

KÜTAHYA YÖRESİNDE BURUN MUKOZASINDAKİ *Staphylococcus aureus* TAŞIYICILIĞININ VE ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI

Aysel GÜLBANDILAR

Sağlık Müdürlüğü, Halk Sağlığı Laboratuvarı, 43010, Kütahya, agulbandilar@yahoo.com

Geliş Tarihi: 10.02.2009

Kabul Tarihi: 02.03.2009

ÖZET

Mayıs 2006-Haziran 2007 arasındaki dönemde Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarına “Portör Muayenesi “ için başvuran gıda elleyicilerinden (aşçı, fırıncı, pastacı vb.) ve halkla direkt temas eden esnaf gruplarından (berber, kuaför gibi) olmak üzere toplam 3048 kişiden burun kültürleri alınarak, izole edilen izolatlar karakterize edilmiş ve tiplendirme yöntemleri ile bu kişilerin portörlüğünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Steril eküvyonlu çubuklarla gıda elleyicilerinin burun mukozalarından alınan sürüntü kültürleri uygun besiyerlerine ekilerek, geleneksel biyokimyasal teknikler ile *Staphylococcus aureus* bakterisi identifiye edilmiştir. İncelemeye alınan örneklerden 217 adet *Staphylococcus aureus* bakterisi izole edilmiş olup bu izolatların 37 sini kadın çalışan (%17.05), 180'ini erkek çalışan (% 82.9) oluşturmaktadır.

İnceleme sonucu taşıyıcı olarak tesbit edilen toplam 217 burun taşıyıcısı izolatlarının sadece on ikisinde metisilin direnci belirlenmiştir. Mupirosin, teikoplanin, vankomisin'e karşı direnç saptanmamıştır. İzolatların % 91,74'ü penisilin G'ye karşı dirençli bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus aureus*, burun taşıyıcılığı.

INVESTIGATION OF *Staphylococcus aureus* CARRIAGE AND ANTIBIOTIC SENSITIVITY IN NOSE MUCOUS MEMBRANE IN KUTAHYA PROVINCE

ABSTRACT

Isolates were taken from nose mucous of food handlers such as cooks, bakers, and confectioner etc. and artisans such as barber and coiffure who contact directly with many people, during their routine carrier inspection process in Kütahya Public Health Laboratory between May 2006 and June 2007 in order to determine nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. Conventional biochemical techniques were used in identification of *S. aureus* isolates. *S. aureus* strains were isolated in 217 out of 3048 people. No resistance to mupirosin, teikoplanin, and vankomisin was determined in isolates while 91.74 % of isaolates were resistant to penicilin G. It was pleasant that resistance to metisilin was pretty low, which is determined only at twelve isolates.

Key Words: *Staphylococcus aureus*, nasal carriage.

1. GİRİŞ

Staphylococcus aureus insanlarda birçok enfeksiyonlara neden olan bir bakteridir. Ortam şartlarına dayanıklı olduklarından doğada çok yaygındırlar. İnsanlarda enfeksiyon yapan patojen stafilokokların kaynağı yine insanlardır [1]. Doğal olarak en fazla burun ve boğaz boşluğunda, insan ve hayvan dışkılarında, ciltte apselli yaralarda ve sivilcelerde yoğun olarak bulunurlar. Gıdalarda ve gıda işletmelerinde, elle gıda hazırlayanlarda, hastane personeli ve hastane ortamlarında da yaygın olarak bulunurlar. Nazal stafilokoklar, taşıyıcılarla çevreye yayılarak tehlike oluştururlar. Taşıyıcı olan ve özellikle gıda sektöründe bizzat elleriyle gıda hazırlayanlar stafilokok besin zehirlenmelerinin önemli kaynağıdırlar [1- 4].

Günümüzde *S. aureus*'un bir çok antibiyotiğe direnç gösteren izolatlarının ortaya çıkması çoğu hastane için önemli bir sorun haline gelmiştir. Hem coğrafik bölgeler arasında hem de aynı bölgede değişkenlik gösteren metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) prevelansının belirlenmesinde izolatların çeşitli antibiyotiklere ve özellikle metisiline dirençliliğinin araştırılması önem arz etmektedir. Çünkü; MRSA izolatları ciddi ve tedavisi güç enfeksiyonlar oluşturmaktadırlar. Bu nedenle farklı kaynaklardan izole edilen *S. aureus* izolatlarının yayılımının izlenmesi açısından bunların tiplendirilmesi önem taşımaktadır.

Bu çalışmada farklı yerlerde çalışan gıda elleyicilerinin ve insanlarla direkt temas eden kişilerin *Staphylococcus aureus* bakterisi yönünden burun portörlüğü ve *Staphylococcus aureus* izolatlarının metisilin dahil çeşitli antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Kütahya Halk Sağlığı Laboratuvarı'na portör muayenesi yaptırmak üzere başvuran, insanlarla direkt irtibatı olan ve farklı işletmelerde çalışan kişilerin burun mukozalarından steril eküvyonlu çubuklarla sürüntü kültürleri alınarak, kanlı agar besiyerine ekim yapılmış 37°C de 24 saat inkübe edilmiştir. Çalışmamızda referans olarak NRRL B 767 *S. aureus* izolatı kullanılmış ve bu izolat; United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service'den temin edilmiştir.

İnkübasyon sonrası şüpheli yapan kolonilerden Baird- Parker agara ekim yapılmış, 37°C de 24 saat inkübe edilmiştir. Gri siyah renkli ve etrafında 2-5mm berrak bir zon oluşmuş (lesitinaz pozitif) parlak renkteki koloniler seçilmiştir. Kanlı agarda hemolitik ve Baird- Parker agarda gri siyah renkli ve etrafında 2-5 mm berrak bir zon oluşmuş (lesitinaz pozitif) parlak renkteki kolonilerin gram boyama sonucunda mikroskopta mor renkli, salkım görünümünde olan kok şeklindeki kolonileri seçilmiştir. İzolatlar identifikasyon için aşağıdaki testlere alınmıştır.

Gram boyama, katalaz testi, koagülaz testi, pigment testi, lesitinaz testi, hemoliz testi, üreaz testi, jelatinaz testi, deoksiribonükleaz (DNaz) testi, karbonhidratların aerobik fermentasyonu testi [5,13].

İzolatların antibiyotiklere duyarlılıkları Mueller Hinton agar (MHA) besiyerinde disk difüzyon yöntemiyle incelenmiştir [9,14-16]. Çalışmamızda; mupirosin, teikoplanin, vankomisin, penisilin G ve oksasilin antibiyotikleri kullanılmıştır.

Bu amaçla önce tüm izolatlar öze ile kanlı agar besiyerine ekim yapılmış ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası taze kültürden steril eküvyonla 1.8 ml izotonik % 0.09 NaCl solüsyonu doldurulmuş tüp içerisine aktararak dilüe edilmiştir. Mc Farland No:0.5 (10⁸ kob/ml) bulanık standardına uygun olarak ayarlanmıştır. Daha sonra MHA besiyeri yüzeyine eküvyon ile inokülasyon yapılmıştır. Yüzey kuruduktan sonra değişik antibiyotik diskleri yerleştirilerek bir gece inkübasyona bırakılmış, bir sonraki gün diskler etrafında oluşan zon çapları ölçülmüştür. Elde edilen zon çapları CLSI(Clinical and Laboratory Standarts Institute) tarafından önerilen zon değerleri ile karşılaştırılarak duyarlı, orta derece duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilmiştir[17].

3. BULGULAR

Çalışmada burun taşıyıcısı olarak belirlenen toplam 217 kişinin 37 sini kadın çalışan(%17.05), 180'ini erkek çalışan (% 82.9) oluşturmaktadır.

Yapılan biyokimyasal testler sonucunda NRRL B 767 referans izolatı dahil incelenen toplam 218 izolatın tamamında gram boyama, hemoliz, katalaz, koagülaz, lesitinaz aktivitesi, mannitol tuzlu agarda üreme, mannitol fermentasyonu, glikoz fermentasyonu, DNaz testleri ile karbonhidratların aerobik fermentasyonu testinde kullanılan sükroz, glikoz, mannitol, maltoz, trehaloz ve fruktoz karbonhidratları pozitif olarak bulunmuştur. Buna karşılık üreaz testinde izolatların 76'sı pozitif, 142'si negatif olarak değerlendirilirken; jelatinaz testinde ise 48'i pozitif 170'i negatif olarak değerlendirilmiştir. Karbonhidratların aerobik fermentasyonu testinde kullanılan laktoz, ksiloz, rafinoz, arabinoz fermentasyonu negatif bulunmuştur. İzolatların 110'unun altın sarısı,

76'sının krem rengi, 32'sinin beyaz pigment oluşturduğu belirlenmiştir. Tüm izolatlar *S. aureus* olarak tanımlanmıştır.

Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre mupirosin, teikoplanin, vankomisin'e karşı direnç saptanmamıştır. İzolatların % 91,74'ü penisilin G'ye karşı dirençli bulunmuştur (Tablo 3.1).

Tablo 1 *S.aureus* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

Antibiyotik kodu	D*	ODD	R	%D	%ODD	%R
Mupirosin	218	0	0	100	0	0
Penisilin G	18	0	200	8,26	0	91,74
Teikoplanin	208	10	0	95,41	4,59	0
Vankomisin	218	0	0	100	0	0
Oksasilin	206	0	12	94,5	0	5,5

* D: Hassas, ODD: Orta Derecede Hassas, R: Dirençli, %: yüzde oran

4. TARTIŞMA

Hayatı tehdit eden nozokomiyal enfeksiyonlardan en sık soyutlanan etkenlerin arasında yer alan başında gelen Stafilokoklar, antibiyotiklere karşı gittikçe artan dirençlilikleri sebebiyle gerek hastanelerde ve gerekse toplum kökenli enfeksiyonlarda büyük bir sağlık sorunu haline gelmiştir [9,18-20].

Özellikle direkt ve indirekt temas ile yayılmakta, daha seyrek olarak ta hava yolu ve kontamine eşyalar ile temas sonucu bulaşmaktadır. Hastane ortamında bakterinin enfekte kişiden sağlık personelinin elleri ve giysileri ile aktarılması önemli bir bulaşma yoludur. İnsan ve hayvanlarda sebep oldukları apse, sivilce ve enfekte yaralarda yerleşerek buralardan gıda maddelerine bulaşabilirler. Yetişkinlerde burun, *S. aureus*'un en yoğun bulunduğu bölgelerden biridir. Nazal taşıyıcılık oranı genel populasyonda %10-40 arasında değişmektedir. Bu gibi kişiler kendileri ve başkaları için tehlike kaynağıdır. Kişilerin herhangi bir gıdanın hazırlanması, depolanması veya dağıtılmasında çalışması o gıdanın söz konusu mikroorganizmalarla bulaşma olasılığını arttırmakta, kontamine edilen gıdalar besin zehirlenmesine neden olmaktadır. *S. aureus* enfeksiyon ve besin zehirlenmesi geliştirme riski açısından, gıdalar ile sürekli içli dışlı olan gıda elleycilerinin özellikle burun patojen mikroorganizma taşıyıcılığının toplum için ne kadar büyük bir risk oluşturduğu ortadadır [1].

Neden olduğu patojenitenin en alt düzeye indirilmesi için verilen uğraşlara karşın enfeksiyon ve intoksikasyonların istenilen düzeyde azalmaması, gıda kaynaklı bu patojen ve toksinlerin gıdalarda her geçen gün daha güvenilir yöntemlerle ve doğru olarak belirlenmesini zorunlu hale getirmektedir.

Gerek enfeksiyonlara yol açmadaki patojenitesi ve gerekse gıdalarda meydana getirdiği zehirlenmeler sebebiyledir ki; bu bakterinin üzerinde çok sayıda araştırma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Shale ve ark. [21] Güney Afrika'da farklı mezbahalardaki kesim yerlerindeki inek etlerinden izole ettikleri Stafilokok türleriyle yaptıkları araştırmada karkaslardan bulaşan stafilokokların kontaminasyon seviyesini azaltıcı hijyen uygulamalarının yetersiz olduğunu belirtmişler ve gıda elleycilerinden, yüzeyden, ekipman ile çevreden kaynaklanan stafilokokal kontaminasyon seviyesinin azaltılması için üretim aşamasında hijyen kriterlerinin yeniden gözden geçirilmesini tavsiye etmişlerdir.

Çalışmamızda *S. aureus* izolatlarının Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre mupirosin, teikoplanin, vankomisin'e karşı direnç saptanmamıştır. İzolatların % 91,74'ü penisilin G'ye karşı dirençli bulunmuştur. Bu da daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermiştir.

Saçılık [10], değişik hastanelerden topladığı izolatların tümünün vankomisine duyarlı olduğunu, MSSA izolatlarının %91.70'inin penisilin G'ye dirençli olduklarını bildirmiştir.

Gündoğan ve ark. [22]; et ve tavuk örneklerinden izole ettikleri *S.aureus* izolatlarında antibiyotik direncini Kirby-Bauer yöntemiyle araştırmışlar %67.5'inin metisiline, %87.5'inin basitrasine, %53.8'inin penisilin-Gye ve %7.5' inin ise eritromisine dirençli olduğunu; tüm izolatların ise vankomisine, duyarlı olduklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, penisilin-Gye olan direnci hayvan ve insanlarda tedavi amacıyla çok yaygın bu antibiyotiğin

kullanıldığına bağlamışlardır. Özellikle gıdalardaki antibiyotik dirençli izolatların, gıda hazırlanmasında zayıf sanitasyonun göstergesi olabileceğini ve de tüketicinin sağlığı yönünden risk taşıyabileceğini vurgulamışlardır.

Tondo ve ark. [23]; süt ürünleri işleyen bir fabrikadaki gıdaların *S. aureus* ile kontaminasyonu analizinin yapılması ve değerlendirilmesinde; PFGE(Pulsed Field Gel Electrophoresis) profilini ve antibiyotik direncini araştırmışlardır. Çalışmalarında penisilin G, eritromisin, klindamisin, oksasilin, sephalotin, gentamisin, sulfametoksazol/trimethoprim ve vankomisin antibiyotiklerinden yararlanmışlardır. Bu amaçla personelden, işlenmemiş süttten ve işlenmiş süt ürünlerinden izole edilen *S. aureus* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarını değerlendirmişlerdir. İzolatların penisilin G'ye sırasıyla %94.4, %47.3 ve %50 oranlarında direnç gösterdiklerini; oksasilin, sephalotin, gentamisin, sulfametoksazol/trimethoprim ve vankomisin'e karşı ise duyarlı olduklarını tesbit etmişlerdir .

Pesavento ve ark. [18]; işlem görmemiş et ürünlerinden izole ettikleri *S. aureus* izolatlarında antimikrobiyal direnç profillerini araştırmışlar ve toplam 42 izolatta gerçekleştirdikleri çalışmada izolatların tümünün metisilin, teikoplanin ve vankomisine karşı duyarlı olduklarını belirlemişlerdir. Sonuç olarak sadece nozokomiyal değil, çevresel kaynaklı izolatlarda da antibiyotiklere karşı direncin olduğunu belirlemişlerdir. Vankomisine ve teikoplanine karşı bulunan duyarlılık oranları ile penisilin G'ye karşı bulunan dirençlilik oranları çalışma sonuçlarımızla benzer bulunmuştur.

Son derece önemli olan metisilin direncinin düşük olarak belirlenmesi sevindiricidir. Mupirosin, teikoplanin, vankomisin'e karşı direnç saptanmamıştır. İzolatların % 91,74'ü penisilin G'ye karşı dirençli bulunmuştur. Penisilin-G'ye karşı yüksek direnç olması bu antibiyotiğin hayvan ve insanlarda tedavi amacıyla çok yaygın kullanıldığının göstergesidir.

Üreticiden tüketiciye uzanan kontaminasyon zincirinde nazal stafilokoklar; taşıyıcılar ve başkaları için tehlike kaynağıdır, Enterotoksinleri vasıtasıyla gıda zehirlenmelerine sebep olmaları nedeniyle bu bakterinin halk sağlığı açısından ne denli önemli olduğu görülmektedir. Çevreye kolay yayıldıkları için patojen mikroorganizmayı bulduran yiyeceği alan hemen herkeste görülebilmektedirler ve stafilokoksik besin zehirlenmelerinin epidemiyolojisi kişiden kişiye karakterize olduğundan, çözüm için deri enfeksiyonu olan ve burun taşıyıcılarının eradikasyonu sağlanmalıdır.

Bu amaç doğrultusunda üretim yerleri; modern aletlerle donatılmalı alet-ekipmanın sterilitesine dikkat edilmeli, çalışan personel eğitime tabii tutulmalı, koruyucu giysiler giymeli, maske ve eldiven kullanılmalıdır. Gerek üretim aşamasında ve gerekse gıda satış yerlerinde çalışan personellerin kanunun da ön gördüğü üzere portör muayenelerinin yılda bir kez düzenli yapılması, portör çıkan kişilerin tedavileri tamamlanıp ikinci kez temiz raporu alana kadar yaptıkları işten uzaklaştırılmaları gereklidir. Hijyen kriterleri yönünden personel zaman zaman eğitime tabii tutulmalıdır.

KAYNAKÇA

- [1] Hacıbektaşoğlu, A., Eyigün, C. P. ve Özsoy, M.F., “Gıda elleycilerinde burun ve boğaz portörlüğü”, *Mikrobiyol. Bült.*, 27: 62-70 (1993).
- [2] Tunail, N., “Mikrobiyal enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar”, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, (Ed. Tunail, N.), Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü yayını, Sim Matbaacılık, Ankara, 82-88 (2000).
- [3] Vural, H. ve Öztan, A., “Effects of starter cultures on growth of *Staphylococcus aureus* in fermented meat products”, *Gıda*, 18(4): 259-263, 1993.
- [4] Bilgehan, H., “Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları”, İzmir (2000).
- [5] Baird, R.M. ve Lee, W.H., “Media used in the detection and enumeration of *Staphylococcus aureus*”, *International Journal of Food Microbiology*, 26: 15-24 (1995).
- [6] Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. ve Holt, J.G., “Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology”, Williams&Wilkins, Baltimore, A.B.D. (1986).

- [7] Novak, F.R., Almeida, J.A.G., Warnken, M.B., Ferreira-Carvalho, B.T. ve Hagler, A.N., "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in human milk", **Mem., Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 95(1): 29-33 (2000).
- [8] Fueyo, J.M., Martin, M.C., Gonzales-Hevia, M.A. ve Mendoza, M.C., "Enterotoxin production and DNA fingerprinting in *Staphylococcus aureus* isolated from human and food samples. Relation between genetic types and enterotoxins", **International Journal of Food Microbiology**, 67: 139-145 (2001).
- [9] Öncül, O., Erdemoğlu, A., Özsoy, M.F., Altunay, H., Ertem, Z. ve Çavuşoğlu, Ş., "Hastane personelinde nasal *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı", **Klinik Dergisi**, 15(3): 74-77 (2002).
- [10] Saçılık, S. C., Türkiye'deki Klinik Örneklerden Elde Edilen Patojenik *Staphylococcus aureus* İzolatlarının Karakterizasyonu, Doktora Tezi, **Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü** (1998).
- [11] Rodgers, J.D., McCullagh, J.J., McNamee, P.T., Smyth, J.A. ve Ball, H.J., "Comparison of *Staphylococcus aureus* recovered from personnel in a poultry hatchery and in broiler parent farms with those isolated from skeletal disease in broiler", **Veterinary Microbiology**, 69: 189-198 (1999).
- [12] Tükel, Ç. ve Doğan, H.B., "*Staphylococcus aureus*, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları", (Ed. Tunail, N.), Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü Yayını, Sim Matbaacılık, Ankara, 357-365 (2000).
- [13] Tamer, A.Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karabaş, İ., Bursalıoğlu, M.ve Oğultekin,R., "3.ve 4. sınıf Mikrobiyoloji Laboratuvar Klavuzu", Anadolu Üniversitesi Eğitim, Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı., No:74, Eskişehir (1989).
- [14] Millar, M.R., Walsh, T.R., Linton, C.J., Zhang, S., Leeming, J.P. ve Bennett, P.M., "Carriage of Antibiotic-Resistant Bacteria by Healthy Children", **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 47: 605-610 (2001).
- [15] Gündüz, T., Akgül, S. ve Yılmaz, S., "Hemodiyaliz hastalarında ve çalışanlarında nasal *Staphylococcus aureus* taşıyıcılığı", **The Medical Journal of Kocatepe**, 6: 13-15 (2005).
- [16] Çelik, İ., Cihangiroğlu, M., Sevim, E., Çabalak, M. ve Akbulut, A., "Sağlık çalışanlarının burunlarından izole edilen koagülaz pozitif ve negative *Stafilokoklar metisilin* direnci ve slime pozitifliği", **Fırat Tıp Dergisi**, 10(3): 1-4 (2005).
- [17] Anonim, "National Committer for Clinical Laboratory Standards, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard M2-A7. National Committer for Clinical Laboratory Standards", Wayne, Pa. (2001).
- [18] Pesavento, G., Ducci, B., Comodo, N. ve Lo Nostro, A., "Antimicrobial resistance orofile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)", **Food Control**, 18 (3): 196-200 (2007).
- [19] Livermore, D.M., "Antibiotic Resistance in *Staphylococci*", **International Journal of Antimicrobial Agents**, 16: 3-10 (2000).
- [20] Yakupoğulları, Y., Gündüz, A., Özcan, M., Doğukan, M., Seyrek, A. ve Yılmaz, M., "*Staphylococcus aureus* suşlarının siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin ve moksifloksasin duyarlılıkları", **Fırat Tıp Dergisi**, 11(1): 45-47 (2006).
- [21] Shale, K., Lues, J.F.R., Venter, P. ve Buys, E.M., "The distribution of *Staphylococcus sp.on* bovine meat from abattoir deboning rooms", **Food Microbiology**, 22: 433-438 (2005).
- [22] Gundoğan, N., Cıtak, S., Yucel, N. ve Devren, A., "A note on the incidence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and chicken samples", **Meat Science**, 69: 807-810 (2005).
- [23] Tondo, E.C., Guimaraes, M.C.M., Henriques, J.A.P. ve Ayub, M.A.Z., "Assessing and analysing contamination of a dairy products processing plant by *Staphylococcus aureus* using antibiotic resistance and PFGE", **Can.J. Microbiol.**, 46: 1108-1113 (2000).

