Özgün Çalışma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2024;58(1):1-12*/doi: 10.5578/mb.20249901

Geliş Tarihi (Received): 07.09.2023 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 12.01.2024

Çeşitli Klinik ve Polikliniklerde Takip Edilen Hastalardan İzole Edilen Grup B Streptokok İzolatlarının Kapsül Tiplerinin Belirlenmesi, Antibiyotik Direnç Profilleri ve Filogenetik İlişkilerinin Araştırılması

Determination of Capsule Types, Antibiotic Resistance Profiles and Phylogenetic Relationships of Group B *Streptococcus* Isolates Isolated from Patients Followed in Various Clinics and Polyclinics

Suna KIZILYILDIRIM[1](ID), Tülay KANDEMİR[2](ID), Berfin SUCU[3](ID), Fatih KÖKSAL[2](ID)

[1] Çukurova Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana.
[1] Çukurova University Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology, Adana, Türkiye.

[2] Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana.
[2] Çukurova University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Adana, Türkiye.

[3] Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Adana.
[3] Çukurova University Institute of Science and Technology, Department of Biotechnology, Adana, Türkiye.

**Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: TSA-2022-14567).*

Makale Atıfı: *Kızılyıldırım S, Kandemir T, Sucu B, Köksal F. Çeşitli klinik ve polikliniklerde takip edilen hastalardan izole edilen grup B streptokok izolatlarının kapsül tiplerinin belirlenmesi, antibiyotik direnç profilleri ve filogenetik ilişkilerinin araştırılması. Mikrobiyol Bul 2024;58(1):1-12.*

ÖZ

Grup B streptokoklar (GBS), çeşitli enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalardır. Bu çalışmada, GBS izolatlarında kapsül serotipleri, antibiyotik direnci ve izolatlar arasındaki filogenetik benzerlik ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya, Adana Şehir Hastanesine çeşitli yakınmalarla başvuran kadın hastalardan izole edilen 110 GBS izolatı dahil edilmiştir. Antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü [Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)] kriterleri ile değerlendirilmiştir. Eritromisin direnci için *erm*B, *erm*TR, *mef*A ve klindamisin direnci için *lin*B genleri genotipik olarak multipleks polimeraz zincir reaksiyonu [multiplex-polymerase chain reaction (multipleks-PCR)] yöntemiyle araştırılmıştır. GBS kapsül serotiplendirilmesinde multipleks-PCR yöntemi kullanılmıştır. İzolatlar arasındaki benzerlik ilişkisi "pulsed-field" jel elektroforez (PFGE) yöntemiyle analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda; GBS izolatlarının tamamının penisilin ve vankomisine duyarlı olduğu görülmüştür. Eritromisin, klindamisin, ofloksasin ve sefriaksona sırasıyla %60, %11.8, %6.4 ve %4.5 oranlarında direnç görülmüştür. Eritromisin dirençli izolatların %53'ünde *erm*TR, %47'sinde *erm*B genleri saptanırken, *mef*A geni tespit edilmemiştir. Klindamisin dirençli suşlarda *lin*B geni

İletişim (Correspondence): *Dr. Öğr. Üyesi Suna Kızılyıldırım, Çukurova Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 (544) 374 3458,*
E-posta (E-mail): *skizilyildirim@cu.edu.tr, Suna_ky@hotmail.com*

bulunmamıştır. GBS'lerin kapsül serotip dağılımları sırası ile Ib %42.7, Ia %35.5, III %10, II %8.2, ve V %3.6 olarak tespit edilmiştir. GBS izolatları arasındaki benzerliğin araştırıldığı PFGE yönteminde elde edilen sonuçların analizinde anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Sonuç olarak, GBS kapsül serotiplerinin yaygınlığını ve antibiyotik direnç paternlerini gösteren daha fazla bölgesel çalışma yapılması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Antibiyotik; grup B streptokok; kapsül serotipi; PFGE.*

ABSTRACT

Group B streptococci (GBS) are microorganisms that cause various systemic infections. In this study, it was aimed to investigate the capsule serotypes, antibiotic resistance and phylogenetic similarity relationship between GBS isolates. One hundred and ten GBS isolates isolated from female patients who admitted to Adana City Hospital with various complaints were included in the study. Kirby-Bauer disc diffusion method was used for the antibiotic resistance patterns and evaluated with CLSI criteria. The genes *erm*B, *erm*TR, *mef*A for erythromycin resistance and *lin*B genes for clindamycin resistance were investigated by multiplex PCR method. Multiplex PCR method was used for GBS capsule serotyping. Similarity relationship between the isolates was analyzed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) method. As a result of the study; all strains were found to be sensitive to penicillin and vancomycin. Erythromycin, clindamycin ofloxacin, and ceftriaxone resistance rates were observed as 60%, 11.8%, 6.4%, and 4.5%, respectively. The *mef*A gene was not found while 53% and 47% of the erythromycin-resistant isolates carried *erm*TR and *erm*B genes, respectively. The *lin*B gene was not found in clindamycin-resistant GBS isolates. The capsule serotype distributions of GBSs were found as, Ib 42.7%, Ia 35.5%, III 10%, II 8.2%, and V 3.6%, respectively. In the analysis of the similarity relationships between GBS isolates with the PFGE method, no significant relationship was found. In conclusion, it was thought that more studies should be conducted to show the prevalence of GBS capsule serotypes and patterns of antibiotic resistance.

Keywords: *Antibiotic; GBS; capsule serotype; PFGE.*

GİRİŞ

Grup B streptokok (GBS) veya *Streptococcus agalactiae*, sağlıklı bireylerin yaklaşık üçte birinin genitoüriner ve gastrointestinal yollarında kolonizedir[1]. GBS, gebe olmayan yetişkinlerde yumuşak doku enfeksiyonları, kemik-eklem enfeksiyonları, bakteriyemi ve endokardit gibi invaziv enfeksiyonlardan daha fazla sorumludur[2]. Diyabetes mellitus (DM), kronik böbrek yetmezliği ve bağışıklığı baskılanmış bireylerde; GBS'ler idrar yolu enfeksiyonuna daha sık sebep olabilirler. Bu sebeple, özellikle altta yatan hastalığı olanlarda GBS enfeksiyonlarının yaygınlığının araştırılması, bu enfeksiyonların epidemiyolojik özelliklerine katkıda bulunur[3-5].

GBS'nin majör virülans faktörleri, virülans ve immün kaçınmada rol oynayan kapsüler polisakkarit ile patogenez ve immünizasyonunda yer alan yüzey proteinleridir[5]. GBS'nin, virülans ve immün sistemden kaçmasında rol oynayan on farklı kapsül serotipi (Ia, Ib, II, III, IV, V VI, VII, VIII ve IX) tanımlanmıştır. Serotipler hastalığa neden olma yeteneklerinde farklılık göstermektedir[6,7]. Çalışmalarda bazı GBS serotiplerinin daha virülan olduğu ve serotip dağılımlarının coğrafik bölgelere göre değişebileceği bildirilmiştir[8]. Serotip I-V kolonize olan suşlar arasında, serotip Ia, Ib, II ve V ise invaziv hastalığı olan gebe olmayan yetişkin kadınlarda en yaygın olanlarıdır[9].

GBS suşları, beta-laktamlara karşı duyarlı olarak kabul edilir ve penisilin genellikle GBS enfeksiyonlarının profilaksisi ve tedavisi için ilk tercih edilen ilaçtır. Ancak yapılan çalışmalarda artık penisiline karşı tolerans geliştiği ve duyarlılığının da azaldığı bildirilmiştir[10]. β-laktam alerjisi olan kişilerde, tedavide ikinci basamak seçenek ajanlar olarak klindamisin/eritromisin veya vankomisin kullanımı önerilmektedir. Bununla birlikte, dünya çapında eritromisin ve klindamisinin artan direnç seviyeleri de bildirilmiştir[11]. GBS'deki eritromisin direnç mekanizması çoğunlukla *erm* genleri (*erm*B, *erm*TR) tarafından kodlanan ribozomal modifikasyona veya 14 ve 15 üyeli makrolidlere karşı dirence neden olan ve tüm makrolidlere çapraz direnç kazandıran *mef*A genlerinin aracılık ettiği atım pompasına bağlı olduğu bildirilmiştir. Klindamisin direnci, *lin*B genleri tarafından kodlanan ribozomal translokasyona bağlıdır. GBS suşlarındaki eritromisin ve klindamisine direnç genlerini tespit etmek için multipleks-PCR önerilmektedir[12].

"Pulsed-field" jel elektroforezi (PFGE), tekrarlanabilirliği yüksek olduğundan moleküler ve epidemiyolojik çalışmalarda bakteriyel izolatları sınıflandırmak, tiplendirmek için yaygın olarak kullanılan moleküler bir yöntemdir[13]. PFGE, *S.agalactiae* suşları arasındaki genetik çeşitliliği değerlendirmek için kullanılmıştır[14].

Bu çalışmada, gebe olmayan kadınlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olan GBS'lerin kapsül serotiplerini tanımlamak, antibiyotik direnç paternini tespit ederek profilaksiye yön vermek ve klinik örnek türleri ile kapsül serotipleri, antibiyotik direnç profilleri arasındaki olası ilişkileri irdelemek amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma için Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan (Sayı: 119, Karar No: 38, Tarih: 04.02.2022) onay alındı. Adana Şehir Hastanesine 01.07.2022-08.05.2023 tarihleri arasında çeşitli klinik ve polikliniklere başvuran kadın hastalardan izole edilen, invaziv olmayan GBS izolatları çalışmaya dahil edildi. Çalışmada, gebe ve yeni doğum yapmış kadınlar hariç tutuldu.

GBS izolatları %5'lik koyun kanlı Colombia agara ekim yapılarak 37 ºC'de %5'lik CO_2'li ortamda iki gün inkübasyona bırakıldı. Plaklarda üreyen kolonilere Gram boyama yapıldı ve gram-pozitif kok olarak değerlendirilen koloniler tekrar pasajlanarak katalaz, hemoliz, basitrasin ve trimetoprim/sülfametoksazol duyarlılık testi, CAMP testi, eskülin hidrolizi ve GBS lateks aglütinasyon (Slidex® Strepto Plus, BioMerieux, Fransa) kiti kullanılarak doğrulandı.

Antibiyotik Duyarlılık Testi

GBS izolatlarının antibiyotik duyarlılık paternleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle belirlendi ve penisilin (10 µg), vankomisin (30 µg), ofloksasin (5 µg), sefriakson (30 µg), eritromisin (15 µg), klindamisin (2 µg) olmak üzere altı antibiyotiğe duyarlılık, CLSI 2014 (Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing) kriterlerine göre değerlendirildi[8].

Antibiyotik Direnç Genlerinin Tespiti

Fenotipik olarak eritromisin ve klindamisin dirençli GBS izolatlarında eritromisin direnci için *erm*B (*erm*B1: 5′GA AAA GGT ACT CAA CCA AAT A3′(F), *erm*B2: 5′AGT AAC GGT ACT TAA ATT GTT TAC 3′®), *erm*TR (*erm*TR1: 5′GAA GTT TAG CTT TCC TAA 3′(F), *erm*TR2: 5′GCT TCA GCA CCT GTC TTA ATT GA®(R)), *mef*A (*mef*A1: 5′AGT ATC ATT AAT CAC TAG TGC-3′(F), *mef*A2: 5′TTC TTC TGG TAC TAA AAG TG®G3′(R)) ve klindamisin direnci için *lin*B [*lin*B1: 5′CCT ACC TAT TGT TTG TGG AA3′(F), *lin*B2: 5′AT ACG TTA CTC TCC T®ATT C3′(R)] genleri multipleks polimeraz zincir reaksiyonu [multiplex-polymerase chain reaction (PCR)] yöntemiyle tespit edildi. DNA ekstraksiyonu ve multipleks-PCR daha önce tarif edildiği gibi gerçekleştirildi[12]. Amplifikasyon işlemleri; 25 µl PCR "Master Mix (Thermo Scientific™)", her bir primerden 0.5 µl (100 pmol/µl stok solüsyondan), 5 µl kalıp DNA (100 ng/µl) ve steril distile su ile toplam 50 µl'ye tamamlandı. Ampilifikasyon aşamaları; 95 °C'de üç denatürasyon, 35 döngü olmak üzere 95 °C'de bir dakika denatürasyon, 57 °C'de bir dakika bağlanma, 72 °C'de bir dakika uzama ve 72 °C'de beş dakika son uzama olacak şekilde termal döngü cihazında (Applied Biosystems 2720 Termal Cycler) gerçekleştirildi. PCR ürünleri elektroforez tankında %2'lik agaroz jelde yürütüldü ve elde edilen bantlar jel görüntüleme cihazında, UV ışığı altında (Gel Logic 1500 Imaging System, Kodak Company, NY, ABD) değerlendirildi.

Kapsüler Genotipleme

GBS'lerin kapsül genotipleri daha önce yayımlanmış primerler ile multipleks-PCR yöntemi kullanılarak analiz edildi[15-17]. PCR reaksiyonu için, 25 µl 1X Qiagen multipleks PCR master mix (Qiagen), 2.5 µl DNA, her bir primerden 0.5 µl (100 pmol/µl stok solüsyondan) ve steril distile su ile toplam 50 µl'ye tamamlandı. PCR, termal döngü cihazında (Applied Biosystems 2720 Termal Cycler); 95 °C'de 15 dakika ilk denatürasyon, ardından 35 döngü; 94 °C'de 30 saniye süreyle denatürasyon, 54 °C'de bir dakika 30 saniye süreyle bağlanma ve 72 °C'de bir dakika uzama ve son uzama 72 °C'de 10 dakika süreyle yapıldı. PCR ürünleri %2 agaroz jelde yürütüldü ve elde edilen bantlar görüntüleme cihazında, UV ışığı altında (Gel Logic 1500 Imaging System, Kodak Company, NY, ABD) görüntülendi.

GBS İzolatlarının Benzerlik İlişkilerinin Analizi

GBS izolatlarının benzerlik ilişkileri PFGE yöntemiyle araştırıldı ve PulseNet's *Listeria monocytogenes* PFGE protokolü uygulandı[18]. PFGE yöntemi için hazırlanan DNA-agaroz kalıpları *Sma*I ile restriksiyon işlemi uygulandı ve %1'lik PFGE agaroz ile CHEF-DR II sisteminde başlangıç vuruş süresi 4.6 saniye, bitiş vuruş süresi 40 saniye, vuruş açısı 120°, akım 6 V/cm^2, sıcaklık 10 °C, 20 saat süresince elektroforeze tabii tutuldu. Ardından jel UV ışığında (Gel Logic 1500 imaging system Kodak Company, NY, ABD) görüntülendi. Görüntülenen resimler TIFF formatında kaydedildi. GelCompar II yazılım sistemi (Version 4.0; Applied Maths, Sint-MartensLatem, Belçika) kullanılarak bant profilleri analiz edildi. "UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Mathematical Averaging)" yöntemiyle

PFGE profillerinin dendrogramı oluşturuldu ve kümeleşme analizi yapıldı. Dice benzerlik katsayısına göre izolatlar arasındaki ilişki belirlendi. Benzerlik katsayısının hesaplanmasında bant ve profil toleransı, %1.5 olarak alındı. İzolatlar arası ilişki için ≥ %85 benzerlik oranı kullanıldı. Dice benzerlik katsayısına göre, ≥ %85 benzerlik oranı, ≥ 2 bant farklılığına karşılık gelmektedir ve yakın ilişkili olarak değerlendirilmektedir[19].

BULGULAR

Çalışmaya, Adana Şehir Hastanesine çeşitli yakınmalarla gelen kadın hastalardan alınan ve farklı klinik örneklerden elde edilen 110 GBS izolatı dahil edilmiştir. Bu izolatlar, 52 (%47.3)'si üroloji polikliniği, 19 (%17.3)'u kadın doğum polikliniği, sekizi (%7.3) dahili yoğun bakım, yedisi (%6.4) nefroloji polikliniği, yedisi (%6.4) dahiliye polikliniği, beşi (%4.5) nefroloji polikliniği, dördü (%3.6) fizik tedavi servisi, üçü (%2.7) göğüs hastalıkları, ikisi (%1.8) kardiyoloji servisi, ikisi (%1.8) anestezi ve reanimasyon yoğun bakım ve biri (%0.9) romatoloji polikliniğine başvuran hastalardan alınan örneklerden izole edilmiştir. GBS izolatlarının örnek tipine göre dağılımı; idrar (n= 80, %72.7), yara (n= 18, %16.4) ve kan (n= 12, %10.9) örneğinden oluştuğu görülmüştür.

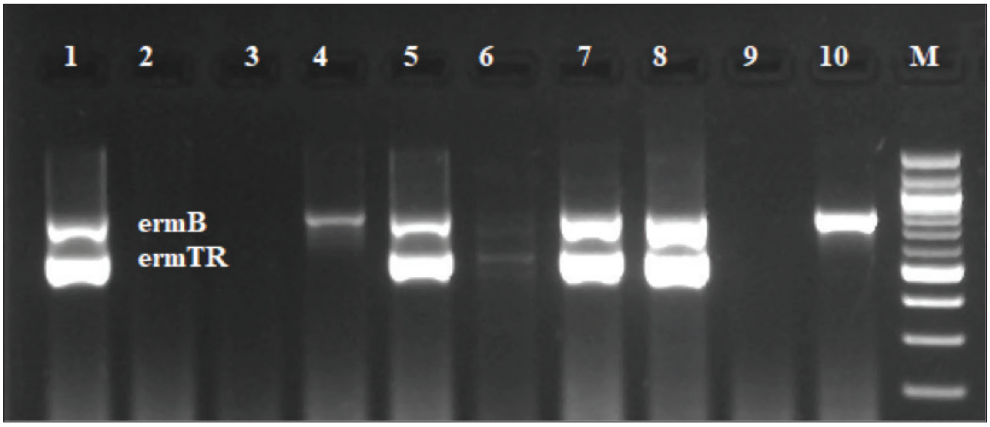
GBS izolatlarının fenotipik olarak antibiyotik duyarlılık paternleri incelendiğinde; izolatların tamamının penisilin ve vankomisine duyarlı olduğu görülmüştür. Eritromisin ve klindamisine ise sırasıyla, 66 (%60) ve 13 (%11.8) izolatta direnç tespit edilmiştir. Bununla birlikte yedi (%6.4) izolatın ofloksasine, beş (%4.5) izolatın ise sefriaksona direnç gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo I).

Eritromisin dirençli GBS izolatlarının tamamında *mef*A geni tespit edilmemiştir. Ancak 66 eritromisin dirençli GBS izolatının 35 (%53)'inde *erm*TR geni, 31 (%47)'inde ise *erm*B geninin varlığı tespit edilmiştir (Şekil 1). Ayrıca dört izolatta hem *erm*TR hem de *erm*B geni birlikte tespit edilmiştir (Tablo II). Bununla birlikte klindamisine dirençli 13 izolatta ise *lin*B geni görülmemiştir.

GBS'lerin multipleks-PCR yöntemiyle kapsül tiplendirilmesi sonuçları, izolatların beş serotipe gruplandığını göstermiştir. Serotip dağılımlarının sırasıyla, Ib (n= 47, %42.7), Ia (n= 39, %35.5), III (n= 11, %10), II (n= 9, %8.2), ve V (n= 4, %3.6) olduğu görülmüştür (Şekil 2). Ancak çalışmada GBS izolatlarında IV, VI, VII, VIII ve IX serotipleri tespit edilmemiştir.

Tablo I. *GBS İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılık Profilleri*

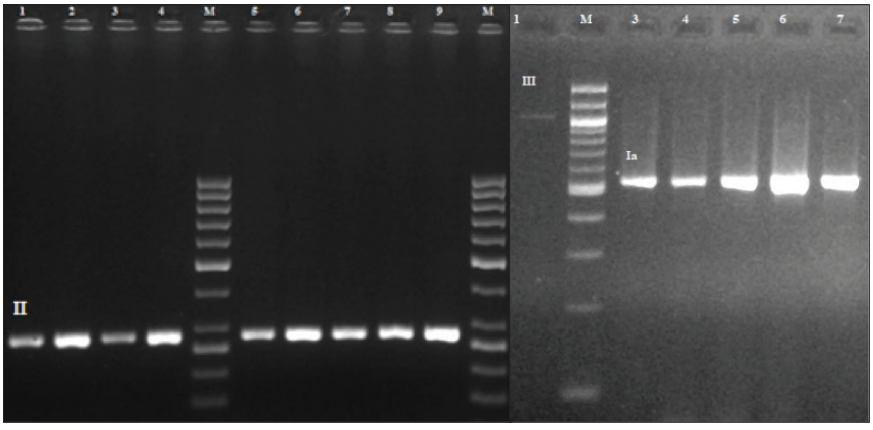
Antibiyotik	Duyarlı (Sayı/Yüzde)	Dirençli (Sayı/Yüzde)
Penisilin	110 (%100)	-
Vankomisin	110 (%100)	-
Eritromisin	44 (%40)	66 (%60)
Klindamisin	97 (88.2)	13 (%11.8)
Ofloksasin	103 (%93.6)	7 (6.4)
Sefriakson	105 (%95.5)	5 (%4.5)



Şekil 1. *ermTR ve ermB genlerinin jel görüntüsü.*

Tablo II. *Eritromisin Direnç Genlerinin Dağılımı*

Genler		Sayı	Yüzde	Toplam Sayı	Yüzde
*erm*TR	*erm*TR	31	%88.6	35	%53
	*erm*TR ve *erm*B	4	%11.4		
*erm*B	*erm*B	27	%87.1	31	%47
	*erm*B ve *erm*TR	4	%12.9		



Şekil 2. *GBS izolatlarında II, Ia ve III serotiplerinin jel görüntüsü.*

GBS izolatlarının örnek türüne göre serotip dağılımı incelendiğinde, idrar örneklerinde en fazla %51 oranında Ib, yara örneklerinde %33.3 Ib ve kan örneklerinde ise %58.3 Ia serotipinin olduğu belirlenmiştir (Tablo III).

Tablo III. GBS İzolatlarının Örnek Türüne Göre Serotip Dağılımı

Serotip	İdrar (Sayı/Yüzde)	Yara (Sayı/Yüzde)	Kan (Sayı/Yüzde)	Toplam (Sayı/Yüzde)
Ib	41 %51	6 %33.3	-	47 %42.7
Ia	27 %34	5 %27.8	7 %58.3	39 %35.5
III	10 %12.5	1 %5.6	-	11 %10
II	2 %2.5	4 %22.2	3 %25	9 %8.2
V	-	2 %11.1	2 %16.7	4 %3.6
Toplam	80 %72.7	18 %16.4	12 %10.9	110 %100

Tablo IV. Eritromisin Direnç Genlerinin GBS Serotiplerine Göre Dağılımı

Direnç Genleri	Serotip Sayısı ve Yüzdesi					Toplam
	Ia	Ib	II	III	V	
*erm*TR	-	18 %51.4	7 %20	6 %17.2	4 %11.4	35 (%100)
*erm*B	26 %83.9	-	-	5 %16.1	-	31 (%100)

Eritromisin direnç genleri tespit edilen GBS izolatlarının serotiplere göre dağılımı incelendiğinde; *erm*TR en sık %51.4 oranında serotip Ib'de, en az ise %11.4 oranında serotip V'de bulunmuştur. Diğer tespit edilen *erm*B geni ise %83.9 serotip Ia ile %16.1 serotip III'te tanımlanmıştır (Tablo IV).

PFGE yöntemiyle GBS izolatlarının filogenetik benzerlik analizinde; tüm izolatların birbirinden bağımsız ve izolatlar arasında benzerlik oranının %85'in altında olduğu görülmüştür ve dolayısıyla izolatlar arasında anlamlı bir benzerlik ilişkisi bulunmamıştır.

TARTIŞMA

GBS; gebe olmayan erişkinlerde, çeşitli enfeksiyonların önemli ve giderek yaygınlaşan bir etkenidir. Çalışmada, GBS izolatlarının yoğun olarak idrar (%72.7) örneklerinden ve az sıklıkta ise %10.9 kan örneğinden izole edildiği görülmüştür. Atalay ve arkadaşları[20], GBS izolatlarını %75.6'sı idrar, %15.3'ü yara, %7.6'sı kan, %1.5'i vajinal sürüntü örneğinden tespit etmişlerdir ve çalışmamıza benzer şekilde GBS izolatlarını en fazla idrar yolu örneklerinden izole etmişlerdir.

GBS enfeksiyonlarının tedavisinde penisilin ve ampisilin tercih edilen antibiyotiklerdir, ardından da birinci kuşak sefalosporinler ve vankomisin gelmektedir[12]. Çalışmada, GBS izolatların tamamının penisilin ve vankomisine duyarlı olduğunu tespit edilmiştir. Buna karşılık eritromisine %60, klindamisine %11.8, ofloksasine %6.4 ve sefriaksona %4.5 oranlarında direnç gözlemlenmiştir. Eritromisin dirençli izolatların %53'ü *erm*TR, %47'si *erm*B genlerini taşırken, izolatların hiçbirinde *mef*A tespit edilmemiştir. Bununla birlikte, klindamisin dirençli izolatların *lin*B genlerini taşımadığı görülmüştür. Yapılan bir çalışmada, yetişkin hastalardan izole edilen GBS'lerin tamamının penisilin, amoksisilin klavulanik asit, linezolid ve kloramfenikole duyarlı; %26.4'ünün klindamisine, %39.5'inin eritromi-

sine, %80.4'ünün tetrasikline, %88.7'sinin sefoksitine ve %98.3'ünün trimetoprim-sülfametoksazole dirençli olduğu bildirilmiştir[21]. Kanada'da yapılan bir çalışmada GBS'lerde makrolid direnci araştırılmış, izolatların %17'si eritromisine, %8'i klindamisine dirençli bulunmuştur[22]. Çalışmamıza benzer şekilde Bolukaoto ve arkadaşları[12], GBS izolatlarının tamamının penisilin, ampisilin, vankomisin ve yüksek düzeyde gentamisine duyarlı olduğunu, eritromisin ve klindamisin direncinin sırasıyla %21.1 ve %17.2 oranlarında olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca GBS'daki eritromisin ve klindamisin direncinin genotipik analizinde çalışmamızdan farklı olarak, izolatların %55'inin *erm*B genlerine, %3.4'ünün *erm*TR genlerine, %3.4'ünün *mef*A genlerine sahip olduğu ve izolatların %38'inde de hem *erm*B hem de *lin*B genlerinin birlikte olduğu tespit edilmiştir. Dünyada yapılan çalışmalarda, makrolid grubu antibiyotiklere direnç oranlarının eritromisin için %7-45, klindamisin için %3-25; Türkiye'de ise sırasıyla %5-50 ve %5-23.7 oranlarında olduğu bildirilmiştir[23]. Bu çalışmada eritromisin direnç oranı, diğer çalışmalara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu bağlamda GBS enfeksiyonlarının profilaksi ve tedavisinde eritromisin direncini azaltmak için bu ajanın daha dikkatli kullanılması gerekmektedir.

GBS'nin virülansında rol oynayan kapsül serotiplerinin coğrafik dağılımı ve yüksek tip çeşitliliği nedeniyle epidemiyolojik çalışmalarda bir belirteç olarak kullanılmaktadır[5,24]. Yapılan bir meta-analiz çalışmasında, Ia, Ib, II, III ve V serotiplerinin dünya çapındaki GBS izolatlarının %97'sinden sorumlu olduğu bildirilmiştir[25]. Bu çalışmada da GBS izolatlarında Ib, Ia, III, II, ve V kapsül serotipleri tespit edilmiştir. GBS kapsül serotiplerinin dağılımlarının sırası ile Ib (%42.7), Ia (%35.5), III (%10), II (%8.2), ve V (%3.6) şeklinde idi. GBS izolatlarının örnek türüne göre serotip dağılımında idrar örneklerinde en fazla serotip Ib (%51), yara örneklerinde serotip Ib (%33.3) ve kan örneklerinde ise serotip Ia (%58.3) olduğu görülmüştür. Çalışmaya benzer şekilde, Graux ve arkadaşları çalışmalarında[8] GBS izolatlarında yaygın olarak Ia, Ib, II, III, IV ve V serotiplerini tespit etmişlerdir. Atalay ve arkadaşları çalışmalarında[20] en yaygın serotipleri; Ia (%36), III (%30,5) ve II, V (her biri %13); daha az oranlarda serotip Ib (%3), IV, VI (her biri %1.5) olarak tanımlamışlardır. Bununla birlikte, idrar örneklerinde III (%39.4), yara örneklerinde Ia (%45) ve kan örneklerinde ise Ia (%45) serotiplerini en fazla bulmuşlardır. Kapsül serotiplendirme sonuçları, Atalay ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumludur ancak en yaygın görülen serotip Ib, bu çalışmada daha az oranda tespit edilmiştir. İstanbul'da yapılan bir çalışmada, farklı klinik örneklerden izole edilen GBS izolatlarında en yaygın görülen kapsül tiplerinin Ia, II ve III serotiplerinin olduğunu bildirmişlerdir[26]. Bununla birlikte, Türkiye'de daha fazla araştırılan üriner sistem enfeksiyonu olan hastalar ile gebe kadınlarda GBS kapsül serotiplerinin ve dağılımlarını inceleyen çalışmalarda da bu oranların farklılık gösterdiği görülmüştür[27-29]. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda en yaygın görülen serotipin III olduğu bildirilmiştir[5,30,31]. Çalışmalar, kapsül serotiplerinin insidansının ve dağılımının, coğrafik bölgelere, örnek türüne, izolat sayısına ve gebelik durumuna göre farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Çalışmanın diğer bulgulardan biri olan *erm*TR geni, en sık %51.4 oranında serotip Ib'de, en az ise %11.4 oranında serotip V'de; *erm*B geni ise en sık %83.9 oranında serotip Ia'da en az ise %16.1 oranında serotip III'de tanımlanmıştır. Fitoussi ve arkadaşları çalışmalarında[32], *erm*TR genini en sık %32.5 oranında serotip V'de, en az ise %10 serotip Ib'de, *mef*A genini %40 serotip Ia, %60 serotip III'de tespit etmişlerdir. Ancak eritromisin direnç genlerinin serotiplere göre yaygınlığını kesin olarak bildirmek için daha fazla çalışmaya gereksinim bulunmaktadır.

GBS'lerde tespit edilemeyen kapsül serotipleri, 'tiplendirilemeyen' olarak sınıflandırılmaktadır. PFGE, hem olası filogenetik benzerlik ilişkisinin karşılaştırılması hem de tiplendirilebilir ve tiplendirilmeyen GBS izolatlarının izlenmesi için mükemmel bir yardımcıdır[13]. GBS izolatlarının, farklı klinik ortamlarda ve farklı hastalıklar için olası filogenetik benzerlik ilişkisini ve genetik çeşitliliği değerlendirmek amacıyla da çalışmalarda uygulanmaktadır[33].

Brezilya'da yapılan bir çalışmada farklı klinik örneklerden izole edilen GBS izolatlarının filogenetik benzerlik değerlendirilmesinde, Ia, IV ve V dışında diğer serotiplerin yüksek derecede genetik çeşitlilik gösterdiği bildirilmiştir. Aynı PFGE tipini paylaşan izolatların farklı serotipler halinde gruplandığını tespit etmişlerdir. Ayrıca aynı hastalardan alınan ve aynı PFGE tipine sahip izolatların farklı serotiplere sahip olduğunu ve bu bulguların, kapsüler genlerin yatay transferi yoluyla kapsüler değişimin ortaya çıkmasıyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir[33]. Dutra ve arkadaşları çalışmalarında[34], PFGE analizi sonucunda eritromisine dirençli izolatların, duyarlı izolatlarla karşılaştırıldığında daha yüksek bir homojenlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Eritromisine duyarlı ve dirençli izolatlar arasında ise önemli bir genetik çeşitlilik tespit etmişlerdir. Bununla birlikte farklı bir çalışmada ise PFGE profilinde serotip ile izolasyon kaynağı arasında ilişki bulunamamıştır[14].

Bu çalışmada, tüm izolatların kapsül serotipleri tanımlanmıştır. Çalışma, farklı tarihlerde alınan, aynı hastadan izole edilen izolatlar içermemekteydi ve farklı hastalardan izole edilen izolatlar arasında da filogenetik benzerlik açısından bir ilişki tespit edilememiştir. Ayrıca serotipler, antibiyotik direnç profilleri ve örnek türleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Yapılan çalışmalar doğrultusunda; PFGE analizinin, kapsül serotipleri tiplendirilmeyen izolatların kapsül serotiplerinin belirlenmesinde, tekrarlayan enfeksiyonlarda izolatların izlenmesinde, uzun süreli epidemiyolojik çalışmalarda ve bölgesel çalışmalarda filogenetik benzerlik ilişkilerinin veya farklılığın değerlendirilmesinde değerli bir yaklaşım olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, bu çalışma GBS enfeksiyonunu tedavi etmek için ilk sırada tercih edilen antibiyotik olarak penisilinin uygunluğunu doğrulamıştır. Ayrıca %100 duyarlılık oranı ile en etkili diğer ajanın vankomisin olduğunu da göstermiştir. Ancak penisiline alerjisi olan kişiler için alternatif ilaçlar olarak kullanılan makrolidlere ve linkozamidlere karşı artan direncin bulunduğunu ve bu ajanlara karşı direnç gelişimini sınırlandırmak amacıyla daha bilinçli tüketilmesi gerektiğini bildirmekteyiz. Çalışmalardaki farklı kapsül serotip-

lerinin daha yaygın olarak görülmesi coğrafik dağılım, zaman, klinik sunum veya örnek sayısına göre değişebilmektedir. GBS serotiplerinin bölgesel yaygınlığını belirten veriler aşı çalışmaları için temel bir araçtır. Bu bağlamda aşı çalışmaları için GBS serotiplerinin yaygınlığını gösteren daha fazla bölgesel epidemiyolojik çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Sayı: 119, Karar No: 38, Tarih: 04.02.2022).

TEŞEKKÜR

Çalışmayı destekledikleri Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Flaherty RA, Aronoff DM, Gaddy JA, Petroff MG, Manning SD. Distinct group B *Streptococcus* sequence and capsule types differentially impact macrophage stress and inflammatory signaling responses. Infect Immun 2021; 89(5): e00647-20. https://doi.org/10.1128/IAI.00647-20
2. Tsai MH, Hsu JF, Lai MY, Lin LC, Chu SM, Huang HR, et al. Molecular characteristics and antimicrobial resistance of group B *Streptococcus* strains causing invasive disease in neonates and adults. Front Microbiol 2019; 18(10): 264. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00264
3. Kline KA, Lewis AL. Gram-positive uropathogens, polymicrobial urinary tract infection, and the emerging microbiota of the urinary tract. Microbiol Spectr 2016; 4: 2. https://doi.org/10.1128/microbiolspec.UTI-0012-2012
4. Falagas ME, Rosmarakis ES, Avramopoulos I, Vakalis N. *Streptococcus agalactiae* infections in non-pregnant adults: Single center experience of a growing clinical problem. Med Sci Monit 2006; 12: 447-51.
5. Jalalifar S, Havaei SA, Motallebirad T, Moghim S, Fazeli H, Esfahan BN. Determination of surface proteins profile, capsular genotyping, and antibiotic susceptibility patterns of Group B *Streptococcus* isolated from urinary tract infection of Iranian patients. BMC Res Notes 2019; 12(1): 437. https://doi.org/10.1186/s13104-019-4428-4
6. Sadowy E, Matynia B, Hryniewicz W. Population structure, virulence factors and resistance determinants of invasive, non-invasive and colonizing *Streptococcus agalactiae* in Poland. J Antimicrob Chemother 2010; 65(9): 1907-14. https://doi.org/10.1093/jac/dkq230
7. Sheppard AE, Vaughan A, Jones N, Turner P, Turner C, Efstratiou A, et al. Capsular typing method for *Streptococcus agalactiae* using whole genome sequence data. J Clin Microbiol 2016; 54(5): 1388-90. https://doi.org/10.1128/JCM.03142-15
8. Graux E, Hites M, Martiny D, Maillart E, Delforge M, Melin P, et al. Invasive group B *Streptococcus* among non-pregnant adults in Brussels-Capital Region, 2005-2019. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2021; 40(3): 515-23. https://doi.org/10.1007/s10096-020-04041-0
9. Hayes K, Fiona O'Halloran F, Cotter L. A review of antibiotic resistance in group B *Streptococcus*: The story so far. Crit Rev Microbiol 2020; 46(3): 253-69. https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1758626
10. Seki T, Kimura K, Reid ME, Miyazaki A, Banno H, Jin W, et al. High isolation rate of MDR group B streptococci with reduced penicillin susceptibility in Japan. J Antimicrob Chemother 2015; 70(10): 2725-8. https://doi.org/10.1093/jac/dkv203

11. Gajic I, CelinePlainvert C, Kekic D, Dmytruk N, Mijac V, Tazi A, et al. Molecular epidemiology of invasive and non-invasive group B *Streptococcus* circulating in Serbia. Int J Med Microbiol 2019; 309(1): 19-25. https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2018.10.005
12. Bolukaoto JY, Monyama CM, Chukwu MO, Lekala SM, Nchabeleng M, Maloba MRB, et al. Antibiotic resistance of *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women in Garankuwa, South Africa. BMC Res Notes 2015; 8: 364. https://doi.org/10.1186/s13104-015-1328-0
13. Amundson NR, Flores AE, Hillier SL, Baker CJ, Ferrieri P. DNA macrorestriction analysis of nontypeable group B streptococcal isolates: Clonal evolution of nontypeable and type V isolates. J Clin Microbiol 2005; 43(2): 572-6. https://doi.org/10.1128/JCM.43.2.572-576.2005
14. Corrêa ABA, Silva GL, Pinto TCA, Oliveira ICM, Fernandes FG, Costa NS, et al. The genetic diversity and phenotypic characterisation of *Streptococcus agalactiae* isolates from Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2011; 106(8): 1002-6. https://doi.org/10.1590/S0074-02762011000800017
15. Poyart C, Tazi A, Réglier-Poupet H, Billoët A, Tavares N, Raymond J, et al. Multiplex PCR assay for rapid and accurate capsular typing of group B streptococci. J Clin Microbiol 2007; 45(6): 1985-8. https://doi.org/10.1128/JCM.00159-07
16. Imperi M, Pataracchia M, Alfarone G, Baldassarri L, Orefici G, Creti R. A multiplex PCR assay for the direct identification of the capsular type (Ia to IX) of *Streptococcus agalactiae*. J Microbiol Methods 2010; 80(2): 212-4. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.11.010
17. Safari D, Gultom SM, Tafroji W, Azzahidah A, Soesanti F, Khoeri MM, et al. Prevalence, serotype and antibiotic susceptibility of Group B *Streptococcus* isolated from pregnant women in Jakarta, Indonesia. PLoS ONE 2021; 16(5): e0252328. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252328
18. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Standardized protocol for molecular subtyping of *Listeria monocytogenes* by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Available from: https://www.cdc.gov/pulsenet/protocols/pulsenet_listeria_protocol%20.pdf
19. Manning SD, Neighbors K, Tallman PA, Gillespie B, Marrs CF, Borchardt SM, et al. Prevalence of group B *Streptococcus* colonization and potential for transmission by casual contact in healthy young men and women. Clin Infect Dis 2004; 39(3): 380-8. https://doi.org/10.1086/422321
20. Atalay A, Ölçü M, Perçin D. Antibiotic susceptibilities and serotyping of clinical *Streptococcus agalactiae* isolates. Balkan Med J 2011; 28: 362-5. https://doi.org/10.5174/tutfd.2010.03979.2
21. Ulett KB, Benjamin WH, Zhuo F, Xiao M, Kong F, Gilbert GL, et al. Diversity of group B *Streptococcus* serotypes causing urinary tract infection in adults. J Clin Microbiol 2009; 47(7): 2055-60. https://doi.org/10.1128/JCM.00154-09
22. Desjardins M, Delgaty KL, Ramotar K, Seetaram C, Toye B. Prevalence and mechanisms of erythromycin resistance in group A and group B *Streptococcus*: Implications for reporting susceptibility results. J Clin Microbiol 2004; 42(12): 5620-3. https://doi.org/10.1128/JCM.42.12.5620-5623.2004
23. Evren K, Demir HAY, Sarıgüzel FM, Dinç B. Klinik örneklerden izole edilen *Streptococcus agalactiae* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları. Turk Mikrobiyol Cemiy Derg 2021; 51(3): 239-44.
24. Lachenauer C, Creti R, Michel J, Madoff L. Mosaicism in the alpha-like protein genes of group B streptococci. Proc Natl Acad Sci 2000; 97(17): 9630-5. https://doi.org/10.1073/pnas.97.17.9630
25. Madrid L, Seale AC, Kohli-Lynch M, Edmond KM, Lawn JE, Heath PT, et al. Infant group B streptococcal disease incidence and serotypes worldwide: Systematic review and meta-analyses. Clin Infect Dis 2017; 65(suppl_2): 160-72. https://doi.org/10.1093/cid/cix656
26. Arabacı Ç, Dal T, Ekin İH, Babacan F. Investigation of *Streptococcus agalactiae* serotypes in clinical samples: *Streptococcus agalactiae* serotypes. The Injector 2023; 2(1): 9-15.
27. Topkaya AE, Ciragil P, Sezer O, Karateke A, Küçükercan M. The serotype distrubition of group B streptococci isolated from pregnant women. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2005; 35: 81-4.
28. Yenisehirli G, Bulut Y, Demirturk F, Caliskan AC. Gebe kadınlardan izole edilen *Streptococcus agalactiae* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları ve serotip dağılımı. Mikrobiyol Bul 2006; 40(3): 155-60.
29. Baba S, Aydin MD. İdrar örneklerinden izole edilen grup B streptokokların serotip dağılımı, biyofilm üretimi ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. Mikrobiyol Bul 2016; 50(3): 353-60. https://doi.org/10.5578/mb.26466

30. Yan Y, Hu H, Lu T, Fan H, Hu Y, Li G, et al. Investigation of serotype distribution and resistance genes profile in group B *Streptococcus* isolated from pregnant women: A Chinese multicenter cohort study. Apmis 2016; 124(9): 794-9. https://doi.org/10.1111/apm.12570
31. Madzivhandila M, Adrian PV, Cutland CL, Kuwanda L, Schrag SJ, Madhi SA. Serotype distribution and invasive potential of group B *Streptococcus* isolates causing disease in infants and colonizing maternal-newborn dyads. PLoS ONE 2011; 6(3): e17861. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017861
32. Fitoussi F, Loukil C, Gros I, Clermont O, Mariani P, Bonacorsi S, et al. Mechanisms of macrolide resistance in clinical group B streptococci isolated in France. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45(6): 1889-91. https://doi.org/10.1128/AAC.45.6.1889-1891.2001
33. Palmeiro JK, Dalla-Costa LM, Fracalanzza SEL, Botelho ACN, Nogueira KS, Scheffer MC, et al. Phenotypic and genotypic characterization of group B streptococcal isolates in Southern Brazil. J Clin Microbiol 2010; 48(12): 4397-403. https://doi.org/10.1128/JCM.00419-10
34. Dutra VG, Alves VMN, Olendzki AN, Dia CAG, Bastos AFA, Santos GO, et al. *Streptococcus agalactiae* in Brazil: Serotype distribution, virulence determinants and antimicrobial susceptibility. BMC Infect Dis 2014; 14: 323. https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-323