

# İdrar Örneklerinden İzole Edilen Grup B Streptokokların Serotip Dağılımı, Biyofilm Üretimi ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması\*

## Investigation of the Serotype Distribution, Biofilm Production and Antibiotic Susceptibilities of Group B Streptococci Isolated From Urinary Samples

Sevinç BABA<sup>1</sup>, Mustafa Derya AYDIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>1</sup> Istanbul University Istanbul Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

\* Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiş (Proje No: 21689) ve 2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi (10-13 Kasım 2013, Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 23.01.2016 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 24.05.2016

### ÖZ

İnsanların gastrointestinal ve ürogenital sistemlerinde normal flora üyesi olarak bulunan *Streptococcus agalactiae* (Grup B streptokok, GBS), özellikle yenidoğanda sepsis, menenjit ve pnömoninin önemli etkenlerindedir. Gebelerde ve altta yatan hastalığı olanlarda da ciddi enfeksiyonlara yol açabilen GBS, üriner sistem enfeksiyonu (ÜSE) gibi daha hafif enfeksiyonlara da neden olabilir. GBS'lerin on farklı serotipi mevcut olup, serotip dağılımının bilinmesi epidemiyolojik açıdan önemlidir. Biyofilm üretimi, GBS enfeksiyonlarının patogenezinde rolü tartışılan virülans faktörlerinden biridir. GBS'lerde penisilin ve ampisiline direnç görülmemekle birlikte, penisiline alternatif olarak kullanılan antibiyotiklere karşı çeşitli oranlarda direnç bildirilmektedir. Bu çalışmanın amacı, idrar kültürlerinden izole edilen *S. agalactiae* suşlarının serotiplendirilmesi, biyofilm oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi ve antibiyotik duyarlılıklarının saptanmasıdır. Çalışmaya, üriner sistem şikayeti olan hastalardan (38 kadın, 2 erkek; ortalama yaş: 36.7 yıl) tek tip olarak izole edilen ve kültürde üreyen koloni sayısı  $\geq 50.000$  cfu/ml olan 40 izolat ile şikayeti olmayan hastalardan (19 kadın, 1 erkek; ortalama yaş: 37.2 yıl) izole edilen, tek tip üreme göstermeyen ve koloni sayısı  $\leq 20.000$  cfu/ml olan 20 izolat dahil edilmiştir. Suşların izolasyonunda kromojenik agar kullanılmış ve tanımlama konvansiyonel yöntemlerle yapılmıştır. İzolatlar lateks aglütinasyon testiyle serotiplendirilmiş ve antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerilerine göre disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Biyofilm oluşumu kongo kırmızılı agar (KKA) ve mikroyekt yöntemleriyle araştırılmıştır. Çalışmamızda, en sık saptanan serotipler V (n= 18; %30) ve II (n= 14; %23.3) olmuş; bunları serotip Ia (n= 10; %16.7), III (n= 9;

**İletişim (Correspondence):** MSc. Bio. Sevinç Baba, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa 34093, İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 543 597 4323, **E-posta (E-mail):** sevincbaba@hotmail.com

%15), Ib (n= 3; %5), VI (n= 1; %1.7) ve VII (n= 1; %1.7) izlemiştir; serotip IV, VIII ve IX'a rastlanmamıştır; dört (%6.7) suş ise serotiplendirilememiştir. Hasta ve kontrollere ait suşlarda ilk sırayı sırasıyla, serotip V (13/40; %32.5) ve serotip II (6/20; %30) almıştır. Tüm suşlar penisilin, vankomisin ve sefotaksime duyarlı olarak bulunmuştur; hasta grubunda ofloksasin, eritromisin ve klindamisin direnci sırasıyla, %22.5, %10 ve %5 olarak izlenmiştir. Kontrol grubunda ise eritromisin ve klindamisine direnç oranı %10 olarak saptanırken, diğer antibiyotiklere karşı direnç tespit edilmemiştir. Hasta grubunda ofloksasin direncinin, kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir (p= 0.02). Mikropleyt yöntemiyle, hasta suşlarının %42.5'inin (17/40), kontrol suşlarının ise %20'sinin (4/20) orta/güçlü düzeyde biyofilm ürettiği saptanmıştır, ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p= 0.08). KKA yöntemiyle tüm suşlar pozitif sonuç vermiş; bu durumun Kongo kırmızısının GBS kapsülündeki sialik aside bağlanmasına bağlı olabileceği ve bu yöntemin biyofilm oluşumunun araştırılmasında uygun olmadığı düşünülmüştür. Sonuç olarak, çalışmamızda üriner sistemden izole edilen GBS suşlarında sık rastlanan serotiplerin, diğer çalışmalarda da en sık bildirilen serotipler olduğu gözlemlenmiş ve bulgularımız, GBS'lerin biyofilm oluşumunun, ÜSE patogenezinde rolünün olmayabileceğini işaret etmiştir. Bununla birlikte saptadığımız yüksek kinolon direnci, GBS'lere bağlı ÜSE tedavisinde dikkate alınmalıdır.

**Anahtar sözcükler:** *Streptococcus agalactiae*; serotiplendirme; biyofilm; antibiyotik duyarlılığı; üriner sistem enfeksiyonu.

## ABSTRACT

*Streptococcus agalactiae* (Group B streptococcus, GBS), a member of normal flora of human gastrointestinal and genitourinary systems, is a leading cause of sepsis, meningitis, and pneumonia particularly in newborn. GBS can also cause severe infections in pregnant women and adults with underlying disease, as well as mild diseases, such as urinary tract infections (UTIs). GBS strains exhibit 10 different serotypes, and the identification of serotype distribution is important epidemiologically. The role of biofilm production is one of the virulence factors that has been discussed in the pathogenesis of GBS infections. Although resistance to penicillin and ampicillin has not been documented in GBS, different rates of resistance has been reported for the alternative antibiotics to penicillin. The aim of this study was to investigate the serotype distribution, the ability of biofilm formation and the antibiotic susceptibilities of *S. agalactiae* strains isolated from urine cultures. A total of 60 strains were included in the study, 40 of them were isolated from patients (38 female 2 male; mean age: 36.7 years) with urinary tract complaints whose cultures yielded single type of colonies in the number of  $\geq 50.000$  cfu/ml, whereas 20 of them were isolated from patients (19 female 1 male; mean age: 37.2 years) without urinary tract complaints whose cultures yielded mixed colonies in the number of  $\leq 20.000$  cfu/ml. Chromogenic media were used for the isolation and the isolates were identified by conventional methods. The isolates were then serotyped by latex agglutination method and their antibiotic susceptibilities were determined by disk diffusion method recommended by CLSI documents. Biofilm formation of the strains were investigated by microplate and Congo red agar (CRA) methods. In our study, the most frequently detected serotypes were V (n= 18; 30%) and II (n= 14; 23.3%), followed by serotype Ia (n= 10; 16.7%), III (n= 9; 15%), Ib (n= 3; 5%), VI (n= 1; 1.7%) and VII (n= 1; 1.7%). Serotype IV, VIII and IX were not detected, while four (6.7%) isolates were untypeable. Serotype V (13/40; 32.5%) and serotip II (6/20; 30%) were in the first line among the strains isolated from patient and control groups, respectively. All of the GBS isolates were found susceptible to penicillin, vancomycin and cefotaxime. The rates of resistance against ofloxacin, erythromycin and clindamycin in patient group were found as 22.5%, %10 and 5%, respectively. In the control group resistance rates against erythromycin and clindamycin were both 10%, while no resistance was detected to the other antibiotics. The ofloxacin resistance in the patient group was found significantly higher than that of control group (p= 0.02). By microplate method, the percentage of moderate/strong biofilm producers was found as 42.5% (17/40) in the patient group and 20% (4/20) in the control group, however the difference between the groups was not statistically significant (p= 0.08). All GBS strains were detected as positive by the CRA method, and it has been suggested that this might have been

due to the binding of Congo red to sialic acid found in the GBS capsule, therefore this method thought to be improper for the investigation of biofilm formation in GBS strains. In conclusion, the most frequent serotypes of the GBS urinary isolates in our study were similar with the frequent serotypes reported in other studies. Our data have pointed out that the biofilm formation of GBS may not play a role in the pathogenesis of UTIs. In the meantime the high quinolone resistance detected in our study should be considered in the treatment of UTI due to GBS.

**Keywords:** *Streptococcus agalactiae*; serotyping; biofilm; antibiotic susceptibility; urinary tract infection.

## GİRİŞ

*Streptococcus agalactiae* (Grup B Streptokok, GBS), normal alt gastrointestinal sistem ve vajina florasında bulunabilen ve özellikle doğum sırasında GBS kolonizasyonu olan anneden geçişle yenidoğanda sepsis, pnömoni ve menenjit gibi ciddi enfeksiyonlara yol açabilen bir bakteridir. Bunun dışında GBS'ler, özellikle diyabet ve malignite gibi altta yatan hastalığı olanlarda daha sık olmak üzere, erişkinlerde bakteriyemi, endokardit, pnömoni, artrit, menenjit, osteomyelit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, kadın genital sistem enfeksiyonları ve üriner sistem enfeksiyonlarına neden olur<sup>1,2</sup>. Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE)'nin yaklaşık %2'sinden GBS'ler sorumludur<sup>1</sup>.

GBS'ler kapsül antijenlerine göre Ia, Ib, II-IX olmak üzere 10 serotipe ayrılırlar, yaygın görülen serotipler zamanla değişiklik gösterebilir. Ciddi hastalıklarla en fazla ilişkilendirilen serotipler Ia, II, III ve V'tir<sup>3</sup>. GBS'lerin patojenitesinde biyofilm oluşumunun rolü tartışmalıdır<sup>4-7</sup>. İnsanda enfeksiyon oluşturan GBS'lerin biyofilm üretimiyle ilgili çok fazla çalışma yoktur. Ülkemizde ise, bu konuda yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. GBS suşlarında penisiline ve ampisiline direnç görülmemekle birlikte, penisiline alerjisi olan hastalarda beta-laktam grubu antibiyotikler kullanılamaz; bu nedenle, eritromisin, klindamisin, florokinolonlar gibi alternatif antibiyotiklere direnç oranlarının bilinmesi tedaviye yön vermek açısından önemlidir<sup>1</sup>. Bu çalışmada, idrar kültürlerinden izole edilen üriner sistem enfeksiyonu etkeni GBS suşlarının serotipleri, antibiyotik duyarlılıkları ve biyofilm oluşturma yeteneklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Mart 2011 - Eylül 2012 tarihleri arasında İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Bilim Dalı Rutin Laboratuvarına kültür isteği ile gönderilen 12.941 idrar örneğinden izole edilen 150 (%1.1) GBS suşundan 60'ı dahil edildi. Tüm hastaların cinsiyet, yaş, hamilelik, diyabet varlığı bilgileri alındı ve üriner sistemle ilgili şikayetleri sorgulandı. Buna göre, üriner sistem şikayeti olan hastalardan tek tip olarak izole edilen ve kültürde üreyen koloni sayısı  $\geq 50.000$  cfu/ml olan 40 suş hasta grubu; şikayeti olmayan hastalardan izole edilen, tek tip olarak üremeyen ve koloni sayısı  $\leq 20.000$  cfu/ml olan 20 suş ise kontrol grubu içerisinde incelendi.

Kültür amacıyla alınan orta akım idrar örneklerinden kromojenik agar (Chromagar Orientation, Becton Dickinson, ABD) besiyerine tek kullanımlık özelerle 10 µl azaltma yöntemiyle ekim yapıldı ve besiyerleri 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Besiyerinde ma-

vi-yeşil renkte üreyen GBS şüpheli kolonilerden katalaz reaksiyonu negatif, gram-pozitif kokların CAMP faktör pozitiflikleri ve basitrasin ve trimetoprim/sülfametoksazol (SXT)'e duyarlılıkları araştırıldı. CAMP deneyi pozitif, basitrasin ve SXT'ye dirençli suşların GBS oldukları lateks aglütinasyon (Plasmatec Latex Microbiology Kits, İngiltere) yöntemiyle doğrulandı ve çalışılincaya kadar -70°C'de saklandı. Serotiplendirme için Strep B Latex (Statens Serum Institut, Danimarka) kiti, üreticinin önerilerine göre uygulandı.

Biyofilm oluşumu, kongo kırmızılı agar (KKA) ve mikropleyt yöntemi olmak üzere iki farklı yöntemle araştırıldı. Mikropleyt yöntemi, polistren mikropleyt kuyucuklarındaki triptik soy sıvı besiyerinde (Becton Dickinson, Fransa) uygulandı ve spektrofotometrede ( $\mu$ Quant BioTek, ABD) 550 nm'de saptanan aynı suşa ait üç değerlerin ortalaması optik dansite (OD) değeri olarak alındı<sup>4</sup>. Pozitif kontrol olarak biyofilm oluşturan *S.aureus* ATCC 29213, *P.aeruginosa* ATCC 27853; negatif kontrol olarak biyofilm oluşturmeyen *S.epidermidis* ATCC 12228 kullanıldı. Negatif kontrol OD'si (ODc) suşların OD'si ile karşılaştırıldı ve değerlendirme;  $OD \leq ODc$  ise biyofilm üretimi negatif,  $ODc < OD \leq 2 \times ODc$  ise zayıf,  $2 \times ODc < OD \leq 4 \times ODc$  ise orta,  $4 \times ODc < OD$  ise güçlü biyofilm üretimi şeklinde yapıldı. Mikropleyt yönteminde biyofilm oluşturmeyenler ile zayıf biyofilm oluşturanlar bir grupta toplandı; orta ve güçlü biyofilm üretimi gösterenler ise biyofilm pozitif olarak değerlendirmeye alındı<sup>8</sup>. KKA yönteminde ise, Kongo kırmızılı (Merck, Almanya) beyin-kalp infüzyon agar (Oxoid, İngiltere) besiyerine tek koloni düşecek şekilde azaltma yöntemiyle ekim yapıldı. Besiyerleri sırasıyla 37°C'de 48 saat ve oda ısısında 24-48 saat süreyle inkübe edildi. Bu yöntem her suş için üç kez tekrarlandı. Değerlendirme, koloni morfolojisi ve rengine göre yapıldı; siyah, pürüzlü koloni oluşturanlar "biyofilm pozitif"; pembe olanlar "biyofilm negatif" olarak kabul edildi<sup>9</sup>.

GBS izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları; penisilin, vankomisin, ofloksasin, seftriakson, eritromisin ve klindamisin diskleri (Oxoid, İngiltere) kullanılarak, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle araştırıldı ve CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) kriterlerine göre değerlendirildi<sup>10</sup>.

İstatistiksel değerlendirmede ki-kare ( $\chi^2$ ) testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmamızda, hasta grubunda 38 kadın ve 2 erkek (yaş ortalaması: 36.7 yıl); kontrol grubunda ise 19 kadın ve 1 erkek (yaş ortalaması: 37.2 yıl) olgu yer almaktadır. Olgulardan izole edilen GBS suşlarının serotip dağılımı Tablo I'de verilmiştir. Suşlar arasında serotip IV, VIII ve IX'a rastlanmazken, toplamda en fazla serotip V (18/60; %30) bulunmuştur. Suşlardan 4'ü tiplendirilememiştir. Hastalara ait suşlarda en fazla saptanan serotiplerin sırasıyla tip V (%32.5), Ia ve II (%20), III (%15); kontrol grubuna ait suşlarda ise tip II (%30), V (%25) ve III (%15) olduğu görülmüştür (Tablo I).

Hastaların 5'i (%12.5) ve kontrollerin 3'ünde (%15) diyabet varlığı saptanmıştır. Hasta grubundaki diyabetlilerin 3'ünde tip V, 2'sinde tip Ia; kontrol grubunda ise birer adet tip III, tip V ve tiplendirilemeyen suş bulunmuştur.

Mikropleyt yöntemiyle biyofilm pozitif bulunan suşlar, hasta grubunun %42.5'ini, kontrol grubunun ise %20'sini oluşturmuştur. İstatistiksel değerlendirmede, biyofilm oluşturma özelliği açısından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p= 0.08$ ). KKA yöntemiyle, hasta ve kontrol grubundaki tüm suşlar biyofilm pozitif olarak saptanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarındaki biyofilm pozitif ve negatif izolatların serotiplerine göre dağılımı Tablo 1'de görülmektedir.

Antibiyotik duyarlılık testi sonuçlarına göre; hasta grubuna ait suşların %5'i klindamisine, %10'u eritromisine ve %22.5'i ofloksasine dirençli bulunmuş; penisilin, vankomisin ve seftriaksona direnç saptanmamıştır. Kontrol grubundaki suşlarda ise eritromisin ve klindamisine direnç oranı %10 olarak izlenmiş, diğer antibiyotiklere dirençli suş tespit edilmemiştir. Serotip III suşlarının %77.7'sinde eritromisin, klindamisin ve ofloksasinden en az birine karşı direnç gözlenmiştir. Ofloksasin direncinin, hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p= 0.02$ ).

### TARTIŞMA

Grup B streptokok (GBS)'lar, kadınların %10-40'inde normal vajinal ve alt gastrointestinal florada bulunur ve üriner sistemde asemptomatik bakteriüri, piyelonefrit, üretrit ve ürosepsis gibi sorunlara yol açabilir<sup>1</sup>. Amerika Birleşik Devletleri (1990-2007) ve Fransa'da (2007-2010) hamile olmayan kadınlara ait invazif suşlarla yapılan çalışmalarda, sırasıyla %88 ve %94 oranlarında en sık rastlanılan serotiplerin Ia, Ib, II, III ve V olduğu bildirilmiştir<sup>11,12</sup>. Ciddi hastalıklarla sıklıkla ilişkilendirilen GBS serotipleri ise Ia, II, III ve V'tir<sup>3</sup>. Türkiye'de, hamile kadınlara ait örneklerden izole edilen GBS serotipleri arasında yaygın olarak görülenler tip III, II ve Ia'dır. Eren ve arkadaşlarının<sup>13</sup> 2002'de yaptıkları çalışmada, hamile kadınların vajinal ve rektal sürüntü örneklerinden ve yenidoğanların göbek bağı ve boğaz sürüntü örneklerinden izole ettikleri GBS suşlarında sırasıyla en sık serotip II (%29), Ia (%26) ve III (%10); 2006'da Yenişehirli ve arkadaşlarının<sup>14</sup> çalışmasında vajinal kültürlerden izole edilen GBS'lerde sırasıyla en sık serotip III (%33.7), Ib (%24.5) ve V (%18.4) bildirilmiştir.

**Tablo 1.** Hasta ve kontrol gruplarına ait GBS suşlarının serotip dağılımı ve biyofilm üretimi

Serotip (n)	Biyofilm üretimi									
	Hasta grubu				Toplam n (%)	Kontrol grubu				Toplam n (%)
	Negatif (n)		Pozitif (n)			Negatif (n)		Pozitif (n)		
Negatif	Zayıf	Orta	Güçlü	Negatif	Zayıf	Orta	Güçlü			
Ia (10)	0	4	4	0	8 (20)	0	2	0	0	2 (10)
Ib (3)	0	2	0	0	2 (5)	0	0	0	1	1 (5)
II (14)	1	6	1	0	8 (20)	0	5	1	0	6 (30)
III (9)	0	3	3	0	6 (15)	1	2	0	0	3 (15)
V (18)	2	4	4	3	13 (32.5)	0	4	0	1	5 (25)
VI (1)	0	0	1	0	1 (2.5)	0	0	0	0	0
VII (1)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (5)
NT*(4)	0	1	1	0	2 (5)	0	1	1	0	2 (10)
Toplam	3	20	14	3	40 (100)	1	15	2	2	20 (100)

\* Tiplendirilemeyen.

Yapılan çalışmalar, ÜSE'lerde de en sık görülen GBS serotiplerinin, çalışmalara göre değişmekle birlikte, V, Ia ve III olduğunu göstermektedir<sup>15-18</sup>. Ulett ve arkadaşları<sup>15</sup>, 2007-2008 yıllarında üriner sistem enfeksiyonu etkeni GBS suşlarının serotiplerini araştırmış; serotip V, Ia ve III'ün tüm olguların %76'sını oluşturduğunu ve hasta ve kontrol gruplarında yaygın görülen serotipler açısından anlamlı bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Atalay ve arkadaşlarının<sup>18</sup> 2011 yılında Kayseri'de yaptıkları bir çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 131 GBS içerisinde, idrar örneklerinden izole edilen 99 suşta en fazla serotip III (%39.4), Ia (%33.4) ve V (%13.1) saptanmıştır<sup>18</sup>. Çalışmamızda da, hasta grubundan izole edilen GBS'lerde dünyada ve ülkemizdeki sonuçlara benzer şekilde en fazla serotip V (%32.5), Ia (%20), II (%20) ve III (%15); kontrol grubunda ise serotip II (%30) ve V (%25) baskın serotipler olarak bulunmuştur. Çalışmamızda, hasta grubunda saptanan serotip V oranının ülkemizdeki diğer çalışmalardan<sup>14,18</sup> yüksek olduğu görülmektedir.

Grup B streptokokların patojenitesinde biyofilm oluşumunun rolü tartışmalıdır ve henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır<sup>19</sup>. İnsanda enfeksiyon oluşturan GBS'lerin biyofilm üretimiyle ilgili az sayıda çalışma<sup>4-7</sup> vardır; ülkemizde ise bu konuda yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Kaur ve arkadaşları<sup>4</sup>, asemptomatik taşıyıcı hamile kadınların (n= 34) vajinal kültürlerinden ve semptomatik hastalara (n= 26) ait kan, cerahat ve idrar kültürlerinden izole ettikleri GBS'lerin biyofilm oluşturma özelliklerini araştırmışlar ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, GBS izolatlarının, asemptomatik taşıyıcı hamile kadınlarda, semptomlu hastalara göre daha iyi derecede biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olduğunu rapor etmişlerdir<sup>4</sup>. Çalışmamız, üriner sistem enfeksiyonu etkeni olan GBS suşlarında biyofilm oluşumunu araştıran ilk kapsamlı çalışmadır. Mikropleyt yönteminde yapılan değerlendirmeye göre, hasta ve kontrol grubuna ait izolatların sırasıyla %42.5 ve %20 oranında (orta/güçlü düzeyde) biyofilm oluşturduğu saptanmış, ancak gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgu, GBS'lerin patogeneğinde biyofilm üretiminin önemli bir etkisi olmadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda, KKA yöntemiyle tüm suşların biyofilm oluşturduğu saptanmıştır. Literatür taramasında, daha önce GBS'lerin biyofilm oluşturma özelliklerini KKA yöntemiyle araştıran bir çalışmaya ulaşılammıştır. Jurcisek ve arkadaşları<sup>20</sup>, tiplendirilemeyen *Haemophilus influenza* suşlarının biyofilm yapımında, kapsülde bulunan sialik asit ve kompleks karbonhidratların rolü olduğunu bildirmiştir. Sialik asitler glikoprotein, glikolipid veya glikozaminoglikanların oligosakkarit yan zincirlerinin terminal karbonhidrat kalıntıları olarak bulunurlar<sup>20,21</sup>. Kongo kırmızısının polisakkaritleri ve amiloid proteinini boyadığı bilinmektedir<sup>22</sup>. Bizim çalışmamızda, kongo kırmızılı agarda tüm GBS suşlarında biyofilm pozitifliğinin saptanması ve kongo kırmızısının sialik aside bağlanma özelliği göz önüne alınarak, bu yöntemin GBS'lerde biyofilm oluşumunun araştırılmasında uygun olmadığını düşünölmüştür.

Grup B streptokokların antibiyotik duyarlılıklarının saptanması için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. İtalya'da 2005-2008 tarihleri arasında yapılan bir çalışmada, hamile olan ve olmayan kadınlara ait örneklerden izole edilen GBS'lerin eritromisin ve klindamisin dirençlerinde önemli ölçüde artış görölmüştür<sup>23</sup>. Japonya'da 2007-2010 tarihleri arasında

yapılan ve vajinal kültürlerden izole edilen GBS'lerin serotipleri ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırıldığı bir çalışmada da, serotip Ib, III ve V'in eritromisin, klindamisin, ofloksasin ve levofloksasine diğer serotiplerden daha fazla direnç gösterdiği bildirilmiştir<sup>24</sup>. Ulett ve arkadaşları<sup>15</sup> 2007-2008 yıllarında yaptıkları çalışmada, üriner GBS suşlarında klindamisine %26.4, eritromisine %39.5, sefoksitine %88.7 ve SXT'ye %98.3 oranında direnç olduğunu rapor etmişlerdir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda; Atalay ve arkadaşları<sup>18</sup>, 2011 yılında klinik örneklerden izole edilen 131 GBS suşunu penisilin, seftriakson ve vankomisine karşı duyarlı saptamış; eritromisin ve klindamisine karşı sırasıyla %14.5 ve %13 oranında direnç bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, direnç oranı en yüksek serotiplerin, eritromisin ve klindamisine karşı tip III ve V; tetrasikline karşı tip Ia ve III olduğunu belirtmişlerdir<sup>18</sup>. Eren ve arkadaşları<sup>13</sup>, izole ettikleri GBS'leri klindamisin, eritromisin ve ofloksasine karşı sırasıyla, %9, %7 ve %2 oranında dirençli bulmuşlardır. Yenişehirli ve arkadaşları<sup>14</sup> izole ettikleri suşların tümünü ofloksasine duyarlı, %24.5'ini eritromisine ve %19.4'ünü klindamisine dirençli olarak bulmuşlar, dirençli suşların en fazla serotip III ve V'e ait olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda tüm suşlar penisilin, vankomisin ve seftriaksona duyarlı olarak bulunmuş, eritromisine direnç oranı %10 olarak saptanmıştır. Çalışmamızda da en dirençli suşların serotip III olduğu izlenmiş; bu gruptaki suşların %77.7'sinde eritromisin, klindamisin ve ofloksasinden en az birine karşı direnç tespit edilmiştir. Hasta grubumuzda ofloksasine direnç oranı (%22.5), ülkemizdeki hamile kadınlara ait örneklerden izole edilen GBS'lerle yapılan çalışmalardan<sup>13,14</sup> yüksek bulunmuştur. Literatür taramamızda, ülkemizde ÜSE'lerden izole edilen GBS'lerin kinolon grubu antibiyotiklere direncini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Saptadığımız yüksek direnç oranının, kinolon grubu antibiyotiklerin ülkemizde ÜSE'lerde yaygın olarak kullanılmasından<sup>25,26</sup> kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Diyabetin, GBS enfeksiyonlarında risk faktörü olabileceği belirtilmiş<sup>1</sup> olmakla birlikte, Ulett ve arkadaşlarının<sup>15</sup> çalışmasında, diyabet varlığı hastaların %14.5'inde ve kontrol grubunun %17.6'sında saptanmıştır. Çalışmamızda da, buna benzer şekilde, hastaların %12.5'inde ve kontrol grubunun %15'inde diyabet varlığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, ÜSE'lerden izole edilen GBS suşlarında en sık rastlanan serotiplerin, diğer çalışmalarda da bildirildiği gibi V, II, Ia ve III olduğu belirlenmiş; GBS'lerin biyofilm üretiminin ÜSE patogeneğinde anlamlı bir rol oynamayabileceği düşünülmüş; biyofilm oluşumunun araştırılmasında KKA yönteminin kullanılmaması ve GBS'lere bağlı ÜSE tedavisinde yüksek kinolon direncinin göz önüne alınması gerektiği kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Edwards MS, Baker CJ. *Streptococcus agalactiae* (Group B Streptococcus), pp: 2339-48. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2015, 8<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone, USA.
2. Huang, PY, Lee MH, Yang CC, Leu HS. Group B streptococcal bacteremia in non-pregnant adults. J Microbiol Immunol Infect 2006; 39(3): 237-41.
3. Edward MS, Baker CJ. Group B streptococcal infections in elderly adults. Clin Infect Dis 2005; 41(6): 839-47.
4. Kaur H, Kumar P, Ray P, Kaur J, Chakraborti A. Biofilm formation in clinical isolates of group B streptococci from north India. Microb Pathog 2009; 46(6): 321-7.

5. Borges S, Silva J, Teixeira P. Survival and biofilm formation by Group B streptococci in simulated vaginal fluid at different pHs. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2012; 101(3): 677-82.
6. Konto-Ghiorghi Y, Mairey E, Mallet A, et al. Dual role for pilus in adherence to epithelial cells and biofilm formation in *Streptococcus agalactiae*. *PLoS Pathog* 2009; 5(5): e1000422.
7. Rinaudo CD, Rosini R, Galeotti CL, et al. Specific involvement of pilus type 2a in biofilm formation in group B streptococcus. *PLoS One* 2010; 5(2): e9216.
8. Stepanovic S, Vukovic D, Hola V, et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS* 2007; 115(8): 891-9.
9. Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol* 1989; 42(8): 872-8.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-Second Informational Supplement, M100-S22, 2012. CLSI, Wayne, PA.
11. Skoff TH, Farley MM, Petit S, et al. Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in nonpregnant adults, 1990-2007. *Clin Infect Dis* 2009; 49(1): 85-92.
12. Tazi A, Morand PC, Réglier-Poupet H, et al. Invasive group B streptococcal infections in adults, France (2007-2010). *Clin Microbiol Infect* 2011; 17(10): 1587-9.
13. Eren A, Küçükercan M, Oğuzoğlu N, Unal N, Karateke A. The carriage of group B streptococci in Turkish pregnant women and its transmission rate in newborns and serotype distribution. *Turk J Pediatr* 2005; 47(1): 28-33.
14. Yenişehirli G, Bulut Y, Demirtürk F, Çalışkan AC. Gebe kadınlardan izole edilen *Streptococcus agalactiae* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları ve serotip dağılımı. *Mikrobiyol Bul* 2006; 40(3): 155-60.
15. Ulett KB, Benjamin WH, Zhuo F, et al. Diversity of group B streptococcus serotypes causing urinary tract infection in adults. *J Clin Microbiol* 2009; 47(7): 2055-60.
16. Ko WC, Lee HC, Wang LR, Lee CT, Liu AJ, Wu JJ. Serotyping and antimicrobial susceptibility of group B Streptococcus over an eight-year period in southern Taiwan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20(5): 334-9.
17. Smith JM, Rexroth JA, Chaffin DG, Jackman SH. Serotyping group B streptococci in a small community hospital: an analysis of distribution and site of isolation. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2002; 10(4): 165-9.
18. Atalay A, Ölçü M, Perçin D. Antibiotic susceptibilities and serotyping of clinical *Streptococcus agalactiae* isolates. *Balkan Med J* 2011; 28(4): 362-5.
19. Rosini R, Margarit I. Biofilm formation by *Streptococcus agalactiae*: influence of environmental conditions and implicated virulence factors. *Front Cell Infect Microbiol* 2015; 5:6.
20. Jurcisek J, Greiner L, Watanabe H, Zaleski A, Apicella MA, Bakaletz LO. Role of sialic acid and complex carbohydrate biosynthesis in biofilm formation by nontypeable *Haemophilus influenzae* in the chinchilla middle ear. *Infect Immun* 2005; 73(6): 3210-8.
21. Schauer R. Sialic acids as regulators of molecular and cellular interactions. *Curr Opin Struct Biol* 2009; 19(5): 507-14.
22. Frid P, Anisimov SV, Popovic N. Congo red and protein aggregation in neurodegenerative diseases. *Brain Res Rev* 2007; 53(1): 135-60.
23. Lambiasi A, Agangi A, Del Pezzo M, et al. In vitro resistance to macrolides and clindamycin by Group B Streptococcus isolated from pregnant and nonpregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2012; 2012: 913603.
24. Ueno H, Yamamoto Y, Yamamichi A, Kikuchi K, Kobori S, Miyazaki M. Characterization of group B streptococcus isolated from women in Saitama City, Japan. *Jpn J Infect Dis* 2012; 65(6): 516-21.
25. Karaca Y, Coplu N, Gozalan A, Oncul O, Citil BE, Esen B. Co-trimoxazole and quinolone resistance in *Escherichia coli* isolated from urinary tract infections over the last 10 years. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 26(1): 75-7.
26. Aykan ŞB, Çiftçi İH. Türkiye’de idrar kültürlerinden izole edilen *E.coli* suşlarının antibiyotiklere direnç durumu: bir meta analiz. *Mikrobiyol Bul* 2013; 47(4): 603-18.