

Türkiye’de İnvazif Streptokok Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi, Klinik ve Mikrobiyolojik Özellikleri, 2010-2011

Epidemiology, Clinical and Microbiological Characteristics of Invasive Streptococcal Infections in Turkey, 2010-2011

Aynur Eren TOPKAYA¹, Ahmet BALIKCI², Faruk AYDIN³, Gülşen HASÇELİK⁴, Tuba KAYMAN⁵, Recep KESLİ⁶, Şöhret AYDEMİR⁷, Işın AKYAR⁸, Aslı GÖKALP⁹, Günnur DÜNDAR¹⁰, Nezahat GÜRLER¹¹, Duygu PERÇİN¹², Duygu FINDIK¹³, Haluk AVUNDUK¹⁴, Banu BAYRAKTAR¹⁵

¹ Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ.

¹ Namık Kemal University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Tekirdağ, Turkey.

² Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.

² Sureyyapasa Chest Diseases Education and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey.

³ Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Trabzon.

³ Karadeniz Technical University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Trabzon, Turkey.

⁴ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

⁴ Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

⁵ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

⁵ Erciyes University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Kayseri, Turkey.

⁶ Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya.

⁶ Konya Education and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Konya, Turkey.

⁷ Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.

⁷ Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Izmir, Turkey.

⁸ Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

⁸ Acibadem University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

⁹ Ahenk Laboratuvarları, İstanbul.

⁹ Ahenk Laboratories, Istanbul, Turkey.

¹⁰ Centro Laboratuvarları, İstanbul.

¹⁰ Centro Laboratories, Istanbul, Turkey.

¹¹ İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

¹¹ Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

¹² Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kayseri.

¹² Kayseri Education and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Kayseri, Turkey.

¹³ Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.

¹³ Selcuk University Medical School, Department of Medical Microbiology, Konya, Turkey.

¹⁴ Sivas Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sivas.

¹⁴ Sivas State Hospital Microbiology Laboratory, Sivas, Turkey.

¹⁵ Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.

¹⁵ Sisli Etfal Education and Research Hospital, Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 24.06.2013 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 11.12.2013

İletişim (Correspondence): Yrd. Doç. Dr. Ahmet Balıkcı, İstanbul Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 536 227 9283, **E-posta (E-mail):** balikciahmet@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada, ülkemizdeki invazif A grubu streptokok (AGS) enfeksiyonlarının epidemiyolojik ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi ve bu hastalıkların önlenmesinde uygulanacak olan ulusal stratejilere veri sağlanması amacıyla bir yıllık aktif süreyans yapılması planlanmıştır. Çalışmaya, Türkiye’nin 12 farklı bölgesinden (İstanbul; Doğu ve Batı Marmara; Doğu ve Batı Karadeniz; Ege; Akdeniz; Batı, Orta, Kuzeydoğu, Ortadoğu ve Güneydoğu Anadolu) toplam 46 klinik mikrobiyoloji laboratuvarı katılmıştır. Katılımcı merkezlerde, Haziran 2010-Haziran 2011 tarihleri arasında steril vücut bölgelerinden (kan, beyin omurilik sıvısı, eklem, plevra, periton, perikard sıvıları) izole edilen AGS’ler, doğrulama ve ileri çalışmalar için Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına gönderilmiştir. Bakterilerin tanımlanması konvansiyonel yöntemlerle yapılmış; serotiplendirme için opasite faktörü (OF) ve T protein tipleri araştırılmış, genotiplendirme için AGS lizati hazırlama, *emm* geni amplifikasyonu ve dizilenmesi, “Centers for Disease Control and Prevention” protokolüne göre uygulanmıştır. Çalışma dönemi içinde katılımcı merkezlerin 15’inden, 65 invazif AGS suşu izole edilmiştir. İnvazif AGS izolasyon oranının bölgesel farklılıklar gösterdiği belirlenmiş, en yüksek izolasyonun Doğu Karadeniz (Trabzon; n= 19) bölgesinde olduğu, bunu İstanbul (n= 17) ve Batı Anadolu (Ankara, Konya; n= 14) bölgelerinin izlediği görülmüştür. İnvazif AGS enfeksiyonu tanısı konulan hastaların 33’ü kadın, 32’si erkek olup, yaş aralığı 0-89 yıl arasındadır. AGS suşlarının en fazla yumuşak doku (n= 18), apse (n= 10), steril vücut sıvısı (n= 8) ve kan (n= 7) örneklerinden izole edildiği gözlenmiştir. Serotiplendirme sonucunda 36 (%55) izolatin OF pozitif olduğu saptanmış; en sık saptanan T protein tipleri poligrup T (n= 20) ve U (n= 14) olmuş, bunları B (n= 5), X (n= 3) ve Y (n= 2) izlemiştir. Yirmi iki izolatta T proteini tespit edilememiştir. Genotiplendirme sonucunda izolatların 17 farklı *emm* tipine sahip olduğu saptanmış; en sık rastlanan tipler; *emm1* (n= 13), *emm4* (n= 6), *emm6* (n= 6), *emm12* (n= 6), *emm24* (n= 4), *emm14* (n= 3) ve *emm28* (n= 3) olarak belirlenmiş, dokuz suş dizileme ile tiplendirilememiştir. İzolatların *emm* tipleri ile serotipleri arasındaki korelasyon %58 olarak bulunmuştur. Kullanımdaki 26 değerli aşının invazif AGS suşlarının %70.5’ini kapsadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmayla Türkiye’de invazif AGS enfeksiyonlarının epidemiyolojik ve mikrobiyolojik özellikleriyle ilgili ilk veriler elde edilmiştir. İnvazif AGS enfeksiyon sıklığının ülkemizde düşük olduğu, 26 değerli ASG aşısının aşı programına dahil edilmesinin ülkemiz için şu anda acil halk sağlığı sorunu olmadığı ve eğer ülkemizde kullanılacaksa aşuya *emm4* ve *emm24* tiplerinin de eklenmesi gerektiği ortaya çıkmıştır.

Anahtar sözcükler: Grup A streptokok; invazif enfeksiyon; epidemiyoloji; *emm* geni; dizileme; serotiplendirme.

ABSTRACT

A one-year active surveillance study was conducted to investigate the epidemiological and microbiological characteristics of invasive group A streptococci (GAS) infections in Turkey and to provide data for the establishment of national preventive strategies related to invasive GAS infections. A total of 46 clinical microbiology laboratories from 12 different regions of Turkey (Istanbul; Eastern and Western Marmara; Eastern and Western Blacksea; Aegean; Mediterranean; Western, Central, Northeastern, Middle-eastern and Southeastern Anatolia) participated in the study. Accordingly, GAS strains isolated from sterile body sites (blood, cerebrospinal, synovial, pleural, peritoneal, pericardial fluids) in the study centers between June 2010-June 2011, were sent to Maltepe University Hospital Clinical Microbiology Laboratory for microbiological confirmation and further analysis. The isolates were identified by conventional methods, and for serotyping, opacity factor (OF) and T protein types were investigated. For genotyping GAS lysate preparation, *emm* gene amplification and sequencing were performed by using the protocols recommended by Centers for Disease Control and Prevention. A total of 65 invasive GAS strains were isolated in 15 of the participant centers, during the study period. The rate of invasive GAS

isolation exhibited regional variation, with the highest rates in the Eastern Blacksea (Trabzon, n= 19), followed by Istanbul (n= 17) and Western Anatolia (Ankara, Konya, n= 14). Of the patients with invasive GAS infection 33 were female, 32 were male, with the age range of 0-89 years. GAS strains were most commonly isolated from soft tissue specimens (n= 18), followed by abscess material (n= 10), sterile body fluids (n= 8) and blood (n= 7) samples. Serotyping revealed that 55% (36/65) of the strains were OF positive, and the majority of T protein was polygroup T (n= 20), followed by U (n= 14), B (n= 5), X (n= 3) and Y (n= 2). T protein was not detected in 22 isolates. The strains were found to have 17 different *emm* types; *emm1* (n= 13), *emm4* (n= 6), *emm6* (n= 6), *emm12* (n= 6), *emm24* (n= 4), *emm14* (n= 3) and *emm28* (n= 3). Nine of the strains could not be typed by sequencing. The correlation between *emm* typing and serotyping was detected as 58%. It was observed that 26-valent vaccines included 70.5% of the invasive GAS strains included in this study. Our study provided initial data concerning the epidemiological properties of invasive GAS infections and characterization of GAS strains in Turkey. The incidence of invasive GAS infections is low in our country. Although immunization programme by 26-valent GAS vaccine is not currently an urgent public health issue for our country, the results of this study indicated that *emm* types 4 and 24 should better be included in such a vaccine to be used in Turkey. Additionally, since epidemiological features of GAS infections and the microbiological characteristics of the strains can vary by time, for the diagnosis of invasive streptococcal infections and to take the necessary preventive measures, epidemiological studies should be conducted repeatedly.

Key words: Group A streptococci; invasive infection; epidemiology; *emm* gene; sequencing; serotyping.

GİRİŞ

Önemli bir insan patojeni olan *Streptococcus pyogenes* (A grubu streptokok; AGS) tarafından oluşturulan impetigo, farenjit, kızıl, sepsis, nekrotizan fasiit, streptokokal toksik şok sendromu (STSS) gibi akut enfeksiyonlar ve bunların süpüratif olmayan sekelleri (akut romatizmal ateş, akut glomerulonefrit) halen tüm dünyada ciddi bir halk sağlığı problemidir¹. AGS'lerin sebep olduğu invazif hastalıkların sıklığı 1980'li yılların ortasından beri tüm dünyada artmaktadır. Bu artışın nedeni tam olarak anlaşılamamakla birlikte, dikkatler AGS'ların epidemiyolojik ve mikrobiyolojik özelliklerindeki değişikliklere odaklanmıştır. Son çalışmalarda, gelişmiş ülkelerde invazif enfeksiyonların oranı %2.5-3.5 iken, mortalite oranı %7-15 olarak bildirilmiştir²⁻⁵. İnvazif enfeksiyonlar ve mortalite oranları karşılaştırıldığında, gelişmekte olan ülkelerin oranlarının gelişmiş ülkelere oranla anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir. Gelişmekte olan ülkelere ait az sayıdaki epidemiyolojik ve mikrobiyolojik verilere göre, ölüm oranı %95'e varan invazif hastalıklar saptanmıştır. Türkiye'de de diğer gelişmekte olan ülkelere olduğu gibi, AGS enfeksiyonlarının klinik, epidemiyolojik ve mikrobiyolojik özellikleriyle ilgili çalışmalar yetersizdir.

M proteini AGS'lerde temel virülans faktörüdür. Fagositöz ve opsonizasyondan bakteriyi korur. Bu proteinlere karşı üretilen nötralize edici antikolar AGS'ye karşı bağışıklıktan sorumludur⁶. M proteinine göre, 1980'li yıllara kadar yaklaşık 80 antijenik serotip tanımlanmış; sonraki yıllarda invazif AGS oranlarının artmasıyla birlikte, bazı suşların M antiserumlarıyla tanımlanamadığı anlaşılmıştır. Daha sonra M proteinini kodlayan *emm* geni belirlenmiş ve antiserumlarla serotipleme yapılamayan kökenlerin genotipleme ile

M tipi saptanmaya çalışılmıştır. Bundan sonra bu konudaki terminoloji de değişmiş ve M protein yapısı M-antiserumlar tarafından tespit edildi ise “M serotip”; 5’ dizileme ile tespit edildiyse “*emm* tipi” olarak tanımlanmıştır. *Emm* türlerinin sayısı 2002 yılında altı streptokok referans laboratuvarının ortak çabalarıyla 124’e ulaşmıştır⁷. *Emm* tiplene ve M serotiplene çalışmaları AGS’lerin klinik görünümü ile M tipi arasındaki korelasyonun anlaşılmasını sağlamıştır. Hücre duvarındaki T proteini ve opasite faktörü (OF), tıpkı M proteini gibi AGS’lerde önemli bir epidemiyolojik belirteçtir. Belirli bazı M serotiplerinin, belirli T proteinleriyle birlikte bulunduğu ve yine bazı M serotiplerinin OF üretirken bazılarının üretmediği saptanmıştır⁸.

İnvazif hastalığa neden M serotiplerinin dağılımı, coğrafi bölgelere ve hatta aynı bölgede yıllara göre farklılık göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde, 1995-1999 yılları arasında, genellikle tanımlanan invazif serotipler, sıklık sırasına göre M1, M28, M12, M3 ve M11 iken, 2000-2004 yılları arasında bu sıralama M1, M3 ve M12 şeklinde değişmiştir³.

Gelişmiş ülkelerde, epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen verilere göre üretilen aşı-lardan başarılı sonuçlar elde edilmiş ve özellikle 6-26 değerli aşılardan yüksek immün yanıt oluşturdukları gösterilmiştir. Bu ülkelerde yapılan çok merkezli çalışmalar, aşı serotiplerinin sıklığını ve aşı kullanıldıktan sonraki invazif hastalıkların prevalansını göstermiştir. ABD’de CDC ve Avrupa Birliğinde Strep-Euro çalışmalarıyla, aşı serotipleriyle AGS’lerin invazif serotipleri arasındaki korelasyon araştırılmıştır⁹. Türkiye’de ise invazif AGS enfeksiyonlarının epidemiyolojik ve mikrobiyolojik özelliklerini araştıran ve tüm bölgeleri kapsayan bir çalışma daha önce yapılmamıştır. Bu konudaki veriler, Doğu Karadeniz bölgesinden 22 invazif izolatın ve Marmara bölgesinden farenjit etkeni invazif olmayan 200 izolatın serotiplendiği az sayıdaki çalışma ile sınırlıdır^{10,11}. Bu çalışmanın amacı, ülkemizin tüm coğrafi bölgelerini temsil etmek üzere belirli merkezler dahil edilerek invazif AGS enfeksiyonlarının aktif süreyansını ve mikrobiyolojik özelliklerini belirlemektir. Böylece invazif streptokok hastalıklarının önlenmesiyle ilgili olarak, mevcut 26 değerli aşının etkinliğinin saptanmasına ve invazif AGS enfeksiyonları ile ilgili ulusal stratejilerin oluşturulmasına katkı sağlanacaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya katılan merkezler, Türkiye İstatistik Enstitüsü tarafından belirlenen ekonomik, sosyal, kültürel ve coğrafi yönlerden benzer illerin, belirli bir nüfus büyüklüğü de dikkate alınarak gruplandırılması sonucu, alan bazlı örnekleme yöntemi ile 12 bölgeden seçildi (Tablo I). Örneklemede; Sağlık Bakanlığı Devlet Hastaneleri, Eğitim ve Araştırma Hastaneleri ve Üniversite Hastaneleri olmak üzere üç alt grup oluşturuldu. Bölgelerin her birinden, bu üç alt gruptan klinik mikrobiyoloji analizi yapmak için yetkili olan birer merkez rastgele belirlendi. Bir bölgede bu üç alt grup dışında başka bir kuruluş varsa doğrudan çalışmaya davet edildi. Davet kabul edilmediğinde ya da o bölgede yetkili

Tablo 1. Çalışmaya Katılan Merkezlerin Numaraları ve AGS İzolat Sayılarının Dağılımı (n= 65)

Merkez no.	Bölge	İzolat sayısı
1	İstanbul	17
2	Batı Marmara	-
3	Ege	6
4	Doğu Marmara	-
5	Batı Anadolu	14
6	Akdeniz	-
7	Orta Anadolu	8
8	Batı Karadeniz	-
9	Doğu Karadeniz	19
10	Kuzeydoğu Anadolu	1
11	Ortadoğu Anadolu	-
12	Güneydoğu Anadolu	-

(-): İnvazif AGS izolasyonu yapılmamıştır.

klirik mikrobiyoloji laboratuvarı yokluğunda, o kontenjan boş bırakıldı. Çalışmaya 46 klinik mikrobiyoloji laboratuvarı katıldı ve çalışmanın epidemiyolojik kısmı bir yıl içinde tamamlandı. İnvazif hastalık etkeni olarak izole edilen beta-hemolitik streptokokların tanımlaması, çalışmaya katılan merkezlerde standart mikrobiyolojik yöntemlerle yapıldı. Hastaların demografik ve klinik verileri için formlar oluşturuldu. Grup A beta-hemolitik streptokok olarak tanımlanan kökenler, Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına serotip ve genotip tayini için gönderildi. Bu merkezde, referans yöntemlerle doğrulanan izolatlar sero- ve geno- tiplendirme çalışmalarına alındı. Klinik özellikler ve risk faktörleri ilgili anketler, çalışmaya katılan merkezlerin tümü tarafından tamamlanmadığı için bu konuda veri analizi yapılamadı.

Olgu Tanımı ve Bakteri Tanımlaması

İnvazif AGS hastalığı tanımı, Dünya Sağlık Örgütü 2005 kriterleri dikkate alınarak; steril vücut bölgelerinden (kan, beyin omurilik sıvısı, eklem sıvısı, plevra sıvısı, periton sıvısı, perikard sıvısı) AGS izolasyonunun yapılması olarak kabul edildi. Streptokokal toksik şok sendromu (STSS) tanısı için "Streptokok Enfeksiyonları Çalışma Grubu" nun tanımı kullanıldı ve doku kültüründen izole edilen (Nekrotizan fasiit veya STSS varlığı) AGS'ler, invazif etken olarak değerlendirildi¹².

Bakterilerin tanımlaması, beta-hemolitik koloni morfolojisi, Gram boyama özellikleri, katalaz, basitrasin duyarlılık, pyrolydonyl-arilamidaz ve serogrup testleriyle yapıldı. Tüm bakteriler öncelikle katılımcı merkezlerin rutin uygulamaları ile tanımlandı, daha sonra Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında referans yöntemlerle doğrulandı¹³.

Serotiplendirme

Serotiplendirme opasite faktörü (OF) ve T proteinlerinin araştırılması ile yapıldı⁸. Serum OF araştırması, mikropalak yöntemi ve spektrofotometrik okuma ile ve insan serumu kullanılarak gerçekleştirildi. OF kaynağı olarak kökenlere ait kültür süpernatantları veya HCl ekstreleri kullanıldı¹⁴. T-protein aglütinasyonu için, Todd-Hewitt besiyerinde homojen streptokok süspansiyonları hazırlandı. Spontan aglütinasyonu önlemek için süspansiyonlara tripsin eklendi. Bu amaçla, süspansiyona 4 damla domuz pankreas özütü ve 1 damla fenol-kırmızısı pH indikatörü olarak ilave edilerek karıştırıldı. Süspansiyonun pH'sı NaOH ile mor renk elde edilmesiyle ayarlandı ve 1 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. Aglütinasyon reaksiyonu, bu süspansiyondan ve ticari olarak sağlanan antiserumlardan (Denka Seiken Co, Japonya) temiz bir lam üzerine Pasteur pipeti ile eşit miktarda konularak araştırıldı.

Genotiplendirme

İzolatlardan lizatin hazırlanması, *emm* geni tespiti ve dizilemesi, CDC tarafından önerilen protokole göre aynen uygulandı¹⁵.

İstatistiksel Analiz

Olguların demografik verileri SPSS 17 programında frekans analiziyle değerlendirildi. Nominal değerler için ki-kare testi kullanıldı. Yaş, cinsiyet, mevcut klinik veya risk faktörü bilinen olgularda ise regresyon analizi yapıldı.

BULGULAR

Haziran 2010 ile Haziran 2011 yılları arasında Türkiye'nin 12 bölgesinden 46 merkezde çalışan 15 araştırmacı invazif streptokok enfeksiyonu olan hastalardan izole ettikleri toplam 73 beta-hemolitik streptokok kökenini referans laboratuvarına göndermiştir. Referans laboratuvarında, 65 izolatın AGS olduğu doğrulanmış, diğer 8 suşun ise farklı gruplardan (G, C, B ve F) olduğu tespit edilmiştir.

Olgu sayıları arasında belirgin bölgesel farklılıklar izlenmiş; bölgelere göre izole edilen AGS suş sayıları Tablo I'de gösterilmiştir. En yüksek izolasyon oranı (19/65, %29) doku-zuncu bölgede (Doğu Karadeniz) saptanmış olup, bu bölge aynı zamanda Türkiye'nin az yoğun nüfuslu bölgesidir. İnvazif AGS izolasyon dağılımı incelendiğinde, izolatların çoğunun, ülkemizin kuzey ve orta bölgelerinden bildirildiği izlenmiştir (Tablo I).

İnvazif AGS enfeksiyonu tanısı konulan hastaların 33'ü kadın, 32'si erkek olup, yaş aralığı 0-89 yıl arasında değişmektedir. Hastaların cinsiyet ve yaş ortalamaları (kadın ve erkek hastalar için sırasıyla 27.5 ve 41.4 yıl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.01$). AGS suşlarının 18'i yumuşak doku, 10'u apse, 8'i steril vücut sıvısı ve 7'si kan örneklerinden izole edilmiştir. İzolat gönderen merkezler, örnek tipi, hastaların demografik özellikleri, AGS serotip ve *emm* tipleri Tablo II'de verilmiştir.

Tablo II. İnvazif AGS Suşlarının Merkezilere, Örnek Tipine, Hastaların Yaş ve Cinsiyetine Göre Dağılımı, Serotip-emm Tipi Sonuçları ve Korelasyonu									
Merkez no	Kurum	izolat no	Örnek tipi	Cinsiyet/Yaş (yıl)	Opasite faktör	T tipi	emm tipi	Serotip ve emm tipi	Serotip ve emm tipi korelasyonu
1	Şişli Etfal EAH	26	YD	E, 74	+-	T	44	W	W
	Acıbadem Ü.	29	Kan	K, 6	-	T	4	U, opa +	U, opa +
	MÜ	31	YD	E, 13	++++	W	76	+	+
	MÜ	34	YD	K, 2	-	T	1	+	+
	MÜ	35	YD	E, 1	++	X	?	?	?
	Centro Lab.	40	YD	K, 7	++++	U	6	opa -	opa -
	MÜ	43	İdrar	K, 4	+-	T	?	?	?
	MÜ	44	Doku (Burun)	K, 20	-	W	76	opa +	opa +
	MÜ	48	YD	K, 59	-	U	?	?	?
	İstanbul Ü.	52	Kan	E, 39	-	W	5	+	+
	MÜ	53	YD	?	+-	U	77	+	+
	MÜ	54	SB	K, 9	-	T	1	+	+
	MÜ	55	İdrar	K, 7	-	U	6	+	+
	MÜ	69	YD	E, 4	-	W	12	+	+
3	MÜ	71	ASY	E, 75	+-	U	6	+	+
	MÜ	72	YD	E, 32	-	U	?	?	?
	Acıbadem Ü.	73	Abse	K, 12	+++	T	1	opa -	opa -
	Ege Ü.	19	Kan	E, ?	+	T	1	opa -	opa -
5	Ege Ü.	20	Kan	K, ?	-	T	1	+	+
	Konya DH	36	Periton sıvısı	E, 2	++++	U	6	opa -	opa -
	Konya DH	37	Abse	E, 7	++	T	1	opa -	opa -
	Konya DH	39	YD	E, 31	+++	U	1	T	T
Konya DH	41	Doku (Yanık)	K, 0	++	U	1	opa -	opa -	

Tablo II. İnvaizif AGS Suşlarının Merkezlere, Örnek Tipine, Hastaların Yaş ve Cinsiyetine Göre Dağılımı, Serotip-emm Tipi Sonuçları ve Korelasyonu (Devamı)									
Merkez no	Kurum	izolat no	Örnek tipi	Cinsiyet/Yaş (yıl)	Opasite faktör	T tipi	emm tipi	Serotip ve emm tipi	Korelasyonu
	HÜ	56	YD	K, 37	-	T	9		opa +
	HÜ	57	Sinovya	E, 31	-	W	12		+
	HÜ	58	Plevral sıvı	K, 61	-	T	12		W
	HÜ	60	Kan	K, 28	+	?	29		+
	HÜ	61	Doku (Kc)	E, 23	-	W	1		T
	HÜ	65	ASY	K, 17	-	T	12		W
	HÜ	66	YD	K, 31	+-	U	28		+
	HÜ	67	Doku (Diz)	E, 47	++++	?	3		T
	HÜ	68	YD	E, 70	++++	Y	?		?
	Selçuklu Ü.	70	Kan	K, 8	-	W	12		+
	Sivas DH	21	İdrar	E, 2	-	W	12		+
	Kayseri EAH	22	İdrar	K, 3	-	X	14		+
7	Kayseri EAH	23	Doku (Kulak)	K, 12	+	?	19		opa -
	Erciyes U.	24	Abse	E, 85	+++	W	24		opa -
	Kayseri EAH	27	YD	K, 15	-	T	2		U, opa +
	Kayseri EAH	28	Doku (Kulak)	E, 2	+	X	14		opa -
	Kayseri EAH	30	SB	K, 57	-	Y	24		+
	Kayseri EAH	32	YD	E, 63	+++	T	89		+
	Kayseri EAH	42	Kan	E, 82	-	T	1		+
	Kayseri EAH	45	SB	K, 85	-	U	6		+
	Kayseri EAH	46	ASY	E, 67	+++	X	?		?
	Kayseri EAH	47	YD	E, 60	-	X	4		U, opa +

Tablo II. İnvazif AGS Suşlarının Merkezlere, Örnek Tipine, Hastaların Yaş ve Cinsiyetine Göre Dağılımı, Serotip-emm Tipi Sonuçları ve Korelasyonu (Devamı)

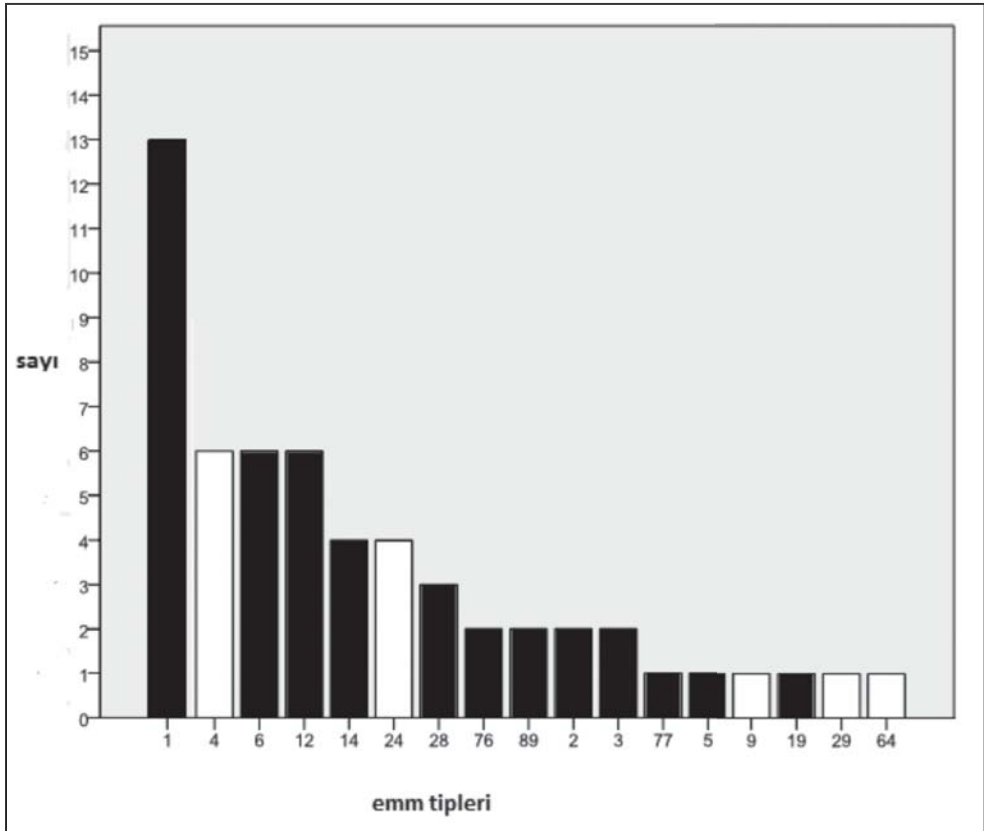
Merkez no	Kurum	izolat no	Örnek tipi	Cinsiyet/Yaş (yıl)	Opasite faktör	T tipi	emm tipi	Serotip ve emm tipi	korelasyonu
9	KTÜ	1	Doku (Kulak)	K, 89	++	U	4		+
	KTÜ	2	ASY	E, 81	++	T	?		?
	KTÜ	3	ASY	K, 11	++	U	6		+
	KTÜ	4	ASY	E, 73	-	U	24		+
	KTÜ	5	Doku (Kulak)	E, 7	++	?	?		?
	KTÜ	6	KK	E, 71	-	U	4		+
	KTÜ	7	Abse	E, 37	++	?	?		?
	KTÜ	8	Abse	K, 56	-	U	1		T
	KTÜ	9	Abse	E, 50	++	U	28		+
	KTÜ	10	SB	K, 9	-	U	4		opa +
	KTÜ	11	İdrar	K, 6	+	T	1		opa -
10	KTÜ	12	ASY	K, 76	+++	T	89		+
	KTÜ	13	SB	K, 9	-	U	4		opa +
	KTÜ	14	Şant	K, 40	+	U	28		+
	KTÜ	15	SB	K, 24	-	X	14		+
	KTÜ	16	Abse	E, 26	-	T	64		+
	KTÜ	17	YD	E, 22	+	U	2		+
	KTÜ	18	Abse	E, 67	++++	?	3		opa -
	KTÜ	38	Abse	K, 53	-	W	24		+
	Ağrı DH	33	Abse	K, 30	+++	T	1		opa -

ASY: Alt solunum yolu; DH: Devlet hastanesi; E: Erkek; EAH: Eğitim araştırma hastanesi; HÜ: Hacettepe Üniversitesi; K: Kadın; Kc: Karaciğer; KK: Kornea kazintısı; KTÜ: Karadeniz Teknik Üniversitesi; MÜ: Maltepe Üniversitesi; SB: Servikal biyopsi; Ü: Üniversite; YD: Yumuşak doku.

Çalışmamızda, 65 AGS suşunun 36 (%55)’sının OF pozitif olduğu belirlenmiştir. İzolatlarda en fazla bulunan T proteininin poligrup T (n= 19) ve poligrup U (n= 14) olduğu, bunları B (n= 5), X (n= 3) ve Y (n= 2) gruplarının izlediği saptanmış; 22 suşun T proteinleri tam olarak tespit edilememiştir. Genotiplendirme sonuçları incelendiğinde, izolatların 17 farklı *emm* tipine sahip olduğu saptanmıştır. En sık saptanan *emm* tipleri; *emm1* (n= 13), *emm4* (n= 6), *emm6* (n= 6), *emm12* (n= 6), *emm24* (n= 4), *emm14* (n= 3) ve *emm28* (n= 3) olmuş, ancak 9 suş dizileme ile de tiplendirilememiştir. *Emm* tipleri ile OF/T protein serotipleme sonuçları arasındaki korelasyon %58 olarak bulunmuştur (Tablo II). Yapılan değerlendirmede, aşının invazif kökenlerimize ait *emm* tiplerinin %70.5’ini kapsadığı belirlenmiştir (Şekil 1).

TARTIŞMA

Bu çalışma, invazif A grubu streptokok (AGS) enfeksiyonlarıyla ilgili olarak Türkiye’de yapılan ilk toplum kökenli sürveyans çalışmasıdır. Türkiye’de, invazif AGS hastalıklarının, ABD, Kanada ve Avrupa ülkeleri ile karşılaştırıldığında düşük endemisiteye sahip olduğu anlaşılmıştır. ABD, Kanada, Danimarka ve Hollanda’da yapılan topluma dayalı sürveyans



Şekil 1. İncelenen AGS’ların *emm* tiplerinin dağılımı (n= 65)

çalışmalarında, yılda 100.000 kişide 1.5-5 olgu arasında değişen oranlar bildirilmiştir^{5,9,16,17}. ABD’de, 1998-2003 yıllarını kapsayan topluma dayalı aktif sürveyans çalışması, özellikle 65 yaşın üzerindeki kişilerin invazif AGS enfeksiyonuna yakalanma oranının daha yüksek olduğunu göstermiştir¹⁸. 1987-1991 yılları arasında Kanada’da yapılan beş yıllık epidemiyolojik çalışmada¹⁹, en sık görülen serotiplerin M1 ve M12 olduğu belirlenmiş; yine Kanada’da yapılan bir yıllık prospektif sürveyans araştırmasında¹⁸ da M1 ve M12’ye ek olarak sıklık sırasıyla M4, M28 ve M3 serotiplerinin de saptandığı ve özellikle serotip M1’in *SpeA* toksin genleri açısından pozitif olduğu rapor edilmiştir. Bu araştırmacılar, 1995-2001 yılları için Kanada’da invazif hastalık insidansını 2.4/100.000 olarak hesaplamış, M1 ve M3 serotiplerinin olguların 1/3’ünden sorumlu olduğunu vurgulamışlardır¹⁶. İngiltere’de 1994 yılında yapılan bir çalışmada ise, beş hastanın kan ve eklem sıvısı örneklerinden izole edilen invazif AGS suşlarında dört farklı *emm* tipi (*emm1* {2}, *emm3*, *emm5*) tespit edilmiştir²⁰.

Almanya’da yapılan laboratuvara dayalı aktif sürveyans çalışmasında, invazif AGS izolatları arasında en yaygın tiplerin *emm1*, *emm28* ve *emm3* olduğu belirlenmiş; bu çalışmada ileri yaş, solunum yolu hastalığı ve şok bulgularının mortaliteyi artırdığı sonucuna varılmıştır²¹. Ekelund ve arkadaşları²², Danimarka’da 1999-2002 yılları arasındaki verileri değerlendirmişler; invazif serotip dağılımının yıllara göre önemli ölçüde değiştiğini ve *SpeA* toksin genlerinin *emm1* genotiplerinde anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Avrupa’da 16 ülkenin katılımıyla gerçekleşen, invazif streptokok enfeksiyonlarının epidemiyolojik ve mikrobiyolojik özelliklerinin araştırıldığı Strep-EURO Projesi sonuçlarına göre; 2001-2004 yılları arasında yaygın olan serotiplerin, Danimarka’da M1 ve M28, Yunanistan’da M1 ve M12, İsveç’te ise M89, M81, M28 ve M1 olduğu tespit edilmiştir¹³. Steer ve arkadaşlarının²³, *emm* tiplerinin global dağılımını belirlemek ve aşılardan içeriğine katkıda bulunmak amacıyla, 38.081 AGS kökeniyle ilgili 102 çalışmayı değerlendirdikleri analizde, gelişmiş ülkelerin hemen hepsinde çok sayıda verinin olduğu, ancak az gelişmiş ülkelerdeki verilerin dikkate değer ölçüde az olduğu vurgulanmıştır. CDC tarafından yayınlanan verilerle karşılaştırıldığında, bizim çalışmamızda saptanan *emm* tiplerinin, en çok Avrupa ülkelerinin verilerine benzerlik gösterdiği izlenmektedir^{5,9,18,20,23}.

Finlandiya’da 1995 yılında başlayan ve 10 yıllık süreyi kapsayan çalışmanın sonuçlarına göre, invazif AGS enfeksiyonları sıklığının her yıl giderek artış gösterdiği, 1995 yılında 1.1/100.000 olgu olan insidansın, 2004 yılında 2.5/100.000’e ulaştığı vurgulanmıştır²⁴. Konu ile ilgili tüm çalışmaların ilginç bir ortak özelliği, 100’den fazla *emm* tipi arasında sadece beş ya da altı tanesinin invazif AGS hastalıklarının yaklaşık yarısından sorumlu olduğunun saptanmasıdır^{3-5,9,16-22}. Bizim çalışmamızda da tüm invazif kökenlerin %60’ını yedi çeşit *emm* tipi oluşturmaktadır. AGS serotipleri ile *emm* tipleri arasında tam (%100) bir korelasyon olmaması nedeniyle, AGS suşları yaygın olarak M proteinini kodlayan *emm* gen bölgesi dizisinin değişimleri bazında sınıflandırılmaktadır⁸. Çalışmamızda da M proteinini kodlayan *emm* tiplerinin heterojen olduğu görülmüştür.

(Tablo II). Ülkemizde Arslan ve arkadaşlarının²⁵, 35 AGS izolatu ile yaptıkları çalışmada, 15 farklı *emm* genotipi saptanmış, en sık saptanan tip, bizim çalışmamızda olduğu gibi *emm1* olarak bulunmuş ve 26 valanlı aşının, bu tiplerin %60'ını kapsadığı rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda, aşının kapsama oranı %70.5 olarak belirlenmiş, bu yüksek oranın sadece invazif suşların çalışmaya dahil edilmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Nitekim Arslan ve arkadaşları²⁵, kan kültüründen izole edilen invazif suşların hepsinin aşı kapsamında olduğunu ifade etmişlerdir.

Çalışmamızda, invazif AGS enfeksiyonlarının sıklığı belirgin bölgesel farklılıklar göstermiş; suşların çoğunun, ülkemizin kuzey ve orta bölgelerinde yer alan merkezlerde izole edildiği dikkati çekmiştir (Tablo I). Bu bölgeler güney bölgeleri ile karşılaştırıldığında, daha serin ve nemli klime sahiptir. O'Loughlin ve arkadaşlarının³ yaptığı epidemiyolojik çalışmada, ABD'nin bazı eyaletlerinde (Colorado, Maryland) invazif AGS daha sık görülmesine rağmen mevsimsel bir bağlantı kurulmamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışma ile Türkiye'de invazif AGS enfeksiyonlarının epidemiyolojik ve mikrobiyolojik özellikleriyle ilgili ilk veriler elde edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları, bu tip enfeksiyonların ülkemizde yüksek sıklıkta görülmediğini, 26 değerli ASG aşısının aşı programına dahil edilmesinin ülkemiz için acil halk sağlığı sorunu olmadığını ve eğer kullanılacaksa aşıya *emm4* ve *emm24* tiplerinin de eklenmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Ek olarak, bu enfeksiyonların epidemiyolojik ve mikrobiyolojik özellikleri zamanla değişebileceğinden, invazif streptokok hastalıklarının tanısı ve uygun önlemlerin alınabilmesi için epidemiyolojik çalışmaların belirli dönemlerde tekrarlanmasının uygun bir yaklaşım olacağı kanısına varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanmasında katkı sağlayan Prof. Haydar Sur ve Prof. Dr. Hasan Boynukara'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Stevens DL. Invasive group A streptococcal disease. *Infect Agents Dis* 1996; 5(3): 157-66.
2. Hoge CW, Schwartz B, Talkington DF, Breiman RF, MacNeill EM, Englander SJ. The changing epidemiology of invasive group A streptococcal infections and the emergence of streptococcal toxic shock-like syndrome. A retrospective population-based study. *JAMA* 1993; 269(3): 384-9.
3. O'Loughlin RE, Roberson A, Cieslak PR, et al. The epidemiology of invasive group A streptococcal infection and potential vaccine implications: United States, 2000-2004. *Clin Infect Dis* 2007; 45(7): 853-62.
4. O'Grady KA, Kelpie L, Andrews RM, et al. The epidemiology of invasive group A streptococcal disease in Victoria, Australia. *Med J Aust* 2007; 186(11): 565-9.
5. O'Brien KL, Beall B, Barrett NL, et al. Epidemiology of invasive group A streptococcus disease in the United States, 1995-1999. *Clin Infect Dis* 2002; 35(3): 268-76.
6. Courtney HS, Hasty DL, Dale JB. Anti-phagocytic mechanisms of *Streptococcus pyogenes*: binding of fibrinogen to M-related protein. *Mol Microbiol* 2006; 59(3): 936-47.

7. Faclam RF, Martin DR, Lovgren M, et al. Extension of the Lancefield classification for group A streptococci by addition of 22 new M protein gene sequence types from clinical isolates: *emm103* to *emm124*. Clin Infect Dis 2002; 34(1): 28-38.
8. Johnson DR, Kaplan EL, VanGheem A, Facklam RR, 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 2006; 55(Pt 2): 157-64.
9. Luca-Harari B, Darenberg J, Neal S, et al. Clinical and microbiological characteristics of severe *Streptococcus pyogenes* disease in Europe. J Clin Microbiol 2009; 47(4): 1155-1165.
10. Bayramoğlu G, Topkaya AE, Balıkcı A, Aydın F. Serotypes and antimicrobial susceptibilities of invasive group A streptococci identified in eastern Black Sea region of Turkey. Mikrobiyol Bul 2011; 45(3): 446-53.
11. Topkaya AE, Yildirim T, Arsan S. Isolation ratio and T- serotyping of group A streptococci from pediatric upper respiratory tract infections in Turkey. Anadolu Kardiyol Derg 2005; 5(4): 302-4.
12. Breiman RF, Davis JP, Facklam RR, et al. Defining the group A streptococcal toxic shock syndrome. Rationale and consensus definition. The Working Group on Severe Streptococcal Infections. JAMA 1993; 269(3): 390-1.
13. Centers for Disease Control and Prevention. *Streptococcus pyogenes emm* sequence database. Identification of other *Streptococcus* Species: *Streptococcus* general methods. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/strep-doc/index.htm>
14. Rehder CD, Johnson DR, Kaplan EL. Comparison of methods for obtaining serum opacity factor from group A streptococci. J Clin Microbiol 1995; 33(11): 2963-7.
15. Centers for Disease Control and Prevention. *Streptococcus pyogenes emm* sequence database. Protocol for *emm* typing. Available at: http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol_emm-type.htm
16. Hollm-Delgado MG, Allard R, Pilon PA. Invasive group A streptococcal infections, clinical manifestations and their predictors, Montreal, 1995-2001. Emerg Infect Dis 2005; 11(1): 77-82.
17. Davies HD, McGeer A, Schwartz B, et al. Invasive group A streptococcal infections in Ontario, Canada. Ontario Group A Streptococcal Study Group. N Engl J Med 1996; 335(8): 547-54.
18. Thigpen MC, Richards CL Jr, Lynfield R, et al; Active Bacterial Core Surveillance/Emerging Infections Program Network. Invasive group A streptococcal infection in older adults in long-term care facilities and the community, United States, 1998-2003. Emerg Infect Dis 2007; 13(12): 1852-9.
19. Demers B, Simor AE, Vellend H, et al. Severe invasive group A streptococcal infections in Ontario, Canada: 1987-1991. Clin Infect Dis 1993; 16(6): 792-800.
20. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Invasive group A streptococcal infections--United Kingdom, 1994. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1994; 43(21): 401-2.
21. Wahl RU, Lütticken R, Stanzel S, van der Linden M, Reinert RR. Epidemiology of invasive *Streptococcus pyogenes* infections in Germany, 1996-2002: results from a voluntary laboratory surveillance system. Clin Microbiol Infect 2007; 13(12): 1173-8.
22. Ekelund K, Skinhøj P, Madsen J, Konradsen HB. Reemergence of *emm1* and a changed superantigen profile for group A streptococci causing invasive infections: results from a nationwide study. J Clin Microbiol 2005; 43(4): 1789-96.
23. Steer AC, Batzloff MR, Mulholland K, Carapetis JR. Group A streptococcal vaccines: facts versus fantasy. Curr Opin Infect Dis 2009; 22(6): 544-52.
24. Siljander T, Toropainen M, Muotiala A, Hoe NP, Musser JM, Vuopio-Varkila J. *Emm* typing of invasive T28 group A streptococci, 1995-2004, Finland. J Med Microbiol 2006; 55(Pt 12): 1701-6.
25. Arslan U, Oryaşın E, Eskin Z, et al. Distribution of *emm* genotypes and antibiotic susceptibility of *Streptococcus pyogenes* strains: analogy with the vaccine in development. Mikrobiyol Bul 2013; 47(2): 318-23.