

## SOLUNUM YOLU İNFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN BETA HEMOLİTİK STREPTOKOKLARDA ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ

Rahmiye BERKİTEN, S. Dilara GÜROL\*

### ÖZET

1997-2001 yıllarında çocuk ve erişkin hastalardan izole edilen 103 beta hemolitik streptokok suşu incelenmiştir. Tahmini tanı ve lateks aglutinasyon yöntemleri uygulanarak yapılan gruplandırılmada suşların 62'si, 14'ü F, 12'si G, 6'sı C, 5'i B, 4'ü D grubu olarak belirlenmiştir. Antibiyotiklere duyarlılıklar disk difüzyon ve MİK değerleri (E test) belirlenerek yapılmış ve suşların tümü penisiline duyarlı (D grubundan 1 suş orta duyarlı), eritromisine 3(1'i orta duyarlı), klaritromisine 2, azitromisine 11(8'i orta duyarlı), siprofloksasine 5 (1'i orta duyarlı) suş dirençli, levofloksasine 2 suş orta duyarlı bulunmuştur. Disk difüzyon yöntemi ile klaritromisine orta duyarlı bulunan yalnız 1 suş MİK değerine göre dirençli kabul edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Streptococcus pyogenes, antibiyotiklere direnç

### SUMMARY

*Antimicrobial resistance in beta- hemolytic streptococci isolated from respiratory tract infections.* Between 1997 and 2001, a total of 103 beta- hemolytic streptococcus isolated from patients were examined. Group determinations were performed by presumptive identification and latex agglutination tests. Isolation results of groups were as follows A (62), B (5), C (6), D (4), F (14) and G (12). In susceptibility assays using disk diffusion and detecting MIC values (E-Test), all strains were found to be susceptible to penicillin (one moderately susceptible in group D), but 3 to erythromycin (one moderately susceptible), 2 to clarithromycin, 11 to azithromycin (8 moderately susceptible), 5 to ciprofloxacin (1 moderately susceptible) were detected to be resistant and 2 moderately susceptible to levofloxacin. Only one strain was found to be moderately susceptible to clarithromycin by disk diffusion but resistant by E test.

**Key words:** Streptococcus pyogenes, antimicrobial resistance

### GİRİŞ

Beta hemolitik streptokok (BHS)'lar çocuk ve erişkinlerde çeşitli ciddi infeksiyonlara yol açtıkları gibi insanların normal flora içeren vücut bölgelerinde de belirti vermeden bulunabilirler (1,4,8). Grup A streptokokların (GAS, *S.pyogenes*) rezervuarı genellikle insandır, fakat hayvanlardan bulaşan BHS infeksiyonu da bildirilmiştir (17). BHS'lerin alt solunum yolu infeksiyonlarındaki yeri oldukça sınırlıdır, bu nedenle balgam örneğinden izole edilen suşların üst solunum yolundan bulaşmadığı gösterilmelidir. GAS ve di-

ğer BHS infeksiyonlarının tedavisinde penisilin ve eritromisin ilk tercih edilen antibiyotiklerdir. Nadir görülmekle birlikte penisilin anafilaksisi ve bazı ülkelerde saptanan yüksek eritromisin direnci özellikle invaziv infeksiyonların tedavisinde, diğer makrolitler, sefalosporinler ve kinolon grubu antibiyotiklerin alternatif kullanımını gündeme getirmektedir (2,11,14). Ancak bu antibiyotiklere de duyarlılıkların izlenmesi gerekir. Bu nedenle çalışmamızda solunum sistemi örneklerinden izole edilen BHS'larm başta penisilin ve eritromisin olmak üzere çeşitli antibiyotiklere dirençleri araştırılmıştır.

Mecmuaya geldiği tarih: 16.05.2003

\* İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bakteriyoloji Bilim Dalı, Çapa- İstanbul

- 12. ECCMID Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur, 2002.

- Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir. Proje No:1456/05052000.

## MATERYAL ve METOD

Alt ve üst solunum sistemi şikayeti olan hastalardan alınan klinik örnekler 2 koyun kanlı jeloza (%5) ekilerek 1'i anaerop, diğeri %5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda bekletilmiş; 18-24 saat sonra incelenen kültürlerde 1-2 mm çapında beta hemoliz yapmış Gram pozitif, katalaz negatif koklar incelemeye alınmıştır. Suşlar çalışmaya kadar -70°C'de muhafaza edilmiştir.

Grup tayini tahmini tanı [basitrasin (0.04U) ve ko-trimoksazole duyarlılık] ve lateks aglutinasyon (Oxoid) yöntemleri ile, penisilin G, eritromisin, klaritromisin, azitromisin, siprofloksasin ve levofloksasine duyarlılık durumu E test ve disk difüzyon yöntemleri ile belirlenmiştir. Değerlendirmeler NCCLS ve firma önerileri doğrultusunda yapılmıştır (12).

## BULGULAR

Çocuk (34) ve erişkin (69) hastalardan 1997-2001 yıllarında izole edilen 103 BHS suşu incelenmiştir. Suşların 81(34'ü çocuk, 47'si erişkin hastadan)' i boğaz sürüntüsü, 22'si erişkin balgam örneklerinden izole edilmiştir. Grupların örneklerle dağılımları tablo 1'de, antibiyotik MİK aralıkları ve duyarlılık deneyi sonuçları tablo 2'de verilmiştir.

## TARTIŞMA

GAS'lar bakteriyel farenjitin başlıca nedenidir. Ancak diğer grupların da üst solunum

sistemi infeksiyonlarına neden olduğu, C ve G gruplarının ayrıca A grubu gibi infeksiyon sonrası komplikasyonlara yol açtığı bilinmektedir. Çeşitli infeksiyonlara yol açan bazı BHS grupları (A,B) buldukları bölgeye göre de önem taşırlar. Bu çalışmada en sık izole edilen A grubu (%63), bakteriyel farenjit düşünülen hastalardan üretilmiştir. S.pyogenes ve S.agalactiae tümü penisiline duyarlı, penisilin MİK değerleri düşük (MİK≤0.008-0.06 µg/ml) bulunan bakterilerdir (18). Fakat bazı B grubu suşlar orta duyarlı bulunabilir. Orta duyarlı veya dirençli saptanan her suş bir referans laboratuvarına gönderilerek doğrulanmalıdır. Aguilar ve ark.(1) inceledikleri 109 S.agalactiae suşundan yalnız birini orta duyarlı (MİK 0.25µg/ml) bulmuşlardır.

Disk difüzyon ve MİK değerlerine göre elde edilen sonuçlar genel olarak birbirine paraleldir; sınır değerlerde, nadiren farklı sonuçlar ortaya çıkabilir. Pahalı ve zaman alıcı bir işlem olan dilüsyon yöntemi azalmış duyarlılık ve artan direnç konsantrasyonunu gösterdiğinden daha değerlidir. Bu çalışmada klaritromisine disk difüzyon yöntemi ile orta duyarlı saptanan yalnız bir suş, MİK değerine göre dirençli kabul edilmiştir.

Ülkemizde bugüne kadar A ve B grubu suşlarda penisilin direncine rastlanmamış ve MİK değerleri de düşük bulunmuştur. Berkiten ve Gürol (6) 1999-2000 yıllarında izole edilen GAS'larm %71'i için penisilin MİK değerini ≤ 0.016 µg/ml bildirirken, bu çalışmada aynı grubun %90'ında bu değer ≤0.023 µg/ml olarak saptanmıştır. Dolayısıyla MİK

Tablo 1. BHS gruplarının örneklerle dağılımı

Örnekler	GRUPLAR						Toplam
	A	B	C	D	F	G	
Boğaz salgısı	51	4	4	3	8	11	81
Balgam	11	1	2	1	6	1	22
Toplam	62	5	6	4	14	12	103

Tablo 2. BHS'ler için denenen antibiyotiklerin MİK aralıkları ve bu antibiyotiklere direnç

Antibiyotikler	A grubu (n:62)		B,C,D,F,G grupları (n:41)	
	MİK aralığı (µg/ml)	Dİ	MİK aralığı (µg/ml)	Dİ
Penisilin	≤ 0.012-0.064	-	≤ 0.012-0.75	1**
Eritromisin	≤ 0.047-256	1	≤ 0.47-8	2**
Klaritromisin	≤ 0.32-1	1	≤ 0.32-1.5	2
Azitromisin	≤ 0.125 -256	9*	≤ 0.125-16	1
Siprofloksasin	0.25-6	2	0.125-6	3**
Levofloksasin	0.5-4	1**	0.094-4	1**

\*8'i orta duyarlı; \*\*1'i orta duyarlı

değerlerinde anlamlı bir farklılık görülmemektedir. Yalnız beta hemoliz yapan D grubu bir suş orta duyarlı (MİK 0.75µg/ml) bulunmuştur.

Başta A ve B grubu olmak üzere BHS'ler genellikle eritromisine duyarlıdır. Wootton ve ark.<sup>(18)</sup> A, B, C, F ve G gruplarında sırasıyla %0, %0, %16, %3, %2 oranlarında direnç bildirmişlerdir. Ülkemizde de bazı çalışmalar dışında (7) duyarlılık oranı yüksektir (%90). Bu çalışmada A (MİK 256µg/ml) ve G (MİK 8µg/ml) gruplarından yalnız birer suş dirençli, B grubu bir suş orta duyarlı (MİK 1.5µg/ml), diğerleri duyarlı bulunmuştur.

Son yıllarda yeni makrolit türevleri, uygulama kolaylığı ve uygulama sürelerinde kısılma gibi üstünlükleri nedeniyle tedavide yer almaktadırlar. NCCLS önerilerine göre azitromisin, klaritromisin ve diritromisin duyarlılığı eritromisin test edilerek belirlenebilir. Ancak in-vitro deneyler her zaman beklenen sonucu vermez. Yapılan çalışmalarda GAS'lardaki eritromisin, azitromisin ve klaritromisin direnci sırasıyla %0, %2, %3<sup>(18)</sup>; %12,3, %12.5, %12.2<sup>(11)</sup> bildirilmiştir. Ülkemizde azitromisine Öngen ve ark.<sup>(13)</sup> GAS'larda %3.3, Aslantürk ve ark.<sup>(3)</sup> GAS'larda %8.9, BHS'lerde %9.6; klaritromisine yine Öngen ve ark.<sup>(13)</sup> %4 direnç, Halıcı ve ark.<sup>(9)</sup> %2 orta duyarlılık bildirmiş-

lerdir. Bu çalışmada GAS'larda azitromisine 1 suş (%1.6) dirençli (MİK 256µg/ml), 8 suş (%13) orta duyarlı (MİK 1µg/ml); klaritromisine A (MİK 1µg/ml) ve G (MİK 1.5µg/ml) gruplarından birer suş dirençli bulunmuştur. Azitromisinde görülen %13'lük orta duyarlılık muhtemelen bu antibiyotiğin üst solunum yolu infeksiyonlarında yoğun olarak kullanılmasına bağlıdır.

Bazı ülkelerde tüketim alışkanlığına bağlı olarak eritromisin MİK değerleri yükselmekte, dolayısıyla direnç oranları da artmaktadır (%31-53.2)<sup>(5)</sup>. Berkiten ve Gürol<sup>(6)</sup> son yıllara ait 100 suşun incelendiği bir çalışmada GAS'ların %97'si için eritromisin MİK değerini ≤ 0.25 µg/ml olarak saptamışlar, bir suşun dirençli olduğu bu çalışmada da GAS suşlarının %97'si için eritromisinin MİK'u ≤ 0.25 µg/ml olarak bulunmuştur. Dolayısıyla eritromisin direnci ülkemiz için henüz bir sorun değildir.

Eritromisine dirençli suşlar diğer makrolitlere de çapraz direnç gösterebilir<sup>(10,16)</sup>. Çalışmamızda A grubu 1 suş aynı zamanda klaritromisin (MİK 1µg/ml) ve azitromisine (MİK 256 µg/ml), G grubu bir suş klaritromisin (MİK 1.5µg/ml) ve azitromisine (MİK 16µg/ml) dirençli bulunmuştur.

Kinolon grubu antibiyotiklerden siprofloksasin ve levofloksasine direnç oranları oldukça farklı bildirilmektedir. Wotton ve ark.<sup>(18)</sup>

B.C.F ve G gruplarında siprofloksasine suşlarıyla %93, %95, %97, %96; levofloksasine %44, %32, %63, %54 oranlarında direnç bildirirken, Schmitz ve ark.<sup>(15)</sup> grup ayırımı yapmaksızın inceledikleri suşlarda her iki antibiyotığe %1.6 direnç saptamışlardır. Yine A grubunda levofloksasine %2, %17<sup>(11,18)</sup>, siprofloksasine %88<sup>(18)</sup> direnç bildirilmiştir. Bu çalışmada 103 BHS'nin 4'ü siprofloksasine dirençli (MİK≥4µg/ml), 2'si levofloksasine orta duyarlı (MİK 4µg/ml) bulunmuştur. Dolayısıyla ülkemizde bu suşlar için direnç söz konusu değildir.

Sonuç olarak gerek disk difüzyon deneylerinin sonuçları, gerekse belirlenen MİK değerleri denenen antibiyotiklerin BHS gruplarına etkili olduğunu göstermektedir. Olası direnç artışlarının izlenebilmesi için bu tip çalışmaların devam etmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Aguilar J, Labat R, Grisolia P, Kaufman SC: Antimicrobial susceptibility and penicillin (Pen) tolerance of *Streptococcus agalactiae* from clinical isolates in a general hospital, 9. International Congress on Infectious Diseases (ICID), P13.019, Arjantin, (2000).
2. Al ós JJ, Aracil B, Oteo J, Gómez-Garcés JL, et al.: Significant increase in the prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin- and miocamycin- susceptible (M phenotype) *Streptococcus pyogenes* in Spain, *J Antimicrob Chemother*, 51:333, (2003).
3. Aslantürk A, Yousefi Rad A, Akdenizli MA: Boğaz kültüründen izole edilen beta hemolitik streptokokların azitromisine direnç durumları, 28. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı 12-177, (1998).
4. Ayan M, Tekerekoğlu MS, Durmaz B: Akut tonsillofarenjit ön lamli hastalarda beta hemolitik streptokokların görülme sıklığı, 29. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı P19-10, (2000).
5. Bandak SI, Turnak MR, Allen BS, Bolzon LD, Preston DA: Oral antimicrobial susceptibilities of *Streptococcus pyogenes* recently isolated in five countries, *Int J Clin Pract* 54:585, (2000).
6. Berkiten R, Gürol D: Erişkin hastaların solunum sistemi örneklerinin beta hemolitik streptokok yönünden incelenmesi, *ANKEM Derg* 15:735, (2001).
7. Durmaz B, Otlu B, Elibey E: Streptokokların makrolitlere ve penisilinlere duyarlılığının karşılaştırılması, 28. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı P12-173, (1998).
8. Gehanno P, Berche P, Bebear C, Orfila J, N'Guyen L, Barry B: Bacterial pathogens isolated from recurrent pharyngotonsillitis in adults, 8. International Congress on Infectious Diseases (ICID), P14.038, (1998).
9. Halıcı N, Erdiç FS, Çevik MA, Bulut C: Boğaz kültürlerinden izole edilen A grubu beta hemolitik streptokokların çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları, 28. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı 12-170, (1998).
10. Klugman KP, Capper T, Widdowson, CA, Koomhof H, J, Moser W: Increased activity of 16-membered lactone ring macrolides against erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of South African isolates, *J Antimicrob Chemother* 42:729, (1998).
11. Nagai K, Appelbaum PC, Davies TA, et al: Susceptibility to telitromycin in 1011 *Streptococcus pyogenes* isolated from 10 central and eastern european countries, *Antimicrob Agents Chemotherapy*, 46:546 (2002).
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 6. baskı Approved Standard M2-A6, NCCLS, Wayne, (1997).
13. Öngen B, Erdoğan H, Öksüz L, Gürler N, Töreci K: A grubu-beta-hemolitik streptokoklarda antibiyotik direnci ve makrolid direnç fenotipinin saptanması, *ANKEM Derg*. 14: 129, (2000).
14. Sauermaun R, Gattringer R, Graninger W, Buxbaum A, Georgopoulos A: Phenotypes of macrolide resistance of group A streptococci isolated from outpatients in Bavaria and susceptibility to 16 antibiotics, *J Antimicrob Chemother*, 51:53 (2003).
15. Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC, The Sentry Participants Group: Comparative activities of six different fluoroquinolones against 9682 clinical bacterial isolates from 20 European university hospitals participating in the European SENTRY surveillance programme, *Int J Antimicrob Agents* 12:311 (1999).
16. Şenses Z, Başusluoğlu A, Gür D, Kocagöz S, Doğançlı L: A grubu beta hemolitik streptokoklarda eski ve yeni makrolid direnç paternlerinin irdelenmesi, 29. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Özet Kitabı S02.09, (2000).
17. Tessier J, Miller R, Emons W, Holmboe E, Hawkins R: Zoonotic infection with group G streptococcus, *Clin Infect Dis* 28:1322 (1999).
18. Wotton M, Bowker KE, Janowska A, Holt HA, MacGowan AP: In-vitro activity of HMR 3647 against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* and  $\beta$ -haemolytic streptococci, *J Antimicrob Chemother* 44:445 (1999).