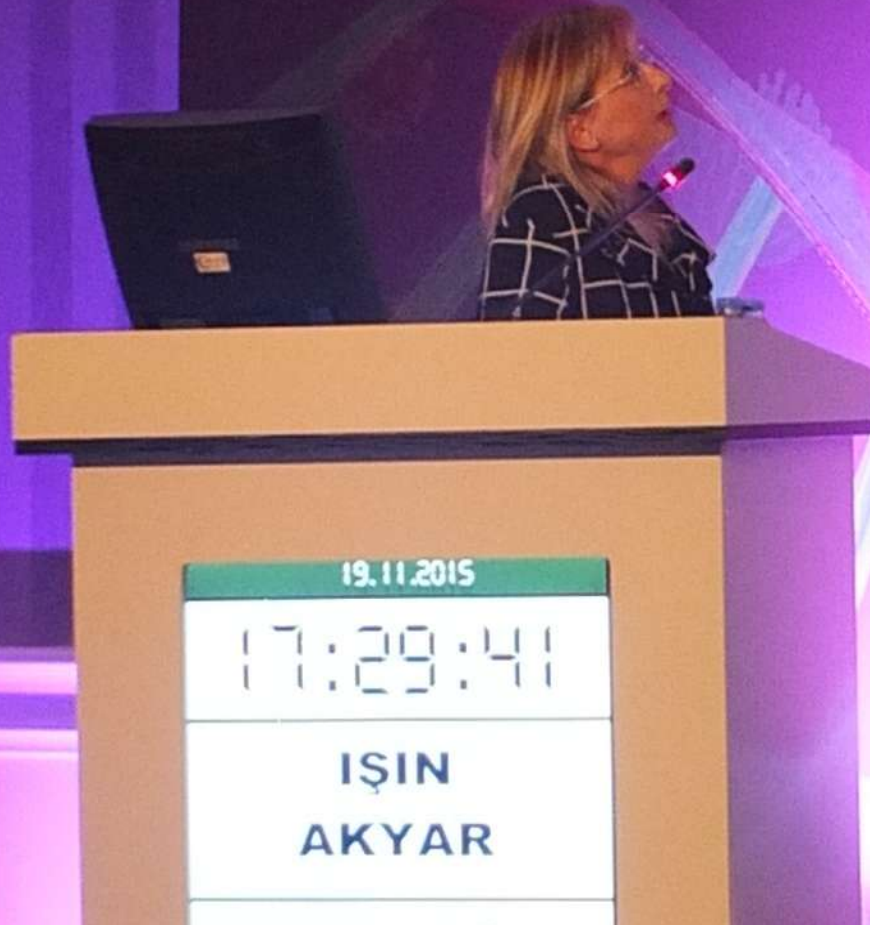


18-22 Kasım 2015



A woman with blonde hair and glasses, wearing a dark patterned top, is speaking at a wooden podium. A laptop is open on the podium to her left. A digital display on the front of the podium shows the date and time, and her name. The background is a large screen displaying the event dates.

19.11.2015
17:29:41
<b>IŞIN AKYAR</b>

# Anaerop Bakterilerin Üretilmelerinde Askorbik Asit Katkılı Besiyeri ve Mineral Yağ ile Kaplanmış Besiyeri Kullanılmasının Araştırılması ve Sonuçların Standart Anaerop Kültür Yöntemi ile Kıyaslanması

Işın Akyar<sup>1,2</sup>, Meltem Kaya<sup>2</sup>, Onur Karatuna<sup>1,2</sup>, Yeşim Beşli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İstanbul*

<sup>2</sup>*Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları, İstanbul*



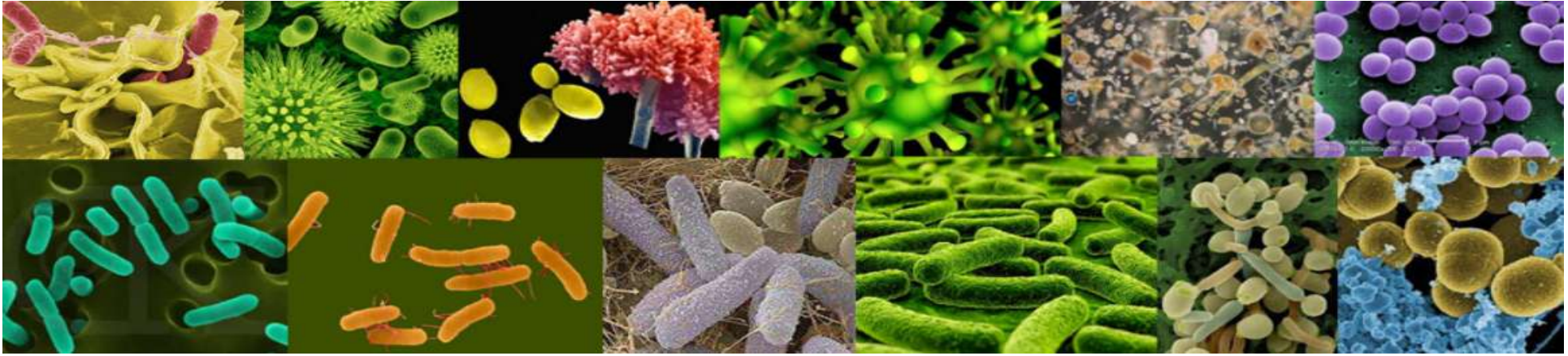
# Özet



- Rutin laboratuvar uygulamalarında:
- anaerop bakterilerin üretilmeleri
- zor
- özel donanım gerektirir







Yapı	Gram Boyama	Genus
Sporlu basil	(+)	<i>Clostridium</i>
Sporsuz basiller	(+)	<i>Actinomyces, Bifidobacterium, Eubacterium, Propionibacterium, Mobilincus, Lactobacillus</i>
	(-)	<i>Bacteroides, Fusobacterium, Prevotella, Porphyromonas</i>
Koklar	(+)	<i>Peptococcus, Pepto-streptococcus, Streptococcus</i>
	(-)	<i>Veillonella</i>

- Safra
- Endometriyal doku biyopsi örneđi
- Kan
- Kemik iliđi
- Çift lümenli kataterle alınmış bronş yıkama materyali
- Beyin Omurilik Sıvısı(BOS)
- Kuldosentez aspirasyon materyali
- Lezyon tabanından alınmış dekübitüs ülser örneği
- Steril vücut sıvıları

- Aspire edilmiş apse materyali
- Perkütan akciđer aspirat ya da biyopsi materyali
- Periton(asit) sıvısı
- Drene fistülden sülfür granülleri
- Suprapubik mesane aspiratı
- Torasentez(plevra) sıvı
- Biyopsi/otopsi materyali
- Transtrakeal aspirat
- Koruyucu ile alınmış uterus materyali





# Amaç



- \*By. askorbik asit eklenmesi
- \*By. üzerinin mineral yağ ile kaplanması ile
- Ek olarak herhangi bir ekipman ya da kimyasala gerek duyulmaksızın aerop atmosferik koşullarda anaerop bakterilerin üremesinin sağlanması

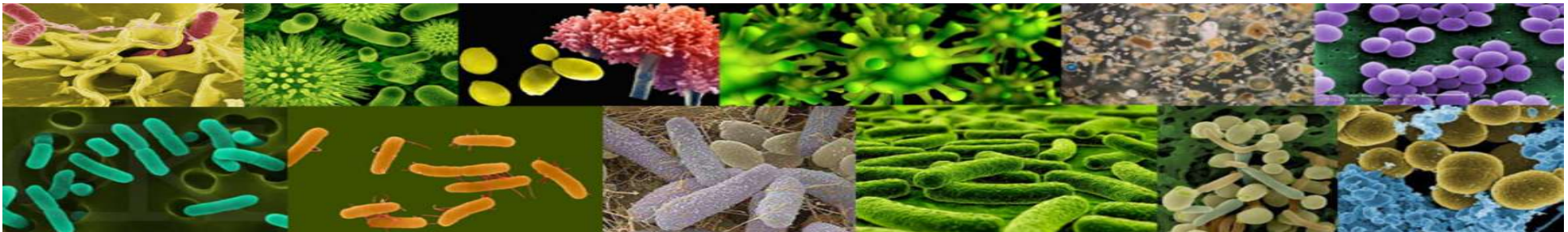
## Çalışmaya dahil edilen bakteriler:

### Yedi anaerop bakteri

- *Clostridium clostridioforme*
- *Clostridium difficile*
- *Peptostreptococcus anaerobius*
- *Bacteroides fragilis*
- *Veillonella atypica*
- *Actinomyces odontolyticus*
- *Bacteroides thetaiotaomicron*

### Dört fakültatif anaerop bakteri

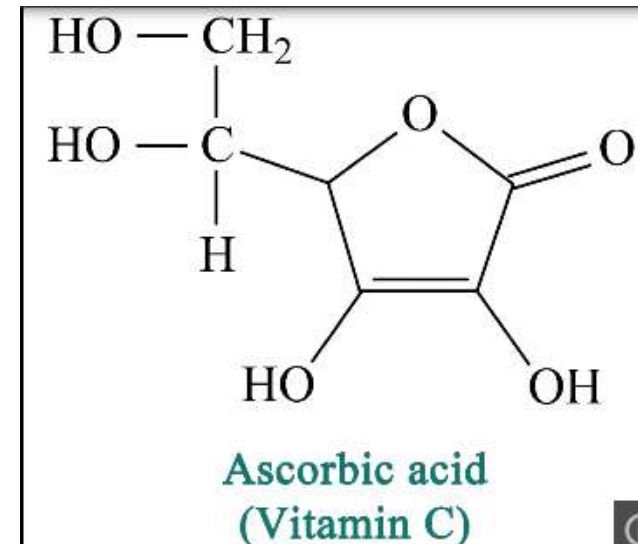
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*
- *Enterococcus faecalis*





# Antioksidanların etkinliği

- Serbest radikalleri tutabilme/bozundurabilme
- **Oksijeni yakalayabilme**
- Bazı bileşikleri sinerjist veya metal şelatlar olarak etkilemeleri





- Çalışmanın etkinliği:
- bu bakterilerin çalışmada kullanılan iki yöntem sonucunda üremeleri
- &
- standart anaerob atmosferik
- koşullarda üremeleri karşılaştırılmıştır.



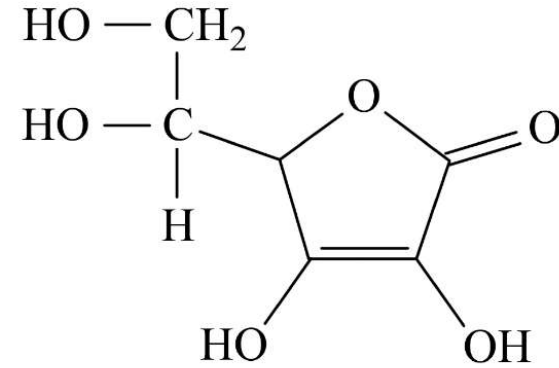
## Schaedler agar+ %5 koyun kanı

Typical Formula*	gm/litre
Tryptone Soya Broth (Oxoid CM129)	10.0
Special peptone	5.0
Yeast extract	5.0
Glucose	5.0
Cysteine HCl	0.4
Haemin	0.01
Tris Buffer	0.75
Agar	13.5
pH 7.6 ± 0.2 @ 25°C	



# Anaerop bakterilerin aerop koşullarda üremesi

1. Anaerop bakteri türlerinin besiyerine ekimi
  - Üzerlerinin 10 ml steril mineral yağ ile kaplanması
  - Aerop atmosferik koşullarda 37°C'de 48-72 saat inkübasyon
- 2. Diğer taraftan aynı izolatların içerisine 1 mg/ml askorbik asit eklenmiş olan besiyerine ekimi
- Aynı şartlarda inkübasyon



Ascorbic acid  
(Vitamin C)

# Askorbik asit & Glutatyon

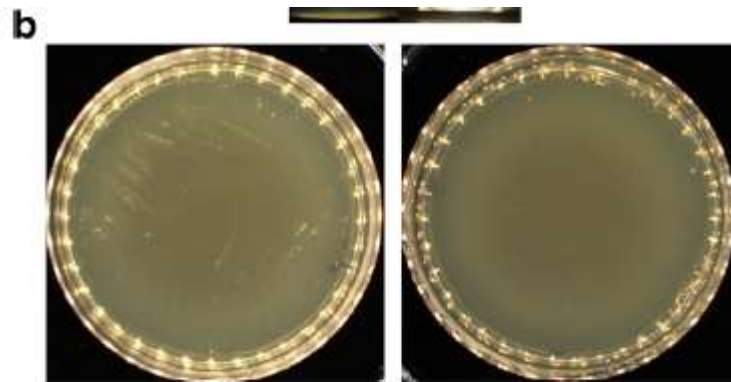
Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2014) 33:1781–1783  
DOI 10.1007/s10096-014-2137-4

ARTICLE

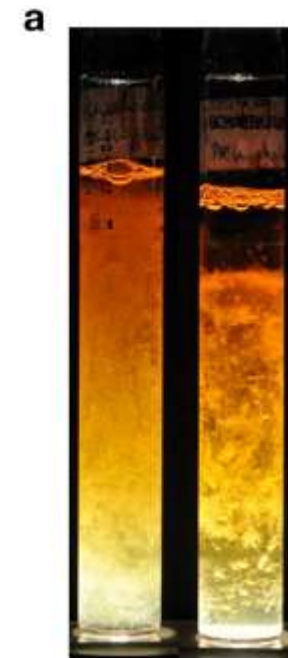


## Aerobic culture of anaerobic bacteria using antioxidants: a preliminary report

B. La Scola • S. Khelaifia • J.-C. Lagier • D. Raoult



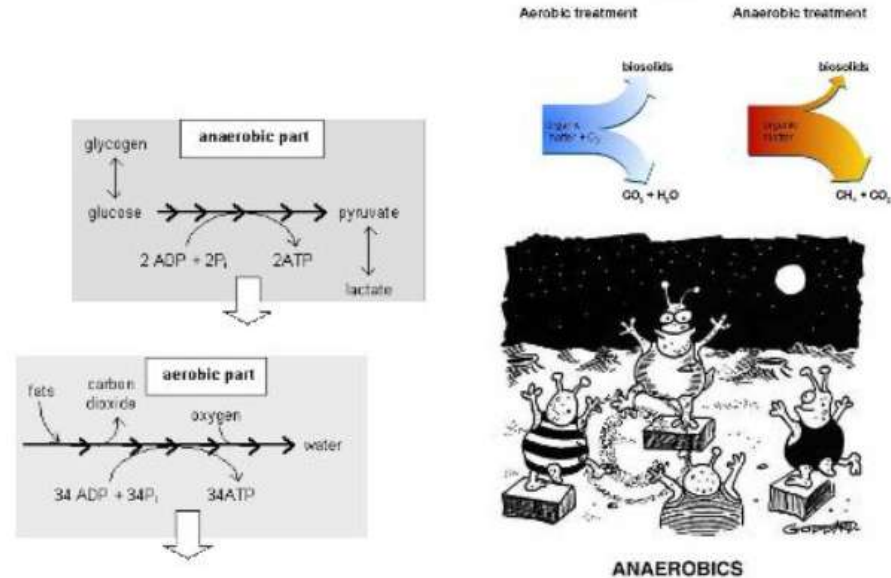
**Fig. 1** a Differential growth of *F. necrophorum* in Schaedler medium tubes incubated under air and enriched (*left*) or not (*right*) with 1 mg/ml of ascorbic acid. b Growth of *F. necrophorum* incubated on Schaedler agar in a Petri dish for 48 h with no enrichment (*right*) or with 1 mg ascorbic acid/ml (*left*)





- Kontrol amacıyla izolatların her biri yine aynı besiyerine ekilerek aerop ve standart anaerop koşullarda aynı şekilde inkübe edilmişlerdir. Daha sonra ekim yapılan plakların tümü üreme varlığı açısından değerlendirilmiştir.

## Anaerobic vs aerobic organisms



# Mikroorganizma tanımlamaları

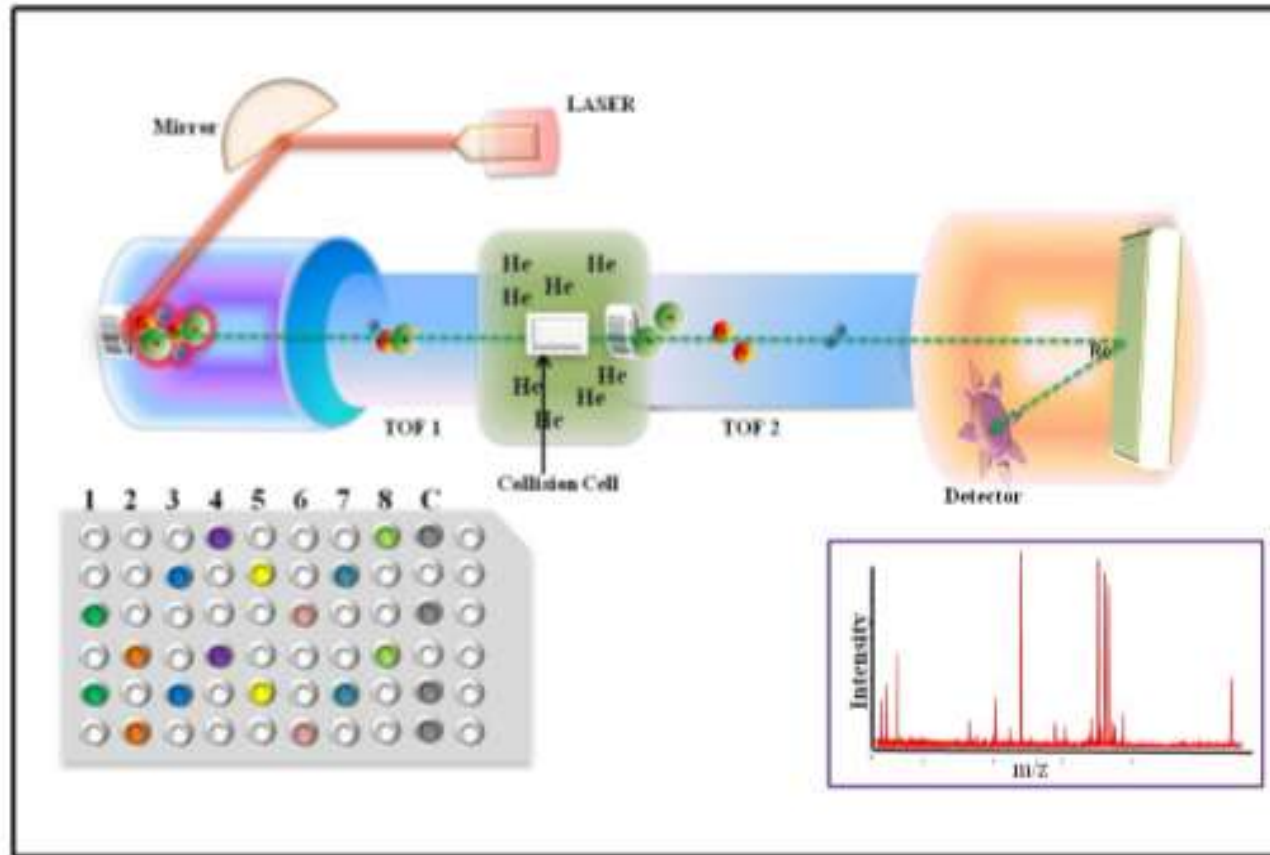


Fig 3. MALDI-TOF mass spectrometer basic principle

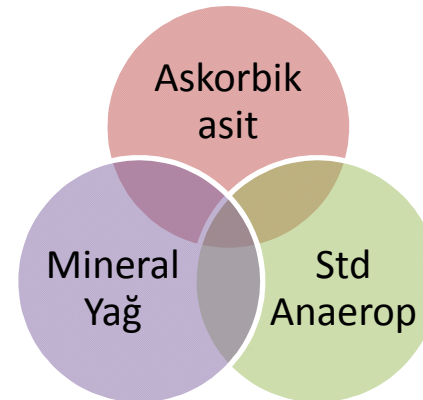
# Bulgular

**Askorbik asit** eklenmiş  
Schaedler agar by.  
(7 Z. A. izolatın 4'ü üredi)

- *Peptostreptococcus anaerobius*
- *Bacteroides fragilis*
- *Actinomyces odontolyticus*
- *Clostridium clostridioforme*

**Mineral yağ** ile kaplanmış  
Schaedler agar by.  
(7 Z. A. izolatın 4'ü üredi)

- *Peptostreptococcus anaerobius*
- *Bacteroides fragilis*
- *Actinomyces odontolyticus*
- *Bacteroides thetaiotaomicron*



# Bir besiyerinde üreyip diğesinde üremeyenler

## *Clostridium clostridioforme*

- Askorbik asit eklenmiş besiyerinde üreyip mineral yağ kaplı besiyerinde üremedi.



## *Bacteroides thetaiotaomicron*

- Mineral yağda üreyip askorbik asit içeren besiyerinde üremedi.





**Her iki besiyerinde de üreyenler**

***Bacteroides fragilis***

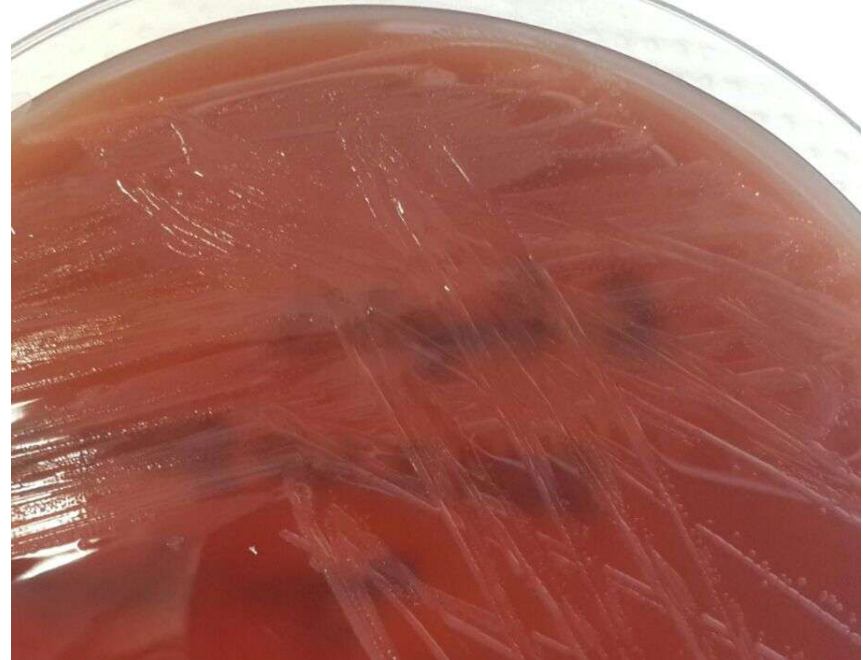
*Peptostreptococcus anaerobius*

*Actinomyces odontolyticus*

**Askorbik asit içeren besiyerinde**



**Üzeri mineral yağ ile örtülü besiyerinde**





# Tüm koşullarda üreyen bakteriler

(Mineral yağ, askorbik asit, std aerop, std anaerop)

- *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli*
- *Enterococcus faecalis*
- *Actinomyces odontolyticus*



Tablo I – Anaerop bakterilerin askorbik asit ve mineral yağ ile aerop koşullarda üretilmesi

KÖKENLER	GRAM BOYAMA	Askorbik asit ile üreme	Mineral yağ ile üreme	Standart aerop üreme	Standart anaerop üreme
<i>Clostridium clostridioforme</i>	Gram negatif basiller (nadir sporlu)	VAR	YOK	YOK	VAR
<i>Clostridium difficile</i>	Gram pozitif basiller (sporlu)	YOK	YOK	YOK	VAR
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Gram pozitif koklar	VAR	VAR	YOK	VAR
<i>Bacteroides fragilis</i> - ATCC 25285	Gram negatif basiller (sporsuz)	VAR	VAR	YOK	VAR
<i>Veillonella atypica</i>	Gram negatif koklar	YOK	YOK	YOK	VAR
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	Gram negatif basiller (sporsuz)	YOK	VAR	YOK	VAR
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	Gram pozitif, difteroid benzeri kokobasiller	VAR	VAR	VAR	VAR
<i>Staphylococcus epidermidis</i> - ATCC 12280	Gram pozitif koklar	VAR	VAR	VAR	VAR
<i>Staphylococcus aureus</i> - ATCC 25923	Gram pozitif koklar	VAR	VAR	VAR	VAR
<i>Escherichia coli</i> - ATCC 25922	Gram negatif basiller	VAR	VAR	VAR	VAR
<i>Enterococcus faecalis</i> - ATCC 29212	Gram pozitif koklar	VAR	VAR	VAR	VAR

# Sonuç

## Umut verici

Anaerop bakterilerin aerop atmosferik koşullarda üretilebildiđi gösterilmiřtir.





