

**ANTİANAEROBİK ANTİBİYOTİKLER VE ANAEROB BAKTERİLERİN
ANTİMİKROBİK DUYARLILIK TESTLERİ**
*ANTIANAEROBIC ANTIBIOTICS AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING OF
ANAEROBIC BACTERIA*

Recep KEŞLİ

SSK Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Afyon

ÖZET: Anaerob bakteriler vücudun farklı bölgelerinde birçok sistemi içine alan endojen, polimikribiyal ve ciddi infeksiyonlara neden olmaktadır. Bu infeksiyonların etkin tedavisinde kullanılabilen antimikrobikler sınırlıdır. Buna ilaveten anaerob bakterilerin birçoğunda bu antimikrobiklere karşı direnç geliştiği gözlenmiştir ve direnç oranı günden güne hızlı artış göstermektedir. Anaerob bakterilerin izolasyonu ve duyarlılık testlerinin gerçekleştirilmesi güçtür ve zaman alıcıdır. Bu nedenle genellikle duyarlılık test sonuçları bildirilmeden önce ampirik tedavi protokollerine göre etkin bir tedaviye başlanması gerekli olmaktadır. Tedavide başarılı sonuçların elde edilebilmesi için antianaerobik antibiyotikler ve anaerob bakterilerin direnç mekanizmaları klinisyenler tarafından iyi bilinmelidir. Diğer taraftan anaerob bakterilerin antimikrobik duyarlılık testleri ise mikrobiyologlar tarafından yapılmalıdır. Bu yazıda bu konulardaki bilgiler özetlenmiştir.

[Anahtar Kelimeler : Antianaerobik antibiyotikler, Duyarlılık testleri]

ABSTRACT: Anaerobic bacteria cause serious, endogenous and polymicrobial infections including many systems and different sites of body. Antimicrobials that can be used in the effective treatment of such kind of infections are limited. In addition, antimicrobial resistance ratio has been increasing rapidly from day to day. Isolation and performing susceptibility testing of anaerobes are difficult and need a long time. Therefore, it could be necessary to start an effective amprical therapy without obtaining the results of susceptibility testing. Antianaerobic antibiotics and antimicrobial resistance in anaerobic bacteria should be known well by clinicians in order to obtain successful results in treatment. On the other hand, antimicrobial susceptibility testing of anaerobes should be made by microbiologists. The information required related to this subject is summarized in this article.

[Key words: Antianaerobic antibiotics, Susceptibility tests]

GİRİŞ

Anaerob bakterilerin önemi gün geçtikçe daha iyi anlaşılakta ve bu alanda yapılan çalışmaların sayısı günden güne artış göstermektedir. Anaerob bakteriyoloji alanında klinik mikrobiyoloji açısından önemli olan konuların başında antianaerob etkili antimikrobikler, bunlara karşı görülen direnç mekanizmaları ve duyarlılık test yöntemleri gelmektedir. Bu makalede bu alandaki bilgiler özet halinde sunulmuştur.

ANAEROB BAKTERİLERE KARŞI ETKİLİ ANTİBİYOTİKLER

Anaerob infeksiyonların tedavisinde iki anahtar yaklaşım vardır. Birincisi; cerrahi yaklaşımdır ki bu abselerin drenajı, devitalize dokuların debridmanı, kapalı yüzey infeksiyonlarının açılarak hava ile temasının sağlanması ve obstrüksiyonların giderilmesini içerir. İkincisi ise antimikrobiyal tedavidir. Klostridial miyonekroz ve diğer anaerob infeksiyonlarda hiperbarik oksijen tedavisinin mutlaka faydalı olduğunu gösteren kesin bulgular yoktur. Tanımlayıcı kültür sonuçlarının elde edilmesi zaman alacağından

dolayı başlangıçta ampririk tedavi gerekli olmaktadır. Anaerob infeksiyonların bir çoğu polimikrobiyaldır ve aerob ve anaerob bakteriler üzerine etkili ajanlarla tedavi edilmesi gerekir. Ampririk tedavide antimikrobiallerin farmakolojik özellikleri ve anaeroblar üzerine olan etkinlikleri düşünülünce, nitroimidazoller, karbapenemler, kloramfenikol ve tiamfenikol ve beta laktamaz inhibitörleri ile kombine edilmiş beta laktamlar tercih edilmelidir (1,2).

Çeşitli antimikrobiyal ajanların anaerob bakterilere karşı etkinlikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Beta Laktam-Beta Laktamaz İnhibitörlü Kombinasyonlar

1. Amoksisilin-Klavulanik asit.

2. Tikarsilin-Klavulanik asit. Miks aerob ve anaerob jinekolojik ve intraabdominal infeksiyonların tedavisinde kullanılabilirliği US FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanmıştır (2, 5, 6).

3. Ampisilin-Sulbaktam. Miks aerob ve anaerob cilt, yumuşak doku, intraabdominal ve jinekolojik infeksiyonlarda kullanılabilirliği US FDA tarafından onaylanmıştır. Tip I beta laktamazlara karşı etkisiz olması ve *Pseudomonas auregenosa*'ya karşı zayıf etkili olması iki önemli dezavantajdır (2,5,6).

4. Sefoperazon-Sulbaktam. *B. fragilis* grubu üyelerine karşı mükemmel inhibitör ve bakterisidal etki gösterir. *B. fragilis* grubu üyelerinde % 0,5 oranında direnç görülürken diğer *Bacteroides* türleri ve *Clostridium* veya *Peptostreptococcus* türlerinde hiç direnç görülmemiştir (2,5,6).

5. Piperasilin-Tazobaktam. Plazmid aracılı beta laktamazların hemen hepsine kromozom aracılı sefalosporinazların büyük çoğunluğuna etkilidir. Enzim inhibitör etkisi klavulanik asite yaklaşık olarak eşit, fakat sulbaktamdan daha fazladır. Tazobaktam, klavulanik asitten daha stabil bir yapıya sahiptir. Aktivite spektrumu, imipenem silastatine eşit, amoksisilin klavulanik asit, tikarsilin klavulanik asit ve ampisilin sulbaktamdan daha üstündür (2,5,6).

Yukarıdaki kombinasyonlara ilave edilmiş olan beta laktamaz inhibitörlerinden klavulanik asit beta laktamaz üretimini indükler ancak sulbaktam ve tazobaktamın böyle bir etkileri yoktur (2).

ANAEROB BAKTERİLERDE ANTİMİKROBYAL AJANLARA KARŞI GÖRÜLEN DİRENÇ MEKANİZMALARI

Anaerob bakteriler arasında direnç gelişimi ampririk tedavi için kullanılacak antimikrobiyal ajanın seçimine etki eden en önemli faktördür. Yapılan duyarlılık testleri sonucunda beta laktam grubu başta olmak üzere klindamisin, tetrasiklinler ve 5-Nitroimidazollere karşı direnç geliştiği anlaşılmıştır (7,8).

Anaerob bakterilerde görülen antimikrobiyal direnç mekanizmaları Tablo 2'de verilmiştir.

Beta Laktamaz Üreten Anaerob Bakteriler

Beta laktam direncinin en önemli mekanizması beta laktamaz üretimidir. Çeşitli *Bacteroides*, *Fusobacterium* ve *Clostridium* türlerinde beta laktamaz varlığı bildirilmiştir. *Bacteroides fragilis*'de görülen beta laktamaz direnci en yaygın olarak sefalosporinaz karakterinde beta laktamaz aracılığı ile olmaktadır. Yapılan çalışmalar *B. fragilis*'in piperasilin ve karbenisilini inaktive eden bir penisilinaz ürettiklerini göstermiştir. *B. fragilis*'ten sefoksitin ve imipenemi inaktive eden enzimler dahi izole edilmiştir. *B. fragilis* grubundan olmayan *Bacteroides* türleri ise temel olarak penisilinaz karakterinde beta laktamazlar üretirler. *Fusobacterium nucleatum*'dan izole edilen bir penisilinaz tanımlanmıştır. *Clostridium*'lar arasında ise *Clostridium butyricum*, *C. clostridiiformis* ve *C. ramosum*'un penisilinazlar ürettikleri gösterilmiştir (9,10).

Beta laktamaz üreten anaerob bakterilerin isimleri Tablo 3'de verilmiştir.

ANAEROB BAKTERİLER İÇİN UYGULANAN DUYARLILIK TEST YÖNTEMLERİ

Anaerob bakterilerde antimikrobik maddelere karşı çeşitli mekanizmalar ile oluşan direnç gelişiminin giderek artması ve yaygınlık kazanması bu bakterilere karşı yapılacak duyarlılık deneylerinin önemini artırmıştır. Duyarlılık testlerinin çok yaygın olarak yapılmayışının nedeni bu testlerin gerçekleştirilmesinin zaman alıcı ve güç olması rutinde kullanılabilir pratik, kolay uygulanımlı ve ekonomik bir yöntemin bulunmamasıdır (10,14,15). Bütün anaerob bakteriler için duyarlılık deneyinin yapılması gerekli değildir. Duyarlılık deneyinin yapılması gereken anaerob bakterilerin isimleri Tablo 4’de verilmiştir.

Anaerob duyarlılık deneylerinin yapılmasının mutlak gerekli olduğu klinik durumlar şunlardır (10,14-16):

- 1-Anaerob bakterilerin tek başına etken olduğu beyin absesi, diğer merkezi sinir sistemi infeksiyonları
- 2- Endokardit
- 3-Osteomyelit
- 4-Eklemler infeksiyonları
- 5-Prostetik alet infeksiyonları
- 6-Tekrarlayan bakteriyemiler
- 7-Antianaerobik tedaviye rağmen gerilemeyen ciddi infeksiyonlar

Anaerob bakteriler için NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) tarafından önerilen referans yöntem agar dilüsyon yöntemidir. Antibiyotik duyarlılık testleri ile ilgili literatürleri incelediğimizde yöntem olarak en sık NCCLS tarafından standart yöntem olarak tavsiye edilen agar dilüsyon yönteminin kullanıldığını fakat E-test yönteminin de küçümsenmeyecek sayıda özellikle yeni yapılan çalışmalarda gerek tek başına gerekse agar dilüsyon yöntemi ile karşılaştırmalı olarak kullanıldığını görmekteyiz. E-test yönteminin agar dilüsyon ile karşılaştırmalı olarak yapıldığı çalışmalarda

anaerob bakterilerin duyarlılık deneylerinde E-test yöntemi ile elde edilen sonuçların farklı dilüsyonlarda % 80,8 – % 99,95 oranında agar dilüsyonu yöntemi ile uyumlu olduğu belirtilmiştir. Agar dilüsyon yöntemi uygulanması zahmetli, güç ve nispeten pahalı olduğu için rutin kullanıma çok uygun değildir. Pratik ve kolay uygulanabilir olması ve çeşitli araştırmaların sonucunda referans agar dilüsyon yöntemi ile gayet uyumlu sonuçlar vermesi nedenleri ile rutin kullanıma çok uygun görünen yeni bir yöntem olan E –test yönteminin en önemli dezavantajı ise pahalı bir test olmasıdır (15,17-21).

Anaerob bakterilerin duyarlılık deneyleri için Wilkins-Chalgren agar ve buyyonu veya Brucella agar ve Brucella buyyonu tercih edilmektedir. Ancak Schaedler agar ve buyyonu, beyin kalp infüzyon agar ve buyyonu gibi diğer besiyerleri de kullanılabilir. Pigmentli anaerob bakteriler için Brucella agar veya Brucella buyyonu besiyerinin kullanılması önerilmektedir. Besiyerine hemin, Vit. K₁ ve sodyum bikarbonat ilave edilmesi uygundur. Duyarlılık deneylerinde kullanılacak besiyerlerinin taze hazırlanmış olmasına ve inkübasyon ortamının gaz karışımının test edilecek antimikrobik maddelere olumsuz etki oluşturmayacak şekilde uygun olmasına dikkat edilmelidir. En ideal gaz karışımı %80-85 N₂, %10 CO₂ ve %5-10 hidrojenidir. Ancak Gas-Pak sisteminde açığa çıkan H₂ + CO₂ karışımı da uygundur. Anaerob ortamın temin edildiği anaerob indikatörlerle (rezasurin, metilen mavisi) kontrol edilmelidir (10,14-16).

Duyarlılık deneyi yapılmadan önce test edilecek bakterilerde beta laktamaz varlığı kromojenik sefalosporin (nitrosetin, cefinase) diski ile araştırılmalıdır. Beta laktamaz üreten suşların penisilin, ampisiline duyarlılığının araştırılması gerekli değildir. Bu durumda suşun beta laktam + beta laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara, karbapenemlere ve nitroimidazollere karşı duyarlılığı araştırılmalıdır.

Anaerob bakterilerin duyarlılık deneyinde NCCLS tarafından kullanımı uygun

görülen, görülmeyen yöntemler ile yeni yöntemlerin isimleri Tablo 5'de verilmiştir.

2) *B. thetaiotamicron* (ATCC 29741)
3) *Eubacterium lentum* (ATCC 43055)

Kalite Kontrol Suşları

1) *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285)

Tablo I. Antimikrobiyal Ajanların Anaerob Bakterilere Karşı Etkinlikleri (2,3).

Her zaman etkili	Genellikle etkili	Değişken etkili	Etkisiz olanlar
İmipenem	Klindamisin	Penisilin G.	Aminoglikozidle r**
Meropenem	Sefoksitin	Sefotetan	Seftazidim
Piperasilin-Tazobaktam	Seftizoksim	Sefmetazol	Kinolonlar***
Tikarsilin-Klavulanik asit	Tikarsilin	Sefoperazon	Aztreonam
Ampisilin-Sulbaktam	Piperasilin	Sefotaksim	
Amoksisilin-Klavulanikasit	Mezlosilin	Seftriakson	
Kloramfenikol		Tetrasiklin	
Metronidazol*		Vankomisin	
		Eritromisin	

* Anaerob kokların ve anaerob Gram pozitif çomakların bazı suşları yüksek oranda metronidazole dirençli olabilirler.

** Aminoglikozidlerin bakteri sitoplazmik membranını geçebilmeleri enerji ve oksijene bağımlı aktif transport mekanizması ile olmaktadır. Bu transport kademesi düşük pH da anaerob ortamda inhibe olabilir. Bu nedenle aminoglikozidler anaeroblar ve fakültatif anaeroblar üzerine etkisizdir (4).

*** Yeni birkaç kinolon hariç (Sparfloksasin, temafloksasin ve WIN 57273 in-vitro ortamda antianaerobik etkinliğe sahiptirler) (2).

Tablo II. Anaerob Bakterilerde Çeşitli Antimikrobiklere Karşı Görülen Direnç Mekanizmaları (7).

Antimikrobiyal ajan	Direnç mekanizmaları
Beta laktam ajanlar	- İlacın inaktivasyonu (Beta laktamazlar) -Geçirgenliğin azalması (Gram negatif mikroorganizmalar) -Hedef bölge değişikliği (penisilin-bağlayıcı proteinler)
Klindamisin	-Hedef bölge değişikliği (23 S r RNA'nın metilasyonu)
Tetrasiklin	- Hedef bölge değişikliği (ribozomal korunma)
5-Nitroimidazol türevleri	- Nitro redüktaz aktivitesinde azalma - İlaç alımında azalma
Kloramfenikol	-İlacın inaktivasyonu (nitroredüksiyon veya asetilasyon)
Aminoglikozidler	- İlaç alımının olmayışı
Kinolonlar	- Bilinmiyor (geçirgenlikte ve / veya ilaç alımında azalma)

Tablo III. Beta Laktamaz Üreten Anaerob Bakteriler (9,11-13).

<i>Bacteroides fragilis</i> grubu	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>Bacteroides melaninogenicis</i> grubu	<i>F. mortiferum</i>
<i>B. oralis</i>	<i>F. varium</i>
<i>B. coagulans</i>	Pigmentli <i>Prevotella</i> spp
<i>B. bivius</i>	<i>P. oralis</i> grubu
<i>B. disiens</i>	<i>P. disiens</i>
<i>B. hypermegas</i>	<i>P. oris</i>
<i>B. multiacidicus</i>	<i>P. buccae</i>
<i>B. ruminicola</i> grubu	<i>Porphyromonas</i> spp
<i>B. splanchnicus</i>	<i>Megamonas hypermegas</i>
<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Mitsuokella multiacida</i>
<i>C. clostridiiforme</i>	<i>Bilophila wadsworthia</i>
<i>C. butyricum</i>	

Tablo IV. Duyarlılık Deneyi Yapılması Gereken Anaerob Bakteriler (10,14,16).

B. fragilis grubu
Prevotella spp.
Porphyromonas spp.
Fusobacterium spp.
Clostridium spp.
C. perfringens,
C. ramosum,
C. septicum,
C. sifenooides
Bacteroides gracilis
Bilophila wadsworthia.

Tablo V. Anaerob Bakterilerin Duyarlılık Deneyleri (10,20-23).

I. Anaerob Bakterilerin Duyarlılık Deneyi İçin NCCLS'in Önerdiği Yöntemler

1. Agar dilüsyon yöntemi
2. Sıvı dilüsyon yöntemi
 - a) Makrodilüsyon
 - b) Mikrodilüsyon

II. Anaerob Bakteriler İçin NCCLS Tarafından Önerilmeyen Duyarlılık Test Yöntemleri

1. Buyyonda disk elüsyon yöntemi
3. Disk difüzyon yöntemi.

III. Yeni Yöntemler

1. Ticari olarak hazırlanmış mikro dilüsyon panelleri
 2. E-test yöntemi
 3. "Spiral-gradient-end point" sistemi.
-

KAYNAKLAR

1. Finegold SM. Present status of therapy for anaerobic infections. World Congress on Anaerobic Bacteria and Infections. San Juan, Puerto Rico. November. 5-8 164, 1995
2. Sanders CV, Aldridge KE. Current antimicrobial therapy of anaerobic infections Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 11: 999-1011, 1992
3. Öztürk R. Değişik etkili antimikrobik maddeler. In Yücel A, Tabak F, Öztürk R, ve ark. (eds). Günümüzde Antimikrobik Tedavi. İstanbul: İstanbul Bulaşıcı Hastalıklarla Savaş Derneği Yayın No: 12. 83-85, 1998
4. Wilke A. Aminoglikozidler. In Akalın HE (ed). Klinik Uygulamada Antibiotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar. Ankara: Güneş Kitabevi, 155-156, 1994
5. Wexler HM, Molitoris E, Finegold SM. Effect of β - lactamase inhibitors on the activities of various β - lactam agents against anaerobic bacteria. Antimicrob Agents Chemother, 35: 1219-1224, 1991
6. Akova M. Beta laktam / beta – laktamaz inhibitörü kombinasyonu antibiotikler. In Akalın HE (ed). Klinik Uygulamada Antibiotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar. Ankara: Güneş Kitabevi, 147-148, 1994
7. Rasmussen BA, Bush K, Tally FP. Antimicrobial resistance in anaerobes. Clin Infect Dis, 24 (Suppl 1): 110-120, 1997
8. Stark CA, Edlund C, Sjastedt S, et al. Antimicrobial resistance in human oral and intestinal anaerobic microfloras. Antimicrob Agents Chemother, 37: 1665-1669, 1993
9. Nord CE, Lindqvist L, Olsson-Liljequist B, et al. Beta-lactamases in anaerobic bacteria. Scand J Infect Dis , (Suppl): 46: 57-63, 1985
10. Gürler N. Anaerop mikroorganizmalar In Gür D, Söyletir G, Bal Ç, ve ark. (eds). Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı İstanbul. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayın No: 33 Turgut Yayıncılık, 65-71, 1998
11. Finegold SM. Anaerobic bacteria: General concepts. In Mandell GL, Benett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infection Diseases. 4th ed. , New York: Churchill Livingstone, 2156-2173, 1995
12. Finegold SM. Anaerobic Gram negative rods: *Bacteroides*. *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Bilophila*. In Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR (eds). Infectious Disease. 9th ed. , Philadelphia: WB. Saunders, 1570-1580, 1992
13. Finegold SM. Treatment of anaerobic infection: an overview. Scand J Infect Dis, (Suppl) 46: 89-95, 1985
14. Akgün Y. Anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık deneyleri. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Antalya Özet Kitabı, 110-113, 1996
15. Tunçkanat F. Anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri. 14. Antibiyotik ve Kemoterapi Kongresi Sunuları. Ankem, 13: 325-331, 1999
16. Wexler HM., Finegold SM. Antibacterial susceptibility tests: Anaerobic bacteria In Balows A, Hausler WJ JR, Herrmann KL, et al. (eds). Manuel of Clinical Microbiology. 5th ed. , Washington DC: ASM Press, 1133-1137, 1991
17. Citron DM, Ostovari MI, Karlsson A, et al. Evaluation of the E-test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. J Clin Microbiol, 29: 2197-2203, 1991
18. Appelbaum PC, Spangler SK, Cohen M, et al. Comparison of the E-test and conventional agar dilution methods for susceptibility testing of Gram-negative anaerobic rods. Diagn Microbiol Infect Dis, 18: 25-30, 1994
19. Wust J, Hardegger U. Comparison of the E-test and a reference agar dilution method for susceptibility testing of anaerobic bacteria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 11: 1170-1173, 1992
20. Rosenblatt JE. Antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. In Lorian V

- (ed). Antibiotics in Laboratory Medicine. 4th ed. , Baltimore: Williams-Wilkins, 112-126, 1996:
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. Third edition, Villanova. Apparoved Standard. 13:M11-A3, 1993
 22. Sutter VL, Citron DM, Edelstein MAC, et al. Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual. 3th ed. , St. Louis: Mosby, 67-80,1980
 23. Liljequist BO, Nord CE. Methods for susceptibility testing of anaerobic bacteria.

Clin Infect Dis, 18 (Suppl 4):293-296, 1994

Yazarlar:

R. KEŞLİ: Dr, SSK Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Afyon

Yazışma Adresi:

Dr. Recep KEŞLİ, SSK Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Afyon
Tel: 0.272.2140030 – 292
Fax: 0.272.2121390
E-mail:recepkesli@hotmail.com