

A GRUBU BETA-HEMOLİTİK STREPTOKOKLARDA ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞI VE MAKROLİD DİRENÇ FENOTİPİ

Banu BAYRAKTAR, Fesem BAŞARI, Emin BULUT

Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İSTANBUL

ÖZET

A grubu beta-hemolitik streptokoklar (AGBHS) karakteristik olarak, ciddi nonsüperatif komplikasyonlar olan akut romatizmal ateş ve akut glomerulonefritin görülebildiği, akut boğaz ve deri infeksiyonlarının başlıca etkenidirler. AGBHS halen penisiline duyarlı olup, makrolidlere karşı dirençte artış görülmektedir.

Bu çalışmaya Mart 2004-Ocak 2007 arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş olan 72 AGBHS suşu dahil edilmiştir. Disk difüzyon metodu ile penisilin G, ampisilin, eritromisin, klindamisin, kloramfenikol, tetrasiklin, levofloksasin, vankomisin, linezolid ve telitromisin duyarlılık testi yapılmıştır. Ayrıca E test ile penisilin G ve eritromisin MİK değerleri saptanmıştır. D-zon (disk difüzyon) test ile eritromisin dirençli suşlarda makrolid direnç fenotipleri araştırılmıştır.

Penisilin G, ampisilin, kloramfenikol, vankomisin, linezolid ve telitromisine tüm AGBHS suşları duyarlı bulunmuştur. Penisilin G ve eritromisinin MİK₅₀ değerleri sırası ile 0.006 µg/ml ve 0.047 µg/ml; MİK₉₀ değerleri 0.012 µg/ml ve 0.125 µg/ml bulunmuştur. Diğer antibiyotiklere direnç oranları: tetrasikline % 31 (n=22), eritromisine % 10 (n=7), klindamisine % 3 (n=2), levofloksasine % 1 (n=1) olarak saptanmıştır. Yedi eritromisin dirençli suşun ikisinde konstitütif MLS_B ve beşinde induklenebilir MLS_B fenotipi saptanmıştır. M fenotipi dirence rastlanmamıştır.

Sonuç olarak, hastanemizde AGBHS izole edildiğinde tedavi başarısızlıklarını sınırlandırmak açısından makrolid duyarlılık testlerinin ve D-zon testin yapılmasının faydalı olacağı kanaatine varılmıştır. Diğer antibiyotiklere direnç oranlarının da takip edilmesi AGBHS infeksiyonlarının tedavisiyle ilgili uygun önerilerin oluşturulmasını sağlayacaktır.

Anahtar sözcükler: A grubu beta-hemolitik streptokoklar, AGBHS, antibiyotik direnci, MLS_B

SUMMARY

Antibiotic Susceptibility and Macrolide Resistance Phenotypes in Group A Beta-haemolytic Streptococci

Group A beta-haemolytic streptococci (GABHS) are major causes of acute throat and skin infections, which may characteristically be followed by the severe nonsuppurative complications as rheumatic fever or acute glomerulonephritis. GABHS are still susceptible to penicillin but have shown increasing resistance to macrolides.

Seventy-two GABHS strains isolated from various clinical samples between March 2004-January 2007 were included in this study. Antibiotic susceptibility testing for penicillin G, ampicillin, erythromycin, clindamycin, chloramphenicol, tetracycline, levofloxacin, vancomycin, linezolid and telithromycin were performed by disk diffusion method. In addition, MIC values for penicillin G and erythromycin were detected by E test method. Macrolide resistance phenotypes were investigated in erythromycin resistant isolates by double disk (D-zone) test.

Our results showed that all of the GABHS were susceptible to penicillin G, ampicillin, vancomycin, linezolid, chloramphenicol and telithromycin. MIC₅₀ values of penicillin G and erythromycin were determined as 0.006 µg/ml and 0.047 µg/ml; and MIC₉₀ values as 0.012 µg/ml and 0.125 µg/ml, respectively. Resistance rates for other antimicrobials were as follows: 1 % (n=1) to levofloxacin, 3 % (n=2) to clindamycin, 10 % (n=7) to erythromycin, and 31 % (n=22) to tetracycline. Among seven erythromycin resistant strains, two had constitutive MLS_B and five had inducible MLS_B resistance phenotypes. M resistance phenotype was not found.

In conclusion, these results suggest that susceptibility test for macrolides and D-zone test should be performed whenever GABHS are isolated in our hospital settings. This approach might limit the therapeutic failures due to macrolide resistance. Monitoring susceptibility rates to other antimicrobials will eventually lead to rationale recommendations for treating GABHS infections.

Keywords: antibiotic resistance, GABHS, group A beta-haemolytic streptococci, MLS_B

Yazışma adresi: Banu Bayraktar, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İSTANBUL
Tel.: (0212) 231 22 09/2390
e-posta: Banu.Bayraktar@sislietfal.gov.tr
Alındığı tarih: 12.05.2008, revizyon kabulü: 16.06.2008

GİRİŞ

A grubu beta-hemolitik streptokoklar (AGBHS) tonsillofarenjitten sorumlu bakterilerin başında gelmekte, bunun yanında deri ve deri altı dokularında (impetigo, fronküloz, erizipel, nekrotizan fasiit, selülit vb.), yara, apse, peritonit, sinüzit, otitis media, septisemi, artrit, osteomyelit, kızıl, streptokoksik toksik şok sendromu ve puerperal ateş infeksiyonlarında da etken olabilmektedirler^(5,22). AGBHS infeksiyonundan sonra gelişebilecek akut romatizmal ateş (ARA) ve akut glomerulonefrit (AGN) gibi nonsüpüratif sekellerin önlenmesi için AGBHS infeksiyonlarının tedavi edilmesi gereklidir⁽²⁾. AGBHS infeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olan penisiline direnç saptanmamışken; alternatif tedavi seçeneği olan eritromisine tüm dünyada değişen oranlarda direnç bildirilmektedir. Penisilin allerjisi, flora bakterilerinin betalaktamaz üretmesine bağlı tedavide başarısızlık ve eritromisin direnci nedeniyle başka tedavi seçeneklerine gerek duyulmaktadır^(2,12,15,16).

AGBHS'da makrolid direncinde başlıca iki mekanizma sorumlu tutulmaktadır. Bunlardan birincisi eritromisin ribozom metilasyon (*erm*) genlerinin kodladığı enzimlerin 50S ribozomal alt ünitesindeki 23S rRNA'yı metile etmesiyle makrolid, linkozamid ve streptogramin B'nin bağlanması engellenmesidir (MLS_B fenotipi). MLS_B tipi direnç, in-vitro deneylerde hem eritromisine hem de klindamisine direncin saptandığı konstitütif (kMLS_B) tipte olabilir ve sıklıkla *erm-B* geninin ekspresyonuna bağlı gelişir. Alternatif olarak MLS_B fenotipi *erm-A* geninin varlığına bağlı gelişir ve direnç eritromisin tarafından indüklenebilir (iMLS_B). Bundan başka bakteride *mef-A* geninin kodladığı bir membran proteini ile 14-15 üyeli makrolidler hücre dışına pompalanabilmektedir (M fenotipi) ve bu mekanizma ile gelişen dirençten linkozamid ve streptograminler etkilenmemektedir^(6,11,23).

Bu çalışmanın amacı çeşitli klinik örneklerden izole edilen AGBHS'da penisilin MİK değerlerini belirlemek; eritromisin ve klindamisinin direnç oranlarını saptamak ve eritromisin direnç fenotiplerini belirlemek; ayrıca tedavide alternatif oluşturabilecek çeşitli antibiyotiklere

AGBHS'ın duyarlılıklarını saptamaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mart 2004-Ocak 2007 arasında üst solunum yolları infeksiyonu (ÜSYİ) şüphesiyle laboratuvarımıza başvuran hastaların boğaz sürüntü örneklerinden ve çeşitli klinik örneklerden (yara, apse, steril vücut sıvıları ve vajen örnekleri) izole edilen toplam 72 AGBHS suşu çalışmaya dahil edilmiştir.

Koyun kanlı agar da beta-hemolizli, katalaz negatif, basitrasine (0.04 IU, Oxoid) duyarlı ve trimetoprim-sulfametoksazole (SXT 25 µg, Oxoid) dirençli, olası AGBHS suşlarının kesin gruplandırılması lateks aglütinasyon testi ile (Streptococcal Grouping Kit, Oxoid UK) yapılmıştır.

Tüm örneklerden izole edilen AGBHS izolatları için penisilin ve eritromisin MİK değerleri E test (AB Biodisk, Sweden) stripleri ile belirlenmiştir⁽⁸⁾. Disk difüzyon testi ile penisilin G (10 U), ampisilin (10 µg), eritromisin (15 µg), klindamisin (2 µg), tetrasiklin (30 µg), kloramfenikol (30 µg), levofloksasin (5 µg), vankomisin (30 µg) ve linezolid (30 µg) direnci araştırılmıştır⁽⁸⁾. Değerlendirmeler, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre yapılmıştır⁽⁸⁾. Telitromisin (15 µg) zon çapları Barry ve ark.⁽⁴⁾'ün kullanmış olduğu kriterlere göre değerlendirilmiştir. Disk difüzyon metodu ile orta duyarlı bulunan suşlar da dirençli olarak kabul edilmiştir.

Eritromisin tarafından indüklenebilir klindamisin direncini belirlemek için (iMLS_B) D-zon (disk difüzyon) test kullanılmıştır. Koyun kanlı Mueller-Hinton agara eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) diskleri birbirine kenardan kenara 12 mm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilmiştir. İndüklenebilir direncin varlığı (iMLS_B) klindamisin zon çapının eritromisine bakan tarafında kütleşme olmasıyla gösterilmiş ve D test pozitif olarak kabul edilmiştir. Eritromisin ve klindamisin her ikisi de dirençli ise kMLS_B fenotipi olarak değerlendirilmiş, M fenotipi eritromisin dirençli, klindamisin duyarlı ve zonunda kütleşme olmaması olarak tanımlanmıştır^(8,11,13).

BULGULAR

72 AGBHS suşunun 47'si (% 65) boğaz sü-rüntüsü, 16'sı (% 22) yara, üçü (% 4) apse, üçü (% 4) biyopsi, biri (% 1) sinoviyal sıvı ve ikisi (% 3) vajenden izole edilmiştir. Yedi eritromisin dirençli AGBHS suşunun ikisinde kMLS_B ve beşinde iMLS_B fenotipi saptanmıştır. M fenotipi saptanmamıştır. 72 AGBHS suşunun çeşitli anti-biyotikler için MİK ve disk difüzyon sonuçları tabloda gösterilmiştir.

Tablo: 72 AGBHS suşunun çeşitli antibiyotikler için MİK ve disk difüzyon sonuçları.

Antibiyotik	MİK değerleri (µg/ml)			Disk difüzyon (%)	
	MİK aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀	Duyarlı	Dirençli
Penisilin G	0.002-0.064	0.006	0.012	100	-
Eritromisin	0.016-8	0.047	0.125	90	10
Klindamisin	-	-	-	97	3
Levofloksasin	-	-	-	99	-
Tetrasiklin	-	-	-	69	31
Ampisilin	-	-	-	100	-
Kloramfenikol	-	-	-	100	-
Linezolid	-	-	-	100	-
Vankomisin	-	-	-	100	-
Telitromisin	-	-	-	100	-

TARTIŞMA

AGBHS infeksiyonlarının tedavisinde ilk tercih edilen antibiyotik olan penisiline karşı tüm dünyada bugüne kadar direnç bildirilme-miş olup, penisilin MİK değerlerinin son 70 yıl-da değişmediği düşünülmektedir. Bununla bir-likte Hindistan ve Meksika'dan penisilin duyar-lılığı azalmış, başka deyişle MİK değerleri yük-selmiş AGBHS suşları bildirilmiştir⁽⁷⁾. Bu açı-dan penisilin MİK değerlerinin belirlenerek di-rencin takip edilmesi önemlidir. Çalışmamızda da penisilin G MİK₅₀ (0.006 µg/ml) ve MİK₉₀ (0.012 µg/ml) değerleri daha önceki literatür verileriyle uyumlu bulunmuş olup, MİK değeri artmış bir suşa rastlanmamıştır^(3,6,9,11,14,18,19,23).

Tedavide penisiline alternatif antibiyotik-ler olan makrolidlere karşı direnç tüm dünyada yaygındır^(13,14,17,18,19,22). Eritromisine duyarlı-lık coğrafik bölgeler arasında ve aynı bölgede farklı zaman dilimlerinde değişiklik göstermek-

tedir. Rusya'nın farklı coğrafik bölgelerinde eritromisin direncini belirleyen bir çalışmada en yüksek direnç oranı % 25 ile Sibiry'a da saptanın-ken, diğer bölgelerde direnç oranları % 0-11.4 arasında bildirilmiştir⁽¹⁸⁾. Uzak Doğu ülkelerinden Japonya'da⁽²²⁾ % 61.8, Tayvan'da⁽¹⁴⁾ % 17-54, Kore'de⁽¹⁷⁾ % 32.9 gibi yüksek direnç oranla-rı saptanmıştır. Avrupa ülkelerinde⁽¹⁹⁾ ise erit-romisin direnci % 1.8-32 arasında değişen oran-lardadır. ABD'de⁽¹³⁾ direnç oranları genel ola-rak % 7.4-8.2 civarlarındaiken, lokal olarak % 38'lere varan direnç oranları da bildirilmiştir. Bu durum *mef-A* geni taşıyan tek bir suşun top-lumda yayılarak infeksiyona yol açmasıyla açık-lanmıştır⁽¹³⁾. Türkiye'de AGBHS'da eritromisin direnci genel olarak % 0-8 arasında değişen oranlardadır^(2,9,11,12,15). Çalışmamızda eritromi-sin direnci % 10 olarak saptanmıştır. Ancak ül-kemizde ABD'dekine benzer şekilde % 36'lara varan direnç oranlarının saptandığı çalışmalar da mevcuttur⁽¹⁰⁾. Bu bilgiler, ampirik tedavinin uygun başlanabilmesi için lokal olarak eritromi-sin direncinin takip edilmesi gerekliliğini dü-şündürmektedir.

Makrolid direnç fenotipleri için çeşitli ça-lışmalarda farklı oranlar bildirilmiştir. On Doğu Avrupa ülkesinde çocuk hastalarda yapılan bir çalışmada iMLS_B+ kMLS_B fenotipi % 72.3, M fe-notipi % 25.7 olarak bildirilmiştir⁽⁶⁾. Schlegel ve ark.⁽²¹⁾ Fransa'da kMLS_B % 41.2, iMLS_B % 23.5 ve M fenotipini % 29.4; Zachurriadoo ve ark.⁽²⁵⁾ Yunanistan'da kMLS_B % 3, iMLS_B % 36 ve M fe-notipini % 61; Hasenbein ve ark.⁽¹³⁾ Boston'da kMLS_B % 20, iMLS_B % 33 ve M fenotipini % 47; Erdoğan ve ark.⁽¹¹⁾ iMLS_B % 29 ve M fenotipini % 71; Açıkgöz ve ark.⁽¹⁾ kMLS_B % 8.3, iMLS_B % 44.4 ve M fenotipini % 47.2 olarak bildirmiş-lerdir. Çalışmamızda kMLS_B yedi suştan ikisin-de (% 29), iMLS_B yedi suştan beşinde (% 71) bu-lunurken M fenotipine rastlanmamıştır. Diğer çalışmalarda en fazla M fenotipi bildirilirken ça-lışmamızda en fazla iMLS_B fenotipi görülmüş-tür. Bu farklılık yüzdelerin az sayıda suş üzerin-den hesaplanmış olması ve coğrafik farklılıklar-la açıklanabilir.

AGBHS'ın penisilin ve makrolid grubu dı-şında kalan çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları ile ilgili çalışmalar da yapılmıştır. Çalışmamız-

da en fazla direnç tetrasikline karşı saptanırken (% 31) bunu sırasıyla eritromisin (% 10), klindamisin (% 3) ve levofloksasin direnci (% 1) takip etmiştir. Telitromisin, kloramfenikol, linezolid, vankomisin direncine ise rastlanmamıştır. Eryılmaz ve ark.⁽¹²⁾ tetrasikline % 7.3, eritromisine % 3.6, klindamisine % 2.7 ve kloramfenikole % 0.9; Uh ve ark.⁽²⁴⁾ tetrasikline % 55.2, kloramfenikole % 12.6, eritromisine % 16.1 ve klindamisine % 9.8 oranlarında direnç saptamışlardır. Bozdoğan ve ark.⁽⁶⁾ on Doğu Avrupa ülkesinde telitromisine % 0-9 arasında, klindamisine % 0-10 arasında değişen direnç oranları bildirirken, levofloksasine direnç bildirmemişlerdir.

Penisilin allerjik hastalarda AGBHS'a bağlı üst solunum yolu infeksiyonlarının ampirik tedavisinde telitromisinin alternatif tedavi seçeneği olabileceği literatürde bildirilmiştir^(6,20). Telitromisin kMLSB tipi dirence sahip AGBHS'da etkili değilken, iMLS_B ve M fenotipindeki dirençten etkilenmemektedir⁽²⁰⁾.

Sonuç olarak, eritromisin dirençli klindamisin duyarlı suşlarda indüklenebilir klindamisin direncinin saptanabiliyor olması D testin rutin olarak uygulanması gerekliliğini ortaya koymuştur. AGBHS'da eritromisin direnç yüzdelerinin sürekli takibinin yapılması ve her direncin fenotipinin belirlenmesi önemlidir. Toplumda dirençli suşların seçilmesine yol açmamak için antibiyotik kullanımlarında lokal makrolid direnç fenotipi verilerinin göz önünde bulundurulması yerinde olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Açıkgöz ZC, Göçer S, Tuncer S: Macrolide resistance determinants of group A streptococci in Ankara, Turkey, *J Antimicrob Chemother* 2003;52(1):110-2.
2. Altındış M, Aktepe OC, Çetinkaya Z, Arslan F, Çetinkol Y, Yumlu Y: Boğaz kültürlerinde saptanan A grubu beta-hemolitik streptokoklar ve eritromisin direncinin yıllara göre değişimi, *Kocatepe Tıp Derg* 2003;2(1):29-32.
3. Arvand M, Hoeck M, Hahn H, Wagner J: Antimicrobial resistance in *Streptococcus pyogenes* isolates in Berlin, *J Antimicrob Chemother* 2000;46(4):621-4.
4. Barry AL, Fuchs PC, Brown SD: Interpretive criteria and quality control parameters for telithromycin disk diffusion susceptibility tests, *J Antimicrob Chemother* 2001;48(1):121-5.
5. Bisno AL, Stevens DL: *Streptococcus pyogenes* (including streptococcal toxic shock syndrome and necrotizing fasciitis), "Mandell GL, Bennett JE, Dolin RI (eds): *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practise of Infectious Diseases, Vol.2, 5.baskı*" kitabında s.2101-16, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
6. Bozdoğan B, Appelbaum PC, Kelly LM et al: Activity of telithromycin compared with seven other agents against 1039 *Streptococcus pyogenes* pediatric isolates from ten centers in central and eastern Europe, *Clin Microbiol Infect* 2003;9(7):741-5.
7. Capoor MR, Nair D, Deb M, Batra K, Aggarwal P: Resistance to erythromycin and rising penicillin MIC in *Streptococcus pyogenes* in India, *Jpn J Infect Dis* 2006;59(5):334-6.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Sixteenth Informational Supplement. CLSI Document M100-S16, CLSI, Wayne, Pennsylvania (2006).
9. Çiftçi E, Doru Ü, Güriz H, Aysev AD, İnce E: Antibiotic susceptibility of *Streptococcus pyogenes* strains isolated from throat cultures of children with tonsillopharyngitis, *J Ankara Medical School* 2003;25(1):15-20.
10. Durmaz B, Otlu B, Elibey E: Streptokokların makrolidlere ve penisilinlere duyarlılığının karşılaştırılması, XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı P 12-173, Antalya (1998).
11. Erdoğan H, Özgen 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.
12. Eryılmaz M, Akın A, Akan ÖA: Boğaz kültürlerinden izole edilen A grubu beta-hemolitik streptokokların antibiyotik duyarlılıkları, *ANKEM Derg* 2006;20(1):10-2.
13. Hasenbein ME, Warner JE, Lambert KG, Cole SE, Onderdonk AB, McAdam AJ: Detection of multiple macrolide- and lincosamide-resistant strains of *Streptococcus pyogenes* from patients in the Boston Area, *J Clin Microbiol* 2004;42(4):1559-63.
14. Hsueh PR, Teng LJ, Lee CM et al: Telithromycin and quinupristin resistance in clinical isolates of *Streptococcus pyogenes*: SMART Program 2001 Data, *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(7):2152-7.
15. İnan C, Erdoğan H, Berkiten R: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen beta-hemolitik streptokok-

- ların gruplandırılması ve antibiyotiklere direnci, *Klimik Derg* 2003;16(3):118-20.
16. Kafetzis DA, Liapi G, Tsolia M et al: Failure to eradicate group A beta-haemolytic streptococci (GABHS) from the upper respiratory tract after antibiotic treatment, *Int J Antimicrob Agents* 2004;23(1):67-71.
 17. Kim HY, Uh Y: Macrolide resistance in beta-hemolytic streptococci: Changes after the implementation of the separation of prescribing and dispensing of medications policy in Korea, *Yonsei Med J* 2004;45(4):591-7.
 18. Kozlov RS, Bogdanovitch TM, Appelbaum PC et al: Antistreptococcal activity of telithromycin compared with seven other drugs in relation to macrolide resistance mechanisms in Russia, *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(9):2963-8.
 19. Lamagni TL, Efstratiou A, Vuopin-Varkila J, Jasir A, Schalen C: The epidemiology of severe *Streptococcus pyogenes* associated disease in Europe, *Euro Surveill* 2005;10(9):179-84.
 20. Leblebicioğlu H: Telitromisin, *ANKEM Derg* 2004;18(Ek 2):170-3.
 21. Schlegel L, Merad B, Rostane H, Broc V, Bouvet A: In vitro activity of midecamycin diacetate, a 16-membered macrolide, against *Streptococcus pyogenes* isolated in France, 1995-1999, *Clin Microbiol Infect* 2001;7(7):362-6.
 22. Spach DH, Black D: Antibiotic resistance in community-acquired respiratory tract infections: current issues, *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;81(4):293-303.
 23. Varaldo PE, Debbia EA, Nicoletti G et al and the Artemis-Italy Study Group: Nationwide survey in Italy of treatment of *Streptococcus pyogenes* pharyngitis in children: Influence of macrolide resistance on clinical and microbiological outcomes, *Clin Infect Dis* 1999;29(4):869-73.
 24. Uh Y, Jang IH, Hwang GY, Lee MK, Yoon KJ, Kim HY: Antimicrobial susceptibility patterns and macrolide resistance genes of beta-hemolytic streptococci in Korea, *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(7):2716-8.
 25. Zachariadou L, Papaparaskevas J, Paraskakis I et al: Predominance of two M-types among erythromycin-resistant group A streptococci from Greek children, *Clin Microbiol Infect* 2003;9(4):310-4.