

BOĞAZ KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN BETA-HEMOLİTİK STREPTOKOKLARIN İDENTİFİKASYONU, TİPLENDİRİLMESİ VE ANTİBİYOTİK VE ERİTROMİSİN DİRENÇ PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Ahmet UYSAL^{1*} Yusuf DURAK², Duygu AKIN³

¹ Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Bölümü,
Kampüs, Konya, Türkiye

² Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kampüs, Konya, Türkiye

³ Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Anatomi Bölümü, Konya Türkiye
e-posta: ahuysal@selcuk.edu.tr

(Geliş: 16 Eylül 2014; Düzeltme: 21 Ekim 2014; Kabul: 28 Ekim 2014)

Özet: A grubu beta hemolitik streptokoklar (AGBHS) sıklıkla üst solunum yolu enfeksiyonlarından izole edilen ajanlardan biridir. Streptokok enfeksiyonları dünyada, öncelikle streptokok farenjit olmak üzere, doktor muayenesi, ilaç tedavisi ve iş günü kayıplarını kapsayan çok fazla miktarda maddi kayıplara neden olmaktadır. Çalışmamızda AGBHS'ların API 20 Strep sistemi ile identifikasyonu, patojen türlerin sayı ve oranları ve kullanılan antibiyotiklere dirençlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Konya şehir merkezindeki çeşitli hastanelerde, akut tonsillofarenjit ön tanısı konulan hastalardan boğaz kültürü örnekleri alındı. Örnekler peptonlu suda bir saat ön inkübasyona tabi tutuldu. Ardından % 5 koyun kanlı Mueller-Hinton Agar'a (MHA) ekildi. Suşların grupları lateks aglutinasyon testi (SLIDEX® Strepto Plus, Biomerieux) ile belirlendi. 373 örnek içerisinde Basitrasin'e duyarlı, Trimetoprim-sulfometaksazol'e dirençli, katalaz negatif, gram pozitif toplam 96 suş beta-hemolitik streptokok (AGBHS) olarak tanımlandı. Ayrıca API 20 Strep sistemi ile 96 adet AGBHS suşu tür seviyesinde sınıflandırıldı. CLSI önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile AGBHS suşlarının kullanılan antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılıkları belirlendi. Suşların antibiyotik direnç profilleri, çoklu antibiyotik direnç indeksleri ve eritromisin direnci tespit edildi. Çalışmadan elde edilen verilere göre, örneklerin % 25.73'ü AGBHS olarak tanımlandı. 96 suşun 13 farklı tür içerisinde dağılım gösterdiği görüldü. En baskın türlerin sırasıyla; *Streptococcus acidominimus* (34 suş), *Streptococcus pyogenes* (23 suş), *Streptococcus oralis* (9 suş), *Streptococcus mitis 1* (7 suş) ve *Streptococcus agalactiae* (7 suş) olduğu belirlendi. Suşlar en fazla direnci tetrasikline (14 suş, % 14.5%), takiben ampisilin ve eritromisine (13 suş, % 13.5); klaritromisine (10 suş, % 10.4); klindamisine (4 suş, % 4.1) gösterdi. AGBHS'lar birbirinden farklı 16 direnç profili ortaya koydu. Çoklu antibiyotik direnç indeksine göre 8 suş 0.2 değerinden büyük bir indeks gösterdi. Sonuç olarak, ülkemizde AGBHS suşlarının patojen profilleri belirlendi ve eritromisin direncinin ülkemizde önceden yapılan çalışmaların verileri ile kıyaslandığında yüksek olduğu ortaya kondu. Bu oranın şimdilik sorun olmadığı fakat aralıklı olarak direnç seviyelerinin ülke genelinde izlenmesinin faydalı olacağı kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: API 20 Strep, A Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar, Antibiyotik direnç profili, İdentifikasyon, Eritromisin direnci.

IDENTIFICATION, TYPING AND DETERMINATION OF ANTIBIOTIC AND ERYTHROMYCIN RESISTANCE PROFILES OF BETA-HEMOLYTIC STREPTOCOCCI ISOLATED FROM THROAT CULTURES

Abstract: Group A beta-haemolytic streptococci (GABHS) is one of the agents which are frequently isolated from upper respiratory tract infections. Streptococcal infections, primarily including streptococcal pharyngitis, cause too much financial loss every year in the form of doctors' visits, medication, and lost workdays in the world. In our study, identification of GABHSs by API 20 Strep system and determination of number of pathogenic species and ratios, and resistance to antibiotics used were aimed. Throat culture samples were taken from the patients pre-diagnosed with acute tonsillopharyngitis in various hospitals in the city center of Konya. The samples were kept in the peptone water as one hour as for pre-incubation. Then they were cultured on 5% sheep blood Mueller-Hinton Agar (MHA). Groups of the strains were determined by latex agglutination test (SLIDEX® Strep Plus, Biomerieux). Total of 96 strains which were bacitracin sensitive, trimethoprim-sulfomethaxazole resistant, catalase negative, gram positive were identified as beta-hemolytic streptococci (GABHS) in 373 samples. In addition, 96 GABHS strains were classified at the species level by API 20 Strep system. Resistance and susceptibilities of GABHS strains against antibiotics used were determined by disc diffusion method conducted in accordance with CLSI recommendations. The antibiotic resistance profiles, multiple antibiotic resistance indexes and erythromycin resistance of the strains were detected.

According to the data obtained from study, 25.73% of the samples were defined as the GABHS. It was seen that 96 strains separated into 13 different species. It was determined that the dominant species were *Streptococcus acidominimus* (34 strain), *Streptococcus pyogenes* (23 strain), *Streptococcus oralis* (9 strain), *Streptococcus mitis 1* (7 strain) ve *Streptococcus agalactiae* (7 strain), respectively. The strains showed the greatest resistance to tetracycline (14 strain, 14.5%), followed by ampicillin and erythromycine (13 strains, 13.5%), clarithromycin (10 strains, 10.4%), clindamycin (4 strains, 4.1%). GABHSs revealed 16 different types of resistance profiles. According to multiple antibiotic resistance indexes, 8 strains showed an index greater than 0.2 values. Consequently, pathogen profiles of GABHS strains were determined and it was revealed that erythromycin resistance was higher when compared to data of previous studies conducted in our country. It was concluded that this rate is not a problem now, but monitoring of the resistance levels intermittently throughout the country would be useful.

Keywords: API 20 Strep, Group A Beta Hemolytic Streptococci, Antibiotic resistance profile, Identification, Erythromycin resistance

1. Giriş

A grubu beta-hemolitik streptokoklar (AGBHS) çocukluk çağı farenjitlerinde en sık saptanan serogrup olmalarının yanı sıra, tonsillofarenjit, ortakulak iltihabı, yumuşak doku enfeksiyonları, romatizmal ateş ve akut glomerulonefrite neden olmalarından dolayı da önemli bir yere sahip insan patojenleridir (Gerber 2008; Topkaya ve ark., 2014). Penisilin yaklaşık olarak 50 yıldan beri AGBHS'ların neden olduğu tonsillofarenjit tedavisinde kullanılmakla birlikte bugün bile akut romatizmal ateşin ilk atağını engellediği ispatlanmış tek antimikrobiyal ajandır (Gülhan ve ark., 2008). Penisilin alerjisi olanlarda ise eritromisin ve diğer makrolidler kullanılmaktadır. Son yıllarda AGBHS'ların üst solunum yollarından eradikasyonunda % 10-30 oranında başarısızlık olduğu bildirilmektedir. Bu başarısızlığın nedenleri arasında ağız ve üst solunum yollarının florasını oluşturan aerop ve anaerop bakterilerin beta-laktamaz enzimi salgılayarak penisilini inaktive etmesi, hastaların tedaviye uyum sorunu, tedavi süresinin gerektiğinden kısa tutulması, penisilinin enfeksiyon bölgesine yetersiz penetrasyonu ve penisiline direnç sayılabilir. Penisilinin kullanılmadığı durumlarda, kullanılan diğer antibiyotiklere karşı gelişen direnç düzeyleri ayrı bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. AGBHS'larda antibiyotik direnci yalnız ülkemizde değil,

dünyanın her tarafında önemli bir problem olarak ortaya çıkmakta ve streptokok taşıyıcılığı en sık 6-12 yaşlar arasında görülmektedir. Bulaşma sıklıkla hava yolu ve yakın temas yolu ile gerçekleşmektedir (Yazgan ve ark., 2001; Eryılmaz ve ark., 2006).

Streptokok enfeksiyonlarının yaygın olarak tekrarlanmasıdaki artışlar ve romatizmal ateşin tekrarlanması nedeniyle *Streptococcus pyogenes*'in kültüre alınması ve teşhisinde doğru ve duyarlılığı yüksek yöntemlere ihtiyaç olduğu bildirilmiştir. Uygun ve yeterli laboratuvar incelemeleri olmaksızın streptokokların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının teşhisi güçtür. Örneğin İsveç'te genel tarama amacıyla yapılan muayenelerde, şikâyetlerin 1/3'ünün üst solunum yolu enfeksiyonlarına ait olduğu görülmüştür. Beta hemolitik streptokokların kültürünün yapılması, klinik bakteriyoloji yönünden de çok önemlidir (Christensen ve ark., 1982). Klinik mikrobiyoloji laboratuvarları açısından en önemli şey, sonuçların hızlı ve seri bir şekilde doktora ulaştırılmasıdır. Floresan antikor tekniği ile AGBHS'ların teşhisi doğru ve güvenilir bir teknik olarak görülmektedir. Basitrasin diski ile AGBHS'ların saf kültürlerden % 95 oranında doğru bir şekilde teşhis edildiği ileri sürülmektedir (Baron ve Gates, 1979). Günümüzde hala aglütinasyon ve koaglütinasyon reaktifleri ile yapılan sero gruplandırmanın, beta hemolitik streptokokların hızlı bir şekilde sınıflandırılması için geçerliliğini koruduğu bildirilmektedir (Kirby ve Ruoff, 1995).

Ülkemizde bu zamana kadar AGBHS'ların antibiyotik dirençleri ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen, türlerinin tespitine yönelik detaylı bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada akut tonsillofarenjit tanısı alan hastalardan mikrobiyoloji laboratuvarlarına gönderilen boğaz sürüntü materyallerinden izole edilen AGBHS'ların, API 20 Strep (Biomerieux) teşhis kiti ile patojen türlerinin belirlenmesi ve polikliniklerde sıklıkla kullanılan antibiyotiklere karşı direnç profilleri ve eritromisin direncinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. Materyal ve Metot

3.1. Suşların temin edilmesi ve API 20 Strep ile identifikasyonu

2008-2010 yılları arasında Konya ilindeki çeşitli hastanelerin klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında, ilgili polikliniklerdeki doktorlar tarafından akut tonsillofarenjit ön tanısı koyulan hastalardan laboratuvar sorumlusu teknisyen ve personel tarafından, boğaz kültürü için örnek alındı. Eküvyon ile alınan örnekler peptonlu suda bir saat ön inkübasyona tabi tutuldu. Ardından örneklerin % 5 koyun kanlı Mueller-Hinton Agar'a (Oxoid) ekimleri yapıldı. 18-24 saat arası bir süre ile 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda Beta-hemoliz oluşturan suşlardan tek koloni seçilerek tekrar % 5 koyun kanlı Mueller-Hinton Agar'a (MHA) pasajlandı. 24 saatlik inkübasyon süresinden sonra gelişen kolonilerden tek koloni seçilerek Gram boyama ve katalaz testi yapıldı (Eryılmaz ve ark., 2006; Gülhan ve ark., 2008). İzole edilen suşlar basitrasin ve sulfometaksazol-trimetoprim (SXT) (1.25 + 23.75 µg) duyarlılık özelliklerine göre gruplandırıldı. AGBHS'ların grup tayini ayrıca lateks (SLIDEX® Strepto Plus, Biomerieux) aglütinasyon testi ile yapıldı (Gülhan ve ark., 2008). Beta hemoliz gösteren, Gram pozitif, zincir şeklinde mikroskopik görünüme sahip ve basitrasine duyarlı STX'e dirençli bulunan, lateks aglütinasyon testi ile A grubu olarak gruplandırılan toplam 96 streptokok suşunun API 20 Strep Sistemi (Biomerieux, France) ile üretici firmanın önerisi doğrultusunda identifikasyonu yapıldı.

2.2. Streptokok suşlarının antibiyotik direncinin belirlenmesi

Boğaz kültürlerinden izole edilen AGBHS suşlarının antibiyotik dirençlilikleri % 5 koyun kanlı Mueller-Hinton besiyerinde, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI,

2008) kriterine uygun olarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle saptandı. Çalışmada “Bioanalyse” firmasının hazırlamış olduğu Penisilin G (P) (10 İ.Ü/disk), Eritromisin (E) (15 µg/disk), Sefotaksim (CTX) (30 µg/disk), Klaritromisin (CLR) (15 µg/disk), Vankomisin (VA) (30 µg/disk), Klindamisin (DA) (2), Seftriakson (CRO) (30 µg/disk), Ampisilin (AM) (10 µg/disk), Kloramfenikol (C) (30 µg/disk) ve Tetrasiklin (30 µg/disk) diskleri kullanıldı. Plaklar 18-24 saat 37°C’de inkübe edildi. Bu süre sonunda diskler etrafında oluşan zon çapları değerlendirilerek CLSI tanımlama önerilerine uygun olarak duyarlı ve dirençli olarak kaydedildi. Antibiyotik duyarlılık test kalite kontrolü *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 suşu ile yapıldı. Suşların direnç profilleri ve çoklu antibiyotik direnç indeksi (ÇAD) belirlendi (CLSI, 2008).

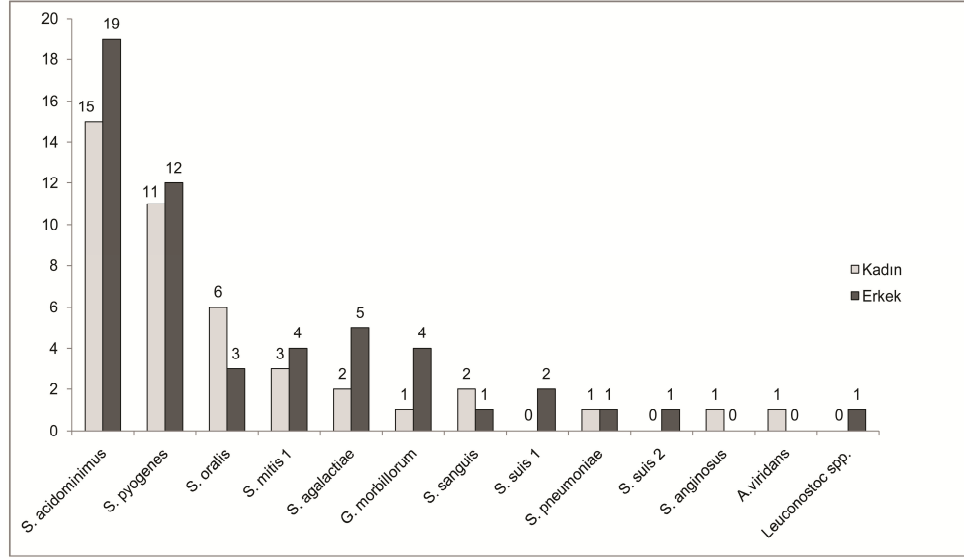
3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Çalışma periyodu boyunca çalışma kriterlerine uyan 221’i (% 59.24) erkek, 152’si (% 40.76) kadın olmak üzere toplam 373 hastadan alınan boğaz kültürü örneklerinin 96’sında (% 25.73) AGBHS izole edildi. Bu suşların 53’ü (% 55.28) erkek 43’ü (%54.72) bayan hastalardan elde edildi. API 20 Strep kiti ile yapılan identifikasyon çalışması sonuçları Tablo 1’de verildi. Çalışmada 82 suş (% 85.4) 37 °C’de 4 saatlik bir inkübasyondan sonra sınıflandırılırken, geri kalan 14 suş (% 14.5) 24 saat sonra sınıflandırılabilir.

Suşlar tür seviyesinde 13 farklı tür içerisinde dağılım gösterdi. Suşların 34’ü (% 35.41) *Streptococcus acidominimus*, 23’ü (% 23.95) *Streptococcus pyogenes*, ve 9’u (% 9.37) *Streptococcus oralis*, 7’şer suş *Streptococcus mitis 1* ve *Streptococcus agalactiae* olarak teşhis edildi. Diğer türlerin azalan farklı sayıdaki suşlarla temsil edildikleri görüldü (Tablo 1). Ayrıca hastalardan izole edilen AGBHS suşlarının cinsiyete göre dağılımları belirlendi (Şekil 1).

Tablo 1. API 20 Strep sistemi ile identifiye edilen 96 A grubu beta-hemolitik streptokok suşunun tür dağılımı, suş no. ve profilleri

No	Türler	Suş sayıları	Suş yüzdeleri	Suş no ve profilleri
1	<i>Streptococcus oralis</i>	9	% 9.37	1-3-8-20-30-32-35-44-70
2	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	% 2.08	2-74
3	<i>Streptococcus acidominimus</i>	34	% 35.41	4-6-9-10-12-16-19-23-26-27-34-48-49-53-55-60-62-63-64-66-76-77-79-81-83-84-85-86-90-91-92-93-94-96-
4	<i>Streptococcus anginosus</i>	1	% 1.04	5
5	<i>Streptococcus mitis 1</i>	7	% 7.29	7-14-18-38-43-45-54
6	<i>Streptococcus agalactiae</i>	7	% 7.29	11-22-25-28-29-31-57
7	<i>Leuconostoc spp.</i>	1	% 1.04	13
8	<i>Streptococcus sanguis</i>	3	% 3.12	15-21-24
9	<i>Streptococcus suis 1</i>	2	% 2.08	17-33
10	<i>Aerococcus viridans</i>	1	% 1.04	36
11	<i>Gemella morbillorum</i>	5	% 5.20	41-46-47-72-78
12	<i>Streptococcus pyogenes</i>	23	% 23.95	37-39-40-50-51-52-56-58-59-61-65-67-68-69-71-73-75-80-82-87-88-89-95
13	<i>Streptococcus suis 2</i>	1	% 1.04	42



Şekil 1. Cinsiyete göre AGBHS suşlarının dağılımı

Disk difüzyon yöntemi ile 96 suşun kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlılıkları belirlendi. Suşların en fazla dirençli olduğu antibiyotiğin tetrasiklin 14 (% 14.5) olduğu görüldü. Tetrasiklinin ardından sırasıyla ampicilin ve eritromisine dirençli 13'er suş (% 13.5); klaritromisine 10 suş (% 10.4); klindamisine 4 suş (% 4.1); seftriakson, sefotaksim, vankomisin, klaritromisine karşı 2'şer suş (% 2.08) belirlendi (Tablo 2). Suşlarının en fazla duyarlılık gösterdiği antibiyotiklerin ise sırasıyla vankomisin % 96.8, penisilin G ve sefotaksim % 89.5, seftriakson % 88.5 ve kloramfenikol % 86.4 olduğu tespit edildi (Tablo 2).

Tablo 2. A grubu beta-hemolitik streptokokların (AGBHS) kullanılan antibiyotiklere karşı belirlenen dirençli, orta duyarlı, duyarlı suş sayıları ve % oranları

ANTİBİYOTİK	R		I		S	
	n	%	n	%	n	%
TETRASİKLİN (TE)	14	%14.5	15	%15.6	67	%69.7
KLORAMFENİKOL (C)	2	%2.08	11	%11.4	83	%86.4
AMPİSİLİN (AMP)	13	%13.5	43	%44.7	40	%41.6
SEFTRİAKSON (CRO)	2	%2.08	9	%9.3	85	%88.5
KLİNDAMİSİN (DA)	4	%4.1	21	%21.8	71	%73.9
VANKOMİSİN (VA)	2	%2.08	1	%1.04	93	%96.8
KLARİTROMİSİN (CLR)	10	%10.4	7	%7.2	79	%82.2
SEFOTAKSİM (CTX)	2	%2.08	8	%8.3	86	%89.5
ERİTROMİSİN (E)	13	%13.5	10	%10.4	73	%76.04
PENİSİLİN G (P)	0	%0	10	%10.4	86	%89.5

R: Dirençli I: Orta dirençli S: Duyarlı

Antibiyotiklere karşı dirençli bulunan suşlar, sayıları ve ait oldukları türlerin dağılımı ve profilleri belirlendi. Tetrasiklin'e dirençli toplam 14 suşun 5'i *Streptococcus acidominimus*, 4'ü *Streptococcus mitis* 1, 4'ü *Streptococcus pyogenes* ve 1'inin *Streptococcus oralis* türü olduğu görüldü. 34 *Streptococcus acidominimus* suşununun 17'si (% 50) ve 23 *Streptococcus pyogenes*

suşunun 22'si (% 95.65) kullanılan antibiyotiklere dirençli bulundu (Tablo 3). Çalışmamızda incelenen suşlardan sadece bir tanesi *Streptococcus anginosus* olarak teşhis edildi ve kullanılan tüm antibiyotiklere karşı duyarlı bulundu (Tablo 3).

Tablo 3. A grubu beta-hemolitik streptokok (AGBHS) suşlarının kullanılan antibiyotiklere karşı belirlenen direnç ve tür profilleri

ANTİBİYOTİK	DİRENÇLİ SUŞ NUMARALARI	TÜR PROFİLLERİ
TETRASİKLİN (TE)	7-18-23-44-45-54-64-65-68-69-82-83-86-94	<i>S. mitis 1</i> → 7-18-45-54 <i>S. acidominimus</i> → 23-64-83-86-94 <i>S. oralis</i> → 44 <i>S. pyogenes</i> → 65-68-69-82
KLORAMFENİKOL (C)	30-91	<i>S.oralis</i> → 30 <i>S.acidominimus</i> → 91
AMPİSİLİN (AMP)	27-32-36-42-44-47-54-64-65-69-82-89-94	<i>S. oralis</i> → 33-44 <i>Aerococcus viridans</i> → 36 <i>S. acidominimus</i> → 64-94 <i>S. pyogenes</i> → 27-65-69-82-89- <i>S. suis 2</i> → 2-42 <i>Gemella morbillorum</i> → 47 <i>S. mitis 1</i> → 54
SEFTRİAKSON (CRO)	82-89	<i>S. pyogenes</i> → 82-89
KLİNDAMİSİN (DA)	9-36-37-89	<i>S. acidominimus</i> → 9 <i>Aerococcus viridans</i> → 36 <i>S. pyogenes</i> → 37-89
VANKOMİSİN (VA)	14-96	<i>S. mitis 1</i> → 14 <i>S. acidominimus</i> → 96
KLARİTROMİSİN (CLR)	21-22-42-43-54-64-73-75-79-94	<i>S. sanguis</i> → 21 <i>S. agalactiae</i> → 22 <i>S. suis 2</i> → 42 <i>S. mitis 1</i> → 43-54 <i>S. acidominimus</i> → 64-79-94 <i>S. pyogenes</i> → 73-75
SEFOTAKSİM (CTX)	82-89	<i>S. pyogenes</i> → 82-89
ERİTROMİSİN (E)	21-23-42-44-51-54-64-65-68-73-79-82-94	<i>S. sanguis</i> → 21 <i>S. acidominimus</i> → 23-64-79-94 <i>S. suis 2</i> → 42 <i>S. oralis</i> → 44 <i>S. pyogenes</i> → 51-65-68-73-82 <i>S. mitis 1</i> → 54

AGBHS suşlarının direnç profili ve çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksleri belirlendi (Tablo 4). Elde edilen verilere göre dirençli suşlar arasında birbirinden farklı 16 direnç profili gözlemlendi. Bunlar içerisinde en yaygın profilin 5 suшта görülen (7, 18, 45, 83, 86) ve sadece tetrasikline direncin gözlemlendiği profil olduğu; ikinci sırada ise 4 suшта (54, 64, 65, 94) görülen tetrasiklin, ampisilin, eritromisin ve klaritromisine karşı gözlenen direnç profili olduğu belirlendi. ÇAD indekslerine bakıldığında 42, 44, 54, 64, 65, 94, 89 ve 82 nolu suşların 0.2 değerinden daha yüksek bir ÇAD indeksine sahip olduğu tespit edildi (Tablo 4).

Tablo 4. AGBHS suşlarına ait direnç profilleri, suş sayıları ve çoklu antibiyotik direnç (ÇAD) indeksi

Antibiyotik direnç profili *	Suş sayısı	Suş no	ÇAD indeksi
TE	5	7, 18, 45, 83, 86	0.1
C	2	30, 91,	0.1
AMP	3	27, 32, 47	0.1
DA	2	9, 37	0.1
VA	2	14, 96	0.1
CLR	3	22, 43,75	0.1
E	2	51,79	0.1
TE,E	2	23, 68	0.2
TE, AMP	1	69	0.2
AMP,DA	1	36	0.2
CLR,E	2	21, 73	0.2
AMP,CLR,E	1	42	0.3
TE,AMP,E	1	44	0.3
TE,AMP,E,CLR	4	54, 64, 65, 94	0.4
AMP,CRO,DA,CTX	1	89	0.4
TE,AMP,CRO,CTX,E	1	82	0.5

* Antibiyotik kısaltmalarının açılımı için Tablo 3'e bakınız

Çocuklarda görülen akut tonsillofarenjit olgularının bakteriyel kaynaklı olmasının yanı sıra büyük bölümünün viral etkenler tarafından oluşturulduğu bilinmektedir. Bu nedenle AGBHS'lara bağlı tonsillofarenjit olgularının doğru tanınması ve uygun tedavi verilmesi süpüratif ve non süpüratif komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir (Tayman ve ark., 2011). Bu çalışmada tonsillofarenjit bulguları ile başvuran 373 hastada % 25.73 oranında AGBHS belirlendi. AGBHS'lara bağlı tonsillofarenjit olguları değişik ülkelerde değişik insidanslarda (%16.9) (Kim ve Lee, 2004) bulunmakla birlikte, ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda insidansı % 55 (Demirel ve ark., 2001), % 78 (Öztop ve ark., 2000), % 50.6 (Cavit ve ark., 1997), % 15 (Övet ve ark., 2009) olarak bulunmuştur. Bu değerlerin farklılıklar oluşturmasının nedeni bakteri izolasyonunun bölge, mevsim ve yaş grubu gibi etkenlere bağlı olarak değişmesinin olabileceği bildirilmiştir (Tayman ve ark., 2011).

Streptokok enfeksiyonlarının yaygın olarak tekrarlanmasındaki artışlar nedeniyle bu gruptaki mikroorganizmaların kültüre alınması ve teşhisinde doğru ve duyarlılığı yüksek yöntemlere ihtiyaç olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda 96 AGBHS suşu boğaz kültürlerinden izole edilmiş ve API 20 Strep identifikasyon kiti ile türleri belirlenmiştir. Çalışma sonunda, çalışma periyodu boyunca belirlenen boğaz enfeksiyonlarından birinci sırada *S. acidominimus* (34), ikinci sırada *S. pyogenes* (23) ve üçüncü sırada ise *S. oralis* (9) suşunun sorumlu olduğu belirlendi. Mevcut enfeksiyon ajanlarının 13 tür içerisinde dağılım gösterdiği tespit edildi. API 20 Strep ile yapılan identifikasyon çalışması yüksek oranda doğruluk göstermiş ve suşların büyük çoğunluğu yüksek teşhis yüzdesi ile tanımlanmıştır. Kulwichit ve ark. (2007), Gram pozitif bakterilerin identifikasyonunda kullanılan ticari kitlerin çoğunlukla tür seviyesinde hatalı sonuçlar verdiklerine dair bilgilerin açıklandığını ve hali hazırda geçerli API sistemleri ile *Leuconostoc*'un doğru bir

şekilde sınıflandırılmadığını belirtmişlerdir. Buna rağmen çalışmamızda API 20 Strep kiti AGBHS'ların yüksek oranda teşhisi ile güvenilir olarak bulunmuştur. Hafner (1986), API 20 Strep sisteminin viridan streptokok türlerinin identifikasyonu için doğru yöntem olduğunun kanıtlandığını, ek olarak uygulanan testler ve profil indeksi ile identifikasyon oranının % 84 olarak belirlendiğini açıklamıştır. Poutrel ve Ryniewicz (1984), mastitisli ineklerden izole ettikleri streptokokları API 20 Strep sistemi ile % 71.4 oranında sınıflandırdıklarını açıklamışlardır. Çalışmamızda 82 suş (% 85.4) 37 °C'de 4 saatlik bir inkübasyondan sonra sınıflandırılırken, diğer 14 suş (% 14.5) 24 saat sonra sınıflandırılmıştır. Bulgularımız Hafner (1986)'in sonuçlarını desteklemektedir. Başka bir çalışmada Gomes ve ark. (2007), Brezilya'da gıda maddelerinden izole edilmiş olan 50 *Enterococcus* spp. bakteri suşlarını tür seviyesinde belirlemek amacı ile uygulanan API 20 Strep ve Multiplex PCR sonuçlarını değerlendirmiş, suşların % 78.9'u testler arasında farklı sonuçlar göstermiş ve suşların identifikasyonlarının yapılmasında PCR Multiplex, API 20 Strep'den daha etkili bulunmuştur. Odierno ve ark. (2006), mastitisli ineklerden izole edilen *Streptococcus uberis* suşlarının geleneksel yöntem, API 20 Strep sistemi ve 16S rDNA RFLP yöntemleri ile % 94 oranında sınıflandırılmışlardır.

Farklı ülke ve tarihlerde çeşitli mikroorganizmaların API 20 Strep sistemi ile identifikasyonlarının güvenilirliği, cins veya tür seviyesindeki doğruluk yüzdesine bakıldığında, *Leuconostoc* spp., *Enterococcus* spp., *Listeria* spp. sokak suşlarının sınıflandırılmasında yüksek oranda yanlış sınıflandırmalara neden olduğu, buna karşılık viridan streptokok türleri ile farklı kaynaklardan izole edilen çeşitli streptokok suşlarının API 20 Strep sistemi ile daha yüksek oranda teşhis edildikleri görülmektedir (Poutrel ve Ryniewicz, 1984; Hafner 1986; Odierno ve ark., 2006; Kulwichit ve ark., 2007; Gomes ve ark., 2007). Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar bu bilgiyi doğrulamaktadır.

Bakterilerin birçok antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi enfeksiyon hastalıklarının başarılı tedavisinde zorluklar oluşturmaktadır. Daha önceleri *Streptococcus pyogenes*'lerin makrolit direnci daha az olmasına rağmen son zamanlarda birçok ülkede makrolitlere *Streptococcus pyogenes* direncini arttığı bildirilmektedir (Tayman ve ark., 2011). *Streptococcus pyogenes*'in makrolit direnci ile ilgili yapılan çalışmalarda makrolitlerin kullanımının artmasına paralel olarak bakterinin antibiyotiğe direncinin yıllar içinde arttığı izlenmiştir (Cizman ve ark., 2001). Ülkemizde yapılan bir çalışmada zaman içinde makrolit direncin arttığı ve bu artışta fenotipik farklılaşmanın da katkısı olduğu belirtilmiştir (Acıkgoz ve ark., 2003). 2006 yılında ise makrolit direncinin % 6.8 olduğu bildirilmiştir (Colakoglu ve ark., 2006). Başka bir çalışmada çocuklarda faranjit olgularında *S. pyogenes* makrolit direncinin % 95 gibi yüksek oranda olduğu ve bu antibiyotiklerin aşırı kullanımının bu sonuca neden olduğu rapor edilmiştir (Liu ve ark., 2009). Çocuklarda bakterinin değişik makrolit antibiyotiklere olan direnci ile ilgili bir diğer çalışmada azitromisin direnci % 14.9 olarak belirlenmiştir (Michos ve ark., 2009). Çalışmamızda A grubu beta-hemolitik streptokok suşlarında sırası ile tetrasikline % 14.5, ampisiline ve eritromisine % 13.5, klaritromisine % 10.4 oranında direnç görülmüştür. Lloyd ve ark. (2007), AGBHS'lar arasında en yüksek direncin tetrasikline (% 27.4) ve eritromisine (% 16.2) karşı gözlendiğini ve eritromisin, tetrasiklin, klindamisin, kloramfenikol ve kinolonlara karşı görülen direncin arttığını tespit etmişlerdir. Eryılmaz ve ark.(2006), 110 A grubu beta-hemolitik streptokok suşunun tümünü penisiline duyarlı bulurken, eritromisine % 3.6, klindamisine % 2.7, tetrasikline % 7.3 ve kloramfenikole % 0.9 oranında dirençli bulmuşlardır. Gülhan ve ark. (2008), 75 adet A grubu beta-hemolitik streptokok suşunun tümünü penisiline duyarlı bulmuş, eritromisine karşı % 8 oranında direnç tespit etmişlerdir. Öztop ve ark. (2000), A grubu beta-hemolitik streptokok suşlarını penisilin, sefalozin, sefotaksim, ve eritromisine duyarlı bulmuşlardır. Çalışmamızda eritromisine karşı görülen % 13.5 direnç oranı Lloyd ve ark. (2007) belirlediği % 16.2'den küçük, diğer araştırmacıların belirlediği dirençten daha yüksek bulunmuştur. Romanya, Polonya, Çek Cumhuriyeti, Macaristan ve Baltık ülkelerinden yapılan diğer bir çalışmada, grup A streptokokların makrolid direncinin % 16'ya kadar yükseldiği tespit edilmiştir (Gracia ve ark., 2009). Jain ve ark. (2008) yaptığı çalışmada Hindistan'da çocuklardan izole edilen AGBHS'ların tetrasikline % 24.4

ve eritromisine karşı % 10.2 oranında direnç gösterdiklerini belirlemişlerdir. Aynı dönemlerde eritromisine karşı direncin Finlandiya, İsveç ve Japonya'da % 1.3-5 arasında ve bazı salgınlarda % 45'e çıktığı, sporadik olarak ise Avustralya'da % 17, İngiltere'de % 22.8 ve İtalya'da % 40 oranında olduğu bildirilmiştir (Jain ve ark., 2008). Zhou ve ark. (2014) Çin'de yaptıkları araştırmada AGBHS suşlarının tetrasiklin, klindamisin ve eritromisin direncini % 98.4 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar çocuk hastanelerinde yaptıkları araştırmalara göre tespit ettikleri sonuçların Avrupa'da, Amerika'da, İtalya'da belirlenen sonuçlardan çok yüksek olduğunu; 2008 de Şangay ve Pekin'de belirlenen % 97.9 oranlarına ise benzer olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmamızda suşlar arasında 16 farklı direnç profili gözlenmiştir (Tablo 4). Elde edilen verilere göre 8 suşun ÇAD indeks değerleri 0.2'den büyük bulunmuştur. Krumperman (1983)'a göre, 0.2 değerinden daha yüksek bir indeks değerine sahip olan suşların, direnç gösterdikleri antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı bir bölgeden geldikleri savunulmaktadır. Bu durumda 42, 44, 54,64,65,94, 89 ve 82 nolu suşların genel olarak AMP, CLR, E, TE, CRO, DA, CTX antibiyotiklerinin yoğun kullanıldığı bölgelerden köken aldığı düşünülmüştür.

Çalışmamız sonucunda AGBHS suşlarının tetrasiklin ve eritromisin dirençlerinin % 13.5 olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan birçok çalışmaya göre bu oranın yüksek bulunmasına rağmen diğer dünya ülkelerinde belirlenen makrolid direnci çok daha yüksektir. A grubu beta-hemolitik streptokok suşları arasında penisiline karşı direnç kaydına çalışmamızda da rastlanmamıştır. AGBHS suşlarının neden olduğu enfeksiyonlarda hızlı ve doğru tanı ve uygun antibiyotik seçimi önem arz etmektedir. Bu çalışmada API 20 Strep yüksek doğrulukta identifikasyon yüzdeleri ile başarılı bulunmuştur. Antibiyogram sonuçları ile ülkemizde bu dönemde tonsillofarenjit etkeni olan A grubu beta-hemolitik streptokoklarda, önceki yıllardakine göre makrolid direnci yüksek bulunmuştur. Bu oranın şimdilik sorun olmadığı fakat aralıklı olarak ülke genelinde izlenmesi gerektiği düşünülmüştür.

Teşekkür

Bu çalışmayı 07201045 (BAP) no'lu projeye destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (BAP)'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Acikgoz ZC, Gocer S, Tuncer S (2003). Macrolide resistance determinants of group A streptococci in Ankara, Turkey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **52(1)**: 110-2.
- Baron EJ, Gates JW (1979). Primary plate identification of group A beta-hemolytic streptococci utilizing a two-disk technique. *Journal of Clinical Microbiology* **10(1)**: 80-84.
- Cavit Ö, Toksoy HB, Bakıcı MZ (1997). Çocukluk çağı farenjitlerinde beta-hemolitik streptokok gruplarının yeri ve streptokok farenjitlerinin tedavisinde penisilin G ile sefuroksim aksetilin karşılaştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* **31(3)**: 237-40.
- Christensen P, Danielsson D, Hovelius B, Kjellander J (1982). Preliminary identification of beta-hemolytic streptococci in throat swab cultures with a commercial blood agar slide (Streptocult). *Journal of Clinical Microbiology* **15(6)**: 981-983.
- Cizman M, Pokorn M, Seme K, Orazem A, Paragi M (2001). The relationship between trends in macrolide use and resistance to macrolides of common respiratory pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **47(4)**: 475-477.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2008). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eighteenth informational supplement. *CLSI document M100-S18*, Wayne, PA. pp: 34-38.
- Colakoglu S, Alacam R, Hascelik G (2006). Prevalence and mechanism of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* in Ankara, Turkey. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* **38(6-7)**: 456-459.
- Demirel M, Tosun SY, Gündüz T, Aksu S (2001). Çocuklarda yapılan boğaz kültürlerinde A grubu Beta hemolitik streptokok sıklığı ve antibiyotik duyarlılığı. *ANKEM Dergisi* **15(4)**: 744-47.
- Eryılmaz M, Akin A, Akan ÖA (2006). Boğaz kültürlerinden izole edilen A grubu beta-hemolitik streptokokların antibiyotik duyarlılıkları. *ANKEM Dergisi* **20(1)**: 10-12.

- Gerber MA (2008). Group A Streptococcus. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF(eds). *Nelson Textbook Of Pediatrics.*, 18th ed. Elsevier, Philadelphia: Saunders), pp: 1135-45.
- Gomes BC, Esteves CT, Palazzo ICV, Darini ALC, Franca BDGM, Martinis ECP (2007). Correlation between API 20 Strep and multiplex PCR for identification of Enterococcus spp. isolated from Brazilian foods. *Brazilian Journal of Microbiology* **38**: 617-619.
- Gracia M, Díaz C, Coronel P, Gimeno M, García-Rodas R, Rodríguez-Cerrato V, del Prado G, Huelves L, Ruiz V, Naves PF, Ponte MC, Granizo JJ, Soriano F. (2009). Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pyogenes* in Central, Eastern, and Baltic European Countries, 2005 to 2006: the cefditoren surveillance program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **64**: 52-56
- Gülhan B, Meşe S, Bilek H, Onur A, Nergis Ş, Gül K (2008). Boğaz kültürlerinden izole edilen A grubu beta - hemolitik streptokokların penisilin ve eritromisin'e karşı duyarlılıkları. *Dicle Tıp Dergisi* **35(1)**: 34-37.
- Hafner RG (1986). Evolution of the API 20 Strep system for species identification of viridans streptococci from blood cultures. *Experientia* **42(1)**: 103.
- Jain A, Shukla VK, Tiwari V, Kumar R (2008). Antibiotic resistance pattern of group-a beta-hemolytic streptococci isolated from north Indian children. *Indian Journal of Medical Sciences* **62**: 392-396.
- Kim S, Lee NY (2004). Epidemiology and antibiotic resistance of group A streptococci isolated from healthy schoolchildren in Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; **54(2)**: 447-50.
- Kirby R, Ruoff KL (1995). Cost-effective, clinically relevant method for rapid identification of beta-hemolytic streptococci and enterococci. *Journal of Clinical Microbiology* **33(5)**: 1154-1157.
- Krumperman PH (1983). Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology* **46**: 165-170.
- Kulwichit W, Nilgate S, Chatsuwat T, Krajiw S., Unhasutri C, Chongthaleong A (2007). Accuracies of leuconostoc phenotypic identification: a comparison of API systems and conventional phenotypic assays. *BMC Infectious Disease* **7(69)**: 1-8.
- Liu X, Shen X, Chang H, Huang G, Fu Z, Zheng Y, Wang L, Li C, Liu L, Shen Y, Yang Y (2009). High macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* strains isolated from children with pharyngitis in China. *Pediatric Pulmonology* **44(5)**: 436-441.
- Lloyd, CA, Jacob SE, Menon T. Antibiotic resistant beta-hemolytic streptococci. *Indian Journal of Pediatrics* **74(12)**: 1077-1080.
- Michos AG, Bakoula CG, Braoudaki M, Koutouzi FI, Roma ES, Pangalis A, Nikolopoulou G, Kirikou E, Syriopoulou VP (2009). Macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes*: prevalence, resistance determinants, and emm types. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **64(3)**: 295-299.
- Odierna L, Calvino L, Traversa P, Lassagno M, Boggi C, Reinoso E (2006). Conventional identification of *Streptococcus uberis* isolated from bovine mastitis in Argentinean dairy herds. *Journal of Dairy Science* **89**: 3886-3890.
- Övet G, Balcı YI, Polat Y, Ersoy E, Çövt İE (2009). Akut tonsillofaranjit tanısı olarak antibiyotik başlanan hastaların ne kadarında a grubu beta hemolitik streptokok sorumludur? *Tıp Araştırmaları Dergisi* **7(3)**: 122-5.
- Öztop AY, Şanlıdağ T, Erandaç M (2000). Üst solunum yolu enfeksiyonlu çocuklarda izole edilen beta hemolitik streptokokların gruplandırılması ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* **30(2)**: 73-76.
- Poutrel B, Ryniewicz HZ (1984). Evaluation of the API 20 Strep system for species identification of streptococci isolated from bovine mastitis. *Journal of Clinical Microbiology* **19(2)**: 213-214.
- Tayman C, Tonbul A, Soylu GG, Akça H, Çatal F (2011). Tonsillofaranjitli çocuklardan izole edilen A grubu beta-hemolitik streptokokların sık kullanılan antibiyotiklere karşı direnci. *Dicle Tıp Dergisi* **38(3)**: 305-308.
- Topkaya AE, Balıkcı A, Aydın F, Haşcelik G, Kayman T, Kesli R, Aydemir Ş, Akyar I, Gökalp A, Dündar G, Gürler N, Perçin D, Fındık D, Avunduk H, Bayraktar B (2014). Türkiye'de invazif streptokok enfeksiyonlarının epidemiyolojisi, klinik ve mikrobiyolojik özellikleri, 2010-2011. *Mikrobiyoloji Bülteni* **48(1)**: 1-13.
- Yazgan Z, Aktürk Z, Akın M, Atay E (2001). Asemptomatik çocuklarda boğaz örneklerinden izole edilen hemolitik streptokoklarda antibiyotik direncinin araştırılması. *Türk Pediatri Arsivi* **36(2)**: 102-105.
- Zhou W, Jiang YM, Wang HJ, Kuang LH, Hu ZQ, Shi H, Shu M, Wa CM (2014). Erythromycin-resistant genes in group A β -haemolytic *Streptococci* in Chengdu, Southwestern China. *Indian Journal of Medical Microbiology* **32**: 290-3.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL DERGİLER KOORDİNATÖRLÜĞÜ
SELÇUK UNIVERSITY
COORDINATION UNIT OF SCIENTIFIC JOURNALS
© 2014 Reproduction is free for scientific studies