

ANAEROP BAKTERİLERDE β -LAKTAMAZ AKTİVİTESİNİN VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ AGAR DİLÜSYON VE E TEST YÖNTEMLERİ İLE BELİRLENMESİ

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITIES AND β -LACTAMASE ACTIVITY OF ANAEROBIC BACTERIA BY AGAR DILUTION AND E TEST METHODS

Esvet MUTLU Mine YÜCESOY

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Anahtar Sözcükler: Anaerop bakteriler, *in vitro* antibiyotik duyarlılığı, β -laktamaz, E test, agar dilüsyon testi
Key Words: Anaerobic bacteria, *in vitro* antibiotic susceptibility, β -lactamase, E test, agar dilution test

ÖZET

Bu çalışmanın amacı; anaerop bakterilerin β -laktamaz ve *in vitro* antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek idi. Klinik örneklerde soyutlanan 27 anaerop bakteri Gram reaksiyonu, koloni morfolojisi ile Vitek sistemi ve "An-ident" diskler ile tanımlanmıştır. Daha sonra suşların amoksisilin klavulanat, siprofloksasin, sefoksitin, imipenem, klindamisin ve metronidazole duyarlılıkları agar dilüsyon ve E test yöntemleri ile belirlenerek sonuçlar karşılaştırılmıştır. Ayrıca suşların β -laktamaz aktiviteleri nitrosetir çubukları kullanılarak araştırılmıştır. Vitek sistemi ile suşların altısı *Bacteroides uniformis*, üçü *B. fragilis*, ikisi *B. ureolyticus*, ikisi *B. ovatus*, biri *B. vulgatus*, biri *B. eggerthii*, biri *B. caccae*, ikisi *Prevotella melaninogenica*, biri *P. buccae*, biri *P. oris*, ikis *C. perfringens*, ikisi *Clostridium tertium*, ikisi *C. sporogenes* ve biri *Peptostreptococcus anaerobius* olarak tanımlanmıştır. "An-ident" diskler ile tanımlamada tüm suşlarda %85.7, *Bacteroides* türlerinde ise %93.8 oranında Vitek sistemi ile tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. İncelenen suşlar genel olarak metronidazol, imipenem, amoksisilin klavulanat, sefoksitin, klindamisin ve siprofloksasine sırası ile %100, %96.3, %88.9, %81.5, %81.5, %48.1 oranlarında duyarlı bulunmuştur. Anaerop kökenlerin duyarlılıkları göz önüne alındığında, her iki yöntem arasındaki tutarlılık MİK değerleri ± 2 dilüsyon sınırları içinde ele alındığında %88.6, duyarlılık kategorileri ele alındığında ise %95.8 olarak belirlenmiştir. Tüm kökenlerin 16'sında (%59.2), *Bacteroides* türlerinin ise 11'inde (%40.7) β -laktamaz aktivitesi izlenmiştir. Sonuçlar doğrultusunda; yazarların çalıştığı hastane açısından anaerop bakterilere en etkin antibiyotiklerin metronidazol ve imipenem olduğu söylenebilir. Ayrıca bulgular ışığında, anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının rutin olarak araştırılmasında, referans yöntem ile uyumlu sonuçlar veren ve daha kolay uygulanabilen E test yönteminin alternatif olabileceği düşünülmüştür.

SUMMARY

The purpose of this study was to determine the β -lactamase activity and *in vitro* antibiotic susceptibility of clinical isolates of anaerobic bacteria. Totally, 27 anaerobic bacteria which were isolated from clinical specimens were identified with Gram reaction, colony morphology, "An-ident" disks and Vitek system. Susceptibilities of all isolates to amoxicillin/clavulanate, ciprofloxacin, cefoxitin, imipenem, clindamycin and metronidazole were determined by both agar dilution and E test methods and the results were compared. Also the β -lactamase activity of the isolates were determined by using nitrocefin sticks. Vitek system identified six of the isolates as *Bacteroides uniformis*, three as *B. fragilis*, two as *B. ureolyticus*, two as *B. ovatus*, one as *B. vulgatus*, one as *B. eggerthii*, one as *B. caccae*, two as *Prevotella melaninogenica*, one as *P. buccae*, one as *P. oris*, two as *Clostridium perfringens*, two as *Clostridium tertium*, two as *Clostridium sporogenes* and one as *Peptostreptococcus anaerobius*. An-ident disk identification results agreed with Vitek in 85.7% of all strains and 93.8% of *Bacteroides* isolates. Susceptibility rates of anaerobic bacteria to metronidazole, imipenem, amoxicillin/clavulanate, cefoxitin, clindamycin and ciprofloxacin were 100%, 96.3%, 88.9%, 81.5%, 81.5%,

48.1%, respectively. The agreement rate of MIC values by both methods was found to be 88.6% within two-fold dilutions and 95.8% when the susceptibility categories were considered. Sixteen (59.2%) of all strains and 11 (40.7%) of *Bacteroides* species had β -lactamase activity. According to the susceptibility rates of the isolates, metronidazole and imipenem were found to be the most active agents. Also it was concluded that E test, which is practical and gives consistent results with the reference test, may be an alternative method for routine susceptibility testing of anaerobic bacteria.

GİRİŞ

Anaerop bakteriler insan ve hayvanlarda normal florayı oluşturan ve patojen olan bakterilerin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Bu grup bakteriler konusunda bilinenler aerop ve fakültatif anaeroplara oranla çok daha azdır. Ancak gözardı edilemeyecek bir nokta ise, anaerop bakterilerin ölümcül infeksiyonlara ve intoksikasyonlara yol açabilmeleridir. Bu nedenle anaerop bakterilere gereken önem verilmeli ve ileri araştırmalar yapılmalıdır (1).

Pek çok merkezde bu bakterilerin izolasyon ve identifikasyonları yeterince yapılamamaktadır. Bu durumun nedenleri arasında; örnek alımı ve transportunda gerekli koşulların yerine getirilmemesi, laboratuvarındaki olanakların sınırlı olması, bu grup bakterilerin izolasyonu ile identifikasyonlarının zor ve zaman alıcı olması sayılabilir (2, 3). Ancak tanı açısından anaerop bakterilerin izolasyon ve doğru identifikasyonu büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla, özellikle Gram-negatif anaerop bakterileri tanımlamada çeşitli oranlarda antibiyotik emdirilmiş diskler kullanılmaktadır.

Anaerop bakteriler ile ilgili bir diğer nokta da, son yıllarda anaerop etkili olduğu bilinen antibiyotiklere gittikçe artan oranlarda direnç gelişiminin saptanmasıdır. Bu açıdan anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık paternlerinin belirlenmesi gerekmektedir, ancak tüm dünyada klinik örneklerden soyutlanan her kökenin rutin olarak antibiyotik duyarlılığının bakılması zaman alıcı, pahalı ve zor olduğundan, duyarlılık paternlerinin belirli aralıklarla referans merkezlerde gruplar halinde çalışılması önerilmektedir (4). Bu şekilde saptanan sonuçlar doğrultusunda ampirik sağaltım için antibiyotik seçimi yapılabilecektir. Yurt dışında yapılan az sayıdaki çalışma, ne yazık ki, Türkiye ve bölgemizdeki durumu yansıtmamaktadır. Yapılan çalışmalarda antibiyotik direnç paternlerinin zamana ve coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle, mümkünse, her hastanenin kendi kökenlerini periyodik olarak çalışması gerektiği belirtilmiştir (1, 4-7).

Anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık paternlerinin belirlenmesi için National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) agar dilüsyon yöntemini önermektedir (8). Ancak bu yöntem rutin kullanıma uygun olmayıp daha çok büyük sayıdaki bakterilerin duyarlılıklarının araştırılmasında ve anaerop kabin gibi geniş inkübasyon ortamlarının varlığında tercih edilebilecek bir

tekniktir (5, 7, 9-11). E testi ise NCCLS tarafından onaylanmamış ancak agar dilüsyon yöntemindeki gibi minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerini veren ve kolay uygulanabilen bir yöntemdir (12).

Bu çalışmada; ampirik sağaltıma yön verebilmek için bölgedeki infeksiyon etkeni anaerop bakterilerin duyarlılık paternlerinin belirlenmesi, bu bağlamda b-laktam antibiyotiklere dirençte önemli rol oynayan b-laktamaz aktivitesinin de araştırılması hedeflenmiştir. Ayrıca E test yönteminin kullanılabilirliğini incelemek amacıyla referans yöntem olan agar dilüsyon ile E test sonuçları karşılaştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bakteriler: Çalışmaya, çeşitli klinik örneklerden soyutlanan 27 anaerop bakteri ile kalite kontrol kökeni olarak *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 ve *Clostridium perfringens* ATCC 13124 alındı.

Suşların identifikasyonu: Soyutlanan 27 anaerop bakterinin identifikasyonu aerotolerans testi, metronidazol duyarlılığı, Gram reaksiyonu, koloni morfolojisi, hemoliz ve pigment varlığı ile "An-ident" diskler (eritromisin 60 µg, rifampisin 15 µg, kolistin 10 µg, kanamisin 1000 µg, vankomisin 5 µg, penisilin 2 Ü) (Oxoid) ve Vitek Anaerobe Identification (ANI) Card (bio Mérieux) kullanılarak yapıldı.

Antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması:

Agar dilüsyon yöntemi: Bakterilere NCCLS öneriler doğrultusunda agar dilüsyon yöntemi uygulandı (8). Antimikrobiyal madde olarak amoksisilin-klavulanat, siprofloksasin, sefoksitin, imipenem, klindamisin ve metronidazol toplam altı konsantrasyonda çalışıldı. Besiyeri olarak ise K vitamini ve hemin eklenmiş Brucella agar (Oxoid) kullanıldı. NCCLS kriterlerine uygun olarak yapılan değerlendirmede minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak üremede farkedilir bir değişikliğin olduğu nokta kabul edildi.

E test: Bakterilere üretici firma önerileri doğrultusunda E test uygulandı (12). Agar dilüsyon yöntemi ile duyarlılığı araştırılan altı tane antibiyotiğin 30 konsantrasyonunu içeren E test şeritleri (AB Biodisk, İsveç) ile besiyeri olarak K vitamini ve hemin eklenmiş Brucella agar (Oxoid)

kullanıldı. Değerlendirmede eliptik inhibisyon zonunun şerit ile kesiştiği nokta MİK değeri olarak okundu.

β-laktamaz aktivitesinin araştırılması: Suşların b-laktamaz aktivitelerinin araştırılmasında bir ucunda nitro-sefin içeren b-laktamaz çubukları (Oxoid) kullanıldı.

Sonuçların analizi: Elde edilen agar dilüsyon ve E test sonuçları karşılaştırıldı. MİK değerleri ± 2 dilüsyon arasında olanlar uyumlu kabul edildi. Ayrıca her iki yöntem ile belirlenen MİK değerlerinin karşılık geldiği duyarlılık kategorileri NCCLS kriterlerine göre belirlendi ve bunlar da karşılaştırılarak % uyum bulundu.

BULGULAR

İdentifikasyon sonuçları: Vitek sistemi ile suşların altısı *Bacteroides uniformis*, üçü *B. fragilis*, ikisi *B. ureolyticus*, ikisi *B. ovatus*, biri *B. vulgatus*, biri *B. eggerthii*, biri *B. caccae*, ikisi *Prevotella melaninogenica*, biri *P. buccae*, biri *P. oris*, ikisi *Clostridium perfringens*, ikisi *C. tertium*, biri *C. sporogenes*, biri *C. difficile*, biri *Peptostreptococcus*

anaerobius olarak tanımlanmıştır. Gram-negatif basil ve Gram-pozitif kok olan anaerob bakteriler için Vitek ve "An-ident" disk sonuçları karşılaştırıldığında 21 kökenin 18'i (%85.7), 16 *Bacteroides* spp.'nin ise 15'i (%93.75) uyumlu olarak belirlenmiştir. Bir *Peptostreptococcus* sp. ve iki *P. melaninogenica* kökeni her iki sistemle de aynı şekilde tanımlanırken, Vitek ile *P. oris* ve *P. buccae* olarak belirlenen türler "An-ident" diskleri ile *B. fragilis* olarak identifiye edilmiştir.

β-laktamaz testi sonuçları : 27 kökenin 16'sında (%59.2) b-laktamaz enzimi saptanmıştır. *Bacteroides* grubunda ise 13 (%81.25) suшта b-laktamaz aktivitesi izlenmiştir.

Antibiyotik duyarlılık sonuçları : Çalışılan suşlar için agar dilüsyon ve E test yöntemleri ile elde edilen duyarlılık oranları Tablo 1'de, MİK değer aralıkları ise Tablo 2'de görülmektedir.

En çok ve hızlı direncin gözlemlendiği *Bacteroides* grubu kökenlerde metronidazol, imipenem ve amoksisilin klavulanata direnç gözlenmezken siprofloksasin, klindamisin

Tablo 1. Suşlar için agar dilüsyon ve E test yöntemleri ile elde edilen duyarlılık oranları

Kullanılan Yöntem	Kullanılan Antibiyotik					
	Amoksisilin-klavulanat (%)	Siprofloksasin (%)	Sefoksitin (%)	İmipenem (%)	Klindamisin (%)	Metronidazol (%)
Agar dilüsyon	88.9	48.1	81.5	96.3	81.5	100
E test	92.6	51.4	88.9	96.3	81.5	100

Tablo 2. Suşların agar dilüsyon ve E test yöntemleri ile elde edilen MİK değer aralıkları (ng/mL)

Suş adı (n)	Antibiyotikler											
	Amoksisilin klavulanat		Siprofloksasin		Sefoksitin		İmipenem		Klindamisin		Metronidazol	
	AD	E test	AD	E test	AD	E test	AD	E test	AD	E test	AD	E test
<i>B. fragilis</i> (ATCC 25285)	≤1	0.25	4	4	8	8	≤1	0.06	≤0.5	0.125	≤2	0.06
<i>B. fragilis</i> (3)	≤1-4	0.25	0.5-8	1-32	8-32	2-8	≤1	0.06-0.125	≤0.5-1	0.125-0.25	≤2	0.06-0.5
<i>B. vulgatus</i> (1)	8	2	≥8	32	16	16	≤1	0.38	≥16	256	≤2	0.125
<i>B. eggerthii</i> (1)	2	0.03	≥8	32	32	16	≤1	0.03	0.25	0.03	≤2	0.03
<i>B. uniformis</i> (6)	≤1-4	0.25-2	1-≥8	0.25-32	≤4-32	2-32	≤1-4	0.06-2	≤0.5-2	0.06-0.5	≤2-4	0.06-0.25
<i>B. ureolyticus</i> (2)	≤1	0.06-1	1-≥8	1-32	≤4-16	0.5-16	≤1	0.125	≤0.5	0.03-0.125	≤2	0.03-0.06
<i>B. ovatus</i> (2)	2-4	0.03-4	≥8	32	≤4-64	0.06-32	≤1	0.03-0.25	1-≥16	1-256	≤2	0.03-0.25
<i>B. caccae</i> (1)	≤1	0.06	≥8	16	16	16	≤1	0.25	≤0.5	0.06	≤2	0.06
<i>C. sporogenes</i> (1)	≤1	0.03	1	0.5	≤4	2	≤1	0.25	≤0.5	0.15	≤2	0.25
<i>C. difficile</i> (1)	16	64	≥8	32	64	256	16	32	≥16	256	8	0.25
<i>C. perfringens</i> (2)	≤1	0.25-0.5	0.5-1	0.25-0.5	≤4-8	2-8	≤1	2	2-4	2-4	≤2	0.25-0.5
<i>C. tertium</i> (2)	≤1-2	0.25-1	0.5-1	0.25-1	≤4	1-2	≤1	0.03-0.25	1-2	0.5-2	≤2	0.25
<i>P. melaninogenica</i> (2)	≤1-2	0.03-4	1-2	1	≤4-8	0.06-1	≤1	0.03-0.125	2-≥16	0.03-256	≤2	0.03
<i>P. buccae</i> (1)	≥32	32	1	1	≤4	0.03	≤1	0.125	≤0.5	0.06	≤2	1
<i>P. oris</i> (1)	≤1	0.03	0.5	0.03	≤4	0.03	≤1	0.03	2	0.03	≤2	0.06
<i>P. anaerobius</i> (1)	4	4	0.5	0.5	≤4	4	≤1	0.5	2	1	≤2	0.25

AD: Agar dilüsyon testi

ve sefoksitine sırasıyla %75, %12.5 ve %6.3 oranlarında direnç saptanmıştır.

Anaerop kökenlerin duyarlılıkları göz önüne alındığında, her iki yöntem arasındaki tutarlılık MİK değerleri ± 2 dilüsyon sınırları içinde ele alındığında %88.6, kategoriler ele alındığında ise %95.8 olarak belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Anaerop bakterilerin doğru identifikasyonu tanı ve sağaltım açısından büyük önem taşımaktadır. Ancak bu bakterilerin kesin tür ayrımı bugün bile pek çok merkezde yapılamamaktadır. Çalışmada tanımlamada kullanılan Vitek ve "An-ident" disk sonuçları arasında %85.7 uyum bulunmuştur. "An-ident" diskler ile esas olarak *B. fragilis* tanımlandığından *Bacteroides* türlerinde bu oranın daha yüksek olduğu gözlenmiştir. "An-ident" disk yönteminde antibiyotik disk sonucuna göre daha genel bir tanımlama yapılmaktadır. Ancak; otomatize sistemler veya karbonhidrat fermentasyon testleri ile daha detaylı bir identifikasyon yapılabilmektedir. Sonuçlar doğrultusunda; kısıtlı olanakların bulunduğu rutin laboratuvarlarda Gram-negatif anaerop bakterilerin antibiyotik diskleri ile tanımlanabileceği söylenebilir.

Antimikrobiyal maddelerin daha sık olarak kullanıma girmesi ile anaerop bakterilerde bu maddelere karşı direnç gelişimi de gözlenmeye başlamıştır. *Bacteroides fragilis* grubu bakteriler klinik örneklerden en sık soyutlanan ve antibiyotiklere en dirençli anaerop bakteriler olarak bilinmekte (13, 14) ve duyarlılık paternleri coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir (15).

Çalışmada, metronidazole direnç saptanmazken, siprofloksasine suşların %48.1'i, klindamisine %14.8'i, amoksisilin klavulanat ve sefoksitine %7.4'ü, imipeneme %3.7'si dirençli bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda en çok klindamisin ve sefoksitin direncinde artış gözlenmiştir (16-18). Klindamisin direnci tüm dünyada %5 ile %27 arasında değişirken, Türkiye'de %26 ile %46 arasında bildirilmiştir (4, 14, 16, 17, 19-22). Bu çalışmada ise, Türkiye'de belirtilen direnç sıklığının altında bir değer saptanmıştır. Bunun nedeni olarak, yazarların çalıştığı hastanenin antibiyotik politikası veya köken sayısının azlığı gösterilebilir. Çalışmada sefoksitin direnci dünyada yapılan çalışmalarla uyumlu olarak %7.4 oranında bulunmuştur. Türkiye'de yapılan bir çalışmada (22) *B. fragilis* grubunda %12 bulunan sefoksitin direnci, bir başka çalışmada (14) %81.8 olarak belirlenmiştir. *Bacteroides* türlerinde saptanan %6.3'lük sefoksitin direnci Türkiye'dekinden düşük olmakla birlikte, dünyadaki çalışmalar ile paralel olduğu saptanmıştır. Türkiye'de yüksek oranda sefalosporin direncinin

görülmesinin nedeni olarak sefalosporinlerin yaygın kullanılması gösterilmektedir.

Bu çalışmada tüm suşlar metronidazole, tüm *Bacteroides* suşları ise imipeneme duyarlı olarak saptanmıştır. Dünyada metronidazole direnç çok ender olarak izlenmiş olup sadece bir çalışmada *C. difficile* suşlarında direnç bildirilmiştir. Türkiye'de ise *Bacteroides* türlerinde %3.6, 6 ve 12 oranlarında metronidazol direnci belirlenmiştir (6, 14, 22, 23). *Bacteroides* suşları için bu çalışmada elde edilen sonuç, Türkiye'de yapılan diğer çalışmalardan bu açıdan farklılık göstermektedir. Bu durum, çalışmadaki köken sayısının az olmasından ya da hastanedeki metronidazol kullanım politikasından ortaya çıkmış olabilir.

Sonuçlar incelendiğinde, *Bacteroides* türlerinde amoksisilin klavulanata direnç gözlenmediği dikkati çekmektedir. Öte yandan, tüm kökenler içinde bir *P. bivia* ve bir *C. difficile* suşunda olmak üzere toplam iki suşta direnç saptanmıştır. Bu çalışmada eski bir kinolon olan siprofloksasine direnç tüm suşlarda %48.1, *Bacteroides* türlerinde ise %75 olarak bulunmuştur. Bu nedenle tüm dünyada yeni kinolonlar üzerinde çalışmalar sürmektedir. Bu araştırmalarda trovafloksasin, moksifloksasin, gemifloksasin, gatifloksasin gibi kinolonların daha etkili olduğu bildirilmiştir (24-27).

Genel olarak b-laktam antibiyotiklere direncin b-laktamaz enzimi ile ilacın inaktivasyonu, penisilin bağlayan proteinlerde değişim ve azalmış hücre duvar geçirgenliği ile oluştuğu bildirilmektedir. Anaerop bakterilerde bu direncin en sık b-laktamaz üretimi sonucu ortaya çıktığı belirtilmiştir (1, 28).

Çalışmada tüm anaerop suşlarda %59.2, *Bacteroides* türlerinde ise %81.25 oranında b-laktamaz aktivitesi saptanmıştır. Yapılan çeşitli çalışmalarda bu oranlar %29 ile %88 arasında belirlenmiştir (4, 14, 22, 29, 30). Bu çalışmanın sonuçları bu bulgular ile uyumludur.

Anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık paternlerinin belirlenmesi için NCCLS'in önerdiği agar dilüsyon yöntemi genellikle araştırma amaçlı ve çok sayıda bakteri çalışması durumunda yeğlenmektedir. Zor ve zaman alıcı olan bu yöntem, uygulanması daha kolay olan ve bir kerede bir bakterinin bile antibiyotik duyarlılığının belirlenmesine olanak tanıyan alternatif yöntem arayışları sürmektedir (31-36). Üzerinde en çok çalışılan yöntem olan E test, agar dilüsyona benzer şekilde MİK değerini vermektedir (4, 5, 9). Bu çalışmada her iki yöntem arasındaki tutarlılık oranı tüm antibiyotikler için MİK değerleri ± 2 dilüsyon sınırları içinde ele alındığında %88.6, duyarlılık durumları ele alındığında ise %95.8 olarak belirlenmiştir.

Antibiyotik duyarlılık ölçümünde uygulanan E test ve agar dilüsyon yöntemlerinde, daha önceki çalışmalarda en uygun olduğu saptanan at kanı, K1 vitamini ve hemin eklenmiş Brucella agar ve 1 McFarland yoğunluğunda inokulum kullanılmıştır. Sonuçlar yine yapılan çalışmalar ışığında 48 saatte değerlendirilmiştir. Her iki yöntem arasında MİK değerleri ve duyarlılık durumları ele alındığında, elde edilen tutarlılıklar diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (24, 32-38). Çalışmamızda duyarlılık durumlarında uyumsuzluklar daha çok siprofloksasin ve sefoksitin ile gözlenmiştir. Ayrıca E test MİK'leri diğer çalışmalarda olduğu gibi, agar dilüsyonla elde edilen MİK değerlerinden daha düşük olma eğiliminde bulunmuştur (33, 36). Bunun nedenini Citron ve ark. (33) agar dilüs-yonda besiyerinde mm²'ye düşen mikro-organizma sayı-

sının E test yöntemindekinden daha fazla olması ile açıklamıştır. E test yönteminin en önemli dezavantajı maliyetinin yüksek olmasıdır.

Bulgular ışığında; kısıtlı olanakların bulunduğu rutin laboratuvarlarda anaerob bakterilerin antibiyotik diskleri ile tanımlanabileceği düşünülmektedir. Öte yandan, hastaneden soyutlanan kökenlerde metronidazole direnç gözlenmez iken en yüksek direnç siprofloksasin için elde edilmiştir. Buna göre, hastanede görülen anaerob infeksiyonların sağaltımında başta metronidazol olmak üzere imipenem, amoksisilin klavulanat ve sefoksitin kullanılabileceği söylenebilir. Ayrıca çalışmada, anaerob bakterilerin antibiyotik duyarlılık ölçümünde referans yöntem ile uyumlu sonuçlar veren ve daha kolay uygulanan E test yöntemi alternatif olabilir.

KAYNAKLAR

1. Rasmussen BA, Bush K, Tally FP. Antimicrobial resistance in anaerobes. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (Suppl 1): 110-20.
2. Gürler N. Anaerob infeksiyonlara genel bakış ve antimikrobiyallere direnç durumu. *ANKEM Derg* 2001;15: 593-9.
3. Durmaz B. Anaerob bakterilerin izolasyon ve identifikasyonu. XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Program ve Özet Kitabı'nda. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, 1996: 104-7.
4. Duerden BI. Role of reference laboratory in susceptibility testing of anaerobes and a survey of isolates referred from laboratories in England and Wales during 1993-1994. *Clin Infect Dis* 1995; 20 (Suppl 2): 180-6.
5. Wexler HM. Susceptibility testing of anaerobic bacteria: Myth, magic or method? *Clin Microbiol Rev* 1991; 4: 470-84.
6. Torun MM. Anaerob bakterili infeksiyonlarda tedavi. *Anaerob Haber* 1999 ilkbahar; 3: 2-4.
7. Rosenblatt JE. Susceptibility testing of anaerobic bacteria. In: Levett PN, ed. *Anaerobic Microbiology, A Practical Approach*. New York: Oxford University Press, 1991: 51-63.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria*. Approved Standard. Fifth ed. M11-A5. Pennsylvania: NCCLS, 2001.
9. Liljequist BO, Nord CE. Methods for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Clin Infect Dis* 1994; 18 (Suppl 14): 293-6.
10. Tunçkanat F. Anaerob bakterilerin antibiyotik duyarlılık testleri. *ANKEM Derg* 1999; 13: 325-31.
11. Hecht DW. Susceptibility testing of anaerobic bacteria. In: Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA, eds. *Medical Microbiology*. 3rd ed. St Louis: Mosby, 1998: 1555-60.
12. E Test AB Biodisk kullanma kılavuzu.
13. Rotimi VO, Khoursheed M, Brazier JS, et al. *Bacteroides* species highly resistant to metronidazole: an emerging clinical problem? *Clin Microbiol Infect* 1999; 5: 166-9.
14. Torun MM, Bahar H, Yüksel P. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Bacteroides fragilis* grubu bakterilerin antimikrobiyallere direnç durumları ve b-laktamaz aktiviteleri. *ANKEM Derg* 2000;14: 104-10.
15. Gürler N, Zandi H, Töreci K. Muayene maddelerinden izole edilen anaerob bakterilerde antimikrobik maddelere direnç. *ANKEM Derg* 1995; 9: 370-86.
16. Lee K, Chong Y, Jeong SH, et al. Emerging resistance of anaerobic bacteria to antimicrobial agents in South Korea. *Clin Infect Dis* 1996; 23 (Suppl 1): 73-7.
17. Labbé AC, Bourgault AM, Vincelette J, et al. Trends in antimicrobial resistance among clinical isolates of the *Bacteroides fragilis* group from 1992 to 1997 in Montreal, Canada. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2517-9.
18. Bianchini H, Canigia LBF, Bantar C, Smayevsky J. Trends in antimicrobial resistance of the *Bacteroides fragilis* group: A 20-year study at a medical center in Buenos Aires, Argentina. *Clin Infect Dis* 1997; 25 (Suppl 2): 268-9.
19. Koch CL, Derby P, Abratt VR. *In vitro* antibiotic susceptibility and molecular analysis of anaerobic bacteria isolated in Cape Town, South Africa. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42: 245-8.
20. Betriu C, Sánchez A, Gómez M, et al. *In-vitro* susceptibilities of species of the *Bacteroides fragilis* group to newer b-lactam agents. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 133-6.
21. Nagy E, Szöke I, Gacs M, Csizsár K. Antibiotic susceptibility of *Bacteroides fragilis* group strains in Hungary. *Anaerobe* 1995; 1: 269-74.
22. Torun MM, Bahar H, Özcan N, Yüksel P. *Bacteroides fragilis* grubu bakterilere çeşitli antimikrobik maddelerin *in-vitro* etkinliği. *ANKEM Derg* 1998; 12: 141.

23. **Barbut F, Decré D, Burghoffer B, et al.** Antimicrobial susceptibilities and serogroups of clinical strains of *Clostridium difficile* isolated in France in 1991 and 1997. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43: 2607-11.
24. **Schaumann R, Ackermann G, Pless B, et al.** *In vitro* activities of gatifloxacin, two other quinolones, and five nonquinolone antimicrobials against obligately anaerobic bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43: 2383-6.
25. **Betriu C, Gómez M, Palau ML, et al.** Activities of new antimicrobial agents (trovafloxacin, moxifloxacin, sanfetrinem and quinupristin-dalfopristin) against *Bacteroides fragilis* group: Comparison with the activities of the 14 other agents. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43: 2320-2.
26. **Goldstein EJC, Citron DM, Warren Y, et al.** *In vitro* activity of gemifloxacin (SB 265805) against anaerobes. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43: 2231-5.
27. **Goldstein EJC, Citron DM, Merriam CV, et al.** Activity of gatifloxacin compared to those of five other quinolones versus aerobic and anaerobic isolates from skin and soft tissue samples of human and animal bite wound infections. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43: 1475-9.
28. **Hedberg M, Nagy E, Nord CE.** Role of penicillin-binding proteins in resistance of *Bacteroides fragilis* group species to b-lactam drugs. *Clin Infect Dis* **1997**; 25 (Suppl 2): 270-1.
29. **Mättö J, Asikainen S, Väisänen ML et al.** b-lactamase production in *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* and *Prevotella pallens* genotypes and *in vitro* susceptibilities to selected antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* **1999**; 43: 2383-8.
30. **Tanaka B, Kawamura C, Fukui K, et al.** Antimicrobial susceptibility and b-lactamase production of *Prevotella* spp. and *Porphyromonas* spp. *Anaerobe* **1999**; 5: 461-3.
31. **Brazier JS, Hall V, Duerden BI.** Artefactual resistance to metronidazole in anaerobes of the *Bacteroides fragilis* group. *J Antimicrob Chemother* **1992**; 30: 553-4.
32. **Appelbaum PC, Spangler SK, Cohen M, Jacobs MR.** Comparison of the E test and conventional agar dilution methods for susceptibility testing of gram negative anaerobic rods. *Diagn Microbiol Infect Dis* **1994**; 18: 25-30.
33. **Citron DM, Ostovari MI, Karlsson A, Goldstein EJC.** Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *J Clin Microbiol* **1991**; 29: 2197-203.
34. **Wüst 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* **1992**; 11: 1170-3.
35. **Rosenblatt JE, Gustafson DR.** Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis* **1995**; 22: 279-84.
36. **Bolmström A.** Susceptibility testing of anaerobes with E test. *Clin Infect Dis* **1993**; 16 (Suppl 4): 367-70.
37. **Croco JL, Erwin ME, Jennings JM, et al.** Evaluation of the E test for determinations of antimicrobial spectrum and potency against anaerobes associated with bacterial vaginosis and peritonitis. *Clin Infect Dis* **1995**; 20 (Suppl 2): 339-41.
38. **Poulet PP, Duffaut D, Lodter JP .** Evaluation of the Etest for determining the *in-vitro* susceptibilities of *Prevotella intermedia* isolates to metronidazole. *J Antimicrob Chemother* **1999**; 43: 610-1.