

Anaerob, Sporsuz, Gram
Negatif Basiller

ANAEROP BAKTERİLER

ÇOMAK

KOK

Gram-pozitif

Gram-negatif

Gram-pozitif

Gram-negatif

Clostridium
C.perfringens
C.tetani
C.botulinum
C.difficile
Propionibacterium

Bacteroides spp.
Prevotella
Fusobacterium spp.

Peptostreptococcus

Veillonella

- Bu grup bakteriler insan ve hayvanların üst solunum yolları, barsak boşluğu ve ürogenital sisteminde normal flora üyesi olarak bulunurlar.
- Klinik önemi olanlar
 - Bacteroides
 - Prevotella
 - Porphyromonas
 - Fusobacterium

- Morfolojik olarak heterojen görürlürler. Basil, flaman, fusiform (iğ) veya kokobasil olabilirler.
- Üremeleri için gerekli ısı 35-37 °C
- pH :6,3-7,2 dir.
- Zorunlu anaeroptur.
- Pigmentli, pigmentsiz, S ve R tipinde koloniler yapabilir.

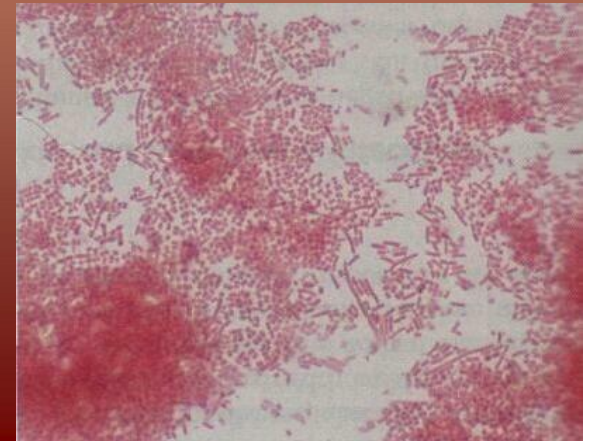
- Anaerop, sporsuz Gram negatif basillerin ayrılmasında hücre ve koloni morfolojisi, pigment üretimi, uzun dalga ultraviyole altında floresans verme, bazı antibiyotiklere direnç ve biyokimyasal özelliklerin yararlanılır.

TÜR	Kanamisin (1000 µgr)	Vankomisin (5 µgr)	Kolistin (10 µgr)	%20 safrada üreme	Katalaz	İndol	Lipaz
<i>Bacterioides</i>							
- <i>B.fragilis</i>	R	R	R	+(-)	d	d	-
-Pigmentli türler	R	R	d	-	-	d	-
-Diğer türler	R	d	d	-	-	d	-
<i>Fusobacterium</i>							
- <i>F. nucleatum</i>	H	R	H	-		+	-
- <i>F. necrophorum</i>	H	R	H	-(+)		+	+(-)
- <i>F. moriferum</i>	H	R	H	+		d	-
<i>Provotella</i>							
- <i>intermedia</i>	R	R	H	-	-	+	+(-)
- <i>loescheii</i>	R	R	d	-	-	-	d

- Bu grupta bulunan bakterilerin tür düzeyinde tanımlanması pahalı ve zaman alıcı
- Bu yüzden identifikasyon cins düzeyinde kalır

Bacteroides spp.

- %20 safra içinde üreyip üreyememelerine göre
 - Safraya dirençli
 - Safraya duyarlı
- Safraya duyarlı olanlar pigment oluşturup oluşturmamalarına ikiye ayrılır.



Safraya dirençli Bacteroidesler (*Bacteroides fragilis* grup)

- Normal kolon florasında bol miktarda bulunurlar. Dışkının 1 gramında 10^{10-11}
- Dışkıda her bir *E.coli*'ye en az 1000 *Bacteroides fragilis* düşmektedir.
- Kadın genital organlarında daha az oranda bulunur. Ağız içinde de bulunur.
- İnsanda anaerob bakteriyel infeksiyonlarından en sık izole edilen türler bu gruptandır.

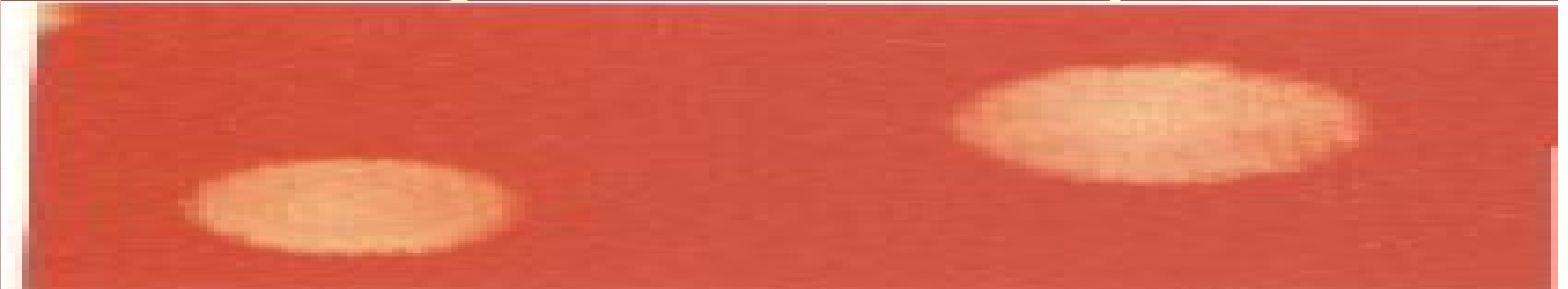
- *B. fragilis* anaerob bakteriyemiler ile yumuşak doku infeksiyonlarından en çok izole edilen türdür.
- Bu grup bakteriler peritonit, appendisit, endokardit, akciğer, pelvis, karaciğer, eklem ve karın içi infeksiyonlarına neden olurlar.



Bacteroides fragilis, Gram. *B. fragilis*, küçük, Gram r

Üreme özellikleri

- Kolay üreyen bakterilerdir. Kanlı besiyerinde 1-3 mm çaplı, düzgün konveks, hemolizsiz koloniler meydana getirirler.
- Bacteroides bile esculin (BBE) agarda 1 mm çaplı, kenarları düzgün, yuvarlak, konveks, gri renkli koloniler oluşturur.



Safraya Duyarlı Pigmentsiz Bacteroides'ler

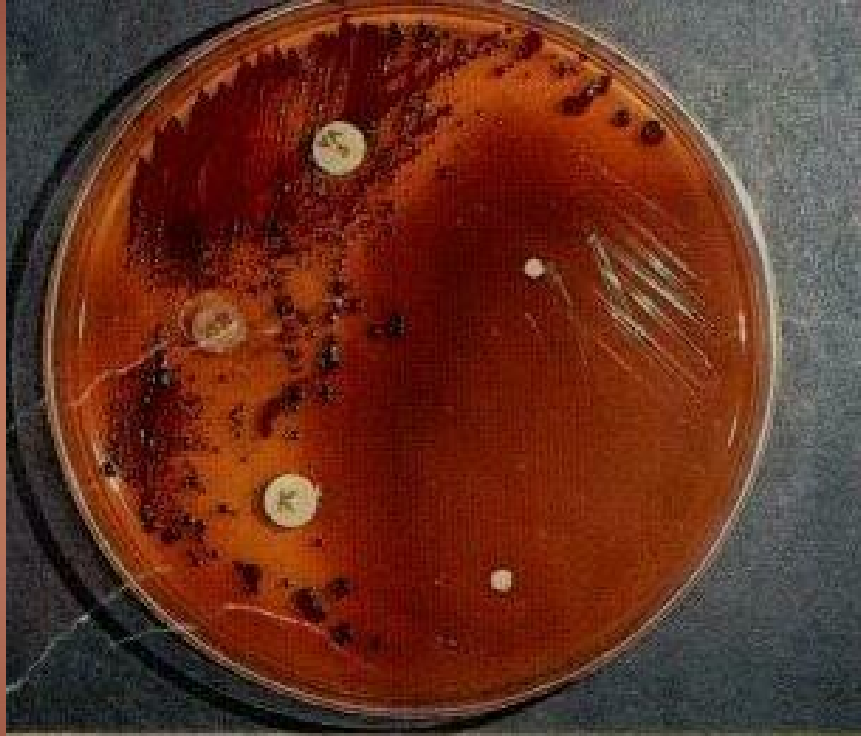
- Hareketsiz , uç kısımları yuvarlak küçük basillerdir.
- Zorunlu anaeroptan çok mikroaerofiliktir.
- *B.gracilis*
- *B.ureolyticus*
- *B.capillosus*
- *B.galactronicus* bu gruptandır.

- Ağız boşluğu, dişeti çatlakları, kolon ve ürogenital sistemin normal florasında bulunurlar.
- Solunum yolu, barsak ve yara infeksiyonlarına neden olurlar.
- Diş çekimini takiben gelişen bakteriyemi olgularından *B.ureolyticus* izole edilmiştir.

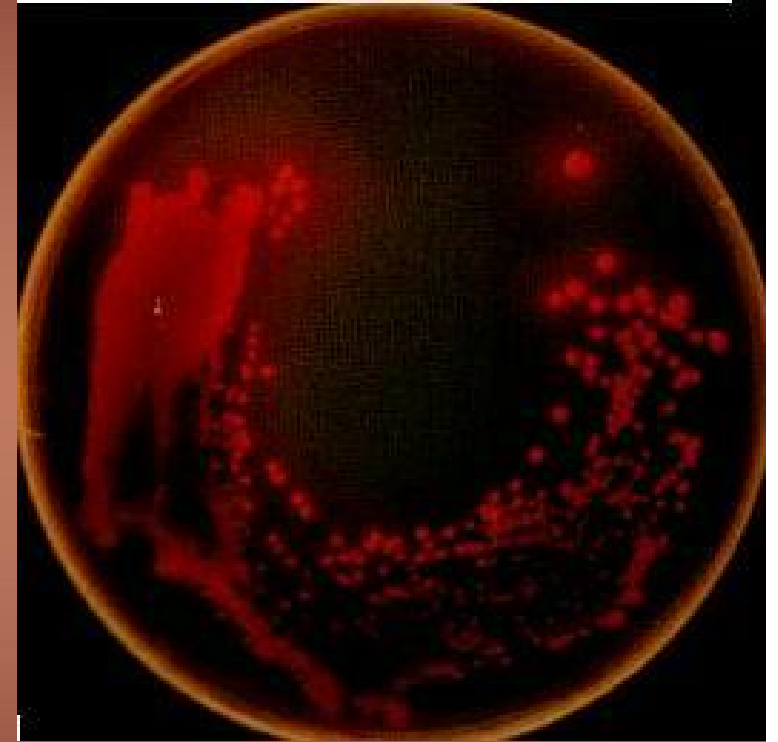
Prevotella spp.

- Diş eti çatlakları, ağız boşluğu ve vagen florasında kommensal olarak bulunurlar.
- Hepsi safraya duyarlıdır.
- Pigmentli olup olmamalarına göre ayrılırlar.
- Gram negatif küçük basil ve kokobasillerdir.





Kanlı agarda pigmentli Prevotella,
özgül potensde antibiyotik diskleri



Pigmentli prevotella türleri UV
ışığı ile kiremit-kırmızı renkli
floresan verir

PİGMENTSİZ PREVOTELLALAR

Subgrup ve türler

P.buccae

P.dentalis

P.heparinolytica

P.oris

P.zoogloformans

P.buccalis

P.enoeca

P.oralis

P.oulorum

P.veroralis

P.bivia

P.disiens

PİGMENTLİ PREVOTELLALAR

P.corporis

P.denticola

P.intermedia

P.loescheii

P.melaninogenica

P.nigrescens

P.pallens

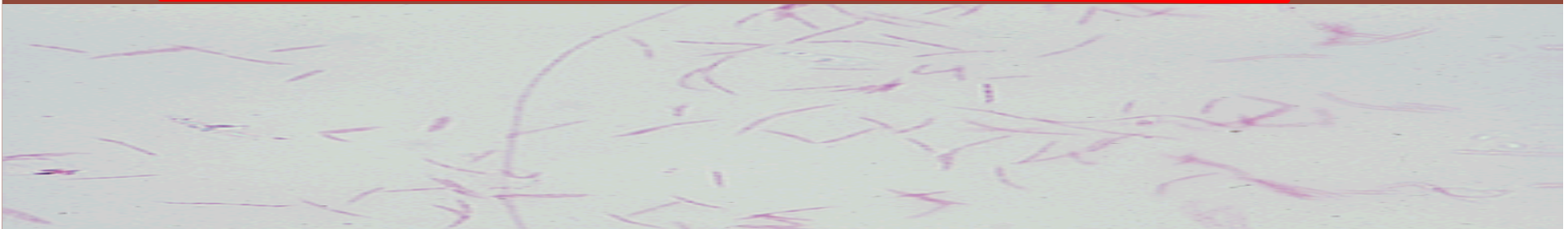
P.tanneriae

Porphyromonas spp.

- Pigmentli Prevotella'ların şekerleri fermente etmeyenleri bu grupta yer alır.
- Zorunlu anaeroptur.
- Üremeleri için hemin ve menadion
- İndol pozitif, katalaz negatiftir.
- İnsan ağız boşluğunda bulunurlar. Bazen önemli ağız içi ve safra kesesi infeksiyonlarına yol açarlar.

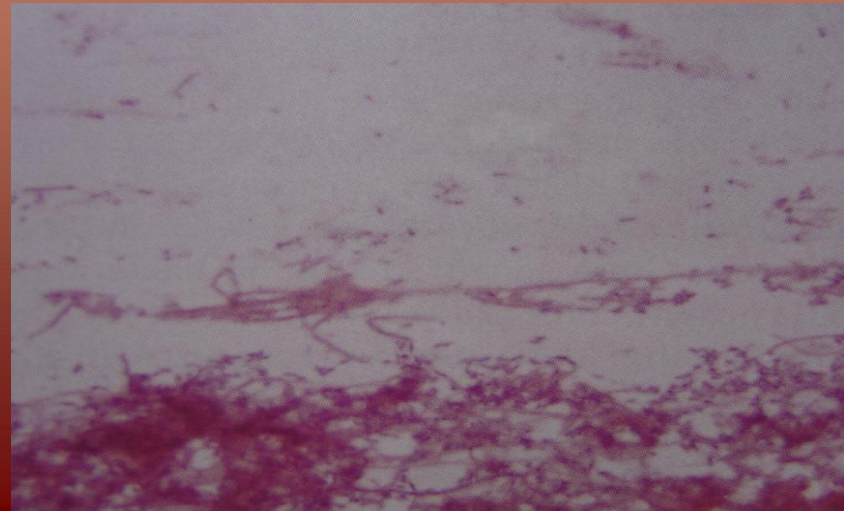
Fusobacterium spp.

- Zorunlu anaerop, sporsuz, gram negatif, pleomorfik bakterilerdir.
- Çoğu hareketsizdir.
- Katalaz negatiftir.
- Fusobacterium'ların biyolojik olarak aktif bir endotoksini vardır.
- Penisilin ve sefalosporinlere duyarlıdır.



Fusobacterium nucleatum

- İlk izolasyonda içinde serum, glukoz ve askorbik asit bulunan besiyerine ihtiyaç duyar
- Koloniler ultraviyole altında floresans verir



Fusobacterium nucleatum

- Ağız boşluğu, barsak kanalı ve genital bölgede kommensal yaşayan bir bakteridir.
- Tek başına beyin, plevra, akciğer karaciğer apselerine, başka bakterilerle birlikte Vincent anjini, ülseratif stomatit ve gingivite yol açabilir.

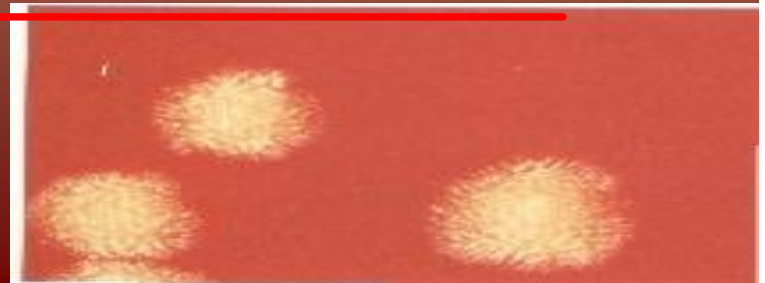
Vincent anjini

- Fusobacterium nucleatum ve Treponema vincentinin oluşturduğu akut tonsillo-farenjit tir.
- Ağız hijyeni iyi olmayan , genç erişkinlerde boğaz ağrısı , ağızda kötü koku, tonsil ve dişeti kanaması yapar.

Fusobacterium necroforum

- Lipaz aktivitesine sahip ve laktatı propionata dönüştüren tek türdür.
- Vücut boşluklarının normal flora üyesi olan *F. necroforum* çok virulan bir bakteridir.
- Çocuk ve erişkinlerde tonsillofarenjit, periapikal ve peritonsiller apse ile çok nadiren Juguler ven septik tromboflebitine (Lemierre hastalığına) sebep olabilir.

- Kanlı agar besiyerinde 37 derecede 48 saat sonra konveks, donuk veya parlak koloniler oluşturur.
- Katı besiyerini yeşillendirir, ultraviyole altında floresan verir
- Kıymalı glukozlu buyyonu bulandırıp dipte ürer ve kokmuş peynir kokusu meydana getirir
- Bu koku bakteri için tanımlayıcıdır



- *F. ulcerans* yeni bir türdür
- *F. mortiferum* eskulini hidrolize etmesi ile diğer türlerden ayrılır

LEPTOTRICHIA

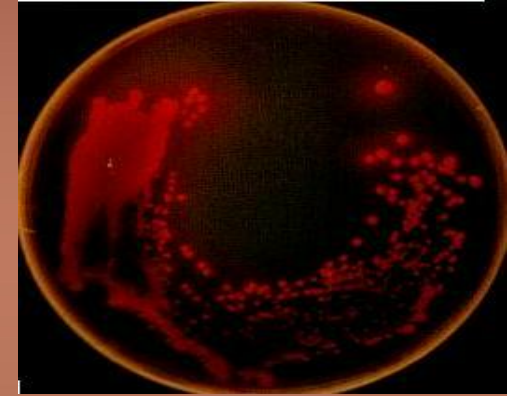
- *L. buccalis* tek türüdür
- Ağız boşluğu ve vajen normal florasında bulunur
- İmmun sistemi baskılanmış kişilerde sepsis etkeni

ANAEROP VİBRİOLAR

- Virgül şeklinde hareketli, gram negatif anaerob bakterilerdir
 - *Butyrivibrio*
 - *Desulfovibrio*
 - *Selenomonas*
 - *Succinovibrio*
 - *Wolinella* olarak yeni cinsler içinde sınıflandırılmıştır

Anaerop Gram (-) kok

- Veillonella en sık izole edilen cinstir
- Nonfermantatiftir
- Kanamisin ve kolistine duyarlı
- Vankomisine dirençlidir
- UV altında kiremit kırmızısı floresans verir.
- Yumuşak doku, baş ve boyun, ağız içi infeksiyonları ile ısırık sonucu gelişen yara yeri infeksiyonlarından izole edilebilir.



Gram (+) Sporlu Anaerop Basiller

Anaerop Bakteriler

- 1900' lerin başlarında birçok anaerop izole edilmiş.
- 1. Dünya Savaşında çok sayıda Gazlı gangren
- İnsanda diş eti çatlakları ve kolonda 1000 kat, deri, vagen, endoserviks ve burunda 5 kat aeroplardan fazladır.

Oksijen Etkisi

■ Ilımlı anaerop

- Bacteroides fragilis
- Fusobacterium nucleatum
- Prevotella melaninogenica
- %2-8 oksijen

■ Kesin anaerop

- Clostridium hemolyticum
- Clostridium novyi tip B
- %0

- Clostridium'lar doğada (toprak, tatlı su kaynakları, deniz dibi) bol miktarda bulunan, çoğu mezofilik bakterilerdir.
- Sporlu, zorunlu anaerop, Gram pozitif, basil. İnsan ve hayvanların bağırsak florasında, kırlarda ve kentsel ortamlarda, toz toprak arasında bulunan bakterilerdir.

- *C. perfringens*, *C. innocuum*, *C. ramosum* dışındaki türlerin tamamı peritrih kirpikleri ile hareketlidir.
- *C. perfringens* kapsüllü, diğerleri kapsülsüzdür.

- Botilismus, pseudomembranöz kolit, gazlı gangren, tetanus gibi ciddi infeksiyonlar eksojen kaynaklı;
- Endokardit, aspirasyon pnömonisi, beyin ve karın içi apseler ise çoğu kez endojen kaynaklıdır.

- Clostridium botulinum dışındaki bakteriler doku içine girdiklerinde uygun anaerob koşulları bulduklarında toksin ve enzimleri ile ağır klinik durumlara neden olurlar.
- En patojen olanlarda bile invazyon yeteneği sınırlıdır.

- Clostridium botulinum gıdalar üzerinde üreyerek sindirim sistemi enzimlerine dayanıklı toksinleri ile besin zehirlenmesi yaparlar.

C.tetani

- Hippocrates tetanus hastalığının tanımını yapmıştır.
- Morfoloji
0,3-0,5 mikrometre en, 2-5 mikrometre boy.
- Vejetatif formu ince uzundur.
- Kapsülsüzdür. Hareketli. Organizma dışında hemen spor yapar. Sporları tipiktir. Terminal tiptir.
- Yaşlı kültürlerde Gram(-) boyanma eğilimindedir.

Morfoloji ve boyanma özellikleri-1

- C.tetani diğer clostridium'lara göre oldukça ince ve uzun bir bakteridir. 0,3-0,5 μm eninde ve 2,5 μm boyundadır.
- Suşların çoğu peritrich kirpikli ve hareketlidir.

Morfoloji ve boyanma özellikleri-2

- Sporlu olup, spor çapları bakteri çapının iki katından fazladır. Sporlar oluşurken oval, tam oluşunca yuvarlaktır. Boyalı preparatlarda sporlaşma davul tokmağı veya tenis raketi şeklindedir.



Morfoloji ve boyanma özellikleri-3

- Kapsülsüzdür.
- Genç kültürlerde bakteriler Gram olumlu boyanırlar. 48 saatten daha eski kültürlerde bakteriler Gram olumsuz boyanırlar.

Kültür özellikleri-1

- C. tetani zorunlu anaerop bir bakteridir.
- Optimal üreme ısısı 37 °C'dir.
- 14-44°C arasında üreyebilmektedir.
- Optimal pH 7,4 tür.
- Üremesi için zengin besiyerlerine gereksinim vardır. Amino asit ve vitamine gereksinim duyarlar. Bu ihtiyaç kanlı besiyerinden karşılanabilir.

Dirençlilik

- C. tetaninin vejetatif şekli fiziksel ve kimyasal etkenlere oldukça dayanıksız olmasına karşın sporları çok dayanıklıdır.
- Sporlar kaynatıldığında 15-30 dakikada ölürlür. Çok ender suşlar 2-3 saat kaynatmaya dayanıklıdırlar.
- Sporlar otoklavda 120°C'de 15 dakikada ölürlür.
- Kuru hava sterilizasyonu ile 150°C'de en geç bir saatte ölürlür.

Tetanospazmin-1

- Tetanospazmin ısıya duyarlı, suda eriyebilen bir toksindir. Sinir sistemini etkiler. Çok etkili bir toksindir. Kristalize halinde izole edilmiştir. M.A. 150,000 daltonudur. Tek bir polipeptid zinciri halindedir.
- Toksin bakteri hücrelerinden ayrılırken bakteri proteazları tarafından parçalanır.

Tetanospazmin-2

- İki polipeptid zinciri oluşur. Birisi 100,000 dalton, diğeri 50,000 daltondur. Ağır zincirde gangliozide bağlanma bölgeleri vardır.
- Hafif zincir toksik etkiden sorumludur.
- Toksinler bakteri parçalanınca ortaya çıkarlar. Bu nedenle tam bir ekzotoksin değildir. Saf toksinin $0,09 \times 10^{-3}$ $\mu\text{g}'\text{i}$ bir fareyi öldürür.

Tetanospazmin-3

- İnsan ve atlar çok duyarlıdır, kuşlar ve sürüngenlere etki etmez.
- C. tetani toksini iyi bir antijendir. Toksine karşı antitoksin elde edilebilir.
- Toksin çözelti halinde dayanıksızdır. Çabucak toksoid haline dönüşür (Anatoksin).

Tetanospazmin-4

- Toksin 65 °C'de 5 dakika ısıtılmakla harab olur.
- Kurutulunca saf toksin 120°C' ye bir saat dayanır.
- Protein yapısında olduğu için proteolitik enzimler tarafından parçalanır

Tetanolizin

- Eritrositlerin erimesine neden olan bir hemolizindir. Aktif üreme döneminde oluşan sonra inaktive olan bir enzimdir.
- Isıya ve oksijene duyarlıdır.

Laboratuvar tanısı

- Tetanoz tanısı klinik bulgulara göre konur. Ancak lokal tetanoz bulgularında klinik olarak hastalığı tanımak kolay değildir. Bu durumda laboratuvar tanısı gereklidir.
- C. tetani'nin laboratuvar sonuçları birkaç günde çıkacağından kültür alındıktan sonra vakit geçirmeden antitoksik sağaltıma başlanmalıdır.

- Lezyondan alınan örnek kanlı agara ve kıymalı buyona ekilerek anaerop koşullarda 2-3 gün beklenir. Tipik bakteri şekilleri ve sporlanma izlenir.
- Deney hayvanları: Sıvı kültür filtratından farelerin deri altına ve kas içine verilir. Hayvanlar tetanoz belirtileri gösterirse tanı konulur.

Üreme özelliği

- Zorunlu anaerop, zengin besiyerlerinde daha iyi ürerler. Birçok karbonhidratı parçalarlar. Glikozu sever fakat parçalayınca asit oluşturduğundan derhal sporlaşır. Üreme ısısı 13-43°C, optimal üreme ısısı 37 °C' dir. pH:7 dir.
- Kanlı agar besiyerinde genç kültürlerde 4-6 mm çapında ortası hafif kabarık, kenarları basık ve flamantöz, üstü pürtüklü, grimsi, R tipinde ortası kabarık koloniler yapar.

Dayanıklılık

- Vejetatif şekli fizik ve kimyasal etkenlere, dezenfektanlara dayanıksızdır. Sporları gün ışığına dayanıksızdır. Fakat karanlıkta yıllarca canlılığını korur. 100° C'ye tipine göre 5-90 dakika dayanır. Dezenfektanlara çok dayanıklıdır.
- Antijenik tipi: Ortak somatik "O" antijeni, değişik "H" antijeni vardır. H antijeni tipine göre romen rakamları ile gösterilen I-----X kadar tipi vardır. Hepsinin yaptığı toksinler birbirinin aynıdır. L formları da toksin yapar.

Virülans ve patojenite

- Tetanus, C.tetani'nin toksini ile meydana gelen bir infeksiyon hastalığıdır.
- İnvazyon özelliği yoktur.

Toksin

- Toksin ısıya dayanıksız protein yapısındadır. 65 C'de 5 dakikada ve proteolitik enzimlerin etkisi ile hemen harap olur.
Saflaştırılmış toksinin 1 mg'ı 50.000.000 fareyi öldürebilir.

Opisthotonus



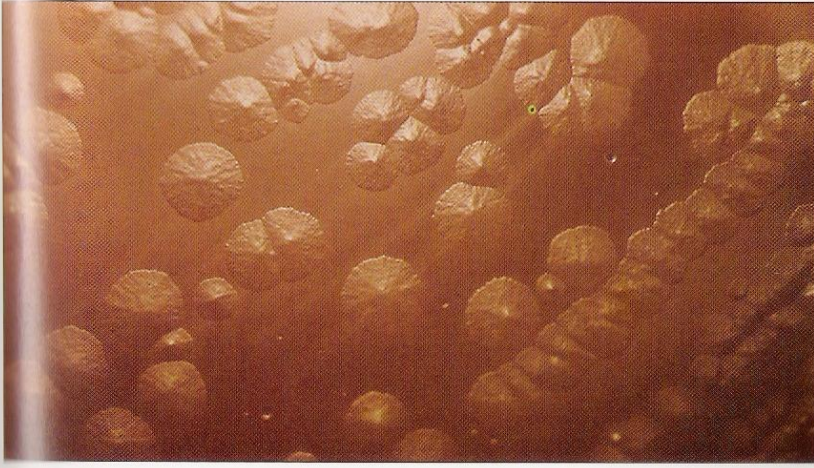


Gazlı Gangren Etkeni Clostridiumlar

- 1. *C. perfringens*
- 2. *C. novy*
- 3. *C. septicum*
- 4. *C. bifermantans*
- 5. *C. histolyticum*
- 6. *C. fallax*

Morfoloji

- Kolonileri büyük kabarık, düzgün koloniler yaparlar. Çoğu kanlı agar besiyerinde hemoliz yaparlar.



263 *Clostridium perfringens*, kanlı agarda. Farklı toksinlerin varlığı nedeniyle çift hemoliz zonu ile çevrili koloniler. (Kanlı agar, 37°C'de 48 saat anaerop)



262 *Clostridium perfringens*. Kanlı agarda beta hemoliz. Bazı suşlar, çift zonlu hemoliz oluştururlar. (Kanlı agar, 37°C'de 24 saat anaerop)

Bakteri adı	Kapsül	Kirpik	Büyüklik	C	pH	Spor
<i>C.perfringens</i>	+	P-		37	7,8	Subterminal
<i>C. septicum</i>	-	P+		37	7,6- 7,8	Subterminal
<i>C. novy</i>	-	P+		37	7,8	Oldukça büyük
<i>C. histolyticum</i>	-	P+		37	7,7	Subterminal
<i>C. bifermentans</i>	-	P+		37		
<i>C. fallax</i>	-	P+				

Çeşitli toksin ve enzimler yaparlar (20 den fazla)

- Toksinler
 - Öldürücü, nekroz yapıcı, hemolitik
- C.perfringens toksini (A tipinde)
- Alfa toksini bir Lesitinazdır. Hücre zarındaki lesitini parçalar.
- Theta toksini: Hemolitik ve nekroz yapar.
- Kollajen dokusunu hasara uğratan
 - Kollagenaz
 - Hyaluronidaz
 - DNAz

Patogenez

- Organizmalar çoğalarak organizmadaki karbonhidratları parçalayıp gaz oluştururlar.
- Doku gerilir kan dolaşımı bozular, nekroz yapan toksinler ve diğer enzim faaliyetleri ile doku erimeye başlar. Özellikle proteolitik enzim ve karışık infeksiyon buna yardımcı olur. Bunu hemolitik anemi ve ölüm izler.
- Kanserli hastalarda Klostridial bakteriyemi görülür. Kadın genital organlarında yaklaşık %5 oranında *C. perfringens* görülür.

Klinik Bulgular

- 1-3 günlük kuluçka döneminden sonra derialtı dokusunda ve kaslarda krepitasyonlar, pis kokulu salgı, hızlı ilerleyen nekroz, ateş, toksemi, şok ve ölüm görülür.

Tedavi

- 1.Üreme olan dokunun kesilip alınması
- 2. Yüksek doz penisilin tedavisi
- 3. Polivalan bağışık serumlar

Tablo 3.26 : 13 Histotoksik Clostridium'lar ile oluşan barsak hastalıklarının karşılaştırılması.

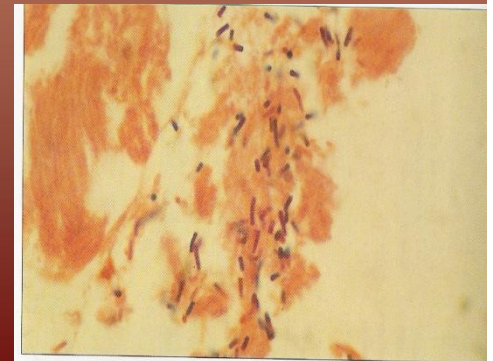
Özellik	Besin zehirlenmesi	Nekrotizan enterit	C. difficile koliti	Nötropenik enterokolit
Etken	C. perfringens tip A	C. perfringens tip C	C. difficile	C. septicum (C. tertium, C. perfringens ve diğerleri)
Toksin	Enterotoksin	β -toksin	Toksin A	β -toksin (?)
Molekül Ağırlığı (Dalton)	34.000-35.000	30.000-48.000	2.400-320.000	?
Tripsin	Dirençli	Duyarlı	Duyarlı	?
Tavşan ileumu	Epitel hasarı	Transmural nekroz	Mukozada hemoraji	?
Dağılım	Dünyanın heryerinde	Yeni Gine ve Üçüncü dünya ülkeleri	Dünyanın heryerinde	?
Klinik bulgular	İshal, karın ağrısı, çok az sistemik toksik bulgular	Kanlı ishal, kusma, karın ağrısı	İshal, ateş	Sepsis, karın ağrısı, kusma, ishal, şok
Patoloji	İnce barsak epitelinde hasar, PNL infiltrasyonu	İnce barsakta segmental transmural nekroz	Kolit \pm psödomembran	Çekumda hemorajik nekroz
Konağa ait özellikler	Kontamine besinleri yeme	Malnutrisyonlu çocuk	Antibiyotik kullanımı	Nötropeni, lösemi, kolon kanseri
Tanı	Dışkıda toksin araştırması	Kapsüler antikorlarla yapılan FA testi	Toksin B sitotoksisite testi	Kan kültürü
Tedavi	Gerekmez, kendiliğinden iyileşir	Antibiyotik \pm Cerrahi	Metronidazol veya vankomisin	Penisilin \pm Cerrahi
Mortalite	0	% 15-45 (ciddi olgularda)	% 10-20 (Tedavi edilmeyen ciddi olgularda)	% 50 - 100

Clostridial sellülit



Clostridium botulinum

- Sporları terminal ve subterminaldir. Isıya 100 C'ye 3-5 saat dayanıklıdır. Sucuk ve benzeri gıdalarla görüldüğünden adına SUCUK=BOTULUS denmiştir.1886 da Ermergen izole etmiştir.
- Kolonileri flamenli ve R tipinde ortaları mat, kenarları hafif saydamdır.
- Glikozlu besiyerinde spor oluşur.
- Subterminal sporludur.



260 *Clostridium perfringens* (*C. welchii*). Gazlı gangren cerahatinden hazırlanan Gram preparatında, kalın, tuğla biçiminde, Gram-pozitif çomaklar. (Gram, x 1000).

- C. botulinum , içinde bulunduğu besin maddelerine salgıladığı, ekzotoksinlerin alınması ile nörolojik semptomların ön planda olduğu besin zehirlenmesine neden olan bir bakteridir.
- Bilinen en kuvvetli toksin C. botulinum toksinidir.

Dayanıklılık

- Vejetatif kısımları ısıya dayanıksızdır.
- Sporları 100 C'ye 6 saat, 120 C otoklavda 10 dakika dayanır. Kuru ısıya 180 C'de 5-15 dakika dayanıklıdır. Antiseptiklere oldukça dayanıklıdır.

Toksinleri

- Toksinlerin antijenik olarak A,B,C,D,E,F,G olarak 7 değişik tipi bilinmektedir.
 - İnsanda A,B,E,F
 - Kümes hayvanlarında C
 - Sığırlarda D besin zehirlenmesi yapar.
 - A,B,E tiplerinin molekül ağırlığı 150.000 dalton ve protein yapısındadır. Bunlar saflaştırılmıştır. Bilinen zehirlerin en güçlülerindedir.
 - 1 mg'ı 20.000.000 fareyi öldürür.
 - Toksinleri dokularda sinir kas kavşaklarının Asetil-kolin yapımını ya da serbest hale geçmesini engelleyerek etki eder.

Teşhis

- Fare peritonona besin artıkları injekte edilir ve fare hemen ölür.
- Nötralizasyon deneyi ile tip tayini yapılır.
- Arta kalan besin maddelerinden bakteri üretilir.
- ELISA,RIA, IHA kullanılabilir.

Korunma

- Gıda maddelerinin iyi saklanması.
- Ev konserveleri yenmeden önce 10 dakika kaynatılması.
- Toksoid aşısı vardır. Risk altındakilere ve laboratuvar personeline yapılabilir.