

# Hastane Atık Sularıyla Kontamine Edilen Deniz Suyundan İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Sefalosporin Grubu Antibiyotiklere Karşı Direnç Düzeyleri

Tamer AKKAN \*, Ayşenur KAYA \*\*, Sadık DİNÇER \*\*\*

\* Giresun Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

\*\* Kilis Yedi Aralık Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

\*\*\* Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

## ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada hastane atık suları ile kontamine olan deniz suyundan izole edilen gram negatif bakterilerin sağaltımda yaygın kullanılan sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı direnç düzeyleri incelenmiştir.

**Gereç ve Yöntem:** İzole edilen toplam 85 gram negatif bakterinin VITEK II Compact System ile tiplendirilmesi yapılmış ve sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı direnç oranları belirlenmiştir.

**Bulgular:** Sefazoline karşı %85, sefuroksime karşı %28, sefotaksime karşı %8 ve sefepime karşı %5 oranında direnç bulunmuştur. Ayrıca, izolatların %91'inin çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi referans değer olan 0.2'nin üzerinde saptanmıştır.

**Sonuç:** Bu çalışmada elde edilen veriler, hastane atık sularının deşarj edildiği deniz suyundan izole edilen gram negatif bakterilerin önemli oranda antibiyotik direncine sahip olduğunu ve bunun halk sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturabileceğini göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Gram negatif bakteri, antibiyotik direnci, su kirliliği

## SUMMARY

**Rate of Cephalosporin Resistance in Gram-Negative Bacteria Isolated from Hospital Sewage Contaminated Seawater**

**Objective:** In this study, rates of resistance of gram-negative bacteria isolated from sea water contaminated with hospital waste waters to cephalosporins frequently used in the treatment of gram-negative bacterial infections, were investigated.

**Materials and Methods:** A total of 85 gram-negative bacteria were isolated and identified with VITEK II Compact System and examined for cephalosporin resistance.

**Results:** The rates of resistance to cephazoline, cefuroxime, cefotaxime and cefepime were 85%, 28%, 8% and 5%, respectively. In addition, multidrug resistance index values of 81% of the isolates were higher than the reference value of 0.2.

**Conclusion:** The results of this study have indicated that an important proportion of gram-negative bacteria isolated from sea water contaminated with hospital waste discharge was resistant to cephalosporins and this situation carries a potential risk for public health.

**Key words:** Gram-negative bacteria, antibiotic resistance, water pollution

## GİRİŞ

Kıyıları kendine özgü doğal ortam koşullarıyla (topografya, iklim), insanların tercih ettiği önemli mekanlardan biridir ve bunun sonucu kıyılarda artan nüfus ve yerleşme, ekolojik çevre baskınlarının (kirlenme, aşırı nüfuslanma, su tüketimi) artmasına ve dolayısıyla da kıyı alanlarının degradasyonuna sebebiyet vermektedir<sup>(1)</sup>. Kıyı deniz suları özellikle kanalizasyon atık sularıyla kirlenebilir ve hatta bu ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir<sup>(2)</sup>. Denize atılmaksızın verilen atık sular (evsel, sanayi, kanalizasyon) kolera gibi zararlı mikroorganizmaları deniz suyunda yayılmasına ortam hazırlar ve bunun sonucunda insan ve/veya

Alındığı tarih: 16.11.2010

Kabul tarihi: 25.01.2011

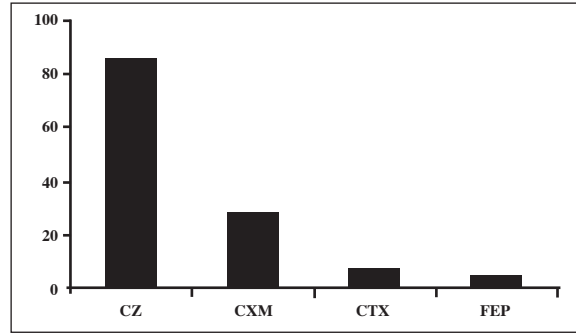
Yazışma adresi: Tamer Akkan, Giresun Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Giresun  
e-posta: biyoloji@yahoo.com

**Tablo 1. İzolatların tür düzeyinde antibiyotik direnç değerleri.**

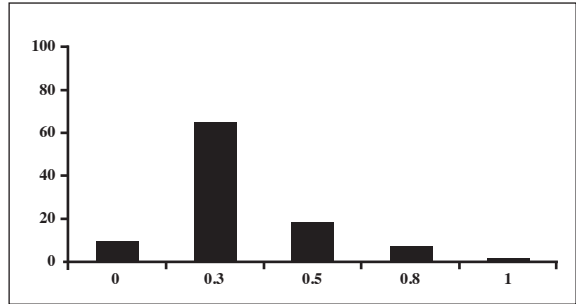
	Dirençli Tür	CZ	CXM	CTX	FEP
<i>Aeromonas salmonicida</i> (20)	Sayısı	16	17	6	2
	%	80	85	30	10
<i>Escherichia coli</i> (16)	Sayısı	15	4	1	0
	%	94	25	6	0
<i>Pantoea agglomerans</i> (2)	Sayısı	1	0	0	0
	%	50	0	0	0
<i>Pantoea türü</i> (1)	Sayısı	0	0	0	0
	%	0	0	0	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (28)	Sayısı	25	0	0	1
	%	89	0	0	4
<i>Pseudomonas luteola</i> (5)	Sayısı	4	0	0	0
	%	80	0	0	0
<i>Pseudomonas stutzeri</i> (3)	Sayısı	2	3	0	1
	%	67	100	0	33
<i>Sphingomonas paucimobilis</i> (10)	Sayısı	9	0	0	0
	%	90	0	0	0

diğer canlıların sağlığını tehdit edebilirler<sup>(3)</sup>. Atık suların herhangi bir arıtma işlemi uygulanmadan çevre sularına katılması, içerdikleri organik maddelerin mikroorganizmalarca parçalanması sonucu çevre sularında doğal yaşam koşullarının bozulmasına neden olurken, içerdikleri çeşitli toksik maddeler ve patojen mikroorganizmalar nedeniyle de insan sağlığı açısından da önemli tehlikeler oluşturabilmektedir<sup>(4,5)</sup>.

Sağaltımda sıklıkla kullanılan sefalosporinler, bakterisid etkilerini penisilinlerde olduğu gibi hücre duvar sentezini inhibe ederek ve otolitik enzimleri aktive ederek gösterirler. Gram negatif bakterilerin hücre duvar yapısı gram pozitif bakterilerle kıyaslandığında daha incedir. Sefalosporinler, peptidoglikan sentezi sırasında gram negatif bakterilerde peptidoglikan tabakayı periplazmik aralık ve lipopolisakkarid tabakadan ayırarak yapısal bütünlüğün bozulmasına neden olur. Otolitik enzimlerin aktivasyonu duvar sentezinin kısa sürede bozulmasına katkıda bulunur<sup>(6)</sup>. Çoğu antibiyotik sınıfları gibi farklı kuşaklardaki sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı gelişen dirençten genellikle plazmidler sorumludur<sup>(7)</sup>. Plazmidler 4-400 kilobazlık sirküler yapıda, çift sarmallı DNA içeren ekstrakromozomal genetik elementlerdir. Bağımsız ve kendi kendilerine çoğalabilirler. Plazmidler bakterilere antibiyotik direnci yanında bakterinin virulansını ve metabolik kapasitesini değiştirebilecek fonksiyonlar da kazandırabilir<sup>(8,9)</sup>. Watanabe<sup>(10)</sup> yaptığı çalışmalarda, antibiyotiklere



**Şekil 1. İzolatların antibiyotik direnç düzeyleri.**



**Şekil 2. İzolatların ÇAD indekslerinin yüzdesi.**

dirençli bakterilerin, konjugasyon sayesinde, diğer bakterilere yeni genetik materyallerini aktarabildiğini ispatlamış olup, bu çalışma temel alındığında bilinçsiz ve/veya gereğinden fazla antibiyotik kullanımının su ekosistemini oluşturan zincirlerde aksaklıklar meydana getirerek geri dönüşü olmayan hasarlara yol açacağı sonucunu doğurmaktadır.

Bu çalışmada hastane atık suları ile kontamine olan deniz suyundan izole edilen gram negatif bakterilerin sağaltımda yaygın kullanılan sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı direnç düzeyleri incelenmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Hastane atık sularının İskenderun Körfezi deniz suyuna deşarj edildiği kıyı şeridi boyunca açık deniz sahasına doğru, güneybatı/doğu istikametinde her 100 m'de bir numune olmak üzere toplam 15 farklı noktadan deniz suyu alınmıştır. Alınan örneklerden seri sulandırma ile McConkey ve EMB agarlara (Merck) yayma tekniği kullanılarak ekimler yapılmış ve izole edilen gram negatif bakteriler VITEK II (BioMérieux, France) otomatize sistem ile tanımlanmıştır<sup>(11)</sup>.

Anti-bakteriyel duyarlılık testleri disk difüzyon yöntemi ile sefazolin (CZ), sefuroksim (CXM), sefotaksim (CTX), sefepim (FEB) diskleri (Becton Dickinson BBL, Md, USA) kullanılarak Mueller-Hinton agar da yapılmıştır <sup>(12)</sup>. Antibakteriyel etkinin doğrulanması için referans suş olarak *Echerichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır <sup>(13)</sup>.

Yapılan çalışmalarda çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeks değerleri >0.2 ise izolatın yoğun antibiyotik kullanılan bir yerden geldiği, indeksin ≤0.2 olması durumunda ise antibiyotik tüketiminin az olduğu bir kaynaktan geldiği gözlemlenmiştir <sup>(14)</sup>. Bu nedenle bu çalışmada da ÇAD indeks değerleri (a/b: a izolatın dirençli olduğu antibiyotik sayısını, b ise izolata karşı denenen toplam antibiyotik sayısını temsil etmektedir) her izolat için hesaplanmıştır.

## BULGULAR

Hastane atık sularının deşarj edildiği deniz suyundan izole edilen gram negatif bakterilerin farklı kuşak sefalosporinlere karşı direnç düzeyleri Tablo 1'de ortaya konmaktadır. Birinci kuşak sefalosporin olan CZ'ye karşı tüm izolatların %85'inin, ikinci kuşak sefalosporin olan CXM'e karşı %28'inin, üçüncü kuşak sefalosporin olan CTX'e karşı %8'inin ve dördüncü kuşak sefalosporin olan FEP'e karşı %5'inin direnç gösterdiği saptanmıştır (Şekil 1). İzolatların %91'inin ÇAD indeksi, referans değer olan 0.2'nin üzerinde saptanmış olup, ÇAD indeks oranları Şekil 2'de gösterilmektedir.

## TARTIŞMA

*Aeromonas salmonicida*'ların direnç düzeyleri ele alındığında, birinci kuşak sefalosporinlere ikinci kuşak sefalosporinlerden daha hassas oldukları saptanmıştır. Bu durum şaşırıcı gibi görülse de bakterilerin, anti-mikrobik maddelerin tedavide kullanılmaya başlamalarından çok daha önce doğada karşılaşıl onlara direnç mekanizmaları geliştirdiği fikrini desteklemektedir. *E. coli* izolatlarının (16 izolat) hiçbirinde dördüncü kuşak sefalosporin olan sefepime karşı direnç saptanmamıştır. Çalışmamızda 28 *Pseudomonas fluorescens* izolatı test edilmiş olup, izolatlarda birinci kuşak ve dördüncü kuşak sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı farklı oranlarda

direnç saptanmıştır. *Pseudomonas luteola*'ya ait beş izolatta ise yalnızca birinci kuşak sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı dirence rastlanılmıştır. Diğer *Pseudomonas*'lardan farklı olarak *Pseudomonas stutzeri* izolatlarında birinci kuşak ve dördüncü kuşak sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı dirence ek olarak ikinci kuşak sefalosporin olan sefuroksime karşı da %100 oranında direnç saptanmıştır. İzole ettiğimiz *Sphingomonas paucimobilis*'lerde ise yalnızca birinci kuşak sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı %90 oranında direnç belirlenmiştir. İzole edilen bakterilerden yalnızca bir tanesi *Pantoea* türü olarak tanımlanmış ve bu izolatta sefalosporin grubundan denenen antibiyotiklere karşı direnç belirlenmemiştir.

Matyar ve ark. <sup>(15)</sup> yapmış oldukları bir çalışmada, deniz suyundan izole ettikleri bakterilerde, %89.8 CZ, %12.3 FEP ve %20'nin altında ZOX ve CXM direnci tespit edilmiştir. İskenderun Körfezi'nden izole edilen *Aeromonas* ve *Pseudomonas* bakterilerinde ise; *Aeromonas* bakterilerinin CZ, ZOX, CXM ve FEB'e karşı sırasıyla %66.6, %50, %55 ve %43.3 oranlarında, *Pseudomonas* bakterilerinin ise CZ'ye %84.8, ZOX'e %12.3, CXM'e %71.7 ve FEP'ye %8.7 oranlarında direnç gösterdiği belirtilmiştir <sup>(16)</sup>. Yine Matyar ve ark.'nın <sup>(17)</sup>, İskenderun Körfezi bazı balık türleri üzerine yapmış oldukları çalışmadaki veriler incelendiğinde; farklı türdeki balıkların solungaçlarından izole edilen bakterilerin sefalosporin grubu antibiyotiklere karşı dirençleri CZ %47.3, CXM %6.5, FEP %1.1 olup üçüncü kuşak sefalosporin olan ZOX'a karşı direnç rapor edilmiştir. Yine aynı çalışmada balıkların bağırsaklarından izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençleri incelendiğinde ise CZ %36, ZOX %5.3, CXM %13.3, FEP % 6.7 olarak ortaya konmuştur. Her iki çalışmadaki bulgular, çalışmamızdaki izolatların antibiyotik direnç düzeyleri ile karşılaştırıldığında yakın olup, tüm çalışmaların ortak alanı olan İskenderun Körfezi'ndeki antibiyotik direncinin günümüzde bile yüksek düzeyde seyrettiğini göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda, ÇAD değeri >0.2'den yüksek çok sayıda izolat belirlenmiştir. Tüm izolatlarımızın %91'inin ÇAD değeri >0.2 olarak bulunmuştur. Dolayısıyla söz konusu alandaki mikroorganizmaların yoğun antibiyotik kullanılan canlı gruplarının (insan ya da hayvan) atıklarıyla kontamine olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak, İskenderun Körfezi deniz suyu ortamına yasaların uygun gördüğü arıtma işlemine tabi tutulmadan verilen hastane atık sularının, sucul ekosistemdeki biyolojik dengeyi bozarak gerek bu ekosistemdeki akuatik canlıların gerekse de bu canlılar ile beslenen insanların sağlığını doğrudan veya dolaylı yoldan etkilediği ortaya çıkmaktadır. Bu tür kirlenmelere maruz kalan bölgelerde meydana gelecek herhangi bir olası bakteriyel orijinli salgın durumunda geri dönüşü olmayan ekolojik hasarların ve tedavisi zor bir sürecin oluşacağı da ayrıca söylenebilir.

## KAYNAKLAR

1. **Koçman A.** Ege Bölgesi kıyı alanlarının kaderi ve geleceği. Türkiye'nin Kıyı ve Deniz Alanları IV. Ulusal Konferansı Kitabı, 5-8 Kasım 2002, İzmir: Türkiye. Sayfa 2.
2. **Barua D.** History of cholera. New York: Plenum Publishing, 1992.
3. **Gil IA, Louis VR, Rivera ING, et al.** Occurrence and distribution of *Vibrio cholerae* in the coastal environment of Peru. *Env Microbiol* 2004; 6:699-706. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00601.x> PMID:15186348
4. **Garber A.** Interactions between phosphate, nitrate and organic substrate in biological nutrient removal processes. *Water Sci Tech* 1987; 19:183-94.
5. **Holmstrom K, Groslund S, Whalstrom A, Pongshompo S, Bengtsson BE, Kautsky N.** Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health. *Int J Food Sci Techn* 2003; 38:255-66. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00671.x>
6. **Öncül O.** Antibiyotikler 1. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyumu Kitabı, 3 Ekim 2002, İstanbul: Türkiye. Sayfa 23-28.
7. **Öztürk R.** Antibiyotiklerin etki mekanizmaları, antimikrobik ilaçlara karşı direnç gelişmesi ve günümüzde direnç durumu. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu Kitabı, 7 Kasım 1997, İstanbul:Türkiye. Sayfa 27-51.
8. **Anonyme.** Environmental impact of aquaculture in Turkey and its relationship and sites of special protection, recreation, tourism. Ankara: Tarımsal Üretim ve Gelişim Genel Müdürlüğü, 1993.
9. **Thompson R.** R plasmid transfer. *J Antimicrob Chemother* 1986; 18(Suppl C):13-23.
10. **Watanabe T.** Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bacteriol Rev* 1968; 27:87-90.
11. **Apha.** Microbial Examination. In Greenberg AE, Clesceri LS, Eaton AD, Eds. Standards methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. Washington DC: American Public Health Association, 1992: 147-60.
12. **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. PMID:5325707
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 6th edition, M2-A6. Villanova: NCCLS, 1997.
14. **Krumpferman 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.
15. **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. *Science of the Total Environment* 2008; 407:279-85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.08.014> PMID:18804847
16. **Matyar F, Akkan T, Uçak Y, Eraslan B.** *Aeromonas* and *Pseudomonas*: Antibiotic and heavy metal resistance species from Iskenderun Bay, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment* 2010; 167:309-20. <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-009-1051-1> PMID:19551480
17. **Matyar F, Eraslan B, Akkan T, Kaya A, Dinçer S.** İskenderun Körfezi balıklarından izole edilen bakterilerde antibiyotik ve ağır metal dirençliliklerinin araştırılması. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 2009:1-5.