

## ***Bacteroides fragilis* Kökenlerinde Enterotoksin (*bft*) ve Karbapenemaz (*cfiA*) Gen Birlikteliğinin Araştırılması**

### **Investigation of the Coexistence of Enterotoxin Genes (*bft*) and Carbapenemase Genes (*cfiA*) Among *Bacteroides fragilis* Strains**

Nurver TOPRAK ÜLGER<sup>1</sup>, Arzu ILKI<sup>1</sup>, Neşe BALKAN<sup>1</sup>, Nilay ÖZEL<sup>1</sup>, Güner SÖYLETİR<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

#### **ÖZET**

**Giriş:** *Bacteroides fragilis*, insan normal kolon florasının yaklaşık %1-2'sini oluşturmasına karşın birtakım virülans faktörlerine sahip olması nedeniyle izole edilen anaerob patojenler arasında birinci sırada bulunmaktadır. Bazı kökenler, 20 kDa büyüklüğünde ısıya duyarlı, Zn<sup>2+</sup> bağımlı metalloproteaz yapısında enterotoksin salgılamaktadır. Bu toksin, ishal ve aktif inflamatuvar bağırsak hastalıklarıyla ilişkilendirilmiştir. Aynı zamanda *Bacteroides* kökenleri antibiyotiklere diğer anaeroplardan daha fazla direnç göstermektedir. Sadece karbapenemler veya nitroimidazoller yüksek oranda etkili olmakla beraber, son dönemlerde karbapenemlere direnç geliştiren *B. fragilis* kökenleri bildirilmiştir. Bu çalışmada, farklı klinik örneklerden (n= 56) ve insan dışkılarından (n= 16) izole edilmiş *B. fragilis* kökenlerinde enterotoksin (*bft*) ve karbapenemaz (*cfiA*) genlerinin birlikte bulunma durumları araştırılmıştır.

**Materyal ve Metod:** Toplam 72 *B. fragilis* kökeninden polimeraz zincir reaksiyonu yöntemiyle *bft* ve *cfiA* genleri, "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" (M11-A7)'ün önerdiği agar dilüsyon yöntemiyle imipenem ve meropenem duyarlılıkları araştırılmıştır.

**Bulgular:** Kökenlerin 26 (%36)'sında *cfiA*, 22 (%30.5)'sinde ise *bft* geni saptanmış, 8 (%11) kökende *cfiA* ve *bft* genleri beraber tespit edilmiş, ancak iki genin beraber bulunması istatistiksel olarak anlam ifade etmemiştir. Karbapeneme dirençli kökenlerin tamamı *cfiA* pozitif olup, kökenlerin dördü imipeneme, altısı ise meropeneme dirençli bulunmuştur.

**Sonuç:** Bulgularımıza göre *B. fragilis* kökenlerimizde *bft* ve *cfiA* genlerinin birlikte bulunmaları anlamlılık ifade etmemesine karşın, bu iki genin prevalansı literatürde yer alan bilgilere göre daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda *Bacteroides* kökenleri içinde yüksek düzey *cfiA* pozitifliği kaygı vericidir ve bu durum, gelecekte enfeksiyonların tedavi seçeneklerini azaltmaktadır. Bu nedenle *B. fragilis* kökenlerinin, gelişebilecek direnç yönünden yakından takip edilmesi önem arz etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Bacteroides fragilis*, Metallo-beta-laktamaz, *cfiA* geni, *Fragilis*, *bft* geni

## SUMMARY

**Investigation of the Coexistence of Enterotoxin Genes (*bft*) and Carbapenemase Genes (*cfiA*) Among *Bacteroides fragilis* Strains**Nurver TOPRAK ÜLGER<sup>1</sup>, Arzu İLKI<sup>1</sup>, Neşe BALKAN<sup>1</sup>, Nilay ÖZEL<sup>1</sup>, Güner SÖYLETİR<sup>1</sup><sup>1</sup> Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, University of Marmara, Istanbul, Turkey

**Introduction:** *Bacteroides fragilis* constitutes about 1 to 2% of the normal colon flora in humans; however, this bacterium is the most commonly encountered bacterium from anaerobic infections due to its several virulence factors. Some strains produce a 20 kDa heat-labile enterotoxin, which is a Zn<sup>+</sup>-dependent metalloprotease. This toxin is associated with diarrheal disease and active inflammatory bowel disease. *Bacteroides* are also more resistant to antimicrobial agents than the other anaerobes. Although only carbapenems and nitroimidazoles remain highly active against *B. fragilis* strains, carbapenem-resistant isolates have already been reported. The aim of this study was to investigate the coexistence of enterotoxin (*bft*) and carbapenemase genes among *B. fragilis*, which were isolated from different clinical samples (n= 56) and from humans feces (n= 16).

**Materials and Methods:** We examined a total of 72 *B. fragilis* isolates by polymerase chain reaction (PCR) for the presence of *bft* and *cfiA* genes using agar dilution methods recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (M11-A7) for susceptibility of imipenem and meropenem.

**Results:** Twenty six (36%) strains had the *cfiA* gene and 22 (30.5%) strains had the *bft* gene; 8 (11%) isolates harbored both the *cfiA* and *bft* genes. However, the coexistence of *bft* and *cfiA* genes was not statistically significant. Four strains were resistant to imipenem and 6 strains were resistant to meropenem, and all the carbapenem-resistant strains (n= 6) were *cfiA*-positive.

**Conclusion:** Although our data did not reveal the coexistence of the *bft* and *cfiA* genes in *B. fragilis* strains, the prevalence of these two genes was higher than the data of earlier studies in the literature. According to our results, the high rate of *cfiA*-positive isolates in *Bacteroides* is worrying, and reduces the therapeutic options for treating infection caused by these organisms. Thus, it is important to monitor *B. fragilis* for emergence of resistant strains.

**Key Words:** *Bacteroides fragilis*, Metallo-beta-lactamase, *cfiA* gene, Fragilysin, *bft* gene

**GİRİŞ**

Kolon florası elemanlarından *Bacteroides fragilis*, gastrointestinal veya genitoüriner sistem operasyonları sonrasında batin içi infeksiyonlarına veya bakteremiye neden olabilmektedir. *B. fragilis*, klinik örneklerden izole edilen anaerop patojenler arasında birinci sırada yer almakta ve bu özelliği birtakım virülans faktörlerine sahip olmasına bağlanmaktadır<sup>[1]</sup>. Bazı *B. fragilis* kökenleri, virülans faktörlerinden, frajilisin (fragilysin) adı verilen ve bir metallo-enzim olan enterotoksin salgılamaktadır. Üretimi *bft* geniyle kodlanan frajilizin, bağırsak epitelinde birtakım morfolojik değişikliklere yol açmakta, dolayısıyla ishale ve bazı kronik inflamatuvar bağırsak hastalıklarına neden olabileceği bildirilmektedir. Toksin üretiminin sadece intestinal sistem infeksiyonlarında değil ekstraintestinal infeksiyonlarda da önemli bir virülans faktörü olabileceği ileri sürülmüştür. Nitekim yapılan çalışmalarda kandan ve diğer dokulardan izole edilen *B. fragilis* kökenlerinde *bft* görülme oranı belirgin şekilde yüksek bulunmuştur<sup>[2-4]</sup>.

*Bacteroides* kökenlerinin klinikteki bir başka önemi ise antibiyotiklere diğer anaeroplara göre daha fazla direnç göstermeleridir. Bu bakterilerin, karbapenemler, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörleri, metronidazol gibi sınırlı sayıda antibiyotiğe duyarlı oldukları bilinmektedir. Ancak son dönemlerdeki çalışmalarda bazı *Bacteroides* kökenlerinin bu antibiyotiklere de direnç geliştirdikleri bildirilmiştir<sup>[5]</sup>. Karbapenemlere direnç geliştiren kökenlerin; *cfiA* geni ile kodlanan metallo-beta-laktamaz yapısında karbapenemaz enzimi ürettikleri gösterilmiştir. Karbapenemaz enziminin sadece karbapenemleri değil, aynı zamanda diğer beta-laktam grubu antibiyotikleri de inaktive ettiği saptanmıştır<sup>[6,7]</sup>.

Gerek daha önce yaptığımız çalışmaya göre kandan elde ettiğimiz yedi *B. fragilis* kökeninin beşinde *bft* geninin bulunması, gerekse daha sonraki çalışmalarımızda kökenlerin önemli bir kısmında karbapenemaz geninin yüksek oranda görülmesi, kökenlerimizin özelliklerini yakından takip etmeyi gerektirmektedir<sup>[8,9]</sup>. Bu çalışmada *B. fragilis* kökenlerinde, ikisi de

birer metallo enzim olan; frajilisin ve karbapenemaz üretimini kodlayan (bft ve cfiA) genlerin birlikte bulunma durumları araştırılmıştır. Verilerimiz, gelecekte B. fragilis kökenlerinin göstereceği değişimi anlamamıza büyük katkı sağlayacaktır.

### MATERYAL ve METOD

Stoklarımızda bulunan, hastanemiz mikrobiyoloji laboratuvarında (56'sı klinik örneklerden, 16'sı dışkıdan) izole edilmiş ve tanımlanmış toplam 72 B. fragilis kökeni çalışmaya alınmıştır.

### Antibiyotik Duyarlılık Testi

Bakterilerin imipenem ve meropenem duyarlılıkları, "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)"ün anaerob bakteriler için önerdiği agarda dilüsyon yöntemi (M11-A7) ile çalışılmıştır<sup>[10]</sup>. Duyarlılık testlerinde ATCC 25285 B. fragilis kökeni kontrol olarak kullanılmıştır.

### Bakteri DNA'sının Elde Edilmesi

Bakteri kültüründen 4-5 koloni alınarak, DNaz, RNaz bulundurmaması (200 µL) içinde süspanse edilmiş ardından 20 dakika 95°C'de ısıtılmış ve 12.000 rpm'de santrifüj edilerek üst kısım kullanılmıştır<sup>[7]</sup>.

### Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Uygun primerler kullanılarak bft ve cfiA genleri amplifiye edilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri etidyum bromid içeren %2'lik agaroz jelde ve bir xTBE tam-

ponu içinde 90 V'de bir saat yürütülmüş, oluşan bantlar ultraviyole ışığı altında gözlemlendikten sonra yorumlanmıştır<sup>[7,11]</sup>. Kontrol kökenleri olarak, daha önce laboratuvarımızda tanımlanan cfiA geni pozitif B. fragilis ve bft geni pozitif NCTC 11295 B. fragilis çalışılmıştır<sup>[12]</sup>. Çalışmada kullanılan primer dizileri ve PCR koşulları Tablo 1'de verilmiştir.

Çalışma veri analizinde Microstat ve InStat istatistiksel yazılım programlarıyla, Pearson ki-kare, Kolmogorov Smirnov iki örneklilik, Fisher's exact testi kullanılmış, p < 0.005 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

### BULGULAR

Çalışılan kökenlerin 26 (%36)'sında cfiA, 22 (%30.5)'inde bft geni gösterilmiştir. Kökenlerin sekizinde cfiA ve bft birlikte yer almıştır (Tablo 2). İki genin; cfiA ve bft geninin birlikte görülme olasılığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p = 0.475).

Karbapenemaz genleri temel alınarak bakterilerin imipenem ve meropenem duyarlılıkları değerlendirildiğinde, dirençli kökenlerin cfiA genine sahip olanlar arasında yer aldığı, imipenem dört, meropenem ise altı kökenin dirençli olduğu görülmüştür. Gerek imipenem, gerekse meropenem MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri cfiA genine sahip kökenlerde belirgin şekilde yüksek bulunmuştur.

bft genine sahip kökenlerin; imipenem ve meropenem MİK<sub>90</sub> değerleri sırasıyla 0.5 mg/L ve 8 mg/L bulunmuş, ikisinde meropenem direnç gö-

Tablo 1. Enterotoksin (bft) ve karbapenemaz (cfiA) genlerinin amplifikasyonu için uygun primer ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) koşulları

Genler	Primerler 5'-....-3'	PCR koşulları
bft	BF-3: GAG CCG AAG ACG GTG TAT GTG ATT TGT	94°C'de 2 dakika 40 döngü: 94°C'de 45 saniye 51°C'de 45 saniye 72°C'de 45 saniye 72°C'de 7 dakika
	BF-4: TGC TCA GCG CCC AGT ATA TGA CCT AGT	
cfiA	F: TTTCCCTGTGCGAGTTATGG	94°C'de 2 dakika 35 döngü: 94°C'de 45 saniye 51°C'de 45 saniye 72°C'de 45 saniye 72°C'de 2 dakika
	R: GACCAGCATTCCGTTTGTG	

**Tablo 2. *Bacteroides fragilis* kökenlerinde *bft* ve *cfiA* genlerinin dağılımı**

	<i>cfiA</i> pozitif	<i>cfiA</i> negatif	Toplam
<i>bft</i> pozitif	8	14	22
<i>bft</i> negatif	18	32	50
Toplam	26	46	72

rülmüş, ancak imipeneme direnç saptanmamıştır. *bft* geni negatif kökenlerde ise,  $MİK_{90}$  değerleri imipenem için 2 mg/L, meropenem için 8 mg/L bulunmuş, kökenlerin dördünde bu iki antibiyotiğe direnç saptanmıştır. *bft* pozitif ve *bft* negatif kökenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Tablo 3'te kökenlerin *bft*, *cfiA* dağılımına göre imipeneme ve meropeneme direnç durumları,  $MİK_{50}$  ve  $MİK_{90}$  değerleri verilmiştir.

### TARTIŞMA

Anaerob patojenler arasında *B. fragilis* kökenleri birinci sırada yer almaktadır. Bu özelliği, *B. fragilis* kökenlerinin birtakım virülans faktörleriyle ilişkilendirilmiştir. Son yıllarda tanımlanan virülans faktörlerinden birisi, aktif bölgesinde  $Zn^{+}$  taşıyan, metallo enzim yapısında enterotoksin salgılanmasıdır. Enterotoksin üretimi *bft* geni tarafından kodlanmakta ve bu gen bakteri DNA'sında bulunan patogeneze adacığında yer almaktadır. Patogeneze adacığının her iki ucunda, diğer bakterilerin direnç genlerine yapısal benzerlik gösteren mobil genler bulunmaktadır. Mobil genlerin varlığı, patogeneze adacığının bir bakteriden diğerine geçebileceğini, beraberinde antibiyotik direnç genlerini de aktarabileceğini düşündürmektedir<sup>[2,13,14]</sup>.

*B. fragilis* türlerinin klinikteki bir başka önemli özelliği, antibiyotiklere diğer anaeroplara göre daha fazla direnç göstermeleridir. Antibiyotiklere direnç genleri tek başına veya gen kasetleri halinde, bakteri kromozomunda, plazmid veya transpozon üzerinde bulunabilmekte, bir bakteriden diğerine aktarılabilmektedir<sup>[15]</sup>. Bu bakterilerde karbapenemlere direnç gelişmesine yol açan karbapenemazlar, *cfiA* geni tarafından kodlanmakta, *cfiA* geni de plazmid veya kromozom üzerinde yer alabilmektedir<sup>[7,16,17]</sup>.

Daha önce, enterotoksin geni taşıyan (n= 50) veya taşımayan (n= 50) *B. fragilis* izolatlarının antibiyotiklere direnç durumunu karşılaştırdığımız çalışmada, *bft* geni taşıyan kökenlerin antibiyotiklere direnç oranları ve  $MİK_{90}$  değerleri daha yüksek gibi görülmekle birlikte, *bft* geni pozitif ve negatif izolatlar arasında antibiyotiklere direnç açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. Ancak aynı çalışmanın verileri detaylandırıldığında, dışkıdan izole edilen *bft* pozitif kökenlerde piperasiline direnç oranı anlamlı şekilde yüksek ( $p=0.02$ ) bulunmuştur<sup>[18]</sup>. İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, direnç oranının yüksek olması, antibiyotik kullanılması durumunda dirençli ve virülen kökenlerin daha baskın hale geleceği kaygısını yaratmaktadır. Bu gerçekten yola çıkılarak ve daha önceki bir başka çalışmamızda, kanda izole edilen kökenlerin yüksek oranda *bft* taşıdığı göz önüne alınarak, kökenlerimizin direnç ve virülen özelliklerinin belirlenmesi gerekli görülmüştür. Bu amaçla, çalışmamızda *B. fragilis* kökenlerinde karbapenemaz geni ve virülans faktörü enterotoksin geni araştırılmış, iki genin birlikte bulunma durumu değerlendirilmiştir. Kökenlerin 26 (%36)'sında *cfiA*, 22 (%30.5)'sinde *bft* geni gösterilmiştir. Bakterilerin 8 (%11)'inde hem *cfiA* hem de *bft* genleri tespit edilmiştir. *bft* genine sahip kökenler ile

**Tablo 3. Antibiyotiklerin *Bacteroides fragilis* kökenlerine in vitro etkisi**

Antibiyotikler	İmipenem			Meropenem		
	$MİK_{50}$ (mg/L)	$MİK_{90}$ (mg/L)	Direnç n (%)	$MİK_{50}$ (mg/L)	$MİK_{90}$ (mg/L)	Direnç n (%)
<i>bft</i> pozitif (n= 22)	0.25	0.5	0	0.25	8	2 (10)
<i>bft</i> negatif (n= 50)	0.5	2	4 (8)	2	8	4 (8)
<i>cfiA</i> pozitif (n= 26)	0.5	16	4 (15)	4	32	6 (23)
<i>cfiA</i> negatif (n= 46)	0.25	1	0	0.25	4	0
<i>bft</i> pozitif ve <i>cfiA</i> pozitif + (n= 8)	0.25	1	0	2	16	1 (12.5)

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu.

*bft* geni olmayanlar arasında, *cfiA* pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Terhes ve arkadaşlarının yaptığı benzer çalışmada *B. fragilis* kökenlerinde *cfiA* varlığı ile *bft* varlığı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır<sup>[19]</sup>. Bunun dışında gerek dünya literatüründe gerekse ülkemizde *cfiA* ve *bft* birlikteliğini araştıran başka çalışmaya rastlanmamıştır. Genel olarak bakıldığında; patojen bakterilerin virülans mekanizmalarını ve bu bakterilerin antibiyotiklere direnç durumunu araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Bazı çalışmalarda virülansı yüksek olan bakterilerin birtakım antibiyotiklere dirençli olduğu, bazı çalışmalarda ise tersine, antibiyotiklere dirençli kökenlerin virülans özelliklerinin daha zayıf olduğu gösterilmiştir<sup>[20,21]</sup>. Diğer yandan virülans ile antibiyotiklere direnç arasında herhangi bir istatistiksel ilişkinin kurulamadığı çalışmalar da bildirilmiştir<sup>[22]</sup>.

Çalışmamızda *bft* geni taşıyan ve taşımayan kökenlerin karbapenemlere direnç durumları irdelendiğinde; imipeneme dirençli kökenler (n= 4) *bft* geni negatifler arasında bulunmuştur. Bunun yanı sıra, *bft* geni negatif kökenlerin imipenem MİK<sub>50</sub>, MİK<sub>90</sub> ve meropenem MİK<sub>50</sub> değerleri, *bft* geni pozitif kökenlere göre 2-8 misli daha yüksek saptanmıştır. *bft* negatif kökenler daha yüksek MİK değerlerine sahip olmasına karşın, iki grup arasında direnç bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Daha önceki çalışmamızda görülen, *bft* pozitif kökenlerin beta-laktam antibiyotiklere direnç oranının yüksek olmasıyla, bu çalışmada *bft* negatif kökenlerin daha yüksek karbapenem MİK değerlerine sahip olması tezad gibi gözükmekle beraber, bu tezad direnç mekanizmalarının farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir<sup>[6,18]</sup>. *Bacteroides* kökenlerinde, moleküler sınıf A'da ve moleküler sınıf B'de yer alan iki tip beta-laktamaz tanımlanmıştır. Moleküler sınıf A beta-laktamazlar kökenlerin çoğunda (%79-100) bulunmakta, penisilin ve sefalosporinlere karşı direnç gelişimine yol açmaktadırlar. Üretimleri *cepA* veya *cfxA* genleriyle kodlanan bu enzimler, klasik beta-laktamaz inhibitörleriyle inhibe olabilmektedir. Moleküler sınıf B beta-laktamazlar (Bush sınıflamasında grup 3a'da) ise daha nadir görülmekte, özellikle *B. fragilis* türlerinde bulunmakta ve karbapenem direncine yol açmaktadır. Yapımı *cfiA* geni tarafından kodlanan, EDTA varlığında inhibe olan karbapenemazlar, klasik beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmemektedir<sup>[6]</sup>. Bu çalışmada A sınıfı beta-laktamazları kodlayan genlere ba-

kılmamıştır. Eğer kökenlerimizde *cepA* ve *cfxA* genleri araştırılmış olsaydı, çalışmamızın kanıtlarını daha da güçlendirebilir, verilerimiz arasındaki tezadı açıklamakta daha yol gösterici olabilirdi.

İmipeneme dirençli ilk kökenimiz 1999 yılında, aspirasyon pnömonisi olan bir hastadan izole edilmiştir. Yaptığımız ayrıntılı çalışmada kökenin *cfiA* geni taşıdığı, karbapenemlerin yanı sıra diğer beta-laktam antibiyotiklere de direnç gösterdiği bulunmuştur<sup>[12]</sup>. Günümüzde hastanemizde izole edilen kökenlerin yaklaşık %5-8'i karbapenemlere direnç göstermektedir<sup>[9]</sup>. Çeşitli ülkelerden %0.2-12 arasında değişen oranda imipenem ve meropeneme direnç bildirilmiştir<sup>[23-27]</sup>. Ülkemizdeki veriler incelendiğinde; sadece Erciş ve arkadaşları 29 *Bacteroides* üzerinde yaptıkları çalışmada, bir kökende imipeneme direnç bulmuşlardır<sup>[28]</sup>. Uygulanan antibiyotik politikasına bağlı olarak ülkeler arasında, aynı ülkede şehirlerarasında, hatta aynı hastanede servisler arasında bile antibiyotiklere direnç oranında farklılıklar görülebilmektedir. Hastanemizde infeksiyon hastalıklarının tedavisinde karbapenemlerin sıklıkla kullanılıyor olması, kökenlerimizin karbapenemlere direnç oranlarının yüksek olmasını açıklayabilir. Bunun yanında *cfiA* oranımız kaygı verici boyutlarda olup, diğer ülke verilerine göre çok yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak; kökenlerimizde *bft* ve *cfiA* genlerinin beraber bulunması istatistiksel bir anlamlılık ifade etmemekle birlikte, *B. fragilis* kökenlerimiz arasında karbapenemlere direnci kodlayan *cfiA* pozitiflik oranlarımız diğer ülke verilerine göre oldukça yüksek bulunmuştur. Bu, hastanemizde karbapenemlerin yaygın kullanılıyor olmasına bağlanabilir. Karbapenemaz varlığında bakterinin diğer beta-laktam antibiyotiklere de direnç göstermesi kökenlerimizin özelliklerini yakından izlememizi gerektirmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Finegold SM. Anaerobic bacteria: general concepts. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5<sup>th</sup> ed. Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2000:2519-36.
2. Sears CL, Myers LL, Lozenby A, Van Tassel RL. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*. Clin Infect Dis 1995;20(Suppl 2):S142-S8.
3. Kato N, Kato H, Watanabe K, Ueno K. Association of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* with bacteremia. Clin Infect Dis 1996;23(Suppl 1):S83-S6.

4. Mundy LM, Sears C. Detection of toxin production by *Bacteroides fragilis*: assay development and screening of extra-intestinal clinical isolates. *Clin Infect Dis* 1996;23:269-76.
5. Hecht DW. Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments. *Clin Infect Dis* 2004;39:92-7.
6. Nord CE, Hedberg M. Resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics in anaerobic bacteria. *Rev Infect Dis* 1990;12(Suppl 2):S231-S4.
7. Soki J, Fodor E, Hecht DW, Edwards R, Rotimi VO, Kerekes I, et al. Molecular characterization of imipenem resistance *cfiA*-positive *Bacteroides fragilis* isolates from the USA, Hungary and Kuwait. *J Med Chem* 2004;53:413-9.
8. Ülger N, Yağcı A, Söyletir G. Klinik örneklerde izole edilen *Bacteroides fragilis* suşlarında enterotoksin geninin gösterilmesi. XXX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kemer-Antalya, 30 Eylül-5 Ekim 2002. p. 03-07.
9. Dengel Uzunkaya O, Ülger Toprak N, Karavus M, Soyletir G. Susceptibility profiles and detection of resistance genes of carbapenems (*cfiA*) and 5-nitroimidazole (*nim*) among *Bacteroides* spp. in Turkey, Abstract no: R2102, ECCMID 2009-Finland.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria, Approved Standards-7<sup>th</sup> Edition, M11-A7, CLSI, Pennsylvania, USA, 2007.
11. Pantosti A, Malpeli M, Wilks M, Menozzi MG, D'Ambrosia F. Detection of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* by PCR. *J Clin Microbiol* 1997;35:2482-6.
12. Toprak Ülger N, Aral C, İlki A, Özer A, Söyletir G. Marmara Üniversitesi Hastanesinde izole edilen ilk imipeneme dirençli *Bacteroides fragilis* kökeninin fenotipik ve genotipik özelliklerinin araştırılması. *FLORA* 2009;14:175-81.
13. Franco AA, Cheng RK, Chung GT, Wu S, Oh HB, Sears CL. Molecular evaluation of the pathogenicity island of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* strains. *J Bacteriol* 1999;21:6623-33.
14. Hentschel U, Hacker J. Pathogenicity islands. The tip of iceberg. *Microbes Infect* 2001;3:545-8.
15. Smith CJ, Tribble GD, Bayley DP. Genetic elements of *Bacteroides* species: a moving story. *Plasmid* 1998;40:12-29.
16. Podglajen I, Breuil J, Collatz E. Insertion of a novel DNA sequences, IS1186, upstream of the silent carbapenemase gene *cfiA*, promotes expression of carbapenem resistance in clinical isolates of *Bacteroides fragilis*. *Mol Microbiol* 1994;12:105-14.
17. Podglajen I, Breuil J, Rohaut A, Monsempes C, Collatz E. Multiple mobile promoter regions for the rare carbapenem resistance gene of *Bacteroides fragilis*. *J Bacteriol* 2001;183:3531-5.
18. Toprak Ülger N, Yağcı A, Çelik C, Çakıcı Ö, Söyletir G. Enterotoksin geni pozitif ve negatif *Bacteroides fragilis* izolatlarının antibiyotiklere direnç durumlarının karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2005;39:145-52.
19. Terhes G, Brazier JS, Sóki J, Urbán E, Nagy E. Coincidence of *bft* and *cfiA* genes in a multi-resistant clinical isolate of *Bacteroides fragilis*. *J Med Microbiol* 2007;56:1416-8.
20. Ruzon FI, de Paula SB, Kanoshiki RL, Pereira-Santos J, Kerbauy G, Kobayashi RK, et al. Virulence determinants in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* vanA isolated from different sources at University Hospital of Londrina, Paraná, Brazil. *J Microbiol* 2010;56:814-21.
21. Dalla Costa ER, Ribeiro MO, Silva MS, Arnold LS, Rostirolla DC, Cafrune PI, et al. Correlations of mutations in *katG*, *oxyR-ahpC* and *inhA* genes and in vitro susceptibility in *Mycobacterium tuberculosis* clinical strains segregated by spoligotype families from tuberculosis prevalent countries in South America. *BMC Microbiol* 2009;9:39.
22. Martinez JL, Baquero F. Interaction among strategies associated with bacterial infection: pathogenicity, epidemicity, and antibiotic resistance. *J Clin Microbiol* 2002;15:647-78.
23. Koeth ML, Good EC, Appelbaum CP, Goldstein JCE, Rodloff CA, Claros M, et al. Surveillance of susceptibility patterns in 1297 European and US anaerobic and capnophilic isolates to co-amoxiclav and five other antimicrobial agents. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:1039-44.
24. Soki J, Edwards R, Hedberg M, Fang H, Nagy E, Nord CE. Examination of *cfiA*-mediated carbapenem resistance in *Bacteroides fragilis* strains from a European antibiotic susceptibility survey. *Int J Antimicrob Agents* 2006;28:497-502.
25. Hedberg M, Nord CE. Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:475-88.
26. Ueno K, Kato N, Kato H. The status of research on anaerobes in Japan. *Clin Infect Dis* 2002;35(Suppl 1):S54-S7.
27. Liu CY, Huang YT, Liao CH, Yen LC, Lin HY, Hsueh PR. Increasing trends in antimicrobial resistance among clinically important anaerobes and *Bacteroides fragilis* isolates causing nosocomial infections: emerging resistance to carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:3161-8.
28. Erciş S, Tunçkanat F, Haşçelik G. Klinik örneklerden izole edilen anaerob gram-negatif basillerin çeşitli antibiyotiklere direnç durumları. XXXI Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 19-23 Eylül; Kuşadası-Aydın; 2004. p.036.

#### Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Doç. Dr. Nurver TOPRAK ÜLGER

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Haydarpaşa Kampüsü, İstanbul-Türkiye

E-posta: nurverulger@yahoo.com