



Hastane Kanalizasyonlarından İzole Edilen Gram-negatif Bakterilerin Tiplendirilmesi ve Çoklu Antibiyotik Dirençliliklerinin Saptanması

Fatih Matyar*

Çukurova Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü Fen Bilgisi Eğitimi A.B.D. 01330 Sarıçam/Adana, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Geliş 28 Nisan 2016
Kabul 02 Ekim 2016
Çevrimiçi baskı, ISSN: 2148-127X

Anahtar Kelimeler:
Hastane kanalizasyonu
Gram-negatif bakteri
Antibiyotik dirençliliği
Klebsiella pneumoniae
Halk sağlığı

*Sorumlu Yazar:
E-mail: fmatyar@cu.edu.tr

Ö Z E T

Bu çalışmada, hastane kanalizasyonlarından elde edilen Gram-negatif bakteriyel izolatların mikrobiyal çeşitliliği ve antibiyotik dirençlilik düzeylerinin tespiti amaçlanmıştır. 219 Gram-negatif bakteriyel izolatın 16 farklı antibiyotiğe (10 sınıfa ait) karşı dirençliliği agar difüzyon metodu kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada 18 farklı türe ait bakteri izole edilmiştir: tüm örneklerden en çok izolasyonu yapılan suşlar *Klebsiella oxytoca* (%27,4), *Klebsiella pneumoniae* (%20,5) ve *Escherichia coli* (%20,1)'dir. Amfisiline (%98,6), streptomisine (%95,9) ve eritromisine (%90,0) karşı yüksek oranda dirençlilik bulunurken, sefepime (%13,2), imipeneme (%5,0) ve meropeneme (%3,2) karşı nispeten düşük oranda dirençlilik bulunmuştur. Hastane kanalizasyonlarından izole edilen tüm bakterilerin %35,6'ü, 9 farklı antibiyotiğe karşı dirençlilik göstermiştir. Çoklu antibiyotik dirençliliği (ÇAD) indeksi 0,25-0,94 aralığındadır. Sonuçlar çalışılan hastane kanalizasyonlarının kayda değer miktarda antibiyotiğe dirençli Gram-negatif bakteri barındırdığını ve bu bakterilerin halk sağlığı açısından potansiyel risk oluşturduğunu göstermektedir.

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 4(10): 845-849, 2016

Identification and Determination of Antibiotic Multiresistance of Gram-negative Bacteria Isolated from Hospital Sewage

ARTICLE INFO

Article history:
Received 28 April 2016
Accepted 02 October 2016
Available online, ISSN: 2148-127X

Keywords:
Hospital sewage
Gram-negative bacteria
Antibiotic resistance
Klebsiella pneumoniae
Public health

*Corresponding Author:
E-mail: fmatyar@cu.edu.tr

ABSTRACT

In this study it was aimed to determine the microbial diversity and level of antibiotic resistance patterns of Gram-negative bacterial isolates from the hospital sewages. The 219 Gram-negative bacterial isolates to 16 different antibiotics (belonging 10 classes), was investigated by agar diffusion method. A total of 18 species of bacteria were isolated: the most common strains isolated from all samples were *Klebsiella oxytoca* (27.4%), *Klebsiella pneumoniae* (20.5%) and *Escherichia coli* (20.1%). There was a high incidence of resistance to ampicillin (98.6%), streptomycin (95.9%) and erythromycin (90.0%), and a low incidence of resistance to cefepim (13.2%), imipenem (5.0%) and meropenem (3.2%). 35.6% of all bacteria isolated from hospital sewage were resistant to 9 different antibiotics. The multiple antibiotic resistances (MAR) index ranged from 0.25 to 0.94. Results show that hospital sewages have a significant proportion of antibiotic resistant Gram-negative bacteria, and these bacteria constitute a potential risk for public health.

Giriş

Kliniklerde aşırı antibiyotik kullanımı ile antibiyotik dirençliliğinin bakteriler arasında hızla artması arasındaki bağlantı dünya çapında bir problem haline gelmiştir. Bu olgu sonucunda çok sayıda antibiyotiğe karşı direnç gelişimi modern tıpta ciddi bir sorun teşkil etmektedir. Hastane atık suları, içerisinde barındırdığı radyoaktif, kimyasal ve ilaç atıkları gibi çeşitli kirleticiler nedeniyle halk sağlığı ve çevresel denge açısından zararlı olabilir (Sharpe, 2003). İnsanlarda ve hayvanlarda kontrolsüz ve

yoğun antibiyotik kullanımı antibiyotik dirençliliğinin artmasına ve hastane atık suları gibi ortamlarda dirençlilik genlerinin yayılmasına neden olmaktadır (Iversen ve ark., 2002). Özellikle hastane atık suları içerisinde bulunan yüksek miktarda antibiyotik atıkları çevreye karışmakta bu da insan sağlığı açısından zararlı patojen bakteriler arasında çoklu antibiyotik dirençliliğinin artmasına öncülük etmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar hastane atık sularının son derece seçici ortamlar olduğunu

ve doğal ortamlara yüksek oranda dirençli bakteri bıraktığını göstermiştir (Aali ve ark., 2004; Thompson ve ark., 2013; Moges ve ark., 2014). Hastane kanalizasyonları başta olmak üzere sucül ortamlara bırakılan patojen bakteri türlerinin birçoğunda plazmid veya kromozom kökenli antibiyotik dirençliliği bulunması başka bir sorunu meydana getirmektedir. Bilindiği gibi bakteriler arasında sıradan olan gen transfer yöntemleri ile bazı antibiyotiklere dirençlilik taşıyan türlerin dirençlilik genlerini hassas türlere transfer etmesi olağandır. Bazı çalışmalar hastane atık sularının doğal ortamlardaki antibiyotik dirençli bakterilerin yüksek oranda kaynağı olduğunu göstermiştir. Birçok çevre çalışması çoklu antibiyotik dirençliliğinin evrensel bir problem olduğuna işaret etmektedir (Mackie ve ark., 2001; Ansari ve Malik, 2007; Matyar, 2012) Belirtmekte yarar vardır ki patojen bakterilerle kirlenmiş bazı su kaynakları insanlar tarafından su kaynağı olarak ta kullanılabilir. Bu çalışmada; (1) hastane atık sularından Gram-negatif bakterilerin izolasyonu, (2) bu bakterilerin tiplendirilmesi, (3) tiplendirilen bakterilerin ülkemizde sık kullanılan antibiyotiklere karşı dirençliliklerinin araştırılması ve (4) antibiyotiğe dirençli bakterilerde çoklu antibiyotik dirençliliğinin ne boyutta olduğunun tespiti amaçlanmıştır.

Bu çalışmada; (1) hastane atık sularından Gram-negatif bakterilerin izolasyonu, (2) bu bakterilerin tiplendirilmesi, (3) tiplendirilen bakterilerin ülkemizde sık kullanılan antibiyotiklere karşı dirençliliklerinin araştırılması ve (4) antibiyotiğe dirençli bakterilerde çoklu antibiyotik dirençliliğinin ne boyutta olduğunun tespiti amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Balcalı Hastanesi kanalizasyonlarından alınan su örnekleri kullanılmıştır. Su örnekleri (250 ml) steril bakteriyolojik örnek şişelerine alınmış ve soğuk zincir sağlanarak laboratuvara getirilmiştir (APHA, 1992). Örnekler toplandıktan sonra 4 saat içinde çalışmaya başlanmıştır. Toplam 26 kanalizasyon suyu örneği Gram-negatif bakteri mevcudiyeti açısından incelenmiştir. Gram-negatif bakteri izolasyonu için yayma metodu kullanılmıştır. Kanalizasyon suyu örnekleri (1 mL) seri sulandırma yapılarak seçici besi ortamı olan MacConkey agar'a (McC) (Merck) yayma yöntemi ile ekilmişlerdir. Petri kablaları 35°C'de 24-72 saat süre ile etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Toplam 219 Gram-negatif bakteriyel izolat besi ortamlarından rasgele seçilmiştir. Tüm izolatlara Gram boyama, oksidaz ve katalaz reaksiyonu, hareket testi, OF glikoz ve jelatin eritme testleri uygulanmıştır (Lemos ve ark., 1985). Daha sonra izolatlar Becton Dickinson Crystal E/NF ID kiti ve E/NF identifikasyon yazılımı (BBL, Md, Amerika) kullanılarak tanımlanmıştır.

Antibiyotik Testleri

Antibakteriyel hassasiyet testi agar difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Bauer ve ark., 1966). 10 farklı sınıfı temsil eden 16 farklı antibiyotik diski Mueller-Hinton Agar (Merck) kullanılarak denenmiştir. Antibiyotikler disk dispenser kullanılarak petri kablalarına yerleştirilmiştir. Kullanılan antibiyotikler Aminoglikozitler: streptomisin (S, 10µg), gentamisin (GM, 10µg), kanamisin (K, 30µg), Makrolidler: eritromisin (E, 15µg), Penisilinler: amfisilin (AM, 10µg), Karbapenemler: imipenem (IPM, 10µg), meropenem (MEM, 10µg), Sefalosporinler: sefuroksim (CXM, 30µg), seftizoksım (ZOX, 30µg), sefepim (FEP, 30µg),

Kloramfenikol: kloramfenikol (C, 30µg), Nitrofurantoin: nitrofurantoin (F/M, 300µg), Kinolonlar: nalidiksik asit (NA, 30µg), siprofloksasin (CIP, 5µg), Tetrasiklinler: tetrasiklin (TE, 30 µg), Trimetoprim-sülfametazol: trimetoprim-sülfametazol (SXT, 1,25 ve 23,75µg). Tüm antibiyotik diskleri Becton Dickonson'dan (BBL, Md, A.B.D.) ticari olarak sağlanmış, izolatların hassasiyeti üretici firmanın kullanım klavuzuna göre değerlendirilmiştir. ÇAD indeks değerleri (a/b, burada a, izolatin dirençli olduğu antibiyotik sayısını, b ise izolata karşı denenen antibiyotik sayısını temsil etmektedir) her izolat için hesaplanmıştır. Eğer izolat insan ya da hayvan kaynaklı antibiyotiklere yoğun miktarda maruz kalmış ise o zaman 0,2 den daha yüksek bir ÇAD indeks değeri ortaya çıkmaktadır. Eğer antibiyotik çok nadir kullanılmışsa ya da hiç kullanılmamışsa ÇAD indeks değeri 0,2 den küçük ya da 0,2 ye eşit olarak gözlemlenmektedir (Krumperman,1985).

Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada, Çukurova Üniversitesi Balcalı hastane kanalizasyonundan 12 cinse ait 18 farklı türde toplam 219 Gram-negatif bakteri izole edilmiştir. Tüm bakteriler arasında en fazla izole edilen türler sırasıyla *Klebsiella oxytoca* (%27,4), *Klebsiella pneumoniae* (%20,5) ve *Escherichia coli* (%20,1)'dir. İzole edilen bakteriler ve tür dağılımları Tablo 1.'de gösterilmiştir.

Tablo 1 Hastane kanalizasyonundan izole edilen Gram-negatif bakterilerin tür sayıları

Türler	Bakteri sayıları
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2
<i>Burkholderia cepacia</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i>	16
<i>Citrobacter koseri</i>	3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	8
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	44
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	60
<i>Klebsiella pnemoniae ssp. ozaenae</i>	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	45
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	6
<i>Pantoea agglomerans</i>	13
<i>Proteus mirabilis</i>	2
<i>Pseudomonas putida</i>	4
<i>Shigella dysenteriae</i>	1
<i>Shigella sonnei</i>	2
Toplam	219

Klebsiella cinsi üyeleri septisemi, zatürre, boşaltım sistemi enfeksiyonları ve yumuşak doku enfeksiyonlarının da dahil olduğu çeşitli hastalıklar yapabilen fırsatçı patojenlerdir. Tipik *Klebsiella* enfeksiyonları hastane kaynaklıdır ve hastanede yatan bağımsızlığı baskılanmış hastalarda çoğunlukla hastalık etkenidir. Hastane kaynaklı enfeksiyonlar içerisinde *Klebsiella* enfeksiyonlarının oranının yaklaşık %5-7 dolaylarında olması *Klebsiella*'yı

hastane kaynaklı enfeksiyonlar içerisinde önemli kılmaktadır. (Podschun ve Ullmann, 1998). *K. oxytoca* insan barsağında sitotoksin üreterek hemorajik kolit yapabilen potansiyel bir patojendir. Çalışmada en çok izole edilen ikinci bakteri türü olan *K. pneumoniae* çoğunlukla zatürre ve dolaşım sistemi enfeksiyonları yapan hastane kaynaklı bir patojendir ve yüksek oranda hastalık ve ölüm oranıyla karakterize edilir (Schwaber ve ark., 2006). En çok izole edilen bakterilerden *E. coli* enterik bir patojendir ve sucul ortamlarda fekal kontaminasyonun göstergesidir. *E. coli*'nin Shiga-toksin üreten suşları (STEC) hemorajik kolit, ve hemolitik üremik sendrom gibi birçok klinik bulgudan sorumludur (Kaper ve ark., 2004). Ancak *E. coli*'nin patojen suşları STEC ile sınırlı değildir. Gıda kaynaklı olandan hastane kaynaklı olana kadar ve insanda farklı klinik bulgular ve enfeksiyon hastalıklarına neden olan çeşitli *E. coli* suşları mevcuttur. Bu çalışmada ayrıca 4 adet (%1,83) *Pseudomonas putida* ve 1 adet *Shigella dysenteriae* izole edilmiştir. Tablo 2' de görüldüğü üzere çalışmada kullanılan 10 farklı sınıfa ait 16 farklı antibiyotikten en fazla dirençlilik amfisiline (%98,6) karşı görülmüştür. Bunu sırasıyla streptomisin (%95,9), trimetoprim-sülfametazol (%91,8) ve eritromisin (%90,0) izlemektedir. Amfisiline karşı olan dirençlilik Vaseeharan ve arkadaşlarının (2005), yaptığı çalışma ile benzerlik göstermektedir. Bu araştırmacılar çalışmalarında izole ettikleri Gram-negatif bakterilerin amfisiline karşı olan dirençliliklerini %100 olarak bulmuşlardır. Aynı zamanda Cardonha ve arkadaşları (2004) sucul ortamlardan elde ettikleri bakteriler arasında amfisiline, sefalotine ve trimetoprim-sülfametazole karşı yüksek oranda dirençlilik bulmuşlardır. Çalışmada, ikinci kuşak sefalosporinlerden sefuroksime olan direnç yüksek bulunurken (%81,7) üçüncü kuşak bir sefalosporin olan seftizoksime (%13,7) ve dördüncü kuşak bir sefalosporin olan sefepime (%13,2) olan direnç nispeten daha düşük bulunmuştur. Araştırmada denenen toplam 16 antibiyotikten en az dirençlilik karbapenem sınıfı antibiyotiklerden imipenem (%5,0) ve meropenem (%3,2) karşı tespit edilmiştir. İmipenem karşı olan direnç, Schwartz ve arkadaşlarının (2003), hastane atık sularından izole ettikleri bakterilerdeki direnç ile benzerlik göstermektedir. Bu araştırmacılar imipenem karşı olan direnci %8,1 olarak tespit etmişlerdir. Bu araştırmada farklı antibiyotiklere karşı dirençlilik eğilimi aşağıdaki şekilde görülmüştür:

AM>S>SXT>E>TE>CXM>C>NA>F/M>GM>CIP>K>ZOX>FEP>IPM>MEM

Bu oranlar Matyar ve arkadaşlarının (2014) yaptığı çalışma ile benzerlik taşımaktadır. Matyar ve arkadaşları kirlenmiş nehir suyu ve deniz suyundan izole ettikleri Gram-negatif bakteriler arasında 16 antibiyotiğe karşı dirençlilik eğilimini şu şekilde bulmuşlardır:

AM>S>CZ>SXT>TE>NA>GM>C>K>CXM>IPM>F/M>MEM>ZOX>AN>FEP

Antibiyotiğe dirençli bakteriye maruz kalma, hastalık yönetimi ile direkt bağlantılı olduğu için halk sağlığı açısından sorun teşkil etmektedir. Dirençli bakterilerle

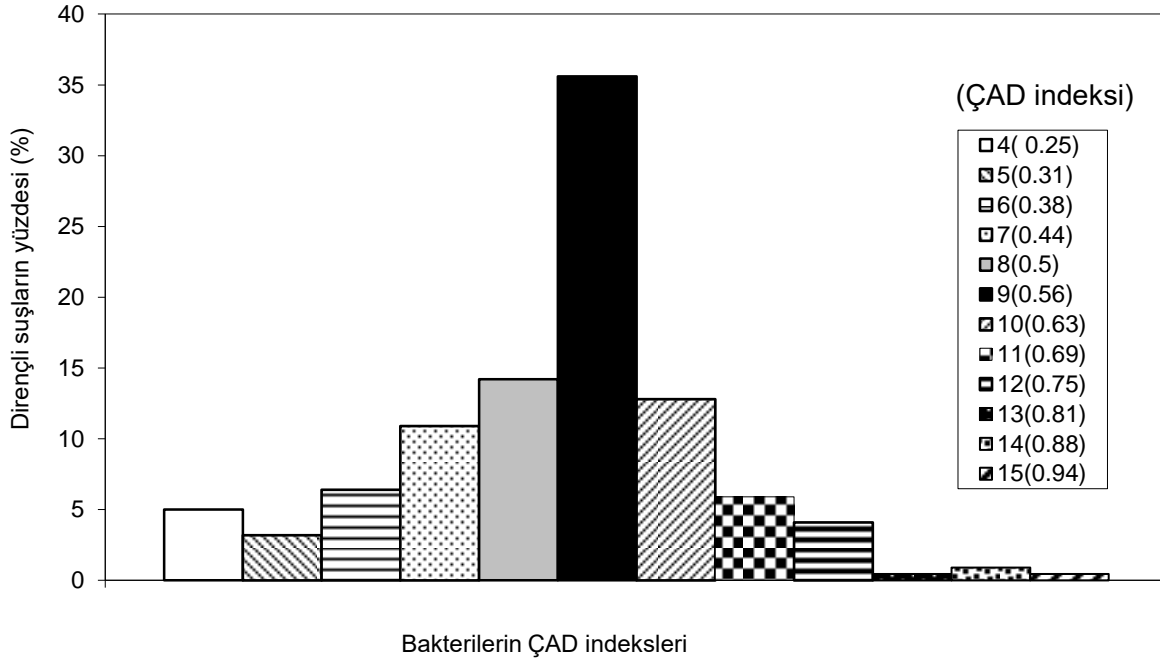
karşı karşıya kalma çeşitli yolları olabilir. Hastane ve şehir atık sularının çevremize bakteri ve antibiyotik dirençlilik genleri yaymada önemli bir rol oynadığı görülmektedir (Aali ve ark., 2014). Antibiyotiklerin hikâyesi hem insanlarda bir dizi enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde hem de insan dışı uygulamalarda (tarım, hayvancılık ve su ürünleri) olmak üzere yirminci yüzyılın ikinci yarısında başlamıştır. Yoğun antibiyotik kullanımı sonucu oluşan mutasyon, seleksiyon ve mikroorganizmalar arası genetik bilgi akışı şüphesiz mikrobiyal genetik ve ekolojiyi tüm yönleriyle etkilemiştir. Bu dönem güçlü evrimsel baskı ve kapsamlı seleksiyon dönemi olmuştur (Mazel ve Davies, 1999).

Bu çalışmada, antibiyotiğe dirençli Gram-negatif bakterilerin %5,0'i 4 farklı antibiyotiğe karşı dirençlilik göstermiştir (Şekil 1). Bu bulgu Ogbondeminu ve Olayemi'nin (1993), %55,8'i 4 farklı antibiyotiğe karşı dirençlilik gösteren enterik izolatları ile zıtlık göstermektedir. Ayrıca izolatların %35,6'sı test edilen 16 farklı antibiyotiğin 9'una dirençlilik göstermiştir ki bu ciddi bir orandır. Tüm izolatların %0,46'sı, %0,91'i ve %0,46'sı sırasıyla 13, 14 ve 15 farklı antibiyotiğe dirençlilik göstermiştir. Bu çalışmada bulunan yüksek dirençlilik oranları sucul ortamlarda Vivekanadhan ve arkadaşlarının (2002), Miranda ve Zemelman'ın (2004), bulgularına göre daha yüksek bulunmuştur. Hastane kanalizasyonlarında antimikrobiyal ilaç atıklarının sürekli düşük veya orta miktarda bulunması antibiyotiklere karşı dirençlilik gelişimini artırabilir ve bu durum insan veya hayvan hastalıklarının tedavisinde antibiyotik etkisini azaltabilir (Tendencia ve ark., 2001). Çoklu antibiyotik dirençliliğine sahip bakteriler hastane çevresine bulaşabilir ve hastane kaynaklı enfeksiyonların yayılmasında etkili olabilirler. Birçok çalışma antibiyotik kullanımı kısıtlandığında antibiyotik dirençlilik insidansının çoğunlukla düştüğünü göstermiştir (Gaynes ve Monnet, 1997; Frimodt-Møller ve ark., 1997).

Tablo 2 Hastane kanalizasyonundan izole edilen Gram-negatif bakterilerin 10 sınıfa ait 16 farklı antibiyotiğe karşı dirençlilikleri.

A. Sınıfları	Antibiyotikler	% D
Aminoglikozitler	Streptomisin (S, 10µg)	95,9
	Gentamisin (GM, 10µg)	27,9
	Kanamisin (K, 30µg)	17,8
Makrolidler	Eritromisin (E, 15µg)	90,0
Penisilinler	Amfisilin (AM, 10µg)	98,6
Karbapenemler	Imipenem (IPM, 10µg)	5,0
	Meropenem (MEM, 10µg)	3,2
Sefalosporinler	Sefuroksim (CXM, 30µg)	81,7
	Seftizoksime (ZOX, 30µg)	13,7
	Sefepim (FEP, 30µg)	13,2
Kloramfenikol Nitrofurantoin	Kloramfenikol (C, 30µg)	70,8
	Nitrofurantoin (F/M, 300µg)	63,5
Kinolonlar	Nalidiksik asid (NA, 30 µg)	68,9
	Siprofloksasin (CIP, 5 µg)	23,7
Tetrasiklinler	Tetrasiklin (TE, 30µg)	87,2
Trimetoprim-sülfametazol	Trimetoprim-sülfametazol (SXT, 1,25 ve 23,75µg)	91,8

D: % Dirençlilik,



Bakterilerin ÇAD indeksleri

Bu araştırmada, dört ve daha fazla antibiyotiğe karşı dirençlilik gösteren izolatlar çoklu dirençli olarak göz önünde bulundurulmuşlardır. İzolatların ÇAD indeks değerleri 0,25-0,94 aralığında tespit edilmiştir. Pathak ve Gopal (2007) sucul ortamlarda yaptıkları çalışmalarında *E. coli* izolatlarında ÇAD indeks değerini 0,7 oranına kadar bulmuşlardır. Chitanand ve ark., (2010) Hindistan'da kirli sucul ortamlarda yaptıkları çalışmada ÇAD indeks değerini 0,15-0,48 aralığında tespit etmişlerdir. Gram-negatif bakteriler lipopolisakarit dış membran ve efluks pompası varlığı nedeniyle çoklu direnç mekanizmasına sahip olabilirler. Bu özellikler Gram-negatif bakterilerle mücadelede problem yaratmaktadır. Bilindiği gibi lisanslı yeni antimikrobiyal ilaçların eksikliği hastalar için endişe vericidir. Çoklu antibiyotik dirençli Gram-negatif bakterilerin neden olduğu sistemik bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için son 25 yılda biri 2014 yılında seftolozan/tazobaktam (ceftolozane/tazobactam) ve diğeri 2015 yılında seftazidim/avibactam (ceftazidime/avibactam) olmak üzere sadece iki sefalosporin-beta-laktamaz inhibitör kombinasyonu onaylanmıştır (Liscio ve ark., 2015).

Hastane kanalizasyonların bakteriyel yükünün çalışıldığı bu araştırmada, izole edilen patojen bakterilerin yüksek oranda çoklu antibiyotik dirençliliği taşıdığı açıktır. Ayrıca, bu patojenlerin dirençlilik genleri açısından bir kaynak olması nedeniyle, gen transfer yöntemleriyle sahip oldukları dirençlilik genlerini sucul ortamlarda fırsatçı patojenlere aktarması ve halk sağlığı açısından tehdit oluşturması kaçınılmazdır.

Teşekkür

Bu çalışmayı finansal açıdan destekleyen Çukurova Üniversitesi Bilimsel Projeler Birimine (BAPKOM) teşekkür ederim. Proje Kodu: FBA-2016-6016.

Kaynaklar

- Aali R, Nikaeen M, Khanahmad H, Hassanzadeh A. 2014. Monitoring and Comparison of Antibiotic Resistant Bacteria and Their Resistance Genes in Municipal and Hospital Wastewaters. *International Journal of Preventive Medicine*. 5: 887–894.
- Ansari MI, Malik A. 2007. Biosorption of nickel and cadmium by metal resistant bacterial isolates from agricultural soil irrigated with industrial wastewater. *Bioresource Technology*. 98: 3149–3153.
- APHA Microbial Examination . 1992. In AE, Greenberg, LS, Clesceri and AD Eaton (Eds.), *Standard methods for the examination of on water and wastewater* (18th ed.). Washington DC: American Public Health Association.
- Bauer AW, Kirby WMM., Sherris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45: 493–496.
- Cardonha AMS, Viera RHSF, Rodrigues DP, Macrae A, Peirano G, Teophilo GND. 2004. Fecal pollution in water from storm sewers and adjacent seashores in Natal, Rio Grande do Norte, Brazil. *International Microbiology*. 7: 213–218.
- Chitanand MP, Kadam TA, Gyananath G, Totewad ND, Balhal DK. 2010. Multiple antibiotic resistance indexing of coliforms to identify high risk contamination sites in aquatic environment. *Indian Journal of Microbiology*. 50: 216–220.
- Czekalski N, Berthold T, Caucci S, Egli A, Bürgmann H. 2012. Increased Levels of Multiresistant Bacteria and Resistance Genes After Wastewater Treatment and Their Dissemination into Lake Geneva, Switzerland. *Frontiers in Microbiology*. 3:106.
- Fair RJ, Tor Y. 2014. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Journal Perspectives in Medicininal Chemistry* 6: 25–64.
- Frimodt-Møller N, Espersen F, Jacobsen B, Schlundt J, Meyling A, Wegener H. 1997. Problems with antibiotic resistance in Spain and their relation to antibiotic use in humans elsewhere. *Clinical Infectious Diseases*. 25: 939–41.

- Gaynes R, Monnet D. 1997. The contribution of antibiotic use on the frequency of antibiotic resistance in hospitals. In: Chadwick DJ, Goode J, editors. Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread, CIBA Foundation Symposium. Chichester: Wiley; p. 47–60. 207.
- Högenauer C, Langner C, Beubler E, Lippe I.T, Schicho R, Gorkiewicz G, Krause R, Gerstgrasser N, Krejs GJ, Hinterleitner TA. 2006. *Klebsiella oxytoca* as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. The New England Journal of Medicine. 355: 2418–2426.
- Iversen A, Kühn I, Franklin A, Möllby R. 2002. High Prevalence of Vancomycin Resistant Enterococci in Swedish Wastewater. Applied and Environmental Microbiology. 68: 2838–2842.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. Nature Reviews Microbiology. 2: 123–140.
- Krumperman P H. 1985. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. Applied and Environmental Microbiology. 46: 165–170.
- Lemos ML, Toranzo AE, Barja JL. 1985. Modified medium for the oxidation-fermentation test in the identification of marine bacteria. Applied and Environmental Microbiology. 49: 1541–1543.
- Liscio JL, Mahoney MV, Hirsch EB. 2015. Ceftolozane/tazobactam and ceftazidime/avibactam: two novel β -lactam/ β -lactamase inhibitor combination agents for the treatment of resistant Gram-negative bacterial infections. International Journal of Antimicrobial Agents. 3: 266–271.
- Mackie RI, Koike S, Krapac I, Chee-Sanford J, Maxwell S, Aminov RI. 2006. Tetracycline residues and tetracycline resistance genes in groundwater impacted by swine production facilities. Animal Biotechnology. 17: 157–76.
- Matyar F. 2012. Antibiotic and heavy metal resistance in bacteria isolated from Mediterranean sea coast. Bulletin Environmental Contamination and Toxicology. 89: 551–556.
- Matyar F, Gulnaz O, Guzeldag G, Mercimek HA, Akturk S., Arkut A, Sumengen M. 2014. Antibiotic and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from the Seyhan Dam Lake and Seyhan River in Turkey. Annals of Microbiology. 64: 1033–1040.
- Mazel D, Davies J. 1999. Antibiotic resistance in microbes. Cellular and Molecular Life Science. 56:742–54.
- Miranda CD, Zemelman R. 2002. Antimicrobial multiresistance in bacteria isolated from freshwater Chilean salmon farms. Science of the Total Environment. 293:207–18.
- Moges F, Endris M, Belyhun Y, Worku W. 2014. Isolation and Characterization of Multiple Drug Resistance Bacterial Pathogens from Waste Water in Hospital and Non-Hospital Environments, Northwest Ethiopia. BMC Research Notes. 215 (7) : 2–6.
- Ogbondeminu FS, Olayemi AB. 1993. Antibiotic resistance in enteric bacterial isolates from fish and water media. Journal of Aquaculture in the Tropics. 8: 207–12.
- Pathak SP, Gopal K. 2007. Bacterial contamination and antibiotic resistance in fecal coliforms from glacial water runoff. Bulletin Environmental Contamination and Toxicology. 79: 163–167.
- Podschun R, Ullmann U. 1998. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clinical Microbiological Reviews. 11: 589–603.
- Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS, Ben-Ami R, Schwartz D, Carmeli Y. 2006. Clinical and economic impact of bacteremia with extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 50: 1257–62.
- Schwartz T, Kohnen W, Jansen B, Obst U. 2003. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. FEMS Microbiology Ecology. 43: 325–35.
- Sharpe M. 2003. High on Pollution: Drugs as Environmental Contaminants. Journal Environmental Monitoring. 5: 43–46.
- Tendencia EA, De la Pena LD. 2001. Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds. Aquaculture. 193: 193–204.
- Thompson JM, Gundogdu A, Stratton HM, Katouli M. 2013. Antibiotic Resistant *Staphylococcus aureus* in Hospital Wastewaters and Sewage Treatment Plants with Special Reference to Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Journal of Applied Microbiology. 114 (1): 44–55.
- Vaseeharan, B, Ramasamy P, Murugan T, Chen JC. 2005. In vitro susceptibility of antibiotics against *Vibrio* spp. and *Aeromonas* spp. isolated from *Penaeus monodon* hatcheries and ponds. International Journal of Antimicrobial Agents. 26:285–291.
- Vivekanadhan G, Savithamani K, Hatha AAM, Lakshmanaperumalsamy P. 2002. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from marketed fish and prawn of South India. International Journal of Food Microbiology. 76: 165–8.