

***Bacteroides fragilis* Grubu İzolatların Klindamisin, Tetrasiklin ve Tigesikline Duyarlılıkları ve Dirençten Sorumlu *tet* ve *ermF* Genlerini Barındırma Durumları**

Antimicrobial Susceptibility of Bacteroides fragilis Group Isolates to Clindamycin, Tetracycline and Tigecycline, and Their Possession of tet and ermF Genes, which are Responsible for Resistance

Bermal Tekeş*[©], Semra Eminoğlu*[©], Elvan Sayın**[©], Nurver Ülger Toprak*[©]

*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

**Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye

Atf/Cite as: Tekeş B, Eminoğlu S, Sayın E, Ülger Toprak N. *Bacteroides fragilis* grubu izolatların klindamisin, tetrasiklin ve tigesikline duyarlılıkları ve dirençten sorumlu *tet* ve *ermF* genlerini barındırma durumları. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2021;51(1):23-32.

Öz

Amaç: Bu çalışmada *Bacteroides fragilis* grubu (BFG) bakterilerin klindamisin, tetrasiklin ve tigesikline direnç durumlarını saptamak, direnç oluşumundan sorumlu direnç genlerinin dağılımını belirlemek amaçlanmıştır.

Yöntem: Hastanemizde Ocak 2017 ile Aralık 2018 tarihleri arasında, çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 82 BFG izolatı MALDI-TOF MS ile tanımlanmış, antimikrobiyallere duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'in önerdiği agar dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Aynı izolatlarda, antibiyotik direnç genlerinden *tetM*, *tetQ*, *tetX*, *tetX1*, *tet36* ve *ermF* varlığı PCR ile araştırılmıştır.

Bulgular: Batın içi absesi (n=36), dokudan biyopsi (n=16), kan (n=14) ve diğer steril vücut sıvıları (n=12) gibi çeşitli klinik örneklerden üretilen 82 BFG izolatı tür düzeyinde; *Bacteroides fragilis* (n=48), *Bacteroides thetaioaomicron* (n=17), *Bacteroides vulgatus* (n=5), *Bacteroides ovatus* (n=4), *Bacteroides caccae* (n=1), *Bacteroides uniformis* (n=1) ve *Parabacteroides distasonis* (n=6) olarak tanımlanmıştır. İzolatların %54,9'u klindamisine, %84,1'i tetrasikline, %4,9'u tigesikline dirençli bulunmuş, tür düzeyinde irdelendiğinde *B. fragilis* suşlarına göre diğer BFG türlerinde direnç daha fazla saptanmıştır. İzolatların yalnızca %7,3'ü bu üç antibiyotiğe birden duyarlılık sergilemiştir. Klindamisine dirençten sorumlu *ermF* geni, genel anlamda izolatların %57,3'ünde saptanmış, *B. thetaioaomicron* türünde %70,6 ile en yüksek oranda bulunmuştur. Diğer direnç genlerinden *tet* pozitiflikleri %18,8'den %66,7'ye değişen oranlarla türler arasında dağılım göstermiştir. Genel anlamda *tetQ* gen pozitifliği diğer *tet* genlerine göre daha fazla bulunmuştur. İzolatların yalnızca %6'sında direnç genlerine rastlanmamıştır.

Sonuç: BFG izolatlarımızın klindamisin, tetrasiklin ve tigesikline direnç durumları ve bu antibiyotiklere direnç gelişiminde önemli role sahip direnç genlerine ait veri sağlanmıştır. Elde ettiğimiz bilgiler, yapmayı hedeflediğimiz BFG türleri içinde veya başka bakteriler arası direnç aktarımı çalışmalarına bir başlangıç oluşturması bakımından önemlidir.

Anahtar kelimeler: *Bacteroides*, klindamisin, tetrasiklin, tigesiklin, *tet* geni, *ermF* geni

ABSTRACT

Objective: We aimed to determine the resistance of *Bacteroides fragilis* group (BFG) bacteria to clindamycin, tetracycline and tigecycline and establish the distribution of related resistance genes.

Method: In total 82 BFG strains, isolated from different clinical samples between January 2017 and December 2018, were identified by MALDI-TOF MS. Their antimicrobial sensitivities to were determined using agar dilution methodology (CLSI; M11-A7). The *tetM*, *tetQ*, *tetX*, *tetX1*, *tet36*, and *ermF* genes were investigated by PCR.

Results: Eighty-two strains of BFG bacteria, isolated from intra-abdominal abscess (n=36), tissue biopsy (n=16), blood (n=14) and other sterile body fluids (n=12), were identified as *Bacteroides fragilis* (n=48), *Bacteroides thetaioaomicron* (n=17), *Bacteroides vulgatus* (n=5), *Bacteroides ovatus* (n=4), *Bacteroides caccae* (n=1), *Bacteroides uniformis* (n=1) and *Parabacteroides distasonis* (n=6). The resistance rates to clindamycin, tetracycline and tigecycline were 54.9%, 84.1%, 4.9%, respectively. Non-B. *fragilis* isolates were more resistant than *B. fragilis* strains. In total, 57.3% of the isolates were *ermF* gene positive, while *B. thetaioaomicron* had the highest rate (70.6%). The *tet* gene positivity ranged from 18.8% to 66.7% among species. The *tetQ* gene positivity was higher than other *tet* genes. The 92.7% of the isolates were resistant to at least one antibiotic, while 94% had at least one resistance gene.

Conclusion: This study provided data on antimicrobial resistance of our BFG isolates to clindamycin, tetracycline and tigecycline and the related resistance genes. However, our information obtained could also be a starting point for further investigation of the antibiotic resistance mechanisms of *Bacteroides* species, as well as, resistance transfer among BFG isolates and other bacteria.

Keywords: *Bacteroides*, clindamycin, tetracyclin, tigecycline, *tet* gene, *ermF* gene

Alındığı tarih / Received:
15.09.2020 / 15.September.2020

Kabul tarihi / Accepted:
19.10.2020 / 19.October.2020

Yayın tarihi / Publication date:
31.03.2021 / 31.March.2021

ORCID Kayıtları

B. Tekeş 0000-0002-2541-2496
S. Eminoğlu 0000-0003-4511-4709
E. Sayın 0000-0002-1320-1704
N. Ülger Toprak 0000-0002-9766-5978

✉ nulger@marmara.edu.tr

GİRİŞ

Anaerob bakteriler mikrobiyotamızın büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Normalde mikrobiyota içinde bir denge halinde bulunan, konak için son derece yararlı olan bu bakteriler vücudun daha iç kısımlarına yayılarak fırsatçı, ciddi, hatta ölümcül enfeksiyonlara yol açabilmektedirler⁽¹⁾. Kolon mikrobiyotasının önemli bir elemanı olan *Bacteroides fragilis* grubu (BFG) bakteriler anaerob enfeksiyonlardan birinci sıklıkta izole edilen organizmalardır⁽²⁾.

Geçmiş yıllarda, aerob ve anaerob bakterilerin birlikte oluşturdukları enfeksiyonların tedavisinde tetrasiklin sıklıkla kullanılmış, klindamisin ve gentamisin kombinasyonu ise altın standart olarak kabul edilmiştir. Ancak, zaten gentamisine intrinsek dirençli olan BFG bakterileri, yıllar içinde tetrasiklin ve klindamisine artan oranda direnç geliştirmişler, bu durum antibiyotiklerin ampirik tedavide kullanımlarını sınırlandırmıştır^(3,4).

Tetrasiklin, piyasaya sürüldükleri 1960'lı yıllarda ucuz, oral kullanılabilirliği ve geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivitesi nedeniyle çoğunlukla gram negatif patojenlerin yol açtığı anaerob enfeksiyonların ampirik tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılmıştır⁽³⁾. Bakteriyostatik etkilidir. Bakteri ribozomunun 30S alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe etmektedir⁽⁵⁾. Sık kullanılmaları sonucu tetrasiklinlere yüksek oranda direnç gelişmiştir. İn vitro çalışmalara göre, BFG grubu izolatların %65'inden fazlası bu antimikrobiyale dirençli bulunmuştur. BFG bakterilerinde tetrasikline direnç, antimikrobiyalın bağlandığı ribozomlarda, yani hedef bölgede değişiklik veya bakteri içine giren tetrasiklinin aktif transportla bakteri dışına atılmasıyla gerçekleşmektedir^(4,6). Tetrasikline dirençli organizmalarda çeşitli *tet* direnç genleri gösterilmiştir. Hedef bölgedeki değişimden *tetQ* geni sorumlu tutulmuştur. *tetQ* geni indüklenebilir ve transfer edilebilir özelliktedir. Tetrasiklin direnç genleri genellikle diğer direnç genleriyle beraber bulunmaktadır^(7,8).

Tetrasikline direnç gelişmesiyle yeni antimikrobi-

yal arayışlarına gidilmiş, yeni nesil tetrasiklinler ve glisilsiklinler geliştirilmiştir. Tigesiklin, 2005 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından lisanslanan minosiklinin bir yarı sentetik türevidir. Yapısal özellikleri nedeniyle tigesiklin, tetrasiklini inaktive eden direnç mekanizmalarından etkilenmez⁽⁹⁾. Komplike karın içi enfeksiyonlarının, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının ve çok antibiyotiğe dirençli organizmalarla anaerobların yaptığı miks enfeksiyonların tedavisinde tigesiklin başarılı sonuçlar vermektedir. Ancak geniş katımlı sürveyans çalışmalarında yüksek minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerine sahip BFG izolatları saptanmıştır^(10,11). Yüksek MİK değerine sahip izolatlarda *tetX* ve *tetX1* genlerinin sıklıkla görülmesinden dolayı, tetrasiklin direncine yol açabilen bu *tet* genlerinin tigesiklinde direnç geliştirme potansiyelinde olabileceği ileri sürülmüştür⁽⁸⁾.

Klindamisin bakteri ribozomunun 50S alt birimine bağlanıp protein sentezini inhibe ederek etkisini gösterir. Ribozomun 50S alt biriminin metilasyona uğramasıyla klindamisine direnç gelişmektedir. Bu hedef bölgenin metilasyonu diğer antibiyotiklere, makrolid/linkozamid streptogramin B'ye (MLS direnci) de direnç gelişmesine neden olur⁽⁵⁾. BFG bakterilerinde klindamisin direnciyle ilişkilendirilen *erm* genleri gösterilmiştir. Merkezlere ve BFG türlerine göre farklılık olmakla beraber %70'lere varan oranda direnç gösterilmiştir^(12,13).

BFG bakteriler diğer anaerob ve aerob bakterilere göre antibiyotiklere daha dirençli organizmalardır⁽⁶⁾. Bu bakterilerde direnç, kromozomlarda mutasyonların oluşması veya direnç genlerinin plazmid ve konjugatif transpozon gibi DNA elementlerinin horizontal aktarımıyla gerçekleşmektedir⁽⁵⁾. Konjugatif transpozonlar *erm* ve *tet* genlerinin aktarımında önemli bir paya sahiptirler. Bir transpozon çok çeşit ve sayıda direnç geni bulundurabilir ve diğer bakterilere aktarılabilir. Farklı direnç geni taşıyan transpozonlar, buldukları bakterilere çok ilaca dirençli olma özelliği kazandırır⁽⁷⁾. Çok antibiyotiğe dirençli *Bacteroides* türlerinin sürekli artış göstermesi gelecekte bu bak-

terilere bağı enfeksiyonların tedavisinde ciddi problemlerin yaşanabileceğini düşündürmektedir⁽¹⁴⁾. Bu nedenle BFG bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık durumlarının yakından takip edilmesi gereklidir⁽¹⁵⁾.

Bu çalışmada hastanemizde, klinik materyallerden izole edilmiş BFG bakterilerin klindamisin, tetrasiklin ve tigesikline duyarlılık profilini belirlemek ve bu antibiyotiklerle ilişkili direnç genlerinin varlığını saptamak hedeflenmiştir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma protokolu Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurulu (No. 17.12.2018-253) tarafından onaylanmıştır.

Çalışma İzolatlarının Belirlenmesi: Marmara Üniversitesi İstanbul Pendik Eğitim ve Araştırma Mikrobiyoloji Laboratuvarına kültür istemiyle gönderilen, çoğu batın içi apsesi (n=32) olmak üzere doku (n=14), kan (n=14) ve diğer vücut sıvıları gibi çeşitli klinik örneklerden izole edilen 82 BFG bakterisi çalışmaya alınmış, tekrarlayan üremelerden birisi çalışmaya dahil edilmiştir. Tablo 2’de izolatların elde edildikleri klinik örnekler göre dağılımı verilmiştir. Tanımlanan izolatlar -80°C’de saklanmıştır. Duyarlılık testi yapılacağı zaman, donmuş bakterilerin koyun kanı, hemin ve K vitaminiyle zenginleştirilmiş Brucella agarda üç kez ardışık olarak anaerop ortamda (“Bactron-I, SHEL LAB Anaerobic Chamber”, ABD; %85 azot, %10 karbondioksit ve %5 hidrojen oluşun gaz karışımı) kültürleri yapılmıştır.

Bakteri İzolatlarının Tanımlanması: Gram negatif boyanma özelliği gösteren, identifikasyon amaçlı kullanılan kanamisin (1000 µg), kolistin (10 µg) ve vankomisin (5 µg) disklerine dirençli, safralı besiyerinde üreyebilen, katalaz aktivitesine sahip, hareketsiz zorunlu anaerop basiller BFG bakterisi olarak değerlendirilmiştir⁽¹⁶⁾. İzolatların tür düzeyinde tanımlanması MALDI-TOF MS; VITEK® MS (bioMérieux, Fransa) ile gerçekleştirilmiştir. Bakterilerin kültüründen birer koloni MALDI-TOF MS slaytına yayıldıktan

sonra üzerlerine 1 µl matris solüsyonu (2,5-dihidroksibenzoik asit ve α-siyano-4-hidroksisinnamik asit) damlatılmış ve kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra slaytlar cihaz içine yerleştirilerek lazer atışlarına maruz bırakılmıştır. Elde edilen kütle spektrumları sistemin V3.0 bilgi veritabanındaki spektrumlarla karşılaştırılarak bakteri tanımlanmıştır. Sistemin kalibrasyonu ve bakterilerin tanımlanma kontrolü için *Escherichia coli* ATCC 8739 kökeni kullanılmıştır.

Antimikrobiyal Duyarlılık Testi: Bakterilerin antimikrobiyallere duyarlılıklarını saptamak için “Clinical & Laboratory Standards Institute” (CLSI) tarafından anaeroplara için önerilen agarda dilüsyon yöntemi kullanılmıştır⁽¹⁷⁾. Klindamisin, tetrasiklin, tigesiklin antimikrobiyalleri (Sigma-Aldrich, St.Louis, Missouri, ABD) çalışılmıştır. Antimikrobiyallerin yarı yarıya seri sulandırılmalarıyla hazırlanmış, hemin, K vitamini ve %5 koyun kanı bulunduran Brucella agar kullanılmıştır. İnokülasyon için taze kültürden 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanmış ve 1/10 oranında dilüe edilmiştir. Elde edilen bakteri sulandırımından 10 µL, antimikrobiyal içeren Brucella agara ekilmiş, plaklar anaerop ortamda 37°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası üremenin inhibe edildiği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilmiştir. İzolatların antimikrobiyallere duyarlılık durumu CLSI klinik sınır değerlerine göre yorumlanmıştır⁽¹⁷⁾. CLSI (M11-A7) kılavuzunda sınır değerleri verilmeyen tigesiklin için ise Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından anaeroplara için önerilen sınır değerleri (duyarlı:<4 µg/ml, orta duyarlı: 8 µg/ml, dirençli: ≥16 µg/ml) temel alınmıştır⁽¹⁸⁾.

Kontrol olarak *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 izolatı kullanılmıştır.

Antimikrobiyal Direnç Genlerinin Saptanması: Bakteri DNA izolasyonu, taze bakteri kültüründen 4-5 koloni alınarak, DNaz, RNaz bulundurmeyen su (300 µL) içinde süspansiyon edilmiş ardından 20 dakika 95°C’de ısıtılarak gerçekleştirilmiştir.

Özgül primerler kullanılarak *tetM*, *tetX*, *tetX1*, *tetQ*,

tet36 ve *ermF* genleri amplifiye edilmiştir. Çalışmada kullanılan primer dizileri ve PCR koşulları Tablo 1'de verilmiştir.

BULGULAR

Bu çalışmaya alınan 82 BFG bakterisi MALDI-TOF MS ile çoğunluğu *Bacteroides fragilis* (n=48) izolatlarından olmak üzere *Bacteroides thetaiotaomicron* (n=17), *Bacteroides vulgatus* (n=5), *Bacteroides ovatus* (n=4), *Bacteroides uniformis* (n=1), *Bacteroides caccae* (n=1) ve *Parabacteroides distasonis* (n=6) şeklinde tür düzeyinde tanımlanmıştır. İzolatların tamamı üzerinden değerlendirildiğinde antimikrobiyallere duyarlılık oranları; klindamisin için %29.3, tetrasiklin için %13.4, tigesiklin için ise %86.6 bulunmuştur. Bu oranlar türlere göre farklılık göstermiş, *B. fragilis* izolat-

larının diğer BFG türlerine göre daha fazla duyarlılık oranına sahip olduğu saptanmıştır. *B. fragilis* izolatlarında klindamisine duyarlılık oranı %41.7 iken diğer türlerde %0 ile %27.3 oranında değişiklikler gözlenmiştir. Benzer durum diğer antimikrobiyal duyarlılık durumları içinde geçerli olmuştur; *B. fragilis* izolatlarında tetrasiklin ve tigesikline duyarlılık oranları sırasıyla %18.6 ve %97.9 iken diğer türler için aynı antimikrobiyallere duyarlılık oranları; tetrasikline %0 ile %11.8 ve tigesikline %64.7 ile %83.3 arasında değişiklik göstermiştir. BFG bakterilerindeki direnç genlerinin varlığı ve dağılımı araştırıldığında direnç oranlarına uyumlu bir şekilde gerek *tet* genlerinin gerekse *erm* geninin *B. fragilis* izolatlarında bulunma oranı diğer türlere göre (*P. distasonis* izolatlarındaki düşük *erm* gen pozitifliği hariç) daha düşük bulunmuştur.

Tablo 1. PCR analizi ile direnç genlerinin saptanması için kullanılan oligonükleotid primerleri ve reaksiyon koşulları.

Gen	Primer dizileri	PCR reaksiyon koşulları
<i>ermF</i>	Fw; 5'- TAGATATTGGGGCAGGCAAG-3' Rw; 5'- GGAAATTGCGGAACTGCAAA-3'	95°C 15 sn, 58°C 60 sn, 72°C 30 sn, 35 X
<i>tetM</i>	Fw; 5'- ATCCTTCTGGGCTTCCATT-3' Rw; 5'- TCCGTCACATTCCAACATA-3'	95°C 15 sn, 59°C 30 sn, 72°C 30 sn, 35 X
<i>tetQ</i>	Fw; 5'- ATCGGTATCAATGAGTTGTT-3' Rw; 5'- GACTGATTCTGGAGGAAGTA-3'	95°C 15 sn, 50°C 30 sn, 72°C 30 sn, 35 X
<i>tetX</i>	Fw; 5'- TTAGCCTTACCAATGGGTGT-3' Rw; 5'- CAAATCTGCTGTTTCATTCG-3'	95°C 15 sn, 55°C 30 sn, 72°C 30 sn, 35 X
<i>tetX1</i>	Fw; 5'- TCAGGACAAGAAGCAATGAA-3' Rw; 5'- TATTCGGGGTTGTCAAAC-3'	95°C 15 sn, 50°C 30 sn, 72°C 30 sn, 35 X
<i>tet36</i>	Fw; 5'- TTTCTGGCAGAGGTAGAACG-3' Rw; 5'- TTAATTCCTGCCTTCAACG-3'	95°C 15 sn, 57°C 30 sn, 72°C 30 sn, 35 X

*NS: P değeri 1'e yakın (0.93)

*TMP/SXT: trimetoprim/sülfametaksazol

Tablo 2. İzolatların elde edildikleri klinik örneklerle göre dağılımı.

<i>Bacteroides fragilis</i> grubu bakteriler	Apse	BİA ^a	Kan	Doku	BOS ^b	Periton sıvısı	Plevra sıvısı	Toplam sayı (n)
<i>Bacteroides fragilis</i>	2	23	7	11	1	3	1	48
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	0	7	4	2	1	1	2	17
<i>Bacteroides vulgatus</i>	1	1	1	1	0	0	1	5
<i>Bacteroides ovatus</i>	0	1	1	1	0	0	1	4
<i>Bacteroides caccae</i>	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Bacteroides uniformis</i>	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Parabacteroides distasonis</i>	1	4	1	0	0	0	0	6
Toplam Sayı (n)	4	36	14	16	2	4	6	82

^aBİA: Batın içi apse, ^bBOS: Beyin omurilik sıvısı

Tablo 3. *Bacteroides fragilis* grubu izolatlarının klindamisin, tetrasiklin ve tigesikline duyarlılık profilleri ve direnç geni bulundurma durumu.

<i>Bacteroides fragilis</i> grubu bakteriler	MİK değerlerine göre antimikrobiyallere duyarlılık durumları (%)									Direnç genlerinin bulunma oranı (%)					
	Klindamisin			Tetrasiklin			Tigesiklin			<i>tetM</i>	<i>tetQ</i>	<i>tetX</i>	<i>tetX1</i>	<i>tet36</i>	<i>ermB</i>
	Duyarlı ≤2 µg/ml	Orta =4 µg/ml	Dirençli ≥8 µg/ml	Duyarlı ≤4 µg/ml	Orta =8 µg/ml	Dirençli ≥16 µg/ml	Duyarlı ≤4 µg/ml	Orta =8 µg/ml	Dirençli ≥16 µg/ml						
<i>Bacteroides fragilis</i> (n=48)	41.7	8.3	50.0	18.8	2.1	77.1	97.9	2.1	0	22.9	43.8	35.4	18.8	25.0	56.3
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> (n=17)	5.9	35.3	58.8	11.8	0	88.2	64.7	23.5	11.8	35.3	58.8	52.9	29.4	23.5	70.6
Diğer <i>Bacteroides</i> türleri ^a (n=11)	27.3	27.3	45.5	0	0	100	72.7	9.1	18.2	54.5	63.6	36.4	36.4	27.3	54.5
<i>Parabacteroides distasonis</i> (n=6)	0	0	100	0	16.7	83.3	83.3	16.7	0	50.0	66.7	50.0	50.0	33.3	33.3
Toplam izolat (n=82)	29.3	15.9	54.9	13.4	2.4	84.1	86.6	8.5	4.9	31.7	51.2	40.2	25.6	25.6	57.3

^aDiğer *Bacteroides* türleri: *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides coccae*

Tablo 4. *Bacteroides fragilis* grubu izolatlarının tetrasiklin, tigesiklin ve klindamisine duyarlılık profiline göre direnç genlerinden *tet* ve *ermF* gen dağılımı.

Antimikrobiyaller	<i>Bacteroides fragilis</i> grubu		Direnç genlerinin bulunma durumu n (%)					
	n (%)	82 (100)	<i>tetM</i>	<i>tetQ</i>	<i>tetX</i>	<i>tetX1</i>	<i>tetX</i>	<i>ermF</i>
Klindamisin								
Duyarlı	24	(100)	6 (25)	9 (37.5)	9 (37.5)	4 (16.7)	5 (20.8)	11 (45.8)
Orta duyarlı	13	(100)	5 (38.5)	7 (53.8)	6 (46.2)	4 (30.8)	4 (30.8)	6 (46.2)
Dirençli	45	(100)	15 (33.3)	26 (57.8)	18 (40)	13 (28.9)	13 (28.9)	30 (66.7)
Tetrasiklin								
Duyarlı	11	(100)	3 (27.3)	3 (27.3)	1 (9.1)	2 (18.2)	1 (9.1)	4 (36)
Orta duyarlı	2	(100)	1 (50.0)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	2 (100)	1 (50.0)
Dirençli	69	(100)	21 (29.4)	39 (54.4)	31 (44.1)	18 (25.0)	20 (26.5)	42 (60.9)
Tigesiklin								
Duyarlı	71	(100)	20 (28.2)	37 (52.1)	28 (39.4)	20 (28.2)	22 (29.6)	40 (56.3)
Orta duyarlı	7	(100)	3 (42.9)	4 (57.1)	4 (57.1)	2 (14.3)	0	6 (85.7)
Dirençli	4	(100)	3 (75.0)	1 (25.0)	1 (25.0)	0	0	1 (25.0)
Toplam direnç geni pozitifliği n (%)			26 (31.7)	42 (51.2)	33 (40.2)	21 (25.6)	21 (25.6)	47 (57.3)

^aDiğer *Bacteroides* türleri: *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides coccae*

Tablo 3'de BFG bakterilerinin antimikrobiyallere duyarlılık durumları ve direnç gen pozitiflik oranları verilmiştir. Tablo 4 ve Tablo 5'de ise BFG izolatlarının antimikrobiyallere duyarlılık profiline göre direnç geni bulundurma ve klinik örneklerdeki duyarlılık durumlarının dağılımı gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada 2017-2018 yıllarını kapsayan iki yıllık

zaman diliminde, Marmara Üniversitesi İstanbul Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda klinik örneklerden izole edilen BFG bakterilerinin klindamisin, tetrasiklin ve tigesiklin antimikrobiyallerine duyarlılıkları agarda dilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır⁽¹⁷⁾. Çalışmamızın sonucunda yedi farklı BFG türü tanımlanmış, bunların farklı antimikrobiyal duyarlılık profili sergilediği görülmüştür. İzolatların yalnızca %7.3'ü çalışılan antimikrobiyallerden hiçbirine direnç göstermemiş, diğer izolat-

Tablo 5. *Bacteroides fragilis* grubu bakterilerinin izole edildikleri klinik örnekler göre klindamisin, tetrasiklin ve tigesikline duyarlılık durumları.

Klinik örnekler n (%)	MİK değerlerine göre antimikrobiyallere duyarlılık durumları Sayı (%)					
	Klindamisin		Tetrasiklin		Tigesiklin	
	Duyarlı ≤2 µg/ml	Duyarlı olmayanlar >2 µg/ml	Duyarlı ≤4 µg/ml	Duyarlı olmayanlar >8 µg/ml	Duyarlı ≤4 µg/ml	Duyarlı olmayanlar >8 µg/ml
Apse ve BAİ ^a 40 (100)	14 (35)	26 (65)	5 (12.5)	35 (87.5)	34 (85)	6 (15)
Dokudan biyopsi ^b 16 (100)	5 (31.2)	11 (68.8)	4 (25.0)	12 (75.0)	15 (93.7)	1 (6.3)
Kan 14 (100)	3 (21.4)	11 (78.6)	1 (7.1)	13 (92.9)	12 (85.7)	2 (14.3)
Diğer steril vücut sıvıları ^c 12 (100)	2 (16.7)	10 (83.3)	1 (8.3)	11 (91.7)	10 (83.3)	2 (16.7)
Toplam izolat 82 (100)	24 (29.3)	58 (70.7)	11 (13.4)	71 (86.6)	71 (86.6)	11 (13.4)

^aBAİ: Batın içi absesi,

^bDokudan biyopsi: Biyopsi örneklerinden ikisi kemik dokusundan alınmıştır,

^cDiğer steril vücut sıvıları: beyin omurilik, plevra ve periton sıvıları

lar en az bir antimikrobiyale dirençli bulunmuştur. Tür düzeyinde direnç profili irdelendiğinde, *B. fragilis* dışındaki izolatların *B. fragilis* izolatlarına göre daha fazla direnç oranına sahip oldukları gözlenmiştir. Aynı şekilde direnç genlerinin de yaygın şekilde bulunduğu, %6'sı dışındaki tüm izolatların en az bir direnç genine sahip olduğu saptanmıştır.

Literatür bilgilerine göre, klinik örneklerden BFG türlerinin izole edilme oranlarında merkezlere göre birtakım farklılıklar gözlenmekle birlikte *B. fragilis* izolatları çoğunluğu oluşturmaktadırlar^(19,20). Bizim çalışmamızda da %58.5 (n=48) oranıyla *B. fragilis* birinci sırada yer almış bunu %20.7 ile *B. thetaiotaomicron* izlemiştir.

Sonuçlarımızı yayımlanmış diğer direnç verileriyle karşılaştırmak istediğimizde değerlendirmede birtakım zorluklar önümüze çıkmıştır. Ülkemizde BFG bakterilerinin antimikrobiyallere duyarlılıklarını araştırarak çok az sayıda çalışma bulunmaktadır⁽²¹⁻²⁴⁾. Dünya verileri incelendiğinde ise, çalışmalarda farklı duyarlılık yöntemlerinin kullanıldığı ya da sonuçları yorum-

lamak için farklı kılavuzların (CLSI veya EUCAST) sınır değerlerinin alındığı gözlenmektedir⁽²⁵⁻²⁷⁾. Bu çalışmada anaerob bakterilerin duyarlılıklarını saptamak için CLSI tarafından önerilen standart yöntem, agar dilüsyon testi uygulanmış, kıyaslama yapabilmek adına daha önceki çalışmada kullandığımız ve CLSI'nın sınır değerleri kullanılmıştır^(17,21).

Anaerob enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan klindamisine zaman içinde artan oranda direnç gelişmiş, ampirik antibiyotik tedavisinde uygulanamaz hale gelmiştir⁽³⁻⁶⁾. Bu çalışmada direnç oranları türlere bağlı olarak %45.5 ile %100 arasında değişmektedir, *B. fragilis* izolatlarında %50.0, *B. thetaiotaomicron* izolatlarında ise %58.8 bulunmuştur. Verilerimizi, merkezimizde 1999-2002 yılları arasında klinik örneklerden ve insan bağırsak mikrobiyotasından izole edilen *B. fragilis* ve *B. thetaiotaomicron* suşlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarıyla karşılaştırdığımızda direnç durumunda belirgin bir artış gözlenmektedir⁽²¹⁾. İlgili çalışmada gerek klinik izolatlar gerekse bağırsak mikrobiyotasında izole edilen *B. fragilis* türlerinde klindamisine direnç oranı

aynı; %36 bulunmuştur. *B. thetaiotaomicron* izolatları için ise klinik izolatlarda direnç %33, bağırsak izolatlarında ise %43 oranlarında saptanmıştır. BFG bakterilerde klindamisine direnç artışındaki benzer durum dünya ülkeleri verilerine de yansımıştır; ABD'de 1981-1989 yıllarında %5 ile %6 iken, 2000-2007 yıllarında %31->%35 değerlerine ulaşmış, Avrupa'da 1988-1989 yıllarında %9 oranı 20 yıl sonra %32.4'e yükselmiş, Kanada'da 1982'de yaklaşık %9 olan direnç oranı ise 2010 yılında %34'e artış göstermiştir⁽²⁵⁻²⁷⁾. Tür bazında yapılan çalışmaları irdelediğimizde, Kuveyt'den bildirilen *B. fragilis* izolatlarına ait klindamisine direnç oranı 2002 yılında %43 iken 2007 yılında %60 bulunmuştur⁽²⁸⁾. En yüksek direnç oran artışı Kore'den; *B. thetaiotaomicron* izolatlarında 1997 yılında %67, 2004 yılında ise %91 olarak bildirilmiştir⁽²⁹⁾. Ülkemizdeki çalışmalar incelendiğinde üç farklı merkezden; Doğan ve ark.⁽²²⁾, %18, Demir ve ark.⁽²³⁾, %28.6 ve Kangaba ve ark.⁽²⁴⁾, %44 oranlarında klindamisine direnç bildirmişlerdir. Literatür verileri değerlendirildiğinde BFG bakterilerinde klindamisine direnç düzeyinin çalışmanın yapıldığı zaman dilimine, ülkelere, antimikrobiyal kullanım politikasına, organizmaların izole edildiği materyal cinsine ve çalışılan bakteri türüne göre farklılık gösterdiği, bununla beraber artan oranda direnç geliştiği gözlenmektedir.

Bir zamanlar anaerob enfeksiyonların tedavisinde birinci seçenek olarak kullanılan tetrasikline zaman içinde BFG izolatlarının üçte ikisinden fazlası direnç geliştirmiştir. Direnç gelişiminde akne tedavisinde tetrasiklinin düşük dozda ve uzun süre kullanılması önemli payı olmuştur. Tetrasikline karşı gelişen yüksek direnç nedeniyle, yalnızca duyarlılık testleri yapılabildiğinde daha az şiddetli enfeksiyonların tedavisinde kullanılması önerilmektedir⁽³⁾. Bu çalışmada türler arasında farklılık olmakla beraber %77 ile %100 arasında değişen tetrasikline direnç saptanmıştır. Direnç oranlarımız daha önceleri ülkemizde elde edilen direnç oranlarına (%43-61) göre daha yüksek bulunmuştur^(27,30).

Tigesiklin, komplike intraabdominal ve komplike deri

ve yumuşak doku enfeksiyonlarının ampirik monoterapisinde endikedir⁽³⁾. Avrupa Tigesiklin Sürveyans Çalışmasında (T.E.S.T.), tigesiklinin *Bacteroides* türlerine metronidazol ve imipenem kadar etkili olduğu saptanmıştır⁽¹⁰⁾. Avrupa çapında planlanan 824 BFG izolatının ele alındığı bu antibiyotik duyarlılık sürveyans çalışmasında, türler arasında bazı farklılıklar (*B. fragilis* için %1.8, *B. vulgatus* için %4.8) olmakla beraber tigesikline ortalama direnç oranı %1.7 bulunmuştur. Zaman içinde Avrupa ülkelerinde %8, ABD'de %5.2, Kore'de %17'lere varan oranlarda direnç artışları bildirilmiştir^(11,31,32). Bu çalışmada izolatlarımızın %4.9'u tigesikline dirençli, orta dirençli olanları da alırsak duyarlı olmayanların oranı %13.4 (n=11) bulunmuştur. *Bacteroides fragilis* harici BFG izolatları *B. fragilis* izolatlarına göre daha fazla oranda direnç sergilemiştir; duyarlı olmayan izolatların altısı *B. thetaiotaomicron* türünden oluşmaktadır. Duyarlı olmayanların yarısından fazlasının batın içi enfeksiyonlarından izole edilmesi, bu enfeksiyonlara karşı monoterapi şeklinde kullanılma endikasyonu bulunan tigesiklin ile enfeksiyon tedavisinde başarısızlıkların yaşanabileceğini akla getirmekte ve ileride bizi bekleyen tehlikenin boyutlarını gözler önüne sermektedir.

Araştırdığımız direnç genlerinin varlığı ve dağılımı irdelendiğinde izolatlarımızın birer direnç gen havuzuna benzerlik gösterdiği, yalnızca %6'sının herhangi bir direnç geni taşımadığı gözlenmiştir. Türler arasında birtakım farklılıklar göstermekle beraber direnç genlerinin varlığı duyarlı olmayan izolatlarda daha yüksek oranda saptanmıştır. Ancak direnç genlerinin varlığı ile antimikrobiyale direnç durumu arasında birebir bağlantı kurulamamıştır. Örneğin *tet* genine sahip olmayan 15 izolatın 11'i tetrasikline dirençli bulunmuştur, bu durum araştırdığımız direnç genlerinin dışında başka mekanizmalarının direnç gelişiminden sorumlu olabileceğini akla getirmektedir. Diğer yandan tetrasikline duyarlı olan 11 izolatın 9'unda en az bir çeşit *tet* geni saptanmıştır, bu *tet* genlerinin ekspresyon olmadığını veya mutasyonla aktivitesini kaybettiği anlamına gelebilir.

Tigesikline duyarlı olmayan (MİK \geq 8 μ g/ml) 11 izola-

tın *tet* genlerinin dağılımı incelendiğinde, hiçbirinde *tet36* geni saptanmamış, izolatların birisi hariç diğerlerinde en az bir çeşit *tet* geni saptanmıştır. Bu genlerden *tetM* altı, *tetQ* beş, *tetX* dört ve *tetX1* bir BFG izolatında bulunmuştur. Bartha ve ark.⁽⁸⁾, yaptıkları bir çalışmada, tigesikline duyarlı olmayan 12 izolatın tamamında *tetQ* geni, %15'inde *tetX*, %75'inde ise *tetX1* geni tespit edilmiş, bu oranlar tigesikline duyarlı olan 15 izolat için ise sırasıyla %75,%13 ve %46 bulunmuştur. Araştırmacılar direnç oluşumunda *tet* genlerinin önemli rolü olabileceğini vurgulamışlardır. Çalışmamızda tigesikline duyarlı olmayan izolatların 7'sinde *ermF* geni de saptanmıştır.

Sonuçlarımıza göre *ermF* gen varlığı ve dağılımı irdelendiğinde, izolatlarımızın %57'sinin *erm* genine sahip olduğu, en yüksek oranın (%70.6) *B. thetaiotaomicron* izolatlarında bulunduğu saptanmıştır. Merkezimizden izolatların da yer aldığı Avrupa ülkelerini kapsayan bir çalışmada *ermF* gen pozitifliği ülkelere göre %12.5 ile %50 arasında değişiklik göstermiş, bize ait izolatların *ermF* pozitifliği ise %56.3 bulunmuştur⁽³³⁾. Türkiye'den yapılan bir çalışmada ise bizim sonuçlarımıza yakın değerlerde, %58 oranında pozitiflik saptanmıştır⁽²⁴⁾. Klindamisine duyarlılık durumuyla *erm* gen varlığının arasındaki bağlantı irdelendiğinde, klindamisine dirençli 15 izolatımızda *ermF* geni saptanamamıştır, bu durum diğer *erm* direnç genleriyle veya başka mekanizmalar ile gerçekleşmiş olabileceğini düşündürmektedir. Literatür bilgilerine göre BFG izolatlarında en yaygın *ermF* genin bulunduğu bildirilmiştir, bu bilgi göz önüne alınarak çalışmamızda *erm* direnç genlerinden *ermF* geninin varlığını araştırılmıştır. Diğer yandan *ermF* geni taşıdığı halde klindamisine duyarlı 11 izolat tespit edilmiştir. Bu sessiz genler indüklenebilir klindamisin direncini işaret ediyor olabilir. Klindamisin deri ve yumuşak doku anaerop enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan uygun bir seçenektir, ancak indüklenebilir MLSB direnci bu ilacın etkisini sınırlamaktadır⁽⁵⁾. Anaeroplar için indüklenebilir klindamisin direncini saptamak adına yapılan eritromisin ile indüksiyon testi henüz standart hale getirilmediği için, izolatlarımızın indüklenebilir dirence sahip olup olmadığını test edilmemiştir⁽¹²⁾.

Sonuçlarımızdan bir diğer çarpıcı veri, izolatlarımızın %48.8'inin *ermF* geni ile birlikte en az bir *tet* genini de taşıyor olmasıdır. Bu genlerin birlikte bulunması izolatlarımızda CTnDOT benzeri *Bacteroides* konjugatif transpozonun var olduğunu düşündürmektedir. CTnDOT taşıyan BFG izolatların varlığında, makrolid, klindamisin veya tetrasiklin kullanılması halinde dirençli izolatların seçilmesi baskın hale gelmeleri söz konusu olacaktır⁽³⁴⁾.

Konjugatif transpozonlar BFG türleri arasında direnç gen aktarımında önemli role sahiptirler. Transpozonlar bakteriler arasında geçiş yaparken aynı zamanda direnç plazmitlerini ve diğer mobilize edilebilir ve dirençte rol alan DNA elemanlarının aktarımını ve bunların kodladığı proteinlerin eksprese olmasını da tetiklemektedirler. Bunun sonucunda diğer antimikrobilyallere direnç gelişmesine yol açan genlerin bakteriler arasında yayılmasına da sebep olabilmektedirler⁽³⁴⁾. Nitekim, merkezimizde daha önce yapılan bir çalışmada, her ne kadar moleküler yönden mekanizması araştırılmamış olsa da, klindamisine dirençli *Bacteroides* izolatlarının tetrasiklinin yanısıra piperasilin ve sefoksitine de anlamlı derecede direnç göstermeleri yukarıdaki varsayıma göre açıklanabileceği kanısındayız⁽³⁰⁾.

Özetle, bu çalışmada BFG izolatlarımızın klindamisin, tetrasiklin ve tigesikline direnç durumları ve bu antibiyotiklere direnç gelişiminde önemli role sahip direnç genlerine ait veri sağlanmıştır. Gerek tetrasiklinin gerekse klindamisin ampirik tedavide kullanılmayacağı, ancak duyarlılık test sonuçlarına göre duyarlı BFG bakterilerinin oluşturduğu hafif enfeksiyonlarda bu antimikrobilyallerin seçilebileceği aşıkardır. Çalışmamızda bu antimikrobilyallerin tedavide kullanılabilirliğini belirlemekten çok izolatların taşıdıkları direnç genleri, direnç genlerinin izolatlar arasında yayılım potansiyelini görmek daha anlamlı olmuştur. Elde ettiğimiz bilgiler, yapmayı hedeflediğimiz BFG türleri içinde veya başka bakteriler arası direnç aktarımı çalışmalarına bir başlangıç oluşturması bakımından önemlidir.

Etik Kurul Onayı: Çalışma protokolu Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurulu (No. 17.12.2018-253) tarafından onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje No. SAG-C-YLP-100719-0260).

Ethics Committee Approval: The study protocol was approved by the Marmara University Institute of Health Sciences Ethics Committee (No. 17.12.2018-253).

Conflict of Interest: There is no conflict of interest between the authors.

Funding: Marmara University Scientific Research Projects Unit (Project No. SAG-C-YLP-100719-0260).

KAYNAKLAR

1. Finegold SM. Anaerobic bacteria: general concepts. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious diseases. 5th ed. Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2000:2519-36.
2. Wexler HM. *Bacteroides*: the good, the bad, and the nitty-gritty. Clin Microbiol Rev. 2007;20(4):593-621. <https://doi.org/10.1128/CMR.00008-07>
3. Brook I. Antimicrobial treatment of anaerobic infections. Expert Opin Pharmacother. 2011;12(11):1691-707. <https://doi.org/10.1517/14656566.2011.576672>
4. Boyanova L, Kolarov R, Mitov I. Recent evolution of antibiotic resistance in the anaerobes as compared to previous decades. Anaerobe. 2015;31:4-10. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.05.004>
5. Hecht DW. Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments. Clin Infect Dis. 2004;39(1):92-7. <https://doi.org/10.1086/421558>
6. Schuetz AN. Antimicrobial resistance and susceptibility testing of anaerobic bacteria. Clin Infect Dis. 2014;59(5):698-705. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu395>
7. Bacic M, Parker AC, Stagg J, et al. Genetic and structural analysis of the *Bacteroides* conjugative transposon CTn341. J Bacteriol. 2005;187(8):2858-69. <https://doi.org/10.1128/JB.187.8.2858-2869.2005>
8. Bartha NA, SÓki J, Urbán E, Nagy E. Investigation of the prevalence of *tetQ*, *tetX* and *tetX1* genes in *Bacteroides* strains with elevated tigecycline minimum inhibitory concentrations. Int J Antimicrob Agents. 2011;38(6):522-5. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.07.010>
9. Livermore DM. Tigecycline: what is it, and where should it be used? J Antimicrob Chemother. 2005;56(4):611-4. <https://doi.org/10.1093/jac/dki291>
10. Nagy E, Dowzicky MJ. In vitro activity of tigecycline and comparators against a European compilation of anaerobes collected as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST). Scand J Infect Dis. 2010;42(1):33-8. <https://doi.org/10.3109/00365540903244543>
11. Goldstein EJ, Citron DM, Merriam CV, Warren YA, Tyrrell KL, Fernandez HT. Comparative in vitro susceptibilities of 396 unusual anaerobic strains to tigecycline and eight other antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(10):3507-13. <https://doi.org/10.1128/AAC.00499-06>
12. Johnsen BO, Handal N, Meisal R, Bjørnholt JV, Gaustad P, Leegaard TM. *erm* gene distribution among Norwegian *Bacteroides* isolates and evaluation of phenotypic tests to detect inducible clindamycin resistance in *Bacteroides* species. Anaerobe. 2017;47:226-32. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.06.004>
13. Eitel Z, SÓki J, Urbán E, Nagy E; ESCMID Study Group on Anaerobic Infection. The prevalence of antibiotic resistance genes in *Bacteroides fragilis* group strains isolated in different European countries. Anaerobe. 2013;21:43-9. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.03.001>
14. Cooley L, Teng J. Anaerobic resistance: should we be worried? Curr Opin Infect Dis. 2019;32(6):523-30. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000595>
15. Nagy E, Schuetz A. Is there a need for the antibiotic susceptibility testing of anaerobic bacteria? Anaerobe. 2015;31:2-3. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.11.002>
16. Jousimies-Sommer H, Summanen P, Citron DM, Baron EJ, Wexler HM, Finegold SM. Wadsworth-KTL Anaerobic Bacteriology Manual. 6th ed. Star Publishing Company, Belmont, California, ABD, 2002.
17. CLSI. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. Approved Standards, M11-A7. 2007, 7th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute. Pennsylvania, ABD.
18. Tygacil®, 2010 Federal Drug Administration, Product Information. Pfizer Inc. Collegeville, PA, ABD.
19. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical Microbiology. Çeviren: Us AD, Başustaoğlu A. Tıbbi Mikrobiyoloji. 7.baskı, Pelikan Yayıncılık Ltd. Şti.,

- Ankara; 2016:258-64.
20. Citron DM, Poxton IR, Baron EJ. *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* and Other Anaerobic Gram Negative Rods. In: Manual of Clinical Microbiology. 9th ed, Eds: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, Washington, ASM. 2007:911-32.
 21. Ulger Toprak N, Celik C, Cakici O, Soyletir G. Antimicrobial susceptibilities of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides thetaiotaomicron* strains isolated from clinical specimens and human intestinal microbiota. *Anaerobe*. 2004;10(5):255-9.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2004.05.005>
 22. Doğan M, Baysal B. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen anaerob bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2010;44(2):211-9.
 23. Demir C, Keşli R. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen gram-negatif anaerob basillerin tiplendirilmesi ve antibiyotik direnç profillerinin E-test yöntemi ile belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2018;52(1):72-9.
<https://doi.org/10.5578/mb.66175>
 24. 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/j.anaerobe.2015.07.008>
 25. Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, et al. Lessons learned from the anaerobe survey: historical perspective and review of the most recent data (2005-2007). *Clin Infect Dis*. 2010;50(Suppl 1):S26-33.
<https://doi.org/10.1086/647940>
 26. Nagy E, Urbán E, Nord CE; ESCMID Study Group on Antimicrobial Resistance in Anaerobic Bacteria. Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(3):371-9.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03256.x>
 27. Karlowsky JA, Walkty AJ, Adam HJ, Baxter MR, Hoban DJ, Zhanel GG. Prevalence of antimicrobial resistance among clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group in Canada in 2010-2011: CANWARD surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(3):1247-52.
<https://doi.org/10.1128/aac.05823-11>
 28. Jamal W, Shahin M, Rotimi VO. Surveillance and trends of antimicrobial resistance among clinical isolates of anaerobes in Kuwait hospitals from 2002 to 2007. *Anaerobe*. 2010;16(1):1-5.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2009.04.004>
 29. Roh KH, Kim S, Kim CK, et al. Resistance trends of *Bacteroides fragilis* group over an 8-year period, 1997-2004, in Korea. *Korean J Lab Med*. 2009;29(4):293-8.
<https://doi.org/10.3343/kjlm.2009.29.4.293>
 30. Ülger Toprak N, Çakıcı Ö, Çelik C, Söyletir G. Klindamisine dirençli *Bacteroides fragilis* ve *Bacteroides thetaiotaomicron* kökenlerinin diğer antibiyotiklere çapraz direnci. *Flora Derg*. 2005;10(1):14-9.
 31. Snyderman DR, Jacobus NV, McDermott LA, et al. Trends in antimicrobial resistance among *Bacteroides* species and *Parabacteroides* species in the United States from 2010-2012 with comparison to 2008-2009. *Anaerobe*. 2017;43:21-6.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.11.003>
 32. Lee Y, Park YJ, Kim MN, Uh Y, Kim MS, Lee K. Multicenter study of antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in Korea in 2012. *Ann Lab Med*. 2015;35(5):479-86.
<https://doi.org/10.3343/alm.2015.35.5.479>
 33. Sóki J, Wybo I, Hajdú E, et al. A Europe-wide assessment of antibiotic resistance rates in *Bacteroides* and *Parabacteroides* isolates from intestinal microbiota of healthy subjects. *Anaerobe*. 2020;62:102182.
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2020.102182>
 34. Waters JL, Salyers AA. Regulation of CTnDOT conjugative transfer is a complex and highly coordinated series of events. *mBio*. 2013;4(6):e00569-13.
<https://doi.org/10.1128/mBio.00569-13>