

## A GRUBU BETA-HEMOLİTİK STREPTOKOKLARDA ERİTROMİSİN DİRENÇ ORANLARININ VE DİRENÇ FENOTİPİNİN ARAŞTIRILMASI\*

INVESTIGATION OF ERYTHROMYCIN RESISTANCE AND RESISTANCE PHENOTYPES IN GROUP A BETA HEMOLYTIC STREPTOCOCCI

*Esmâ GÜNDÜZ KAYA\*\**, *Mihriban YÜCEL\*\**, *A.Esra KARAKOÇ\*\**

**ÖZET:** A grubu beta-hemolitik streptokoklarda (AGBHS) penisilin direnci günümüze kadar saptanmamış olmasına rağmen, eritromisin ve diğer makrolid grubu antibiyotik direnci son yıllarda gittikçe artan sıklıkla bildirilmektedir. Bu çalışmada, S.B. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na kabul edilen boğaz sürüntü örneklerinden izole edilen 282 AGBHS izolatının, agar dilüsyon yöntemiyle eritromisin direncinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca dirençli izolatların, eritromisin ve klindamisin diskleri kullanılarak çift disk yöntemi ile direnç fenotipleri belirlenmiştir. Çalışmaya alınan izolatların 12'si (%4.3) eritromisine dirençli bulunmuş, bu izolatların beşinde (%41.7) M fenotipi, dördünde4 (%33.3) konstitütif tipte  $MLS_B$  fenotipi, üçünde (%25) de indüklenebilir tipte  $MLS_B$  fenotipi saptanmıştır. AGBHS enfeksiyonlarının tedavisinde, penisiline alternatif olarak kullanılan makrolidlere karşı direnç oranlarının ve fenotiplerinin belirlenmesi, hem epidemiyolojik veri elde edilmesi hem de tedavinin yönlendirilmesi açısından son derece önemlidir.

**Anahtar sözcükler:** *A grubu beta hemolitik streptokok, eritromisin direnci, direnç fenotipi.*

**ABSTRACT:** Although penicillin resistance has not been determined in group A beta haemolytic streptococci (GABHS) yet, resistance to erythromycin and other macrolids is being reported frequently in the last years. In this study we investigated erythromycin resistance by using agar dilution method in 282 GABHS strains which were isolated from throat cultures that had been evaluated in the Ministry of Health, Ankara Training and Research Hospital's, Microbiology Laboratory. We also determined resistance phenotypes of resistant strains by double disc synergy method using erythromycin and clindamycin discs. Twelve of 282 strains (4.3%) were found resistant to erythromycin; five (41.7%) of which were M phenotype, four (33.3%) of which were constitutive type  $MLS_B$  phenotype and three (25%) of which were inducible type  $MLS_B$  phenotype. Investigation of

\* XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde (16-20 Kasım 2005, Belek-Antalya) poster olarak sunulmuştur.

\*\* SB Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara.

resistance to macrolides that are alternatives to penicillin therapy in GABHS, is very important for the determination of the therapy and also to provide epidemiological data.

*Key words: Group A beta-haemolytic streptococci, erythromycin resistance, resistance phenotype.*

## G İ R İ Ş

*Streptococcus pyogenes* (A grubu beta-hemolitik streptokok; AGBHS), akut bakteriyel farenjitin en sık rastlanan etkeni olmakla birlikte, yumuşak doku enfeksiyonlarına ve daha nadir olarak endokardit, pnömoni, menenjit ve sepsis gibi invaziv enfeksiyonlara neden olabilen bir mikroorganizmadır. Ayrıca akut romatizmal ateş ve akut glomerulonefrit gibi ciddi poststreptokokal komplikasyonlara yol açabilmekte ve bu da *S.pyogenes* enfeksiyonlarının tedavisinin önemini ortaya koymaktadır<sup>1</sup>. *S.pyogenes* enfeksiyonlarının tedavisinde penisilin, uzun süredir başarı ile kullanılmaktadır ve çok yaygın kullanılmasına rağmen halen penisiline dirençli izolat bildirilmemiştir. Ancak penisilin allerjisi olan hastalarda veya klinik başarısızlık durumunda alternatif olarak kullanılan eritromisin ve diğer makrolid grubu antibiyotiklere karşı son yıllarda giderek artan oranda direnç gelişimi söz konusudur<sup>2-6</sup>.

Eritromisin 14 üyeli makrolid olup, 50S ribozomal alt ünite üzerinden bakteriyel protein sentezini inhibe eden bir antibiyotiktir<sup>2</sup>. Eritromisin direncinin en önemli ve en sık karşılaşılan mekanizması, bakteri ribozomunun 23S rRNA ünitesinde metilasyon ya da nadiren mutasyon sonucu hedef bölgede değişiklik meydana gelmesi ve antibiyotiğin hedef bölgeye bağlanmasının önlenmesidir<sup>2,3,7</sup>. Bu tür dirençte, aynı hedefe bağlanarak etki gösteren linkozamid ve streptogramin B grubu antibiyotiklere de çapraz direnç ortaya çıkar (MLS<sub>B</sub> direnci)<sup>7</sup>. MLS<sub>B</sub> direncine neden olan metilaz enzimleri, plazmid ve transpozonlarla yayılan *erm* (erythromycin resistance methylase) genleri tarafından kodlanır ve sentezlenen metilaz enziminin yapısal veya indüklenebilir özellikte olmasına bağlı olarak iki MLS<sub>B</sub> direnç fenotipi ortaya çıkar. Konstitütif tipte MLS<sub>B</sub> (cMLS<sub>B</sub>) fenotipinde, *S.pyogenes* her üç grup antibiyotiğe de yüksek konsantrasyonda dirençlidir. İndüklenebilir tipte MLS<sub>B</sub> (iMLS<sub>B</sub>) fenotipinde ise eritromisine yüksek ya da düşük düzey dirençle birlikte klindamisine duyarlılık ya da direnç gibi farklı fenotipler görülebilir. Bu fenotipin saptanması, tedavide uygulanacak eritromisinin enzim indüksiyonu yapabileceğini ve bu durumda tedavide makrolid ve linkozamidlerin etkisiz kalabileceğini göstermesi açısından önemlidir<sup>3,7,8</sup>.

Eritromisin direncinin diğer mekanizması, hücre içi ilaç konsantrasyonunu azaltan aktif pompa yoluyla. *MefA* geninin sorumlu olduğu ve 'M fenotipi' olarak adlandırılan bu direnç mekanizmasında, 14 ve 15 üyeli makrolidler hücre dışına pompalanırken, 16 üyeli makrolidler, linkozamidler ve streptograminler pompalanamaz. Böylece bu direnç fenotipinde suşlar, 14 ve 15 üyeli makrolidlere dirençli iken 16 üyeli makrolidler, linkozamidler ve streptograminlere duyarlı kalmaktadır<sup>3,8-10</sup>.

AGBHS'larda makrolid direnç oranları ile direnç fenotipleri dünya çapında bölgesel farklılık göstermektedir<sup>3,5,11</sup>. Bu nedenle direnç sıklığı ve fenotiplerinin belirlenmesi, hem epidemiyolojik veri elde edilmesi hem de tedavinin yönlendirilmesi açısından son derece önemlidir. Bu çalışmada, laboratuvarımızda izole edilen AGBHS'larda eritromisin direnç sıklığı ve direnç fenotiplerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada, laboratuvarımızda boğaz sürüntü örneklerinden Temmuz 2004-Temmuz 2005 tarihleri arasında izole edilen 282 AGBHS suşunun, agar dilüsyon yöntemi ile eritromisin direnci araştırıldı ve dirençli suşların çift disk yöntemi ile direnç fenotipleri belirlendi.

Boğaz sürüntü örnekleri %5 koyun kanlı agara (Salubris, Türkiye) ekilerek, 37°C'de, %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda, 20-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, koloni morfolojisi, beta hemoliz karakteri, Gram boyama ve katalaz testi sonuçlarına göre beta-hemolitik streptokok olduğu belirlenen kolonilerin, 0.04 Ü basitrasin diskleri (Bioanalyse, Türkiye) kullanılarak basitrasin duyarlılıkları araştırıldı. Basitrasine duyarlı olduğu belirlenen izolatların kesin tanımlanması PYR testi (Oxoid, İngiltere) ile yapıldı. AGBHS olarak tanımlanan suşlar %10 gliserollü buyyona saf kültür halinde ekilerek, çalışılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Çalışma gününden 24 saat önce %5 koyun kanlı agar plaklarına tek koloni izole edilecek şekilde ekim yapıldı. 37°C'de 24 saat inkübasyon sonunda üreyen kolonilerin eritromisin duyarlılıkları, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) kurallarına uygun olarak agar dilüsyon yöntemi ile belirlendi<sup>12</sup>. Eritromisinin 0.06 µg/ml ile 4 µg/ml aralığında iki kat konsantrasyonlarını içeren %5 koyun kanlı Mueller Hinton Agar (MHA) besiyeri (Oxoid, İngiltere) hazırlandı. Bakteri süspansiyonu Mueller Hinton sıvı besiyerinde 10<sup>4</sup> cfu/spot konsantrasyonda hazırlanarak inoküle edildi. Plakların 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 24 saat inkübasyonundan sonra, üremenin görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu, minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirildi. Eritromisin MİK değeri ≤0.25 µg/ml olan suşlar eritromisine duyarlı, 0.5 µg/ml'e eşit olan suşlar eritromisine orta duyarlı, ≥1 µg/ml olan suşlar ise eritromisine dirençli olarak kabul edildi. Kontrol suşu olarak *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 kullanıldı.

Dirençli olduğu saptanan AGBHS izolatlarının çift disk yöntemi ile direnç fenotipleri belirlendi. Dirençli izolatların, steril %0.9'luk NaCl içinde 0.5 McFarland standart bulanıklıkta süspansiyonu hazırlanarak, %5 koyun kanlı MHA besiyeri yüzeyine inoküle edildi ve üzerine merkezden merkeze 15 mm aralıklı olacak şekilde eritromisin (15 µg) (Bioanalyse, Türkiye) ve klindamisin (2 µg) (Bioanalyse, Türkiye) diskleri yerleştirildi. Plaklar 37°C'de, %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 24 saat inkübasyona bırakıldı. Eritromisin ve klindamisin her ikisinde de inhibisyon zonunun olmaması konstitüf tipte MLS<sub>B</sub> fenotipi, klindamisin inhibisyon zonunun eritromisin diski yönünde kesintiye uğraması indüklenebilir tipte MLS<sub>B</sub> fenotipi ve klindamisin inhibisyon zonunda kesinti olmaksızın duyarlılık ise M fenotipi olarak tanımlandı<sup>10,13</sup>.

## B U L G U L A R

Çalışmamızda, boğaz sürüntü örneklerinden izole edilen 282 AGBHS izolatının 12'si (%4.3) eritromisine dirençli bulunmuş, eritromisine dirençli izolatların direnç fenotipleri Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo I: Eritromisine Dirençli AGBHS İzolatlarının Direnç Fenotipleri (n: 12)

Direnç Fenotipi	İzolat Sayısı (%)
M	5 (41.7)
Konstitütif MLS <sub>B</sub>	4 (33.3)
İndüklebilir MLS <sub>B</sub>	3 (25)

## T A R T I Ş M A

A grubu beta hemolitik streptokokların (AGBHS) tedavisinde penisilin, kullanıma girdiği yıllardan itibaren ilk seçenek olarak kullanılmasına rağmen, bu izolatlarda halen penisilin direnci saptanmamıştır<sup>4-6</sup>. Ancak penisiline alternatif olarak kullanılan eritromisin ve diğer makrolid grubu antibiyotiklere karşı dünyanın farklı bölgelerinde değişen oranlarda direnç bildirimi söz konusudur<sup>3,4,6,14</sup>.

Çeşitli ülkelerde izole edilen AGBHS'larda bildirilen eritromisin direnç oranları oldukça farklılık göstermektedir. İspanya'da 1999 yılında yapılan çok merkezli bir çalışmada, ülke çapında ortalama eritromisin direnci %20 olarak bulunmuş, aynı yıl yapılan bir diğer çalışmada eritromisin direnci %29.2 olarak bildirilmiştir<sup>15,16</sup>. İspanya'da 1998-2001 yılları arasında kapsayan başka bir çalışmada ise, eritromisin direnci %29.7 olarak saptanmıştır<sup>4</sup>. İtalya'da 1997-1998 yıllarında %30-35 olarak bildirilen eritromisin direnç oranları, 2001'de %23.7'dir<sup>17-19</sup>. Fransa'da 1996-1999 yılları arasında çocuk hastaların boğaz kültürlerinden izole edilen 1500 *S.pyogenes* suşunda eritromisin direnci %6.2 olarak bildirilirken<sup>14</sup>, bir başka çalışmada<sup>20</sup> %9.6 oranında direnç saptanmıştır. Benzer direnç oranları Almanya'dan bildirilmiş, bu ülkede 1990-2000 yılları arasında %4-13.3 arasında değişen direnç oranları bulunmuştur<sup>5,21</sup>. Ayrıca, Finlandiya'da<sup>22</sup> %17, Bulgaristan'da<sup>23</sup> %2.1, Yunanistan'da<sup>24,25</sup> %19.3 ve %38, Şili'de<sup>26</sup> %7.2 ve ABD'inde<sup>27</sup> %2-4 olarak bildirilen değişen oranlarda eritromisin direnci söz konusudur.

Uzak Doğu'da saptanan direnç oranları ise daha yüksektir. Taiwan'da<sup>28</sup> 2000 yılında %64.3 oranında eritromisin direnci saptanırken, 2001'de 419 *S.pyogenes* suşunun değerlendirildiği bir çalışmada<sup>6</sup> suşların eritromisine %24 oranında dirençli, %54 oranında orta duyarlı olduğu bildirilmiştir. Japonya'da ise bu oran %61.8'e ulaşmaktadır<sup>29</sup>.

Makrolid direnci, bu ajanların kullanımındaki artışa bağlı olarak artmaktadır ve makrolid kullanımının kısıtlanması ile direnç insidansının azaldığı bildirilmektedir<sup>14,30</sup>. Finlandiya'da makrolid kullanımının kısıtlanması ile 1992'de %16.5 olan direnç oranının 1996'da %8.6'ya düştüğü bildirilmiştir<sup>30</sup>.

Ülkemizde de AGBHS'larda değişen oranlarda makrolid direnci bildirilmekle birlikte, bu oran genel olarak %10'un altındadır<sup>8,31-38</sup>. Berkiten ve arkadaşları<sup>8</sup>, 1970-2001 yılları arasında izole ettikleri 573 *S.pyogenes* suşunu değerlendirmişler,

1970-1994 yılları arasında izole ettikleri suşların sadece birini orta duyarlı bulurken, 1995-2001 yılları arasında izole ettikleri suşların %5.3'ünü eritromisine dirençli, %2'sini orta duyarlı olarak saptamışlardır. Şenses ve arkadaşları<sup>32</sup> 1999-2002 yılları arasında boğaz kültürlerinden izole ettikleri 560 AGBHS suşunu, 1999-2000 ve 2001-2002 olmak üzere iki dönem halinde incelemişler, eritromisin direnç oranlarını birinci döneme ait suşlarda %1.1 ve ikinci döneme ait suşlarda %2 olarak saptamışlardır.

Türkiye'de yapılan bazı çalışmalarda; Er ve arkadaşları<sup>36</sup> %1.5, Kaloğlu ve arkadaşları<sup>35</sup> %4, Karakeçe ve arkadaşları<sup>37</sup> %5, Erdoğan ve arkadaşları<sup>31</sup> %5.8, Gürsoy ve arkadaşları<sup>34</sup> %7 ve Yavuzdemir ve arkadaşları<sup>38</sup> %9.7 oranında direnç oranları bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da AGBHS'larda eritromisin direnci %4.3 olarak saptanmış ve diğer sonuçlarla uyumlu bulunmuştur.

Eritromisine dirençli AGBHS'ların direnç oranları kadar direnç fenotipleri de bölgesel farklılık göstermektedir. İspanya'da 1998-2001 yılları arasında izole edilen 157 eritromisine dirençli AGBHS suşunun %98.7'si M fenotipinde bulunmuş<sup>4</sup>, aynı yıllarda ülke çapında yapılan çok merkezli bir çalışmada en yaygın fenotipin yine M fenotipi olduğu bildirilmiştir<sup>15</sup>. İtalya'da 2001'de izole edilen eritromisine dirençli AGBHS'ların %41.7'si M fenotipi, %31.7'si konstitütif tipte MLS<sub>B</sub> fenotipi, %26.6'sı indüklenebilir tipte MLS<sub>B</sub> fenotipi olarak tanımlanmıştır<sup>19</sup>. Almanya'da 1999-2000'de eritromisine dirençli suşların %78'i M fenotipinde bulunmuş<sup>5</sup>, benzer şekilde Finlandiya'da yapılan çalışmalarda da baskın fenotipin M fenotipi olduğu bildirilmiştir<sup>22</sup>. Bulgaristan'da 1995-2001 yılları arasında 1221 AGBHS'un değerlendirildiği çalışmada %2.1 eritromisin direnci, %57.7 iMLS<sub>B</sub> fenotipi, %7.7 cMLS<sub>B</sub> fenotipi ve %34.6 M fenotipi bulunmuştur<sup>23</sup>.

Fransa'da Bingen ve arkadaşları<sup>14</sup> eritromisin direncini %6.2 olarak bulmuşlar, bu suşların %3.4'ünün cMLS<sub>B</sub> fenotipinde, %2.8'inin M fenotipinde olduğunu saptamışlardır. Yine Fransa'da Weber ve arkadaşları<sup>20</sup> ise, çalıştıkları AGBHS'ların %9.6'sının dirençli ve bunların %4.3'ünün cMLS<sub>B</sub>, %2'sinin iMLS<sub>B</sub> ve %3.3'ünün M fenotipinde olduğunu saptamışlardır. Şili'de 1990-1998 yıllarında izole edilen 594 AGBHS suşunun %7.2'sinin eritromisine dirençli ve bunların %87.5'inin M fenotipinde, %12.5'inin MLS<sub>B</sub> fenotipinde olduğu saptanmıştır<sup>26</sup>. Taiwan'da 2001'de izole edilen dirençli suşların %80.2'sinin M fenotipinde, %18.9'unun cMLS<sub>B</sub> fenotipinde ve %1'inin iMLS<sub>B</sub> fenotipinde olduğu bildirilmiştir<sup>6</sup>.

Türkiye'de direnç fenotipi belirleyen çalışmalar henüz çok azdır. Erdoğan ve arkadaşları<sup>31</sup> 121 AGBHS suşunu değerlendirdikleri çalışmalarında, eritromisin direnç oranını %5.8 olarak bulmuşlar ve bu suşların %71'inin M fenotipinde, %29'unun ise iMLS<sub>B</sub> fenotipinde olduğunu saptamışlardır. Şenses ve arkadaşları<sup>32</sup>, 1999-2002 yılları arasında izole ettikleri eritromisine dirençli suşların üçünde iMLS<sub>B</sub> fenotipi, beşinde M fenotipi saptamışlardır. Çalışmamızda eritromisine dirençli bulunan 12 suşun beşinde (%41.7) M fenotipi, dördünde (%33.3) konstitütif tipte MLS<sub>B</sub> fenotipi ve üçünde (%25) indüklenebilir tipte MLS<sub>B</sub> fenotipi belirlenmiştir.

AGBHS'larda makrolid direnç sıklığının ve fenotiplerinin belirlenmesi, hem epidemiyolojik veri elde edilmesi hem de ampirik tedavide kullanılacak ajanların seçimi açısından son derece önemlidir. Çünkü M fenotipi gösteren izolatlar sadece

14 ve 15 üyeli makrolidlere dirençli iken 16 üyeli makrolidlere, linkozamidlere ve streptograminlere duyarlı kalmakta, buna karşın cMLS<sub>B</sub> fenotipi gösteren izolatlar her üç grup antibiyotiğe de direnç göstermektedir. iMLS<sub>B</sub> fenotipi gösteren izolatlar ise, tedavide uygulanacak eritromisinin yapabileceği enzim indüksiyonu sonucu eritromisin ve klindamisine direnç geliştirebilmektedir<sup>3,8,10</sup>. Sonuç olarak, ülkemizde AGBHS'larda makrolid direnç oranları ve fenotiplerinin belirlenmesi amacıyla yapılacak daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır.

#### KAYNAKLAR

1. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. The Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, p 577-603. 1997, 5<sup>th</sup> ed. JB Lippincott Co, Philadelphia.
2. Steigbigel HN. Macrolides and clindamycin, p: 366-78. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (eds), Principles and Practice of Infectious Diseases. 2000, 5<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
3. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. Clin Infect Dis 2002; 34: 482-92.
4. Alos JI, Aracil B, Oteo J, Gomez-Garces JL. Significant increase in the prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin- and miocamycin-susceptible (M phenotype) *Streptococcus pyogenes* in Spain. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 333-7.
5. Sauer mann R, Gattringer R, Graninger W, Buxbaum A, Georgopoulos A. Phenotypes of macrolide resistance of group A streptococci isolated from outpatients in Bavaria and susceptibility to 16 antibiotics. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 53-7.
6. Hsueh PR, Teng LJ, Lee CM, et al. Telithromycin and quinupristin-dalfopristin resistance in clinical isolates of *Streptococcus pyogenes*: SMART Program 2001 Data. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 2152-7.
7. Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 577-85.
8. Berkiten R. *Streptococcus pyogenes* suşlarında eritromisin direnç fenotipleri ve 1970-2001 yılları arasında Türkiye'de izole edilen suşlarda direnç. Ankem Derg 2003;17: 429-34.
9. Clancy J, Petitpas J, Dib-Hajj F, et al. Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, *mefA*, from *Streptococcus pyogenes*. Mol Microbiol 1996, 22: 867-79.
10. Seppala H, Nissinen A, Quan Y, Huovinen P. Three different phenotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Finland. J Antimicrob Chemother 1993; 32: 885-91.
11. Bingen E, Leclercq R, Fitoussi F, Brahimi N, Malbrunoy B, Deforche D, Cohen R. Emergence of group A streptococcus strains with different mechanisms of macrolide resistance. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 1199-203.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard, 2003, 6<sup>th</sup> ed. NCCLS Document M7-A6. NCCLS, Wayne, Pa.
13. Waites K, Johnson C, Gray B, Edwards K, Crain M, Benjamin W. Use of clindamycin disks to detect macrolide resistance mediated by *ermB* and *mefE* in *Streptococcus pneumoniae* isolates from adults and children. J Clin Microbiol 2000; 38:1731-4.
14. Bingen E, Fitoussi F, Doit C, et al. Resistance to macrolides in *Streptococcus pyogenes* in France in pediatric patients. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 1453-7.
15. Garcia-Rey C, Aguilar L, Baquero F, Casal J, Martin JE. Pharmacoepidemiological analysis of provincial differences between consumption of macrolides and rates of erythromycin resistance among *Streptococcus pyogenes* isolates in Spain. J Clin Microbiol 2002; 40: 2959-63.

16. Portillo A, Lantero M, Gastanares MJ, Ruiz-Larrea F, Torres C. Macrolide resistance phenotypes and mechanisms of resistance in *Streptococcus pyogenes* in La Rioja, Spain. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 13: 137.
17. Borzani M, De Luca M, Varotto F. A survey of susceptibility to erythromycin amongst *Streptococcus pyogenes* isolates in Italy. *J Antimicrob Chemother* 1997 40: 457-8.
18. Cornaglia G, Ligozzi M, Mazzariol A, Masala L, Lo Cascio G, Orefici G. Resistance of *Streptococcus pyogenes* to erythromycin and related antibiotics in Italy. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 87-92.
19. Rondini G, Cocuzza Ce, Cianflone M, Lanzafame A, Santini L, Mattini R. Bacteriological and clinical efficacy of various antibiotics used in the treatment of streptococcal pharyngitis in Italy. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 18: 9.
20. Weber P, Filipecki J, Bingen E, et al. Genetic and phenotypic characterization of macrolide resistance in group A streptococci isolated from adults with pharyngo-tonsillitis in France. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 291.
21. Cullmann W. Comparative evaluation of orally active antibiotics against community-acquired pathogens: results of eight European countries. *Chemotherapy* 1996;42: 11-20.
22. Kataja J, Huovinen P, Muotiala A, Vuopio-Varkila J, Efstratiou A, Hallas G, The Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance, Seppala H. Clonal spread of group A *Streptococcus* with the new type of erythromycin-resistance. *J Infect Dis* 1998; 177: 786-9.
23. Detcheva A, Facklam RR, Beall B. Erythromycin-resistant group A streptococcal isolates recovered in Sofia, Bulgaria, from 1995 to 2002. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3831-4.
24. Petinaki E, Kontos F, Pratti A, Skulakis C, Maniatis AN. Clinical isolates of macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* in central Greece. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21: 67-70.
25. Syrogiannopoulos GA, Grivea IN, Fitoussi F, et al. High prevalence of erythromycin resistance of *Streptococcus pyogenes* in Greek children. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 863.
26. Palavecino EL, Riedel I, Berríos X, et al. Prevalence and mechanisms of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* in Santiago, Chile. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:339-41.
27. Wittler RR, Yamada SM, Bass JW, Hamill R, Wiebe RA, Ascher DP. Penicillin tolerance and erythromycin resistance of group A beta hemolytic streptococci in Hawaii and Philippines. *Am J Dis Child* 1990; 144: 587-9.
28. Yan JJ, Wu HM, Huang AH, Fu HM, Lee CT, Wu JJ. Prevalence of polyclonal *mefA*-containing isolates among erythromycin-resistant group A streptococci in southern Taiwan. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 2475.
29. Maruyama S, Yoshioka H, Fujita K, Takimoto M, Sarake Y. Sensitivity of group A streptococci to antibiotics. *Am J Dis Child* 1979; 133: 1143.
30. Seppala H, Klaukka T, Vuopio-Varkila J, et al. The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. *N Engl J Med* 1997; 337: 441-6.
31. Erdoğan H, Öngen B, Öksüz L, Gürler N, Töreci K. A grubu beta-hemolitik streptokoklarda antibiyotik direnci ve makrolid direnç fenotipinin saptanması. *Ankem Derg* 2003; 17: 85-87.
32. Şenses Z, Baysallar M, Gür D, Doğançlı L. 1999-2000 ve 2001-2002 yıllarına ait grup A beta hemolitik streptokok izolatlarının makrolid antibiyotiklere direnç oranları ve fenotipleri. *Mikrobiyol Bül* 2003; 37: 225-34.
33. Tunçkanat F, Şener B, Akan Ö, Berkman E. A grubu beta-hemolitik streptokoklara bazı makrolid antibiyotiklerin in-vitro etkileri. *Ankem Derg* 1993; 239-42.
34. Gürsoy HG, Çöplü N, Zarakolu P, Ulumlu G, Özkaya E, Güvener E. Grup A beta-hemolitik streptokokların eritromisine in-vitro duyarlılıklarının araştırılması. *Ankem Derg* 1994; 8: 23-5.
35. Kaloğlu G, Tuncer İ, Baysal B. Boğaz kültürlerinden izole edilen A grubu beta hemolitik streptokoklarda penisilin toleransı ve eritromisin direncinin araştırılması. *Mikrobiyol Bül* 1998; 32: 9-13.

36. Er E, Akdoğan M, Köksal F, Gümüş M, Samastı M, Özdemir A. Boğaz kültüründe üretilen beta-hemolitik streptokoklar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *İnfeks Derg* 2000;14: 519-21.
37. Karakeçe E, Taşçıoğlu J. A grubu beta hemolitik streptokoklarda penisilin toleransı ve eritromisin direncinin araştırılması. *Flora* 2000; 5: 56-60.
38. Yavuzdemir Ş, Bengisun JS. Boğaz kültürlerinden izole edilen beta hemolitik streptokok grupları ve antibiyotiklere duyarlılıkların araştırılması. *Mikrobiyol Büt* 1997; 31: 149-53.