

Anaerop Bakterilerde Metronidazole Direnç ve *nim* Genleri

Metronidazole Resistance and nim Genes in Anaerobic Bacteria

Selahattin Atmaca[®]

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Atf/Cite as: Atmaca S. Anaerop bakterilerde metronidazole direnç ve *nim* genleri. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(3):197-202.

Öz

Anaerop bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan 5-nitroimidazol türevi metronidazole karşı, bakterilerin geliştirdikleri direnç mekanizmaları çeşitli ve karmaşıktır. Anaerop bakterilerde bulunan nitroimidazol redüktaz enziminin metronidazole karşı dirençte önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. Bu enzim bakterinin genomik yapısı içinde tanımlanan *nim* genleri kontrolündedir. *Nim* genleri şu ana kadar 11 farklı yapıda (*nimA-nimK*) tanımlanmıştır. En çok *Bacteroides fragilis* grupta tanımlanan *nim* genlerinin tek başlarına metronidazol direncinin oluşmasında yeterli olmadığı, farklı direnç mekanizmalarının da söz konusu olduğu bildirilmiştir. Bakterinin glukoz metabolizması sırasında aktifleşen piruvat ferrodoksin oksidoredüktaz enzim faaliyeti, *bmeRABC5* geni kontrolündeki effluks pompa sistemi, *RecA* geni kontrolündeki DNA onarım proteinlerinin aşırı salınımı gibi mekanizmaların anaerob bakterilerin metronidazol direncinde önemli rol aldığı belirlenmiştir. Bu makalede, anaerop bakterilerin 5-nitroimidazollere karşı oluşturdukları farklı direnç mekanizmaları ve bu direnç mekanizmalarında rol aldığı tartışılan *nim* genlerinden söz edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Anaerop bakteri, metronidazole direnç, *nim* genleri

ABSTRACT

Resistance mechanisms of anaerobic bacteria against the 5-nitroimidazole derivative widely used in the treatment of anaerobic bacterial infections, metronidazole are varied and complex. It has been suggested that the nitroimidazole reductase enzyme found in anaerobic bacteria plays an important role in resistance to metronidazole. This enzyme is under the control of *nim* genes defined within the genomic structure of the bacteria. The *nim* genes have been identified in 11 different structures (*nimA-nimK*) so far. It has been reported that the *nim* genes, which are mostly defined in the *Bacteroides fragilis* group, are not sufficient in the formation of metronidazole resistance alone, there are also different resistance mechanisms. Mechanisms such as pyruvate ferredoxinase (PFOR) enzyme activated during glucose metabolism of bacteria, efflux pump system under the control of *bmeRABC5* gene, excessive release of DNA repair proteins controlled by the *RecA* gene were determined to play an important role in the resistance of anaerobic bacteria to metronidazole. In this article, different resistance mechanisms created by anaerobic bacteria against 5-nitroimidazoles and debatable role of the *nim* genes role in these resistance mechanisms were indicated.

Keywords: Anaerob bacteria, metronidazole resistance, *nim* genes

Alındığı tarih / Received:
26.02.2021 / 26. February.2021

Kabul tarihi / Accepted:
26.04.2021 / 26. April.2021

Yayın tarihi / Publication date:
07.09.2021 / 07. September.2021

ORCID Kayıtları

S. Atmaca 0000-0002-2730-5790

✉ satmaca@dicle.edu.tr

GİRİŞ

Metronidazol 1957 yılında bulunmuş, protozoonlara ve anaerop bakterilere karşı etkili sentetik bir nitroimidazol bileşiğidir. Kimyasal yapısı 1-(2-hidroksietil)-2-metil-5-nitroimidazol'dur⁽¹⁻³⁾.

Metronidazol'un en önemli antimikrobiyal etki mekanizması, hücre içine pasif difüzyonla girdikten sonra, bir dizi reaksiyon sonucu ortaya çıkan yarı ömürlü metabolitler sayesinde olur. Bu metabolitler bakterinin DNA'sına zarar vererek ölümüne yol açarlar. Bu sürecin işleyebilmesi için hücre içi oksidasyon-redüksiyon

potansiyelinin negatif olması gerekir ki, bu anlamda nitroimidazol türevleri aerop bakterilere karşı etkin değillerdir^(4,5).

Anaerop bakterilerde 5-nitroimidazollere karşı direnç sağlayan transfer edilebilir bazı determinantlar belirlenmiş, bunlar nim genleri olarak tanımlanmıştır. 1989'da *Bacteroides vulgatus* (BV17) türünde belirlenen dört plazmidten *p1P417*'nin düşük düzeyde metronidazol direncinden sorumlu olduğu ilk defa rapor edilmiştir. 1994 yılında, Paris Pastör Enstitüsü'nde önce nim A ve B, takiben *nim D*, *nim C* gibi metronidazol direncinden sorumlu farklı gen bölgeleri tanımlanmıştır. 1996 yılında ise, universal primerler olarak tanımlanan ve değişmeyen yapıda olan *nim 3* ve *nim 5* genlerinin sekans yapıları klonlanmıştır⁽⁶⁻¹⁰⁾.

Anaerop bakterilerde *Bacteroides*, *Prevotella* ve *Fusobacterium*'larda daha yüksek düzeyde, *Clostridium* türlerinde ise daha ender görülen bir seri metronidazol direnç mekanizmaları mevcuttur⁽⁴⁾.

Bu makalede, anaerop bakteri enfeksiyonlarında etkin bir antibakteriyel olan metronidazole karşı anaerop bakterilerin geliştirdiği direnç mekanizmaları ve bu direnç mekanizmalarından kısmi olarak sorumlu tanımlanan nim genlerinden söz edilmiştir.

5-nitroimidazol türevleri ve metronidazol

5-Nitroimidazoller'de temel yapı, doğada birçok bileşikte bulunan imidazol (1,3-diazol) halkasıdır. İmidazol halkasına sitotoksik etkili farklı fonksiyonel grupların eklenmesi ile 5-nitroimidazol türevleri sentezlenir⁽¹¹⁾.

Nitroimidazollere duyarlı olan hücrelerin ortak özelliği, anaerop olmaları ve düşük redoksyon potansiyelli, elektron taşıyıcı proteinler içermeleridir. Bu proteinler, hücre içinde nitroimidazollerin nitro gruplarını enzimatik olmayan bir kimyasal reaksiyonla indirgererek, onları etkin ara metabolitlere veya serbest radikallere dönüştürürler. Bu radikallerin duyarlı bakteri veya protozoon hücrelerinin DNA'sına bağlanarak kopyalanmayı durdurduğu, çift sarmallı yapıyı bozduğu ve bu şekilde DNA sentezini inhibe ederek hücrenin ölümüne neden olduğunu bildirilmiştir⁽¹¹⁻¹⁵⁾.

Metronidazol, hücre içerisine alındığında antibakteriyel etkisini gösterebilmesi için hücre içi oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin (Eh değeri, birim milivolt) düşük, yani negatif olması gerekmektedir. Kimyasal tanımlama ile indirgenmiş bir ortam sağlanması gerekir. Aerop bakterilerde yeterli negatif redoksa sahip elektron taşıma proteinlerinin yokluğu, bunların 5-nitroimidazollere (5-Ni)'ye karşı intrinsik dirençlerini açıklar^(1,2,4).

Anaerop bakterilerde metronidazole karşı direnç mekanizmaları farklı şekillerde tanımlanır. Bunlardan en önemlisi bakteriyel *nim* genleri tarafından kontrol edilen *nitroimidazol redüktaz* aktivitesi sonucu metronidazol çatısında bulunan nitro grupların, inaktif 5-amino-imidazole dönüştürülmesidir. Bu dönüşüm sonucu metronidazolun anaerop bakterilerde antibakteriyel etkisini gösteren ve DNA hasarına yol açacak olan radikal anyon oluşumu engellenmiş olur.

Bunun yanı sıra metronidazol gibi 5-nitroimidazollerin hücre içerisine girişleri pasif diffüzyonla olur. Metronidazolün bakteri hücresi içerisine girişi bakteri sitoplazmasındaki indirgen ortamla direkt ilişkilidir. Anaerop bakterilerde sitoplazmadaki redükten yani indirgenmiş ortamı bakterinin nitroimidazol redüktaz enzim aktivitesi belirler ki, bakterinin bu enzim aktivitesini azaltması sonucu, hücre içi yeterince indirgen bir ortamın oluşmamasına ve buna paralel olarak ilacın hücre içi alımının azalmasına neden olur^(2,4,15).

Metronidazole karşı anaerop bakterilerin farklı bir direnç mekanizması da bakterinin metabolik bir faaliyeti olan glukozdan, glukoz-6-fosfat daha sonra piruvat son aşamada da asetil Co-A ve asetat oluşturması ile ilişkilidir. Bakterinin bu metabolik faaliyeti içerisinde belirleyici enzim piruvat ferrodoksin oksidoreduktaz (PFOR)'dır. Bu reaksiyon sırasında içeri alınan metronidazol, reaksiyonda ortaya çıkan elektron zincirinden bir elektron alarak yukarıda söz edildiği gibi indirgenir ve antibakteriyel etkili (DNA hasarı gibi) radikal anyonlar oluşturur. Bakteri metronidazol varlığında bu reaksiyonu farklı yöne çevirerek piruvat oluştuktan sonra aşırı laktatdehidrogenaz (LDH) salgılayarak asetat yerine laktat oluşturur. Bu da bir ön

ilaç olan metronidazolün bir elektron alarak antibakteriyel etki göstereceği forma dönüşmesini engeller^(1,2,15).

Cutibacterium spp., *Propionibacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Eubacterium* spp. ve *Actinomyces* spp. gibi kısmi oksijene toleranslı veya fakültatif anaerob olarak tanımlanan türlerde piruvat ferredoksin oksidoredüktaz enziminin eksikliğine bağlı olarak bir ön ilaç olan metronidazolün hücre içine alındıktan sonra antibakteriyel etkisini göstermesinde etken olan radikal anyonların oluşmaması bu bakterilerin kısmi olarak metronidazole doğal direnci olarak tanımlanmıştır⁽⁴⁾.

Bakteri effluks pompa sistemini kodlayan *bmeRABC5* geni sayesinde aşırı RND salınımı sonucu antibiyotiklerin dışarı atılması, *recA* geni tarafından kontrol edilen DNA tamir proteinlerinin bakteri tarafından salınımının artırılması, SOD (Süperoksid dismutaz) aktivitesi sonucu antioksidanlara karşı defans sisteminin devreye girmesi metronidazol direncine yol açan farklı mekanizmalardır. Bunların yanı sıra anaerob bakterilerin metronidazolla karşılaştığında, bakterilerin hücre içine demir (Fe) alımını sınırlandırdığı, buna karşılık ramnoz metabolizmasını artırdığı, özellikle bu metabolizma hızının artışı sonucu oluşan proteinlerin bazı anaerob türlerinde (*Bacteroides thetaiotaomicron*) henüz bilinmeyen bir mekanizma ile metronidazol direncine yol açtığı ileri sürülmektedir^(1,2,15).

Nim genleri

Anaerob bakterilerde kısmi olarak metronidazol direncinin bakterinin nitroimidazol redüktaz enzimlerini kodlayan *nim* genleri kaynaklı olduğu ileri sürülmektedir. *Nim* genlerinin kodladığı proteinler *nimA-nimK* olarak 11 adet saptanmıştır. Filogenetik olarak *nim* genlerindeki aminoasit sekanslarının benzerliği incelendiğinde üç farklı grup olarak sınıflandırılmıştır. Birinci grup, *nimA-nimH*, ikinci grup, *nimK* ve üçüncü grup ise, *nimI-nimJ* olarak tanımlanmıştır. Araştırmacılar bu analizi 100 kopya ve %>70 benzerliği dikkate alarak yaptıklarını bildirmişlerdir.

nim genleri en sık *Bacteroides* türlerinde bildirilmiş,

ayrıca Gram negatif basillerden *Fusobacteriumlar*, *Prevotella*, Gram negatif anaerob koklardan *Veillonella*, Gram pozitif anaerob koklardan *Peptostreptococcus*'lar, *Parvimonas micra* türlerinde belirlenmiştir (Tablo 1). Buna karşılık özellikle *Clostridium tetani* ve diğer *Clostridium* türlerinde daha düşük oranda *nim* genlerine rastlanılmıştır. Ayrıca yapılan çalışmalarda, *nim* genlerinin kromozom veya plazmidten yalnızca birinde bulunabileceği gibi eşzamanlı olarak hem kromozom hem de plazmid de aynı anda görüldüğü saptanmıştır (Tablo 1)^(4,16).

Yapılan çalışmalarda, *nim* genleri belirlenmiş bazı anaerob bakterilerin metronidazol MİK değerleri duyarlılık sınırları içersin de bulunmuştur. Bunun yanı sıra sağlıklı insanların dışkı kültürlerinden ve kirli sularından izole edilen *Bacteroides fragilis* türlerinde de *nim* genlerinin saptanması sonucu bazı araştırmacılar, yalnızca *nim* genlerinin varlığı ile anaerob bakterilerdeki metronidazol direncinin açıklayamayacağını belirtmişlerdir^(4,10).

Anaerob bakterilerde metronidazol direnci ve *nim* genlerinin korelasyonu ile ilgili, Belçika'da 2011-2012 yılları arasında izole edilen 180 *Bacteroides* suşunun E-test yöntemi ile yapılan direnç testi sonucu suşların tümü metronidazola duyarlı bulunurken, izolatlarda %2.8 oranında *nim* geni saptanmıştır⁽¹⁷⁾. Yunanistan'da 2002-2004 ve 2003-2005 yılları arasında yapılan iki farklı çalışmada, birinci çalışmada 82 suşun %1.3'ünde, ikinci çalışmada ise 191 suşun %1'inde metronidazol direnci belirlenmiş olup, çalışmalarda sırayla %1, %0.5 *nim* genlerine rastlanmıştır. Her iki çalışmada da metronidazol direnci E-test yöntemi ile belirlenmiştir^(18,19).

Yunanistan'da 2003-2005 tarihleri arasında yine E-test yöntemi ile 57 *Prevotella* türünün 14'ünde metronidazol direncine karşılık suşların %5.3'ünde *nim* geni saptanmıştır⁽¹⁸⁾. *Fusobacterium*'larla ilgili diğer bir çalışmada ise, 17 suşun %11.7'si metronidazole dirençli iken, suşların %5.9'unda *nim* geni belirlenmiştir⁽¹⁸⁾.

Fenotipik olarak metronidazole dirençli (MİK değeri 6-256 µg/mL) anaerob bakteri türlerinde belirli bir

Tablo 1. *nim* genlerinin dağılımı ve genel özellikleri⁽⁴⁾.

Nim Geni	Yerleşim	Metronidazol direnci (MIK aralığı µg/mL)	İlişkili olduğu direnç genleri	İlişkili olduğu antibiyotik dirençleri	Saptandığı bildirilen bakteriler
<i>nimA</i>	P veya K	Değişken (0.75->128)	<i>cepA</i> , <i>blaOXA-37</i> , <i>cfiA</i> , <i>ermF</i> , <i>mefE</i> , <i>linAn2</i> , <i>tetQ</i> , <i>bexB</i>	AMC, AMX, CAR, CLI, ERY, FOX, PIP, TET, TZP	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Bacteroides ovatus</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Actinomyces odontolyticus</i> , <i>Cutibacterium acnes</i> , <i>Clostridium bifermentans</i> , <i>Prevotella bivia</i> , <i>Propionibacterium türleri</i>
<i>nimB</i>	K	Değişken (0.125->256)	<i>cfxA</i> , <i>cfiA</i> , <i>ermF</i> , <i>tetQ</i>	AMP, CAR, CLI, PIP, FOX, RIF, TET, TZP,	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Parabacteroides distasonis</i> , <i>Prevotella denticola</i> , <i>Prevotella dentalis</i> , <i>Fusobacterium magna</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , <i>Anaerococcus prevotii</i> , <i>Prevotella micra</i>
<i>nimC</i>	P veya K	Değişken (1->32)	<i>cfiA</i> , <i>tetQ</i>	TET	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Prevotella distasonis</i> , <i>Prevotella oralis</i> , <i>Porphyromonas türleri</i>
<i>nimD</i>	P veya K	Değişken (0.25->64)	<i>epA</i> , <i>cfxA</i> , <i>cfiA</i> , <i>ermF</i> , <i>linAn2</i> , <i>mefE</i> , <i>tetQ</i> , <i>cat</i> , <i>bexB-like</i>	CAR, CLI, MP, TET, TZP	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Bacteroides stercoris</i> , <i>Odoribacter splanchnicus</i> , <i>Fusobacterium türleri</i>
<i>nimE</i>	P veya K	Değişken (1.5->256)	<i>cepA</i> , <i>cfxA</i> , <i>blaTEM</i> , <i>blaCMY</i> , <i>blaOxA-1</i> , <i>cfiA</i> , <i>ermF</i> , <i>tetQ</i> , <i>aac(60)Ib-cr</i>	AMC, AMX, CAR, CAZ, CIP, CLI, CM, ERY, FOX, MP, PIP, TET, TGC, TZP	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Bacteroides ovatus</i> , <i>Parabacteroides merdae</i> , <i>Prevotella buccalis</i> , <i>Prevotella oralis</i> , <i>Veillonella türleri</i>
<i>nimF</i>	B	Yok (1)	B	B	<i>Bacteroides vulgatus</i>
<i>nimG</i>	B	Yok (2)	B	B	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>nimH</i>	K	Var (8)	B	AMX	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>nimI</i>	K	Yok (1-4)	B	B	<i>Prevotella baroniae</i>
<i>nimJ</i>	K	Var (>32)	<i>cfiA</i> , <i>ermR</i> , <i>tetQ</i> , <i>bexB-like</i> , <i>bmeABC5</i> genlerinin aşırı ekspresyonu	AMC, AMX, AMP, CAR, CFP, CLI, FOX, ERY, TET, TZP	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>nimK</i>	K	Var (6-12)	efflux taşıyıcı	AMX, CLI	<i>Prevotella bivia</i>

P=plazmid; K=kromozomal; B=bilinmiyor; MTZ=metronidazol; MIK=minimal inhibitör konsantrasyon; AMP=ampisilin; AMX=amoksisilin; AMC=amoksisilin /klavunat; PIP=piperasilin; TZP=piperasilin/tazobaktam; FOX=sefoksitin; CAZ=seftazidim; CFP=sefoperazon; CAR=karbapenemler; ERY=eritromisin; CLI=klindamisin; TET=tetrasiklin; TGC=tigesiklin; RIF=rifampin; CM=kloramfenikol; CIP=siprofloksasin

oranda *nim* genlerinin varlığı belirlense de *nim* genlerinin varlığı ve metronidazol direnci korelasyonunun tam belirlenemediği çalışmalar da mevcuttur. Bazı çalışmalarda jel-elektroforez yöntemi ile *nim* genlerine ait proteinler bakteride saptanmış olmasına rağmen, metronidazol direncine karşı belirlenen MIK değerleri beklenen seviyede olmadığı görülmüştür. Bu da konu ile ilgili bazı araştırmacılar *nim* genlerinin tek başına metronidazol direncine neden olmayacağı düşüncesini oluşturmuştur⁽²⁰⁾.

Ülkemizde *nim* genlerinin saptanması ile ilgili iki farklı çalışma belirlenmiş olup, ilk çalışmada klinik olarak etken olan 66 *Bacteroides* türü incelenmiş, suşların tümü metronidazole duyarlı bulunurken, hiçbirinde *nim* geni saptanmamıştır⁽²¹⁾. Diğer bir çalışmada ise, araştırmacılar Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde izole edilen ilk metronidazole dirençli *B. thetaiotaomicron* izolatında, dizi analizi sonucu *nimE* geni ile %100 benzerlik gösteren bir bölge belirlediklerini bildirmişlerdir⁽²²⁾.

Son 10 yılda ülkemizde yapılan anaerob bakteri izolasyonu ve metronidazole direnç tespiti ile ilgili çalışmalarda farklı sonuçlar ile karşılaştığımız görülmektedir. Doğan ve Baysal⁽²³⁾, 100 klinik örnekten altısı *Bacteroides fragilis*, beşi *Peptostreptococcus* spp. olmak üzere toplam 22 anaerob bakteri izole ettiklerini, bu suşlardan yalnızca birer adet *Clostridium* spp. ve *Lactobacillus acidophilus/lensenii* suşlarını metronidazole dirençli bulduklarını yayımlamışlardır. Demir ve Keşli⁽²⁴⁾, 2018 yılında yayımladıkları ve 2014-2015 yıllarında çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri Gram negatif anaerob basillerin E-test yöntemi ile antibiyotik direnç profillerini sunmayı amaçlamışlardır. Çalışmalarında, izole ettikleri, 14'ü *B. fragilis*, dokuzu *Prevotella* spp, beşi *Fusobacterium* spp. olan suşlarının hiç birinde metronidazole direnç saptadıklarını bildirmişlerdir. Tunçkanat ve ark.'nın⁽²⁵⁾ 2019 yılında yayımladıkları makalede ise, kronik periodontitli hastalardan izole edilen 34 anaerob bakterilerden bir *Veillonella parvula*, dört *Propionibacterium* spp., iki *Prevotella* spp. ve bir *Bifidobacterium* spp. suşlarının metronidazole dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Özcan ve ark.⁽²⁶⁾ 2020 yılında yayımladıkları, 2017-2018 yıllarında izole ettikleri 65 farklı anaerob bakteri suşlarının metronidazole direncini %66 gibi yüksek bir oran olarak bildirmişlerdir.

Anaerob bakterilerde duyarlılık testlerinin rutin olarak yapılması önerilmese de enfeksiyon etkeni olarak belirlenen anaerob bakterilere karşı direnç paternlerinin belirlenmesi ve coğrafi olarak periyodik aralıklarla sunulması ampirik tedavinin yönlendirilmesi açısından önemlidir. Bu anlamda konu ile ilgili ülkemizde yapılan veya planlanan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünüerek konuyu tartışmayı amaçladık.

KAYNAKLAR

1. Edwards DI. Nitroimidazole drug-action and resistance mechanisms. I. Mechanisms of action. J Antimicrob Chemother. 1993;31:9-20.
<https://doi.org/10.1093/jac/31.1.9>
2. Edward DI. Nitroimidazole drug-action and resistance mechanisms. II. Mechanisms of resistance. J Antimicrob Chemother.1993;31:201-10.
<https://doi.org/10.1093/jac/31.2.201>
3. Hernández Ceruelos A, Romero-Quezada LC, Ruvalcaba Ledezma JC, López Contreras L. Therapeutic uses of metronidazole and its side effect:an update. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2019;23(1):397-401.
4. Alauzet C, Lozniewski A, Marchandin H. Metronidazole resistance and *nim* genes in anaerobes: A review. Anaerobe. 2019; 55: 40-53.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.10.004>
5. Dingsdag SA, Hunter N. Metronidazole: an update on metabolism, tructure-cytotoxicity and resistance mechanisms. J Antimicrob Chemother. 2018;73(2): 265-79.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkx351>
6. Breuil J, Dublanchet A, Truffaut N. Transferable 5-nitroimidazole resistance in the *Bacteroides fragilis* group. Plasmid. 1989;21(2):151-4.
[https://doi.org/10.1016/0147-619X\(89\)90060-7](https://doi.org/10.1016/0147-619X(89)90060-7)
7. Haggoud A, Reysset G, Azeddoug H, Sebald M. Nucleotide sequence analysis of two 5-nitroimidazole resistance determinants from *Bacteroides* strains and of a new insertion sequence upstream of the two genes. Antimicrob Agents Chemother. 1994;38(5): 1047-51.
<https://doi.org/10.1128/AAC.38.5.1047>
8. Kangaba AA, Sağlam FY, Tokman HB, Torun M, Torun MM. The prevalence of enterotoxin and antibiotic resistance genes in clinical and intestinal *Bacteroides fragilis* group isolates in Turkey. Anaerobe. 2015;35(Pt B):72-6.
<https://doi.org/10.1016/anaerobe.2015.07.008>
9. Trinh S, Haggoud A, Reysset G, Sebald M. Plasmids pIP419 and pPI421 from *Bacteroides*: 5-nitroimidazole resistance genes and their upstream insertion sequence elements. Microbiology (Reading). 1995;141(Pt 4):927-35.
<https://doi.org/10.1099/13500872-141-4-927>
10. Trinh S, Reysset G. Detection by PCR of the *nim* genes encoding 5-nitroimidazole resistance in *Bacteroides* ssp. J Clin Microbiol. 1996;34(9):2078-84.
<https://doi.org/10.1128/JCM.34.9.2078-2084.1996>
11. Balcıoğlu Cİ, Kurt Ö, Özbilgin A. Antiparaziter ilaçlar. Ankem Derg.2004;18(4):237-44.
12. Lau AH, Lam ND, Piscitelli SC, Wilkes L, Dangizer LH. Clinical pharmacokinetics of metronidazole and other nitroimidazole anti-infectives. Clin Pharmacokinet. 1992;23(5):328-64.
<https://doi.org/10.2165/00003088-199223050-00002>
13. Özaras R, Tabak F, Öztürk R. Antibiyotik kullanımı antibiyotikler III. Akılcı antibiyotik kullanımı ve erişkinlerde toplumdan edinilmiş enfeksiyonlar. Sempozyum Dizisi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikler-Kasım. 2002;31:55-82.
14. Samuelson J. Why metronidazole is active against both bacteria and parasites. Antimicrob Agents Chemother.

- 1999;43(7):1533-41.
<https://doi.org/10.1128/AAC.43.7.1533>
15. Tunçkanat F. Anaerob bakterilerde antibiyotik direnci. Mikrobiyol Bul. 2001;35(1):155-70.
16. Alauzet C, Mory F, Teyssier C, et al. Metronidazole resistance in *Prevotella* spp. and description of a new nim gene in *Prevotella baroniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(1):60-4.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01003-09>.
17. Wybo I, Bossche DV, Soetens O, et al. Fourth Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. J Antimicrob Chemother. 2014;69(1):155-61.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkt344>
18. Katsandri A. Dissemination of nim-class genes, encoding nitroimidazole resistance, among different species of Gram-negative anaerobic bacteria isolated in Athens, Greece. J Antimicrob Chemother. 2006;58(3):705-6.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkl285>
19. Papaparaskevas J, Pantazatou A, Katsandri A, et al. Multicenter survey of the in vitro activity of seven antimicrobial agents, including artemisinin, against recently isolated Gram-negative anaerobic bacteria in Greece. Clin Microbiol Infect. 2005;(11):820-4.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01233.x>
20. Pumbwe L, Weraham DW, Aduse-Opoku J, Brazier JS, Wexler HM. Genetic analysis of mechanisms of multidrug resistance in a clinical isolate of *Bacteroides fragilis*. Clin Microbiol Infect. 2007;13(2):183-9.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01620.x>
21. Toprak NU, Uzunkaya OD, Söki J, Soyletir G. Susceptibility profiles and resistance genes for carbapenems (*cfiA*) and metronidazole (*nim*) among *Bacteroides* species in a Turkish University Hospital. Anaerobe. 2012;18(1):169-71.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.10.004>
22. Toprak NU, Sayın E, Dane F, Söyletir G. Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde izole edilen ilk metronidazole dirençli *Bacteroides* kökeni: *Bacteroides thetaiotaomicron*. Mikrobiyol Bul. 2013;47(4):717-21.
<https://doi.org/10.5578/mb.5064>
23. Doğan M, Baysal B. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerob bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Mikrobiyoloji Bul. 2010;44(2): 211-9.
24. Demir C, Keşli R. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Gram negatif anaerob basillerin tiplendirilmesi ve antibiyotik direnç profillerinin E-test yöntemi ile belirlenmesi. Mikrobiyoloji Bul. 2018;52(1):72-9.
<https://doi.org/10.5578/mb.66175>
25. Tunçkanat F, Sancak B, Altun B, Dursun E, Akdoğan-Kittana FN. Kronik periodontitli hastalardan izole edilen anaerob bakterilerin antibiyotik duyarlılık durumlarının araştırılması. Klinik Derg. 2019;32(3):240-4.
<https://doi.org/10.5152/kd.2019.69>
26. Özcan N, Saat N, Atmaca S. Klinik örneklerden soyutlanan anaerob bakterilerin in vitro antibiyotik duyarlılıkları. Flora. 2020;25(2):245-55.
<https://doi.org/10.5578/flora.68705>