

Analiza beta-hemolitičkih streptokoka izoliranih iz briseva ždrijela

Mirna Petanović i Marica Miletić-Medved

Mikrobiološka služba i Epidemiološka služba Medicinskog centra Slavonski Brod

Stručni rad
UDK 616.22:616.981.21
Prispjelo 3. studenoga 1989.

Analiziran je 261 streptokok izoliran iz brisa ždrijela osoba pod zdravstvenim nadzorom epidemiološke službe (154) i bolesnika preostalih službi Medicinskog centra Slavonski Brod (107). Svi sojevi testirani su na porast u glukoznom bujonu, hidrolizu eskulina i osjetljivost na bacitracin, a zatim grupirani Slidex Strepto-Kit metodom. tom metodom u 218 (83,5 %) izoliranih streptokoka nije nađen grupno-specifični polisaharidni antigen (tzv. »viridans« grupa streptokoka), a u 43 (16,5 %) beta-hemolitičkih streptokoka (BHS) dokazana je serološki jedna od grupa A, B, C, D, F, ili G. Grupa A BHS identificirana je samo u jednom slučaju (2,3 %). Prevalirala je non-grupa A BHS 42 (97,6 %), od čega relativno najviše grupa C 32

(74,4 %), a zatim grupa F 6 (14,0 %), grupa G 2 (4,7 %), grupa D 1 (2,3 %) i grupa B 1 (2,3 %).

Nije nađena signifikantna razlika između I. (154) i II. (107) grupe ispitanika ni za non-grupu A 12,9 % (20/154) i 20,5 % (22/107) $X^2=2,93$ $P > 0,01$, niti za grupu C BHS 11,6 % (18/54) i 13,1 % (14/107) $X^2=0,14$ $P > 0,01$.

Uočena je neophodnost grupiranja BHS jer bi od ukupno 261 streptokoka njih 67 (25,7 %), odnosno 32 streptokoka grupe C njih čak 17 (53,1 %), umjesto jednog (2,3 %), bilo identificirano bacitracinskim testom kao *Streptococcus pyogenus* (BHS A), što ima značaj za tretman i jedne i druge grupe ispitanika.

Ključne riječi: beta-hemolitički streptokoki, bris ždrijela, epidemiologija, streptokoki grupe C

U okviru roda *Streptococcus* za humanu medicinu je najznačajnija grupa A (*Streptococcus pyogenes*), koja izaziva 80–90 % streptokoknih oboljenja u ljudi.

Iako je beta-hemolitički streptokok serološke grupe A (BHS A) dominantan uzročnik streptokoknih bolesti, sve je značajnije praćenje zastupljenosti drugih BHS koji ne pripadaju ovoj grupi, i to naročito u respiratornom traktu.

U literaturi je sve više informacija o streptokokima non – grupe A, koji mogu biti uzročnici istih kliničkih manifestacija kao i BHS A,^{3,4,6,8,10,12} te su zastupljeni jednako¹ ili čak prevaliraju kod faringitisa u djece^{5,10} i kod sepsa u odraslih.^{6,11,13}

Prema postojećim zakonskim odredbama, u proizvodnji i prometu živežnih namirnica, te u organizacijama za smještaj djece i omladine ne mogu raditi kliconoše streptokoka grupe A (NN 28/87).

U provođenju zdravstvenog nadzora nad spomenutim kategorijama ljudi uočili smo značajan broj izolata non – grupe A BHS u brisovima ždrijela.

Cilj arda je da se identificira učestalost grupa streptokoka izoliranih iz faringealnih kultura tih očekivano zdravih ispitanika i usporedi s bolesnicima preostalih službi Medicinskog centra Slavonski Brod kao očekivano bolesnih.

MATERIJAL I METODE RADA

Od ožujka 1988. godine do travnja 1989. godine analiziran je 261 hemolitički streptokok izoliran iz brisa ždrijela osoba pod zdravstvenim nadzorom epi-

demioološke službe (I. grupa ispitanika – 154), te bolesnika ostalih službi Medicinskog Centra Slavonski Brod (II. grupa ispitanika – 107). U I. grupi su bile očekivano zdrave samo odrasle osobe, a u II. grupi očekivano bolesna djeca i odrasli.

Od ukupno 261 ispitanika, sterilnim vatenim brisom uzet je bris ždrijela i nasaden na 7 % krvni agar. Ploče su inkubirane na 37°C u atmosferi 7–10 % CO₂. Nakon 18–24 sata porasle kolonije BHS su pročišćene na sektor čiste kulture i sutradan supkultivirane na glukozni bujon, eskulin bujon, te testirane na osjetljivost prema bacitracinu (0,04 jedinice u disku bacitracina-Torlak, pri čemu je osjetljivost značila zona inhibicije veća od 15 mm oko diska). Na kraju su BHS grupirani latex metodom Slidex Strepto-Kit (Bio Marieux, France).

Materijal je statistički obrađen tabelarno, grafički i X²-testom.

REZULTATI

Tablica 1. prikazuje raspodjelu grupa ispitanika prema dobi i spolu. Od ukupno 261 ispitanika, muškog spola je bilo 95, a ženskog 166, od toga djece (do 15 godina) 34 a odraslih 227.

Tablica 2. prikazuje zastupljenost grupa BHS diferenciranih Strepto-Kit metodom s obzirom na spol i dob ispitanika. U 43 ispitanika identificirali smo samo u jednom slučaju grupu A BHS. Prevalirala je non-grupa A, od čega relativno najviše grupa C 32 (74,4 %). Analizirajući X²-testom podatke iz tablice 1 i tablice 2, nismo našli signifikantnu razliku između I.

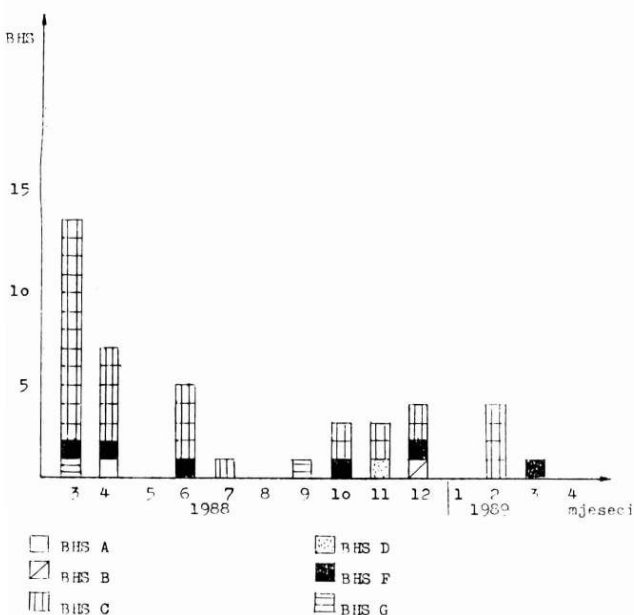
i II. grupe ispitanika ni za non-grupu A:12,9 % (20/154) i 20,5 % (22/107) $X^2=2,93$ $P > 0,01$, niti za grupu C BHS:11,6 % (18/54) i 13,1 % (14/107) $X^2=0,14$ $P > 0,01$. Također nismo našli statistički signifikantnu razliku spola ispitanika i grupe C - $X^2=1,36$ $P > 0,01$.

Statistički signifikantna razlika nađena je između izoliranih grupa BHS i dobi ispitanika. Naime, u djece je bilo 41,2 % (14/34) više pozitivnih nalaza non-grupe A BHS u brisu ždrijela nego u odraslih 12,8 % (22/227) $X^2=15,03$ $P < 0,01$. Izuzimajući izolate A i C i uspoređujući grupe B,D,F i C, između naše dvije grupe ispitanika našli smo signifikantnu razliku $X^2=6,9$ $P < 0,01$. Kod očekivano bolesnih, tj. u II. grupi, bila je gotovo četverostruko viša zastupljenost tih grupa. Međutim, zbog apsolutno malog broja izoliranih grupa B,D,F,G ne može se isključiti efekt slučajnih varijacija.

Usporedili smo biokemijsku metodu za identifikaciju BHS (karakterističan rast u glukoznom bujonu uz pozitivan fenomen geotaksije, negativnu hidrolizu eskulina, te pozitivan bacitracinski test) sa Latex metodom Strepto-Kit. Prvom metodom smo dobili više pozitivnih nalaza 26,1 % (68/193) nego Strepto-Kit metodom 16,4 % (43/218). $X^2=7,12$ $P < 0,01$. Razlika je statistički signifikantna.

Od 32 BHS C 17 (53,12 %) bi biokemijskom metodom bilo identificirano kao BHS A, odnosno ukupno 67 (25,67 %) umjesto 1 (0,4 %) bilo bi identificirano kao BHS A.

Grafikon 1. prikazuje sezonsku raspodjelu izoliranih grupa BHS. Najviše izolacija (grupa C) bilo je u 3. i 4. mjesecu, dok se od 7. do 9. mjeseca bilježi izraziti pad učestalosti.



GRAFIKON 1.

Sezonska raspodjela izoliranih grupa streptokoka

TABLICA 1.
RASPODJELA ISPITANIKA PREMA DOBI I SPOLU

Grupa ispitanika	Dob	S p o l		Ukupno
		Muški	Ženski	
I.	Odrasli	40	114	154
	Djeca	20	14	34
II.	Odrasli	35	38	73
	Djeca	20	14	34
Ukupno	Odrasli	75	152	227
Sveukupno		95	116	261

- I. Grupa ispitanika — osobe pod zdravstvenim nadzorom Epidemiologije
II. Grupa ispitanika — pacijenti ostalih službi Medicinskog centra

TABLICA 2.
GRUPE ISPITANIKA U ODNOSU NA GRUPE STREPTOKOKA

Grupa ispitanika	Spol/dob	Grupa streptokoka						Ukupno
		A	B	C	D	F	G	
I.	Muški/odrasli			3		1		4
	Ženski/odrasli	1		15		1		17
II.	Muški	odrasli			2		1	3
		djeca			4		2	1
	Ženski	odrasli	1	3	1			5
		djeca			5		2	
Ukupno		1	1	32	1	6	2	43

Legenda se nalazi ispod tablice 1.

RASPRAVA

Mnogo je bilo pokušaja brze identifikacije BHS A koji se nisu pokazali dovoljno pouzdani.^{2,9}

Mikrobiološka dijagnoza mora biti precizna, jer u suprotnom dolazi ili do neprepoznatih streptokoka ili do neracionalne antimikrobne terapije, te neopravdanog stigmatiziranja »kliconoša«.

Za analizu streptokoka potrebno je, pored izgleda kolonija i vrste hemolize na krvnom agaru, karakterističnog rasta u glukoznom bujonu, hidrolize eskulina i bacitracinskog testa, odrediti grupno specifičan polisaharidni antigen, kako za epidemiološku analizu, tako i za kliničku potvrdu dijagnoze streptokokne bolesti.

Bacitracinski test može služiti samo za preliminarnu dijagnozu BHS A.⁷ Ovim radom dokazali smo njegovu preveliku osjetljivost, budući da su na njega bili osjetljivi i streptokoki drugih grupa. Najčešće su streptokoki grupe C pogrešno svrstavani u grupu A.

Metodom određivanja grupno specifičnog polisaharidnog antigena, od ukupno 261 BHS identificirali smo grupu C u 32 (12,2 %), grupu F u 6 (2,3 %), grupu G u 2 (0,8 %), grupu D u 1 (0,4 %), grupu B u 1 (0,4 %) i grupu A u 1 (0,4 %). Od svih streptokoka non grupe A 42(100 %), na grupu C je otpalo čak 32 (74,4 %).

Grupa C obuhvaća četiri vrste streptokoka koji se razlikuju po biokemijskim osobinama. Streptococcus equisimilis se pripisuje najviše upala u ljudi. Streptokoki grupe C se često nalaze u brisovima ždrijela djece, trudnica, babinjača, u brisovima vagina, a da pri tome nisu izraženi simptomi bolesti. U novorođenčadi u dječjim sobama rođilišta, te u male djece u jaslucama opisano je do 30 % zdravih kliconoša Streptococcus equisimilis.¹¹ ne može kolonizirati ne samo ždrijelo nego i kožu u 1,5–3,0 % zdravih ljudi.¹¹

S druge strane, streptokoki grupe C mogu izazvati faringitise kod djece i odraslih,⁷ poststreptokokne glomerulonefritise poslije kožnih infekcija,¹¹ egzacerbaciju psorijaze,⁸ endokarditise, septikemije,^{3,11} epidemije faringitisa te sindrom scarlatine. Iako su streptokoki grupe C manje patogeni od onih iz grupe A, kod imunosuprimiranih domaćina mogu izazvati teške posljedice.⁷

Potvrdili smo navode iz literature da spol nema statistički vjerojatnu ulogu za izolaciju grupa BHS iz briseva ždrijela, ali postoji signifikantna povezanost s obzirom na dob (tablica 2). Zatim smo utvrdili prevalenciju non-grupe A BHS signifikantno više u djece. Iako je grupa A BHS još uvijek suverena kod akutnog faringitisa u djece, kod recidivirajućih, kroničnih faringitisa, nakon terapije brojnim antibioticima, te kod imunološki oslabljenih organizama sve se češće pojavljuje non-grupa A BHS.³ Ovamo vjerojatno spadaju i naši ispitanici (djeca sa subakutnim faringitisom), ali treba klinički dokazati da li su streptokoki non-grupe A uzročnici. Najviše izolacija non-grupe A streptokoka dobili smo u hladnijem dobu godine (3. i 4. mjesec), (grafikon 1). Slične podatke navode i drugi autori,^{5,7} što je u skladu sa očekivanom prevalencijom sezonstva streptokokoza.

Iako se tvrdi da je lijek izbora kod infekcija sa streptokokom grupe C Penicilin G,^{7,11} posljednjih godina nailazimo na izvještaje o toleranciji streptokoka, pa čak i grupe A na Penicilin G.¹ Stoga smo mišljenja da u svakom slučaju treba postupiti prema antibiogramu.

ZAKLJUČAK

Utvdili smo prevalenciju non-grupe A BHS, prvenstveno grupe C, u faringealnim kulturama osoba pod epidemiološkim nadzorom i bolesnika preostalih službi Medicinskog centra Slavonki Brod. Tom prilikom nismo našli signifikantnu razliku između tih očekivano zdravih (154) i očekivano bolesnih

(107) ispitanika. Takav nalaz upućuje na potrebu kliničke evaluacije bilo da se radi o kliconoštvu ili o etiološkom agensu faringitisa.

Statistički signifikantna razlika nađena je između izoliranih grupa BHS i dobi ispitanika. U dječjoj dobi bilo je značajno više izolata grupa BHS nego u odraslih ($X^2 = 15,03$ $P < 0,01$).

Iz ovoga možemo zaključiti da je vjerojatnost non-grupe A BHS, prvenstveno grupe C, etiološki agens faringitisa u djece.

Od 261 BHS 67 (25,7 %), odnosno od 32 BHS C 17 (53,1 %) bi bilo identificirano kao BHS A klasičnom (bacitracinskom) metodom, pa se stoga zbog njene prevlake osjetljivosti nameće potreba određivanja grupno specifičnog polisaharidnog antigena kod svakog izoliranog BHS.

LITERATURA

1. Aberle N, Petanović M, Jelić A, Frišić D. Penicilin rezistentni streptokoki kod bolesti gornjih dišnih putova u djece. Jugosl Pedijatr 1988; 108–11.
2. Baron E, Gates J. Primary plate identification of group A beta-hemolytic streptococci utilizing a two-disk technique. J Clin Microbiol 1979; 1:80–4.
3. Brook I. Distribution of beta haemolytic streptococci in pharyngitis specimens obtained from children. Microbiol 1983; 36:160–72.
4. Butler KM, Baker JC. Group F Streptococcus. An unusual cause of arthritis. Clin Orthop Relat Res 1988; 228:261–4.
5. Ekenna O, Vergheze A, Karnad A et al. Isolation of beta-hemolytic streptococci from the respiratory tract: Serotypic distribution and clinical significance. AM J Med Sci 1988; 295(2):94–101.
6. Finch RG, Aveline A. Group G streptococcal septicemia: a clinical observation and laboratory studies. J Infect 1984; 9:126–33.
7. Gmajnički B, Breitenfeld V, Jagić H, Bobinac E, Kovačić V, Sekula I. Naša prva iskustva sa streptokokom grupe C. Arhiv Zašt Majke Djet 1981; 25:235–43.
8. Henderson CA, Highet AS. Acute psoriasis associated with Lancefield group C and group G cutaneous streptococcal infections. Br J Dermatol 1988; 118(4):559–61.
9. Hoffmann S, Henrichsen J. Detection of a group A streptococcal antigen from throat swabs by use of a latex agglutination test kits in general practice. Acta Path Microbiol Immunol Scand Sect(B) 1987; 95:89–94.
10. Hofkosh D, Wald ER, Chiponis DM. Prevalence of non-group A beta-hemolytic streptococci in childhood pharyngitis. South Med J 1988; 81(3):329–31.
11. Palmović D, Košutić Z, Gmajnički B. Streptococcus equisimilis kao uzročnik bakterijemije kod dva bolesnika. Liječ Vjesn 1983; 105(5):194–8.
12. Popović-Uroić T, Bobinac E, Durašinić M, Mošnjac M. Semikvantitativna analiza beta-hemolitičkih streptokoka izoliranih iz briseva ždrijela. Med Vjesn 1988; 20(2): 75–8.
13. Skogberg K, Simonen H, Renkonen OV, Valtonen VV. Beta hemolytic group A,B,C and G streptococcal septicemia: A clinical study. Scand J Infect Dis 1988; 20(2):119–25.
14. Slidex Strepto-Kit. Directions for use. Bio Merieux Marcy l Etoile France.

Abstract

THE ANALYSIS OF BETA-HEMOLYTIC STREPTOCOCCI ISOLATED FROM THE THROAT SWABS

Marina Petanović and Marica Miletić-Medved

Department of Microbiology and Department of Epidemiology, Medical Centre, Slavonski Brod

The authors analyzed 261 streptococci isolated from the throat swabs of 154 individuals under the health care of the Department of Epidemiology and 107 patients treated at other units of the Medical Centre of Slavonski Brod. All isolated genera were tested for the increase in glucose broth, for esculin hydrolysis and sensitivity to bacitracin and then grouped by the Slidex Strepto-Kit method. By this method, in 218 streptococci (83.5 %) the group-specific polysaccharide antigen was not identified («viridans» streptococci), whereas in 43 beta-hemolytic streptococci (BHS) (16.5 %) the groups A, B, C, D, F or G were identified, respectively.

The group A BHS was identified in one case only (2.3 %). The non-group A BHS prevailed with 42 cases (97.6 %), classified as follows: 32 cases in group C (74.4 %), 6 cases in group F (14 %), 2 cases in group G (4.7 %) and one case (2.3 %) in groups B and D, respectively. No significant difference was found between the two groups of probands, i.e. 12.9 % of the probands from the one (20/154) and 20.5 % from the other group (22/107) had non-group A BHS ($X^2=2.93$, $P > 0.01$), whereas group C BHS were found in 11.6 % (18/154) and 13.1 % (14/107) of the probands, respectively ($X^2=0.14$, $P > 0.01$).

It was found that the grouping of beta-hemolytic streptococci is a necessity, since out of the total number of 261 streptococci, 67 (25.7 %) were identified as *Streptococcus Pyogenes* (A BHS) as well as 17 (53.1 %) out of 32 group C streptococci, which is significant for the treatment of both groups of patients.

Key words: streptococcus, beta-hemolytic, epidemiology, throat swab

Received: 3rd November, 1989