

# Otoimmün Oral-Dental Ve Diski Örneklerinde *Bacteroides* Spp. Prevalansı

Güven Uraz\*, Lale Türkmen\*, Emine Bayrak\*

\* Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Ankara

Oral dental ve diski örneklerinde *Bacteroides* prevalansını belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada 420 değişik klinik örnekten toplam 35 *Bacteroides* izole edildi. 35 izolatin 14(%40)'ü tür seviyesinde tanımlanırken, 21(%60) izolatin cins seviyesinde muhtemel identifikasyonu gerçekleştirildi. En fazla bakteri izolasyonu oral-dental örneklerden elde edildi. Oral-dental örneklerden elde edilen 8 izolatin 4'ü *B.capillosus*, 1'i *B.eggerthii*, 1'i *B.distasonis*, 1'i *B.ruminicola* subsp.brevis ve 1'i non-fermentatif *Bacteroides* grubu olarak tanımlanmıştır. Diski örneğinden 6 izolat elde edilmiş olup, bunlardan 2'si *B.multiacidus*, 1'i *B.capillosus*, 1'i *B.fragilis*, 1'i *B.uniformis* ve 1'i *B.thetaiotaomicron* olarak tanımlandı. Cins seviyesinde tanımlanan 21 izolatin 20'si oral-dental apse ve 1'i diski örneğinden elde edilmiştir.

Izolasyon amacıyla *Bacteroides*'lerin üremesini kolaylaştırıcı *Bacteroides* Bile Esculin agar ve Streptomisin-Vankomisin kanlı agar besiyerleri kullanılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** *Bacteroides*, Anaerob İzolasyon ve Identifikasyon, Prevalans.

## The Prevalance of *Bacteroides* Spp. in Oral-Dental and Stool Samples.

In this research which was done for the purpose of determination of the prevalence of *Bacteroides* spp.in oral-dental and Stool Samples, totally 35 *Bacteroides* from 420 different clinical samples were isolated. While 14 isolated *Bacteroides* out of 35(40%) were identified at species level, the presumptive identification of 21 isolated *Bacteroides* (60%) was performed at genus level. Most of the isolated bacteria were obtained from the oral-dental samples. Eight of these isolated bacteria obtained from the oral-dental samples were identified such as 4 of them *B.capillosus*, 1 *B.eggerthii*, 1 *B.distasonis*, 1 *B.ruminicola* subsp.brevis and 1 non-fermentative *Bacteroides* group. Six of these isolated bacteria obtained from the stool sample have been so found that 2 of them were identified as *B.multiacidus*, 1 *B.capillosus*, 1 *B.fragilis*, 1 *B.uniformis* and 1 *B.thetaiotaomicron*, which were obtained from the stool samples, were identified such as 2 *B.multiacidus*, 1 *B.capillosus*, 1 *B.fragilis*, 1 *B.uniformis* and 1 *B.thetaiotaomicron*. 20 of the 21 isolated *Bacteroides* had been obtained from the oral-dental abscess and 1 from the stool sample.

For isolation purposes *Bacteroides* Bile Esculin Agar and Streptomycin-Vankomisin Blood Agar media, which make the reproduction of the *Bacteroides* easier have been used.

**Key words:** *Bacteroides*, Anaerobic Isolation and Identification, Prevalance.

Anaerob bakteriler insan vücudunda mikrofloranın predominant üyesidirler.<sup>1</sup> Bununla birlikte anaerob bakterilerin birçoğu belirli koşullarda hastalık etkeni olabilirler.<sup>2,3</sup> Bu tür infeksiyonlarda öncelikle etken mikroorganizmaların endojen kaynaklı olmaları, virulansları yanı sıra, konak savunma mekanizmalarını etkileyen, konanın deri mukoza bütünlüğünün bozulmasında rol oynayan ve ortamın oksidasyon-redüksiyon potansiyelini düşüren bazı zemin hazırlayıcı faktörlerin varlığı önemlidir.<sup>3-5</sup>

İnsan anaerob bakteri infeksiyonlarından izole edilen mikroorganizmalar içinde ilk sırayı anaerob, sporsuz, Gram negatif basiller alır. Bu grupta yer alan *Bacteroides* spp, klinik örneklerin çoğunda üremektedir. Aynı zamanda bağırsak ve diğer vücut bölgelerinde normal flora üyesi olan *Bacteroides*'ler intraabdominal, pulmoner, deri, yumuşak doku kadın genital sistem, oral-dental ve üriner sistem infeksiyonları, endokardit, apse ve bakteriyemiye neden olurlar.<sup>2,5,6</sup>

## Uraz ve ark

Bu klinik örneklerden en sık izole edilen *B.fragilis* türüdür.<sup>7-10</sup> Bununla beraber *B.thetaiotaomicron*'da ikinci sıklıkta izole edilen türdür. Özellikle intraabdominal infeksiyonlarda yer almaktadır.<sup>7,11,12</sup> Yine *Bacteroides* türlerinden *B.uniformis* ve *B.distasonis* ise insan diskisından ve çeşitli klinik örneklerden izole edilmektedir.<sup>7,11</sup> Yine *B.fragilis* grubunda yer alan safraya dirençli *Bacteroides*'lerden *B.eggerthi* üst solunum yolları ve ağız boşluğunda bulunmaktadır.<sup>13</sup> Non fermentatif *Bacteroides* grubunun ağız boşluğundan dış çekimlerinden sonra akan kandan izole edildiği bildirilmiştir.<sup>7</sup>

*Bacteroides*'lerin patojen potansiyelleri klinik örneklerden izolasyon ve identifikasyonlarını zorunlu hale getirmiştir.<sup>13,14</sup>

Bu çalışmada önemli anaerob patojen olan *Bacteroides*'lerin farklı klinik örneklerde prevalansı araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmada çeşitli yaş gruplarından toplam 420 hasta kültürü değerlendirilmiştir. Öncelikle *Bacteroides* türlerini izole edebilmek amacıyla örnekler anaerob koşullarda en kısa sürede çalışılmıştır.

Apseli dış materyallerinden örnek alınmasında iki yöntem uygulanmıştır. İlkinde gingival(dis eti) apselerden örnek alınmasında emici kağıtlar (paper point=absorbent) kullanılmıştır. Ağız kurutulup bir süre bekletildikten sonra gingival sulkus(dis eti oluğu)'da biriken sıvı emici kağıtlara emdirilmiştir. Ardından zenginleştirilmiş tiyoglikolat besiyerine atılarak en kısa sürede laboratuvara ulaştırılmıştır.<sup>15</sup> Diğer yöntemde ise çekilen apseli dış hiç vakit kaybetmeden tiyoglikolatlı buyyona atılarak yapılmıştır. Disk örnekleri steril plastik kaplara alınarak en kısa sürede laboratuvara ulaştırılmıştır.<sup>15</sup> Diğer örneklerin alınmasında steril enjektörler kullanılmıştır. Bu amaçla apse örnekleri, disposable enjektörlerle alınmıştır. Kapalı apselerde deri yüzeyi %70'lik alkolle dezenfekte edildikten sonra enjektörle aspire edilmiştir.<sup>15-18</sup> İncelemeye alınan örneklerin selektif *Bacteroides* bile esculin agar (BBE=*Bacteroides* Bile Esculin) ve streptomisin-vankomisin kanlı agar (SVKA) besiyerlerine primer ekimleri yapılmıştır. Aynı zamanda örneklerin aerotolerans testi için koyun kanlı agar ekimleri gerçekleştirilmiştir. Selektif besiyerleri anaerob jar'da 37 °C 'de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Jar içerisinde anaerob ortam anaerob gaz jeneratör paketleriyle sağlanmıştır(Oxoid Br-38).

Aerotolerans testi için kullanılan kanlı agar petrilere aerob atmosfer şartlarında 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

Anaerob bakterilerin ön tanısı amacıyla, inkübasyon işlemi takiben tüm örneklerden Gram boyama yöntemi ile preparatlar hazırlanarak, bakteri varlığı, Gram boyanma ve morfolojik görünümüne göre incelenmiştir.

Inkübasyon süreleri sonunda tüm petrilere (primer kültür) ayrı ayrı incelemeye alınarak, izole edilen her bir farklı koloniden Gram boyama işlemi takiben BBE, SVKA ve koyun kanlı agar pasajları yapılmıştır(subkültür).

Uygun koşullarda gerçekleştirilen inkübasyondan sonra anaerob besiyerinde üreyen ve aerob besiyerinde üremeyen bakteriler zorunlu anaerob bakteriler olarak değerlendirilmiştir. Daha sonra subkültürlerde üreyen kolonilerden Gram yöntemi ile preparatlar hazırlanarak ilk preparatlarla karşılaştırılmıştır.

İzole edilen *Bacteroides*'lerin identifikasyonu için biyokimyasal testler uygulanmıştır. Bu amaçla Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology ve Diagnostic Microbiology referans olarak alınmıştır.<sup>7,19</sup> Buna göre indol , katalaz, arabinoz, sellobiyoz, rhamnoz, salisin, sükröz, trehaloz, ksilen, fruktoz, glikoz, laktoz, maltoz, manitol, mannoz, ksiloz kullanılmıştır.

## BULGULAR

420 hasta kültüründen toplam 35 *Bacteroides* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolatların 14(%40)'ü tür seviyesinde tanımlanırken geriye kalan 21 (%60) izolat besiyerinde üreme , hemoliz, pigment oluşturma ve Gram boyanma özelliklerine göre cins seviyesinde muhtemel identifikasyona tabi tutulmuştur.

Tablo 1'de kesin ve muhtemel identifikasyonları gerçekleştirilen *Bacteroides*'lerin dağılımı gösterilmektedir. En fazla izole edilen *Bacteroides* türü *Bacteroids capillosus* olmuştur.

## TARTISMA

Araştırmada, *Bacteroides* izolasyonunu arttırmak ve kolaylaştırmak amacıyla selektif BBE ve SVKA

## Otoimmün Oral-Dental Ve Diski Örneklerinde *Bacteroides Spp.* Prevalansı

besiyerleri kullanılmıştır. Bütün besiyerleri vitamin K ve hemin ile zenginleştirilmiştir.

**Tablo 1.** Kesin ve muhtemel identifikasyonları gerçekleştirilen *Bacteroides*'ler ve sayısal dağılımları

<b>Bacteroides Türleri</b>	<b>İzolat Sayısı</b>
<b>Bacteroides capillosus</b>	5
Bacteroides multiacidus	2
Bacteroides fragilis	1
Bacteroides uniformis	1
Bacteroides thetaiotaomicron	1
Bacteroides eggerthii	1
Bacteroides distasonis	1
Non fermentatif Bacteroides grup	1
Bacteroides ruminicola subsp. Brevis	1
Muhtemel identifikasyonu yapılan Bacteroides'ler	21
<b>Toplam</b>	<b>35</b>

Jousimies-Somer ve Finegold yayınladıkları makalelerinde, Sondag ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadan bahsederek, kanamisin-vankomisin kanlı agar ile anaerob izolasyonların %77'den %94'e yükseldiğini bildirdiklerini rapor etmişlerdir.<sup>19</sup> Citron anaeroplara izolasyonunda BBE agar ve kanamisin-vankomisin kanlı agar besiyerlerini faydalı bulduğunu rapor etmiştir.<sup>20</sup>

Bu çalışmada yukarıda anılan literatürlere uygun olarak vankomisin kullanılmıştır. Ancak kanamisin yerine streptomisin uygulanmıştır.

Bu çalışmada toplam 35 izolatin 14'ü kesin olarak adlandırılmıştır. İzolatların 4'ü *B.capillosus*, 2'si *B.multiacidus*, 1'i *B.fragilis*, 1'i *B.uniformis*, 1'i *B.thetaiotaomicron*, 1'i *B.ruminicola subsp.brevis* ve 1'i nonfermentatif *Bacteroides* grubu olarak dağılmıştır. Geriye kalan 21 izolat ise muhtemel *Bacteroides* izolati olarak değerlendirilmiştir (Tablo 1). Besiyerinde üreme, hemoliz, pigment oluşturma ve Gram boyanma özelliklerine göre cins seviyesinde elde edilen 21 izolatin türe özgü biyokimyasal sonuçları alınamamıştır. Bununla beraber anaerob bakteri identifikasyonunda muhtemel identifikasyon sonuçları literatürlerde yer almaktadır.<sup>14-17</sup>

İzolasyonlar sıklıkla oral-dental örnekler ve disk örneklerinden elde edilmiştir.

Leeg ve arkadaşları *B.capillosus*'u akut oral enfeksiyonlarda sıklıkla izole edilen türlerden biri olduğunu bildirmişlerdir.<sup>21</sup> Bu çalışmada en yüksek izolasyonu *B.capillosus* oluşturmıştır.

İncelenen disk örneklerinden toplam 6 *Bacteroides* izole edilmiştir. İzolatların 2'si *B.multiacidus*, 1'i *B.capillosus*, 1'i *B.fragilis*, 1'i *B.uniformis* ve 1'i *B.thetaiotaomicron* olarak saptanmıştır (Tablo 2).

**Tablo 2.** İzole ve identifiye edilen 14 *Bacteroides*'in klinik örnekler göre dağılımı

<b>Bacteroides Türleri</b>	Besiyerinde Üreme	Klinik Örnek		<b>Toplam</b>
		Oral-Dental Apse	Diski	
Bacteroides capillosus	BBE,SVKA	4	1	5
Bacteroides multiacidus	BBE	-	2	2
Bacteroides fragilis	BBE	-	1	1
Bacteroides eggerthii	BBE	1	-	1
Bacteroides uniformis	BBE,SVKA	-	1	1
Bacteroides distasonis	BBE	1	-	1
Bacteroides thetaiotaomicron	BBE	-	1	1
Bacteroides ruminicola subsp. brevis	SVKA	1	-	1
Non fermentatif Bacteroides grup	SVKA	1	-	1
<b>TOPLAM</b>		<b>8</b>	<b>6</b>	<b>14</b>

**Tablo 3.** Muhtemel identifikasyonları gerçekleştirilen 21 *Bacteroides*'in klinik örnekler göre dağılımı ve üç morfolojik özelliği

Klinik Örnek	İzolat Sayısı	Besiyerinde Üreme		Uç Morfolojik Özellik					Koloni Tipi	
		BBE	SVKA	Hemoliz		Pigment			Düzgün	Pürüzlü
				+	-	Gri	Kah.	Pigmentsiz		
Oral-dental apse	20	-	20	6	14	9	2	9	4	16
Diski	1	1	-	-	1	-	1	-	1	-
<b>Toplam</b>	<b>21</b>	<b>1</b>	<b>20</b>	<b>6</b>	<b>15</b>	<b>9</b>	<b>3</b>	<b>9</b>	<b>5</b>	<b>16</b>

## Uraz ve ark

Yapılan çalışmalar *B.fragilis*'in enterotoksin oluşturan suslarının enterite neden olduğunu göstermiştir. Enterotoksijenik *B.fragilis*'in taşıyıcılığı klinik olarak sessiz seyredir.<sup>5</sup> Sack ve arkadaşları 358 hastanın diski örneğinden 22 enterotoksijenik *B.fragilis* izole etmişlerdir.<sup>22</sup> Appleman ve arkadaşları *B.thetaiotaomicron*'u diare vakasından izole etmişlerdir.<sup>23</sup> Bu çalışmada diski örneklerinden 1 *B.fragilis* ve 1 *B.thetaiotaomicron* izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Önceleri Türkiyede izole edilen anaerop bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu belli vücut bölgelerinden alınan klinik örneklerle sınırlı kalmıştır.<sup>24-26</sup>

Bununla beraber son yıllarda anaerop kültür çalışmaları değişik klinik örnekler üzerine yoğunlaşmıştır.<sup>27-29</sup>

Benzer şekilde bu çalışmada da değişik klinik örnekler çalışılmış ve en fazla *Bacteroides* izolasyonu oral-dental örneklerden elde edilmiştir.

Çalışma sonucunda, oral-dental infeksiyonlarda *Bacteroides*'lerin göz ardı edilmemesinin gereği ortaya çıkmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Tabaqçali S. Anaerobic infections in the head and neck region. Scand J Infect Dis 1988;57: 24-34.
2. Barlett JG. Anaerobic bacteria: Infections caused by anaerobic bacteria. In: Gorbach SL, Barlett JG, Clacklow NR(eds): Infectious Diseases. W.B. Saunders company, Pennsylvania 1992: 1555-68.
3. Willis AT. Host factors predisposing to anaerobic infections. Scand J Infect Dis 1985;46:18-26.
4. Duerden BI. Virulence factors in anaerobes. Clin Infect Dis 1994; 18(Suppl4): 253-9.
5. Özbakkaloğlu B. Sporsuz anaerop bakteri enfeksiyonları. X.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi 2001:119-21. Adana.
6. Aldridge KE. The occurrence, virulence, and antimicrobial resistance of anaerobes in polymicrobial infections. Am J Surg 1995;165: 3-6.
7. Holdeman LV, Kelley RW, Moore WEC. Anaerobic Gram-negative straight, curved and helical rods. In: Krieg RN, Holt GJ, et al (eds): Bergey's Manual of systematic Bacteriology 9 th ed. The Williams and Wilkins Company, Baltimore 1984: 602-31.
8. Torhofstad MD. Bacteroides. In: Braude AI, Davis CE, Fierer J (eds): Infectious Diseases and Medical Microbiology 2<sup>nd</sup> ed. Saunders Company 1986:417-421.
9. Brook I. Recovery of anaerobic bacteria from clinical specimens in 12 years at two military hospital. J Clin Microbiol 1988;26: 1181-8.

10. Panichi G, Di Rosa R, Enrico P, Baubudieri S. Anaerobic bacteria and bacterial infections: Perspectives on treatment and resistance in Italy. Rev Infect Dis 1990;12(Suppl 2): 152-6.
11. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. The anaerobic bacteria. Diagnostic Microbiology, 4 th ed. Lippincott Company, Philadelphia 1992:519-607.
12. Jousimies-Somer HR, Summanen PH, Finegold SM. *Bacterioides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* and other anaerobic Gram-negative bacteria. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds): Manual of Clinical Microbiology 6 th ed. ASM Press, Washington 1995: 603-620.
13. Falkow S. *Bacterioides* and *Fusobacterium*. In: Davis B, Dulbecco B, Eisen HN, Ginsberg HS(eds): Microbiology 4 th ed. Philadelphia: JB Lippincott Co 1990:589-93.
14. Kitch TT, Appelbaum PC. Accuracy and reproducibility of the 4-hour ATB 32 A method for anaerobe identification. J Clin Microbiol, 1989;27: 2509-13.
15. Summanen P, Baron EJ, Citron DM, Strong CA. Bacteriology Manual 5 th ed. Star Publ Co, Belmont 1993.
16. Isenberg HD. Anaerobic Bacteriology. Clinical Microbiology Procedures Handbook, American Society for Microbiology, Washington DC 1992: 2.1.1, 2.4.3, 2.10.1, 5.3.1, 5.3.6.
17. Citron DM, Appelbaum PC. How far should a clinical laboratory go in identifying anaerobic isolates, and who should pay? Clin Infect Dis, 1993;16: 435-8.
18. Bilgehan H. Anaerob Gram olumsuz bakteriler. Klinik Mikrobiyoloji Tani.2.baskı, Safak matbaacılık, Ankara 1995:489-492.
19. Jousimies-Somer HR, Finegold SM. Problems encountered in clinical anaerobic bacteriology. Rev Infect Dis 1984;6(Suppl 1): 45-9.
20. Citron DM. Specimen collection and transport, anaerobic culture techniques, and identification of anaerobic. Rev Infect Dis 1984;6: 51-8.
21. Legg JA, Wilson M. The prevalence of beta-lactamase producing bacteria in subgingival plaque and their sensitivity to Augmentin. J Oral Maxillofac Surg 1990;28(3): 180-4.
22. Sack RB, Albert MJ, Alam K, Neogi PK, Akbar MS. Isolation of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* from Bangladesh, children with diarrhea: a controlled study. J Clin Microbiol 1994;32(4):960-3.
23. Appleman MD, Heseltine PNR, Cherubin CE. Epidemiology, antimicrobial susceptibility, pathogenicity, and significance of *Bacteroides fragilis* group organisms isolated at Los Angeles County-University of Southern California Medical Center. Rev Infect Dis 1991;13: 12-8.
24. Çetin ET, Töreçi K, Tosunoğlu N. Muayene maddelerinden izole edilen sporsuz anaerob bakteriler. Ist Tıp Fak Mecmuası. 1975;38:322-8.
25. Çetin ET, Töreçi K, Tosunoğlu N. 1979 yılında cerahatden izole edilen anaerob bakteriler. Ist Tıp Fak Mecmuası 1982;45: 21-30.
26. Mutlu G. Appendektomi yapılan hastaların appendikslerinden izole edilen anaerob bakteriler. Mikrobiyoloji Bül 1990;24: 385-95.
27. Uraz G, Türkmen L. B-lactamase activity of anaerobic *Bacterioides* strains isolated from clinical samples and their susceptibility to antimicrobial agents. Drug Metabolism and Drug Interactions 1999;15: 181-6.
28. Mamal Torun M, Bahar H, Yüksel P. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Bacteroides fragilis* grubu bakterilerin antimikrobiklere direnç durumları ve betalaktamaz aktiviteleri. Ankem Derg 2000; 14(No 1): 104-110.
29. Kesli R, Çelebi S. Çeşitli klinik örneklerden izole edilerek tanımlanan anaerob bakteriler ve Etest yöntemi ile antibiyotik duyarlılıklarını araştırması. X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi 2001, Adana.

## Yazisma adresi

Doç. Dr. Güven URAZ  
Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Ankara  
Tel : 312 212 6030-2701  
GSM : 533 354 8490  
Ev : 312 436 6708  
Dekanlık Fax :312 212 2279