

# ANAEROB BAKTERİ İNFEKSİYONLARI: KÜLTÜRDE SORUNLAR

Müzeyyen MAMAL TORUN

İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji AB Dalı, İstanbul

## ANAEROP NEDİR?

Anaerob bakteriler üreyebilmek için ortamdaki serbest oksijenin uzaklaştırılmasına gereksinim duyan, normal atmosferde veya %5-10 karbondioksitli ortamda katı besiyerlerinde üreyemeyen bakterilerdir. Anaerob bakteri tanımı içinde oksijene duyarlılıkları değişkenlik gösteren bakteriler yer almaktadır. Oksijene olan duyarlılıkta ortamdaki oksijeni konsantrasyonu, superoksit radikal konsantrasyonu, peroksitler ve oksido-redüksiyon potansiyeli önemlidir. Loesche, anaerob bakterileri kesin (strict) ve ılımlı (moderate) anaeroplardan olmak üzere iki grupta toplamıştır. Kesin anaerob bakteriler %0.5'den daha fazla oksijen varlığında katı besiyerlerinde üreyemezler. Bazı Treponema türleri, Selenomonas ve *Clostridium haemolyticum* bu gruba girer. İlımlı anaeroplardan %2-8 (ortalama %3) oksijen varlığına tolerans gösterebilirler. *Bacteroides fragilis* grubu, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella oralis* ve *Fusobacterium nucleatum* ılımlı anaeroplardan grubunda bulunan önemli klinik patojenlerdir. Bunların oksijene duyarlılıkları bazen aynı tür içinde bile suştan suşa farklılık gösterir. Rosebury(1) bir *P.melaninogenica* suşunun %0.1 oksijen varlığında iyi ürediğini fakat %1 oksijende üremediğini, bir başka suşun %2 oksijen varlığında ürediğini fakat %4 oksijende üremediğini bildirmiştir. Mikroaerofil bakteriler, %21'in üzerinde oksijen bulunan ortamlarda üremeyen yada çok zayıf bir üreme gösteren bakterilerdir. Örneğin mikroaerofil bir bakteri olan *Campylobacter jejuni* en iyi %5 O<sub>2</sub>, %10 CO<sub>2</sub> ve %85 N<sub>2</sub> bulunan ortamlarda ürer. Aerotoleran anaeroplardan ise normal atmosferde ya da %5-10 CO<sub>2</sub> varlığında ince bir üreme gösteren, anaerob ortamda daha iyi üreyen bakterilerdir. *C.histolyticum*, *C.tertium* gibi.(2)

Vücudun çeşitli bölgelerindeki flora bakterileri arasında yer alan anaeroplardan sıklıkla ciddi ve yüksek mortaliteye sahip infeksiyonlara sebep olabilirler. Hem klinisyenler hem de mikrobiyologlar 20-30 yıldan daha fazla süredir anaerob infeksiyonlar hakkında çok daha fazla bilgilenmelerine rağmen bunlar şüphesiz hala en sık gözden kaçabilen infeksiyonlardır. Anaerob kültür metodları pahalıdır, zaman alıcıdır, fakültatif anaerob bakterilerinkiler kadar iyi standardize edilememiştir. Çünkü anaeroplardan çoğunlukla yavaş ürerler, ya da özel besiyerlerinin ve suplemanların kullanımını gerektirirler. Anaerob infeksiyonların ciddi ve ağır seyrettiği durumlarda, altta yatan hastalığı olanlarda ve yaşlılarda gelişen infeksiyonlarda ve ampirik tedaviye yanıt vermeyen durumlarda anaerob kültür mutlaka yapılmalıdır (3). Anaerob kültürlerin başarılı olması için bazı prensiplere bağlı kalmak gereklidir.

1. Anaerob infeksiyonların olası kaynaklarını tanımlayan hekim ve hemşirelerle ile sıkı bir şekilde iletişim, konsültasyon ve eğitim ile normal flora kontaminasyonundan kaçınılması elde edilen yalnızca genel uygun örneklerin selektif kültürü.
2. Klinik örneklerin hızlı bir şekilde ve uygun taşıma sistemleri kullanılarak laboratuvara ulaştırılması.
3. Uygun olmayan veya çoklu örnekler alındığı zaman reddetme/ ha-

ber verme sistemi.

4. Ekimler için kullanılacak olan besiyerlerinin taze indirgenmiş besiyerleri olması.
5. Ekim yapılan besiyerlerinin inkübasyonu için uygun bir anaerob sistemi kullanılması.
6. "Karışık flora" yalnızca "Gram pozitif anaerob koklar.." gibi olası raporları kapsayan izolasyon ve identifikasyon derecelerinin tanımlanabilmesi için mantıklı bir ön bilgi.

## ANAEROP KÜLTÜR İÇİN ÖRNEKLERİN TOPLANMASI

Anaerob infeksiyonların mikrobiyolojik tanısı klinik örneğin uygun bir şekilde alınması ile başlar. Örnek alınmasında dikkat edilmesi gereken en önemli nokta örneğin doğrudan infekte bölgeden alınmasıdır. Florasında anaerob bakterilerin bulunduğu bölgelerden alınan ya da normal flora ile kontamine olan örneklerin tanılabilir değeri yoktur. Anaerob kültür için pürülan sıvılar en iyi iğne ve enjektör ile, infekte dokular parçaları eksizyon veya biyopsi ile alınır. Yeterince örnek alınmaması, ayrıca pamuğa yapışan yağ asitleri ve tutulan oksijenin anaeroplara toksik etki yapması nedeniyle, sürüntü örnekleri anaerob kültür için kabul edilmese de operasyon sırasında pamuklu tahta saplı bir eküvyon ile alınan örnek anaerob kültür için kullanılabilir. Ancak eküvyon hemen taşıma ortamına daldırılmalı, çubuk kırılmalı ve kabın ağzı hemen kapatılmalıdır. Aynı şekilde pürülan akıntılarının derin sürüntüleri de eküvyon ile alınabilir.

## Hangi örneklerden hiçbir zaman anaerob kültür yapılmalıdır?

Aşağıda bildirilen bölgelerden alınan örnekler anaerob kültür için kabul edilmemelidir. Çünkü bu bölgelerdeki normal kommensal anaeroplardan patojen anaeroplardan ayırt edilmesi mümkün değildir.

Anaerob kültür yapılmaması gereken örnekler:

- Burun yoluyla alınan solunum örnekleri ( nazofaringeal sürüntüler gibi.)
- Ağız yoluyla alınan solunum örnekleri ( Boğaz sürüntüleri ve balgam; bronkoskopik örnekler, korunmuş fırça tekniği hariç.)
- Gastrointestinal yoldan alınan örnekler (gastrik muhteva, dışkı, rektal sürüntüler; Clostridium botulinum ve fazla miktarda şüpheli bakteri üremesi hariç.)
- Ürogenital yol örnekleri (Vaginal ve servikal sürüntüler , idrar.)
- Otopsi örnekleri.
- Deri ve mukoza sürüntüleri.

## ANAEROP KÜLTÜRLER İÇİN ÖRNEKLERİN TAŞINMASI

Örneklerin havasız bir ortamda ve bekletilmeden laboratuvara ulaştırılması çok önemlidir. Taşıma zamanı ve şekli örneğin özelliğine ve hacmine göre değişir. Oda ısı örneklerin taşınması için en uygun ısıdır. Çünkü oksijen düşük ısıda daha iyi diffüze olur.

## Hangi örneklerden anaerop kültür yapılmalıdır?

## Anaerop kültür için uygun örnekler

İnfeksiyon bölgesi	Uygun örnek	Örnek alma metodu
<b>Baş ve Boyun</b>	Aspirat Doku biyopsisi	Perkütanöz iğne biyopsisi Cerrahi
<b>Periodontal</b>	Gingiva bölgesi debrisi	Steril "paper point" ile
<b>Akciğer</b>	Aspirat Akciğer aspiratı Doku biyopsisi Derin bronş sekresyonları	İğne aspirasyonu ile Perkütanöz iğne aspirasyonu Cerrahi ile Transtrakeal aspirasyon, Korunmuş bronşiyal brush, Bronkoalveolar lavaj
<b>Eklemler</b>	Plevra sıvısı	Torasentez
<b>Abdomen</b>	Eklemler sıvısı Periton sıvısı Apse muhtevası Safra	Perkütanöz iğne aspirasyonu Perkütanöz iğne aspirasyonu Cerrahi ile aspirat (CT ve ultrason yardımı ile) Cerrahi ile (T tüpü)
<b>Kadın genital yolu</b>	Doku biyopsisi Periton sıvısı Endometriyum materyali	Cerrahi ile Kuldosentez Endometriyumdan emilimle alınan materyal
<b>Kemik</b>	Doku biyopsisi	Cerrahi
<b>Küretaj</b>	Biyopsi	Cerrahi ile
<b>Diğer yumuşak dokular</b>	Aspirat Doku biyopsisi Aspirat Doku	Derin doku aspiratı Cerrahi ile Perkütanöz iğne aspirasyonu Küretaj ile
<b>Üriner yol</b>	Mesane idrarı	Suprapubik aspirasyon

- Büyük hacimli sıvılar (periton sıvısı gibi) ya da büyük doku parçaları (steril tuzlu su ilave edilerek) steril bir kaptan, taşıma besiyerine gereksinim olmaksızın taşınabilirler.
- Enjektörle alınan aspirasyon örnekleri doğrudan iğne ile anaerop taşıma ortamına injekte edilmeli, iğne ya da enjektör laboratuvara gönderilmelidir. İğne ucu potansiyel bir tehlike oluşturabilir, ayrıca plastik enjektörlerden oksijen sızabilir. Ancak, taşıma ortamı sağlanamayan durumlarda ve örnek hemen gönderilecekse taze eksüda ve sıvı örnekler içindeki hava kabarcıkları dikkatlice çıkarıldıktan sonra, iğnenin ucuna steril bir koruyucu konularak laboratuvara ulaştırılır.
- Biyopsi ve küretaj örnekleri anaerop taşıma ortamlarıyla taşınmalıdır.
- Zorunlu hallerde alınan sürüntü örnekleri anaerop taşıma ortamıyla taşınmalıdır.
- Kan kültürleri BACTEC şişeleri ile taşınabilir. Anaerop üretim için besiyerine %10-20 kan ilave edilmesi gereklidir. Bu nedenle BACTEC şişelerindeki besiyeri hacmi anaerop şişelerde 30 ml'den 25 ml'ye indirilmiştir. Ortama SPS ilavesi üretim şansını artırır.(2,4,5)

Anaerop kültür için örneklerin taşınması amacıyla kullanılan çeşitli ticari sistemler vardır:(4)

**Tüp veya şişeler:**Tüp veya şişeler yarı katı besiyeri, %5 CO<sub>2</sub>'li atmosfer, indirgen madde ve reazurin indikatörü içerirler.Genellikle eküvyon ile alınan örnekleri taşımak için tüpler, sıvı örnekleri taşımak için şişeler kullanılır. (Becton Dickinson-Port-A-Cul sistem; San Joe CA-Anaerobic transport Medium; Scott Laboratories-Anaport and Anatube gibi).

**Eküvyon/plastik kap sistemi:** İçinde Cary-Blair, Amies transport veya PRAS bulunan plastik tüp veya plastik kap içine eküvyon yerleştirilmiştir. (Anaerobic Culturette system – Becton Dickinson, PRAS Anaerobic Transport System – Remel Inc gibi).

**Plastik torba sistemleri:** CO<sub>2</sub> üretici sistem, palladyum katalizör ve anaerop indikatör içeren şeffaf plastik torbalardır. (Pouch System - Difco Laboratories, Bio-bag-Becton Dickinson gibi)

## ANAEROP KÜLTÜR ÖRNEKLERİNİN İNCELENMESİ

Anaerop kültürler için alınan örnekler inceleme önceliklerine göre 3 kategoride toplanabilir.

**Kategori A örnekleri:** Anaerop kültürler için uygun alınma ve taşınma durumlarına bakılmaksızın bu örneklerin anaerop kültürü yapılır.

**Kategori B örnekleri:** Bunlar anaerop kültür istenildiği takdirde alınma ve taşınma kurallarına uygun olmasa bile anaerop kültürü yapılan örneklerdir.

**Kategori C örnekleri:** Bunlar anaerop kültür istenildiği takdirde ancak taşıma ve alınma kurallarına uyulmuşsa anaerop kültürü yapılan örneklerdir.

Anaerop kültür için öncelik tanınması gereken örnekler aşağıdadır.

**Kategori A örnekleri:**

- Akciğer , karaciğer, dalak, beyin, bağ doku ve kas doku örnekleri.
- Kan, vitroz/aköz sıvı, solunum sisteminin yıkama örnekleri (PBS) gibi steril sıvılar.
- Derin bölgelerdeki apselerden alınan steril aspiratlar.(Beyin, subdural, epidural, göz/orbita, karaciğer, akciğer,safra, mediastinum)

**Kategori B örnekleri:**

- BOS, safra, amniyosentez sıvısı, plevra sıvısı, timpanosentez sıvı-

sı, periton sıvısı, perikart sıvısı, sinüs aspirasyonu, idrar (yalnızca suprapubik aspirasyon) gibi steril sıvılar.

- Septik düşük parçaları, kemik, endometrium, plasenta, kalp ve perikart dokuları.
- Diğer yara/aspirasyon örnekleri( Yalnızca Gram bildirilmelidir), Bezold apsesi, ısırık yaraları, dakriyosistit, miyokart apseleri abdomen, kol bacakların derin yaraları, tubo- ovarian apseler.

#### Kategori C örnekleri:

- İntra-abdominal apseler-drenajlar
- Dental infeksiyonlar
- Cerrahi yara infeksiyonları
- Yüzeysel yaralar (ısırıklar hariç)
- Diyabetik ayak sürüntüleri
- Dekubitus ülserleri
- Drenajlar (göğüs tüpleri, intra-abdominal drenler, T tüpleri.
- Normal aerop kommensalleri ile kontaminasyonun yüksek olduğu apse sıvıları ( peritonsiller, perirektal, perineal, pilonidal, prostatik, intra-peritoneal, intra-abdominal, tubovajinal)

#### Örneklerin direkt incelenmesi:

Kültürden önce örneklerin makroskopik ve Gram yaymalarının incelenmesi büyük önem taşır (2,4).

Makroskopik incelemede kötü koku, sıvı örneklerdeki pürülan görünüm, nekrotik doku varlığı, gaz ve sülfür taneciklerinin bulunması anaeroplarn varlığı konusunda değerli ipuçları verebilir. Bu özellikler ve gram boyalı yaymalardan elde edilen bilgiler, ön bir raporda bir araya getirilerek değerlendirilmeli ve en kısa zamanda klinisyene gönderilmeli ya da telefonla bildirilmelidir. Uçucu yağ asitleri ve aminlere bağlı kötü koku her zaman anaeroplarn varlığı ile bağlantılıdır. Anaerop bakteriyolojide zaman çok önemli olduğu için geçici raporlar verilir. örneğin; En kısa zamanda direkt makroskopik ve mikroskopik (Gram) inceleme sonucunun bildirilmesini takiben 24 saat sonra verilen rapor aerop / fakültatif anaerop üremeye ilgili ön bilgileri verebilir, 48 – 72 saat sonra anaeroplara ilgili ön bilgilerin yanı sıra anaerop olmayanlarla ilgili daha kesin bilgiler verir (2,4).

Gram yaymaları anaerop kültür için kabul edilen her örnekten hazırlanmalı ve fiksasyon için ısı yerine metanol tercih edilmelidir. Gram yanı sıra Giemsa ve Wright yöntemiyle boyalı prepasyonlar da hazırlanabilir. Gram boyalı yaymalarda görülen konak ve bakteri hücrelerinin morfolojileri ve relatif miktarları, örnek kalitesi hakkında bilgi ve receği gibi belirli bakteri türlerinin varlığı ile ilgili ipuçları ve özel selektif besiyerlerinin seçilmesinde yardımcı olur. Ayrıca, Gram boyama bilgileri örneğin taşınması ve izolasyon etkinliği için kalite kontrolü sağlar. Bazı durumlarda karanlık alan ve faz-kontrast mikroskopisi, rutin besiyerlerinde üretilemeyen hareketli organizmaları, sporları ve morfotipleri (spiroketler) tanımlamada yardımcı olabilir (2,4).

Örneklerden immunofluorescens boyama ve direkt gaz kromatografi analizi de direkt incelemede kullanılabilir (2).

#### Örneklerin ekimi

Anaerop kültür için gönderilen örnekler, gecikmeksizin işleme sokulmalıdır. İnfeksiyonun tipi, altta yatan hastalıklar/durumlar ve antimikrobiyal tedavi gibi kesin klinik bilgiler, örnekler ile birlikte gönderilmelidir. Direkt makroskopik ve mikroskopik incelemeden elde edilen ipuçlarıyla bileştirilen bu bilgiler, mikrobiyoloji primum ekim için gerekli uygun besiyerlerini seçmede yönlendirmek için gereklidir.

Rutin anaerop kültürler için üç tip besiyeri önerilmektedir(4,7).

1. Selektif olmayan genel üretim agar besiyerleri.
2. Selektif agar besiyerleri.
3. Geri-dönüş sıvısı.

#### 1. Selektif olmayan genel üretim besiyerleri.

##### CDC Anaerop kanlı agar (AnBAP)

Brucella, beyin-kalp infüzyon ve Colombia gibi baz agarlara %5 koyun kanı, hemin, K<sub>1</sub> vitamini ve L – sistein, Schaedler agara ise %5 koyun kanı ve K<sub>1</sub> vitamini ilavesiyle hazırlanır. Bütün anaeroplarn ilk izolasyonu için kullanılır. Bu besiyerlerinin hazırlanmasında kullanılan agar çeşidi belirli anaerop gruplarının üremesini artırmak açısından farklılıklar gösterir. Bu nedenle izolasyon etkinliğini maksimuma çıkarmak için iki farklı baz agar ile hazırlanan besiyerlerinin kullanılması tavsiye edilmektedir.

#### 2. Selektif agar besiyerleri.

##### Kanamisin – vankomisinli kanlı agar (KV)

Bacteroides spp., Prevotella spp., Fusobacterium spp. ve Veillonella spp. izolasyonu için faydalıdır. Porphyromonas izolasyonu için kullanılacaksa 7.5 µg/ml olan vankomisin konsantrasyonu 2 µg / ml'ye azaltılmalıdır.

- Fenil – etil alkollü agar (PEA)  
Pek çok gram negatif ve gram pozitif zorunlu anaerop bakteriyi üretmek için kullanılır.
  - Anaerop Paromamisin-Vankomisinli kanlı agar (PV) *Bacteroides fragilis* grubu, pigment oluşturan ve oluşturmayan *Prevotella* spp, *Fusobacterium nucleatum*, *F. necrophorum*, *F. mortiferum*, *Veillonella* ve diğer spor oluşturmayan anaerop gram negatifler için mükemmel bir besiyeridir. KV ve PV birlikte kullanılmaz. biri tercih edilir.
  - Sikloserin- sefoksitin-fruktoz agar (CCFA)  
*C. difficile*'nin selektif izolasyonu için kullanılır.
  - Colistin – nalidiksik asitli agar (CNA)  
PEA yerine kullanılabilir.
  - Bacteroides safra – eskülin agar.  
*B. fragilis* grubu ve *Bilophila wadsworthia*'nın ilk izolasyonu ve tahmini identifikasyonu için uygundur.
- Selektif olmayan besiyerleri ile birlikte selektif besiyerlerinin kullanımı kültürün başarısını artırır. Örneklerin selektif olmayan bir agar ile birlikte tek bir selektif besiyerine (KV agara) ekilmesi anaeroplarn üremesini %77 den %94'e çıkarmaktadır.

#### 3. Geri-dönüş sıvısı (Back – up. broth)

- Zenginleştirilmiş tiyoglikolatlı besiyeri (THIO)
  - Etil glükozlu besiyeri.
- Bu besiyerlerinin kullanımı agar üzerinde üreme olmadığında, zayıf bir üreme olduğunda, örnekte az sayıda bakteri bulunduğu olduğunda faydalıdır.

#### Anaerop bakterilerin kültürü için kullanılan anaerop sistemler

Anaerop bakteriyolojide örneklerin incelenmesi sırasında oksijensiz ortamı sağlamak amacıyla kullanılan birkaç anaerop inkübasyon sistemi vardır. Bu sistemlerde %85 N<sub>2</sub>, %10H<sub>2</sub>, %5 CO<sub>2</sub>'den oluşan karışım ile anaerop ortam sağlanır (4).

**1-Anaerop jar teknikleri** Anaerop ortamı sağlamak amacıyla kullanılan alternatif bir metottur. Bu teknikte, jardaki hava boşaltılarak yerine oksijen içermeyen gaz konulur. Bu gaz karışımı genellikle %85 Nitrojen, %10 hidrojen ve %5 karbondioksitten ibarettir.

- a. GasPak sistemi (BBL, OXOID, Becton Dickinson): Kuru ve sulu sistemler
- b. Boşaltma-yerine koyma sistemi:

#### 2- Anaerop disposibl plastik poşetler:

- a. Bio-bag sistem (Becton dickinson)
- b. Anaerobic Pouch sistem-katalizörsüz (Difco Laboratories)
- c. Anaerocult sistem (Merck)

Anaerobic Pouch ve Anaerocult sistemleri yalnızca bir veya iki petri inkübe edileceği zaman anaerop jar veya anaerop kabinlere alternatif olarak kullanılır.

- 3- **Anaerop kabinler** (Coy Laboratory, San Jose, Cincinnati...)
- 4- **Anaerop "Holding" jar.**
- 5- **PRAS** (önceden indirgenmiş anaerobik sterilizasyon):

yukarıda bildirilen anaerop sistemler arasında en sık kullanılan anaerop jar sistemleridir. Yapılan çalışmalar klinik olarak anlamlı olan anaeroplara ortaya çıkarmak için anaerop jar sistemlerinin yeterli olduğunu göstermektedir.

#### Kültürlerin inkübasyonu

Anaerop bakterilerin klinik örneklerden ilk izolasyonu için en uygun sıcaklık 35-37°C'dir. Ekim yapılan besiyerleri anaerop ortamda 48 saat inkübe edilir, yavaş üreyen organizmaların koloni oluşturmaları için 2-4 gün tekrar inkübasyona devam edilir. Jar ilk açıldığı zaman oksijene maruz kalan organizmalar ölebilir. Acil durumlarda çift petriye ekim yapılarak iki ayrı jarda inkübe edilebilir. Jarlardan biri 18-24 saat diğeri ise 3-5 gün bekletilir. Eğer klinik olarak Clostridiumlara bağlı miyonekroz şüphesi varsa petrilere inkübasyondan 6-12 saat sonra incelenebilir.

Petrilere yeni ekim yapıldığı zaman uzun süre havaya maruz kalmasından kaçınılmalıdır. *Peptostreptococcus anaerobius* gibi klinik örneklerde sık rastlanılan bazı anaeroplara üremeyebilir. Petrilere ekim yapıldığı zaman normal havada 2 saatten daha kısa süre tutulmalıdır. Eğer holding jar sistemi kullanılmıyor ise inoküle edilen petrilere hemen anaerop bir sisteme (anaerop jar veya anaerop kabin) yerleştirilmelidir.

Zenginleştirilmiş tiyoglikolatlı veya etli glikozlu besiyerlerine de ekimler yapılmalıdır. Bu sayede anaeroplara üretimi maksimum seviyeye çıkar. Gözle görülebilir bir üreme olmadığı sürece sıvı kültürler en az 5-7 gün bekletilmelidir (7).

#### Kültürlerin incelenmesi

Kolonilerin incelenmesi ve subkültürlerin yapılması sırasında besiyerlerinin ortam havası ile minimum teması sağlanmalıdır. Özellikle jar sistemleri kullanıldığı zaman buna çok dikkat edilmelidir. Koloniler bir büyüteç veya stereoskopik diseksiyon mikroskobu ile incelenmelidir.

Kolonilerin incelenmesinde; kanlı agarda hemoliz olup olmadığı, yumurta sarılı agarda şeffaflaşma gibi besiyerine etkiler araştırılır, koloni özellikleri (çapı,...) kültürün yaşı ve kokusu gibi özellikler incelenir.

Bazı anaeroplara koloni morfolojisi ve yapısı çok belirgin olmasına rağmen aerotolerans testleri yapmadan, hatta CO<sub>2</sub>'li ortamda üreme kontrolü yapılmadan bazı fakültatif anaeroplara zorunlu anaeroplardan ayırt etmek mümkün değildir.

#### Aerotolerans testleri

Anaerop izolasyon petrilere alınmış her koloni bir aerop (%5-10 CO<sub>2</sub> veya mumlu jar) ve bir anaerop kanlı agar besiyerine alınır, bir gece inkübe edilir.

*H. influenzae* anaerop kanlı agar besiyerinde anaerop koşullarda ürer fakat normal kanlı besiyerinde anaerop olarak değerlendirilebilir. Bu nedenle çukulatamsı agar petrilere ekim yapılmalı, %5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübasyon yapılmalıdır. Bir petride aynı anda 4-5 koloni aerotolerans testine alınabilir.

#### ANAEROP KÜLTÜRLER YAPILIRKEN KARŞILAŞILAN EN ÖNEMLİ SORUNLAR ŞÖYLE SIRALANABİLİR:

- Klinisyenlerin anaerop infeksiyonlara dikkatleri nasıl çekilebilir?  
Ör: Anabilim dalımıza gönderilen örneklerin yalnızca %5'inde anaerop kültür istenmiş, buna karşın anaerop kültüre uygun örnek-

lerin incelenmesinde %16 oranında anaerop izole edilmiştir.

- Klinik bir örneğin alınma zamanı ve laboratuvara ulaştırılma süresi ne kadar?
  - Taşınma ortamlarının sağlanması ne kadar olabiliyor?
- Ör: Anabilim dalımız laboratuvarlarına gönderilen örneklerin %90'ı enjektörler içinde geliyor.
- Klinisyenlerin talebi nasıl sağlanabilir?
  - Taşınma ortamlarının kültüre getireceği ek maliyet ne kadar?
  - Kan kültürleri için BACTEC şişelerine yeterli kan konuluyor mu?
  - Kültür için kullanılacak olan besiyerleri kullanımdan önce anaerop ortamda tutuluyormu?
  - Laboratuvar selektif besiyerini ne derecede sağlayabiliyor?
  - Kültürdeki başarıyı arttırmak için farklı baz agarlar ile hazırlanan aynı amaçlı besiyerlerinin birlikte denemesi ne kadar mümkün?
  - Tüm bu işlemleri yapan mikrobiyoloğun anaerop bakteriyoloji ile ilgili yeterli deneyimi varmı?
  - Anaerop inkübasyon için uygun sistemler seçilebiliyor mu? Hangi sistem seçilmeli?

Anaerop kabinler oldukça pahalı ve bazı büyük laboratuvarın temin edebileceği sistemler olduğu gibi gaz temini, çabuk bozulmaları gibi sorunlar yaratmaktadır.

En sık kullanılan anaerop jar sistemlerinde ise eğer yeterli sayıda jar sağlanamıyor ise her örneğin ekiminden sonra jar açılıp kapandığından besiyerlerinde ki bakterilerin oksijene maruz kalma süreleri artmaktadır.

Sulu sistem ile anaerop ortamın sağlandığı jarlarda; besiyerlerindeki koloniler birbirleri ile karışmakta çalışanlara kontaminasyon riski daha artmaktadır. Ancak deneyimlerimize göre anaerop gram negatifler sulu sistemler kullanılan jarlarda daha iyi üremektedir.

Kuru sistem ile anaerop ortamın sağlandığında kolonilerin karışma riski ve çalışanlara kontaminasyon riski olmamasına karşın burada anaerop gram pozitiflerin daha iyi ürettiği gözlenmektedir.

- İnkübasyon süresi sonunda katı besiyerleri incelenirken bakterilerin oksijene maruz kalma süreleri minimum seviyede tutulabiliyor mu?
- Direkt inceleme ve kültür sonuçlarının klinisyene bildiriminde yeterli iletişim sağlanabiliyor mu?
- Örneklerden yapılan kültürler sırasında kontaminasyonla karşılaşıldığında örneğe geri dönme imkanı sağlanabiliyor mu? Geri dönüş sıvılarının bu konudaki önemi kavranmış mı?

#### KAYNAKLAR

1. Rosebury, T. *Glove-box Procedures for Cultivation of Spirochetes and Other Fastidious Anaerobes. With Preliminary Data on Isolation, Cultivation, and Maintenance of Oral Spirochetes and on Limiting Oxygen Concentrations for Surface Growth of These and Other anaerobic Bacteria.* Washington, DC: U.S. public Health service 1966.
2. Finegold SM: *Anaerobic bacteria: General Concepts* In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases.* New York Churchill Livingstone, 2002: 2519
3. Olsen I, Solberg CO, Finegold SM: *primer on anaerobic bacteria and anaerobic infections for the uninitiated.* Infection 1999; 22: 159
4. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schrenkenberger PC, Tenover FC, Tenover WC. (1997). *The anaerobic bacteria in color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology, Fifth edition, 1997: 709.* J.H. Lippincott, Philadelphia.
5. Citron DM; *specimen collection and transport, anaerobic culture techniques and identification of anaerobes.* Rev. Infect. Dis. 1984; 6 Suppl 1) 51.
6. Finegold SM., Baron EJ, Wexler H. *A clinical guide to anaerobic infections Belmont Calif: Star; 1992*
7. Summanen P, Baron EJ, Citron DM, Strong CA, Wexler H and Finegold SM (1993). *Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual, 5th ed. Star publishing, Belmont.*