

Gıda çalışanlarından izole edilen Enterobacterales suşlarında antimikrobiyal direnç ve GSBL/Karbapenemaz varlığının araştırılması

Investigation of antimicrobial resistance and ESBL/Carbapenemase presence in Enterobacterales strains isolated from food workers

Nesrin ÇAKICI¹ (ID), Yasemin NUMANOĞLU ÇEVİK² (ID), Serap SÜZÜK YILDIZ² (ID),
Alper AKÇALI³ (ID), Nükhet Nilüfer DEMİREL ZORBA⁴ (ID)

ÖZET

Amaç: Bu çalışma gıda endüstrisi çalışanlarından elde edilen toplum kaynaklı Enterobacterales üyelerinde antimikrobiyal direnç ve Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL), karbapenemaz üretme durumunun belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Yöntem: Çanakkale il merkezi ve ilçelerindeki hastaneler (n: 9) ile gıda işletmelerinde (n: 17) görevli gıda çalışanlarının (n: 300) el sürüntü örnekleri Brain Heart Infusion Broth (BHI) besiyerine alındı. İnokülmler 37°C de 24 saatlik inkübasyondan sonra Eosine Methylen Blue agar (EMB) besiyerine ekildi. Bakterilerin tanımlanmasında klasik identifikasyon ve Matris aracılı lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) yöntemi kullanıldı. Sefotaksim, seftazidim, meropenem ve ertapenem antibiyotiklerine karşı direnci ölçmek için disk difüzyon ve minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) yöntemleri uygulandı ve EUCAST 2020'ye göre değerlendirildi. Tarama testi sonuçlarına göre GSBL ve karbapenemaz fenotipik doğrulama testleri uygulandı. GSBL pozitif bulunan izolatlarda polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemine göre CTX-M geni araştırıldı.

ABSTRACT

Objective: This study was carried out to determine the antimicrobial resistance and the production status of ESBL, carbapenemase in community-acquired Enterobacterales members obtained from food industry workers.

Methods: Hand swab samples of food workers (n: 300) working in hospitals (n: 9) and food businesses (n: 17) in Çanakkale city center and districts were taken into Brain Heart Infusion Broth (BHI) medium. Inoculum was inoculated into EMB medium after 24 hours of incubation at 37°C. Classical identification and MALDI-TOF MS method were used to identify bacteria. Disk diffusion and minimal inhibitory concentration (MIC) methods were applied to measure resistance against cefotaxime, ceftazidime, meropenem and ertapenem antibiotics and were evaluated according to EUCAST 2020. ESBL and carbapenemase phenotypic confirmation tests were performed according to the screening test results. The CTX-M gene was investigated in ESBL positive isolates using the PCR method.

* Bu çalışma, Ulusal Tek Sağlık Sempozyumunda sözlü sunum olarak sunulmuştur (21-22 Kasım 2019, Ankara).

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Çanakkale

²Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarı ve Biyolojik Ürünler Daire Bşk., Ankara

³Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., Çanakkale

⁴Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği AD., Çanakkale



İletişim / Corresponding Author : Nesrin ÇAKICI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Hiz. MYO Terzioğlu Kampüsü Çanakkale - Türkiye

E-posta / E-mail : ncakici@comu.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 14.02.2021

Kabul Tarihi / Accepted : 29.06.2021

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2021.89814

Çakıcı N, Numanoğlu Çevik Y, Süzük Yıldız S, Akçalı A, Demirel Zorba NN. Gıda çalışanlarından izole edilen Enterobacterales suşlarında antimikrobiyal direnç ve GSBL/Karbapenemaz varlığının araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2021; 78(3): 351 - 362

Bulgular: Elde edilen 222 adet gram negatif bakterinin tür bazında dağılımı; 129 (%58.1) *Klebsiella pneumoniae*, 32 (%14.4) *Enterobacter cloacae*, 31 (%13.9) *Acinetobacter baumannii*, 11 (%4.9) *Escherichia coli*, 8 (%3.6) *Enterobacter asburiae*, 4 (%1.8) *Escherichia hermanni*, 3 (%1.4) *Enterobacter aerogenes 2* (%0.9) *Klebsiella oxytoca*, 2 (%0.9) *Enterobacter cancerogenus* olarak belirlendi. Enterobacterales üyelerinden (n: 191) 7 (%3.7)'sinin klinik sınır değerlere göre sefotaksime dirençli (<17 mm) olduğu tespit edildi. Sefotaksim inhibisyon çapı GSBL tarama sınır değeri altında (<21 mm) tespit edilen 13 izolatın kombine disk ve çift disk sinerji testi sonuçlarına göre 2 adet bakterinin (*K. pneumoniae*, *E. cloacae*) GSBL pozitif olduğu belirlendi. PZR yöntemine göre *K. pneumoniae* izolatının CTX-M geni taşıdığı ve hastanede görevli olan bir gıda çalışanından izole edildiği tespit edildi. Enterobacterales suşlarının ve *A. baumannii* izolatlarının hiçbirinde karbapenem direncine rastlanmadı. Meropenem inhibisyon zon çapı 28 mm'den küçük olan 46 adet Enterobacterales türünün meropenem MK değeri 8 mg/l ile 0.125 mg/l arasında bulunmuştur. Meropenem zon çapı karbapenemaz tarama sınır değerinin (<25 mm) altında tespit edilen 2 adet izolata kombinasyon disk testi uygulandı buna göre karbapenemaz negatif olduğu tespit edildi.

Sonuç: Toplumda dirençli bakteri el taşıyıcılığının düşük olması (%3.7), toplum kaynaklı izolatların GSBL pozitifliğinin oldukça düşük (%1.04) bulunması, karbapenemaz pozitifliğine rastlanmaması antibiyotik dirençli izolatların gıda çalışanlarında düşük olduğunu düşündürmektedir. Gıda çalışanlarında bu sayıda gram negatif bakterilerin tespit edilmesi hijyen eğitimlerine önem verilmesi gerektiğini düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Sefalosporin, karbapenem, enterobacterales, gıda çalışanları, MALDI-TOF MS

Results: Distribution of 222 gram-negative bacteria on the basis of species; 129 (%58.1) *Klebsiella pneumoniae*, 32 (14.4%) *Enterobacter cloacae*, 31 (13.9%) *Acinetobacter baumannii*, 11 (4.9%) *Escherichia coli*, 8 (3.6%) *Enterobacter asburiae*, 4 (1.8%) *Escherichia hermanni*, 3 (1.4%) *Enterobacter aerogenes 2* (0.9%) *Klebsiella oxytoca*, 2 (0.9%) *Enterobacter cancerogenus*. It was determined that 7 (3.7%) of the Enterobacterales members (n: 191) were resistant to cefotaxime (<17 mm) according to clinical limit values. According to the combined disc and double disc synergy test results of 13 isolates whose cefotaxime inhibition diameter was detected below the ESBL screening limit value, 2 bacteria (*K. pneumoniae*, *E. cloacae*) were found to be ESBL positive. According to the PCR method, it was determined that the *K. pneumoniae* isolate carried the CTX-M gene and was isolated from a food worker in the hospital. No carbapenem resistance was found in any of the Enterobacterales strains and *A. baumannii* isolates. Meropenem MIC values of 46 Enterobacterales species with a meropenem inhibition zone diameter smaller than 28 mm were found between 8 mg/l and 0.125 mg/l. Combination disc test was applied to 2 isolates whose diameter was below the carbapenemase screening limit (< 25mm) and accordingly it was found that they were carbapenemase negative.

Conclusion: The low rate of resistant bacteria hand carriers in the community (3.7%), the very low ESBL positivity of the community-acquired isolates (1.04%), and the absence of carbapenemase positivity suggest that antibiotic resistant isolates are low in food workers. The detection of gram-negative bacteria in this number of food workers made us think that hygiene training should be given importance.

Key Words: Cephalosporin, carbapenem, enterobacterales, food workers, MALDI-TOF MS

GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) dünyanın dört bir yanından gelen verileri analiz ederek 2014 yılında derlediği raporunda antibiyotik direncinin küresel bir tehdit oluşturduğunu, ciddi ve etkin önlemler alınmaz ise yıllardır kolayca tedavi edilebilen enfeksiyonların zamanla ölümlere yol açmasının kaçınılmaz olacağını belirtmektedir. Antimikrobiyal ilaç direncinin en acil alanlarından biri son yıllarda dünyaya yayılmış olan Enterobacterales türlerinde rastlanan florokinolon, sefalosporin ve karbapenem direncinin hızlı artışıdır. Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) enzimleri sebebiyle penisilinler ve sefalosporinlerin çoğunu hidrolize edebilen suşların tüm dünyada yayıldığı, GSBL üretiminin en sık *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* türlerinde saptandığı görülmektedir (1). GSBL pozitif suşlar, nozokomiyal (hastane kaynaklı) enfeksiyonların yanı sıra toplum kaynaklı enfeksiyonlardan da artan sıklıkla izole edilmektedir (2). GSBL prevalansındaki artış karbapenemlerin (imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem) kullanılmasında da artışa neden olmuştur. Karbapenem direncine neden olan en önemli mekanizma karbapenemaz enzimleridir. Enterobacterales üyelerinde Ambler sınıflandırmasına göre A, B ve D sınıfına ait enzimler karbapenem direncinden sorumludurlar (3). Başta *K. pneumoniae* olmak üzere Enterobacterales üyelerinde karbapenemaz üreten suşların Türkiye dahil küresel anlamda yayıldıkları bilinmektedir (4). Karbapenemazlar tüm beta-laktam antibiyotiklere karşı dirence yol açmaları ve kolayca yayılabilmeleri nedeniyle bir endişe kaynağı oluşturmaktadır. Karbapenemaz üreten Enterobacterales türleri sebep olduğu enfeksiyonların yüksek mortalite hızları nedeniyle önemli bir sorun teşkil etmektedir (5-6).

Günümüzde ülkeler antimikrobiyal direnç verilerini yayınlamaya başlamıştır. ECDC (Avrupa Hastalıkları Önleme Merkezi) ve EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) ortaklığında hazırlanan

raporda gıda kaynaklı enfeksiyon etkeni olan *E. coli* gibi bazı bakterilerin gıda, hayvan ve insan kaynaklı izolatlarının antibiyotik direnç verilerine yer verilmiştir (7). Enterobacterales türleri bağırsak mikrobiyotasının üyeleridir aynı zamanda en yaygın insan patojenlerini barındırabilmektedir. Ateş, septisemi, pnömoni, peritonit, menenjit ve vücuda takılan araçla (kateter, sonda vb.) ilişkili enfeksiyonlarla birlikte sistit ve piyelonefrit gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır Toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara sebep olabilen Enterobacterales grubu bakteriler kontamine eller, kontamine gıda ve su aracılığıyla kolaylıkla yayılabilmektedir (8). Suudi Arabistan'da gerçekleştirilen bir çalışmada gıda çalışanlarının el ve nazal sürüntü örnekleri incelenmiş, izole edilen *E. coli* suşlarının %19'u, *K. pneumoniae* suşlarının %12'sinin GSBL olduğu belirlenmiştir (9). Katar'da gerçekleştirilen başka bir çalışmada gıda çalışanlarının dışkı örneklerinden elde edilen 78 *E. coli* izolatından yedi tanesinin (%9) GSBL üreticisi ve bunların beşinin MDR olduğu belirlenmiştir (10).

Bu çalışmanın amacı, gıda endüstrisi çalışanlarından elde edilen toplum kaynaklı Enterobacterales türlerinde antimikrobiyal direnç ve GSBL, karbapenemaz üretme durumunun belirlenmesi, enfeksiyon kontrolü ve halk sağlığına katkı sağlayabilecek verilerin elde edilmesidir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örnekleme

Araştırma, Çanakkale il merkezi ve ilçelerindeki hastaneler (n=9) ile bazı yemek fabrikası, restoran, lokanta vb. gıda işletmelerinde (n=17) gıdaların işlenmesinde ve servisinde görevli gıda çalışanlarının (n=300) sağ ve sol el sürüntü örneklerinden izole edilen toplam 222 adet Enterobacterales türü olan bakteriler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Steril eküvyonlarla el içlerinden, parmak aralarından ve el

üstünden alınan sürüntü örnekleri 10 ml steril Brain Heart Infusion Broth besiyerine (Merck, 110493) inokule edilerek soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir. Elde edilen inokulümler 37°C de 24 saatlik inkübasyondan sonra Eosin Metilen Blue agar (Merck 1.01347) besiyerine ekilmiştir. 37°C de 24-48 saatlik inkübasyon sonrası görülen tipik kolonilerden elde edilen Gram negatif basiller %20 lik gliserollü buyyon (Merck, 110493) besiyeri içerisinde -20°C saklanmıştır.

Bakteriyel Tanımlama

Tanımlama amacıyla izolatlar oksidaz testi, gaz ve H₂S oluşumu, glikoz, laktoz ve sükröz kullanımı, üreaz üretimi ve IMVIC testlerinden oluşan klasik identifikasyon testlerine tabi tutulmuştur (11). İzolatların tür düzeyinde tanımlanması amacıyla Matriks aracılı lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI TOF MS) yöntemi ile mikrobiyal biyokütle analizi için MALDI-TOF MS cihazı (Bruker Microflex LT, Almanya) ve Flex Control 3.0 yazılımı kullanılmıştır. Her bir izolatın tek birkoloni alınarak özel çelik 96 Micro Score Plate MALDI plakasındaki kuyucuklara doğrudan transfer yöntemi ile ince film halinde sürümüştür. Kuruduktan sonra üzerine 1 µl HCCA matris çözeltisi ilave edilmiş ve oda sıcaklığında tamamen kurumaya bırakılarak kristal oluşumu sağlanmıştır. Örnek yüklü plaka MALDI- TOF MS cihazında işleme alındı ve sistem lineer pozitif iyon moduyla ve 2.000-20.000 Da kütle aralığında mikroorganizmaların tanımlanması için optimize edilmiş yöntemle çalıştırılmıştır.

Spektrumları elde etmek için, her numunenin ölçümünde 40 paket 240'dan oluşan lazer darbeleri gerçekleştirilerek her örnek için üç çalışma yapıldı ve en yüksek puana sahip okuma dikkate alınmıştır. Spektrumlar, MALDI Biotyper otomasyon kontrollü yazılımı ve kütüphanesi kullanılarak analiz edilmiştir. Kullanılan tanımlama puan (skor) ölçütleri imalatçı firma (Bruker) tarafından tavsiye edilen prosedüre göre uygulanmıştır.

Enterobacterales türlerinde GSBL varlığının belirlenmesi

GSBL Tarama Testleri: İzolatların “Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi” (EUCAST, 2020) önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile sefotaksim (5 µg) ve seftazidim (10 µg) antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları analiz edilmiştir. İnhibisyon zon çapı sefotaksim için 21 mm, ve/veya seftazidim için 22 mm'den küçük olması durumunda türe bağlı GSBL fenotipik doğrulama testi uygulanmıştır (12). Kalite kontrol suşları olarak *E. coli* ATCC 25922 (Negatif kontrol) ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 (Pozitif kontrol) kullanılmıştır.

Fenotipik Doğrulama Testleri: *E. coli* ve *Klebsiella* spp. İzolatlarının GSBL aktivitesinin in vitro şartlarda klavulanik asit ile inhibisyonu temeline dayanan fenotipik yöntemlerden Kombinasyon Disk Testi (KDT) kullanılmıştır. Sefotaksim (<21 mm) ve seftazidim (<22 mm) disklerinden birine veya her ikisine birden dirençli olan bakterilerin sefotaksim/klavulanik asit (30/10 µg) ve seftazidim/klavulanik asit (30/10 µg) disklerine karşı duyarlılıklarına bakılmıştır. Eğer kombinasyon diski çevresindeki zon, tek başına sefalosporin içeren diskin inhibisyon zonuna kıyasla ≥5 mm daha genişse, GSBL pozitif kabul edilmiştir.

Sefotaksim ve seftazidim disklerinden birine veya her ikisine birden dirençli olan *Enterobacter* spp. İzolatlarının GSBL fenotipik doğrulaması için, çift disk sinerji yöntemi uygulanmıştır (ÇDS). Sefepim (30 µg) ve klavulanik asit (10 µg) birlikte konulduğu petri kabında Sefepim diskinin zon çapının klavulanik asit diskinin yüzünde genişleme olması GSBL pozitif kabul edilmiştir (12).

Genotipik Doğrulama Testleri: GSBL pozitif bulunan izolatların beta-laktamaz kodlayan ctx, shv, tem genleri Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile araştırılmıştır. DNA izolasyonu için 8-10 koloni steril saf su içerisinde 10 dakika kaynatılmıştır. 2 dakika 13000 xg devirde santrifüj edildikten sonra süpernatant DNA kaynağı olarak kullanılmıştır. Önceden tanımlanmış primerler kullanılarak PZR reaksiyon karışımı ve PZR

döngüleri oluşturulmuştur. Amplifiye edilmiş DNA ürünleri 1x TBE tamponu içerisinde, etidyum bromür eklenmiş % 1.5'lik agaroz içerisinde jel elektroforezi yöntemine göre analiz edilmiştir. 100 Volt akımda, 40 dakika yürütülmüştür (13).

Enterobacterales Türlerinde Karbapenemaz Varlığının Saptanması

Tarama Testleri: Karbapenemaz taraması için meropenem zon çapı 25-27 mm olan izolatlarda temosilin'e karşı direnç bakıldı. Temosilin'e dirençli olmayan ve meropenem inhibisyon zon çapı karbapenemaz tarama sınır değerinin (<25mm) altında tespit edilen bakterilere karbapenemaz kombinasyon disk testi uygulanmıştır. Tarama eşik değerleri meropenem (10µg) diski için 28 mm'den küçük olan izolatlara Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) testi uygulanmıştır (Tablo 1).

Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK): EUCAST standartları doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 0.125-128 mg/l konsantrasyon aralığında çalışılmıştır. Bakteri üremesinin gözlenmediği son kuyucuktaki antibiyotik konsantrasyonu MİK değeri olarak tespit edilmiştir. Meropenem için direnç sınır değeri >2mg/l olarak değerlendirilmiştir.(12).

Fenotipik Doğrulama Testleri: EUCAST önerileri doğrultusunda steril petri kaplarının içerisinde meropenem diskleri üzerine 100 mg/l dipikolinik asit (DPA), 0.2 M EDTA, 60 mg/ml aminofenil boronik asit (APBA), 75 mg/l kloksasilin solüsyonundan 10'ar µl damlatılarak 30 dak. bekletilmiştir. 0.5 McFarland standardına göre hazırlanan inokulum Mueller Hinton agar plaklarına yayılıp üzerine, inhibitör içeren

ve içermeyen meropenem disklerinden birer adet konuldu. Karbapenemaz kombinasyon disk testine göre inhibitörlü disklerde sinerji olup olmadığı test edilmiştir(12).

Çalışma için Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 15.03.2017 tarihinde verdiği 2017/05-03 sayılı izin alınmıştır.

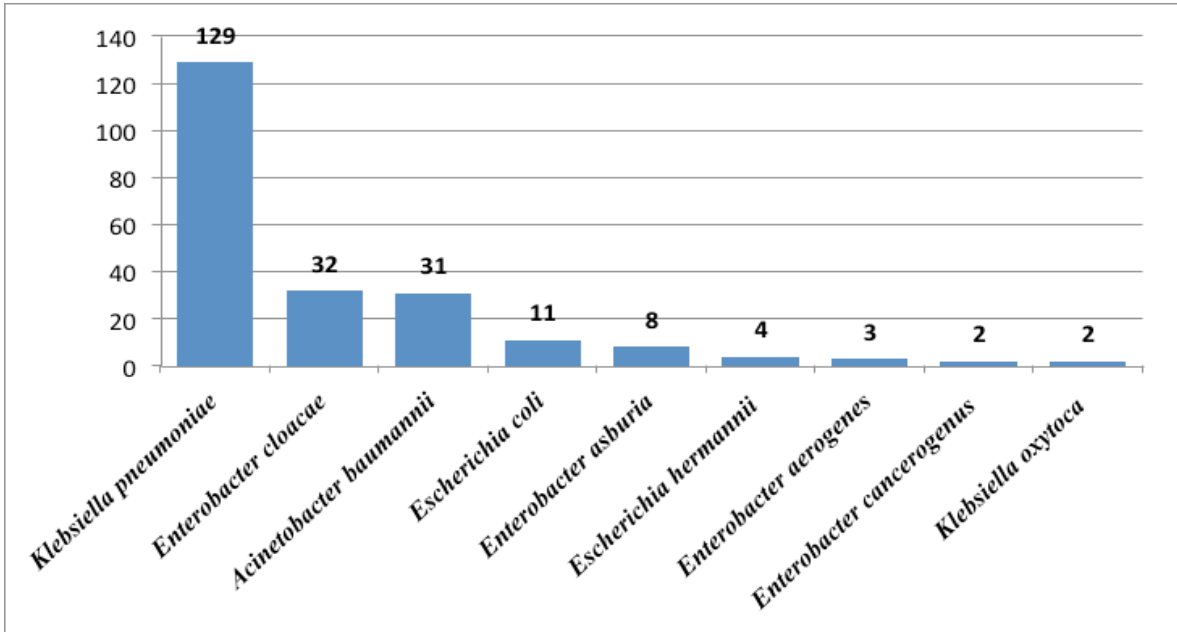
BULGULAR

Çanakkale ilinde çalışmaya dahil edilen gıda çalışanlarını (n:300) farklı gıda işletmelerinde (lokanta, restoran, yemek fabrikası vb.) çalışanlar (n:128) ve hastanelerin yemek pişirme ve dağıtım işlerinde görevli kişiler (n:72) oluşturmuştur. Gıda işletmelerinde çalışan kişilerin 164 (%71.9)'ü erkek, 64 (%28.1)'ü kadın iken, hastanede çalışanların 29 (%40.2)'u erkek, 43 (%59.8)'ünün kadın olduğu tespit edilmiştir. Gıda işletmelerinde çalışanların 124 (%54.4)'ünde, hastane çalışanların 34 (%47.2)'ünde Gram negatif bakteri el taşıyıcılığı tespit edilmiştir (Tablo 2).

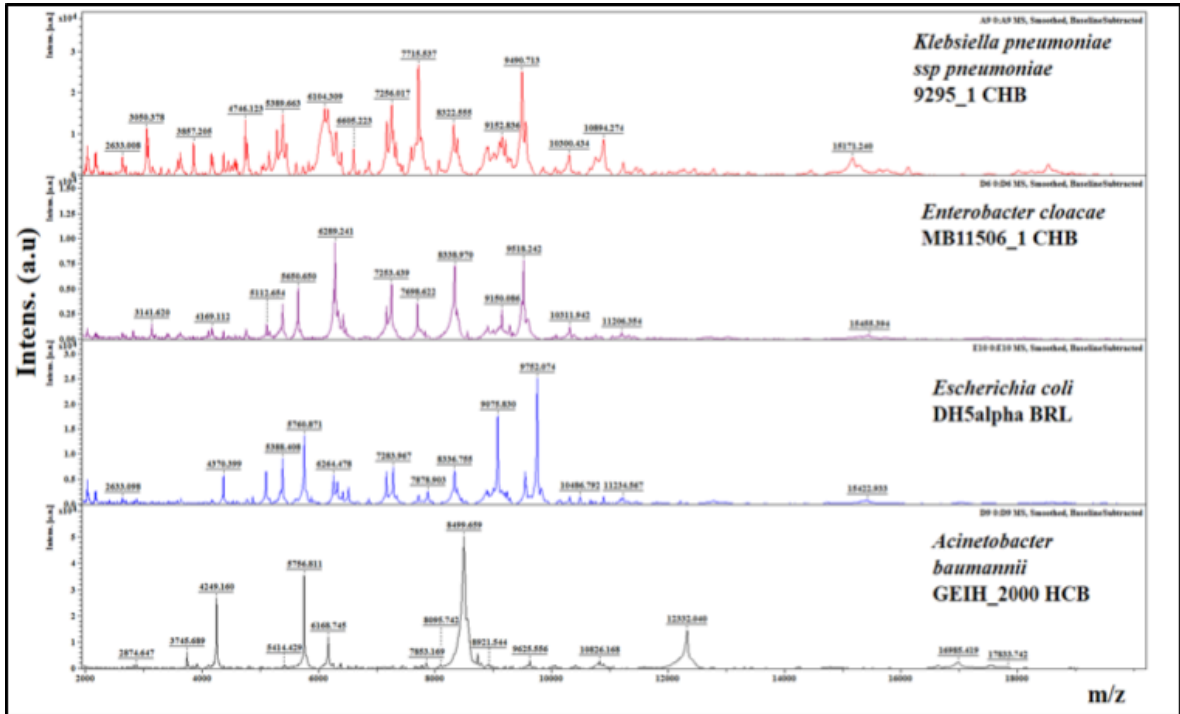
Gıda çalışanlarının el sürüntü örneklerinden 222 adet Gram negatif bakteri izole edildi. MALDI-TOF MS'ye göre izolatların 129 (%58.1)'ünün *K. pneumoniae*, 32 (%14.4)'sinin *E. cloacae*, 31 (%13.9)'inin *Acinetobacter baumannii*, 11 (%4.9)'inin *E. coli* olduğu tespit edildi. Ayrıca izolatlar arasında *Enterobacter asburiae* (n:8), *Escherichia hermannii* (n:4), *Enterobacter aerogenes* (n:3), *Klebsiella oxytoca* (n:2), *Enterobacter cancerogenus* (n:2) türlerine rastlandı (Şekil 1). En çok tespit edilen bakterilere ait spektrumlar Şekil 2'de verildi.

Tablo 1. Karbapenemaz tarama testleri

Karbapenem	MİK (mg/L)		Disk difüzyon zonları (mm)	
	S/I sınır değeri	Tarama eşik değeri	S/I sınır değeri	Tarama eşik değeri
Meropenem (10µg)	≤2	>0.12	≥22	<28
Ertapenem (10µg)	≤0.5	>0.12	≥25	<25



Şekil 1. MALDI-TOF MS yöntemine göre tespit edilen bakteri türleri ve dağılımları



Şekil 2. MALDI-TOF MS yöntemi ile en çok tespit edilen bakterilere ait kütle spektrumları

Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına göre; 191 adet Enterobacterales üyesinden yed'sinin (%3.7) klinik sınır değerlere göre (EUCAST) sefotaksime dirençli (<17mm) olduğu tespit edildi. Bu izolatların *E. cloacae* (n:4), *K. pneumoniae* (n:2), *E. coli* (n:1) oldukları belirlendi. Dirençli suşların 6'sı gıda işletmelerinde çalışanları, bir tanesi hastane gıda çalışanı el sürüntü örneğinden izole edilmiştir (Tablo 2).

On üç izolatın (%6.8) sefotaksim inhibisyon zon çapının GSBL tarama sınır değeri altında (<21mm) olduğu tespit edilmiştir. Tarama sınır değeri altında kalan *K. pneumoniae* (n:6), *E. cloacae* (n:6) ve *E. coli* (n:1) bakterilerine uygulanan kombine disk ve çift disk sinerji fenotipik doğrulama testi sonuçlarına göre iki adet bakterinin (*K. pneumoniae*, *E. cloacae*)

GSBL pozitif olduğu belirlendi. PZR yöntemine göre *K. pneumoniae* izolatının CTX-M enzimi geni taşıdığı ve hastanede görevli olan bir gıda çalışanından izole edildiği belirlenmiştir.

Enterobacterales suşlarının ve *A. baumannii* izolatlarının hiçbirinde disk difüzyon yönteminde klinik sınır değerlere göre karbapenem direncine rastlanmamıştır. Meropenem MİK testi için meropenem zon çapı 28 mm'den küçük olan 46 adet izolat çalışmaya dahil edilmiştir. Bu izolatların meropenem MİK değeri klinik sınır değer olan 8 mg/l ile 0.125 mg/l arasında tespit edildi. Karbapenemaz taraması sonuçlarına göre iki adet bakteriye karbapenemaz kombinasyon disk testi uygulandı. İnhibitörlü disklerde sinerjiye rastlanmadı. Bu izolatlarda karbapenemaz negatif olarak belirlendi.

Tablo 2. Gıda çalışanlarının işyeri, cinsiyet, taşıyıcılık durumları ve dirençli bakterilerin dağılımı.

İşyerleri	Cinsiyet n (%)	Gram negatif bakteri el taşıyıcısı, n (%)	Enterobacterales türleri (n:191) Sefalosporin direnci n (%)
Gıda işletmeleri (lokanta, restoran, yemek fabrikası vb.)	Kadın 64 (28.1)	124 (54.4)	3 (1.6)
	Erkek 164 (71.9)		3 (1.6)
	Toplam 228 (100)		6 (3.1)
Hastane (mutfak, yemek servisi)	Kadın 43 (59.8)	34 (47.2)	0
	Erkek 29 (40.2)		1 (0.5)
	Toplam 72 (100)		1 (0.5)
Toplam	Genel Toplam 300 (100)	158 (52.7)	7 (3.7)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmamızda gıda çalışanlarında izole ettiğimiz 222 Gram negatif bakterinin 2 adedinde GSBL varlığı, bunların içerisinde bir tanesinin CTX-M türü olduğu tespit edilmiştir. Bakterilerin hiçbirisinde karbapenemaz varlığı gösterilmemiştir.

Gıda çalışanları farklı yollarla patojen veya dirençli bakterilerin yayılımına sebep olabilirler. Patojen bakteri el taşıyıcılığı olan kişiler hazırladıkları/sundukları gıdaların, kullandıkları ekipmanların, çalıştıkları ortamın hatta çalışma arkadaşlarının. kontaminasyonuna sebep olabilirler. Bir üniversite kampüsünün altı farklı kantinindeki gıdalar, hazırlama yüzeyleri ve çalışan ellerinin mikroorganizmalar ile kontamine olduğu, bu mikroorganizmaların birbirleriyle aynı veya benzer yapıda oldukları saptanmıştır. Ayrıca, izolat sayıları dikkate alındığında, en yüksek kontaminasyonun gıda çalışan ellerine ait olduğu tespit edilmiştir (14). Güney Afrika'da şarküteri bölümünde çalışan gıda işçilerinin ellerinde ve önlüklerindeki Enterobacterales türleri taşıyıcılık oranının sırasıyla ı %44, %16 olduğu tespit edilmiştir (15). Kayseri'de yapılan çalışmada da pastırma satış noktalarındaki gıda çalışanlarının ellerindeki *E. coli* el taşıyıcılığı oranı %10,6, Enterobacterales türleri taşıyıcılığı %44,6 oranında bulunmuştur (16). Hastanelerde yemek hizmeti ile görevli kişiler hastane ortamında direnç kazanmış bakterilerle kontamine olduklarında hastanede ve toplumda yayma potansiyeline sahip olmaktadır. Böylece dirençli bakterilerin toplumda yayılarak halk sağlığı sorunu oluşturması kaçınılmaz olmaktadır. Antibiyotik direnci görülen bakterilere genellikle klinik izolatlarda rastlanmakla beraber yapılan çalışmalarda hastanelerin yanı sıra toplumda da dirençli bakterilere rastlandığı gösterilmiştir (17).

Fas'taki bir hastaneye yemek hizmeti veren işletmedeki gıda işçilerinin *E. coli* el taşıyıcılık oranı %45 bulunmuştur. Gıda, yüzey ve işçilerden izole edilen izolatlardan sefotaksim'e karşı %55.6 oranında dirençli oldukları gösterilmiştir (18). Bu çalışmada

lokanta, restoran gibi gıda işletmelerinde çalışan kişilerin Enterobacterales türleri taşıyıcılık oranı %54.4, hastane yemek hizmetinde çalışanların ise %47.2 saptanmıştır. Genel olarak taşıyıcılık oranı %52.7 olarak oldukça yüksek bulunmuştur. Toplum kaynaklı Enterobacterales türlerinin 7 (%3.7)'sinin sefotaksime dirençli olduğu, dirençli suşların 6 (%3.1)'sının gıda işletmelerinde çalışanlardan, bir tanesinin (%0.5) hastane gıda çalışanından izole edildiği görülmüştür.

GSBL üretimi Enterobacteriaceae ailesi türlerinin sefalosporinlere karşı en yaygın direnç nedenidir. 2000 yılından bu yana, GSBL üreten Enterobacteriaceae enfeksiyonlarının insidansı hem hastanelerde hem de toplumda küresel olarak artmıştır. Son yıllarda, GSBL/AmpC üreten *E. coli* hayvanlardan, yiyeceklerden, çevresel kaynaklardan ve insanlardan artan sıklıkta izole edilmiştir (19). Antibiyotik dirençli suşlar toplumda kontamine eller, kontamine gıdalar vasıtasıyla yayılabilirler. Kümes hayvanlarının hazırlanmasından sonra GSBL üreten *E. coli*, kesme tahtalarının %12'sinde ve eldivenlerin %50'sinde tespit edilmiş ve bu sonuçlar bulaşma için önemli bir kaynağa işaret etmiştir (20).

Yapılan çalışmalarda toplumda sağlıklı bireylerin dışkılarında değişen oranlarda GSBL taşıyıcılığı rapor edilmiştir. Doğu Akdeniz bölgesinden 2005 yılında yayınlanan ilk verilere göre genç sağlıklı öğrencilerde GSBL taşıyıcılığı %2.4 olarak saptanmıştır. Tunus'ta 2010'da %7.3, 2011'de Mısır'da %63.3 olarak belirlenmiştir. Afrika'dan bildirilen oranlara göre Senegal'de %10, Nijerya'da %30.9 olarak saptanmıştır. GSBL taşıyıcılık oranı Avrupa'da %5'in altında bulunmuştur (21). 2003-2007 yılları arasında Avrupada Sağlıklı kişilerde fekal GSBL taşıyıcılık oranı %1-%8 iken Asya ve Afrika ülkelerinde bu oranın %50-%60 olduğu bildirilmiştir. Güney Etiyopya'da öğrenci kafeteryasında çalışan gıda işçilerinin dışkılarında izole edilen *E. coli* ve *K. pneumonia* izolatlardan %25.3'ü GSBL pozitif olduğu belirlenmiştir (22). Japonya'da yapılan başka bir çalışmada sağlıklı gıda çalışanlarının dışkısı sadece bir defa ve ikiden fazla

GSBL pozitif bakteri açısından taranmıştır. Sırasıyla GSBL pozitifliği %3.1 ve %15.6 oranında olduğu saptanmış, üç aydan iki yıla kadar taşıyıcılıklarının devam ettiği belirlenmiştir (23). Bu konuda ülkemizde yapılmış bir çalışmada hastaneye ayaktan başvuran kişilerin dışkılarında %30 oranında GSBL taşıyıcılığına rastlandı (24). İnsan bağırsak florasının üyeleri olan Enterobacterales türleri eller, su ve yiyecekler vasıtasıyla kolayca yayılabilirler.

Dünyada toplum kökenli idrar yolu enfeksiyonlarından en sık *E. coli*, ardından *Klebsiella* ve *Proteus* türleri izole edilmektedir. Toplum kaynaklı GSBL üreten Enterobacterales izolasyon sıklığı, sosyokültürel özelliklere ve coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. (25). Türkiye’de yapılan bir meta-analizde hastaneye ayaktan başvuran hastaların idrar kültür sonuçlarının değerlendirildiği 67 çalışmanın sonuçlarına göre GSBL oranları %20’nin altında tespit edilmiştir (26).

2000 yılından beri CTX-M tip enzimleri, tüm kıtalardan çeşitli bakteri türlerinde özellikle *E. coli*’de sık gösterilmiştir (27). CTX-M enzimi pozitif *E. coli*’nin dünya çapında (sağlık hizmetleri, toplum, çiftlik hayvanları, evcil hayvanlar, çevre) yaygınlığı söz konusudur (28). CTX-M üreten *E. coli*, çoklu ilaca dirençli bakteriler arasında önemlidir ve antimikrobiyal ilaç direnci alanında gözetim, enfeksiyon kontrolü, temel araştırmalar için ana hedef olarak kabul edilmelidir (29). Enterobacterales ailesine ait ESBL üreten bakterilerin, özellikle CTX-M-15 üreten *E. coli* ST131 klonunun bağırsakta taşınmasının yaygınlığı, son zamanlarda büyüyen bir halk sağlığı olarak kabul edilmektedir ve dünya çapında endişe verici bir durumdur (30). Küresel olarak, son yirmi yılda toplumda GSBL pozitif *E. coli*’nin bağırsakta taşıma oranında 8 kat artış meydana gelmiştir. Yayılmasının önlenmesi, yeni tedavi ve halk sağlığı stratejileri uluslararası işbirliğini gerektirmektedir (31).

CTX-M pandemisi Enterobacterales suşları arasında sefalosporin direncindeki hızlı artışa önemli

ölçüde katkıda bulunmuştur. Bu artış çoklu ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde karbapenemlerin kullanımının artmasına neden olmuştur (27). Epidemiyolojik açıdan ve halk sağlığı açısından önem arz eden karbapenem direnç mekanizması, karbapenemleri hidrolize eden beta-laktamazların (karbapenemazların) üretimidir. Karbapenemaz üretimi plazmidlerle aktarılabildiğinden, çoklu veya tam dirence neden olabildiğinden önemli bir direnç mekanizması olarak kabul edilmektedir (31, 32). Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae, halk sağlığı için büyük bir tehdit oluşturmaktadır ve hızla küresel olarak yayılmaktadır (33). Avrupa Hastalık Kontrol Merkezinin (ECDC) Avrupa kıtasındaki EURGen-Net süreyans sistemi kapsamında Türkiye’de 26 farklı hastanede toplanan izolatların karbapenemaz epidemiyolojik verileri elde edilmiştir (34). Ülkemizde karbapenemaz süreyansının izlenmesinde toplum kökenli dirençli suşlara ait verilere de yer verilmesi epidemiyolojik izleme katkı sağlayabilir.

Ülkemizde ve Avrupa’da toplum kaynaklı suşlar arasında karbapenem direnci yok denecek kadar azdır. Bizim çalışmamızda da toplum kaynaklı 222 adet gram negatif bakterinin hiçbirinde karbapenem direncine rastlanmamıştır. Tarama sonuçlarına göre karbapenemaz taşıyan bakteriye de ulaşamamıştır.

Sonuç olarak; çalışmamızda toplum kaynaklı Enterobacterales türlerinde sefalosporin dirençli suşların çok yaygın olmadığı, karbapenem direnci taşımadıkları tespit edilmiştir. Son yıllarda toplumda kazanılmış enfeksiyonlarda dirençli suşların ortaya çıkışı önem kazanan bir halk sağlığı sorunudur. “Tek Sağlık” yaklaşımı altında sağlıklı bireyler, çevre, su, gıda, toprak, tarımsal ürünler hatta hayvanlardan elde edilen izolatlarda direnç verilerinin belirlenmesi enfeksiyon kontrolü ve halk sağlığı açısından katkı sağlayacaktır. Bunun yanında gıda çalışanlarında hijyen eğitimi önem verilmesi gerektiği düşünülmüştür.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: THD-2019-3085.

ETİK KURUL ONAYI

* Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 15.03.2017 ve Karar no: 2017/05-03).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. WHO. Antimicrobial Resistance: Global Report on surveillance. World Health Organization. 2014. <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/> Erişim tarihi: 31.1.2021.
2. Canton R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, et al. Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect. 2008;14 Suppl 1:144-53.
3. Tekintaş Y, Çilli F, Eraç B, Yaşar M, Aydemir SS, Hoşgör Limoncu M. Klinik *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz üretiminin saptanmasında polimeraz zincir reaksiyonu ve fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bul, 2017; 51(3):269-76.
4. Poirel L, Heritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*, Antimicrob. Agents Chemother, 2004; 48:15-22.
5. Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, Quale J. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. Arch Intern Med, 2005;165(12):1430-5.
6. Canton R, Akova M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. Clin Microbiol Infect. 2012;18(5):413-31.
7. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in Zoonotic and Indicator Bacteria from Humans, Animals and Food in 2017/2018. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/EU-summary-report-antimicrobial-resistance-zoonotic-bacteria-humans-animals-2018.pdf>. Erişim Tarihi: 2.02.2021.
8. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis, 2011;17:1791-1798.

9. Khan M. A. Detection of colonized pathogenic bacteria from food handlers in Saudi Arabia. *J Pure Appl Microbiol*, 2018; 12(3):1301-1306.
10. Eltai NO, Yassine HM, Al Thani AA, Abu Madi MA, Ismail A, Ibrahim E, et al. Prevalence of antibiotic resistant *Escherichia coli* isolates from fecal samples of food handlers in Qatar. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018;7: 78.
11. Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 2 nci Baskı, İzmir, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, 1995, s.425-50.
12. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 10.0, 2020. <http://www.eucast.org>. Erişim Tarihi:18.12.2020.
13. Kacmaz B, Unaldi O, Sultan N, Durmaz R. Drug resistance profiles and clonality of sporadic *Shigella sonnei* isolates in Ankara, Turkey. *Braz J Microbiol*, 2014; 45: (3) 845-9.
14. Erdoğan M, Pamuk Ş. Microbial contamination in food, food- handlers' hands and surfaces and evaluation of contamination sources by the similarity between isolates. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 2020;67: 73-9.
15. Lues JFR, Van Tonder I., The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group, *Food Control*, 2007; 18(4): 326-32.
16. Yıldırım Y, Ertaş Onmaz N, Gönülalan Z, Hızlısoy H, Al S, Karadal F ve ark.. Knowledge and attitudes in food safety and the occurrence of indicator bacteria on hands of food handlers at the point of pastrami sale. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 2020; 67, 153-160.
17. Van Duin D, Paterson DL. Multidrug-resistant bacteria in the community: Trends and lessons learned. *Infect Dis Clin North Am*, 2016; 30:377-90.
18. Benjelloun T.G, Laila B, Sanae B, Moussa B, Bahia B. Molecular serotyping and antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* isolated in hospital catering service in Morocco. *Int J Microbiol*. 2020; 5961521: 8.
19. Dorado-GarciaA, Smid JH., PeltWvan, Bonten MJM., FluitAC, et al. Molecular relatedness of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from humans, animals, food and the environment: a pooled analysis. *J Antimicrob Chemother*, 2018;73 : 339-47.
20. Tschudin-Sutter S, Frei R, Stephan R, Hachler H, Nogarth D, Widmer AF. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: a threat from the kitchen. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2014;35: 581-4.
21. Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, Andremont A. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β -lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clin Microbiol Rev*, 26 (2013), pp. 744-58.
22. Çakır Erdoğan D , Cömert F, Aktaş E, Köktürk F, Külah C. Fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in a Turkish community. *Turk J Med Sci*, 2017; 47: 172-9.
23. Nakane K, Kawamura K, Goto K, Arakawa Y. Long-term colonization by blaCTX-M-harboring *Escherichia coli* in healthy japanese people engaged in food handling. *Appl Environ Microbiol*, 2016; 82:1818-27.
24. Diriba K, Awulachew E, Tekele L, Ashuro Z. Fecal carriage rate of extended-spectrum Beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* among apparently health food handlers in Dilla University Student Cafeteria. *Infect Drug Resist*. 2020; 13: 3791-800.
25. Çelikkbilek N, Gözalan A, Özdem B, Kırca F, Açıkgoz ZB. Genişlemiş spektrumlu Beta-laktamaz üretimi: yedi yıllık izlem sonuçları. *Mikrobiyol Bul*, 2015; 49(2): 259-65.
26. Akyan ŞB, Çiftçi İH. Türkiye'de idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere direnç durumu: Bir meta-analiz. *Mikrobiyol Bul*, 2013; 47(4): 603-18.
27. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum -lactamaseproducing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern, *Lancet Infect Dis*, 2008;8:159 -66
28. Nicolas-Chanoine MH, Bertrand X, Madec JY. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group, *Clin Microbiol Rev*, 2014; 27:543-74
29. Talbot GH, Bradley J, Edwards JE, Jr Gilber D, Scheld M, Bartlett JG. Bad bugs need drugs: An update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America, *Clin Infect Dis*, 2006;42:657-68
30. Chong Y, Shimoda S, Yakushiji H, Ito Y, Miyamoto T, Kamimura T, Shimono N, AkashiK. Community spread of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis*: a long-term study in Japan. *J Med Microbiol*, 2013; 62:1038-43.

31. BezabihY, Sabiiti W, Alamneh E , Bezabih A, Peterson G, Bezabhe W, Roujeinikova A. The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community. J Antimicrob Chemother, 2020;76 (1): 22-9
32. Carrer A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 2950-4
33. Alizadeh N, Rezaee MA, Kafil HS, Barhaghi MHS, Memar MY, Milani M, Hasani A, Ghotaslou R. Detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae by chromogenic screening media. J Microbiol Methods. 2018;153:40-4.
34. Süzük Yıldız S, Şimşek H, Bakkaloğlu Z, Numanoğlu Çevik Y, Hekimoğlu CH, Kılıç S ve ark. Türkiye’de 2019 yılı içinde izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenemaz epidemiyolojisi. Mikrobiyol Bul, 2021;55(1):1-16