

TÜRKİYE'DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES*'DE MAKROLİD DİRENÇ FENOTİPLERİ VE DİRENÇ GENLERİ (1999-2005)

Rahmiye BERKİTEN

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

A grubu beta-hemolitik streptokoklarda eritromisin direnç fenotiplerinin yaygınlığı epidemiyolojik bakımdan önemli olduğu gibi, tedavide doğru antibiyotik seçimini de etkileyen bir faktördür. Bu nedenle ülkemizde 1999-2005 yılları arasında izole edilen ve eritromisine dirençli olduğu saptanan suşların direnç fenotip oranları ve direnç genleri toplu olarak değerlendirilmiştir. Belirtilen tarihler arasında toplam 113 suş incelenmiş ve bunların 66'sı (% 58) M, 37'si (% 33) iMLS_B, 9'u (% 8) cMLS_B fenotipi olarak belirlenmiş, 1 suş iki fenotip (iMLS_B, cMLS_B) özelliği göstermiştir. Gen taraması yapıldığında incelenen 48 M fenotipi suşun tümünün mefA; 28 iMLS_B fenotipi suşun çoğunun ermB(ermTR); 5 cMLS_B fenotipi suşun çoğunun ermB, birinin ermB+mefA, iki fenotip özelliği gösteren 1 suşun yalnız ermB genine sahip olduğu saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: makrolid direnç fenotipleri, makrolid direnç genleri, *Streptococcus pyogenes*

SUMMARY

Macrolide Resistance Phenotypes and Resistance Genes in *Streptococcus pyogenes* in Turkey (1995-2005)

The prevalence of erythromycin resistance phenotypes in group A beta-haemolytic streptococci is important not only for epidemiology but also for implementing right antibiotic therapy. For this reason, the frequencies of resistance phenotypes and resistance genes in erythromycin-resistant strains isolated in 1999-2005 years in Turkey were evaluated. For this period 113 strains were screened and 66 (58 %) of them were found to be M, 37 (33 %) to be iMLS_B, 9 (8 %) to be cMLS_B phenotypes. One strain expressed two phenotypic properties (iMLS_B, cMLS_B). Some strains were investigated for resistance genes and all of investigated 48 M phenotype strains were found to have mefA, most of investigated 28 iMLS_B strains were found to have ermB (ermTR) genes. Most of investigated cMLS_B strains had ermB, and 1 had ermB+mefA genes. One strains with two phenotypic properties was shown having ermB gene.

Keywords: macrolids resistance genes, makrolid resistance phenotypes, *Streptococcus pyogenes*

GİRİŞ

Streptococcus pyogenes bakteriyel farenjitin başlıca nedenidir. Üst solunum yolu infeksiyonlarından başka menenjit, puerperal sepsis, pnömoni gibi çeşitli invaziv infeksiyonlara, nadir olarak da toksik şok sendromu, nekrotizan fasiit gibi ölümcül olgulara, ayrıca akut romatizmal ateş (ARA) ve akut glomerulonefrit (AGN) gibi klinik tablolara yol açar⁽³⁾. İnfeksiyonların tedavisinde penisilin genellikle ilk seçilen antibiyoti-

tiktir. Penisiline allerjisi olan veya penisilin tedavisine cevap vermeyen hastalarda eritromisin veya diğer makrolid türevleri kullanılır. Dünyada penisiline dirençli suş henüz saptanmamışken, eritromisine direnç coğrafik bölgelere göre farklı oranlarda bildirilmektedir. İlk dirençli suşlar 1959 yılında İngiltere'den bildirilmiş⁽¹⁸⁾, daha sonra ülkemiz de dahil olmak üzere çeşitli yayınlar yapılmıştır^(2,10). Direnç artışı antibiyotığın tüketim alışkanlığına paralel olarak gelişir, dolayısıyla çocuklarda sık görülen farenjit

Yazışma adresi: Rahmiye Berkiten. İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

Tel :(212) 4142000/32371

e-posta:rhbrtn@istanbul.edu.tr

Alındığı tarih:18.05.2007, revizyon kabulü: 25.05.2007

tedavisinde makrolid kullanılmasının önemli bir etkisi vardır⁽¹³⁾.

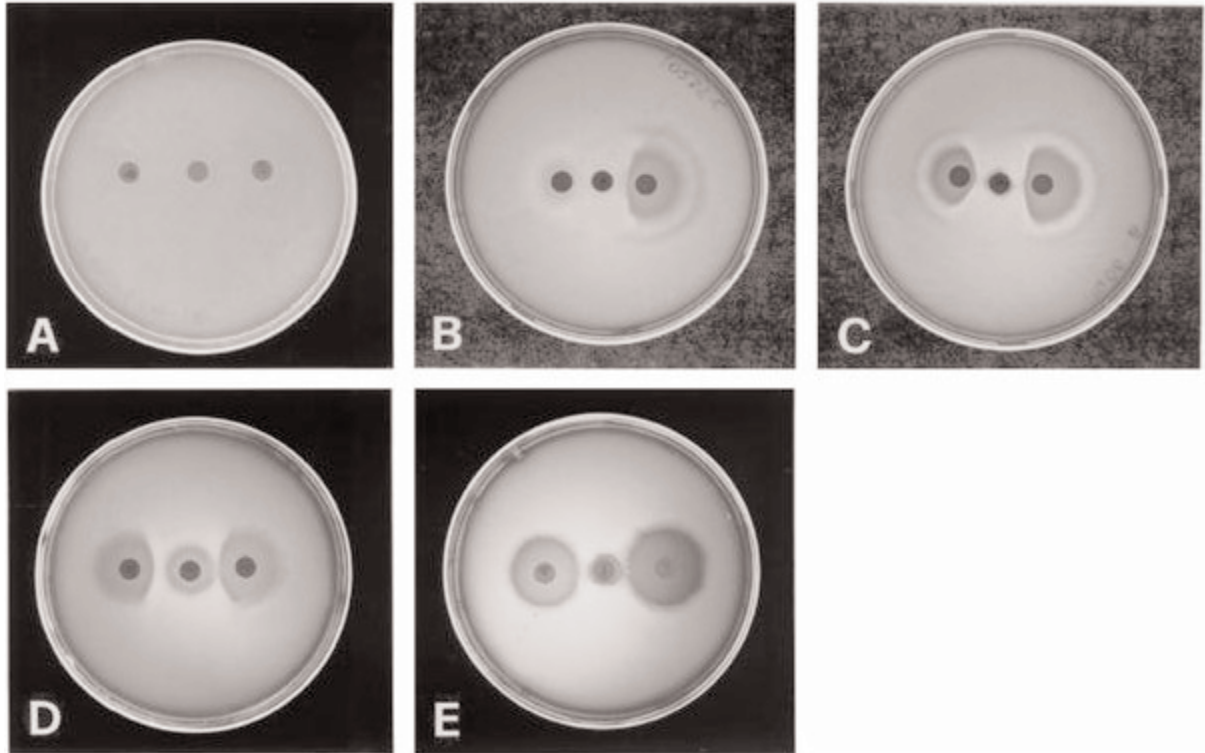
S.pyogenes’de çeşitli eritromisin direnç fenotipleri ve bu fenotiplerin oluşmasına yol açan direnç genleri vardır. Fenotip yaygınlığının bilinmesi epidemiyoloji ve tedavi açısından önemli olduğundan, bu makalede ülkemizde izole edilen suşların fenotip ve genotipleri toplu olarak değerlendirilerek konuya dikkat çekmek ve katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

Makrolid grubu antibiyotiklere direnç tüm dünyada farklı oranlarda bildirilmektedir. 1995 ve sonraki yıllarda izole edilen suşlarda yıllara göre saptanan direnç oranları, Fransa’da 1996-99’a ait 1500 suş için % 6.2⁽³⁾, Madrid’de 1999-2005 yıllarına ait 17,232 suş için % 21.3 (yıllara göre % 14.3-% 28.9)⁽²⁰⁾, komşu ülkelerden Yunanistan’da 1996-97’e ait 534 suş için % 15.2⁽²⁵⁾, Bulgaristan’da 1995-2001’e ait 1221 suş için % 2.1⁽⁸⁾’dir. Ülkemizde bildirilen oranlar genellikle % 10’un altındadır^(2,10,15,19).

Direnç fenotipleri MLS_B ve M olmak üzere başlıca 2 çeşittir. MLS_B fenotipinin yapısal

(konstitütif, cMLS_B) ve indüklenebilir (iMLS_B) olmak üzere iki tipi daha vardır^(2,3,22). iMLS_B direncine sahip suşlar tedavide önemlidir, çünkü hastaya uygulanan eritromisin tedavisi bakteride enzim indüksiyonuna neden olarak makrolid ve linkozamidlere direnç gelişimine yol açar. iMLS_B direncinin ayrıca üç alt tipi (iMLS_{B-A}, iMLS_{B-B}, iMLS_{B-C}) vardır ve bu alt tipler 3 farklı makrolid diski (eritromisin, klindamisin ve josamisin) kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile belirlenebilirler (Şekil)⁽¹²⁾. Alt tip A 14, 15 ve 16 üyeli makrolidlere yüksek düzeyde (MİK > 128 mg/L) yapısal, linkozamidlerden klindamisine indüklenebilir; alt tip B 14 ve 15 üyeli makrolitlere yüksek düzeyde yapısal, josamisin ve klindamisine indüklenebilir; alt tip C 14, 15 üyeli makrolitlere düşük düzeyde (MİK < 32 mg/L) yapısal, josamisin ve klindamisine indüklenebilir direnç ile karakterizedir.

Makrolidlere direnç fenotipleri ülkelere göre değişmektedir ve direnç genleri genellikle belirlenen fenotip oranlarına paralellik gösterir. Giovanetti ve ark.⁽¹²⁾’nin 100 suшта saptadığı di-



Şekil: Fenotipler ve eritromisine dirençli suşların 3 disk difüzyon yöntemi ile iMLS_B alt tipleri⁽¹²⁾.

Diskler: ortada eritromisin (30 µg), sağda klindamisin (10 µg), solda josamisin (30 µg). A: cMLS_B. B: iMLS_B (alt tip iMLS_{B-A}). C: iMLS_B (alt tip iMLS_{B-B}). D: iMLS_B (alt tip iMLS_{B-C}). E: M fenotipi.

Tablo 1: Eritromisine dirençli 100 suşta genlerin dağılışı⁽¹²⁾.

Direnç fenotipleri	n	Genler		
		ermB	ermTR	mefA
cMLS _B	20	20		8
iMLS _B	60	42	18	30
iMLS-A	42	42		13
iMLS-B	6		6	6
iMLS-C	12		12	11
M	20			20

renç genleri tablo 1’de verilmiştir. Çalışmalar sonucunda ayrıca yeni direnç genlerinin varlığı da ortaya çıkmaktadır^(4,17). Norveç’te yapılan bir çalışmada *S.pyogenes*’de bulunan *mefA* geninin *S.pneumoniae*’de tanımlanan *mefA* geninden farklı olduğu, *mef* genlerinde alt tiplerinin de bulunduğu saptanmıştır^(4,21). Giovanetti ve ark.⁽¹¹⁾ bazı *ermTR* pozitif *S.pyogenes* suşlarında yüksek düzeyde makrolid direncine katkıda bulunan yeni bir efluks sisteminin varlığını ve *msrD* geninin bu sistemde rol oynadığını bildirmişlerdir^(6,11). Direnç fenotipleri belirli zaman dilimleri içinde ülkelere göre fark gösterir ve bazı ülkelerde MLS_B fenotipinin⁽⁸⁾, bazı ülkelerde M fenotipinin daha yaygın olduğu bildirilmektedir^(7,25).

Kanada’da 3205 suşun 67 (% 2.1)’sinin eritromisine dirençli olarak saptandığı bir çalışmada 47’sinin M, 18’inin iMLS_B, 2’sinin cMLS_B⁽⁷⁾; komşu ülkelere Bulgaristan’da⁽⁸⁾ 1221 suşun 26 (% 2.1)’sının eritromisine dirençli bulunduğu bir çalışmada 9’unun M, 15’inin iMLS_B, 2’sinin cMLS_B; Yunanistan’da⁽²⁵⁾ 534 suşun 81 (% 15.2)’inin eritromisine dirençli olduğu bir çalışmada suşların % 48.1’inin klindamisine indüklenebilir, % 51.9’unun M fenotipinde direnç gösterdiği bildirilmiştir. İtalya’da 215 suşun 167 (% 18)’sinin dirençli olarak saptandığı bir çalışmada suşların % 50’sinin M, % 31’inin iMLS_B, % 18’inin cMLS_B fenotipinde olduğu bildirilmiştir⁽²⁶⁾.

Norveç’te yapılan bir çalışmada eritromisine dirençli 44 suşun 26’sının *ermTR*, 6’sının *ermB* veya *ermTR*, 1’inin *mefE* genlerine sahip olduğu; MLS_B fenotipinde olan bu suşların 33 (% 75)’ünün iMLS_B fenotipinde olduğu; M fenotipi olan 11 suşun 9’unun *mefA* ve 2’sinin son za-

manlarda *S.pyogenes*’de tanımlanan *mefO* genine sahip olduğu bildirilmiştir⁽¹⁷⁾. Fransa’da çocuk hastaların boğaz sürüntülerinden 1996-1999 yıllarında izole edilen eritromisine dirençli 93 suşun % 3.4’ünün cMLS_B, % 2.8’inin M fenotipinde olduğu belirlenmiş, iMLS_B fenotipine rastlanmamış; M fenotipi suşların tümünün *mefA*, cMLS_B fenotipi suşların *ermB* geni taşıdığı saptanmıştır. cMLS_B fenotipi izolatların 14, 15 ve 16 üyeli makrolidlerle (eritromisin, azitromisin, josamisin) klindamisin ve streptograminB’ye dirençli; M fenotipi izolatların eritromisin ve azitromisine dirençli, josamisin ve klindamisine duyarlı olduğu görülmüştür⁽³⁾. Pensilvanya’da 2001-2002 yıllarında izole edilen eritromisine dirençli 68 suşun 62’sinin M, 6’sının MLS_B; M fenotipi suşların *mefA*, MLS_B fenotipi suşların *ermA* (*ermTR*) geni taşıdığı saptanmıştır⁽¹³⁾.

TÜRKİYE’DE FENOTİP VE GENOTİPLERİN DAĞILIMI

Ülkemizde makrolid direnç fenotiplerini araştıran çalışma sayısı oldukça azdır (Tablo 2). Bu konuda ilk çalışmalar Ankara’dan Şenses ve ark.^(23,24)’na aittir; 1999-2002 yıllarında izole edilen 920 suştan 12’sinin eritromisine dirençli bulunduğu çalışmalarında 8’inin M, 4’ünün iMLS_B fenotipinde olduğu belirtilmiştir. İstanbul’dan Erdoğan ve ark.⁽⁹⁾ ile Gürol⁽¹⁶⁾ inceledikleri iki çalışmadaki toplam 421 suşun 27’sinin eritromisine dirençli ve bunlardan 21’inin M, 6’sının iMLS_B fenotipinde olduğu saptanmış, cMLS_B fenotipine rastlanmamıştır. Gündüz-Kaya ve ark.⁽¹⁴⁾ 2004-2005 yıllarında izole edilen 282 suştan eritromisine dirençli buldukları 12’sinden 5’inin M, 4’ünün cMLS_B, 3’ünün iMLS_B fenotipinde olduğunu bildirmişlerdir.

Açıkgöz ve ark.⁽¹⁾ 2003 yılında yayınladıkları araştırmalarında Ankara’nın üç farklı bölgesinde izole edilen 1355 *S.pyogenes* suşunun 36 (% 2.6)’sının eritromisine dirençli ve bunların 17’sinin M, kalanlardan 16’sının iMLS_B, 3’ünün cMLS_B fenotipinde olduğunu belirlemiş; PCR yöntemi ile M fenotipindeki suşların *mefA*, M fenotipi olmayan suşlardan 14’ünün *ermA* (subclass *ermTR*), 5’inin *ermB* geni taşıdığını bildirmişlerdir (Tablo 2).

Çolakoglu ve ark.⁽⁵⁾’nin çalışmasında

Tablo 2: Ülkemizde bildirilen direnç fenotipleri ve direnç genleri [n (%)].

Kaynak	İzolasyon yılı	n	Direnç	Direnç fenotipleri			
				M	iMLS _B	cMLS _B	iMLS _B cMLS _B
Şenses ve ark. ⁽²³⁾	1999-2000 Ankara	360	4 (1.1)	3	1	-	
Şenses ve ark. ⁽²⁴⁾	1999-2002 Ankara	560	8 (1.4)	5	3	-	
Erdoğan ve ark. ⁽⁹⁾	2000 İstanbul	121	7 (5.8)	5	2	-	
Gürol ⁽¹⁶⁾	2001-2002 İstanbul	300	20 (6.7)	16 mefA	4 erm TR	-	
Açıkgöz ve ark. ⁽¹⁾	2000-2002 Ankara	1355	36 (2.7)	17 mef A	16 ermA (n.14)	3 ermB (n.5)	
Çolakoğlu ve ark. ⁽⁵⁾	2002-2003 Ankara	381	26 (6.8)	15 mef A	8 ermTR	1 ermB+mefA 1 ermB	1 ermB
Gündüz- Kaya ve ark. ⁽¹⁴⁾	2004-2005 Ankara	282	12 (4.3)	5	3	4	
Toplam	1999-2005	3359	113 (3.4)	66 (58.4)	37 (32.7)	9 (8)	1 (0.9)

2002-2003 yıllarında izole edilen 381 *S.pyogenes* suşundan 26 (% 6.8)’sının dirençli ve bunların 15’inin M, 8’inin iMLS_B, 2’sinin cMLS_B fenotipinde; ayrıca bir izolatın aynı zamanda cMLS_B ve iMLS_B fenotipinde olduğu; M fenotipi suşların tümünün *mefA*, iMLS_B fenotipi suşların *ermTR*; cMLS_B fenotipi bir suşun *ermB*, bir suşun *ermB+mefA* geni taşıdığı; hem cMLS_B ve hem de iMLS_B fenotipinde olan bir suşun da *ermB* geni bakımında zengin olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

Ülkemizde henüz eritromisin dirençli suş sayısında bir artış söz konusu değildir; en sık saptanan fenotip yalnız 14 ve 15 üyeli makrolidlere dirençli, 16 üyeli makrolidlerle diğer grup antibiyotiklere duyarlı olan M fenotipidir. Ayrıca bu fenotipin yaygın olması bazı yurt dışı sonuçları ile paralellik göstermektedir. Üç grup antibiyotiğe de direnç gösteren cMLS_B fenotipinin düşük oranda olması, duyarlılığın devam edeceğini düşündürmektedir.

Türkiye’de makrolid direnç epidemiyolojisi hakkında yeterli bilgi birikimine sahip olabilmek ve makrolid tedavisinde karşılaşılabilecek tedavi başarısızlıklarını önleyebilmek için bu tip çalışmaların devam etmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Acikgoz ZC, Gocer S, Tuncer S: Macrolide resistance determinants of group A streptococci in Ankara, Turkey, J Antimicrob Chemother 2003;52(1):110-2.
2. Berkiten R: Streptococcus pyogenes suşlarında eritromisin direnç fenotipleri ve 1970-2001 yılları arasında Türkiye’de izole edilen suşlarda direnç, ANKEM Derg 2003;17(4):429-34.
3. Bingen E, Fitoussi F, Doit C et al : Resistance to macrolides in Streptococcus pyogenes in France in pediatric patients, Antimicrob Agents Chemother 2000;44(6):1453-7.
4. Cochetti I, Vecchi M, Mingoia M et al: Molecular characterization of pneumococci with efflux-mediated erythromycin resistance and identification of a novel *mef* gene subclass, *mef(I)*, Antimicrob Agents Chemother 2005;49(12):4999-5006.
5. Colakoglu S, Alacam R, Hascelik G: Prevalence and mechanisms of macrolide resistance in Streptococcus pyogenes in Ankara, Turkey, Scand J Infect Dis 2006;38(6-7):456-9.
6. Daly MM, Doktor S, Flamm R, Shortridge D: Characterization and prevalence of *mefA*, *mefE*, and the associated *msr(D)* gene in Streptococcus pneumoniae clinical isolates, J Clin Microbiol 2004;42(8):3570-4.
7. De Azavedo JC, Yeung RH, Bast DJ, Duncan CL, Borgia SB, Low DE: Prevalence and mechanisms of macrolide resistance in clinical isolates of group

- A streptococci from Ontario, Canada, *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(9):2144-7.
8. Detcheva A, Facklam RR, Beall B: Erythromycin-resistant group A streptococcal isolates recovered in Sofia, Bulgaria, from 1995 to 2001, *J Clin Microbiol* 2002;40(10):3831-4.
 9. Erdoğan H, Öngen B, Öksüz L, Gürler N, Töreci K: A grubu beta-hemolitik streptokoklarda antibiyotik direnci ve makrolid direnç fenotipinin saptanması, *ANKEM Derg* 2003;17(1):85-7.
 10. Eryılmaz M, Akın A: Boğaz kültürlerinden izole edilen A grubu beta-hemolitik streptokoklarda eritromisin direnci (Özet), *ANKEM Derg* 2006;20(Ek 1):11.
 11. Giovanetti E, Brenciani A, Burioni R, Varaldo PE: A novel efflux system in inducibly erythromycin-resistant strains of *Streptococcus pyogenes*, *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(12):3750-5.
 12. Giovanetti E, Montanari MP, Mingoia M, Varaldo PE: Phenotypes and genotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* strains in Italy and heterogeneity of inducibly resistant strains, *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(8):1935-40.
 13. Green M, Martin JM, Barbadora KA, Beall B, Wald ER: Reemergence of macrolide resistance in pharyngeal isolates of group A streptococci in southwestern Pennsylvania, *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(2):473-6.
 14. Gündüz-Kaya E, Yücel M, Karakoç AE: A grubu beta-hemolitik streptokoklarda eritromisin direnç oranlarının ve direnç fenotipinin araştırılması, *Mikrobiyol Bül* 2006;40(3):161-8.
 15. Gür D, Ünal S, Türkiye e-Basket II Çalışma Grubu: Solunum yolu infeksiyonlarından izole edilen *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus pyogenes*'in çeşitli antibiyotiklere in vitro direnç oranları (E-Basket II surveyansının Türkiye sonuçları) (Özet), 31. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı s.264, Kuşadası (2004).
 16. Gürol SD: Eritromisine dirençli *Streptococcus pyogenes* suşlarında makrolidlere direnç fenotiplerinin belirlenmesi ve PCR yöntemiyle eritromisin direnç genlerinin saptanması, Doktora Tezi, İÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul (2004).
 17. Littauer P, Caugant DA, Sangvik M, Hoiby EA, Sundsfjord A, Simonsen GS: Macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* in Norway: population structure and resistance determinants, *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(5):1896-9.
 18. Lowbury EJ, Hurst L: The sensitivity of staphylococci and other wound bacteria to erythromycin, oleandomycin and spiramycin, *J Clin Pathol* 1959;12(2):163-9.
 19. Özakkaş F, Aksungar FB, Topkaya AE: A grubu beta-hemolitik streptokokların antibiyotik duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 2007;21(1):10-3.
 20. Perez-Trallero E, Montes M, Orden B, Tamayo E, Garcia-Arenzana JM, Marimon JM: Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus pyogenes* isolates displaying the MLSB phenotype of macrolide resistance in Spain, 1999 to 2005, *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51(4):1228-33.
 21. Sangvik M, Littauer P, Simonsen GS, Sundsfjord A, Dahl KH: *mef(A)*, *mef(E)* and a new *mef* allele in macrolide-resistant *Streptococcus* spp. isolates from Norway, *J Antimicrob Chemother* 2005;56(5):841-6.
 22. Seppälä H, Nissinen A, Yu Q, Huovinen P: Three different phenotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Finland, *J Antimicrob Chemother* 1993;32(6):885-91.
 23. Şenses Z, Başustaoglu A, Gür D, Kocagöz S, Doğanç L: A grubu beta-hemolitik streptokoklarda eski ve yeni makrolid direnç paterninin irdelenmesi (Özet), 29. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı s.324, Antalya (2000).
 24. Şenses Z, Baysallar M, Gür D, Doğanç L: 1999-2000 ve 2001-2002 yıllarına ait grup A beta-hemolitik streptokok izolatlarının makrolid antibiyotiklere direnç oranları ve fenotipleri, *Microbiol Bül* 2003;37(4):225-34.
 25. Tzelepi E, Kouppari G, Mavroidi A, Zaphiropoulou A, Tzouvelekis LS: Erythromycin resistance amongst group A beta-haemolytic streptococci isolated in a paediatric hospital in Athens, Greece, *J Antimicrob Chemother* 1999;43(5):745-6.
 26. Zampaloni C, Cappelletti P, Prenna M, Vitali LA, Ripa S: *emm* gene distribution among erythromycin-resistant and -susceptible Italian isolates of *Streptococcus pyogenes*, *J Clin Microbiol* 2003;41(3):1307-10.