

Streptococcus Pneumoniae'da Makrolid Direnç Mekanizmaları ile Serotip İlişkisi

Nebahat Tiryakioğlu, Burak Aksu, Ufuk Över Hasdemir

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul - Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Ufuk Över Hasdemir
Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbiye Cd., Haydarpaşa, İstanbul - Türkiye
Elektronik posta adresi / E-mail address: ufukhasdemir@marmara.edu.tr
Kabul tarihi / Date of acceptance: 6 Eylül 2012 / September 6, 2012

ÖZET

Streptococcus pneumoniae'da makrolid direnç mekanizmaları ile serotip ilişkisi

Amaç: Pnömonokok enfeksiyonlarının tedavisinde ampirik olarak kullanılan makrolid grubu antibiyotiklerdeki direnç oranlarının artışı, tüm dünyada ve ülkemizde önemli bir sorundur. Çalışmamızda; pnömokoklarda makrolid direncinin yüksek olduğu bölgemizde, başvuran hastaların klinik örneklerinden izole edilen eritromisin dirençli *Streptococcus pneumoniae* izolatlarında makrolid direnç mekanizmalarının belirlenmesi ve direncin klinik izolatlarımızın serotipleri ile ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemler: Toplam 50 izolatın eritromisin, azitromisin, klaritromisin, klindamisin duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile; minimum inhibitör konsantrasyonları ise sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Makrolid direncinin genetik determinantları mef(A), mef(E), erm(B), erm(TR) her gene özgü primerler kullanılarak PZR yöntemiyle, serotip tayini ise multipleks PZR ile araştırılmıştır.

Bulgular: İzolatların %86'sı yapısal, %4'ü indüklenebilir MLS_B fenotipi; %10'u M fenotipi göstermiştir. İzolatların %42'sinde (n:21) sadece erm(B), %12'sinde (n:6) sadece mef(E) geni, %46'sında da (n:23) her iki gen birlikte saptanmıştır. İzolatların serotip dağılımı; 28'i (%56) 19F, 6'sı (%12) 6A/B, 5'i (%10) 23F, 1'i (%2) 39, 2'si (%4) 15A-F, 1'i (%2) 14, 1'i (%2) 23B şeklindedir; 6 (%12) izolat ise tiplendirilememiştir. 19F serotipindeki izolatların; 12'si sadece erm(B), 16'sı erm(B) ile mef(E) genini birlikte taşımaktadır. 6A/B serotipindeki izolatların 1'i sadece erm(B), 5'i mef(E) ile beraber erm(B) geni bulundurmaktadır. 23F serotipindeki izolatların ise 4'ü sadece mef(E), 1'i mef(E) ile birlikte erm(B) geni taşımaktadır.

Sonuç: Makrolid atım pompa geni mef(E)'nin kökenlerimizin %58'inde bulunması, %46'sında bu genin erm(B)'ye eşlik ettiğinin gösterilmesi ve koleksiyonumuzda baskın olarak saptanan 19F serotipindeki izolatlarda erm(B)+mef(E) gen birlikteliğinin çok yüksek oranda (%56) bulunması çalışmamızın çarpıcı sonuçlarıdır.

Anahtar sözcükler: Makrolid direnci, erm(B), mef(E), serotip, *Streptococcus pneumoniae*

ABSTRACT

The relationship between macrolide resistance mechanisms and serotypes of *Streptococcus pneumoniae*

Objective: Increased resistance rate to macrolides used as empirical treatment of pneumococcal infections is a major problem in our country and all over the world. In our study, we aimed to determine macrolide resistance mechanisms of the erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolated from clinical samples and to investigate serotype and resistance relationship within our region with the high macrolide resistance rates among pneumococci.

Methods: Fifty isolates were studied for erythromycin, azithromycin, clarithromycin, clindamycin susceptibilities with disk diffusion, and liquid microdilution methods. Genetic determinants of macrolide resistance, mef(A), mef(E), erm(B), erm(TR) genes were investigated by PCR using specific primers for each gene, multiplex PCR was used to determine the serotypes.

Results: Constitutive and inducible MLS_B phenotypes and M phenotype were expressed in 86%, 4% and 10% of the isolates, respectively. Total of 42% of the isolates (n=21) were positive for erm(B), 12% (n=6) for mef(E) gene, in 46% (n=23) of the isolates both genes were detected. Serotype distribution was as follows: 28 (56%) 19F, 6 (12%) 6A/B, 5 (10%) 23F, 1 (2%) 39, 2 (4%) 15A-F, 1 (2%) 14, 1 (% 2) 23B and 6 (%12) isolates were nontypeable. 12 isolates carry erm(B), and 16 isolates carry both erm(B) and mef(E) in serotype 19F. One isolate carries erm(B), and 5 isolates carry both erm(B) and mef(E) in serotype 6A/B. Four isolates carry erm(B) and one isolate carries both erm(B) and mef(E) in serotype 23F.

Conclusion: The most striking results of this study are the presence of macrolide efflux pump coding mef(E) gene in 58% of our isolates, the presence of additional erm(B) gene in %46 of isolates, and high rate of erm(B)+ mef(E) genes combination (56%) in predominant serotype 19F isolates.

Key words: Macrolide resistance, erm(B), mef(E), serotype, *Streptococcus pneumoniae*

GİRİŞ

Streptococcus pneumoniae çocuklarda ve erişkinlerde toplum kaynaklı pnömoni, otitis media, sinüzit, menenjit ve

sepsisin önde gelen etkenleri arasında olup, belirli hasta gruplarında morbiditesi ve mortalitesi yüksek olan enfeksiyonlara neden olmaktadır. 1980'li yıllardan başlayarak penisiline dirençli ve çoğul dirençli *Streptococcus pneumoniae*

kökenleri giderek yaygınlaşmış ve dünya genelinde önemli bir sorun haline gelmiştir (1). Bu durum pnömokok enfeksiyonlarının tedavisinde makrolidlerin alternatif olarak öne çıkmasına sebep olmuştur. Pnömokoklarda penisiline dirençli suşların artmasıyla birlikte alternatif antimikrobiyal-lerin daha fazla kullanılmasına bağlı olarak makrolidler başta olmak üzere diğer antimikrobiallere de direnç gelişmeye başlamıştır (2).

Pnömokokların makrolid direncinde iki mekanizma rol oynamaktadır. Bunlardan birincisi, sentezlenen metilaz enzimiyle ribozomal RNA'nın metilasyonu sonucu antibiyotiğin hedefinde değişiklik oluşması, ikincisi ise, antibiyotiğin aktif olarak hücre dışına pompalanmasıdır (efflux) (3). *mef* geni denetiminde olan aktif ilaç pompalama mekanizmasına sahip, makrolid dirençli *Streptococcus pneumoniae* izolatlarının prevalansı giderek artmaktadır.

Streptococcus pneumoniae'nin bir zarf gibi hücre duvarını çevreleyen ve onu dış çevre koşullarından koruyan kapsül yapısındaki polisakaridlerin antijenik farklılıklarına göre 90'dan fazla pnömokok serotipi belirlenmiştir (4). Pnömokoklarda serotip dağılımı yaşa, enfeksiyon bölgesine ve coğrafik bölgelere göre farklılık gösterir (5). *Streptococcus pneumoniae*'nin serotipleri ile makrolid direnci arasında da bir ilişki bulunmaktadır. Günümüzde yapılan çalışmalar, dirençli izolatlarda genellikle 19F, 23F ve 6B serotiplerine rastlandığını göstermektedir (6,7).

Çalışmamızda; pnömokoklarda makrolid direncinin yüksek olduğu bölgemizde, klinik örneklerden izole edilen eritromisin dirençli *Streptococcus pneumoniae* izolatlarında makrolid direnç mekanizmalarının incelenmesi, *mef* denetimindeki aktif ilaç pompasının makrolid direncindeki rolü ile bu direncin klinik izolatlarımızın serotipleri ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Ülkemizde pnömokok enfeksiyonlarında makrolid direnç mekanizmalarının belirlenmesine ve direncin hangi serotiplerde yoğunlaştığına yönelik çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Çalışmamızın ülkemizdeki makrolid dirençli *S. pneumoniae*'lerin epidemiyolojisi ve dirençli izolatların serotipleri hakkında önemli bir kaynak olacağı düşüncesindedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

2010-2011 yılında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden, enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve

rutin disk difüzyon testi ile eritromisine dirençli bulunan 50 *Streptococcus pneumoniae* izolatı çalışmaya dahil edildi.

İzolatlar, koloni morfolojisi ve Gram boyama özellikleri, optokin ve safrada erime testleri yapılarak tanımlandı (8).

İzolatların eritromisin, azitromisin, klaritromisin ve klindamisine duyarlılıkları ve minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK), Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına uygun olarak disk difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi (9). *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 kalite kontrol suşu olarak kullanıldı (10). İzolatların makrolid grubu antibiyotiklere direnç fenotipi eritromisin ve klindamisine çift disk testi ile belirlendi (11). Eritromisin ve klindamisine dirençli bulunan izolatlar yapısal MLS_B fenotipi (cMLS_B), klindamisinin eritromisine bakan tarafında küntleşme gösteren izolatlar indüklenbilir MLS_B fenotipi (iMLS_B) olarak, eritromisine dirençli klindamisine hassas bulunan izolatlar ise M fenotipi olarak kabul edildi (12).

İzolatlarda makrolid direnç genleri, varlığı uygun polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) koşullarında, *mef*(A) için 5'-TGGTTCGGTGCTTACTATTGT-3' ve 5'-CCCCTATCAACATTCCAGA-3', *mef*(E) için 5'-GGGAGATGAAAAGAAGGAGT -'3 ve 5'-TAAAATGGCACCGAAAG -3, *erm*(B) için 5'-ATTGGAA-CAGGTAAAGGGC-3' ve 5'-GAACATCTGTGGTATGGCG-3', *erm*(TR) için 5'-ACAGAAAAACCGAAAAATACG-3' ve 5'-TTGGATAATTTATCAAGATCAG-3' özgül primerleri kullanılarak araştırıldı. PZR işlemleri 94°C'de 4 dk denatürasyonu izleyerek, 30 döngü şeklinde 94°C'de 1 dk, 55°C'de 1 dk ve 72°C'de 1 dk ve son uzama fazı için 72°C'de 7 dk koşullarında gerçekleştirildi (13).

İzolatların serotiplerinin belirlenmesinde multipleks PZR yöntemi kullanıldı (14). İzolatlar, koyun kanlı agar besiyerine ekilerek %5 CO₂ içeren ortamda 37°C'de bir gecelik inkübasyon ile üretildi. Üreyen kolonilerden 2-3 adet alınarak 0.25 ml steril distile su içerisinde süspansiyon yapıldı. Süspansiyon 95°C'de 10 dk bekletildikten sonra -20°C'de 5 dk soğutuldu. Elde edilen bakteri lizatları kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı. Multipleks PZR işlemleri termal döngü cihazında (MyCycler, BioRad Laboratories, A.B.D), 94°C'de 4 dk denatürasyonu izleyerek, 94°C'de 45 sn, 54°C'de 45 sn ve 65°C'de 2.5 dk koşullarında, 30 döngü şeklinde gerçekleştirildi. Bu yöntemle izolatlarımızda 40 serotipin (St- 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6C, 7C, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 10F, 11A, 12F, 13, 14, 15A, 15C, 16F, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 21, 22F, 23A, 23B, 23F, 24F, 31, 33F, 34, 35A, 35B, 35F, 38, 39) varlığı araştırıldı.

Tablo 1: *Streptococcus pneumoniae* izolatlarında makrolid ve linkozamid grubu antibiyotiklere ait MİK değerlerinin dağılımı.

		Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) (µg/mL)													
Antibiyotik	s (%)	≥ 512	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125
Eritromisin	s (%)	25(50)	6(12)	8(16)	4(8)				4(8)	1(2)	1(2)	1(2)			
Azitromisin	s (%)	22(44)	5(10)	11(22)	2(4)	1(2)	2(4)		4(8)	2(4)	1(2)				
Klaritromisin	s (%)	1(2)	15(30)	13(26)	8(16)	4(8)		3(6)		5(10)	1(2)				
Klindamisin	s (%)	2(4)	2(4)	22(44)	10(20)	6(12)				2(4)				3(6)	3(6)

Tablo 2: Makrolid direnç genlerinin 50 *Streptococcus pneumoniae* izolatındaki dağılımı.

Direnç Geni	İzolat sayısı (%)
erm(B)	21 (42)
mef(E)	6 (12)
erm(B) + mef(E)	23 (46)

Tablo 3: *Streptococcus pneumoniae* izolatlarında belirlenen makrolid direnç fenotip ve genotiplerinin serotiplere göre dağılımı.

Serotipler	MLS _B fenotip s (%)			M fenotip s (%)	
	erm(B)	mef(E)	erm(B)+mef(E)	erm(B)+mef(E)	mef(E)
19F	12(42.8)	-	16 (57.2)	-	-
6A/B	1 (16,7)	-	5 (83,3)	-	-
23F	1(20)	-	-	-	4(80)
Diğerleri ^a	1 (20)	1(20)	2(40)	1 ^b (20)	-
Tiplendirilemeyen izolatlar	6 ^b (100)	-	-	-	-
Toplam	21 (42)	1(2)	23 (46)	1(2)	4 (8)

^a15A/F (n:2), 14 (n:1), 39 (n:1), 23B (n:1)^bizolatlardan 1'i iMLS_B

BULGULAR

Çalışmamıza alınan 50 *Streptococcus pneumoniae* kökeninin tamamı, disk difüzyon yöntemiyle makrolid grubu antibiyotiklere (eritromisin, azitromisin, klaritromisin), %88'i (n:44) klindamisine dirençli bulundu. Kökenlerimizin %86'sı (n:43) yapısal, %4'ü (n:2) indüklenebilir MLS_B fenotipi; %10'u (n:5) M fenotipi gösterdi.

Sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle (disk difüzyon test sonuçlarına paralel şekilde) izolatların %12'si (n:6) klindamisine duyarlı olarak bulundu; MİK değerleri 0.25-0.125 µg/mL arasında saptandı (Tablo 1).

Makrolid direnç genlerinden erm(B), izolatların % 42'sinde tek başına, %46'sında ise mef(E) ile birlikte bulundu (Tablo 2).

Streptococcus pneumoniae izolatlarının serotiplendirme çalışması sonucunda, 28'i (%56) St-19F, 6'sı (%12) St-6A/B, 5'i (%10) St-23F, 2'si (%4) St-15A-F, 1'i (%2) St-39, 1'i (%2) St-14, 1'i (%2) St-23B olarak saptandı. Altı izolatta ise serotip belir-

lenemedi (Tablo 3).

Çalışılan tüm *Streptococcus pneumoniae* izolatlarının, serotip, fenotip, makrolid direnç genleri ile makrolid, linkozamid grubu antibiyotiklere karşı direnç durumu ve MİK değerlerinin dağılımı Tablo 4'te verilmiştir.

TARTIŞMA

Streptococcus pneumoniae başta solunum yolu olmak üzere toplum kaynaklı enfeksiyonlarda önemli rol oynayan ve antibiyotik dirençli izolatların giderek yaygınlaşmasıyla bilim dünyasının gündeminde önemli yer tutan patojenlerden birisidir (15).

Avrupa Antimikrobiyal Direnç İzleme Sistemi'nin (EARSS) 2005 yılı verilerine göre, Türkiye'deki pnömokoklarda eritromisin direnç oranı %10 iken, bu oran 2008 yılında %29'a yükselmiştir (16,17). Hastanemize ait veriler, izolatlarımızda makrolid direnç oranlarının yıllar içinde giderek arttığını ve 2005-2008 yılları arasında %30'un üzerine çıktığını

Tablo 4: *Streptococcus pneumoniae* izolatlarının serotip, fenotip, makrolid direnç genleri ve makrolid, linkozamid grubu antibiyotiklere direnç durumu ve MİK değerlerinin dağılımı.

No	Serotip	Fenotip	erm (TR)	erm (B)	mef (A)	mef (E)	Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) ve Direnç Durumu (R: Dirençli; S: Duyarlı)							
							Eritromisin		Azitromisin		Klaritromisin		Klindamisin	
1	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	256	R
2	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	≥512	R	256	R
3	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	256	R
4	23F	M	N	N	N	P	1	R	8	R	2	R	0.25	S
5	19F	cMLS _B	N	P	N	N	≥512	R	512	R	256	R	256	R
6	19F	cMLS _B	N	P	N	N	256	R	256	R	64	R	64	R
7	23F	cMLS _B	N	P	N	N	≥512	R	512	R	128	R	512	R
8	39	iMLS _B	N	N	N	P	8	R	8	R	16	R	64	R
9	19F	cMLS _B	N	P	N	N	≥512	R	≥512	R	512	R	256	R
10	N	cMLS _B	N	P	N	N	128	R	256	R	128	R	64	R
11	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	256	R
12	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	256	R	256	R
13	15A-F	M	N	P	N	P	8	R	8	R	4	R	0.25	S
14	14	cMLS _B	N	P	N	N	512	R	512	R	512	R	512	R
15	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	256	R
16	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	128	R
17	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	256	R
18	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	256	R
19	15A-F	cMLS _B	N	N	N	P	128	R	256	R	64	R	256	R
20	N	cMLS _B	N	P	N	N	256	R	256	R	256	R	128	R
21	23B	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	64	R	≥512	R
22	6A/B	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	256	R
23	6A/B	cMLS _B	N	P	N	N	256	R	256	R	64	R	4	R
24	6A/B	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	128	R	512	R
25	19F	cMLS _B	N	P	N	N	512	R	512	R	512	R	256	R
26	19F	cMLS _B	N	P	N	N	512	R	256	R	256	R	128	R
27	N	cMLS _B	N	P	N	N	256	R	128	R	256	R	256	R
28	23F	M	N	N	N	P	8	R	8	R	4	R	0.125	S
29	N	cMLS _B	N	P	N	N	512	R	256	R	128	R	128	R
30	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	≥512	R
31	N	cMLS _B	N	P	N	N	256	R	256	R	256	R	128	R
32	23F	M	N	N	N	P	8	R	4	R	4	R	0.25	S
33	19F	cMLS _B	N	P	N	N	128	R	256	R	256	R	128	R
34	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	256	R
35	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	256	R
36	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	512	R	128	R
37	19F	cMLS _B	N	P	N	N	256	R	64	R	128	R	64	R
38	19F	cMLS _B	N	P	N	N	128	R	32	R	16	R	64	R
39	19F	cMLS _B	N	P	N	N	256	R	256	R	128	R	128	R
40	19F	cMLS _B	N	P	N	N	512	R	256	R	256	R	64	R
41	23F	M	N	N	N	P	2	R	2	R	4	R	0.125	S
42	19F	cMLS _B	N	P	N	N	512	R	128	R	256	R	128	R
43	6A/B	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	16	R	256	R
44	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	128	R	256	R
45	6A/B	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	512	R	128	R	256	R
46	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	256	R	256	R
47	N	iMLS _B	N	P	N	N	4	R	4	R	4	R	0.125	S
48	19F	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	256	R	256	R
49	6A/B	cMLS _B	N	P	N	P	≥512	R	≥512	R	256	R	256	R
50	19F	cMLS _B	N	P	N	N	256	R	32	R	256	R	128	R

göstermektedir (18). 2009 yılında eritromisin direnç oranımız %42.3 olarak tespit edilmiştir. 2009 yılından itibaren de bu oranın %50'lere yaklaştığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda izolatlarımızın %86'sının (n:43) yapısal,

%4'ünün (n:2) indüklebilir MLS_B fenotipi ve %10'unun (n:5) M fenotipi olduğu belirlenmiştir.

Asya, Avrupa, ülkemizde yapılan araştırmalarda ve çalışmamızda, dirençli kökenlerde genellikle cMLS_B fenotipi

saptanmaktadır (19). Ülkemizde, Gür ve ark. ile Gülay ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda, M fenotipi oldukça düşük oranlarda (%2,5) saptanmıştır (20,21). Bu oranlarla bizim verilerimiz kıyaslandığında, M fenotipi merkezimizde daha yüksek oranlarda bulunmuştur.

Pnömonokların makrolid direnci ile serotip arasındaki ilişki tüm dünyada takip edilmektedir. Ülkemizde ve yurt dışında yapılan çalışmalarda, makrolid dirençli izolatların çoğunlukla serotip 19 F grubunda yer aldığı belirtilmiştir (21-23). Ayrıca dirençli izolatlarda 14, 23F ve 6B serotipleri ne de sıklıkla rastlanmaktadır (7).

İzolatlarımızın yarısından fazlasında (%56) 19F serotipi saptanmıştır ve bunu 6A/B (%12) ile 23F (%10) izlemiştir (Tablo 3). Az sayıda olmakla birlikte, diğer Türkiye çalışmaları benzer sonuçlar göstermektedir. Kullanılan yöntem ile 6 izolatın serotipi saptanamamıştır; buna neden olarak multipleks PZR ile serotiplendirmenin yeni geliştirilen bir metod olup tüm serotipleri kapsamaması ve konvansiyonel antiserum serotiplendirmeye bile serotipi belirlenemeyen kökenler olabildiği öngörülmektedir.

Ülkemizde pnömokoklarda makrolid grubu antibiyotiklere direnç oranları oldukça yüksek düzeylere ulaşmasına rağmen, makrolid direncinin özellikle genotipik özelliklerini ortaya koyan çalışmaların sayısı sınırlıdır (20,21).

İzolatlarımızda makrolid direncinin genetik temelini oluşturan genlerden sadece erm(B) ve mef(E) genleri saptanmıştır. Araştırılan direnç genlerinden birisi olan erm(TR) tüm dünyada *Streptococcus pneumoniae* izolatlarında çok nadir bildirilmektedir; 25 ülkeden toplanan 1000'den fazla

pnömokok izolatında bu gen sadece 2 kökende saptanabilmiştir (24). İzolatlarımızda saptayamadığımız mef(A) geninin, mef(E) geni ile DNA dizilimi açısından %90'ın üzerinde benzerlik gösterdiği bildirilmiş, bu yüzden kullanılan PZR primerleriyle ayırımının çok zor olduğu belirtilmiştir (25).

Gülay ve ark. yaptıkları çalışmada, 40 *Streptococcus pneumoniae* kökeninde makrolid direncinden %95 oranında erm(B) geninin sorumlu olduğunu göstermişler; Gür ve ark. çalışmalarında ise, %77.8 oranında erm(B) geninin varlığını tespit etmiştir (20,21).

Çalışmamızda da erm(B) oranı %88 olarak belirlenmiştir; bununla birlikte %58 oranında da mef(E) geni varlığı tespit edilmiştir. Son yıllarda pnömokokların makrolid direncinde mef geninin kontrolündeki aktif atım pompasının rolü giderek artmaktadır (26). Her ne kadar izolatlarımızda fenotipik olarak erm(B) geni baskın olsa da, mef(E) geninin yaygınlığı; bölgemizde, bu gen denetimindeki aktif atım pompasının kökenlerimizin makrolid direncine önemli bir katkı sağladığını göstermektedir. 19F serotipine sahip izolatlarda erm(B)+mef(E) genlerinin birlikteliğinin çok yüksek oranda (%56) bulunması da dikkat çekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma "Streptococcus pneumoniae'da Makrolid Direnç Mekanizmalarının Serotiple İlişkinin Araştırılması" başlıklı yüksek lisans tezidir ve Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: MAR-YC-2009-0297, 2009).

KAYNAKLAR

1. Tomasz A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Clin Infect Dis.1997;24(Suppl 1):85-88.
2. Reinert RR. The antimicrobial resistance profile of *Streptococcus pneumoniae*. Clin Microbiol Infect. 2009;15(Suppl 3):7-11.
3. Hasdemir U. Çoklu ilaç direncinde bakteri hücre duvarı organizasyonunun ve aktif pompa sistemlerinin rolü. Mikrobiyol Bul.2007;41:309-327.
4. Henrichsen J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. J Clin Microbiol. 1995;33:2759-2762.
5. AlonsoDeVelasco E, Verheul AF, Verhoef J, Snippe H. *Streptococcus pneumoniae*: virulence factors, pathogenesis, and vaccines. Microbiol Rev. 1995;59:591-603.
6. Musher DM. *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2004:p.2392-2411.
7. Appelbaum PC. Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: Implications for drug selection Clin Infect Dis. 2002;34:1613-1620.
8. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC. The Gram positive cocci Part II: Streptococci, Enterococci, and the "Streptococci-Like" Bacteria. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Philadelphia, Lippincott, 2006. p.578-610.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved Standard, 7 th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. CLSI, 2006.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Nineteenth informational supplement. M100-S19. Wayne, PA: CLSI; 2009.
11. Werno AM, Murdoch DR. Medical microbiology: Laboratory diagnosis of invasive pneumococcal disease. Clinical Infectious Disease. 2008;46:926-932.

12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eighteenth informational supplement. M100-S18. Wayne, PA: CLSI; 2008.
13. Amezaga MR, Carter PE, Cash P, McKenzie H. Molecular epidemiology of erythromycin resistance in *Streptococcus pneumoniae* isolates from blood and noninvasive sites. J Clin Microbiol. 2002;40:3313-3318.
14. Pai R, Gertz RE, Beall B. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates. J Clin Microbiol. 2006; 44:124-131.
15. Gürler N. Pnömonok enfeksiyonlarında mikrobiyoloji ve direnç, ANKEM Dergisi. 2008; 22 (Ek 2): 238-251.
16. hpsc.ie[Internet]. EARSS Quarterly Surveillance Reports –2005 [cited 2012 Aug 25]. Available from: <http://www.hpsc.ie/hpsc/A-Z/MicrobiologyAntimicrobialResistance/EuropeanAntimicrobialResistanceSurveillanceSystemEARSS/EARSSsurveillanceReports/2005Reports/>
17. hpsc.ie[Internet]. EARSS Quarterly Surveillance Reports–2008 [cited 2012 Aug 25]. Available from: <http://www.hpsc.ie/hpsc/A-Z/MicrobiologyAntimicrobialResistance/EuropeanAntimicrobialResistanceSurveillanceSystemEARSS/EARSSsurveillanceReports/2008Reports/>
18. Sağıroğlu P. Aksu B, Hasdemir U. *Streptococcus pneumoniae*'da makrolid direnç mekanizmalarının araştırılması: 2005-2008, Marmara Üniversitesi Hastanesi Sonuçları. Marmara Med Journal. 2011;24:15-20.
19. Reinert RR, Reinert S, van der Linden M, Cil MY, Al-Lahham A, Appelbaum P. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in eight European countries from 2001 to 2003. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49:2903-2913.
20. Gür D, Mülazımođlu L, Ünal S. In vitro susceptibility of respiratory isolates of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* to telithromycin and 11 other antimicrobial agents: Turkish results of e-BASKETT II Surveillance Study. Mikrobiyol Bul. 2007;41:1-9.
21. Gülay Z, Özbek ÖA, Biçmen M, Gür D. Macrolide resistance determinants in erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Turkey. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2008;61:490-493.
22. Imöhl M, Reinert RR, Mutscher C, van der Linden M. Macrolide susceptibility and serotype specific macrolide resistance of invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Germany from 1992 to 2008. BMC Microbiol. 2010;10:299.
23. Telli M, Eyigör M, Gültekin B, Aydın N. Evaluation of resistance mechanisms and serotype and genotype distributions of macrolide-resistant strains in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Aydın, Turkey. J Infect Chemother. 2011;17:658-664.
24. Farrell DJ, Morrissey I, Bakker S, Felmingham D. Molecular characterization of macrolide resistance mechanisms among *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* isolated from the PROTEKT 1999-2000 study. J Antimicrob Chemother. 2002;50(S1):39-47.
25. Klaassen CH, Mouton JW. Molecular detection of the macrolide efflux gene: to discriminate or not to discriminate between *mef(A)* and *mef(E)*. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49:1271-1278.
26. Leclercq R, Courvalin P. Resistance to macrolides and related antibiotics in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46:2727-2734.