

# Asemptomatik çocuklarda boğaz örneklerinden izole edilen hemolitik streptokoklarda antibiyotik direncinin araştırılması

Evaluation of antibiotic resistance to beta hemolytic streptococci isolated from asymptomatic children

Zerrin Yazgan(\*), Zekerriya Aktürk(\*\*), Mehmet Akın(\*\*\*), Enver Atay(\*\*\*)

## Özet

Grup A beta hemolitik streptokoklarda antibiyotik direnci dünyanın her tarafında önemli bir problem olup streptokok taşıyıcılığı en sık 6-12 yaş arasında görülmektedir.

Bölgemizdeki çocuklarda grup A beta hemolitik streptokokların antibiyotik direncini değerlendirmek amacıyla Üsküdar ilçesindeki bir ilkokulda yakınması olmayan ve fizik muayene bulguları normal bulunan toplam 563 çocuktan boğaz kültürleri alındı. Beta hemolitik streptokok üreyenlere antibiyogram yapıldı. ASO titreleri yüksek olanlar çalışmaya alınmadı.

Antibiyotik duyarlılık oranlarının %72.3-%100 arasında olduğu saptandı.

Ülkemizde uygunsuz antibiyotik kullanımının çok yaygın olduğu göz önünde bulundurulduğunda bulunan direnç oranlarının beklenenden düşük olduğu söylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Çocuk, beta hemolitik streptokok taşıyıcılığı, antibiyotik direnci

## Summary

Antibiotic resistance to Group A beta hemolytic streptococci is a worldwide important problem. The most common age group for streptococcae carriage is 6-12 years.

In order to evaluate the antibiotic resistance to group A beta hemolytic streptococci, throat cultures were taken from 563 children aged 6-12 years. All children were asymptomatic and had normal physical examination findings.

Antibiograms were performed for those cultures, which revealed beta hemolytic streptococci. Children with high antistreptolysin O titers were excluded from the study.

Antibiotic sensitivity rates were found to be between 72.3 % and 100 %.

If we consider the high rate of inappropriate antibiotic utilization in Turkey, we can say that the antibiotic resistance rates are lower than expected in this area.

**Key words:** Children, beta hemolytic streptococci carriage, antibiotic resistance

## Giriş

Bakteriyel patojenler arasında antimikrobiklere dirençteki artış tüm dünyada önemli bir sorundur<sup>(1)</sup>.

A grubu beta hemolitik streptokoklar (AGBHS) (*Streptococcus pyogenes*) gerek farenjit ve impetigo

gibi yaygın bakteriyel enfeksiyonların, gerekse daha az yaygın olan ancak yaşamı tehdit eden enfeksiyonların etyolojik etkenidir. Bu bakteri enfeksiyonu aynı zamanda non-supuratif sekellerden olan akut romatizmal ateş ve akut glomerulonefritle de ilişkilidir. Streptokok enfeksiyonlarının tedavisindeki ilk seçe-

(\*) Haydarpaşa Numune Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Asistanı

(\*\*) Haydarpaşa Numune Hastanesi Aile Hekimliği Asistanı

(\*\*\*) Zeynep Kamil Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği Asistanı

Yazışma adresi: Zekerriya Aktürk, İskenderköy Mevkii, Birinci Kent Yapı Koop. F-1 20030 Edirne

nek penisilin, penisilin alerjisi olanlarda eritromisindir<sup>(2)</sup>.

Bakterilerdeki antimikrobik direnç düzeyini etkilediği ileri sürülen ya da kanıtlanan etmenler arasında önceden antibiyotik kullanımı, hastanın yaşı, bakterinin özellikleri, direnç genlerinin ya da dirençli organizmaların kalıcılığını sağlayabilen çevre ya da insan rezervuarları ve bakterilerin diğer insanlara geçişini artıran sosyal yapı ve taşıma ağı yer almaktadır(3). Bu çalışmada AGBHS taşıyıcılık oranı ve taşıyıcılarda çeşitli antibiyotiklere olan direnç araştırıldı.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışma 13 Mart/13 Nisan 1997 tarihleri arasında Üsküdar ilçesindeki özel bir ilkokulda 563 öğrencide yürütüldü. Çocukların 225'i (%40) kız, 338'i (%60) erkek idi. Öğrencilerin anamnezleri alındı ve fizik muayeneleri yapıldı. Anamnezde boğaz ağrısı, halsizlik, başağrısı, bulantı kusma, karın ağrısı sorgulandı. Fizik muayenede ağız kokusu, farengeal hiperemi, tonsil hipertrofisi, tonsillerde eksüda, lenf nodlarında ağrılı büyüme, ateş, burun akıntısı, konjonktivit ve tonsillektomi varlığı incelendi. Son 5 gün içerisinde antibiyotik kullananlar, ve anamnez ve fizik muayenede pozitif bulguları olanlar çalışmaya alınmadı. Çalışma kriterlerine uyan toplam 563 çocukta boğaz kültürleri alındı. Boğaz kültürü ağız boşluğu, tonsiller ve farenks arka duvarı iyice aydınlatıldıktan ve bir dil basacağı yardımıyla dil ağız tabanına itildikten sonra efüvyonlu çubuk ile farenks arka duvarından ve her iki tonsil üzerinden iyice bastırılarak alındı. Ağız florasıyla bulaşmaması için efüvyonun dile, dişlere ve yanak mukozasına değdirilmemesine özen gösterildi. Alınan materyal bekletilmeden kliniğimizdeki mikrobiyoloji laboratuvarına getirildi. Boğaz sürüntüleri %5'lik koyun kanlı agara efüvyon döndürülerek sürüldü. Daha sonra öze ile azaltma ekimi yapılarak öze agarın birkaç yerine batırıldı. Böylece oksijene hassas olan streptolizin O etkisiyle meydana gelecek hemolizin daha iyi görülmesi sağlandı.

Kültürler 18-24 saat 37°C'de enkübe edildi. Üremesi yeterli olmayan plaklar tekrar etüve kaldırılarak 24 saat daha enkübe edildi. Etüvden çıkarılan plaklardaki hemoliz bölgeleri mikroskopta 10X büyütmele objektifle incelenerek eritrositlerin tamamen eriyip erimeedikleri kontrol edildi. Koloni çevresinde saydam,

renksiz zon gösteren suşlar beta hemoliz oluşturan suşlar olarak kabul edildi. Beta hemolitik olduğuna karar verilen kolonilerden gram ile boyama yapıldı. Gram pozitif koklar değerlendirmeye alındı ve stafilokok ve streptokok ayırımı için katalaz testi yapıldı. Katalaz testi için koloni direkt lama alınarak üzerine %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> damlatıldı. Hızlı bir efervesan oksijen molekülünün oluşumu pozitif olarak değerlendirildi. Katalaz negatif gram pozitif koklar beta hemolitik streptokok olarak kabul edildi.

Her plakta 20 Koloniden az olan üreme 1+, 20-200 koloni arasında olan üreme 2+, 200 koloni üzerindeki üreme 3+ olarak değerlendirildi.

Beta hemolitik streptokok identifikasyonu için önce tek koloniden plak yüzeyine ekim yapıldı ve üzerine 0.04 Ü basitrasın, 1.25 mg trimetoprim+23.75mg sulfametoxazol (SXT) içeren diskler konuldu. 18-24 saat 37°C'de bir gece inkübasyondan sonra plaklar değerlendirildi. Basitrasın diskinin çevresinde üreme olmaması halinde zon çapına bakılmaksızın suş basitrasine hassas kabul edildi. SXT için zon çapı ölçülerek standart çap ile karşılaştırıldı ve dirençli ya da hassas olduğu kaydedildi. Basitrasın hassas, SXT dirençli olan suşlar AGBHS olarak kabul edildi. Basitrasın dirençli, SXT hassas suşlara CAMP testi yapıldı. Bunun için stafilokokus aureusun NCTC 6571 standart suşu kullanıldı CAMP testi negatif bulunan suşlar latex aglutinasyon yöntemiyle gruplandırıldı (Grouping Kit Oxoid).

Ayrıca izole edilen beta hemolitik streptokoklara Kirby-Bauer agar disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi yapıldı. %5 koyun kanı içeren Müller Hinto agar üzerine penisilin 10 Ü, eritrosin 15mg, kloramfenikol 10mg, azitromisin 15mg, klindamisin 2mg, ofloxasin 5mg, tetrasiklin 30mg, ampisilin 15mg (oxoid disk) içeren ticari olarak alınan diskler yerleştirildi. 18-24 saat 37°C'de inkübe edildi. Zon çapları ölçülerek kaydedildi (standart çapla karşılaştırılarak). Hassas, az hassas, dirençli olanlar tespit edildi.

Beta hemolitik streptokok üreyenlerden Behring Turbitimer ile Turbiquant ASL Testkit 20 kullanılarak fotometrik yöntemle ASO ölçüldü. Üreme olanlardan ASO bakıldı. ASO>200 Todd ünitesi olanlar çalışmaya alınmadı.

İstatistik hesaplarında Ki-kare testi kullanıldı. Sonuçlar yüzde olarak ifade edildi.

## Sonuçlar

Kültürleri alınan 563 olgunun 94'ünde (%16.7) beta hemolitik streptokok, üremesi tespit edildi. Bunların 90'unda (%95.7) AGBHS, 4'ünde (%4.3) C grubu beta hemolitik streptokok izole edildi. Bunların içerisinde ASO titresi yüksek vakaya rastlanmadı.

Tablo 2: Beta hemolitik streptokokların sınıfları göre dağılımı

Sınıflar	Beta hemolitik streptokok üreyen	%	Beta hemolitik streptokok üremeyen	%	Toplam
I	21	13.7	132	86.3	153
II	25	20	100	80	125
III	22	18.8	95	81.2	117
IV	13	23	87	87	100
V	13	19.1	55	80.9	68
Toplam	94	16.7	469	83.3	563

Tablo 3: Üretilen beta hemolitik streptokok suşlarının antibakteriyellere duyarlılıkları

Antibakteriyeller	Duyarlı	%	Az duyarlı	%	Dirençli	%
Penisilin G	94	100				
Ampisilin	94	100				
Eritromisin	91	96.8	3	3.2		
Azitromisin	93	98.4	1	1.1		
Sefalotin	94	100				
Kindamisin	94	100				
Kloramfenikol	94	100				
Tetrasiklin	68	72.3	3	3.2	23	24.5
Vankomisin	94	100				
Ofloksasin	94	100				

İzole edilen 94 beta hemolitik streptokok suşunun üreme miktarlarının kantitatif ölçümü yapılarak kaydedildi. Bu suşların üreme miktarı koloni sayısına göre Tablo 1'de gruplandırıldı. Beta hemolitik streptokok izolasyonu açısından sınıflar arasında anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ) (Tablo 2).

Doksan dört beta hemolitik streptokok suşunun 10 antibakteriyel ajana karşı gösterdikleri duyarlılık Tablo 3'de görülmektedir.

## Tartışma

Araştırmacılar 40 yıldan beri dünyanın çeşitli bölgelerinde AGBHS taşıyıcılık oranını belirlemek için sağlıklı çocukların boğazlarından kültür almaktadırlar. Okul çocukları arasında AGBHS taşıyıcılık oranı %15-20 oranında bildirilmiştir<sup>(2,3)</sup>.

Tablo 1: Beta hemolitik streptokokların kültür plaklarında üreme miktarı

Üreme Yoğunluğu	Asemptomatik olgu sayısı	%
1+	57	63.6
2+	30	31.9
3+	7	7.5
Toplam	94	100

Ülkemizin çeşitli bölgelerinde de bu konuyla ilgili çalışmalar yapılmıştır. Akan ve ark.<sup>(4)</sup> bu oranı Adana'da Karataş ilçe merkezinde %19, Karataş köy ilkokulunda ise %31 olarak tespit etmişlerdir. Metinbaş ve arkadaşlarının<sup>(5)</sup> Eskişehir'de yaptıkları çalışmada asemptomatik ilkököl çocuklarında bu oran %13.8 bulunmuştur. Bizim çalışmamızdaki taşıyıcılık oranlarının belirgin oranda değişmediği görülmektedir.

C grubu beta hemolitik streptokoklarla ilgili fazla çalışma yoktur. Drusin ve ark.<sup>(6)</sup> boğazda C grubu streptokokları %1.4, Arditi ve ark.<sup>(7)</sup> %2.7 oranında bulmuşlardır. Çalışmamızda bu oran %4.3 olarak bulunmuştur.

Fintandiya ve Japonya'da penisiline direnç söz konusu iken Amerika Birleşik Devletlerinde değildir<sup>(8)</sup>. Ülkemizde çeşitli dönemlerde yapılan çalışmalarda penisiline %0-6.4, eritromisine 0-8, linkomisine %16.2-%31 oranlarında direnç bulunmuştur<sup>(9-14)</sup>. Bizim ça-

İşmamızda penisilin, ampisilin, sefalotin, klindamisin, kloramfenikol, vankomisin, ofloksasin, eritromisin ve azitromisine direnç saptanmazken tetrasikline %24.5 oranında direnç bulunmuştur.

Grup A beta hemolitik streptokokların antibiyotiklere karşı toleransı mikrobiyolojik bir olaydır. Penisilin A grubu beta hemolitik streptokokların üremesini durdurduğu halde eradike edememesi halidir. Toleran suşlar daha yüksek antibiyotik konsantrasyonlarıyla ortadan kaldırılabılır<sup>(6,14,15)</sup>. Çalışmamız da bunu desteklemektedir. Taşıyıcılık oluşumunda antibiyotiklerin doz ve süre olarak yetersiz kullanımının sorumlu olduğu kanaatindeyiz. Streptokok taşıyıcılığının büyük bir kısmında penisilinle yetersiz tedavi sorumlu tutulmuştur<sup>(6,14,15)</sup>. Ülkemizde rastgele antibiyotik kullanımının yaygın olduğu dikkate alınırsa bu oranların beklenenden düşük olduğu dikkati çekmektedir. Beta hemolitik streptokok enfeksiyonlarının tedavisinde 40 yıldan uzun süredir penisilin kullanılmasına rağmen geçen zaman içerisinde penisiline in vitro hassasiyette önemli bir değişiklik olmamıştır<sup>(11)</sup>.

Taşıyıcılıkta streptokoklar M proteinlerini kaybederek avirulan hale geçebilmektedir. Bu durum doğal olarak antibiyotiklere karşı hassasiyette yanıtıcı olabilmektedir. Çalışmaların çoğu asemptomatik AGBHS taşıyıcılarında yapılmış olduğundan ileri çalışmalarda klinik ve laboratuvar olarak aktif AGBHS enfeksiyonu saptanan kişilerde antibiyotik direncine bakılması daha güvenilir bilgiler verecektir.

## Kaynaklar

1. Cohen ML. Epidemiology of drug resistance: implications for a postantimicrobial era. *Science* 1992; 257: 1050-5.
2. Bass JW, Weisse ME, Plymyer MR, Murphy S. Decline of erythromycin resistance of group A beta hemolytic streptococci in Japan. *Arc Ped Adolesc Med* 1994; 148: 67-71.
3. Arstila T, Huovinen S, Lager K. Positive correlation between the age of patients and the degree of antimicrobial resistance among urinary strains of *Escherichia coli*. *J Infect* 1994; 29: 9-16.
4. Bisna AL, Rijn I. Classification of streptococci and *Streptococcus pyogenes* in: Mandel GL, Bennet JE(eds). *Principles and practice of infectious diseases*. Volume 2, 4th edition, New York. Churchill Livingstone, 1995; 1784-99.
5. Eraksoy H. *Streptococcus enfeksiyonları*. İç hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 1992; 963-70.
6. Seçmeer G. Grup A beta hemolitik streptokoklara bağlı farengo-tonsilitt. *Katkı Pediatri Dergisi*, Ankara 1993; 6: 585-94.
7. Akan E, Köksal F, Hamza ÇH. İlkokul çocuklarında A grubu streptokok enfeksiyonları ve taşıyıcıları, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 1991; 98-104.
8. Metintaş S, Kalyoncu C, Etis S. Çifteler ilçesi ilkokul çocuklarında A grubu beta hemolitik streptokok enfeksiyonları prevalansı, *Anadolu Tıp Fakültesi Dergisi* 1991; 1: 17-27.
9. Drusin LM, Ribble JC, Topf B. Group C streptococcal colonization in a newborn nursery. *Am J Dis Child* 1973; 89: 820-1.
10. Arditi M, Schulman ST, Davis AT. Group C beta hemolytic streptococcal infection in children. Nine pediatric cases and reviews of infectious diseases. *Rev Infect Dis* 1989; 11: 34-45.
11. Michael AG. Antibiotic resistance in group A streptococci. *Ped Clin North Am* 1995; 42: 539-51.
12. Haşçelik G, Berkman E. Boğaz kültürlerinde basitrasine dirençli beta hemolitik streptokok görülme sıklığı ve in vitro antibiyotik duyarlılıkları. *Mikrobiyoloji Bülteni* 1989; 23: 312-7.
13. Akan E, Köksal F, Hamzaçebi H, Gökfidan S, Nikkov H. İlkokul çocuklarında A grubu streptokok enfeksiyonları ve taşıyıcıları. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fak Dergisi* 1991; 98-104.
14. Söyletir G, Çerikçioğlu N. Streptokok enfeksiyonları. *Enfeksiyon Hastalıkları*, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 1996: 329-39.
15. Kılıç H. A grubu beta hemolitik streptokokların identifikasyonları ve tedavi sorunları. *Mikrobiyoloji Bülteni* 1991; 25: 206-11.