



İletişim adresleri : "Güven Külekçi" [gkulekci@istanbul.edu.tr](mailto:gkulekci@istanbul.edu.tr), "Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti" [tmc@tmc-online.org](mailto:tmc@tmc-online.org)

Merhaba,

Geçen yıl 2020 Ocak ayında Covid-19 ile tanışmış ve hakkında yazılar yazmaya başlamıştık. Bir yandan, 26-28 Mart 2020 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi'nde AÇG ANAEROP BAKTERİYOLOJİ KURSU ve 9 Ekim 2020 tarihi için de Erciyes Üniversitesi ile Kayseri'de AÇG ANAEROP TOPLANTISI'nı duyurmuştuk. Diğer yandan, 23-26 Temmuz 2020 için ANAEROBE 2020 Kongre duyurusu yapılmıştı.

Covid-19 pandemisinin dünyayı altüst etmesiyle çalışma grubu etkinliklerimiz iptal oldu; ANAEROBE 2020 Kongresi iptal edildi ve sanallaştı; çevrimiçi bir konferans düzenlendi.

Ve 2022 geldi... AÇG etkinlikleri kaldığı yerden devam edecek. ANAEROBE 2022 Kongresi 28-31 Temmuz 2022'de Seattle'da gerçekleştirilecek. Kongre duyurusu bültenin sonunda yer almaktadır.

**Anaerop Haber Şubat 2022 sayısının konu başlığı: "Klinik örneklerden anaerop bakterilerin üretilmesinde geliştirilen ortam kiti" (Bu çalışma, 2019 yılında İzmir'de yapılan V. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi'nde sözlü bildiriler birincilik ödülü almıştır).**

## **KLİNİK ÖRNEKLERDEN ANAEROP BAKTERİLERİN ÜRETİLMESİNDE GELİŞTİRİLEN ORTAM KİTİNİN DENENMESİ**

**Gülhan VARDAR ÜNLÜ**

**Mehmet ÜNLÜ**

**Yener ÖZEL**

Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir

e-posta: unlum@yahoo.com

Anaerop bakteriler, bakteremi, beyin apsesi, karaciğer apsesi, peritonit, intraabdominal apse, yara, apendisit, pseudomembranoz kolit, osteomyelit septik artrit ve jinekolojik enfeksiyonlardan sorumludur. Yüksek mortalite ve morbiditeye yol açan enfeksiyonlara neden olan anaerop bakterilerin soyutlanma ve tanımlanmaları sırasında anaerobik atmosfer ortamının oluşturulması gereklidir. Anaerobik atmosfer ortamının içeriğini %80 N<sub>2</sub>, %10 H<sub>2</sub> ve %10-0.05 CO<sub>2</sub> gazları oluşturmaktadır. Bakterilerin üretilmesi ve soyutlanmasında kullanılan ticari anaerop ortam kitinin pahalı olması nedeniyle rutin mikrobiyoloji laboratuvarında

anaerop kültür yapılması caydırıcı olmaktadır. Bu çalışmada, ticari kitlerden daha ekonomik olabilecek anaerobik ortam kitlerin geliştirilebilmesi için alternatif çözümlerin araştırılması ve geliştirilen kitin klinik örneklerden anaerop bakterilerin soyutlanmasında denenmesi amaçlanmıştır.

### **Anaerop ortam kitinin hazırlanması**

Anaerobik ortam kitinin (AOK) oluşturulması için çok sayıdaki deneysel çalışma sonucunda uygun kimyasal karışım belirlendi. Anaerobik atmosfer ortamının korunması için hava sızdırmaz plastik torba ve ortamın anaerobik şartlara geldiğini gösteren indikatör (bioMrieux, Fransa) kullanıldı. Tüm malzemeler belirli oranlarda karıştırılarak 60 mm çapında plastik petri kaplarına koyuldu ve üzerlerine filtre kâğıdı konarak kenarlarından bantlandı (Resim 1). Hazırlanan AOK'lerin üzerlerine 5 ml su eklenerek aktive edildi ve hızlıca içinde bakteri ekimi yapılmış besiyerlerinin bulunduğu hava sızdırmaz poşetlere kondu ve poşetler kilitlenerek etüve kaldırıldı (Resim 2).

### **Anaerop ortam kiti performansının araştırılması;**

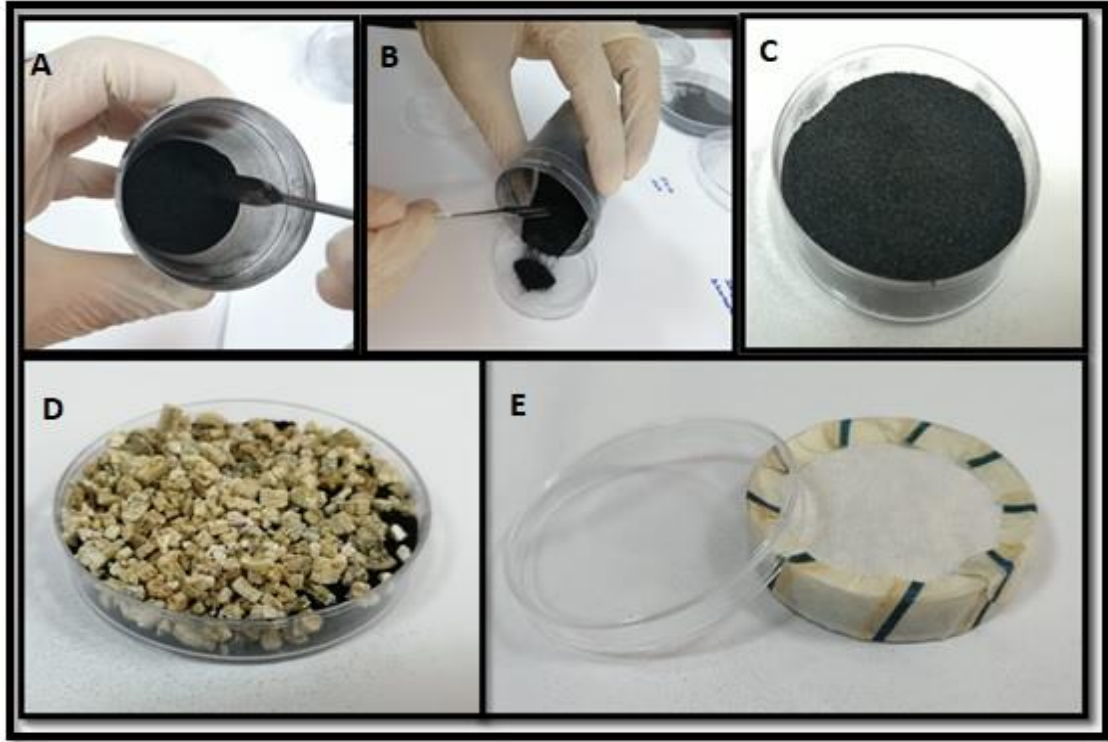
Belirlenen kitin performansı, ATCC kökenleri ve klinik örneklerden soyutlanmış olan anaerop bakteriler kullanılarak iki farklı yöntem ile değerlendirildi.

**Yöntem 1:** Geliştirilen AOK'nin kontrolü için kullanılacak bakteri kökenlerinin farklı konsantrasyonlarda süspansiyonları hazırlandı ve bakteri üremeleri ticari kit ile karşılaştırıldı (Resim 3).

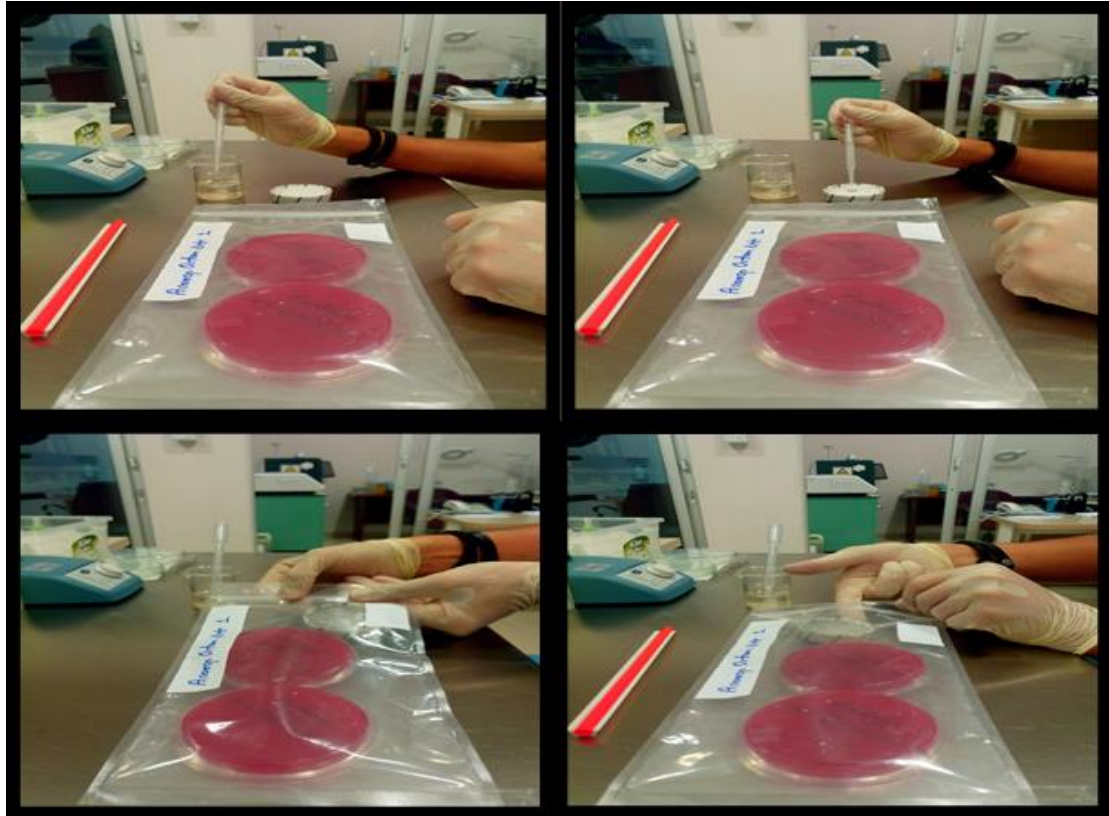
**Yöntem 2;** Deneysel kitin performansı bakteri üreme skorları kullanılarak ve ticari kit ile kıyaslanarak belirlendi (Resim 4).

### **Anaerop ortam kitinin klinik örneklerden anaerop bakterilerin izolasyonunda denenmesi**

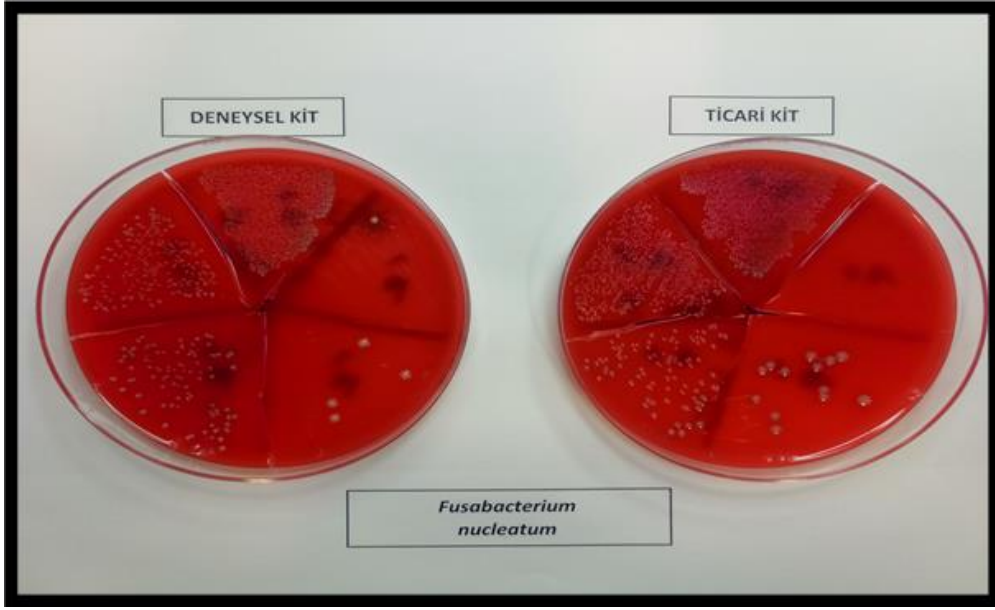
Hastanemizde çeşitli poliklinik ve kliniklerden laboratuvarımıza gönderilen klinik örnekler, 2 adet koyun kanlı Sheadler besiyerine eş zamanlı olarak ekildi (Resim 5). Besiyeri plakları hem geliştirilen AOK hem de ticari anaerop ortam kiti (BD, GasPack, ABD) kullanılarak 37°C'de en az 72 saat inkübe edildi. Her iki kit kullanılarak yapılan aerotoleran testi sonucu kesin anaerop olduğu belirlenen bakteriler tam otomatik bakteri identifikasyon (Vitek 2, bioMrieux, Fransa) sistemi ile tiplendirildi. Kontrol kökeni olarak *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 kullanıldı.



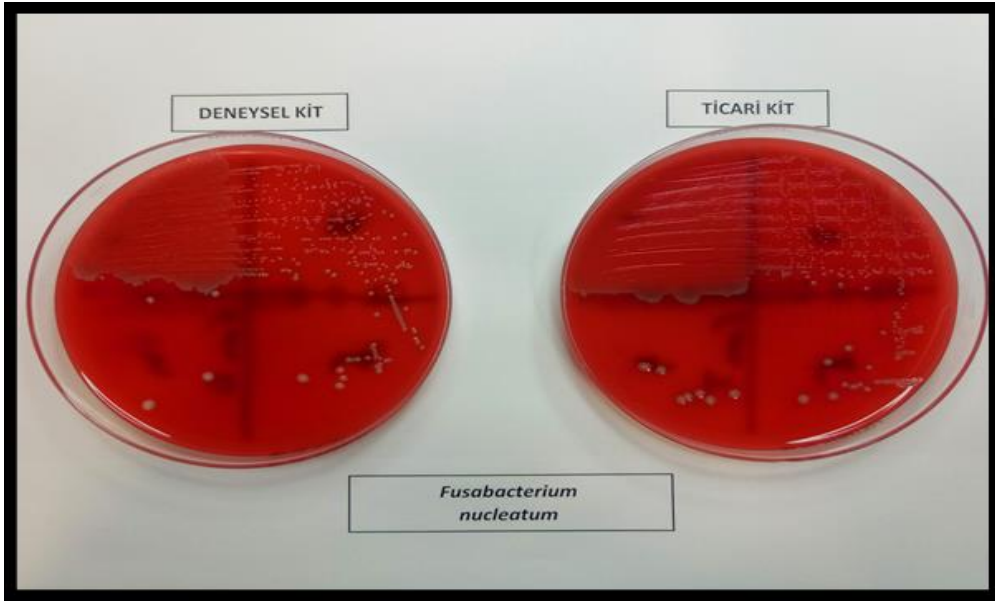
**Resim 1.** Anaerop ortam kitinin hazırlanması **A:** kimyasal karışımlar homojen bir şekilde karıştırılır; **B-C:** karışım 60 mm çapında petri kutusuna boşaltılır; **D:** Karışımın üzerine vermikülit yayılır; **E:** petri kabının üzerine filtre kağıdı yerleştirilir ve kenarlarından bantlanır



**Resim 2.** Anaerop ortam kitinin rutin kullanımı



**Resim 3.** Farklı süspansiyonlardaki bakteri üremeleri ile deneysel kit ve ticari kitin karşılaştırılması



**Resim 4.** Anaerob bakteri üreme skoru kullanılarak deneysel kit ile ticari kitin karşılaştırılması



**Resim 5.** Klinik örneklerin hem deneysel kit hem de ticari kit kullanılarak eş zamanlı işleme alınması

## **Sonuçlarımız;**

Anaerobik ortam, indikatör renginin maviden beyaza dönmesi ile kontrol edildi. İndikatör rengini maviden beyaza döndürme süresi 55 dakika ile hem deneysel AOK hem de ticari kitle uyumlu bulundu. Deneysel AOK'nin performansı, 12 farklı ATCC ve klinik örnek kullanılarak ticari kit ile karşılaştırıldı ve iki farklı yöntem ile de uyumlu sonuçlar elde edildi. Tasarlanan AOK kiti, klinik örnekten anaerop bakteri izolasyonu açısından da araştırıldı. Deneysel AOK ve ticari kit kullanılarak eş zamanlı olarak işleme alınan 106 klinik materyalden farklı türlerde 14 anaerop bakteri %100 uyum ile izole edildi. Geliştirilen anaerop ortam kitinin, anaerop bakterileri üretme etkinliği bakımından, ticari kitin yerine kullanılabilir olduğu kesin olarak gösterildi.

## **Sonuç olarak;**

Anaerop bakterilerin soyutlanmasında, aerotoleran testi ve antibiyotik duyarlılık testi için gerekli olan anaerobik atmosfer şartları yüksek maliyetli ticari kitler ile oluşturulmaktadır. Bu kitlerin yüksek maliyeti nedeniyle birçok laboratuvar da anaerop bakterilerin soyutlanması ve antibiyotik duyarlılık çalışmaları yapılamamaktadır. Bu nedenle anaerop çalışmaların yaygınlaşması için düşük maliyetli anaerop ortam kitlerine olan gereksinim artmıştır. Bu açıdan, tasarladığımız AOK'nin anaerop bakterileri üretme potansiyelinin ticari kit ile uyumlu olması, laboratuvar ortamında kolaylıkla hazırlanabilir ve uygulanabilir olması, rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında anaerop kültür çalışmalarının artışına katkı vereceği düşünülmektedir. Geliştirdiğimiz AOK'nin maliyet açısından ticari kitlerden %90 daha ucuz olması nedeniyle yerli üretimi destekleme ve dışa bağımlılığı azaltma açısından umut vericidir.

Deneysel AOK geliştirilmesine yönelik yapılan çalışmalarımız ve elde ettiğimiz veriler "5. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresinde" sözlü bildiri olarak sunulmuş ve çalışmamız sözlü bildiriler birincilik ödülüne layık görülmüştür.





## KAYNAKLAR

Durmaz B: Anaerob bakterilerin izolasyon ve identifikasyonu. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 7-10 Mayıs 1996, Antalya, Kongre Özet Kitabı s:104-107.

Toprak Ülger N, İlki A, Özel N, Balkan N, Söyletir G. Meropenem E-test, *Bacteroides fragilis* Suşlarında Karbapenem Direnç Geni *cfiA* Varlığını Tahmin Etmede Kullanılabilir mi?\*. Mikrobiyol Bul 2011; 45(3):385-391

Torun MM. Anaerob bakteri infeksiyonları: Kültürde sorunlar, Klimik Derg 2003;16:25-8.

Ulusoy S, Leblebicioğlu H. Önemli ve sorunlu anaerob bakteri infeksiyonları; Anaerob infeksiyonlar ve laboratuvar tanısı, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2005;13.

Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji: Anaerob bakteriler, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara 1999:612-5.

Vardar Ünlü G, Ünlü M, Özel Y. Anaerobik ortam kiti geliştirilmesi, Poster sunumu. XXXVIII. Uluslararası Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kasım 2018, Antalya, Türkiye.

Vardar Ünlü G, Ünlü M, Özel Y. Klinik örneklerden anaerob bakterilerin üretilmesinde geliştirilen anaerobik ortam kitinin denemesi, Sözlü sunum. V. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Ekim-Kasım 2019, İzmir, Türkiye.



*The 16th Biennial Congress of the Anaerobe Society of the Americas*  
**July 28-31, 2022 -- Hyatt Regency Hotel, Seattle, WA USA**

Help Spread the Word to Colleagues and Students --

### ***Poster Presentation Deadline -- Feb. 1***

While we process Oral Presentation Submissions, we are approaching the Poster Presentation Abstract deadline of Feb. 1. Acceptable abstracts can include anaerobic research findings, clinical case studies, laboratory techniques and studies, and methodologies.

Poster Sessions will be held at the Congress, and all accepted abstracts will be published in the Congress Abstract Book, accessible on the ASA website. The Program Committee will select a 'Best Abstract,' to be announced at the Congress Banquet and presented with the engraved *Finegold Award*.

### ***Young Investigator Competition -- Feb. 1***

Students, Residents, Post-Docs, and Fellows are encouraged to submit Poster Presentation Abstracts and choose to enter the ***Young Investigator Competition***, sponsored by the *Anaerobe* journal. Nine submissions will be selected as Finalists for Oral Presentations to the Judging Panel at the Congress. Finalists will receive free Banquet Tickets, and Cash Prizes will be awarded to the top three presenters.

### ***Submission is Easy***

Simply attach an abstract in WORD format (limit 2,400 characters) with Submission Form information to: [asa@anaerobe.org](mailto:asa@anaerobe.org)

Submission deadline is Feb. 1, 2022.

For details, download the Call for Abstracts: [www.anaerobe.org/2022/2022Call.pdf](http://www.anaerobe.org/2022/2022Call.pdf)

### ***Please Share with Colleagues & Students***

For **ANAEROBE 2022** information:

[www.anaerobe.org/2022/anaerobe2022.html](http://www.anaerobe.org/2022/anaerobe2022.html)

### ***Exhibitor and Sponsorships Available***