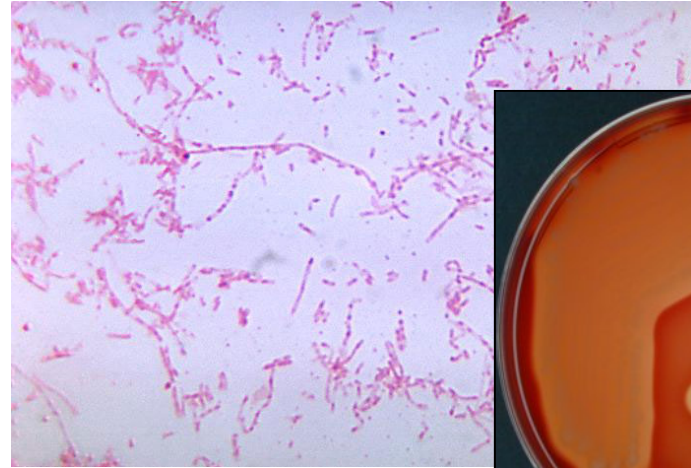
Tonsillit
Peritonsiller apse
Otitis media
Sinüzit
Tromboflebit



İnternal jugular
vende tromboz
Lemiere sendromu
NOMA

Fusobacterium necrophorum

- İri, granüler koloniler
- Geniş beta hemolitik zon
- Pleomorfik
- İndol ve lipaz +



Bacteroides ureolyticus-like grp

Kana-H, Vanco-D, Kol H/D

	Üreaz	Hare	Kat .	Safra	CO ₂	NO ₂
B. ureolyticus	+	-	- ⁺	-	-	+
Camp. gracilis	-	-	-	-	-	+
Camp. rectus	-	+	-	-	-	+
Bilo. wadsworthia	+	-	+	D	-	+
Sut. wadsworthien.	-	-	-	D	-	+
Dial. pneumo. Col-R	-	-	-	-	-	-
Desulfovibrio Col-R	- ⁺	+/-	- ⁺	- ^d	-	+
Eiken. corrod.	-	-	-	-	+	+

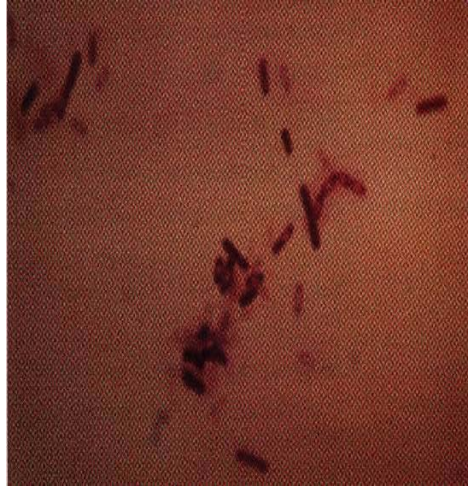
C. perfringens ,izolasyonu kısmen daha kolay, tanımlanması ticari kitlerle mümkün



- Lesitinaz +
- hızla ürer (4 - 6 saat)
- kanlı agarda çift hemolizli koloniler
(içte tam, dışta kısmi)
- ELISA ile enterrotoksin tanımlanması



Clostridium difficile

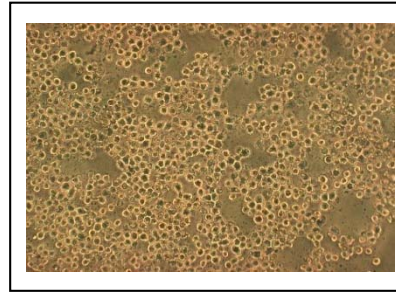
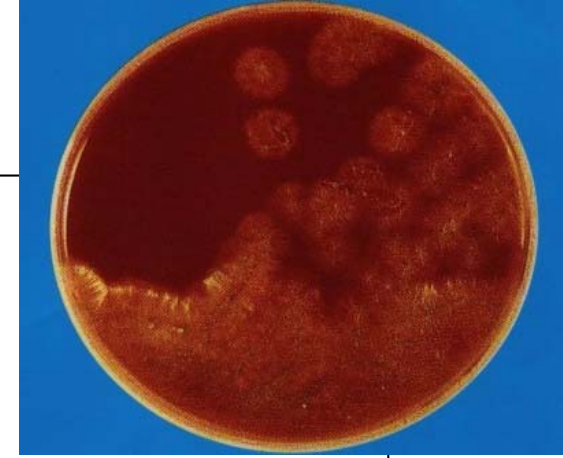


DIŞKI

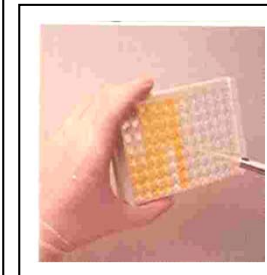
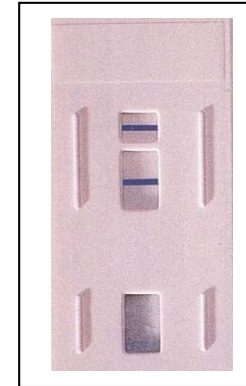
Kültür

+

Toksin tespiti



Sitotoksi
ketki



EIA

Clostridium septicum

- “Swarming” -yayılma
- subterminal sporları +,
- indol -
- Kolon kanseri varlığında bakteremi- ileoçekumdan giriş
- Myonekroz, gazlı gangren
- Lenfoma, DM kolaylaştırıcı
- Antibiyotiklere duyarlı
- Mortalite yüksek



Sporsuz Gram + çomaklar

	Katalaz	NO ₂	indol
Propionibacteria	+	+ ⁻	+ ⁻
Actinomyces	- ⁺	+	-
Eggerthella lenta	+	+	-
"Eubact. grp."	-	- ⁺	-
Lactobacilli	-	-	-
Bifidobacteria	-	-	-

büyük bir bölümü asakkarolitik izolasyonu, tanımlanması ZOR

Propionibacterium acnes

Tekrarlayan kan
kültürlerinde aynı
mikroorganizmanın
görülmesi- bakterem:

Kalp kapagı, eklem
protezi, ventriküler
şant varlığında;

Osteomyelit, endokardit
ve menenjit yapabilir

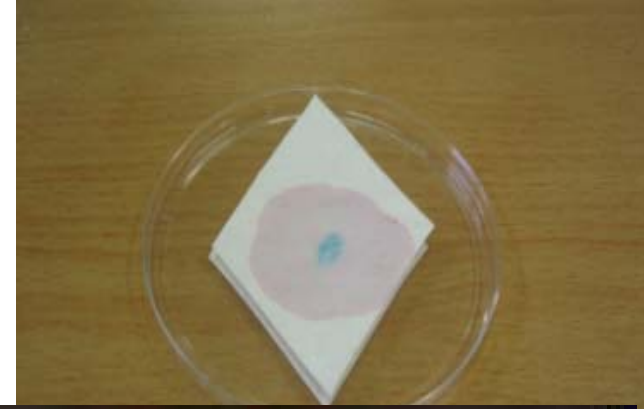
Ciltten kontaminasyon ?



Prostat Ca' oluşumunda
bir etkisi var mı?

Propionibacterium acnes

- Yavaş üreme
- Katalaz, indol, nitrat +
- Tüm kökenler metronidazole direçli
- Tetra ve makrolitlere dirençli akne olguları+



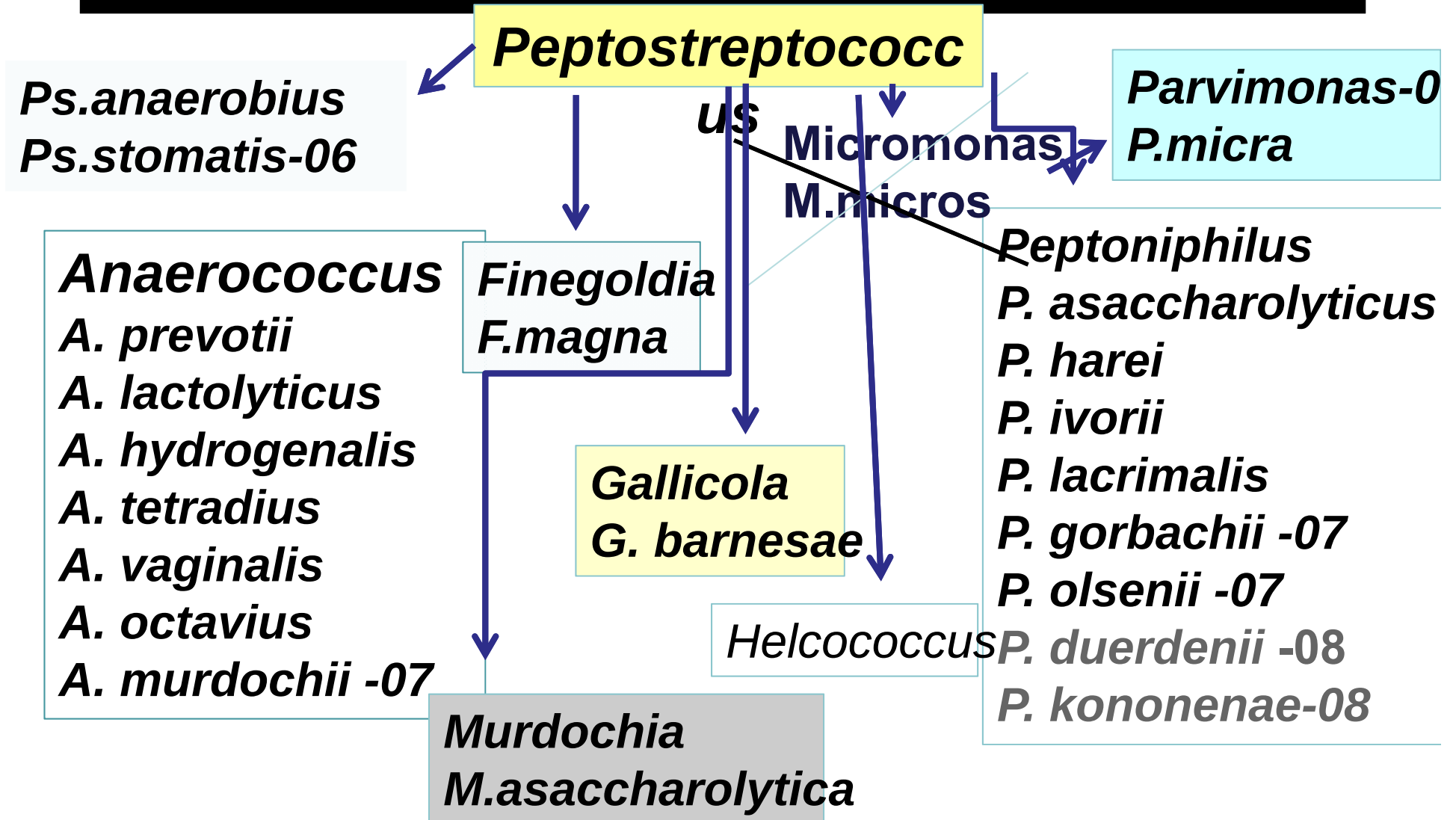
GRAM POZİTİF KOKLAR

- Heterojen bir bakteri topluluğu
- Normal flora elemanı
GIS, ağız, GÜS, deri,
- Anaeroplara enfeksiyonların %25-30'u
- Laboratuvar tanısı kolay DEĞİL

Genellikle “**peptostreptokok**” üredi
şeklinde rapor edilmekte

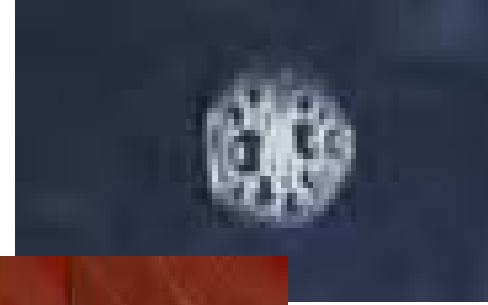
SPS diski: “Sodium Polyanethol Sulfonate” diski,-
zon varlığı *Peptostreptococcus anaerobius*

Anaerop GPK' ların günümüzdeki sınıflaması



Klinik örneklerin $\frac{3}{4}$ 'ü

- Gram boyama- hücre morfolojisi
- Safrada (%20) üreme
- Vankomisin, Kanamisin, Kolistine duyarlılık durumu
- Katalaz
- Spot indol
- Nitrat
- Flöresan



Fenotipik identifikasyon testlerinin eksiklikleri

- Yeni taksonomi 16S rRNA'ya göre yapılmakta
- Tanımlama kitlerinin veri tabanı yetersiz, bazı organizmaların yanlış tanımlanmakta
- Pahalı ve zaman alıcı

Moleküler yöntemler

canlı olmasına gerek Ø
hızlı
duyarlılık ↑

Geleneksel yöntemler

Kullanılan moleküler yöntemler:

DNA amplifikasyonuna dayalı

PZR temelli,

cinse, türe veya toksin tipine

özgün DNA bölgesinin çoğaltılması

Dizi analizine dayalı

16S rRNA

MALDI-TOF MS gündemde

ÖZETLE

- Anaerop bakteriler, ciddi seyirli ölümcül enfeksiyonlara yol açabilirler
- Tedavi, mikroorganizma türüne göre değişebilir
- Etkenin belirlenmesi önemli
- Bakterilerin üretilmeleri ve tanımlanmaları özel koşulları, titiz ve sabırlı çalışmayı gerektirir
- Geleneksel fenotipik testler tanımlamada önemli yere sahiptir



Teşekkürler

Copyright Rıtt Alagawidi