

ÖZGÜN ARAŞTIRMA

Adana-Tufanbeyli Yol Hattındaki Çeşme Sularından İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Antibiyotik Dirençlerinin İncelenmesi

Evaluation of Antibiotic Resistance of Gram Negative Bacteria Isolated from Adana-Tufanbeyli Road Line Tap Water

Sayım Aktürk¹, Fatih Matyar², Sadık Dinçer¹

¹Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, ²Çukurova Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen ve Teknoloji Öğretmenliği Adana

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada Adana-Tufanbeyli yol hattındaki 15 farklı çeşme suyundan izole edilen Gram negatif bakterilerin mevsimsel olarak dağılımı ve antibiyotik direncinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İzole edilen 269 bakterinin 13 farklı antibiyotiğe karşı direnci agar difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır.

Bulgular: Tüm örneklerden izole edilen izolatlar arasında en sık rastlanılanı *Proteus vulgaris*'tir (% 44.5). Daha sonra *Escherichia coli* (% 25.6), *Pseudomonas aeruginosa* (% 18.9) ve *Citrobacter* türleri (% 10.4) izole edilmiştir. İzole edilen bakteriler arasında en yüksek direnç sefalotin'e (% 68.6) ve ampisilin'e (% 52.1) karşı görülürken en düşük direnç amikasin'e (% 0.95) gentamisin'e (% 1.2) ve tobramisin'e (% 2.5) karşı bulunmuştur. Çoklu antibiyotik dirençliliği (ÇAD) değerleri 0.23'ten 0.69'e kadar değişmektedir.

Sonuç: Adana - Tufanbeyli yol hattındaki içme sularının önemli sayılabilecek düzeyde dirençli mikroorganizmalar ile kirlenmeye maruz kaldığı gerekli önlemler alınmadığı takdirde zamanla halk sağlığı açısından daha ciddi problemler oluşturabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Çeşme suları, gram negatif bakteriler, çoklu antibiyotik direnci

SUMMARY

Objective: This study was aimed to determine the seasonal distribution and antimicrobial resistance of Gram negative bacteria isolated from Adana-Tufanbeyli road line tap water.

Materials and Methods: The susceptibilities of 269 Gram-negative bacterial isolates to 13 different antimicrobial agents were investigated by agar diffusion method.

Results: The most common strains isolated from all samples were *Proteus vulgaris* (44.5%), followed by *Escherichia coli* (25.6%), *Pseudomonas aeruginosa* (18.9%) and *Citrobacter* species (10.4%). There was a high rate of resistance to cephalothin (68.6%) and ampicillin (52.1%), and a low rate of resistance to amikacin (0.95%), gentamicin (1.2%) and tobramycin (2.5%). Multiple antibiotic resistance index values ranged from 0.23 to 0.69.

Conclusion: Adana-Tufanbeyli road line tap water contaminated important level of resistant microorganisms which were caused serious health problem was the conclusion of this study.

Key Words: Tap water, gram negative bacteria, multi drug resistance

GİRİŞ

Canlıların yaşamı açısından hayati önem arz eden su, dünya üzerinde doğal olarak bulunan en yaygın kaynaktır. Yeryüzünün %75'i, insan vücudunun %70'i, kanın %78'i sudur (1). Su uygarlığın gelişimi boyunca çok farklı amaçlarla kullanılmıştır. Yirminci yüzyılın başında başlayan hızlı sanayileşme, kentleşme ve nüfus artışı, doğal kaynaklar üzerindeki kullanım baskısının artmasına, beraberinde çevre kirliliği olarak adlandırılan insan yaşamını ve çevresini tehdit eden büyük bir tehlikenin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Çevreye verilen katı ve sıvı atıkların çeşidinin ve miktarının günden güne artması; toprak, hava ve su kirliliğine neden olmaktadır. Su kirliliği, su kalitesinin fiziksel, kimyasal ve biyolojik niteliklerinin suyun herhangi bir kullanımını sınırlandıracak şekilde değişim göstermesi olarak tanımlanabilir. Sudaki kirlenme bir su yatağına herhangi bir kirleticinin fazla miktarda girmesi sonucu oluşan bir durumdur (2).

Su kirleticileri arasında bazı virüsler, hastalık yapıcı bakteriler, yüksek miktardaki metaller, bazı radyoaktif izotoplar, deterjanlar, fosfor, azot ve sodyum gibi mineral maddeler sayılabilir (3). İçme ve kullanma suyunda bulunan kirletici maddeler zemine sızan kirli suların ve özellikle iyi inşa edilmemiş kanalizasyon sistemlerinden karışabilir (4). Ayrıca iyi bir şekilde korunmamış memba suları ve kuyular, çevredeki ziraat sahalarından ve fosseptik çukurlarından sızan pis sularla kirlenebilir (5).

İçme sularının mikroorganizma yükü ve bu mikroorganizmaların antibiyotik direnci halk sağlığı açısından önem arz etmektedir. Memelilerin barsak florasında yaşayan koliform grubu bakterilerin içme suyunda bulunması, bir ya da daha fazla aşamada doğrudan ya da dolaylı olarak suya lağım ile dışkı bulaştığının göstergesidir

(6). Ayrıca içme suyundan izole edilen bakterilerde çoklu antibiyotik direncinin olması bulaşın antibiyotik kullanımı yoğun olan bir yerden olduğunu göstermesi açısından önemlidir (7,8).

Bu çalışmada da Adana-Tufanbeyli yol hattındaki çeşme sularından izole edilen gram negatif bakterilerin tiplendirilmesi, antibiyotik direnç özelliklerinin belirlenmesi ve çoklu antibiyotik direnci taşıyan bakterilerin tespiti amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Adana- Tufanbeyli yol hattındaki 15 farklı çeşme suyundan Nisan 2008-Ocak 2009 tarihleri arasında mevsimsel olarak 4 kez numune alınmıştır. Tablo 1 'de numune alınan çeşmelerin GPS (Global Positioning System; Küresel Konumlama Sistemi) aletinden alınan koordinatları verilmiştir. Su örnekleri (100 ml) steril şişelere alınarak soğuk zincir korunarak laboratuara getirilmiştir. İki yüz altmış dokuz izolat standart mikrobiyolojik yöntemlerle tanımlanarak antibiyotik hassasiyeti CSLI M2-A6 referansına göre disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. (9,10). On üç farklı antibiyotik diski ile bakterilerin direnç oranları araştırılmıştır. Tüm

Tablo 1. Numune alınan çeşmelerin koordinatları

İst.	Koordinatları	Mevki
1	K 38° 15.793' D 36° 13.819'	Toprak Pınar /Tufanbeyli
2	K 38° 15.882' D 36° 13.275'	Beş oluk /Tufanbeyli
3	K 38° 15.324' D 36° 13.032'	BüyükTopuklu/Tufanbeyli
4	K 38° 13.856' D 36° 14.033'	Pınarlar Köyü /Tufanbeyli
5	K 38° 01.321' D 36° 06.323'	Obruk /Saimbeyli
6	K 37° 55.096' D 36° 04.682'	Gürleşen Köyü /Saimbeyli
7	K 37° 51. 852' D 36° 02.577'	Aynalı Çeşme /Saimbeyli
8	K 37° 52.218' D 35° 59.170'	Yeşilvadi Köyü /Saimbeyli
9	K 37° 48.158' D 35° 54.349'	Fekede İlçesi çıkışı
10	K 37° 44.475' D 35° 53.465'	Akkaya köyü /Fekede
11	K 37° 41.184' D 35° 63.381'	Çuluşağı Köyü /Kozan
12	K 37° 35.923' D 35° 50.582'	Horzum Yaylası /Kozan
13	K 37° 34.110' D 35° 50.010'	Suluhan Yaylası/Kozan
14	N 37° 33.023' D 35° 50.130'	Dağlıkcağ Mesire Yeri/ Kozan
15	K 37° 10.205' D 35° 33.631'	Hakkıbeyli Köyü /Adana

izolatların çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi, test organizmasının dirençli olduğu antibiyotik sayısının toplam denenen antibiyotik sayısına oranı ile hesaplanmıştır (a/b). Burada 'a' izolatın dirençli olduğu antibiyotik sayısını, 'b' ise izolatın maruz bırakıldığı antibiyotik sayısını temsil eder. Hesaplanan ÇAD indeksi eğer 0.2'den daha büyükse organizmanın yoğun antibiyotik kullanılan bir kaynaktan geldiği, 0.2'ye eşit veya daha küçük ise, antibiyotiğin hiç kullanılmadığı ya da az kullanıldığı bir ortamdan kaynaklandığı edildiği kabul edilmiştir (11).

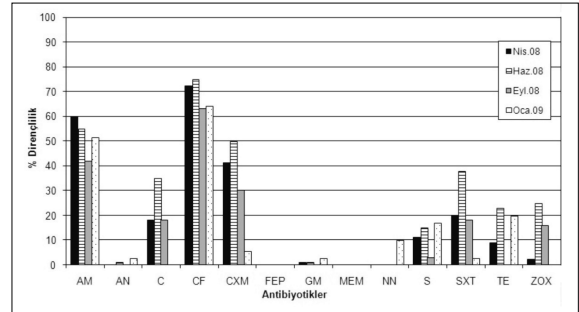
BULGULAR

Tablo 2'de izole edilen bakteriler ve mevsimsel dağılım görülmektedir. En fazla izole edilen bakteri *Proteus vulgaris*'dir. *Escherichia coli*'nin en çok izole edildiği mevsim ilkbahar; *P. vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Citrobacter* türlerinin en çok izole edildiği mevsim sonbahar olarak tespit edilmiştir (Tablo 2).

Denenen 13 farklı antibiyotiğe direnç karşılaştırıldığında izole edilen bakteriler arasında en çok direnç sefalotin (% 68.6) ve ampisilin'e (% 52.1) karşı tespit edilmiştir. En düşük direnç ise amikasin'e (% 0.95) gentamisin'e (% 1.2) ve tobramisin'e (% 2.5) karşı bulunmuştur. Karbapenem sınıfından olan meropeneme ve dördüncü kuşak sefalosporin sınıfından olan sefepime karşı hiçbir bakteri direnç göstermemiştir. Mevsimsel olarak ise sefazolin (%72.2) ve ampisilin'e karşı (%60) bahar mevsiminde izole edilen bakterilerde dirence rastlanılmıştır (Şekil 1).

Tablo 2. İzole edilen bakterilerin mevsimsel dağılımı

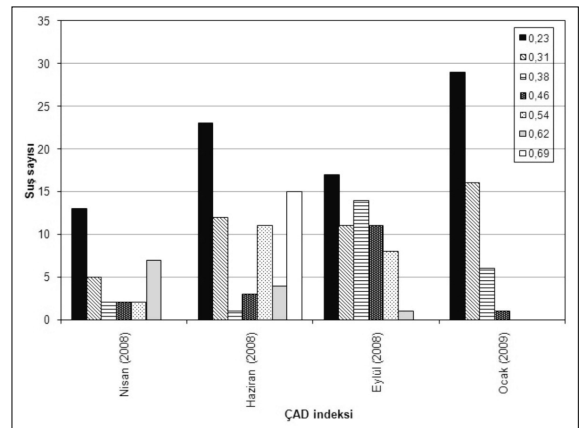
	Nisan 2008	Haziran 2008	Eylül 2008	Ocak 2009	Toplam (%)
<i>Escherichia coli</i>	38	15	6	10	69 (25.6)
<i>Citrobacter</i> türü	-	10	13	5	28 (10.4)
<i>P. vulgaris</i>	18	38	39	26	121 (45)
<i>P. aeruginosa</i>	5	8	29	9	51 (19)
Toplam (%)	61 (22.7)	71 (26.4)	87 (32.3)	50 (18.6)	269 (100)



Şekil 1. İzole edilen bakterilerin mevsimlere göre antibiyotik direnci

AM: Ampisilin, AN: Amikasin, C: Kloramfenikol, CF: Sefalotin, CXM: Sefuroksim, FEP: Sefepim, GM: Gentamisin, MEM: Meropenem, NN: Tobramisin, S: Streptomisin, SXT: Trimethoprim-sülfametazol, TE: Tetrasiklin, ZO: Seftizoksim

Çalışmada elde edilen bakterilerin çoklu antibiyotik direnci 0.23'ten 0.69'e kadar değişmektedir. ÇAD indeksi yaz mevsiminde 0.23-0.69 aralığında bulunmuşken, bahar ve sonbahar mevsiminde 0.23-0.62 aralığında ve kış mevsiminde ise 0.25-0.46 aralığında tespit edilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. İzole edilen bakterilerin mevsimlere göre çoklu antibiyotik direnci (ÇAD)

TARTIŞMA

Çalışmamızda izole edilen bakterilerin çoğunluğu *P. vulgaris* (% 45) olarak tespit edilmiştir. *Proteus* cinsi bakteriler toprakta, suda ve dışkıyla kirlenmiş materyallerde bulunurlar (12). *Proteus* cinsi bakterilerin neden olduğu boşaltım sistemi enfeksiyonları tedavisi güç bakteriyemiye neden olabilir. Böyle hastalarda ölüm oranı %15-88 arasında değişebilmektedir. Bu bakteriler ayrıca; menenjit, organ apseleri, özellikle yeni doğanlarda göbek kordonu enfeksiyonlarına neden olabilmektedirler (12). Bu bakterinin içme suyunda bulunması halk sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Ayrıca çalışmamızda izole edilen bakteriler arasında bulunan *Escherichia coli* (%25.6) ikinci sıradadır. *Escherichia coli* insanlar ve hayvanlar için patojen olup, kanlı ve kansız diyare şeklinde ortaya çıkan barsak hastalıklarına neden olur (13). Barsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri ve çeşitli klinik tablolara yol açmaları sık görülen durumlardır. Özellikle idrar yolları, safra kesesi ve safra yolları, akciğer, periton ve meninklere ulaşan *Escherichia coli* bakterileri önemli hastalıklara yol açarlar (14). Hızlı şehirleşme içilebilir suyun kalitesini dünya genelinde hızla azaltmakta ve bunu önlemek için pek fazla önlem alınmamaktadır (15). Parent ve ark. (16) içme suyu dağıtım sistemlerinde *Escherichia coli* gelişimini incelenmiştir. *Escherichia coli*'nin yetersiz su arıtımı, arıtma sonrası kontaminasyon ve dağıtım sisteminde kendiliğinden üreyebileceği düşünülmüştür. Bu üç hipotezi doğrulamak için pilot bir sistem kullanarak deneyler yapılmıştır. Deney sonucunda dağıtım sistemlerinde *Escherichia coli* oranında artış görülmüş ve biyofilm tabakası arasındaki sınırlı reaksiyon ve klorun boru malzemesi tarafından tüketilmesinin bir sonucu olarak, boru materyalinin içerisinde bulunan biofilm tabakasının

klorla dezenfeksiyon işlemi ile yok edilmesinin süspansel haldeki bakterilerden yok edilmesinden çok daha zor olduğunu saptamışlardır. Köksal ve ark. (17) yaptıkları bir araştırmada, İstanbul içme sularını bakteriyolojik yönden incelemişler, ham suların %46'sında *Escherichia coli* tespit etmişlerdir.

Pseudomonaslar doğada özellikle sucul ortamlarda sık rastlanılan Gram negatif bakterilerdir. *P. aeruginosa* hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu patojenler arasında üçüncü sırada yer almaktadır (18).

Sucul ortamlarda antibiyotiklere dirençli *Enterobacteriaceae* grubuna ait bakterilerin mevcudiyeti dünya genelinde sorun teşkil etmektedir (19). Özellikle sucul ortamlarda bakteriler arasında yıllar boyu süregelen gen alışverişi bu sorunu daha da önemli kılmaktadır. Artan çevre kirliliği baskısı bakterilerin çeşitli antibiyotiklere karşı olan direncini artırıyor olabilir. Bazı patojenlerde artan antibiyotik direnci dünya genelinde artan bir öneme sahiptir (20). Durmaz ve arkadaşları (21), *Enterobacteriaceae* üyeleriyle yaptıkları çalışmada *Escherichia coli* için seftazidim, imipenem, sefotaksim, seftriakson, ve sefoksitin'in *Enterobacter* türleri için imipenem, sefotaksim'in; *Proteus* türleri için imipenem, sefotaksim, seftazidim ve seftriakson'un; *Citrobacter* türleri için imipenem ve seftazidim'in ve *Pseudomonas* türleri için sefaperazon-sulbaktam ve imipenem'in en etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

İzole edilen bakterilerin antibiyotik direnci mevsimsel olarak değişmektedir. En çok direnç yaz mevsiminde daha sonra bahar mevsiminde tespit edilmiştir. Parveen ve ark. (22) bölgesel farklılıkların, mevsimsel değişimin ve basıncın antibiyotik direnci üzerinde önemli ölçüde etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmamızda çoklu antibiyotik direnci taşıyan bakterilerin

yaz mevsiminde en fazla bulunduğu açıkça görülmektedir. Bunu bahar mevsimi izlemektedir. Hava sıcaklığının bakterilerin yaşaması ve üremesi için optimum seviyeye geldiği bu mevsimlerde bakteriler arası gen değişim mekanizmalarının devreye girmesi bu durumu tetikleyebilir. Evsel atık sular antibiyotik direnci gösteren organizmaların en önemli kaynaklarından birini oluşturmaktadır. İnsan ve hayvanlar R plazmidlerinin en önemli rezervuarı olduğundan, evsel atıklar çoğunluğu barsak florasından kaynaklı bakteriler içerir ki bunlarda antibiyotiklere direnç gösteren R plazmidleri yaygın olarak bulunur.

Sonuç olarak Adana- Tufanbeyli yol hattındaki içme sularının önemli sayılacak düzeyde dirençli mikroorganizmalar ile kirlenmeye maruz kaldığı, gerekli önlemler alınmadığında halk sağlığı açısından daha ciddi problemler oluşturabileceği düşünülmektedir. Kanalizasyon sistemi olmayan bazı belde ve köylere kanalizasyon sistemi yapılmalı, uygunsuz arazilerde evsel atık sular sızdırmaz foseptiklerde depolanmalıdır. Kuyular, su depoları ve kaynak sularının üzerleri kapatılmalı ve insanlar ve hayvanlar tarafından kirlenmelerini önlemek için etrafı çitle çevrilmelidir. Mikroorganizma ve kimyasal maddelerle kirlendiği tespit edilmiş istasyonlara uyarıcı levhalar asılmalıdır. Yüzeysel su akıntılarının içme sularına ulaşmasını önlemek için akıntıların yönleri değiştirilmeli, helâlar bu su kaynaklarından daha alt rakımlarda ve en az 15 m. uzakta inşa edilmelidir. Hem su hem de kanalizasyon boruları sağlam olmalı ve sık sık bakımları yapılarak eskiyenler değiştirilmelidir. Evsel atık sular antibiyotik direncinin en önemli kaynağını oluşturduğu için akılcı antibiyotik kullanım politikasını uygulayıp antibiyotiklerin aşırı ve yanlış kullanımından kaçınılmalıdır.

İletişim / Correspondence

Fatih Matyar
Çukurova Üniversitesi Eğitim Fakültesi
Fen ve Teknoloji Öğretmenliği
Adana
Tel: 0322 338 60 76
e-mail: fmatyar@cu.edu.tr

Kaynaklar

1. Mutluay H, Demirak A. Su Kimyası. İstanbul: Beta Basım Yayın Dağıtım AŞ, 1996.
2. Karpuzcu M. Çevre Kirlenmesi ve Kontrolü. Gebze Yüksek Teknolojisi Çevre Mühendisliği Bölümü: Kubbealtı Neşriyatı Yayınları, 1994.
3. Akman Y, Ketenoğlu O, Evren H, Kurt L, Düzenli S. Çevre Kirliliği ve Biyolojisi. Ankara: Palme Yayıncılık, 2000.
4. Tickner JA, Geiser K. The precautionary principle stimulus for solution and alternative based. Environ Impact Asses 2004; 24:801-24.
5. Hooda PS, Edwards AC, Anderson HA, Miller A. A review of water quality concerns in livestock farming areas. Sci Total Environ 2000; 250:143-67.
6. Halkman, AK. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Ankara: Başak Matbaacılık Ltd Şti, 2005.
7. Dinçer S, Matyar F, Sönmez N. Seyhan nehrinin fekal kirlilik düzeyi ve fekal koliformların Antibiyotik Hassasiyetleri. 12. Biyoteknoloji Kongresi Kitabı; 15-17 Ekim 2001; Ayvalık-Balıkesir: Türkiye 2001. sayfa.252-5.
8. Aygün G. Erişkinlerde Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Toplumdan edinilmiş Enfeksiyonlar. Sempozyum Dizisi, 2002; 39-54.
9. NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved Standards M2-A6. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 6th ed. Wayne, Pennsylvania, 1997.
10. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Path 1966; 45:493-6.
11. Krumpnerman PH. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. App Environ Microbiol 1985; 46:165-70.
12. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 9. Baskı. İzmir: Fakülter Kitabevi, 1996.
13. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM. Tıbbi Mikrobiyoloji. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd Şti, 2002.

14. Akça MÖ. Gastroenteritli Olgularda Etken Olarak *E.coli* O157:H7 Araştırılması [Uzmanlık Tezi]. Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1994.
15. Orsi RH, Stoppe NC, Sato MIZ, et al. Genetic variability and pathogenicity potential of *Escherichia coli* isolated from recreational water reservoirs. Res Microbiol 2007; 158:420-7.
16. Parent A, Fass S, Dincher ML, Reasoner D, Gatel D, Block JC. Control of coliform growth in drinking water distribution systems. Water Environ J 1996; 10:442-5.
17. Köksal F, Oğuzkan N, Samastı M. İstanbul içme sularının bakteriyolojik yönden incelenmesi: *Aeromonas* sorunu. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2007; 37:164-8.
18. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. Am J Med 1991; 91:72-5.
19. Hirsch R, Terns T, Haberer K, Kratz KL. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. Sci Total Environ 1999; 225:109-18.
20. Matyar F, Kaya A, Dinçer S. Antibacterial agents and heavy metal resistance in gram-negative bacteria isolated from seawater, shrimp and sediment in Iskenderun Bay, Turkey. Sci Total Environ 2008; 407:279-85.
21. Durmaz B, Özerol İH, Şahin K, Tekeroğlu MS, Köroğlu M. *Enterobacteriaceae* Üyesi ve *Pseudomonas* Cinsi Bakterilerin β - Laktam Antibiyotiklere Direnci. Journal of Turgut Özal Medical Center 1997; 4:193-6.
22. Parveen S, Portier KM, Robinson K, Edmiston L, Tamplin ML. Discriminant analysis of ribotype profiles of *Escherichia coli* for differentiating human and nonhuman sources of fecal pollution. Appl Environ Microb 1999; 65:3142-7.