

T.C  
MALTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI

**A GRUBU BETA HEMOLİTİK STREPTOKOKLARDA OPASİTE FAKTÖR  
ÜRETİMİ VE ERİTROMİSİN, PENİSİLİN DUYARLILIĞI**

**UZMANLIK TEZİ**

Dr. Fatma Özakkaş

**TEZ DANIŞMANI**

Yrd.Doç.Dr. Aynur Eren Topkaya

İSTANBUL -2007

## **İÇİNDEKİLER**

<b>ÖNSÖZ.....</b>	<b>3</b>
<b>KISALTMALAR.....</b>	<b>4</b>
<b>I.GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>5</b>
<b>II.GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>7</b>
<b>Tarihçe.....</b>	<b>7</b>
<b>Sınıflandırma.....</b>	<b>8</b>
<b>A grubu beta hemolitik streptokoklar.....</b>	<b>12</b>
<b>İdentifikasyon.....</b>	<b>12</b>
<b>Streptokokların Hücre Dışı Ürünleri.....</b>	<b>17</b>
<b>Epidemiyoloji.....</b>	<b>18</b>
<b>AGBHS' Ların Yaptığı Hastalıklar.....</b>	<b>19</b>
<b>Süpüratif Hastalıklar.....</b>	<b>19</b>
<b>Nonsüpüratif Komplikasyonlar.....</b>	<b>22</b>
<b>Antibiyotikler.....</b>	<b>25</b>
<b>Makrolidler.....</b>	<b>25</b>
<b>Penisilinler.....</b>	<b>27</b>

<b>III.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>30</b>
<b>IV.BULGULAR.....</b>	<b>36</b>
<b>V.TARTIŞMA.....</b>	<b>37</b>
<b>VI.ÖZET.....</b>	<b>42</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>43</b>
<b>VII. KAYNAKLAR.....</b>	<b>44</b>

## ÖNSÖZ

Klinik mikrobiyoloji asistanlığım süresince bilgi ve deneyimlerini daima bizimle paylaşan, ve doğru yolu gösteren, tez çalışmamın oluşumunda, yönlendirilmesinde bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen, hayatım boyunca saygıyla anacağım hocam, tez danışmanım sayın Yrd. Doç. Dr. Aynur Eren Topkaya'ya, çok değerli yardımlarından dolayı Doç. Dr. Kenan Keskin'e ayrıca eğitimime katkılarından dolayı Yrd. Doç.Dr. Fehime Benli Aksungar'a, teşekkürlerimi sunarım.

Birlik, beraberlik ve dostluk ortamında, asistanlığım süresince birlikte çalıştığım sevgili teknisyen arkadaşlarıma, her dönemde yardımcı ve anlayışlı tutumlarından, bana verdikleri destekten dolayı eşim ve iki kızıma da teşekkür ederim.

Dr. Fatma Özakkaş

## **KISALTMALAR**

AGBHS:	A grubu Beta Hemolitik Streptokok
PYR:	Pirolidonil aril amidaz
VP:	Voges-Praskauer
CAMP:	Christie-Atkins-Munch-Peterson testi
SPe:	Streptokokal pirojenik ekzotoksin
ARA:	Akut romatizmal ateş
AGN:	Akut glomerulonefrit
DNAase:	Deoksiribonükleaz
StrepTSS:	Streptokoksik toksik şok sendromu
KOB:	Koloni oluşturan birim
CLSI:	Clinical and laboratory standarts Institute
MİK:	Minimum inhibitör konsantrasyon
SOF:	Serum opasite faktörü
OF:	Opasite faktörü
PRP:	Protein bağlayan penisilin

## I. GİRİŞ VE AMAÇ

Beta hemolitik streptokoklar içinde en sık patojeniteye sebep olan tür A grubu beta hemolitik streptokoktur (AGBHS). AGBHS üst solunum yolunda geçici yada infeksiyon etkeni olarak bulunur. Çocuklarda en sık üst solunum sisteminde tonsillofarenjit ve deride impetigo gibi enfeksiyonlara neden olur. AGBHS akut romatizmal ateş (ARA), akut glomerulonefrit (AGN) gibi poststreptokokal sekelleri ve geniş infeksiyon yelpazesi nedeniyle 80 yıldan beri laboratuvar, klinik ve epidemiyolojik olarak araştırılan bir mikroorganizma olmuştur. AGBHS'ların antijenik yapısı ayrıntılı incelenmiştir. S.pyogenes'in (AGBHS) en önemli virulans faktörü M proteini olup fagositoza karşı dirençli olmasını sağlar. M proteinin antijenik farklılığı nedeniyle antiserumları ile yapılan presipitasyon reaksiyonu sonucu AGBHS 100'den fazla serotipe ayrılmıştır. M proteinin bulunmadığı suşlar avirulandır.

M proteini ile çok yakından ilgili, tipe özel,antijenik yapıda diğer protein serum opasite faktörüdür (SOF,OF). Bu faktörün varlığına göre streptokoklar OF(+) ve OF(-) olmak üzere ikiye ayrılırlar.

T ve R proteinlerinin virulansla ilgisi yoktur, epidemiyolojik araştırmalarda suşlar T antiserumu ile yapılan aglutinasyon reaksiyonu ile tiplendirilebilirler.

S.pyogenes ve ARA arasında yakın ilişki anlaşılmış olmasına rağmen ARA ve romatik kalb hastalığının patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. AGBHS infeksiyonları ve sekellerini anlamak ve tedavi etmek önemlidir. Dünyada milyonlarca farenjit tanısı konmakta ve reçete yazılmaktadır. Gelişmiş ülkelerde etkenin AGBHS olduğu doğrulanmadan antibiyotik tedavisi verilmektedir. Bu yaklaşım ARA insidansını düşürmüştür. Gelişmekte olan ülkelerde poststreptokokal sekeller hala önemli bir problemdir. 1980'lerde AGBHS'lara bağlı invaziv

infeksiyonlarda bir artış gözlenmiştir. Bu artış sadece gelişmekte olan ülkelerde değil, gelişmiş ülkelerde de saptanmıştır. Bu infeksiyonlar mikroorganizmanın tip dağılımı ile ilişkilidir, burada serotiplendirmenin önemi ortaya çıkmaktadır. Standart serotiplendirme metotları M, T ve OF tipleridir. Belirli OF ve M serotipleri invazif AGBHS infeksiyonlarından ve nonsüpüratif sekellerinden sorumludur. Serotiplerin coğrafik dağılımına ilişkin bilgi yaygın suşlara karşı aşı geliştirilmesine yardımcı olacaktır. Bu çalışmada AGBHS'ın OF üretimi ve eritromisin ve penisilin duyarlıklarının tespiti amaçlanmıştır.

## II. GENEL BİLGİLER

### Tarihçe:

1874' te Bilroth, yara ve erizipel lezyonlarından zincir yapan kokları tanımlamış ve *Streptococcus* olarak isimlendirmiştir. 1879'da Pasteur, puerperal sepsisli hastanın kanından, daha sonra ise kızıl hastalarının boğaz kültürlerinden izole etmiştir. 1883'de bakterinin saf kültürünü elde eden Fehleisen, gönüllülerde erizipel oluşturmuş, 1884'te Rosenbach, *S. pyogenes* adını kullanmıştır. Brown 1919' da streptokokları kanlı agardaki hemolitik aktivitelerine göre tanımlamış ve alfa, beta, gama hemoliz yapanlar olmak üzere üçe ayırmıştır. Dick 1924' te kızılın bir beta hemolitik streptokok infeksiyonu olduğunu bildirmiştir.

R. Lancefield presipitasyon, Griffit ise aglutinasyon reaksiyonu ile streptokok immunolojisini çalışmışlardır. Lancifield 1933'te hücre duvarında bulunan karbonhidrat antijenlerine göre streptokokları serolojik olarak gruplara ayırmıştır. Streptokoklarda patojen, saprofit ve normal flora üyesi olarak 30'dan fazla tür bulunmaktadır.

Türlerin çoğu fakültatif anaeroptur. Değişik atmosferik koşullarda yaşayanlar vardır. Morfolojik olarak stafilokoklara benzerler, onlardan katalaz negatif olmaları ile ayrılırlar. Kan veya serumla zenginleştirilmiş besiyerinde ürerler. Kanlı agarda şeffaf zon oluşturanlar beta hemolitik, yeşilimsi tam olmayan hemoliz oluşturanlar alfa hemolitik,



hiç hemoliz oluşturmeyenler ise gama veya nonhemolitik olarak bilinirler. Hemoliz en iyi %5 koyun kanlı agarda gözlenir.

### **Streptokoklar**

Streptococcaceae ailesi içinde yer alırlar. Gram pozitif genellikle zincir oluşturan, bazen çiftler halinde görülen kok şeklinde, sporsuz ve hareketsiz bakterilerdir. Streptokoklar katı besiyeri ve klinik örneklerde kısa, sıvı besiyerinde ise uzun zincirler yaparak ürerler. Birçoğu fakültatif anaerob olup CO<sub>2</sub> varlığı üremelerini artırır. Glikozu fermente eder ve son ürün olarak yalnızca laktik asit oluştururlar. Üremeleri için zengin besiyeri gereklidir. Benzer morfolojideki stafilokoklardan katalaz negatif olmaları ile ayrılırlar. Streptokoklar hyalüronik asit yapısında kapsüle sahiptirler, kapsül konakçı organizmadan yeni ayrıldığında belirgindir. Eskimiş kültürlerde kapsül ortadan kalkar. Kanlı agarda kapsül özelliğinden dolayı mukoid, mat veya parlak 1-2mm çapında, beyaz-gri koloniler yapabilirler. Koloni etrafında alfa, beta veya gama hemoliz görülebilir.

### **Sınıflandırma:**

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol:2, 1986)'de gram pozitif koklar adı altında katalaz pozitif Micrococcaceae ailesinden, katalaz negatif olmasıyla ayrılan Streptococcaceae ailesi; anaerob ve fakültatif anaeroplara olarak 2 grupta incelenir.

Gram pozitif kokların DNA-RNA hibridizasyonları, 16S-rRNA sıralarının analizi ve hücre duvar yapılarının incelenmesi yöntemleri ile yapılan sınıflandırma çalışmaları sonucu; 1991'de Bentley ve arkadaşları, daha sonra da Kawamuro ve arkadaşlarının modifiye ettiği şekliyle Streptococcaceae ailesi gram pozitif koklar, Streptococcus, Enterococcus ve Lactococcus cinsi olarak ayrılmıştır. Streptococcus cinsi de 7 gruba ayrılmıştır.

Piyojen koklar adı altında Lancefield A, B, C grubu streptokoklar da filogenetik olarak birlikte değerlendirilmiş, klasik olarak piyojen bir patojen olan *S. pneumoniae* genetik olarak daha yakın olduğu viridans streptokoklar içinde yer almıştır. Aerococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Gemella, Alloiococcus, Vagococcus, Tetrigenococcus, Globicatella ve Helcococcus gibi türler “Streptokok Benzeri Mikroorganizmalar” grubu içine alınmıştır. (1)

Streptokok cinsi içindeki türlerin adlandırılması, streptokokların sınıflandırılmasında kullanılan yöntemlerin çokluğu nedeniyle üniform değildir. Sınıflandırma için temel olarak 3 yöntemden yararlanılır.

#### **Hemolitik aktivite:**

Streptokokların kanlı besiyerinde ürerken eritrositler üzerinde gösterdikleri hemoliz özelliklerine göre ilk defa Brown tarafından bu sınıflandırma yapılmıştır. Eritrositlerin parçalanmasından suda erir hemolitik bir madde olan hemolizin (streptolizin) sorumludur.

**a. Beta hemolitik streptokoklar:** Bu grubun kolonileri kanlı besiyerinde eritrositleri tamamen parçalamakta hemoglobin serbest hale geçmekte ve şeffaf hemoliz bölgeleri oluşturmaktadır.

**b. Alfa hemolitik streptokoklar:** Bu gruptaki koloniler ise kanlı besiyerinde eritrositleri tamamen parçalamamakta ve hemoglobin kısmen serbest hale geçmektedir ve yeşil renkli hemoliz bölgeleri oluşturmaktadır.

**c. Non-hemolitik (Gama Hemolitik) streptokoklar:** Bu gruptaki koloniler hemolizin salgılamazlar ve kanlı besiyerinde hemoliz oluşturmazlar.

İnsanda özellikle beta hemolitik olan streptokoklar infeksiyonlar oluşturmaktadır ve günümüzde hemoliz ile ayırım hala kullanılan yararlı bir sınıflandırmadır.

### **Sherman sınıflaması:**

Sherman 1937'de streptokokları üreyebildikleri ısı derecelerine, bazı biyokimyasal özelliklerine, hemolitik aktivitelerine ve antijen yapılarına göre 4 gruba ayırmıştır.

- a. Piyojenik streptokoklar
- b. Viridans streptokoklar
- c. Laktik streptokoklar
- d. Enterokoklar

Piyojenik streptokokların hepsi beta hemolitikdir ve Lancefield sınıflamasında A, B, C, D, E, F, G ve H grupları bu gruptadır.

Viridans streptokoklar alfa hemolitik streptokoklardır ve nazofarinks gingiva, gastrointestinal sistem ve kadın genital sistemlerinde yerleşirler. Bu grup bakteriler sellülit, menenjit, safra yolları, karın içi infeksiyonları, dental hastalıklar, subakut bakteriyel endokardit gelişiminden sorumlu olabilmektedir.

*Streptococcus lactis*: Endüstride önemli bakterilerdir.

Enterokoklar: Genellikle hemoliz yapmazlar ve Lancefield D grubunda yer alırlar.

### **Lancefield sınıflaması:**

Bu sınıflama streptokokları hücre duvarında bulunan polisakkarit yapıda suda erir C karbonhidratının antijenik özelliklerine göre A, B, C....V olarak gruplara ayırmıştır. A,

B, C, D, F ve G grubu streptokoklar insanda genellikle hastalık yaparken E, K, L, P, U ve V grupları ise insanda oldukça seyrek olarak rastlanmaktadır.

Serolojik sınıflandırma daha çok beta hemolitikleri sınıflandırmak için yapılmıştır. Ancak D grubu streptokokların içinde sınıflanan enterokoklar günümüzde ayrı bir cins olarak ayrılmışlardır. D grubu streptokokların bazı kökenleri beta hemoliz yapmakla birlikte çoğunlukla hemolizsiz veya alfa hemolitiklerdir. 16S rRNA dizi analizlerine göre streptokoklarda 6 ana grup belirlenmiştir (2, 3).

1- Piyojenik grup: *S.pyogenes*, *S.agalactiae*, *S.equi*, *S. dysgalactiae*, *S.uberis*, *S.parauberis*, *S.iniae*, *S.canis*, *S.porcinus* *S.intestinalis* *S.phocae*

2- *S. bovis* grubu: *S.bovis*, *S.equinus*, *S.alactolyticus*

3- *S. mitis* grubu: *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. pneumoniae*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. parasanguis*

4- *S. mutans* grubu: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. macacae*, *S. rattus*, *S. downeii*, *S.ferus*

5-*S. salivarius* grubu: *S. salivarius*, *S. thermophilus*, *S. vestibularis*

6- *S. milleri* grubu: *S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*.

## **A grubu beta hemolitik streptokoklar (AGBHS)**

*S.pyogenes*, gram pozitif, zincir yapmış kok şeklinde bir bakteri olup beta-hemoliz oluşturur. Lancefield sınıflamasına göre A grubunda yer alır. Fakültatif anaerob bakterilerdir ve genellikle dahil oldukları cinsin diğer türlerine göre büyük koloni (>0.5 mm) oluştururlar.

AGBHS'lar griden beyaza değişen, genellikle parlak görümlü koloniler oluştururlar. A, C ve G grubu beta-hemolitik piyojenik streptokokların kolonileri diğerlerine göre (küçük koloni oluşturan, beta-hemolitik *S. anginosus* veya *S. milleri* grubu) daha büyüktür. 24 saatlik inkübasyon sonunda kolonilerin büyüklüğü >0.5mm çapına ulaşır ve bazen kolonileri mukoid tarzdadır.

*S.pyogenes*'in kanlı agarda yaptığı karakteristik beta hemolizden bakterinin oksijene dayanıklı streptolizin S'i sorumludur. Oksijene duyarlı streptolizin O ise yalnızca anaerob koşullarda üretilen suşlar tarafından oluşturulur. Hemolizinler bakterinin ürediği bölgede kırmızı kan hücrelerini tamamen eritir ve bakteri kolonisinin etrafında beta-hemoliz veya tam hemoliz denilen şeffaf bir alan oluşmasını sağlar.

AGBHS 0.6-1 mikron büyüklüğünde gram pozitif yuvarlak –oval hücrelerdir. Sıvı besiyerinde uzun zincirler oluştururlar, katı besiyerinde ise kısa zincir veya diplokok şeklinde görünürler (2,4).

## **İdentifikasyon**

AGBHS koloni morfolojisi ve hemolizi tanıma yol göstericidir. Basitrasine duyarlılığı (0.04IU), SXT-TMP direnci ve majör hücre duvar antijenini saptamaya

yönelik ticari antiserumlar ile serogrupsama yapılabılır. AGBHS'ların katalaz negatif, basitrasine duyarlı, pyrolidonyl arylamidase (PYR) pozitif olmaları identifikasyonda en önemli ayırıcı özellikleridir. Beta hemolitik streptokoklar içinde sadece AGBHS PYR üretir. AGBHS infeksiyonları tanısında kültür en duyarlı metoddur. Son yıllarda klinik örnekten direkt antijeni saptamaya yarayan testlerin de tanıda yararlı olduğu bildirilmiştir. Direkt antijen saptama testlerinin özgülüğü oldukça yüksek olmasına rağmen duyarlılığı kültürden düşüktür. Bu yüzden negatif sonuçlar kültürle doğrulanmalıdır (2, 4, 5).

Anti-streptolizin O (ASO) Streptolizin O kuvvetli bir immunojendir ve buna karşı gelişen antikoların (ASO) ölçümü streptokok farenjiti nedeniyle ortaya çıkan romatizmal ateş ve glomerulonefritin doğrulanmasında pratikte kullanışlıdır. Bu antikolar bakteriyle temastan 3-4 hafta sonra ortaya çıkar ve kalıcıdır. Ancak streptolizin O'nun C ve G grubu streptokoklar tarafından da oluşturulması nedeniyle, ASO testinin A grubu streptokok infeksiyonu için spesifik olmadığı unutulmamalıdır. Todd 'un hasta serumunda ASO varlığını göstermesi streptokok hastalıklarının immunoloji ve epidemiyolojisi için önemli bir gelişme olmuştur (2,4,5).

Streptolizin O'nun bir özelliği de kolayca kolesterolu bağlamasıdır bu bağlanma kendisinin hemolitik ve immun sistemi uyarıcı aktivitesini düşürür. Bu nedenle farinjit gibi diğer streptokok infeksiyonlarının aksine deri infeksiyonlarında streptolizin O'ya yanıt genellikle zayıftır. Diğer bir deyişle streptokoka bağlı piyodermalı hastalarda ASO titresi yükselmeyebilir (1, 2, 4, 6, 7).

A grubu beta hemolitik streptokokların oluşturduğu deoksiribonükleaz (DNaz)'ın A, B, C ve D olmak üzere dört değişik antijenik varyantı vardır. Suşların büyük kısmı B tipi DNaz oluştururlar. Buna karşı gelişen antikolar, ASO'nun aksine derinin streptokok infeksiyonunda da rutin olarak saptanabilir. Anti-DNaz B antikoları hem deri hem de solunum infeksiyonlarından sonra ortaya çıkarlar. ideal olanı iki serum örneğinin (akut ve konvalesan serum) alınıp ASO ve anti-DNaz B açısından test edilmesidir; bu iki serum arasında saptanan 4 kat artış anlamlıdır (4, 7). ASO ve anti-DN'az B geçirilmiş streptokok infeksiyonlarının tanısında rutin laboratuvarlarda kullanılan testlerdir.

Özellikle piyoderma sonrasında gelişen akut glomerulonefritlerin tanısında ASO'dan daha güvenilir olduğu kabul edilen anti-DN'az, ASO negatif akut romatizmal ateş olgularında da çalışılmalıdır. ARA olgularında testlerden biri % 80-85 pozitif bulunurken, her iki test çalışıldığında herhangi birinin pozitif saptanma oranı % 98' e ulaşmaktadır (8).

Epidemiyolojik, coğrafik ve demografik özellikler ASO ve anti- DN'az B titrelerini etkileyen faktörlerdir. Yurdumuzda ASO ve anti-DN'az B titrelerinin geometrik ortalama ve normalin üst sınırlarının araştırıldığı bir çalışmada okul dönemini kapsayan yaş aralığında (5-19) oldukça yüksek değerler saptanmıştır (8).

AGBHS' ın hücre yüzeyinde çeşitli antijenik yapılar bulunur. Majör hücre duvarı karbonhidrat antijeni olan ve gruba adını veren A antijeni L-Rhamnoz ve N-asetil-D-glukozamin içeren kompleks bir polisakkarittir. Peptidoglikan tabakaya kovalan olarak bağlıdır. Peptidoglikan tabakanın bazı biyolojik aktiviteleri vardır, ateşi indüklemek, hayvanlarda dermal ve kardiyak nekroz oluşturma, eritrosit ve bazı trombositleri eritmek bunlardan bazılarıdır (1).

Hücre duvarının dış yüzeyi ile ilgili diğer fibriler proteinler M proteini ve opasite faktörüdür.

M proteini major virulans faktörüdür, AGBHS ın serotiplendirilmesinde kullanılmaktadır (1, 2, 9, 10, 11, 12). M proteini asit ve ısıya dayanıklı, tripsine duyarlıdır ve alkolde erime özelliğine sahiptir. M proteinler peptidoglikan tabakanın içinden uzanarak hücre membranına karboksi-terminal uç ile bağlanırlar. Amino-terminal uç ise değişken ve spesifiteden sorumlu olan bölgesidir. AGBHS infeksiyonlarına karşı konakta gelişen direnç M tipine özgüdür. M proteini bulundurmeyen kökenler hastalığa yol açmazlar. Bugün 100'den fazla M serotipi tespit edilmiştir (1,13). M proteini bakteriyi fagositozdan korur, yapısal olarak miyosin, tropomyosin gibi kas proteinleri ile antijenik benzerlik gösterir. Bu benzerliğin akut romatizmal ateş patogenezinde önemli olduğu düşünülmektedir (1,10,11). M proteinleri sınıf I ve sınıf II olarak iki bölüme ayrılmıştır. Bu iki sınıfa ayırma M proteinlerinin "C repeat" bölgelerine karşı oluşan antikor reaksiyonuna göre yapılmıştır. Sınıf I M

proteinler yüzeylerinde C repeat bölgesine karşı oluşan antikorlar ile reaksiyona giren epitop taşırlar. Sınıf II M proteinler ise bu bölgelere karşı oluşan antikorlarla reaksiyona girmez. Sınıf I epitopu taşımazlar. Sınıf II M serotipleri SOF üretirler. Sınıf I ise SOF negatiftir. Sınıf I epitopu ile ARA gelişimi arasında kuvvetli bir ilişki vardır (10, 11, 12, 13).

Lipoteikoik asit (LTA): AGBHS ın faringeal hücrelere adezyonunu sağlar (10,14). İnfeksiyonun başlaması için ilk aşama bakterinin epitelyal hücrelere bağlanmasıdır. Bu bağlanmayı sağlayan en önemli faktörlerden biri fibronektin bağlayan yüzey proteinlerden olan protein F'dir. F1(fibronektin bağlayan protein) bakterinin konak hücreye bağlanmasını sağlayan en iyi çalışılmış moleküldür (15, 16, 17). Fibronektin bağlayan protein Sfb1 olarak da adlandırılır. Temel yapıları değişken bir N-terminal bölge ve sabit C-terminal bölgedir. Bazı F1 gibi fibronektin bağlayan proteinler Sınıf I AGBHS 'da tanımlanmışken SOF gibi fibronektin bağlayan proteinler Sınıf II AGBHS'larda tanımlanmıştır (14,18).

Serum opasite faktörü de AGBHS'ın diğer hücre duvarı antijenidir, alfa lipoproteinaz yapısındadır. Streptokokların konak epitel hücrelerine bağlanması için ilk olarak kolonize olması gereklidir. Streptokokların konağın epitel hücrelerine bağlanmasının epitel fibronektini ile AGBHS'ın taşıdığı yüzey proteininin etkileşimi sayesinde olduğu gösterilmiştir. Streptokokların serum opasite faktörü (SOF) fibronektin ile bağlanabilen yüzey proteindir. Sadece AGBHS'da bulunan SOF memeli serumunu opaklaştırma ve fibronektine bağlanma özelliğine sahiptir (19). SOF un iki fonksiyonel domaini proteinin 2 ayrı bölgesinde yerleşmiştir. SOF un enzim bölgesi değişken N-terminal bölgesinde bulunur ve HDL (high- density lipoprotein)'nin APO A1 kısmını yıkarak memeli serumlarını opaklaştırır. Konakçı ekstrasellüler proteinleri olan fibronektin ve fibrinojeni bağlayan bölge ise SOF'un C ucunda yerleşmiştir. SOF' un korunmuş sınıf II M proteinini taşıyan AGBHS'lara ait bir virülans faktörü olduğu gösterilmiştir (19, 20, 21, 22). Sadece sınıf II M proteini taşıyan AGBHS izolatları serum opasite reaksiyonu gösterirler (10,18,19). AGBHS suşlarının % 40-50'si serum opasite faktörü üreterek memeli serumlarında opaklaşmaya yol açarlar(23,24). SOF bilinen M



tiplerinin 29' u tarafından üretilmektedir (1, 12). OF+ M tipleri 2, 4, 9, 11, 13, 22, 25, 28, 48, 49, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 66, 68, 73, 75, 76, 77, 78, 79, 81'dir.

Virülanstaki rolleri bilinmeyen diğer hücre duvar antijenleri T ve R proteinleridir. Bu proteinlerin biyolojik fonksiyonları bilinmese de epidemiyolojik olarak yararlı antijenik yapılardır (1, 10, 25).

AGBHS'ların hücre duvarının önemli bir komponenti olan hiyalüronik asit yapısındaki kapsülü yapısal olarak yumuşak dokuya benzediğinden immunojenik değildir. AGBHS'lar bu yapı sayesinde fagositozdan korunurlar.(1, 2, 10, 12) Üremenin durgun fazına girdiklerinde kapsüllerini kaybederler. Bunun hiyalüronidaz enzimine bağlı olduğu düşünülmektedir (9,26).

**Tablo.1 Beta hemolitik streptokokların ayrımı**

Lancifield grup	Koloni	Türler	PYR	VP	CAMP
A	Büyük	<i>S.pyogenes</i>	+	-	-
A	Küçük	Anginosus grup	-	+	-
B		<i>S.agalactiae</i>	-		+
C	Büyük	<i>S.dysgalactiae</i>	-	-	-
C	Küçük	Anginosus grup	-	+	-
G	Büyük	<i>S.dysgalactiae</i>	-	-	-
G	Küçük	Anginosus grup	-	+	-
Gruplanamayan	Küçük	Anginosus grup	-	+	-

PYR: Pyrolidonyl Aryl Amidase

VP: Voges-Praskauer

CAMP: Christie-Atkins-Munch –Peterson Testi

### **AGBHS' ların hücre dışı ürünleri:**

**Streptokokal pirojenik ekzotoksin (Spe):** 5 streptokokal pirojenik ekzotoksin tanımlanmıştır. Spe-A ve Spe-C lizojenik bir bakteriofaj tarafından, Spe –B ise kromozomal olarak kodlanmakta ve bütün AGBHS kökenlerinde bulunmaktadır. Pirojenik ekzotoksinler süperantijen olarak davranırlar, endotoksin duyarlılığını artırırlar ve IgM antikorlarının sentezini önlerler. Süperantijen gibi davranan pirojenik ekzotoksinlerin TNF-alfa, IL-1beta, TNF-beta IL-2, IFN-gama gibi sitokinlerin salınımını indükleyerek aşırı T hücre proliferasyonu ile streptokoksik şok sendromuna yol açtıkları düşünülmektedir. Kızıl hastalığındaki döküntülerin ortaya çıkışında streptokoksik pirojenik toksinlerin rolü vardır. Özellikle Spe A üretiminin kızıyla ilgili olduğu bilinmektedir

**Deoksiribonüklezlar:** DNaz A, B, C, D olmak üzere 4 tiptir. AGBHS' lara bağlı gelişen farenjit ve deri infeksiyonlarının serolojik tanımlanmasında DNaz B' ye karşı oluşan antikorlardan yararlanılmaktadır.

**Hemoliziner:** Streptolizin O (SLO) ve streptolizin S (SLS) olmak üzere 2 tiptir. SLO oksijene duyarlıdır ve kolesterol tarafından inhibe edilir. Antijenik olup monosit ve lökosit gibi hücrelere toksiktir. Koyun kanlı agarda yüzey altında üreyen kolonilerin yaptığı hemolizden sorumludur. SLS oksijene dirençlidir, antijenik olmayan ve koyun kanlı agardaki yüzey ve yüzey altı hemolizden sorumludur. Çeşitli hücrelere toksiktir. Streptokinaz (fibrinolizin), fibrin pıhtılarını hidrolize eder. Lezyon çevresindeki fibrin bariyerinin mikroorganizmalar tarafından aşılmasına yardımcı olur. Streptokinaz kandaki plazminojene bağlanarak bunu plazmine dönüştürür ve fibrinolitik aktivite ortaya çıkar. Streptokinaz – plazminojen kompleksi komplemanı alternatif yoldan aktive eder. Nefritojenik streptokok izolatlarının bu kapasitesi streptokinazlara bağlanmaktadır.

**Hiyalüronidaz:** Yumuşak dokunun ana maddesini depolimerize sağlayarak mikroorganizmanın çevre dokulara yayılmasını kolaylaştırmaktadır.

**Tablo.2 Streptokokların virülans faktörleri**

Faktör	Yeri	Etki ve Patofizyoloji
Hyalüronik asit	Kapsül	Bağ dokusu, Fagositoza direnç
M proteini	Hücre duvarı	Kolonizasyon ve fagositoza direnç
Lipoteikoik asit	Hücre duvarı	Kolonizasyon
DNase B	Enzim	Yayılma
Streptokinaz	Enzim	Fibrinolizin, yayılma
Hyalüronidaz	Enzim	Yayılma
Proteinaz	Enzim	Doku nekrozu
Pirojenik ekzotoksin A-C	Enzim	TNF, IL-1 uyarıcı, Kızıl ve toksik şok sendromu

## **Epidemiyoloji**

AGBHS farenjit ve tonsillit etkeni olarak her yaşta hastalığa sebep olmakla birlikte en sık 5-15 yaş arası çocuklarda etkindir. İnsan A grubu beta hemolitik streptokokların kaynağıdır. Üst solunum yolu infeksiyonu olanlar ve taşıyıcılar hastalığı yayarlar. Akut tonsillofarenjitlerin % 15-25'inde etken AGBHS'dur. Sıklıkla hava yolu ve yakın temasla bulaşır, ayrıca deri lezyonlarından da bulaşabilir (2). Aile içi bulaşma yanında, özellikle kışla, kreş gibi toplu yaşam yerlerinde bulaşma yaygındır. Üç yaşından küçük ve 15 yaşından büyüklerde daha az rastlanır. Cinsiyetler arasında görülme sıklığı farklı değildir. Sosyo-ekonomik düzeyi düşük toplumlarda daha siktir. Bakteriyel farenjitler sıklıkla insanların toplu halde yaşadığı kış aylarında görülür ve çevreye damlacıklar ile

yayılabılır. Okullar, çocuk yuvaları, yeni doğan üniteleri hastalığın epidemiyolojisinde önemlidir. Deri taşıyıcılığı epidemiler dışında yaygın olmayıp, streptokokal piyoderma ılıman bölgelerde özellikle kötü koşullarda yaşayan çocuklarda sıktır, bu bölgelerde deri taşıyıcılığı oranı yükselmektedir.

Streptokoksik infeksiyon sekellerinden olan ARA farenjitin en sık görüldüğü 5- 15 yaş arası çocuklarda sonbahar ve kış aylarında görülür. Gelişmiş ülkelerde ARA insidensi düşerken gelişmekte olan ülkelerde hala kalp hastalıklarının en sık raslanan sebebidir. AGBHS' ın M 1, 3, 5, 6, 14, 18, 19, 24 serotipleri ARA ile yakından ilgilidir (10,11). AGN ise daha çok deri infeksiyonu ile ilişkili görülmektedir. AGN deri infeksiyonunun düşük olduğu gelişmiş ülkelerde daha az görülmektedir. Farenjit sonrası gelişen AGN 1, 4, 12, 25 M serotipi ile piyoderma sonrası gelişen AGN ise M 1, 2, 3, 4, 49, 55, 57, 59, 60, 61 serotipleri ile ilgili olduğu bildirilmiştir(1, 2, 10, 12). Farenjit sonrası oluşan AGN' de M12, piyoderma sonrasında ise M49 en sık saptanan serotiplerdir. Ülkemizde 1999' da yapılan M tipleme ile ilgili ilk çalışmada, 171 AGBHS suşunun M tiplendirmesi yapılmıştır. M1, 3, 4, 5, 6 ve 12 serotipleri en sık saptanan serotipler olarak bildirilmiştir (2, 10, 12).

### **AGBHS 'ın infeksiyonları**

Solunum yolu ile bulaşan A grubu beta hemolitik streptokok(AGBHS) bakteriyel farenjitlerin en sık nedenidir.

### **Süpüratif hastalıklar:**

**Farenjit:** Ateş, boğaz, baş ve karın ağrısı, halsizlik yakınmaları ile başlar ve inkübasyon periodu 2-4 gündür. Farinks eritemli, tonsiller üzerinde gri beyaz eksüda bulunur. Lökositoz, ağrılı lenf düğümü bakteriyel infeksiyonu düşündürürse de ayırım ancak kültür ve direkt antijen testleri ile konabilir. AGBHS tedavisinin amacı ARA gelişmesini, süpüratif komplikasyonları ve AGBHS yayılmasını önlemek ile birlikte klinik iyileşmeyi sağlamaktır.

Tedavide ilk seçenек penisilindir. AGBHS'larda penisilin direnci saptanmamıştır. Semptomların başlamasından sonraki dokuz gün içinde penisilin tedavisine başlanması ARA gelişmesini önlemektedir. Bugün için ARA'yı önlediği kanıtlanmış tek antibiyotik penisilindir. Erken antibiyotik tedavisi semptomları baskılamakta ve bulaştırıcılığı önlemektedir. Bu amaçla tek doz benzatin penisilin G veya 10 gün süre ile oral penisilin tedavisi önerilir. Daha kısa süreli penisilin uygulaması tedavide başarısızlığa neden olmaktadır.

Hasta uyumu sağlanırsa oral penisilin tedavisi ile intramusküler (IM) tedaviye eşdeğer etkinlik sağlanabilir. Benzatin penisilin G (IM) özellikle; Hasta oral tedaviyi tolere edemeyecekse, oral tedaviye uyum sağlanmazsa, tekrarlayan AGBHS farenjit ataklarında ve romatizmal kalp hastalığı olanlarda tercih edilir. Penisilin allerjisi olanlarda eritromisin veya diğer makrolidler kullanılabilir.

Streptokok farenjitleri kendini sınırlayıcı olmasına rağmen poststreptokoksik komplikasyonları önlemek için antibiyotik tedavisi uygulanmalıdır.

**Kızıl:** Streptokoksik farenjit tablosu eritrojenik toksin salgılayan bir A grubu streptokok tarafından oluşturulmuşsa ve hastada nötralizan antitoksik antikorlar yoksa kızıl ortaya çıkar. Kızıl farenjitten 1-2 gün sonra ilk olarak gövdenin üst kısmında ardından bütün bedene yayılan eritamatoz döküntülerle başlar. Ağız çevresi soluk olup, el ve ayakta döküntü yoktur. Derinin kıvrım yerlerinde ise basmakla solmayan "pastia çizgileri" denen döküntüler vardır. Dilde ilk olarak beyaz bir örtü ve onun altından çıkan ödemli papillalar beyaz çilek dili görüntüsü oluşturur ve beyaz örtü kaybolduktan sonra ise kırmızı çilek dili ortaya çıkar. 5-7 günde döküntüler kaybolur, pirojenik antitoksinlere karşı oluşan bağışıklık kalıcıdır, toksinin 4 antijenik tipi olması nedeniyle kızıl tekrar geçirilebilir. Kızıl tanısı için kullanılan Dick testi kişinin kızıla duyarlı olup olmadığını, daha önce kızıl geçirip geçirmediğini anlamak amacıyla uygulanmıştır. Dick testinde kızıl toksini intradermal verilir ve kişi kızıla duyarlı ise lokal kızarıklık ortaya çıkar. Schultz-Charlton sönme olayında ise kızıl geçirdiğinden kuşku edilen kişiye verilen antitoksin döküntülerde sönme yol açar.

**Piyodermi:** Derinin primer pürülan infeksiyonudur. Kişisel hijyenin bozuk olduğu küçük çocuklarda görülür. Direkt temas veya artropodlar ile bulaşır. Küçük sıyrık, insekt ısırığı ile bakteriler deri içine girerler. Piyodermide lezyonlar alt ekstremitede lokalize ve derin bir şekilde ülserleşmiş ise ektima denir.

**Erizipel:** Derinin lenf yollarını da etkileyen akut bir infeksiyonudur. Deri lezyonları çevre sağlam dokudan kesin sınırlarla ayrılmıştır, eritemli ve kabarıktır. Ateş, titreme, lökositoz gibi sistemik belirtiler görülür. Yüzdeki erizipel spontan gerileme eğiliminde olsa da ayak lezyonları tedavi edilmezse ölümlü sonuçlanabilir.

**Sellülit:** Travma sonrası gelişen deri ve deri altı dokuların akut inflamasyonudur. Lokal ağrı, şişlik ve eritem ile seyrederek, AGBHS yanında stafilokoklarda sıkça etken olarak saptanır.

**Nekrotizan fasiit:** Deri altı dokuları ve fasyaların gangrenidir. Etyolojik olarak ikiye ayrılır. Tip1 polimikrobial olup, anaeroplara, AGBHS dışı streptokoklar ve Enterobacteriaceae etkindir. Tip 2 de ise *S.pyogenes* en sık etkindir. Hastalık küçük bir travma, infeksiyon, yanık, cerrahi girişim ardından başlar, hızla ilerler ve deri önce esmerleşir sonra morarır. Ateş, toksik tablo ve organ yetmezliği sıktır. Tedavi için debridman yapılır ve antibiyotik kullanılır. **Fournier gangreni** erkek genital bölgesini tutan Tip I nekrotizan fasiit türüdür.

**Streptokoksik toksik şok sendromu: (StrepTSS)** Hastalığın etkeni eritrojenik toksin salgılayan özellikle hiyalüronik asit kapsülü olan A grubu streptokoktur. StrepTSS genellikle bir deri hastalığından sonra ortaya çıkar, farenjitten sonra nadirdir. Hastalık stafilokoksik toksik şok sendromuna benzer, strepTSS de hastalar farklı olarak bakteriyemiktir, deri ya da yumuşak doku infeksiyonu vardır. İlk belirtiler ateş, titreme, miyalji, bulantı, kusmadır. 24-48 saat içinde de hipotansiyon ortaya çıkar. Hastalığın ikinci döneminde taşikardi, taşipne, persistan ateş görülür. Hastalığın 3. döneminde tabloya şok ve organ yetmezliği eklenir. Tedavide önce streptokoksik infeksiyon kontrol altına alınmalı ve debridman ve amputasyon yapılmalıdır. Tedavide penisilin ve klindamisin kullanılır. Derin dokuda bakteri üremesi yavaşlamıştır, bu nedenle

AGBHS'a karşı penisilin yeterince etkin olamamaktadır. Klindamisin protein sentezini ve AGBHS'ın M protein sentezini inhibe eder (1,24,27).

**Bakteriyemi:** Farenjit, piyodermi, ve erizipel gibi AGBHS infeksiyonlarında streptokoklar kana karışmazlar. StrepTSS nekrotizan fasiit gibi tabloların ardından özellikle İV uyuşturucu kullananlarda AGBHS bakteriyemisi sıktır. AGBHS bakteriyemisi için çocuklarda kaynak yumuşak doku infeksiyonudur. Varisella infeksiyonu önemli risk faktörüdür (9,27). Varisella infeksiyonu olan çocuklarda, ateşin uzun sürmesi ve toksik tablo ortaya çıkışı strepTSS yi düşündürür.

AGBHS sellülit, lenfanjit gibi infeksiyonları deriden girerek oluşturabilir. Doğum sonrası uterusdan girerek endometrit ve sepsise neden olabilir. (loğusa humması, puerperal sepsis) Sepsis hızlı ilerler, hipotansiyon, ateş, lökositoz, yaygın dissemine intravasküler koagülasyon ve periferik gangrenle toksik şok benzeri bir tablo gelişir. Metastatik odaklar menenjit, beyin absesi, osteomyelit, septik artrit, pnömoni ve peritonite neden olur. AGBHS nadiren endokardit yapar. Akciğer infeksiyonları görülebilir. En sık 3-5 yaşlarında görülür. Viral infeksiyonlar hastalığa zemin hazırlar. Ateş, öksürük, göğüs ağrısı vardır. Büyük çocuklarda hemoptizi, balgam çıkarma olabilir. Ampiyem pnömokoka göre daha sıktır. Ampiyem ve pnömatosel gelişen vakalar da klinik stafilokok pnömonisine benzer.

### **Nonsüpüratif poststreptokoksik infeksiyonlar:**

#### **Akut romatizmal ateş (ARA):**

AGBHS'ın üst solunum yolu infeksiyonunu takiben ortaya çıkan nonsüpüratif sekelidir. Kutanöz streptokok infeksiyonu ARA'ya neden olmaz. Bu durum hastalığın başlaması için lenfoid dokudan zengin bir bölgenin gerektiği ya da kutanöz izolatların romatojenik özelliklerinin kaybı ile açıklanabilir. Romatojenik streptokok izolatları M protein moleküllerinde farklı bir antijenik epitop içerirler. Opasite faktörleri yok ve kapsülleri vardır. Mukoid koloni oluşturan ve fagositoza dirençli suşlardır. M 1, 3, 5, 6, 14, 18, 19, 24 ARA ile güçlü epidemiyolojik birliktelik göstermektedir (2, 10, 11). ARA patogenezi anlamak için bazı teoriler üzerinde çalışılmaktadır. Bunlar

streptokokların toksik ürünleri, antijen-antikor kompleksleri aracılığı ile serum hastalığı benzeri reaksiyon ve otoimmün fenomendir (2, 11, 28, 29). ARA' daki klinik bulguların diğer immunpatogenez ile olan hastalıklara benzemesi farenjitten sonra yaklaşık 3 haftalık period gerekliliği, AGBHS'in birçok hücre duvar yapısının ve ekstrasellüler ürünlerinin antijenik özelliği ve AGBHS ile insan dokusu arasındaki benzerliklerin varlığı nedeniyle patogenezde en çok immun mekanizma üzerinde durulmaktadır (11, 30).

Bu suşlar kardiyak sarkolemmal membran, miyosin, kıkırdak ve sinoviyum gibi insan dokuları ile benzer epitoplara içerirler. Streptokokal M protein epitoplarının sarkolemma proteinleri olan miyozin ve tropomiyozin ile olan benzerliği çapraz reaksiyona yol açmakta bununda immun yanıtı tetiklediği ve doku hasarına sebep olduğu düşünülmektedir. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar sürmektedir (31,32 ). Patogenezde AGBHS'lara ait faktörler de önemlidir. M 1, 3, 5, 16, 18 serotiplerine karşı oluşan antikorlar miyozin ile çapraz reaksiyon vermektedir. ARA ya neden olan bu belli M serotiplerine romatojenik suşlar denir (2,10,11,12 ).

AGBHS ve insan dokusu benzerlikleri

M proteini -----tropomiyozin ve miyozin, sarkolemma-subarkolemma

Sitoplazmik membran -----sarkolemma-subarkolemma, nöronlar

A grubu karbonhidratı-----kalb kapağı glikoproteini

Hyalüronik asit----bağ dokusu protein, polisakkarit kompleksi

ARA' in en önemli sekeli kardittir. En sık mitral ve aort kapakları tutulur. 5-10 yıl sonra bu kapaklara ait stenoz bulgular gelişir. ARA rekürrenslerinde romatizmal hastalık daha şiddetlidir. Histopatolojik olarak Aschoff cisimciklerinin görülmesi romatizmal kalp hastalığını düşündürür. ARA' de en sık raslanan bulgu gezici poliartrittir. Diz, dirsek, el ve ayak bilekleri gibi büyük eklemler tutulur. Gezici olması tipiktir, tutulan eklem 1-5 günde iyileşirken ardından başka eklem etkilenir.



ARA'ya bağlı artritlerde kronik ve deforme edici eklem hastalığı gelişmez.

Sydenheim koresi ARA'lı hastaların yaklaşık % 5 -10 da görülen geç bir bulgu olup koordinasyon bozukluğu, koreatenoik hareketler, kas güçsüzlüğü, emosyonel düzensizlik, okul başarısızlığı gibi tablolarla karakterlidir. Kalıcı nörolojik bozukluk yapmaz, birkaç ay sürebilir. Subkutan nodüller nadir görülür ve eklemlerin ekstansör yüzünde ve yaklaşık bir cm çapındadır. Eritema marginatum makuler, düzensiz, kaşıntısız eritmatöz döküntülerdir. Tekrarlayan GAS infeksiyonunda ARA' de rekürensler görülür. Rekürensler ilk hastalık tablosuna benzer ancak kardit bulgular daha şiddetlidir.

ARA tanısı için Jones kriterleri kullanılır.

**Major kriterler:** Kardit, Poliartirit, Kore, Eritema marginatum, Subkutan nodüller.

**Minör kriterler:** Ateş, atralji, Sedimentasyon, CRP artışı.

ARA tanısı için en az bir majör, iki minör veya iki major ve geçirilmiş A grubu streptokok infeksiyon kanıtları olmalıdır. ASO yüksekliği, diğer streptokoksik antikorlarda artış, pozitif boğaz kültürü geçirilmiş infeksiyonun kanıtıdır.

Tedavide antinflamatuar ilaçlar, diüretikler, digoksin kullanılır.

### **Akut glomerulonefrit(AGN)**

AGBHS'in deri ve farinks infeksiyonlarından sonra gelişebilir. Özellikle impetigo gibi deri infeksiyonundan sonra gelişir, M 1, 2, 4, 12, 25, 49, 55, 57, 59, 60, 61 suşlarından sonra AGN gelişme ihtimali daha yüksek olup bunlara nefritojenik suşlar denir. Nefritojenik AGBHS izolatlarına karşı oluşan antikorların böbrek dokusu ile reaksiyona girerek glomerül hasarına yol açtığı düşünülmektedir. Elektron mikroskopi bulguları AGN'deki böbrek hasarının glomerüllerde antijen - antikor kompleksleri birikimi sonucu olduğunu göstermektedir. AGN AGBHS'in farinks infeksiyonundan 10 gün sonra deri infeksiyonundan ise 3 hafta sonra ortaya çıkar.

AGN ödem, hematüri, oligüri ile başlar, hipertansiyon, azotemi ve proteinüride olabilir. Çocuklarda kronik böbrek hastalığı ihtimali düşük, erişkinlerde daha fazladır. Tanı için hipokomplementerik nefrit, azotemi ve hipertansiyon ile geçirilmiş streptokok infeksiyonu gösteren pozitif sonuç yeterlidir. Tedavide tuz kısıtlaması, diüretikler, antihipertansif ilaçlar kullanılır. Rekürensisi düşük olduğu için profilaksiye gerek yoktur (9,12).

## ANTİBİYOTİKLER

### Makrolidler

Makrolidlerin temel sınıflaması lakton halkasının büyüklüğüne göredir. (Eritromisin 14 üyeli makrosiklik lakton halkası içerir.) Eritromisin düşük pH karşısında stabil değildir. Bir intestinal peptid olan motilin ile interferans sonucu gastrointestinal intoleransa neden olabilir. Sonuçta eritromisinde görülen bu dezavantajlar yeni makrolidlerin geliştirilmesini gündeme getirmiştir. Semisentetik 14 halkalı diritromisin ve klaritromisin artmış farmakokinetik etki ve aside dayanıklılığa sahiptir. 15 halkalı azalid grubunda ise eritromisine 9 pozisyonunda amino grubu eklenmesi ile azitromisin geliştirilmiştir. Azitromisin eritromisine göre gram negatif mikroorganizmalara daha fazla etkilidir, ayrıca daha yüksek doku konsantrasyonu ve uzun süreli eliminasyon yarı ömrüne sahiptir. 16 üyeli makrolidler örneğin josamisinin ise 14 üyeli makrolidlere göre gastrointestinal yan etkisi daha azdır.

**Tablo.3. Makrolidlerin sınıflaması**

14 üyeli	15 üyeli	16 üyeli
Eritromisin	Azitromisin	Spiramisin
Roksitromisin		Josamisin
Klaritromisin		Midekamisin
Diritromisin		Rokitamisin
Fluritromisin		Miokamisin

Linkozamidler ve streptogramin B ile yapısal olarak benzerlik gösteren makrolidler 50S bakteriyel ribozoma etki ederek peptidil transferazın inhibisyonu sonucu protein sentezini bozarlar. Elongasyon fazında peptidil transferaz RNA'nın disosiasyonunu indükler ve RNA'ya bağımlı protein sentezi baskılanır. Sonuçta bakteriyel üreme engellenir.

Genel olarak makrolidler bakteriyostatik antibiyotiklerdir, yüksek konsantrasyonlarda bakterisidal etki gösterebilirler. Makrolidler belirgin postantibiyotik etkiye sahiptir. Bu özellik yeni makrolidlerde daha fazladır.

Makrolid direnci kromozomal veya plazmid kökenli, indüklenebilir veya konstitif olabilir. Makrolid direnci üç mekanizma ile gelişir.

1-Hedef bölge değişikliği,

2-Antimikrobiyal inaktivasyon,

3-Aktif olarak ilacın dışarı atılması (eflüks).

Hedef bölge değişikliği makrolid-linkozamid-streptogramin (MLS) grubu antibiyotiklerde görülen en önemli direnç mekanizmasıdır. MLSB tipi direnç plazmid veya transpozonlarla yönetilir. Erm (eritromisin dirençli metilaz) geninin kodladığı enzimlerin etkisi ile ribozomun makrolidlere karşı afinitesi azalır. 23S ribozomal RNA'nın metilasyonu sonucu gelişir. Sonuçta antibiyotiğin ribozoma bağlanması azalır. MLSB tipi direnç *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Mycoplasma pneumoniae*, *Campylobacter* spp., *Propionibacterium* spp. ve enterobacteriaceae ailesinde görülmektedir.

Erm geninin ekspresyonu konstitif veya indüklenebilir olabilir. Eğer konstitif olarak MLSB direnci gelişirse, bu suşlar makrolidler, linkozamidler ve streptogramin B'ye karşı direnç gösterir. Eğer indüklenebilir direnç söz konusu ise, 14 ve 15 halkalı makrolidlerin metilaz sentezini kuvvetle indüklemeleri nedeniyle sadece 14-15 üyeli

makrolidlere karşı direnç gelişir. 16 üyeli makrolidler, linkozamid ve streptogramin B etkisini sürdürür.

2-Antimikrobiyal inaktivasyon: Plazmide bağlı inaktive edici enzimler örneğin adenilat, asetilaz ve hidrolaz *S. aureus*'da tanımlanmıştır.

3-Pompa mekanizması ile ilacı aktif olarak dışarı atılması stafilokok ve streptokoklarda gösterilmiştir. Aktif dışarı atılımı bazı mikroorganizmalarda *mefA* veya *mefE* geni kodlar.

*S. pyogenes* suşlarında makrolid direnci makrolidlerin sık kullanıldığı ülkelerde siktir. Makrolid kullanımının kısıtlanması ile makrolid dirençli *S. pyogenes* sıklığında azalma görülmektedir. Son yıllarda *S. pneumoniae* suşlarında penisilin direncinde artış mevcuttur. Penisiline dirençli suşların % 27- 50'sinin makrolidlere de dirençli olduğu bildirilmiştir (33).

## **Penisilinler**

*Penicillium notatum*'dan elde edilmişlerdir. Bütün penisilinlerde temel yapı tiazolidin ve amino grubu içeren beta laktam halkasından oluşan 6-aminopenisilanik asit (APA) tir. Penisilinler doğal ve semisentetik penisilinler olarak 2 büyük gruba ayrılırlar.

### **1-Doğal penisilinler**

Doğal penisilinlerin G, F, K, X olmak üzere 4 şekli vardır. Tedavide kullanılan penisilin G(benzil penisilin) oral kullanılmaz. Penisilin G genellikle gram pozitif bakterilere etkindir. Böbreklerden hızla atılır. Atılım hızını yavaşlatmak için yağlı maddeler katılabilir. Bu penisilinler prokain penisilin ve benzatin penisilindir. Mide asidine dirençli hale getirilen fenoksimetil penisilin oral kullanılabilir.

### **2-Semisentetik penisilinler**

a-penisilinaza dirençli olanlar

Bu gruptaki penisilinler bakterinin ürettiği penisilinaz (beta laktamaz) a dirençlidir.

b- geniş spektrumlu olanlar

Etki spektrumları penisilin G den daha geniştir. Aminopenisilinler beta laktamazlara duyarlı olduklarından bu enzimi oluşturan bakteriler aminopenisilinlere dirençlidir.

Karboksipenisilinler Enterobacteriaceae ailesi ve *P.aeruginosa*'nın oluşturduğu beta laktamazlara genellikle dirençlidirler. Karbenisilin ve tikarsilin Klebsiella cinsi bakteriler hariç diğer gram negatif ve gram pozitif bakterilere etkindir.

### **Etki mekanizması**

Beta laktam antibiyotikler D-alanin D-alanin analogu oldukları için PBP' lere bağlanarak transpeptidaz enzimini irreversibl olarak inhibe ederler. Böylece mürein sentezini engellerler. (Alanin ile glisin arasındaki terminal peptid bağının oluşumunu engeller.) Penisilinler ayrıca otolitik enzimleri aktive ederek hücre duvarını yok ederler. (mürein hidrolaz)

**Tablo.4. penisilinlerin sınıflaması**

Doğal penisilinler	Penisilin G, Penisilin V
Aminopenisilinler	Ampisilin, Amoksisilin
Penisilinaza dayanıklı penisilinler	Metisilin, Nafsilin, İzoksasil penisilin
Antipseudomonal Penisilinler	Karbenisilin, Karindasilin Tikarsilin, Üreidopenisilinler
Beta-laktam Beta-laktamaz İnhibitörlü	Ampisilin-sulbaktam Amoksisilin-klavulanat
Kombinasyonlar	

Penisiline direnç 4 mekanizma ile gelişir.

1-Beta laktamaz oluşumu; beta-laktam antibiyotiklere karşı en çok gözlenen direnç, bakterilerin bu antibiyotikleri inaktive eden beta-laktamaz enzimlerini sentezlemesi ile oluşmaktadır. Beta-laktamaz genleri bakteri kromozomunda veya plazmid, transpozon, integron gibi hareketli genetik elemanlarda bulunabilir. Gram pozitif türlerde doğrudan dış ortama salınırken gram negatif bakterilerde beta-laktamazlar, dış membran ile sitoplazmik membran arasındaki periplazmik boşlukta bulunmaktadır. Bu nedenle gram negatif bakteri türlerinde beta-laktamazlara bağlı dirençte sıklıkla ilaç geçirgenliği ile ilgili mekanizmalarda rol oynamaktadır. Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki siklik amid bağlarını parçalayarak beta-laktam ajanların etkinliğini ortadan kaldıran enzimlerdir. Beta-laktamazlar yapısal olarak PBP'lerden evrimleştiklerini düşündürecek kadar, PBP'lere benzerler. Beta-laktamazlar; gram pozitif, gram negatif ve anaerob bakteriler tarafından sentezlenir. Gram pozitif bakteriler arasında beta laktamaz üreten en önemli patojen stafilokoklardır.

2-PBP'lerin modifikasyonu sonucu ilaca olan afinitenin azalması (stafilokoklardaki metisilin direnci ve pnömokoklardaki penisilin direnci)

3-PBP'lere ilacın penetrasyonunun engellenmesi(gram negatif bakteriler)

4-İlacı dışarı atan pompa varlığı. Nafsilinin gram negatif bakteriler (Salmonella typhimurium) tarafından dışarı atılması buna örnektir.

### III. GEREÇ VE YÖNTEM

#### GEREÇLER

Müeller-Hinton agar (oxid)

Etüv 37 °C (heraus)

Derin dondurucu (Arçelik)

Pasteur fırını (nüve)

Buzdolabı (Arçelik) Etüv(37C)(Heraus)

Santrifüj

PH kağıdı

su banyosu

0-20 µ /lt---50-200µ/lt 0-1000 µ /lt ayarlanabilen pipetler

küçük kapaklı tüpler

HCl 0.2M

NaOH 0.2 M

Fenol kırmızısı ayıracı(0.1 gr fenol kırmızısı, 28 ml NaOH eritildikten sonra distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.)(34 )

Plastik ağzı kapanabilen torbalar

ELISA mikropak okuyucusu (Sanofi Pasteur)

At serumu (Oxoid)

96 kuyucuklu mikropak

%5 koyun kanlı agar (Ekbak)

## YÖNTEMLER

Bu çalışmada Kasım 2006-Nisan 2007 tarihleri arasında Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Maltepe Merkez Polikliniğine üst solunum yolu şikayeti ile başvuran hastaların boğaz sürüntü örneklerinden izole edilen 300 AGBHS suşunda agar dilüsyon metodu ile penisilin ve eritromisin duyarlılığı, bunlardan 200 AGBHS suşunun SOF üretimi araştırılmıştır.

Hastalardan alınan sürüntü örnekleri azaltma yöntemi ile %5 koyun kanlı agara ekilmiş ve 37 C lik etüvde 18-20 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda beta hemoliz gösteren kolonilere katalaz testi yapılmış ve katalazı negatif kolonilere gram boyama yapılmıştır..



**Resim.1:Beta hemoliz**



### **Katalaz testi-deneyi**

%5 Koyun kanlı agar besiyerinden alınmış koloni üzerine %3'lük hidrojen peroksitten (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) birkaç damla damlatılır. Hızla moleküler O<sub>2</sub> üretimi sonucu damlatır damlatmaz hava kabarcığının oluşması pozitif test olarak kabul edilir. Katalaz negatif, gram pozitif koklar basitrasın deneyine alınmıştır.

### **Basitrasın deneyi**

Bu yöntemde, beta hemolitik kolonilerden 1-2 tanesi alınarak yoğun bir şekilde %5 koyun kanlı agara inoküle edilmiş ve besiyerinin plak kenarından 2.5 cm uzağa 0.04IU basitrasın diski yerleştirilmiştir. 35 °C'de bir gecelik inkübasyondan sonra basitrasın diski etrafında saptanan zon, suşun basitrasine duyarlı olduğunu gösterir (1, 4).



**Resim 2. Basitrasın duyarlılığı**

### **Serolojik gruplandırma**

A grubu streptokokun kesin identifikasyonu antiserum kullanılarak (plasmatec laboratory product ltd. U.K. ) aglutinasyon yöntemi ile yapılmıştır.

AGBHS kolonisinden alınan 2-3 koloni 0.1 ml enzim ekstraktı(plasmatec laboratory product ltd. U.K. ) içine konulmuş ve 10 dk. etüvde tutulmuştur. Lam üzerine bu solusyondan bir damla ve üzerine grup A antiserumundan bir damla konularak 2 dk. karıştırılmıştır. Aglutinasyon veren şuşlar AGBHS olarak değerlendirilmiştir.



### **Resim3. Lam aglütinasyon**

AGBHS olarak tanımlanan şuşlar çalışılıncaya kadar %15 gliserollü Todd-Hewitt buyyonda -20 °C' de stoklanmıştır.

### **Agar Dilüsyon Yöntemi**

#### **1-Antimikrobik çözeltiler:**

Penisilin (Bilim) ve eritromisin (Fako) potensi belli aktif maddeler olarak temin edilmiştir. Stok antibiyotik çözeltileri clinical and Laboratory Standards Enstitute (CLSI) (35) tarafından önerilen çözücü ve sulandırıcılar kullanılarak hazırlanmış ve çalışılıncaya kadar steril 2 ml tüplere bölünerek -70 °C de saklanmıştır. Penisilin için 0.12-4 µgr/ml, eritromisin için 0.25-4 µgr /ml arası dilüsyonlar hazırlanmıştır.

Mueller –Hinton agar toz besiyerinden hazırlanmıştır. 48-50 °C ye su banyosunda soğutulmuştur. % 5 defibrine koyun kanı ve antibiyotiğin stok çözetilerinden hazırlanan çalışılacak konsantrasyonlar agara eklenerek kalınlığı 4 mm olacak şekilde 12 cm çapındaki petri plaklarına dökülmüştür.

## 2-İnokulumun hazırlanması:

Kanlı agarda üretilen AGBHS suşları Todd-Hewitt besiyerine ekilmiş, 0.5 Mcfarland oluşuncaya kadar 37 °C de bekletilmiştir. Bu inokulum 1/10 oranında sulandırılmış, 10<sup>4</sup> KOB/ml elde edilmiştir. Agar yüzeyine 10 µ/ml inoküle edilerek 18-20 saat 37 °C de inkübe edilmiştir.

Bakteriyel üremenin olmadığı en düşük dilüsyon MİK olarak kaydedilmiştir. Kalite kontrol suşu olarak *S.pneumoniae* ATCC 49619 kullanılmıştır.

**Tablo.5. CLSI ‘ e göre beta hemolitik streptokoklarda MİK değerleri.**

Test edilen antibiyotikler	D(µ/ml)	I(µ/ml)	S(µ/ml)
Penisilin	-		≤ 0.12
Eritromisin	≥1	0.5	≤ 0.25

D:Dirençli

I:Ortaduyarlı

S:Duyarlı

## SOF SAPTAMA

Todd-Hewitt buyyona birkaç koloni inoküle edilmiş ve 16-18 saat 37 °C de inkübe edilmiştir.1500 devirde 30 dk santrifüjlenen bakterilerin süpernatant sıvısı atılmıştır.

Çökelti üzerine 0.35 ml HCl eklenmiştir. Çözelti 100 °C lik su banyosunda 10 dk kaynatılmıştır. Oda ısısında soğutulduktan sonra üzerine bir damla fenol kırmızısı ayırıcı damlatılmış ve NaOH ile nötralize edilmiştir(pH6). 1500 devirde 30 dk santrifüjlenerek üst sıvılar steril cam tüplere alınarak test yapılncaya kadar +4 °C de buzdolabında saklanmıştır.

Kökenlerin opasite faktörünü saptamak amacıyla mikroplak yöntemi kullanılmıştır. 96 kuyucuklu mikroplaklara 100'er mikrolitre at serumu dağıtılmıştır. Her bir kuyucuğa AGBHS şuşlarının HCl ekstraktları 10'ar mikrolitre konulmuştur. 2 kuyucuğa sadece at serumu.bir kuyucuğa da sadece supernatan konularak kontrol kuyucukları oluşturulmuştur. Mikroplaklar 37°C'de bir gece ağzı kapaklı plastik torbalar içinde nemli ortamda inkübe edilmiştir. Üzerlerine 100 µlt serum fizyolojik konarak ELİSA mikroplak okuyucusunda 450 nm'de okutulmuştur (34). Değerlendirme yapılırken at serumu içeren kuyucukların ortalaması alınmış ve bu değer kökenlerin üst sıvılarının bulunduğu kuyucuklara ait değerlerden çıkarılmıştır. Böylece üst sıvılara ait serum opasite reaksiyon değerleri ortaya çıkmıştır. Bir örnekle açıklanacak olursa plağın at serumu ortalaması 200, bir kökenin ekstresine ait değer 300 ise  $SOR=300-200=100$  olarak hesaplanmıştır.  $SOR <60$  ise OF(-), $SOR >60$  ise OF (+) dir. Buradaki 60 değeri kuyucuklarda yalnız HCl ekstresi veya kültür üst sıvısı bulunduğuunda elde edilecek standart değerdir (26).

Bir streptokok kökenine ait HCl ekstresi veya kültür üst sıvısı içeren kuyucuklarda opaklık görülmesi halinde o köken OF pozitif olarak değerlendirilmiştir.

#### **IV.BULGULAR**

Kasım 2006-Mayıs 2007 tarihleri arasında Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Maltepe Merkez Polikliniğine müracaat eden hastalardan alınan boğaz kültürlerinden izole edilen 300 AGBHS suşunun agar dilusyon yöntemi ile eritromisin ve penisilin duyarlılıkları araştırılmış, MİK değerleri tespit edilmiştir.

Agar dilusyonla test ettiğimiz antibiyotiklerden penisiline dirençli suş bulunmamıştır. Eritromisin direnci ise % 5 olarak bulunmuştur. Eritromisin direnci saptanan suşların yarısında OF +, diğer yarısında ise OF- bulunmuştur.

OF üretimi araştırılan 200 AGBHS suşunun %50'si OF(+) bulunmuştur.

## V.TARTIŞMA

*S.pyogenes* (AGBHS) tür adını, neden olduğu piyojenik infeksiyonlardan alan bir bakteridir. Çok geniş bir infeksiyon yelpazesi olması nedeniyle üzerinde yoğun çalışılan bir bakteri olmuştur. ARA ve AGN gibi komplikasyonları, iş gücü kaybı sebebiyle halk sağlığı açısından da önemlidir. Uzun yıllar süren çalışmalara rağmen AGBHS hastalıklarının patogenezi anlaşılabilmiş değildir (32, 36). AGBHS epidemiyolojisi, virülans faktörlerini ve patogenezini anlamak, infeksiyonunu ve komplikasyonlarını engellemek için gereklidir.

Bu amaçla streptokokları serotiplendirmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Konvansiyonel tiplene hücre duvarında bulunan M ve T antijenlerine göre yapılmıştır. 1940'larda Griffitt "slide aglutinasyon metodu" ve Rebecca Lancefield "kapiller presipitasyon metodu" ile AGBHS'ların serogruplarını çalışmışlardır (37). Günümüzde M, T proteinleri ve opasite faktörü AGBHS'in serotiplendirilmesinde kullanılmaktadır. Ancak tipe özgül M antiserumlarının hazırlanması zor ve pahalıdır. Bu sebeple T tiplene ve OF inbisyon daha sık kullanılmıştır. M serotipi ile SOF üretimi ve T paternleri arasındaki ilişkiye bakılarak AGBHS tiplendirilmesi yoluna gidilmiştir (38 ).

Bugün ise moleküler tiplendirme yöntemleri gelişmiş ülkelerde daha sık kullanılmaktadır (38, 39, 40).

Major virülans faktörü olan M proteinlerinin koruyucu immunitedeki rolü kesinleşmiştir. AGBHS'a karşı gelişen direnç M tipine özgüdür. Bazı popülasyonlarda tip dağılımı değişmektedir, bu aşı geliştirme çalışmaları için önemli bir bulgudur. Koruyucu antikorların M proteinine karşı gelişmesi sebebiyle aşı geliştirme çabaları bu alanda yoğunlaşmıştır (41).

SOF' nün antijenik özgüllüğü M proteinine paralel olup mikroorganizmanın virülans faktörlerindedir. SOF'nün inaktivasyonunun mikroorganizmanın virülansının düşmesine sebep olduğu gösterilmiştir (19,20).

SOF sınıf II M protein taşıyan AGBHS suşları tarafından üretilen bir lipoproteinazdır. M tipi belirlenememiş izolatlar tarafından da üretilmektedir. AGBHS'ları OF+ ve OF – olarak iki büyük gruba ayrılmaktadır. AGBHS izolatlarının % 40-60'ı tarafından opasite faktörü üretilmektedir. Bu çalışmamızda da suşların % 50'sinde OF+ bulunmuştur. Bu sonuç çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarla uyumludur (24, 42). Topkaya ve arkadaşlarının 1997'de yaptıkları yurdumuzdaki ilk AGBHS serotiplendirme çalışmasında da suşların yaklaşık % 50'sinin SOF ürettiği saptanmıştır (43). AGBHS serotiplemesinde moleküler yöntemler özellikle gelişmiş ülkelerde daha kolay ve sık uygulanmakta ise de halen altın standart M proteini, T proteini ve SOF araştırılmasıdır. M proteini tesbitinde kullanılan antiserumlar tavşan immunizasyonu ile elde edilmektedir. SOF pozitif AGBHS suşları ile immunizasyon çalışmaları iyi sonuç vermemekte ve M antiserumları elde edilememektedir. Bu suşlar ancak SOF- inhibisyon yöntemi ile ve insan serumları kullanılarak serotiplendirilebilmektedir. Bu çalışma, bölgemizde infeksiyon etkeni olan AGBHS'ların SOF üretme durumlarını ortaya koymuştur. SOF varlığı ile ARA arasındaki ilişki düşünüldüğünde, on yıl öncesine göre ARA gelişme riskinde AGBHS serotipleri açısından bir azalma olmadığı söylenebilir.

Dünyada penisiline dirençli suş henüz saptanmamıştır, eritromisine direnç coğrafik bölgelere göre farklı oranlarda direnç geliştiği rapor edilmektedir.

Bu çalışmada penisilin direnci saptanmamış ve eritromisin direnci % 5 olarak tesbit edilmiştir. Bu sonuç ülkemizdeki eritromisine karşı dirençde bir artışın olmadığını göstermektedir.

İnan ve arkadaşları, Öztop ve arkadaşları, Karadenizli ve arkadaşları, Özakkaş ve arkadaşları makrolid direncini araştırdıkları çalışmalarında direnç bulmamışlardır (44, 45, 46, 47). Çiftçi ve arkadaşları, Eryılmaz ve arkadaşları, Kılıç ve arkadaşları ise makrolid direncini % 3.8 olarak tesbit etmişlerdir (48, 49, 50). Türkiye'de yapılan bir çok çalışmada bulunan direnç oranları % 0-15.9 arasındadır (51, 52, 53). Eritromisin direnci ilk kez 1958'de İngiltere'den, 1968' de Amerika'dan bildirildikten sonra dünyanın bazı bölgelerinde yüksek oranlarda dirençler tespit edilmiştir (54, 55). Bu yüksek dirençler makrolidlerin sık kullanıldığı ülkelerde olup kullanım kısıtlaması ile makrolid direncinde

azalma bulunmuştur (56, 57). Eritromisin için birçok ülkede yüksek direnç oranları bildirilmiştir. Kore’de Uh ve arkadaşları % 20.2 (58), İtalya’da Bassetti ve arkadaşları % 38.3 (59), Hindistan’da Cpoor % 29.4 (60), Polonya’da Schyzpa ve arkadaşları % 12 (61) , Berlin’de Arvand ve arkadaşları % 12.7 (62) direnç bildirmişlerdir. İspanya ve Finlandiya’da yüksek direnç oranları makrolidlerin sık reçete edilmesine bağlanmış ve bu ilişkiyi inceleyen birçok çalışma yapılmıştır (63). Tayvanda da eritromisin kullanımı azalmasına paralel olarak direnç oranlarında da düşme tespit edilmiştir (56). Avrupa’nın diğer ülkelerinde, Fransa’da Bingen ve arkadaşları % 6.2 (64), Norveç’te Littauer ve arkadaşları %2.7 (65), Sofya’da Detcheva ve arkadaşları %2.1 (66) direnç tesbit etmişlerdir. Qoubec’te Weiss ve arkadaşları % 4.6(67), USA’ da Green ve arkadaşları % 6.1 (68) Hasenbain ve arkadaşları % 7.7 (69), komşu ülkelerden Yunanistan’da Kanellopoulou ve arkadaşları 3 yıllık peryodda eritromisin direncini %5-8.7 (70) arasında bulmuşlardır.

Antibiyotikler, tüm ilaç grupları içinde en yaygın kullanılanların başında gelmektedir. Mikrobiyoloji ve infeksiyon hastalıkları alanında özellikle yirminci yüzyılın ikinci yarısında görülen hızlı değişiklikler bir yandan yeni mikroorganizmaların tanımlanmasına yol açarken, bir yandan da, bu mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde yeni antibiyotiklerin bulunması çalışmalarını da beraberinde getirmiştir. Ancak, yeni antibiyotiklerin geliştirilmesindeki ilerlemeler o denli hızlı olmuştur ki, sonunda çok sayıda antibiyotiğin varlığına ve bilinçsizce kullanılmalarına bağlı olarak, dirençli bakteri kökenlerinin oluşması, istenmeyen ilaç yan etkilerinin artması ve ekonomik yük gibi önemli sorunlar ortaya çıkmıştır. Bu sorunlardan dolayı gelişigüzel antibiyotik kullanımının önlenmesi için bazı temel ilkeler ortaya konmuştur.

Günümüzün tıp uygulamalarında antibakteriyel kullanımıyla ilgili temel problemler, ilaçların yanlış ve aşırı kullanımı olarak özetlenebilir. Bunun dışında, eski ilaçlar üzerine belirgin bir üstünlüğü olmayan, pahalı ve yeni antibiyotikler hekimlerin deneyim azlığına rağmen çekincesizce kullanılmaktadır. Her ne kadar uygun antibiyotik seçimini vurgulamada ulusal ve uluslararası çok sayıda antibiyoterapi rehberi güncellenmişse de, pratikte henüz çözümlenemeyen sorunlar bulunmaktadır. Özellikle, her hekimin kendi bilgi dağarcığına göre şekillenen antimikrobik tedavi



uygulamalarını değiştirmek kısa zamanda mümkün görünmemektedir. Ülkemizde akut tonsillit, akut sinüzit ve nonkomplike idrar yolu infeksiyonu gibi kolaylıkla ampirik tedavi ile iyileşecek toplum kaynaklı pek çok infeksiyonun etkin, parenteral ve pahalı antibiyotikler kullanılarak üstesinden gelinmeye çalışılmaktadır. Hekimlerin ilaç seçiminde, “uygun endikasyon” yerine farklı türden beklentiler etkili olmaktadır.

Antibakteriyel direncin mekanizmaları multifaktöriyel olmakla birlikte, reçetelerin özenle kısıtlandığı İskandinav ülkelerinde bile antibiyotiklere duyarsızlık ve antibiyotik tüketimi arasında doğrusal bir ilişkinin bulunduğu gösterilmiştir (71). Benzer şekilde, pnömokok gibi toplumdaki edinilmiş patojenlerde dünyadaki en yüksek bakteriyel direnç oranlarına sahip ülkelerden birisi kabul edilen İspanya’da da bu durum, toplam ilaç tüketiminin % 92’sini oluşturan antibiyotiklerin aşırı tüketimine bağlanmaktadır. (Kutu bazında Danimarka, İngiltere ve Almanya’nın antibiyotik tüketiminin, İspanya’nın ancak dörtte birine eriştiği bildirilmektedir.) Bu durum, İspanya’da bu ülkelere kıyasla çok daha yüksek bulunan antibiyotik direncinin kaynağını açıklamaktadır (71). *S. pyogenes* ve *S. pneumoniae*’de makrolid direncindeki artışta aynı dönemde korelasyon bildirilmektedir. Kişi başına yüksek antibiyotik tüketimi olan ülkelerde artmış direnç saptandığı bilinmektedir. Yine makrolid reçetelerine kısıtlama getirildiği durumlarda, *S. pyogenes*’te direnç düzeylerinde doğru orantılı düşmeler görülmektedir (71).

Antibiyotik tüketim eğilim ve alışkanlıklarımızın bilinmesi, ülkemizde gelecekte uygulamaya girebilecek muhtemel önlemlerin önünü açabilir, savurgan reçeteleri sınırlayabilir ve dolayısıyla direnç düzeylerinde artışa sebep olması beklenen dirençli suşların çıkışı en aza indirgenebilir. Antibiyoterapide bakteriyel direnç engelinin aşılabilmesi için başlıca iki yaklaşım bulunmaktadır. Birinci yaklaşım, eldeki antibiyotiklerin akılcı kullanımınıdır. İkinci yaklaşım ise yeni antibiyotikler keşfetmek ve en azından bu moleküllere direnç gelişinceye kadar zaman kazanmaktır. Dünya Sağlık Örgütü antibiyotiklerin akılcı kullanımını önermektedir. Antibiyotiklerin maliyet etkin kullanılması klinik terapötik etkinliğini artırırken ilaca bağlı toksisite ve direnç gelişimini dengeler. Maliyet etkinlik demek en ucuz antibiyotik demek değildir; doğru antibiyotiğin doğru dozda, uygun yolla gerektiği sürece verilmesi ve hastalığın tedavi edilmesidir.

Sonuç olarak ülkemiz için makrolid direnci henüz bir problem olmamakla birlikte direncin yayılımını önlemek için bu ilaçların rasyonel kullanımı sağlanmalıdır. Penisilin dışı tedavilerde kültür sonuçları dikkate alınmalıdır.

AGBHS'ların ARA ve AGN gibi sekellerinin gelişmekte olan ülkelerde hala bir problem olması, patogenezlerinin tam olarak bilinmemesi, sekellerin bazı streptokok tipleri ile iliŐkisinin gösterilmesi bu mikroorganizmanın tiplendirme çalıŐmalarının önemini ortaya koymaktadır. SOF tesbiti bu çalıŐmaların sadece ilk aŐamasıdır. Ülkemizde bu konu ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. AGBHS'ların sınıflanması aşı geliştirme ve epidemiyolojik çalışmalar için ayrı bir öneme sahiptir.

## VI. ÖZET

AGBHS farenjit ve tonsillit gibi akut infeksiyonların yanında, ARA ve AGN gibi poststreptokoksik sekelleri nedeniyle de tedavisi ve önlenmesi önemli olan streptokok infeksiyonlarının etkenidir. ARA ve AGN' ye belirli M serotipleri sebep olmaktadır. AGBHS 'leri serotiplendirmek için M proteini, T- paternleri ve serum opasite faktörü gibi geleneksel yöntemler veya moleküler yöntemler kullanılır. SOF, serotiplendirmede kullanılmakta ve ayrıca patogenezi etkileyen bir faktör olarak dikkati çekmektedir. AGBHS'de penisiline direnç tüm dünyada olmamasına rağmen eritromisin için birçok ülkeden yüksek direnç oranları bildirilmiştir. Bu çalışmada, boğaz sürüntü örneklerinden izole edilen 300 AGBHS suşunun eritromisin ve penisilin duyarlılıkları ve bunlardan 200 suşun SOF üretimi araştırılmıştır.

Eritromisin ve penisilin duyarlılık çalışmaları agar dilüsyon metodu ile CLSI önerilerine göre yapılmıştır. SOF üretimi, Lancefield HCl ekstraksiyonları kullanılarak mikropalak yöntemiyle araştırılmıştır.

Penisiline dirençli suş saptanmamıştır. Eritromisin direnci %5 bulunmuştur. SOF, çalışılan 200 suşun % 50'sinde pozitif olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, ülkemizde makrolid direnci yüksek olmamakla birlikte bu ilaçların ikinci seçenek olduğu hatırlanmalı ve rasyonel kullanımı sağlanmalıdır. Üst solunum yolu infeksiyonu etkeni olan AGBHS suşlarının yarısının SOF üretmesi nedeniyle, invaziv infeksiyonlara ve non –süpüratif sekellere neden olan serotiplerin belirlenmesinde de SOF araştırılmasının vazgeçilmez olduğu ortaya konmuştur.

ARA, AGN ve invaziv AGBHS infeksiyonlarının önlenmesi için ulusal politikaların üretilmesinde klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında AGBHS'nin doğru tanımlanması ve serotiplerinin belirlenmesi önemlidir.

## SUMMARY

Group A beta-hemolytic streptococcus (GABHS) is a microorganism causing pharyngitis and tonsillitis and its prevention and therapy is very important as it has sequels like ARA and AGN. It is known that specific M serotypes cause ARA and AGN. Clinical microbiology laboratory has an essential role in supplying accurate documentation of group A streptococcal infections and vital to national programs for the control of rheumatic fever, rheumatic heart disease, acute post streptococcal glomerulonephritis and severe invasive group A streptococcal infections. Conventional methods like protein M, T-patterns and opacity factor (OF) or molecular methods are used for serotyping of GABHS. Serum opacity factor (SOF) is used for serotyping and also is known to affect the pathogenesis.

Although resistance for penicillin in GABHS is not shown worldwide, high resistance rates for erythromycin are reported from many countries. In this study, erythromycin and penicillin sensitivity in 300 GABHS strains, isolated from throat swab specimens, were investigated. Additionally, OF production of 200 GABHS were evaluated. Erythromycin and penicillin sensitivity were detected by agar dilution method as suggested by CLSI and microtitre plate method was used for OF detection by Lancefield HCl extracts. As a result, although no penicillin resistant strains were detected, erythromycin resistance was 5% and out of 200 strains which were evaluated for OF, 50% were OF positive.

In conclusion, it is found that macrolide resistance in our country is not high, however it should be remembered that these drugs are the second choice for GABHS therapy and rational usage must be provided. Moreover, as 50 % of GABHS which cause upper respiratory infections were shown to produce OF, SOF detection in GABHS serotyping studies seem to be inevitable.

## VII. KAYNAKLAR

1-Koneman E, Allen SD, Janda WM,William MJ, Schreckenberger PC, Winn WC. The Gram-Positive Cocci Part II: Streptococci, Enterococi, and the Streptococcus –like Bacteria İn: Koneman E,Allen SD, Janda WM,William MJ, Schreckenberger PC, Winn WC. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5.Ed. Philadelphia: Lippincott; 1997:577-597

2- Söyletir G,Çerikçiođlu N, Över U, Büke M, Büke Ç. Streptokokların genel özellikleri, Beta Hemolitik Streptokoklar.Topçu A.W, Dođanay M.(Editörler) İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 1.baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi: 2002:1467-1493

3-Facklam R.What Happened To The Streptococci: Overview Of Taxonomic And Nomenclature Changes. Clin Mic Rev. 2002;15:613-630

4- Öngen B. A Grubu Streptokok İnfeksiyonlarında Tanı. Ankem Derg 2004; 18(2) 45-50

5- Baron E.J,Peterson L.R, Finegold S.M. Diagnostic microbiology. Streptococci and Related Genera. 9 th Edition St.Louis:Von Hoffman Pres,1994.

6- Murray PR, Drew WL, Kobayashi GS, Thompson JH. Medical Microbiology. 3. edition. St.louis: Mosby, 1998

7-Uzel N. Streptokok antikor testlerinin kullanımı ve yorumu. Ankem Derg. 2004; 18(2) 51-53

8-Eren A, Çıragil P, Sur H, Çapan N, Gül M. Değişik Yaş Gruplarında anti-Streptolizin-O ve Anti-deoksiribonükleaz B titrelerinin karşılaştırılması. İnf Derg. 2004;18(4):417-420

9- Tünger A. Çavuşoğlu C, Korkmaz . Medical Mikrobiyoloji. 5. Baskı. İzmir: Asya Tıp kitabevi, 2005

10-Cunningham W.M. Pathogenesis of Group A Streptococcal Infections Clin Mic Rev. 2000;13:470-511

11- Bessen D, Jones K.F, Fischetti V.A. Evidence for two distinct classes of streptococcal M protein and relationship to rheumatic fever. J Exp Med. 1989;169:269-283

12- Bisno AL. Nonsuppurative poststreptococcal sequelae: Rheumatic fever and glomerulonephritis. In: Mandel GL, Benneth JE, Dolin R editors. Principles and Practice of Infections Diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone. 2000; 2117-28.

13- Ho P.L, Johnson D.R, Yue A.W.Y, Tsang D.N.C, Que T.L, Beall B, Kaplan E. L. Epidemiologic Analysis of Invasive and Noninvasive Group A Streptococcal Isolates in Hong Kong. J Clin Microbiol. 2003;41: 937-942

14- Courtney H.S, YI LI, Dale J.B, Hasty D.L Cloning, Sequencing, and Expression of a Fibronectin/ Fibrinogen-Binding Protein from Group A Streptococci. Inf and Immunol. 1994; 62:3937-3946

15- . Rocha C.L, Fischetti V.A. Identification and Characterization of a Novel Fibronectin-Binding Protein on the Surface of Group A Streptococci. Inf and Immunol. 1999;67:2720–2728.

16- Hyland Kendra A, Beinan Wang, Cleary P.P. Protein F1 and Streptococcus pyogenes Resistance to Phagocytosis. Infec Immun. 2007;75:3188–3191

16- . Goodfellow A.M, Hibble M, Talay S.R, Kreikemeyer B, Currie B.J, Sriprakash K.S, Chhatwal G.S. Distribution And Antigenicity Of Fibronectin Binding Proteins (Sfb<sub>I</sub> And Sfb<sub>II</sub>) Of *Streptococcus pyogenes* Clinical Isolates from the Northern Territory, Australia. J Clin Microbiol. 2000; 38: 389–392.

18-Gillen C. M, Towers R.J, Mcmillam D.J, Delvecchio A, Sriprakash K.S, Currie B, Kreikemyer B, Chhatwal S.G and Walker M. J. Immunological Response Mounted

By Aboriginal Australians Living In The Northern Territory Of Australia Against *S. pyogenes* Serum Opacity Factor. *Microbiology* 2002;148: 169-178

19-Courtney H.S, Hasty D.L, Yi Li, Chiang H.C, Thacker J.L,Dale J.D. Serum opacity factor is a major fibronectin-binding protein and a virulence determinant of M type 2 *Streptococcus pyogenes*. *Molecular Microbiology* 1999;32:89-98

20- Timmer Anjuli M, Kristian Sascha A, Vivekanand Datta, Jeng Arthur, Gillen Christine M, Walker Mark J, Beall B, Nizet V. Serum Opacity Factor Promotes Group A Streptococcal Epithelial Cell Invasion And Virulence. *Molecular Microbiology* 2006;1-11

21- Courtney H.S Hasty, D.L and . Dale J.B . Serum Opacity Factor (SOF) of *Streptococcus pyogenes* Evokes Antibodies That Opsonize Homologous and Heterologous SOF-Positive Serotypes of Group A Streptococci. *Inf and Immun.* 2003;71: 5097–5103

22- Oehmcke S, Podbielski A, Kreikemeyer B. Function of the Fibronectin-Binding Serum Opacity Factor of *Streptococcus pyogenes* in Adherence to Epithelial Cells. *Inf and Immunol.* 2004;72: 4302–4308.

23- Rakonjac J.V, Robbins J.C, Fischetti V.A. DNA Sequence of the Serum Opacity Factor of Group A Streptococci: Identification of a Fibronectin-Binding Repeat Domain. *Inf and Immunol.* 1995;63: 622–631

24- Efstratiou A. Group A Streptococci in the 1990s. *J Antimicro Chemo* 2000;45:3-12

25-İstanbul Üniversitesi. Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul 2002: 11-19

26-Topkaya A.E. A Grubu Beta Hemolitik Streptokokların OF İnhibisyon İle Serotiplemesi. Uzmanlık Tezi. İstanbul. Marmara üniversitesi.1998

27- Pediatrics Severe Invasive Group A Streptococcal infections: A Subject Review. Official Pediatri 1998;101:136-140

28- Baykal Y, Sağlam K, Turan M. Akut Eklem Romatizmasının Patogenezinde Yeni Görüşler. T Klin Med Sci 1998;18

29- Kaplan E.L. Pathogenesis of acute Rheumatic fever and rheumatic heart disease: evasive after half a century of clinical, epidemiological, and laboratory investigation. Heart 2005;91:3-4

30- Quinn A, Ward K, Fischetti V.A, Hemric, Cunningham W.M. Immunological Relationship between The Class I Epitope Of Streptococcal M Protein And Myosin. Inf and Immunol 1998;66: 4418-4424

31- Jones K.F, Whitehead S.S, Cunningham W.M, Fischetti V.A. Reactivity of Rheumatic Fever and Scarlet Fever Patients' Sera with Group A Streptococcal M Protein, Cardiac Myosin, and Cardiac Tropomyosin: a Retrospective Study. Inf Immun. 2000;68:7132-7136

32- Evelyn R.B, Yarwood P.J, Mcmillan D.J, Vohra H, Currie B, Mammo L, Pruksakorn S, Saour J, Good F.M. Antibody Levels To The The Class I And II Epitopes Of M Protein And Myosin Are Related To Group A Streptococcal Exposure In Endemic Populations. Intern Immun. 2001;13:1335-1346

33- Leblebicioğlu H. Makrolidler. İnfek Derg. 2001;189-192

34- Johnson DR, Kaplan EL, Sramek J, et al. Serotyping Using The Serum Opacity Reaction. In: Laboratory Diagnosis Of Group A Streptococcal Infections. World Health Organization, Geneva. 1996;46-53

35- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 11th Informational Supplement M100-S11. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2001.



- 36- Olivier C. Rheumatic fever-is it still a problem? J Antimicrob. Chemother. 2000;45: 13-21
- 37- M.T. Parker, Winston T. Maxted and the type specificity of group A streptococci. J Med Microbiol. 2001;50:1-3
- 38- Johnson D.R, Kaplan E.L, Vangheem A, Facklam R.R, Beall B. Characterization of Group A Streptococci (*Streptococcus pyogenes*): correlation of M-protein and emm-gene type with T-protein agglutination pattern and serum opacity factor. J Med Microbiol. 2005;55:157-164
- 39- Beall B, Facklam R, Hoenes T, Schwartz B. Survey of emm gene sequences and T – Antigen Types from Systemic *Streptococcus pyogenes* infection Isolates Collected in San Francisco, Atlanta, Georgia; and Connecticut in 1994 and 1995. J Clin Microbiol. 1997;1231-1235
- 40- R. Facklam, B. Beall, A. Efstratiou, V. Fischetti, Johnson D. et al. emm Typing and Validation of Provisional M Types for Group A Streptococci. Emerg Infect Dis. 1999;5(2):46-58
- 41- Jones K.F, Manjula B.N, Johnston K.H, Hollingshead S.K, Scott J.R, Fischetti V.A. Location Of Variable And Conserved Epitopes Among The Multiple Serotypes Of Streptococcal M Protein. J Exp Med. The Rockefeller University Press. 1985; 161:623-628
- 42- Jeng A, Sakota V, Li Z, Data V, Beall B, Nizet V. Molecular Genetic Analysis of a Group A Streptococcus Operon Encoding Serum Opacity Factor and a Novel Fibronectin-Binding Protein, SfbX. J Bacteriol. 2003;185:1208-1217
- 43- Topkaya A, Babacan F. A Grubu Beta Hemolitik Streptokokların OF İnhibisyon İle Serotiplemeesi. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi. Özet Kitabı. 1998.01-21.

- 44- İnan N, Erdoğan H, Berkiten R. Çeşitli Klinik Örneklerden izole Edilen Beta-Hemolitik Streptokokların Gruplandırılması ve Antibiyotiklere Direnci. Klimik Derg. 2003;16:118-120
- 45- Öztop Y.A, Şanlıdağ T, Erandaç M. Üst Solunum Yolu İnfeksiyonlu çocuklardan izole Edilen Beta-Hemolitik Streptokokların Gruplandırılması ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması. Türk Mikrob.Cem Derg.1999;30: 73-76
- 46- Karadenizli A, Kolaylı F, Vahapoğlu H. İki yıl arayla izole edilen *S.pyogenes* suşlarında makrolid ve penisilin duyarlılığının araştırılması. İnf Derg. (Turkish J. of Inf.) 2003; 17: 35-37
- 47- Özakkaş F, Aksungar F.B, Topkaya E.A. A grubu Beta – hemolitik streptokokların bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. Ankem Derg 2007;21:10-13
- 48-Çiftçi E, Doğru Ü, Güriz H, Aysev A.D, İnce E. Antibiotic susceptibility of *Streptococcus pyogenes* strains isolated from throat cultures of children with tonsillopharyngitis. J Ankara Med Sch. 2003;25(1)15-20
- 49- Eryılmaz M, Akın A, Akan A. Ö.Boğaz kültürlerinden elde edilen A grubu Beta – hemolitik Streptokokların antibiyotik duyarlılıkları. Ankem Derg 2006;20(1):10-12
- 50-Kılıç A, Başustaoğlu A.C, Aydoğan H, Saraçlı M.A, Özyurt M. GATA Hastanesinde İzole Edilen Solunum Yolları İzolatları ve Direnç Dağılımları. Klimik Derg. 2000;3: 106-110
- 51- Berkiten R, Gürol S.D. Solunum Yolu İnfeksiyonlarından İzole Edilen Beta Hemolitik Streptokoklar ve Eritromisin Direnci. Türk Mikrob Cem Derg.1999; 30:20-22
- 52-Acıkgoz Z.C, Göçer S, Tuncer S. Macrolide Resistance Determinants Of Group A Streptococci in Ankara, Turkey. J Antimic Chemother. 2003; 52:110–112

53- Altındaş M, Dereköy FS, Çeri A. İlkokul öğrencilerinde A grubu beta hemolitik streptokok portörlüğü ve suşların eritromisine duyarlılıkları. Türk Mikrob Cem Derg. 2003;33:104-108

54- Alos J.I, Aracil B, Oteo J, Torres C, Gomes-Garces J. L. High Prevalence Of Erytromycin –Resistant, Clindamycin/Miocomycin-Susceptible (M Phenotype) *S.pyogenes*: Results Of A Spanish Multicentre Study İn 1998. J Antimic Chemother. 2000;45:605-609

55-Tamayo J, Perez-Trallero E, Gomez-Garces L, Alos J.I. Resistance to Macrolides, Clindamycin, and Telithromycin in *Streptococcus pyogenes* İsolated in Spain During 2004. J Antimic Chemother. 2005;56: 780-782

56- Po-Ren Hsueh, Jaiinn-Ming S, Jiunn-Jong W. Decreased Erytromycin Use after Antimicrobial Reimbursement Restriction for Undocumented Bacterial Upper Respiratory Tract İnfections Significantly Reduced Erytromycin Resistance in *Streptococcus pyogenes* in Taiwan. Clin İnf Dis 2005;40:903-905

57-Seppala H, Klaukka T, Vuopia-Varkila J, Muotiala A, Helenius H, Lager K, Huopinen P. The Effect Of Changes İn The Consumption Of Macrolide Antibiotics On Erytromycin Resistance İn Group A Streptococci. N Engl J Med 1997;337:441-446

58- Young Uh, In Ho Jang, Gyu Yel Hwang, Mi Kyung Lee, Kap Jun Yoon, and Hyo You Kim. Antimicrobial Susceptibility Patterns and Macrolide Resistance Genes of Hemolytic Streptococci in Korea. Antimic Chemoter. 2004;48: 2716–2718

59- Bassetti M, Graziana M, Collidà A, Ferrando A, Gatti G, Ugolotti E, Cruciani M, Bassetti D. Erythromycin Resistance in *Streptococcus pyogenes* in Italy. Emer Infec Dis. 2000;6(2)180-183

60- Capoor M.R, Nair D, Deb M, Batra K, Aggarwal P. Resistance to erytromycin and rising penicillin MİC in *Streptococcus pyogenes* in İndia. J Infect Dis 2006;59:334-336

61-Szczypa K, Sadowy E, Izdebski R, Hryniewicz W. A Rapid Increase in Macrolide Resistance in *Streptococcus pyogenes* isolated in Poland during 1996–2002. J Antimic Chemother. 2004;54: 828–831

62- Arvand M, Hoeck M, Hahn H, Wagner J. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pyogenes* Isolates in Berlin. J Antimic. Chemot. 2000;46: 621-623

63- Granizo J. J, Aguilar L, Casal J, Dal-re R, Baquero F. *S.pyogenes* Resistance to Erythromycin in Relation to Macrolide Consumption in Spain (1986-1997). J Antimic. Chemo. 2000;46:959-964

64- Bingen B, Fitoussi F, Doit C, Cohen R, Tanna A, Deforche D.et all. Resistance to Macrolides in *Streptococcus pyogenes* in France in Pediatric Patients. Antimic Agents Chemo. 2000;44:1453–1457

65- P. Littauer, D. A. Caugant, M. Sangvik, E. A. Høiby, A. Sundsfjord, G. S. Simonsen, and the Norwegian Macrolide Study Group Macrolide-Resistant *Streptococcus pyogenes* in Norway: Population Structure and Resistance Determinants. Antimic Agents Chemother. 2006;50: 1896–1899

66- Detcheva A, Facklam R, Beall B. Erythromycin-Resistant Group A Streptococcal Isolates Recovered in Sofia, Bulgaria, from 1995 to 2001. J Clin Microb. 2002;40:3831–3834

67- Weiss K, Azavedo J.V, Restieri C, Galarneau A, Harvey P, Paradis J.F, Salim K, Low D.E. Phenotypic And Genotypic Characterization Of Macrolide-Resistant Group A Streptococcus Strains In the Province Of Quebec, Canada. J Antimic. Chem. 2001;47:345-348

68- Green D.M, Beall B, Marcon J.M, Allen H.C, Bradley J.S, Dashefsky B, Gilsdorf R.J ett all. Multicentre surveillance of the prevalence and molecular epidemiology of macrolide resistance among pharyngeal isolates of group A streptococci in the USA. J Antimic Chemother. 2006; 57: 1240–1243

69- Hasenbein M.E, Warner J.E, Lambert K.G, Cole S. E, Onderdonk B.A, McAdam A.J. Detection Of Multiple Macrolide-And Lincosamide-Resistant Strains of *S. Pyogenes* From Patients İn The Boston Area. J Clin Mic. 2004;42:1559-1563,

70- Kanellopoulou M, Marki A, Damaskopoulou, Malamou-Lada H. İsolation Ratio, T- Serotyping And Susceptibility To Antibiotics Of Group A Streptococcus From Pediatric İnfections İn Athens. Clin Mic and İnf. 2000;6: 653-656

71- Erdem H, Bakır M. Toplumdan elde edinilmiş patojenlerde antibiyotik ve direnç ilişkisi. Klimik Derg. 2002;15:8-11