Osetljivost sojeva grupe B streptokoka, izolovanih kod trudnica u Beogradu, na antibiotike

The sensitivity to antibiotics of strains of group B streptococcus isolates from pregnant women in Belgrade

Luka Jovanović¹, Katarina Isailović¹, Vera Mijač^{1,2}

¹ Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

² Mentor: Institut za mikrobiologiju i imunologiju

Sažetak

Uvod: Streptokok grupe B je značajan humani patogen koji kolonizuje vaginu i jedan je od najznačajnijih izazivača rane neonatalne sepse i meningitisa. U mnogim zemljama se sprovode skrining trudnica i intrapartalna upotreba antibiotika. Rezistencija streptokoka grupe B na linkozamide (klindamicin) i makrolide predstavlja značajan problem jer su oni terapija drugog izbora kod alergije na penicilin.

Cilj: Naš cilj je bio određivanje rezistencije streptokoka grupe B na antibiotike i detekcija fenotipova makrolidne rezistencije na uzorku dobijenom od trudnica na teritoriji Beograda.

Materijal i metode: U istraživanje je uključeno 105 izolata. Uzorci vaginalnih briseva od trudnica iz porodilišta Ginekološko-akušerske klinike „Narodni front“ i Ginekološko-akušerske klinike Kliničkog centra Srbije presejavani su na krvni i Miler Hinton agar radi daljih bakterioloških analiza i izrade antibiograma.

Rezultati: Rezistencija na makrolide nađena je kod 30,4% izolata, a na klindamicin kod 23,8%. Nađena je velika učestalost rezistencije na tetracikline (88,6%). Dominantan fenotip rezistencije je bila izazvana udružena rezistencija na makrolide i linkozamide (MLS) (62,4%).

Zaključak: Velika učestalost makrolidne rezistencije kod nas ukazuje na značaj daljeg praćenja ove pojave kod streptokoka grupe B.

Ključne reči: Streptokok grupe B, makrolidna rezistencija, trudnice

Abstract

Introduction: Group B streptococcus (GBS) is a significant human pathogen. GBS colonizes the vagina and it is one of the most important causes of early neonatal sepsis and meningitis. In many countries, screening of pregnant women and intrapartal use of antibiotics are common practice. Macrolide and lincosamide resistant strains of GBS are a significant problem, because these antibiotics are the second line therapy in case of penicillin allergy.

Aim: Our aim was to investigate the frequency of antibiotic resistant strains of GBS and to detect macrolide resistance phenotypes in GBS strains obtained from pregnant women in Belgrade.

Material and Methods: 105 GBS isolates were obtained from vaginal swabs of pregnant women attending two Gynecology and Obstetrics Centers in Belgrade. The isolates were tested for antimicrobial susceptibility pattern and D test were performed on Mueller Hinton agar.

Results: Macrolide and lincosamide resistance was found in 30.4 %, and 23.8 % of isolates, respectively. There was a high frequency of tetracycline resistant strains (88.6 %). Most frequent macrolide resistant phenotype was iMLSb (macrolide and inducible lincosamide resistance) (62.4%).

Conclusion: The results of our study indicate that there is a high level of macrolide resistance among GBS isolates in Serbia and the active surveillance is needed.

Key words: Group B streptococcus, macrolide resistance, pregnancy

Uvod

Streptokok grupe B (GBS) značajan je humani patogen. Kolonizuje vaginu i predstavlja jedan od najznačajnijih izazivača rane sepse i meningitisa kod novorođenčadi. Od 3,6% do 36% trudnica u Evropi kolonizovano je GBS-

om, a u južnoj Evropi učestalost kolonizacije kreće se od 6,5% do 32% (1). U mnogim zemljama se sprovodi rutinski skrining trudnica na GBS kolonizaciju vagine između 35. i 37. nedelje gestacije. Trudnice pozitivne na GBS će intrapartalno primiti intravensku dozu antibiotika (4 sata pre samog porođaja) (2). Terapija izbora u ovom slučaju

Šema 1. Mehanizmi nastanka makrolidne rezistencije kod streptokoka grupe B

je penicilin, a ukoliko su pacijentkinje alergične, sa malim rizikom od anafilakse, kao lek izbora preporučuju se cefalosporini. Ukoliko postoji rizik od anafilakse terapija izbora je klindamicin ili makrolidi (2).

U mnogim zemljama postoji klinički značajan problem rezistencije na makrolide i izazvane rezistencije na klindamicin, tako da su sadašnji stavovi Centra za kontrolu bolesti i prevenciju SAD (engl. *Center for Disease Control and Prevention*, CDC) da se svakoj trudnici u sklopu testiranja na GBS radi i D-test, kojim se detektuju fenotipovi rezistencije streptokoka na makrolide (Šema 1): M (rezistencija postoji samo na makrolide), izazvani MLSb (rezistencija na linkozamide u prisustvu makrolida i rezistencija na makrolide) i konstitutivni MLSb (rezistencija na linkozamide i u odsustvu makrolida, uz rezistenciju na makrolide) (2).

Autori iz Južne Afrike pominju i L-fenotip, koji se karakteriše izolovanom rezistencijom na klindamicin (linkozamide) (3).

Cilj ovog rada je ispitivanje učestalosti rezistentnih sojeva GBS-a izolovanih kod trudnica na teritoriji Beograda, registrovanim u dva najveća porodilišta u Srbiji (Ginekološko-akušerska klinika Kliničkog centra Srbije i Ginekološko-akušerska klinika „Narodni front“) i detekcija profila makrolidne rezistencije.

Materijal i metode

U periodu od 6.8.2015. do 31.12.2015. godine prikupljeno je 105 sojeva GBS-a izolovanih iz vaginalnih briseva trudnica između 35. i 37. nedelje gestacije na Ginekološko-akušerskoj klinici Kliničkog centra Srbije (GAK KCS) i GAK „Narodni front“ u Beogradu. Izolati GBS-a su potom slati u Nacionalnu referentnu laboratoriju za streptokok u Beogradu, gde su presejavani na krvni agar radi daljih analiza. Ispitivanje antimikrobne rezistencije je rađeno na Miler Hinton agaru sa dodatom 5% ovčije krvi metodom disk difuzije. Testirani antibiotici su bili penicilin, eritromicin, klindamicin, norfloksacin, tetraciklin i vankomicin (*Bio Rad*, SAD). Rađen je i D-test prema preporukama CDC (2). To je modifikacija disk difuzi-

onog metoda antibiograma i izvodi se tako što su tablete eritromicina i klindamicina postavljane na 15 mm radi detekcije eventualne izazvane rezistencije na klindamicin. D-testom je bilo moguće detektovati 3 fenotipa makrolidne rezistencije GBS-a: M, inducibilni i konstitutivni MLSb fenotip. Rezultati disk difuzije su interpretirani prema CLSI standardima (Institut za kliničke i laboratorijske standarde) (4) (2015).

Rezultati

Među testiranim sojevima 32 su bila rezistentna na makrolide (30,4%). Rezistencija na klindamicin je nađena kod 24 soja (23,8%), na norfloksacin kod 2%, dok je rezistencija na tetracikline bila prisutna kod čak 88,6% sojeva. Svi izolati su bili osetljivi na peniciline i cefalosporine. Registrovano je 29,5% multirezistentnih sojeva (klasična definicija multirezistentnosti je da je ispitivani soj *in vitro* pokazao rezistenciju na tri ili više klasa antibiotika) (5).

Dominantan fenotip makrolidne rezistencije bio je MLSb, koji je uočen kod 78% rezistentnih sojeva (Grafikon 1): iMLSb fenotip je bio češći od cMLSb fenotipa (62,4% iMLSb i 15,6% cMLSb). M-fenotip je uočen kod 22% rezistentnih sojeva. Interesantno je da je 85% sojeva, registrovanih kao cMLSb fenotip, bilo korezistentno i na tetracikline.

Diskusija

Svi sojevi su bili osetljivi na peniciline i cefalosporine, zbog čega bi se ovi lekovi preporučili kao terapija prvog izbora kada god je to moguće.

U ovoj studiji je uočeno da je skoro trećina ispitivanih uzoraka rezistentna na makrolide, pri čemu je najčešći iMLSb fenotip.

U Evropi se učestalost rezistencije na eritromicin i klindamicin razlikuje od zemlje do zemlje. Prosečna vrednost učestalosti makrolidne rezistencije u Evropi iznosi oko 16% (6). Više stope rezistencije na makrolide i klindamicin prisutne su u zemljama Južne i Istočne Evrope: (Portugal: 23% i 18%) (7), (Španija: 13% i 12%) (8), (Poljska: od

Fenotipovi makrolidne rezistencije

Grafikon 1. Stope učestalosti fenotipova makrolidne rezistencije streptokoka grupe B

18-25% i 12-20%) (6,9), (Rumunija: 19% i 18%) (10), (Italija: 14,5% i 8,2%) (11). Učestalost rezistencije u Holandiji (8% rezistentnih sojeva na makrolide i 7% rezistentnih sojeva na klindamicin) (12) i Nemačkoj (11% i 4,7%) (13), međutim, značajno je niža od evropskog proseka. Sa učestalošću rezistencije na makrolide i klindamicin od 30,4% i 23,8% Srbija je značajno iznad evropskog proseka. U Srbiji dominira izazvani MLSb fenotip, dok s druge strane u svim evropskim zemljama dominira cMLSb fenotip (6-12). Treba da se napomene da je obrađivan uzorak mali i daleko od reprezentativnog za celu zemlju. Stoga je možda realna učestalost cMLSb fenotipa mnogo veća, što

bi odgovaralo podacima dobijenim u drugim evropskim zemljama. Da bi se to dokazalo potrebno je nastaviti istraživanje na većem uzorku.

Mora se, međutim, naglasiti značaj rutinskog izvođenja D-testa u izradi antibiograma kod skrininga trudnica na GBS jer je to jedini način da se ustanovi stvarna vrednost stope učestalosti sojeva GBS-a na klindamicin. Kako je u našem uzorku dominantan bio iMLSb fenotip, mnogi sojevi bi ostali neprepoznati kao rezistentni na klindamicin da nismo uradili ovaj test.

Značaj učestalosti rezistencije na tetracikline je u tome što postoji mogućnost prenosa gena za MLSb fenotipove i tetraciklinsku rezistenciju na istom plazmidu (14).

Skoro sve studije urađene na ovu temu beleže jako veliku učestalost rezistencije na tetracikline (86,8%; 94,5%; 96%) (7,15), pa naš rezultat od 88,6% sojeva rezistentnih na tetraciklin nije iznenađujuć.

Zaključak

Učestalost rezistencije na makrolide i linkozamide (klindamicin) značajno je veća u Srbiji nego u drugim evropskim zemljama. Zbog svega navedenog, naši rezultati ukazuju na to da postoji realna potreba za kontinuiranim praćenjem ove pojave na nivou cele zemlje i organizacijom skrininga trudnica u poslednjem trimestru trudnoće zbog medicinskih indikacija, ali i radi praćenja trenda makrolidne rezistencije kod grupe B streptokoka.

Literatura:

- Barcaite E, Bartusevicius A, Tameliene R. Prevalence of maternal group B streptococcal colonisation in European countries. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008; 87: 260-271.
- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease—revised guidelines from CDC. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010; 59: 1–34.
- John Y. Bolukaoto, Charles M. Monyama, Martina O. Chukwu, Sebotse M. Lekala, Maphoshane Nchabeleng, Motlatji R. B. Maloba et al. Antibiotic resistance of *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women in Garankuwa, South Africa. *BMC Res Notes.* 2015; 8:364.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 25th Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, PA:CLSI; 2015.
- Critchley IA, Draghi DC, Sahm DF, Thornsberry C, Jones ME, Karlowsky JA. Activity of daptomycin against susceptible and multidrug-resistant Gram-positive pathogens collected in the SECURE study (Europe) during 2000–2001. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 639–649.
- Pruss A, Galant K, Giedrys-Kalemba S. Analysis of screening tests for *Streptococcus agalactiae* in pregnant women from the West Pomeranian region, *Ginekolog Pol.* 2015; 86: 616-621.
- Florindo C, Damiao V, Silvestre I. Epidemiological surveillance of colonising group B *Streptococcus* epidemiology in the Lisbon and Tagus Valley regions, Portugal (2005 to 2012): emergence of a new epidemic type IV/clonal complex 17 clone. *Euro Surveill.* 2014; 19(23).
- Gonzalez JJ, Andreu A. Multicenter Study of the Mechanisms of Resistance and Clonal Relationships of *Streptococcus agalactiae* Isolates Resistant to Macrolides, Lincosamides, and Ketolides in Spain. *Antimicrob Agent Chemother.* 2005; 49: 2525-2527.
- 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: 1907-1914.
- Usein CR, Petrini A, Georgescu R. Group B streptococcus colonization of Romanian women: phenotypic traits of isolates from vaginal swabs. *Roum Arch Microbiol Immunol.* 2009; 68: 235-239.
- De Francesco MA, Caracciolo S, Gargiulo F, Manca N. Phenotypes, genotypes, serotypes and molecular epidemiology of erythromycin-resistant *Streptococcus agalactiae* in Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012; 31: 1741-1747.
- Muller AE, Valkenburg-van den Berg AW, Kreft D. Low rate of carriage of macrolide-resistant group B streptococci in pregnant women in The Netherlands. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008; 137: 17-20.
- Schoening T. E, Wagner J and Arvand M. Prevalence of erythromycin and clindamycin resistance among *Streptococcus agalactiae* isolates in Germany. *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11: 579-582.
- Giovanetti E, Brenciani A, Lupidi R. Presence of the tet(O) gene in erythromycin and tetracycline-resistant strains of *Streptococcus pyogenes* and linkage with either the *mef(A)* or the *erm(A)* gene. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003 Sep;47(9):2844-9.
- Gray KJ, Bennett SL, French N, Phiri AJ, Graham SM. Invasive group B Streptococcal infection in infants, Malawi. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:223–9.