

A GRUBU BETA-HEMOLİTİK STREPTOKOKLARDA ANTİBİYOTİK DİRENCİ VE MAKROLİD DİRENÇ FENOTİPİNİN SAPTANMASI*

Hatice ERDOĞAN, Betigül ÖNGEN, Lütfiye ÖKSÜZ, Nezahat GÜRLER, Kurtuluş TÖRECI

ÖZET

A grubu beta-hemolitik streptokoklarda (AGBHS) bugüne kadar penisilin direnci doğrulanmış bir suş bildirilmemesine rağmen gittikçe artan oranda eritromisin direnci bildirilmektedir. Çalışmamızda çocuk hastaların boğaz salgılarından izole edilen 121 AGBHS suşunda penisilin, klindamisin, eritromisin, klaritromisin ve azitromisin direnci disk difüzyonla araştırılmış, penisilin duyarlılığı için agar dilüsyon yöntemi ile MIC değeri bakılmıştır. Ayrıca suşların makrolid direnç fenotipi belirlenmiştir. Penisilin ve klindamisine dirençli suşa rastlanmamıştır. Penisilin için MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri 0.015 µg/ml olarak saptanmıştır. Suşların 7 (% 5.8)'si eritromisine, 5 (% 3.3)'i azitromisine dirençli bulunmuştur. Eritromisine dirençli bulunan 7 suşun 5 (% 71)'i M fenotipi, 2 (% 29)'si induklenebilir tipte MLS_B fenotipi olarak belirlenmiş, konstitütif tipte MLS_B fenotipine rastlanmamıştır.

Anahtar sözcükler: S.pyogenes, makrolid direnci

SUMMARY

Antibiotic resistance and phenotypes of macrolide resistance in Streptococcus pyogenes.

Penicillin resistance in *Streptococcus pyogenes* has not been reported until now. However the development of erythromycin resistance has been gradually improved. In this study resistance to penicillin, erythromycin, clindamycin, clarithromycin and azithromycin of 121 *S.pyogenes* strains isolated from the throats of children with symptoms of pharyngitis were studied by disk diffusion method. MIC values of penicillin G were tested by agar dilution method. The macrolid resistance phenotypes of *S.pyogenes* were also investigated. The resistance to penicillin and clindamycin was not found among *S.pyogenes* strains. MIC₅₀ and MIC₉₀ values for penicillin G were detected as 0.015 µg/ml.

Our results showed that 7 (5.8 %) isolates of *S.pyogenes* were resistant to erythromycin, 4 (3.3 %) isolates to azythromycin and 5 (4.1 %) isolates to clarithromycin among 121 *S.pyogenes*. According to the results of the double disk test 5 (71 %) of 7 erythromycin resistant isolates were detected as M resistance phenotype and 2 (29 %) as inducible MLS_B resistance phenotype. Constitutive MLS_B resistance phenotype was not found.

Key words: S.pyogenes, macrolid resistance

GİRİŞ

Bakteriyel tonsillit ve farinjit olgularının % 90'ından fazlasında etken A grubu beta-hemolitik streptokoklar (AGBHS)'dir. Bu enfeksiyonların erken tedavisi morbiditeyi azaltmakla birlikte esas önemli olan akut glomerulonefrit ve akut romatizmal ateş gibi ciddi komplikasyonlarını önlemektir (3,8,10).

Günümüzde AGBHS'nin neden olduğu faringeal enfeksiyonun ve diğer birçok enfeksiyonun tedavisinde önerilen primer ilaç penisilindir. Penisiline allerjik hastalarda eritromisin veya yeni makrolidlerden biri seçilmektedir. Kronik ve rekürren farinjit olgularında klindamisin de önerilmektedir (5,10,23).

Bugüne kadar yapılan yayınlarda in-vitro penisilin direncine rastlanmamıştır. Eritromisine ve diğer makrolid grubu antibiyotiklere karşı direnç ise son yıllarda artış göstermektedir. Eritromisin direnci farklı mekanizmalarla geliş-

bilmektedir (9,15,22,23). Bakteride *erm* geni tarafından kodlanan metil transferazın ribozomal bağlanma bölgesinde sağladığı değişiklikle makrolid, linkozamid ve streptogramin_B grubu antibiyotiklerin hedefe bağlanması engellenir (MLS_B fenotipi). MLS_B tipi direnç, in-vitro deneylerde eritromisin ve klindamisine direncin saptandığı konstitütif tipte olabilir ve bu direnç induklenebilmektedir. Ayrıca bakteride *mef-A* geninin kodladığı bir membran proteini ile 14-15 üyeli makrolidler hücre dışına pompalanabilmekte (M fenotipi) ve bu mekanizma ile gelişen dirençte linkozamid ve streptograminler etkilenmemektedir (5,20,23).

Bu çalışmada AGBHS suşlarının penisilin, klindamisin ve makrolid grubu antibiyotiklere direnç oranları ve makrolid direnç fenotipleri araştırılmıştır.

* 15. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi'nde sunulmuştur (5-10 Haziran 2000 Antalya).

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda çocuk hastaların boğaz salgılarından izole edilen 121 AGBHS suşunda penisilin, klindamisin, eritromisin, klaritromisin ve azitromisin direnci araştırılmış ve ayrıca suşların makrolid direnç fenotipi belirlenmiştir. Direnç araştırmasında NCCLS standartlarına uyularak disk difüzyon yöntemi kullanılmış ve bu yöntemle dirençli ve orta duyarlı bulunan suşların direnci E-test yöntemi ile MIC belirlenerek doğrulanmıştır (17). Penisilin duyarlılığı için NCCLS'in önerdiği şekilde agar dilüsyon yöntemi uygulanarak MIC değerleri belirlenmiştir.

Direnç fenotipinin belirlenebilmesi için eritromisin (15 µg) ve klindamisin (2 µg) diskleri merkezler arası 12 mm olacak şekilde % 5 koyun kanlı MH agara yerleştirilmiştir. Klindamisin inhibisyon zonunun eritromisin diski yönünde kesintiye uğraması indüklenebilir tip direnci ve eritromisin ve klindamisin her ikisinde de görülen direnç konstitütif tip direnci, klindamisin duyarlılığı ile birlikte, klindamisin inhibisyon zonunun eritromisin diski yönünde bir kesinti göstermemesi M fenotipi direnci göstermiştir (21). Deneylerde kontrol suş olarak *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda penisiline ve klindamisine dirençli suşa rastlanmamıştır. Penisilin için MIC aralığı 0.001-0.125, MIC₅₀ ve MIC₉₀ değerleri ise 0.015 µg/ml olarak bulunmuştur. Suşların 7 (% 5.8)'si eritromisine, 5 (% 4.1)'i klaritromi-

sine, 4 (% 3.3)'ü azitromisine dirençli bulunmuştur. Eritromisine dirençli bulunan 7 suşun 5 (% 71)'i M fenotipi, 2 (% 29)'si indüklenebilir tipte MLS_B fenotipi olarak belirlenmiş, konstitütif tipte MLS_B fenotipine rastlanmamıştır.

TARTIŞMA

AGBHS'in tedavisinde ilk seçenek olan penisilin ile klinik başarısızlık görülen olgular bildirilmişse de bugüne kadar penisiline in-vitro direnç saptanmamıştır. Penisiline alternatif olarak kullanılan eritromisine, diğer makrolid grubu antibiyotiklere ve klindamisine karşı ise çeşitli oranlarda direnç bildirilmektedir. Antibiyotik direncinin giderek arttığı toplumlarda MIC değerinin belirlenmesi ve direncin takipte tutulması önemlidir. Türkiye'de ve dünyada alınan sonuçlar bugüne kadar AGBHS'da penisilin MIC değerinde önemli değişme olmadığı yönündedir. Türkiye'de 1982-1985 ve 1994 yıllarına ait AGBHS suşları ile yapılan bir çalışmada MIC₉₀ 0.015 µg/ml, MIC₅₀ 0.08 µg/ml olarak, 1982-1992 yıllarına ait ABD'de yapılan bir çalışmada MIC₉₀ 0.012 µg/ml, 1996-1997 yıllarında İspanya'da yapılan bir diğer çalışmada ise MIC₅₀₋₉₀ 0.015 µg/ml olarak ve sonuçlarımıza benzer bulunmuştur (4,14,19).

Eritromisine duyarlılık ise; dünyanın değişik bölgelerinde zaman kesitlerine göre değişiklik göstermektedir. Eritromisine dirençli AGBHS'in oranı bazı bölgelerde % 1-2 veya daha az iken, bazı Avrupa ülkelerinde % 10'un üzerinde bulunmakta, Taiwan ve Japonya'da % 50'lere çıkmaktadır (2,6,11,16).

Türkiye'de de AGBHS'da değişen oranlarda makrolid direnci bildirilmektedir. 1990-2000 yılları arasında ülkemizin farklı bölgelerinde yapılan bazı çalışmalara ait sonuçlar incelendiğinde eritromisin direncinin % 2.8-4.2 gibi değişen oranlarda seyrettiği ve diğer makrolidlere karşı ise daha düşük oranlarda direnç saptandığı görülmüştür (13,24,25). Çalışmamızda eritromisin direnci % 5.8 olarak saptanmıştır.

Dünyanın farklı bölgelerinden izole edilen eritromisine dirençli AGBHS'in direnç fenotipleri bölgelere göre farklılık göstermektedir. Finlandiya'da 1990'lı yıllara ait bir çalışmada 552 eritromisine dirençli suşun 332 (% 60)'si indüklenebilir tipte MLS_B fenotipi, 11 (% 2)'i konstitütif tip ve 209 (% 39)'u klindamisin diski etrafında, eritromisin diski yönünde kesintili zon göstermeyen ve daha sonraki yıllarda M fenotipi olarak tanımlanan direnç fenotipi olarak bildirilmiştir (21). İspanya'da 1996-1997 yıllarında izole edilen 40 eritromisin dirençli suşun 36 (% 90)'sı M fenotipi ve MLS_B fenotipi olarak tanımlanan 4 (% 10) suşun ikisinin indüklenebilir, ikisinin konstitütif tip dirençli olduğu bildirilmiştir (19). 1998-2001 yılları arasında İspanya'da yapılan başka bir çalışmada da eritromisine dirençli suşların % 98.7'si M fenotipinde bulunmuştur (1). İsveç'de de eritromisine dirençli suşların 1980-1985'de % 82'si, 1986-1988'de % 50'si M fenotipinde bulunmuştur (12). Kanada'da ise 1971-1972 yıllarına ait 145 eritromisine dirençli suşa M fenotipi bulunmazken, 1997 yılına ait 3205 AGBHS suşunda % 2.1 eritromisin direnci saptanmış ve dirençli suşların % 70'i M fenotipinde bulunmuştur. Kanada'da kısa zamanda gelişen bu tip direncin AGBHS'da olduğu gibi *S.pneumoniae* suşlarında da görüldüğü bildirilmektedir (2). Şili'de 1990-1998 yıllarında 594 *S.pyogenes* suşunun 32'sinde (% 5.4) makrolid direnci, 28'inde (% 87.5) M fenotipi, 4'ünde (% 12.5) MLS_B fenotipi saptanmıştır (18). 1995-2001 yılları arasında Bulgaristan'da ise % 2.1 eritromisin direnci ve % 57.7 indüklenebilir MLS_B fenotipi, % 7.7 konstitütif tip MLS_B fenotipi ve % 34.6 M fenotipi bulunmuştur (7).

Ülkemizde makrolid direnç fenotipini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır. Sonuçlarımıza göre eritromisine dirençli bulunan 7 suşun 5 (%71)'i M fenotipi, 2 (%29)'si indüklenebilir tipte MLS_B fenotipi göstermiştir. Ancak ülke veya bölge genelinde makrolid direnç fenotipinin belirlenebilmesi farklı bölgelerden, çok sayıda suşla yapılacak çalışmalar ile müm-

kün olacaktır.

Direncin yüksek olduğu bölgelerde yapılan çalışmalarda, makrolid kullanımının kısıtlanması ile direncin azaldığı bildirilmektedir. Bu nedenle AGBHS'da makrolid direncinin takibi önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- 1- Alos JJ, Aracil B, Oteo J, Gomez-Garces JL: Significant increase in the prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin and miocamycin-susceptible (M phenotype) Streptococcus pyogenes in Spain, *J Antimicrob Chemother* 51:333 (2003).
- 2- Azavedo JCS, 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* 43:2144 (1999).
- 3- Baron JE, Peterson RL, Finegold MS: Microorganisms encountered in the respiratory tract, "Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 9th baskı" kitabında s. 219, Mosby Co., St. Louis (1994).
- 4- Berkiten R, Bal Ç, Altun B: On üç yıllık bir sürede A grubu streptokoklar için penisilin G ve eritromisinin MİK değerlerindeki değişimler, *ANKEM Derg* 10:367 (1996).
- 5- Carbon C, Rubinstein E: Macrolides, lincosamides and streptogramins, "Armstrong D, Chon J (eds): Infectious Diseases" 7:6, Mosby Co., Barcelona (1999).
- 6- Cornaglia G, Ligozzi M, Annarita L et al: Resistance of Streptococcus pyogenes to erythromycin and related antibiotics in Italy, *Clin Infect Dis* 27:87 (1998)
- 7- Detcheva A, Facklam RR, Beall B: Erythromycin-resistant group A streptococcal isolates recovered in Sofia, Bulgaria, from 1995 to 2001, *J Clin Microbiol* 40:3831 (2002).
- 8- Efstratiou A: Group A streptococci in the 1990s, *J Antimicrob Chemother* 45:3 (2000).
- 9- Giovanetti E, Prenna M, Repetto A, Biavasco F, Romagnoli M, Ripa S, Varolda EP: Susceptibility of Streptococcus pyogenes from throat cultures to macrolide antibiotics and influence of collection criteria, *Clin Microbiol Infect* 3:58 (1997).
- 10- Gwaltney JM, Bisno AL: Pharyngitis, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th baskı" kitabında s. 656, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
- 11- Hsueh P, Chen H, Huang A, Wu J: Decreased activity of erythromycin against Streptococcus pyogenes in Taiwan, *Antimicrob Agents Chemother* 39:2239 (1995).
- 12- Jasir A, Schalen C: Survey of macrolide resistance phenotypes in Swedish clinical isolates of Streptococcus pyogenes, *J Antimicrob Chemother* 41:135 (1998).
- 13- Kansak N, Öksüz L, Kaygusuz A, Öngen B, Töreci K: H.influenzae, Moraxella catarrhalis, S.pyogenes ve S.pneumoniae suşlarında antibiyotik direnci, *ANKEM Derg* 12:1 (1998).
- 14- Kaplan LE: Recent evaluation of antimicrobial resistance in β -hemolytic streptococci, *Clin Infect Dis* 24:89 (1997).
- 15- Liassine N, Gervais A, Hegi R, Strautman G, Suter S, Auckenthaler R: Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens in the oropharynx of healthy children, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18:217 (1999).
- 16- Maruyama S, Yoshioka H, Fujita K, Takimoto M, Satake Y: Sensitivity of group A streptococci to antibiotics. Prevalence of resistance to erythromycin in Japan, *Am J Dis Child* 133:1143 (1979).
- 17- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 11th Informational Supplement, M100-S11, NCCLS, Wayne (2001).
- 18- Palavecino EL, Riedel I, Berrios X, Bajaksouzian S, Johnson D, Kaplan E, Jacobs MR: Prevalence and mechanisms of macrolide resistance in Streptococcus pyogenes in Santiago, Chile, *Antimicrob Agents Chemother* 45:339 (2001).
- 19- Portillo A, Lantero M, Gastanares MJ, Ruiz-Larrea F, Torres C: Macrolide resistance phenotypes and mechanisms of resistance in Streptococcus pyogenes in La Rioja, Spain, *Int J Antimicrob Agents* 13:137 (1999).
- 20- Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppälä H: Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants, *Antimicrob Agents Chemother* 43:2823 (1999).
- 21- Seppälä H, Nissinen A, Yu Q, Huovinen P: Three different phenotypes of erythromycin-resistant Streptococcus pyogenes in Finland, *J Antimicrob Chemother* 32:885 (1993).
- 22- Seppälä H, Klaukka T, Lehtonen R, Nenonen E, The Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance, and Huovinen P: Out-patient use of erythromycin: Link to increased erythromycin resistance in group A streptococci, *Clin Infect Dis* 21:1378 (1995).
- 23- Steigbigel HN: Macrolides and clindamycin, "Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th baskı" kitabında s. 366, Churchill Livingstone, Philadelphia (2000).
- 24- Tunçkanat F, Şener B, Akan Ö, Berkman E: A grubu beta-hemolitik streptokoklarda bazı makrolid antibiyotiklerin in-vitro etkileri, *ANKEM Derg* 7:239 (1993).
- 25- Türet S, Karabiber N: A grubu beta-hemolitik streptokoklarda penisilin G ve eritromisin duyarlılığı, *ANKEM Derg* 4:479 (1990).