

## GEBE KADINLARDAN İZOLE EDİLEN *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* SUŞLARININ ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIKLARI VE SEROTİP DAĞILIMI

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITIES AND SEROTYPE DISTRIBUTION OF *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* STRAINS ISOLATED FROM PREGNANT WOMEN

**Gülğün YENİŞEHİRLİ\***, **Yunus BULUT\***  
**Fazlı DEMİRTÜRK\*\***, **A.Cantuğ ÇALIŞKAN\*\***

**ÖZET:** *Streptococcus agalactiae* (Grup B streptokok, GBS) neonatal morbidite ve mortalitenin artmasından sorumlu en önemli bakteriyel patojendir. Bu çalışmanın amacı, gebe kadınlardan izole edilen GBS suşlarının serotip dağılımlarını ve antibiyotik duyarlılık durumlarını belirlemektir. Toplam 671 gebe kadın vajinal GBS taşıyıcılığı yönünden taranmış, vajinal kolonizasyon oranı %14.6 olarak bulunmuştur. Tüm GBS izolatlarının penisilin, vankomisin, kloramfenikol ve ofloksasine duyarlı olduğu saptanmıştır. GBS izolatlarında tetrasiklin, eritromisin ve klindamisin direnci sırasıyla %81.6, %24.5 ve %19.4 olarak belirlenmiştir. GBS izolatlarının serotiplendirilmesi sonucu en yaygın serotipin serotip III (%33.7) olduğu ve bunu serotip Ib (%24.5), serotip V (%18.4), serotip Ia (%7.1), serotip IV (%3.1) ve serotip II (%2)'nin izlediği gözlenmiştir. Onbir GBS izolatu ise kullanılan antiserumlarla tiplendirilememiştir.

**Anahtar sözcükler:** *Grup B streptokok, antimikrobial duyarlılık, serotip.*

**ABSTRACT:** *Streptococcus agalactiae* (Group B streptococcus, GBS) is an important cause of neonatal morbidity and mortality. The aim of this study was to determine the serotype distribution and antibiotic susceptibility patterns of GBS isolated from pregnant women. A total of 671 pregnant women were screened for vaginal carriage of GBS, and vaginal colonization rate was found to be 14.6%. All GBS isolates were susceptible to penicillin, vancomycin, chloramphenicol and ofloxacin. The rates of GBS resistance to tetracycline, erythromycin and clindamycin were 81.6%, 24.5% and 19.4%, respectively. The serotype distribution of GBS isolates was as follows in order of frequency; serotype III (33.7%), serotype Ib (24.5%), serotype V (18.4%), serotype Ia (7.1%), serotype IV (3.1%) and serotype II (2%). Eleven GBS isolates could not be serotyped by the antisera set used in the study.

**Key words:** *Group B streptococcus, antimicrobial susceptibility, serotype.*

\* Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tokat.

\*\* Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Tokat.

## GİRİŞ

*Streptococcus agalactiae* (Grup B streptokok, GBS) yenidoğan bebeklerde menenjit, sepsis gibi ciddi enfeksiyonlara, gebe kadınlarda ve alta yatan kronik hastalığı bulunan kişilerde çeşitli enfeksiyonlara yol açabilen bir bakteridir<sup>1</sup>. Gebe kadınların yaklaşık %10-30'unun vajinal veya rektal yollarında GBS kolonizasyonu varlığı bilinmektedir<sup>1,2</sup>. Rektal, vajinal veya üriner kanallarında GBS kolonizasyonu olan anneden peripartum dönemde bebeğe GBS bulaşması ve neonatal enfeksiyona yol açması riski yüksek olduğundan CDC (Centers for Disease Control and Prevention) tüm gebe kadınlara gestasyonun 35-37. haftalarında vajinal ve rektal tarama yapılmasını ve kültür sonucuna göre intrapartum penisilin kullanılmasını önermektedir<sup>3</sup>. Bugüne kadar GBS suşlarında penisilin direnci bildirilmemesine rağmen, penisilin allerjisi olan hastalarda beta-laktam grubu antibiyotikler kullanılamamakta ve başka antibakteriyel ajanlara gereksinim duyulmaktadır. Son yıllarda penisilin allerjisi olan kişilerin tedavi veya profilaksisinde alternatif olarak kullanılacak ajanlar olan eritromisin ve klindamisinine karşı GBS izolatlarının duyarlılıklarında azalma olduğunu bildiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır<sup>4,5</sup>.

İnvaziv GBS enfeksiyonlarında etken olarak izole edilen suşların genellikle serotip Ia, Ib, II, III ve V'e ait oldukları rapor edilmektedir<sup>6,7</sup>. Bu çalışmanın amacı, hastanemizde takip edilen gebe kadınlarda GBS kolonizasyonu sıklığını belirlemek ve izole edilen GBS suşlarının antimikrobiyal direnç profillerini ve serotiplerini saptayarak doğru tedavi yaklaşımlarının seçilmesine katkıda bulunmaktır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

*İzolatlar:* Temmuz 2002-Ağustos 2005 tarihleri arasında, hastanemiz Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuran 671 gebe kadının, gestasyonlarının 35-37. haftalarında alınan rutin vajinal kültürlerinden izole edilen 98 GBS suşu çalışmaya dahil edildi. Steril eküvyon çubukla alınan kültürler 10 µg/ml kolistin ve 15 µg/ml nalidiksik asit içeren Todd-Hewitt besiyerine (Oxoid, İngiltere) ekilerek 35°C'de, 18-24 saat %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edildi. Ardından %5 defibrine koyun kanı içeren Mueller-Hinton agar (MHA, Oxoid, İngiltere) pasajlanan kültürler 24-48 saat sonra değerlendirildi. GBS tanısı için standart laboratuvar metodları ve lateks aglütinasyon testi (Plasmatec, Axis-Shield Diagnostica, İngiltere) kullanıldı. Suşlar, duyarlılık testleri ve serotiplendirme yapılabildiği kadar -70°C'de %15 gliserol içeren Todd-Hewitt besiyerinde saklandı<sup>7</sup>.

*Antibiyotik Duyarlılık Testleri:* Antibiyotik duyarlılık testleri CLSI (Clinical and Laboratory Institute) önerileri doğrultusunda agar dilüsyon yöntemi ile belirlendi<sup>8</sup>. Test edilecek bakteriler 0.5 McFarland bulanıklığa ayarlandıktan sonra, son inokulum 10<sup>4</sup> cfu/ml olacak şekilde sulandırılarak 0.003-64 µg/ml konsantrasyonlarda antibiyotik içeren %5 koyun kanlı MHA'a inoküle edildi. Plaklar 35°C'de 20-24 saat %5 CO<sub>2</sub> içeren etüvde inkübe edildi. Kontrol suşu olarak *S.pneumoniae* ATCC 49619 ve *E.faecalis* ATCC 29212 kullanıldı.

Çalışılan izolatların duyarlılık durumları CLSI tarafından önerilen sınır değerlere göre belirlendi. Test edilen antibiyotiklerin MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyon) sınır değerleri şu şekilde idi: Penisilin MİK ≤ 0.12 µg/ml duyarlı; eritromisin MİK ≤ 0.25

$\mu\text{g/ml}$  duyarlı,  $\geq 1 \mu\text{g/ml}$  dirençli; klindamisin  $\text{MIK} \leq 0.25 \mu\text{g/ml}$  duyarlı,  $\geq 1 \mu\text{g/ml}$  dirençli; tetrasiklin  $\text{MIK} \leq 2 \mu\text{g/ml}$  duyarlı,  $\geq 8 \mu\text{g/ml}$  dirençli; kloramfenikol  $\text{MIK} \leq 4 \mu\text{g/ml}$  duyarlı,  $\geq 16 \mu\text{g/ml}$  dirençli; ofloksasin  $\text{MIK} \leq 2 \mu\text{g/ml}$  duyarlı,  $\geq 8 \mu\text{g/ml}$  dirençli; vankomisin  $\text{MIK} \leq 1 \mu\text{g/ml}$  duyarlı.

*Serotiplendirme:* Tüm GBS suşları, serotip Ia, Ib, II, III, IV ve V'e ait antiserumlar (Denka Seiken, Tokyo, Japonya) kullanılarak aglütinasyon yöntemiyle serotiplendirildi.

## B U L G U L A R

Çalışmaya alınan gebe kadınlardan 98'inin (%14.6) vajinal kültürlerinden GBS izolasyonu yapılmıştır. İzolatların penisilin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, kloramfenikol, ofloksasin ve vankomisin duyarlılık yüzdeleri,  $\text{MIK}_{50}$ ,  $\text{MIK}_{90}$  değerleri ve  $\text{MIK}$  aralıkları Tablo I'de gösterilmiştir. GBS izolatlarının tümü penisilin, ofloksasin, kloramfenikol ve vankomisine duyarlı bulunmuştur. İzolatların eritromisin, klindamisin ve tetrasiklin duyarlılıkları ise sırasıyla %71.4, %75.5 ve %13.3'dür.

Tablo I: GBS İzolatlarının Antibiyotiklere Duyarlılık Durumları

Antibiyotik	MIK ( $\mu\text{g/ml}$ )			İzolatların yüzdesi (n: 98)		
	Aralık	$\text{MIK}_{50}$	$\text{MIK}_{90}$	Duyarlı	Orta dirençli	Dirençli
<i>Penisilin</i>	0.03–0.06	0.03	0.06	100	–	–
<i>Eritromisin</i>	0.03–>64	0.25	4	71.4	4.1	24.5
<i>Klindamisin</i>	0.06–>64	0.25	8	75.5	5.1	19.4
<i>Tetrasiklin</i>	0.125–>64	8	32	13.3	5.1	81.6
<i>Kloramfenikol</i>	1–4	2	4	100	–	–
<i>Ofloksasin</i>	0.125–2	0.5	1	100	–	–
<i>Vankomisin</i>	0.25–0.5	0.25	0.5	100	–	–

GBS izolatlarının serotiplendirilmesi sonucu, en yaygın serotipin serotip III (%33.7) olduğu saptanmış, 11 (%11.2) izolat kullanılan antiserumların hiçbiri ile aglütinasyon vermemiştir. Tiplendirilemeyen üç GBS suşu test edilen tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur. GBS izolatlarının serotip dağılımları, dirençli oldukları antibiyotiklere göre Tablo II'de verilmiştir.

Tablo II: GBS İzolatlarının Dirençli Oldukları Antibiyotiklere Göre Serotip Dağılımı (n: 98)

Serotip	Sayı (%)	Antibiyotik		
		Eritromisin	Klindamisin	Tetrasiklin
Ia	7 (7.1)	1	2	7
Ib	24 (24.5)	2	3	24
II	2 (2)	–	–	2
III	33 (33.7)	10	5	29
IV	3 (3.1)	–	–	2
V	18 (18.4)	9	7	12
Tiplendirilemeyen	11 (11.2)	2	2	4

## TARTIŞMA

Maternal GBS kolonizasyon oranları, coğrafi bölgelere ve toplumun sosyokültürel özelliklerine göre farklılıklar göstermektedir. Bu oranlar Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Kanada gibi gelişmiş ülkelerde %15-40, Avrupa ülkelerinde %7-28, Kore'de ise %5.9 olarak bildirilmiştir<sup>9-13</sup>. Ülkemizde yapılan farklı çalışmalarda maternal GBS kolonizasyon oranının %7-32 arasında olduğu belirtilmektedir<sup>14-17</sup>. Bizim çalışmamızda saptanan oran (%14.6) bu bulgularla paraleldir.

Çeşitli çalışmalarda, GBS ile kolonize anneden bebeğe enfeksiyon bulaşma oranının %29-78 olduğu gösterilmiştir<sup>13,18</sup>. Bu durumda perinatal enfeksiyonların önlenmesi amacıyla intrapartum penisilin kullanılması önerilmektedir. Penisilin allerjisi olan hastalarda ise eritromisin veya klindamisin tercih edilmektedir<sup>3</sup>. Son yıllarda yapılan araştırmalarda, yenidoğan invaziv enfeksiyonlarından sorumlu GBS izolatlarında penisilin direnci bildirilmemesine rağmen, eritromisin direncinin %7-25, klindamisin direncinin %3-15 oranlarında olduğu rapor edilmiştir<sup>4,18,19</sup>. Bu çalışmada GBS izolatlarının tümü penisilin, ofloksasin, kloramfenikol ve vankomisine duyarlı bulunurken, %24.5'i eritromisine, %19.4'ü klindamisine dirençli bulunmuştur.

Tetrasiklin, test edilen antibiyotikler içinde izolatların en yüksek direnç (%81.6) gösterdiği antimikrobiyal ajan olmuştur. Benzer sonuçlar diğer çalışmalarda da bildirilmektedir<sup>7,20,21</sup>. Tetrasiklin direncinin, transpozonla taşınan *tet M* genine bağlı olduğu düşünülmektedir<sup>20</sup>. Tetrasiklin, gebe kadınlarda ve çocuklarda profilaksi veya tedavi amacıyla kullanılan bir antibiyotik olmadığından dolayı, GBS izolatlarında tetrasiklin direncinin yüksek olmasının nedeni tam olarak anlaşılamamıştır<sup>20</sup>.

Bu çalışmada GBS suşlarının tamamı penisilinin yanı sıra vankomisin, ofloksasin ve kloramfenikole de duyarlı bulunmuştur. Bu sonuçlar, yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile uyumludur<sup>4,7,18,20</sup>.

Grup B streptokoklar, kapsüler polisakkaritin zincir yapısındaki değişikliklerden dolayı farklı serotiplere ayrılırlar. Bugüne kadar tespit edilebilen yedi serotip (Ia, Ib, II-VII) bulunmaktadır<sup>22</sup>. GBS serotiplerinin dağılımı; coğrafi bölgelere, hastanın enfeksiyon bölgesine ve zamana göre farklılıklar gösterdiği için GBS enfeksiyonlarının epidemiyolojik araştırmalarında serotiplendirme yöntemi kullanılmaktadır<sup>7</sup>. ABD'nde 1970'li yıllarda yapılan ilk çalışmalarda, neonatal ve perinatal enfeksiyonlara yol açan GBS majör kapsüler serotiplerin Ia, Ib, IV ve III oldukları bildirilmekteydi<sup>23</sup>. Son yıllarda yapılan araştırmalarda gebe kadınlardan izole edilen suşlarda en sık rastlanılan serotiplerin Ia veya Ib, III, ve V olduğu, tip V'in ise gebe olmayan erişkinlerden izole edilen en yaygın serotip olduğu rapor edilmiştir<sup>6,7,18,21</sup>. Eren ve arkadaşları<sup>16</sup>, ülkemizde yaptıkları çalışmada serotip Ia, II ve III'ün anneden bebeğe geçen en yaygın serotipler olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda, en yaygın serotipin, serotip III (%33.7) olduğu ve bunu sırasıyla serotip Ib (%24.5), serotip V (%18.4), serotip IV (%3.1) ve serotip II'nin (%2) izlediği belirlenmiştir. Onbir GBS izolatı kullanılan antiserumlar ile serotiplendirilememiştir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde GBS enfeksiyonlarına yol açan 5 majör serotipin kapsüler polisakkaritlerinden oluşan aşı, faz I ve faz II çalışmaları aşamasındadır. Yapılan çalışmalar, konjuge polisakkarit aşının kullanıma girmesiyle GBS'nin

etken olduğu maternal enfeksiyon, ölü doğum ve yenidoğan enfeksiyonlarından uzun süreli korunma sağlanacağını göstermektedir<sup>24</sup>. Bizim ülkemizde aşının etkinliğinin tam olarak değerlendirilebilmesi için, serotip dağılımı hakkında daha fazla epidemiyolojik bilgiye ihtiyaç vardır.

Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada, penisilin direncine rastlanmamış olmasına rağmen penisilin toleransına bağlı tedavi başarısızlıkları bildirilmeye başlamıştır<sup>25</sup>. Ayrıca penisilin allerjisi olan hastaların tedavisinde alternatif tedavi seçenekleri olan eritromisin ve klindamisine karşı GBS izolatlarında hızla direnç geliştiği gözlenmektedir. Tüm bu sebepler göz önünde tutulduğunda, rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında antimikrobiyal duyarlılık testlerinin uygulanması, GBS ile kolonize gebelerde etkin intrapartum profilaksinin sağlanabilmesi için gereklidir.

#### KAYNAKLAR

- Schuchat A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: shifting paradigms. *Clin Microbiol Rev* 1998;11: 497-513.
- Grimwood K, Stone PR, Gosling IA, et al. Late antenatal carriage of group B streptococcus by New Zealand women. *Aust N Z J Obstet Gynecol* 2002; 42: 182-6.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease: revised guidelines from CDC. *Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51 (No. RR-11): 1-22.
- Bland MB, Vermillion ST, Soper DE, et al. Antibiotic resistance patterns of group B streptococci in late third-trimester rectovaginal cultures. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 1125-6.
- Grimwood K, Darlow BA, Gosling IA, et al. Early-onset neonatal group B streptococcal infections in New Zealand 1998-1999. *J Pediatr Child Health* 2002; 38: 272-7.
- Hickman ME, Rench MA, Ferrieri P, et al. Changing epidemiology of group B streptococcal colonization. *Pediatrics* 1999; 104: 203-9.
- Ko WC, Lee HC, Wang LR, et al. Serotyping and antimicrobial susceptibility of group B streptococcus over an eight-year period in Southern Taiwan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 334-8.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Document M100-S12, 2001. CLSI, Wayne, Pa.
- Anthony BF, Eisenstadt R, Carter J, et al. Genital and intestinal carriage of group B streptococci during pregnancy. *Eur J Epidemiol* 1987; 3: 419-22.
- Campbell JR, Hillier SI, Krohn MA, et al. Group B streptococcal colonization and serotype-specific immunity in pregnant women at delivery. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 498-503.
- Feikin RD, Thorsen P, Zywicki S, et al. Association between colonization with group B streptococci during pregnancy and preterm delivery among Danish women. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 427-33.
- Votana M, Tejkakova M, Drabkova M, et al. Use of GBS media for rapid detection of group B streptococci in vaginal and rectal swabs from women in labor. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 120-2.
- Uh Y, Jang IH, Yoon KJ, et al. Colonization rates and serotypes of group B streptococci isolated from pregnant women in a Korean tertiary hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 753-6.
- Gökalp A, Bakıcı MZ. Relationship between neonatal group B streptococcal colonization and the maternal urogenital and anorectal carrier state. *Mikrobiyol Bul* 1985; 19: 65-72.
- Arsoy AS, Altınışık B, Tunger O, et al. Maternal carriage and antimicrobial resistance profile of group B streptococcus. *Infection* 2003; 31: 244-6.

16. Eren A, Küçükercan M, Oğuzoğlu N, et al. The carriage of group B streptococci in Turkish pregnant women and its transmission rate in newborns and serotype distribution. *Turk J Pediatr* 2005; 47: 28-33.
17. Kadanalı A, Altoparlak Ü, Kadanalı S: Maternal carriage and neonatal colonization of group B streptococcus in eastern Turkey: prevalence, risk factors and antimicrobial resistance. *Int J Clin Pract* 2005; 59: 437-40.
18. Tsolia M, Psoma M, Gavrili S, et al. Group B streptococcus colonization of Greek pregnant women and neonates: prevalence, risk factors and serotypes. *Clin Microbiol Infect* 2003, 9:832-838.
19. Andrews JL, Diekema DJ, Hunter SK, et al. Group B streptococci causing neonatal bloodstream infection: antimicrobial susceptibility and serotyping results from SENTRY centers in the Western Hemisphere. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 859-62.
20. De Azavedo JCS, Mcgavin M, Duncan C, et al. Prevalence and mechanisms of macrolide resistance in invasive and noninvasive group B streptococcus isolates from Ontario, Canada. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 3504-8.
21. Motlova J, Strakova L, Urbaskova P, et al. Vaginal and rectal carriage of *Streptococcus agalactiae* in the Czech Republic: incidence, serotypes distribution and susceptibility to antibiotics. *Indian J Med Res* 2004, 119 (Suppl): 84-7.
22. Harrison LH, Eliot JA, Dwyer DM, et al. Serotype distribution of invasive group B streptococcal disease in Maryland: implications for vaccine formulation. *J Infect Dis* 1998; 177: 998-1002.
23. Wilkinson HW. Analysis of group B streptococcus types associated with disease in human infants and adults. *J Clin Microbiol* 1978; 7: 176-9.
24. Baker CJ, Edwards MS, Kasper DL. Group B streptococcal conjugate vaccines. *Arch Dis Childhood* 2003; 88: 375-8.
25. Wu JJ, Lin KY, Hsueh PR, et al. High incidences of erythromycin-resistant streptococci in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:844-6.