

2015-2017 YILLARI ARASINDA İZOLE EDİLEN *CITROBACTER* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Selahattin ATMACA, Tuncer ÖZEKİNCİ, Salim YAKUT, Nezahat AKPOLAT, Kadri GÜL

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

ÖZET

Citrobacter spp., daha çok yenidoğan ve immün sistemi baskılanmış hastalarda hastane kökenli bakteriyel infeksiyonlara neden olan bir bakteri grubudur.

Bu çalışmada Nisan 2015-Mart 2017 tarihleri arasında infeksiyon etkeni olarak izole edilen *Citrobacter* suşlarının antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. İzole edilen 72 *Citrobacter* suşundan 37'si *Citrobacter freundii* 35'i diğer *Citrobacter* türleri olarak tanımlanmıştır. İzole edilen suşların farklı antimikrobiyallere minimum inhibitör konsantrasyon değerleri incelenmiş ve ampisiline % 99, seftazidime % 25, aztreonam ve trimetoprim/sülfametoksazole % 22, siprofloksasine % 15, piperasilin/tazobaktam ve gentamisine % 11, sefepime % 10, meropenem % 1 ve amikasin % 0 oranlarında direnç saptanmıştır. Amikasin ve meropenem en etkili antibiyotikler olarak bulunmuş, bunları sefepim, gentamisin ve piperasilin/tazobaktam izlenmiştir.

Çalışmada amikasin ve meropenem *Citrobacter* infeksiyonları için iyi bir tedavi alternatifi olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: antibiyotik direnci, *Citrobacter*

SUMMARY

Antibiotic Resistance of *Citrobacter* Strains Isolated Between 2015 and 2017

Citrobacter is a group of bacteria that causes hospital-acquired infections mostly in newborn and immunosuppressed patients.

The aim of this study to antibiotic resistance of *Citrobacter* strains isolated from clinical specimens between April 2015 and March 2017 as infection agents. 37 *C. freundii* and 35 other *Citrobacter* strains, totally 72 *Citrobacter* strains were isolated. When MIC values of isolates were taken into consideration altogether, rate of resistance were as follows: 99 % to ampicillin, 25 % to ceftazidime, 22 % to trimethoprim/sulfamethoxazole and aztreonam, 15 % to ciprofloxacin, 11 % to piperacillin/tazobactam and gentamisin, 10 % to cefepime, % 1 to meropenem and % 0 to amikacin, amikacin and meropenem are determined that the most efficient antibiotics, these antibiotics were followed by cefepime, gentamisin and piperacillin/tazobactam against to *Citrobacter* strains.

It has been concluded that amikacin and meropenem are good treatment alternatives for *Citrobacter* infections in our study.

Keywords: antibiotic resistance, *Citrobacter*

GİRİŞ

Enterobacteriaceae ailesinde bulunan *Citrobacter* cinsi fakültatif anaerop ve hareketli Gram negatif basiller olup, biyokimya-

sal bazı özellikleriyle *Escherichia coli*'ye benzemekle birlikte *E. coli*'den indol negatif, sitrat pozitif ve H₂S pozitif olmasıyla ayrılır^(1,5,10).

İnsan ve hayvanların fekal çıkartıları

İletişim adresi: Tuncer Özekinci, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

GSM: (0533) 369 54 11

e-posta: tozekinci@gmail.com

Alındığı tarih: 05.07.2017, Yayına kabul: 18.10.2017

sebebiyle çevresel ortamlarda varlıklarını sürdürebilen bu bakteriler özellikle immün-süpresif olan bireylerde diyareye ve ağır sepsise yol açabildikleri gibi çok sık olmakla birlikte hastane kaynaklı üriner sistem ve solunum yolu infeksiyonları ile ilişkilidirler^(2,3,6,9,11,13).

Citrobacter türlerinin direnç profilleri ile ilgili ülkemizde sınırlı sayıda makale mevcuttur. Bu çalışmada Dicle Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda izole edilen *Citrobacter* suşlarının bazı antibiyotiklere karşı direnç oranlarının verilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Nisan 2015 - Mart 2017 tarihler arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı Mikrobiyoloji Birimi'ne gönderilen çeşitli klinik örneklerden toplam 72 *Citrobacter* suşu izole edilmiştir. İzole edilen suşların identifikasyonu MALDI-TOF-MS (Matrix-assisted laser desorption/ionization -time of flight- mass spectrometry), duyarlılık testleri ise Phoenix UNMIC/ ID Paneli (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Spark, Md, USA) ile yapılmıştır. Çalışılan antibiyotikler ve bu antibiyotiklere karşı direnç durumunun belirlenmesi için EUCAST v.7.1 kriterleri kullanılmıştır. Suşların izole edildiği dönemde geçerli olan ancak şu anda kullanılmayan EUCAST v.5.0 ile EUCAST v.7.1 arasındaki tek değişiklik siprofloksasin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleridir.

BULGULAR

Belirtilen tarihler arasında izole edilen

72 *Citrobacter* suşundan 37'si *Citrobacter freundii*, 35'i ise diğer *Citrobacter* türleri olarak identifiye edilmiş olup klinik örneklerin dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. *Citrobacter* suşunun izole edildiği örnekler (n).

Örnek	C.freundii	Diğer <i>Citrobacter</i> türleri
İdrar	22	20
Yara	4	6
Kulak akıntısı	1	1
Kan	5	2
Aspirat	2	1
Doku	1	1
Assit mayi	1	0
Trakeal aspirat	1	2
Balgam	0	1
Dren mayi	0	1
Toplam	37	35

Citrobacter'lerin izole edildiği örneklerin kliniklere dağılımı ve poliklinik örnek sayıları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. *Citrobacter*'lerin izole edildiği örneklerin kliniklere dağılımı ve poliklinik örnek sayıları (n).

Klinik	C.freundii	Diğer <i>Citrobacter</i> türleri
Poliklinik	16	20
Yoğun Bakım	5	6
Üroloji K.	6	1
Kadın-Doğum K.	0	1
Ortopedi K	1	4
Nefroloji K.	1	0
Genel Cerrahi K.	1	1
Endokrin K.	1	0
Hematoloji-Onkoloji K.	4	1
Gastroenteroloji K.	1	0
KBB K.	1	0
FTR K.	0	1
Toplam	37	35

Tablo 3'te ise izole edilen *Citrobacter* suşlarının antibiyotik direnç oranları toplam olarak verilmiştir.

Tablo 3. İzole edilen *Citrobacter* suşlarında antibiyotik direnci [n (%)].

Antibiyotikler	Diğer <i>Citrobacter</i> türleri (n:37)	<i>C.freundii</i> (n:35)	Toplam (n:72)
Ampisilin	36 (97)	35 (100)	71(99)
Piperasilin/tazobaktam	7 (19)	1 (3)	8 (11)
Seftazidim	9 (24)	9 (26)	18 (25)
Sefepim	4 (11)	3 (9)	7 (10)
Aztreonam	10 (27)	6 (17)	16 (22)
Gentamisin	5 (14)	5 (14)	8 (11)
Amikasin	0	0	0
Siprofloksasin	8 (22)	3 (9)	11 (15)
Meropenem	1 (3)	0	1 (1)
Trimetoprim/sülfametoksazol	11 (30)	5 (14)	16 (22)

TARTIŞMA

Bakteriyel kökenli infeksiyonlarda tedavide başarı için infeksiyona neden olan mikroorganizmaların dağılımının ve antibiyotiklere karşı direnç oranlarının bilinmesi önemlidir. Ülkemizde nadir izole edilen bakteri suşlarının toplu antibiyotik direnç oranlarının değerlendirmesini konu alan makaleler genellikle azdır. *Citrobacter*'ler de *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan nadir izole edilen bir bakteri cinsidir. *Citrobacter*'ler nadir izole edilmesine rağmen nozokomial bir bakteri olmasının yanı sıra solunum sistemi, üriner sistemde infeksiyona neden olabilen fırsatçı bir bakteridir. Bu cinsteki bakterilerin nadir de olsa yenidoğanlarda menenjit, beyin absesi, sepsis gibi infeksiyonlarda etken olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur^(2,3,6,11,13). Ülkemizde *Citrobacter*'ler gibi az izole edilen etkenleri tek başına konu alan makale ve bildiri sayısının az olması dikkat çekicidir. Aslında ülkemizdeki tüm bakteriyoloji laboratuvarlarının belirli periyotlarla (etkenin izolasyon sıklığına göre değişir) nadir izole edilen etkenlere karşı elde edilen direnç oranlarını düzenli olarak değerlendirip bildirmesinin, ülkemizin antibiyotik kullanım politikalarına katkı sağlayacağına kuşku yoktur.

Bu anlamda Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda yaklaşık 2 yıllık bir periyotta izole ettiğimiz *Citrobacter* suşlarının antibiyotik direnç oranlarının değerlendirilmesi bu makalenin temel amacı olmuştur.

Çalışmada 2015-2017 periyodunda elde edilen *Citrobacter* suşlarında en yüksek direnç oranını ampisilin (% 99), en düşük oranı ise aminoglikozid grubundan amikasine (% 0) karşı bulunmuştur. 2015-2017 döneminde elde edilen sonuçlarda; aminoglikozid grubundan amikasinin *Citrobacter*'lere karşı en etkili antibiyotik olduğunu (% 0 direnç), karbapenem grubundan olan meropeneme % 1; sefalosporinlerden sefepime % 10; seftazidime % 25 oranında izole edilen suşlarda direnç saptanmıştır. *C.freundii* ve diğer *Citrobacter* türleri karşılaştırıldığında piperasilin/tazobaktam, aztreonam, siprofloksasin ve trimetoprim/sulfametoksazol direnç oranı daha yüksek bulunmuştur.

Maraki ve ark.⁽⁷⁾ 2013-2015 yılları arasında Heraklion Üniversitesinde poliklinik ve klinik hastalarından VITEK-2 cihazı kullanılarak yapılan izolasyon ve antibiyogram sonuçlarına göre 172 (% 44.7) *C.freundii*, 166 (% 43.1) *C.koseri*, 34 *C.braaki*, 6 *C.amalonaticus*, 6 *C.youngae* ve 1 *C.sedlaki* türü tespit edilmiş

olup bu suşlara karşı kolistin ve fosfomisin % 99.2, karbapenemlerin % 99, aminoglikozidlerin % 96-98, tigesiklinin % 96.1, sefepimin % 94.8, siprofloksasinin % 94.3, tetrasiklinin % 92.7, trimetoprim/sülfametoksazolün % 91.4, kloramfenikolün % 88.1, piperasilin/tazobaktamın % 86.5 ve 3.kuşak sefalosporin üyelerinin ise % 85.7 ile etkili antibiyotikler olduklarını belirlemiştir. Araştırmacılar çalışmalarında *C.freundii*'nin *C.koseri*'ye göre daha dirençli olduğunu, bu çalışma periyodu içerisinde çoğu antibiyotiğe karşı önemli bir direnç gelişimi tespit edilmediğini, tüm AmpC üreten suşların sefalosporinlere karşı dirençli ama karbapenemlere duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Santos ve ark.⁽¹²⁾ *Citrobacter freundii*'nin çoklu ilaç direnci ve bu direnç iletişiminin moleküler mekanizması incelenmiş olup VITEK 2 ile tanımlanan *C.freundii* suşlarının 16 S rDNA sekansları ile doğrulama testleri yapılmıştır. Araştırmacılar karbapenemaz üreten nadir *Citrobacter* suşları olduğunu buna rağmen çalışmalarında VIM tipi metal-lo-beta-laktamaz salgılayan *Citrobacter* suşları tanımladıklarını ve bunun da konu ile ilgili ülkelerinde yayınlanan ilk makale olduğunu belirtmişlerdir.

Priyadarshini ve ark.⁽¹⁰⁾ Hindistan'ın Bangalore bölgesinde 2016 yılında sonuçlandırılan bir çalışmada 5695 gram negatif bakteri izolasyonundan 398 *C.koseri*, 292 *C.freundii* suşu olarak izole edilmiştir. İzole edilen toplam 690 *Citrobacter* suşunun Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile değişik antibiyotiklere karşı direnci ölçülmüştür. *Citrobacter*'lerin önemli bir nozokomiyal patojen olduğunu vurgulayan araştırmacılar beta-laktamaz inhibitörlü antibiyotiklere karşı direncin arttığını, buna karşın karbapenemlerin *Citrobacter*'lere karşı etkili bir

antibiyotik olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada araştırmacılar *Citrobacter* suşlarının toplamının hem imipenem hem de meropeneme karşı sadece % 2'sinin dirençli olduğunu tespit ederken; sefaleksine % 79, sefoksitine % 70, siprofloksasine % 70, seftazidime % 69 oranında dirençli olduklarını saptamışlardır. Çalışma sonunda araştırmacılar beta-laktamaz inhibitörlü antibiyotiklere, penisilinlere, geniş spektrumlu sefalosporinlere ve monobaktamlara karşı bölgelerinde izole edilen *Citrobacter* suşlarının genel olarak direncinin arttığını belirlemiştir.

Monira ve ark.⁽⁸⁾ Şubat 2011 - Temmuz 2012 tarih aralıklarında yaşları 10-24 ay aralığında orta sınıf ailelere ait 15 çocuğun (son iki ay antibiyotik kullanmamış) barsak florası incelenmiş olup izole edilen bakteri suşları API20E sistemi ile tanımlanmıştır. İzole edilen suşlardan % 3'ü *Citrobacter* türü olarak tanımlanmış, bu türlerin hepsinin çoklu ilaç direncine sahip oldukları, tümünün aynı anda trimetoprim/sülfametoksazol, tetrasiklin ve siprofloksasin dirençli olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada % 52 oranında *E.coli*, % 16 oranında *Enterobacter*, % 12 oranında *Pseudomonas* izole edilen bakteriler sıralanırken; % 3 oranında *Vibrio* izole edilmiştir. İzole edilen suşlarda % 78 oranında çoklu ilaç direncine rastlanırken, bu kolonizasyonun ülkelerindeki kötü hijyen ve temiz suya ulaşamamanın sonucu olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Ülkemizde yayınlanan makalelerde genellikle *Enterobacteriaceae* izolatları içerisinde bahsedilen *Citrobacter* türleri ile ilgili antibiyogram veri sonuçları oldukça sınırlıdır. 2007 yılında Ünalı ve ark.⁽¹⁴⁾ tarafından yapılan bir çalışmada çoğunluğu idrar olmak üzere değişik materyallerden izole ettikleri 83 bakteri suşundan üçünün

C.freundii, ikisinin ise *C.koseri* olduğunu bu 5 *Citrobacter* suşunun hepsinin seftriakson, sefepim, seftazidim, sephalotin, aztreonam, gentamisin, ampisilin ve imipeneme duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Gülhan ve ark.⁽⁵⁾ tarafından Ocak 2004- Aralık 2006 yılları arasında izole ettikleri 73 *Citrobacter* suşunun antibiyotik direnç oranına bakıldığında araştırmacılar 73 *Citrobacter* suşunun 53'ünü *C.freundii* olarak tanımladılar, toplam suşların en yüksek direnci % 85 ile ampisiline, en düşük direnci ise % 1 ile meropeneme karşı bulunmuşlardır.

Bu çalışmada siprofloksasin direnci % 15, seftazidim direnci % 25 iken Priyadarshini ve ark.'nın⁽¹⁰⁾ yaptığı çalışmada siprofloksasin direnci % 70, seftazidim direnci % 69 oranında bulunmuştur. Ünal ve ark.'nın⁽¹⁴⁾ yaptıkları çalışmada beş suşun ampisiline duyarlı olduğu saptanırken, bizim çalışmamızda ise ampisilin direnci % 99 bulunmuştur. *Citrobacter* spp. için antibiyotik duyarlılıklarıyla ilgili çok fazla yayın olmamakla beraber sadece bu verilere bakılarak bile etkenlerin antibiyotik duyarlılıkları coğrafi olarak farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Çalışmamızda ve yapılan diğer çalışmalarda^(5,7,8,10,14) *Citrobacter*'lere karşı en etkili antibiyotiklerin aminoglikozid ve karbapenemler grubu antibiyotikler olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak ülkemizde *Citrobacter*'lerin direnç profilleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Bu çalışmada temel amaç *Citrobacter*'lerin direnç profillerinin bildirilmesi ve tedaviye ışık tutulmasının yanı sıra nadir izole edilen fırsatçı bir etken olan bu mikroorganizma ile ilgili yapılacak çalışmalara kaynak olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Akalın H. Enterobacter ve diğer Gram negatif enterikler, "Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds.) İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, 2.baskı" kitabında.s.1583-84, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul (2002).
2. Choi SH, Lee J, Park S et al. Prevalence, microbiology, and clinical characteristics of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacter spp., *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, and *Morganella morganii* in Korea, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007;26(8):557-61. <https://doi.org/10.1007/s10096-007-0308-2>
3. Doran TI. The role of *Citrobacter* in clinical disease of children: review, *Clin Infect Dis* 1999;28(2): 384-94. <https://doi.org/10.1086/515106>
4. EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 7.1, 2017. <http://www.eucast.org>
5. Gülhan B, Özekinci T, Meşe S, Atmaca S. 2004-2006 yılları arasında izole edilen *Citrobacter* suşlarında antibiyotik direnci, *ANKEM Derg* 2007;21(2): 91-4.
6. Konemann EW, Allen SD, Janda WM et al. Colour, Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Philadelphia: JB Lippincott company, 6. baskı 171-252, (2006).
7. Maraki S, Vardakas KZ, Mavromanolaki VE et al. In vitro susceptibility and resistance phenotypes in contemporary *Citrobacter* isolates in a University Hospital in Crete, Greece, *Infect Dis* 2017;49(7):532-39. <https://doi.org/10.1080/23744235.2017.1297896>
8. Monira S, Shabnam SA, Ali SI et al. Multi-drug resistant pathogenic bacteria in the gut of young children in Bangladesh, *Gut Pathogens* 2017; 20(9):19. <https://doi.org/10.1186/s13099-017-0170-4>
9. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Tıbbi Mikrobiyoloji, 7. baskı, s.270, Pelikan Kitabevi, Ankara (2016).
10. Priyadarshini, Rani KL, Ramaswamy R. Isolation and antibiotic sensitivity pattern of *Citrobacter* species with ESBL and AmpC detection at tertiary care hospital, Bangalore, *J Evolution Med Dent Sci* 2016;5(30):1553-6. <https://doi.org/10.14260/jemds/2016/365>
11. Samonis G, Karageorgopoulos D, Kofteridis D et al. *Citrobacter* infections in a general hospital: characteristics and outcomes, *Eur J Clin Microbiol*

- Infect Dis* 2009;28(1):61-8.
<https://doi.org/10.1007/s10096-008-0598-z>
12. Santos C, Ramalheira E, Da Silva G, Mendo S. Genetically unrelated multidrug-and carbapenem-resistant *Citrobacter freundii* detected in outpatients admitted to a Portuguese hospital, *J Global Antimicrob Resist* 2017;8(1):18-22.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.09.010>
 13. Shahid M. *Citrobacter* spp. simultaneously harboring blaCTX-M, blaTEM, blaSHV, blaampC, and insertion sequences IS26 and orf513: an evolutionary phenomenon of recent concern for antibiotic resistance, *J Clin Microbiol* 2010;48(5):1833-38.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01467-09>
 14. Ünalı Ö, Engin D, Çırak MY. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin saptanmasında agar tarama plakları ve çift disk sinerji yönteminin karşılaştırılması, *Mikrobiyol Bul* 2007;41(3): 369-76.