

A Grubu Beta-Hemolitik Streptokok Farenjiti Tanısında Mascia Brunelli Hızlı Antijen Testinin Değerlendirilmesi

Evaluation of Mascia Brunelli Rapid Antigen Test in the Diagnosis of Group A Streptococcal Pharyngitis

Ayşe BARIŞ¹, Nur ANLIAÇIK¹, Mehmet Emin BULUT¹, Rıdvan DENİZ¹, Elif YÜCEL¹, Elif AKTAŞ¹

¹ Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.

¹ Sisli Hamidiye Etfal Training and Research Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Istanbul, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 25.08.2016 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 15.12.2016

ÖZ

Farenjitin en sık görülen etkenleri viral mikroorganizmalar olup bakteriyel etken saptanmadan uygulanan tedavi, gereksiz antibakteriyel kullanımına neden olmaktadır. Öte yandan, etken A grubu beta-hemolitik streptokok (GAS) olduğunda, kısa sürede tespit edilmesi uygun antibiyotik tedavisine başlanması açısından çok önemlidir. Yüksek duyarlılığa sahip hızlı testlerin kullanımı erken tanı ve uygun tedaviye önemli katkı sağlayacaktır. Bu çalışmanın amacı; boğaz sürüntü örneklerinde GAS tespitinde Mascia Brunelli hızlı antijen testinin etkinliğini değerlendirmektir. Haziran 2016-Ağustos 2016 tarihlerinde laboratuvarımıza farenjit tanısıyla gönderilen 833 boğaz sürüntüsü değerlendirilmiştir. Örnekler Mascia Brunelli Strep-A Card (Mascia Brunelli S.p.a, Italy) hızlı antijen testi uygulanmış ve eş zamanlı olarak kültür yapılmıştır. Tanımlamada basitrasin duyarlılığı, PYR, lateks aglütinasyon testleri ve matris aracılı lazer desorbsiyon/iyonizasyon-uçuş zamanlı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) temelli Bruker-MS (Daltonics, Almanya) sistemi kullanılmıştır. Kültürde GAS üreme yoğunluğu kaydedilmiştir. Mascia Brunelli testiyle yalancı negatif olarak bulunan örnekler QuickVue + Strep A Test (Quidel Corporation, San Diego, ABD) ile tekrar çalışılmıştır. Çalışma 376'sı (%45.2) kadın, 457'si (%54.8) erkek olmak üzere 833 hastayla yapılmıştır. Olguların yaşları 0-94 arasında olup, ortalaması 7.86 ± 6.72 'dir. Örneklerin 125'i (%15) kültür pozitif, 94'ü (%11.28) antijen testi pozitif bulunmuştur. Kültür pozitif 31 örnekte Mascia Brunelli antijen testi negatif sonuç vermiştir. QuickVue + Strep A Test ile çalışılan bu 31 örneğin 28'i pozitif bulunmuştur. Bu sonuç ile testin duyarlılığının inokülüm etkisinden bağımsız olduğu görülmüştür. Kültür pozitiflik oranı (%18.4) en yüksek 5-15 yaş arasındaki olgularda belirlenmiştir. Mascia Brunelli antijen testinin kültüre göre duyarlılığı %75.2, özgüllüğü %100, pozitif prediktif değeri %100, negatif prediktif değeri %95.81, testin doğruluğu %96.28 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak, GAS farenjiti tanısında yüksek duyarlılığa sahip hızlı antijen testlerinin tercih edilmesi, erken tanı ve uygun tedaviye katkı sağlayacağı gibi antibiyotiklerin uygun kullanımını ile direnç gelişiminin önlenmesine de katkı sağlayacaktır. Ancak negatif antijen test sonuçlarının kültürle doğrulanması, yanlış tanı ve eskik tedavinin önlenmesi açısından oldukça önemlidir.

Anahtar sözcükler: GAS; hızlı antijen testi; *Streptococcus pyogenes*.

İletişim (Correspondence): Uzm. Dr. Ayşe Baş, Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, 34371 Şişli, İstanbul, Türkiye. Tel (Phone): +90 505 840 9945 E-posta (E-mail): aysebarisacb@gmail.com

ABSTRACT

Pharyngitis in most cases is due to viral microorganisms however drug therapy without the detection of etiologic agent leads to unnecessary use of antibiotics. On the other hand, when the etiologic agent is group A beta-hemolytic streptococci (GAS) it is important to identify the etiologic agent rapidly which will guide the treatment with appropriate antibiotics. The use of highly sensitive rapid tests will contribute significantly to early diagnosis and appropriate therapy. The aim of this study is to evaluate the efficacy of Mascia Brunelli rapid antigen test for the detection of GAS in throat swab samples. A total of 833 throat swab samples submitted to our laboratory with pre-diagnosis of pharyngitis were assessed between June 2016 and August 2016. The samples were simultaneously cultured and tested by rapid Mascia Brunelli Strep-A Card (Mascia Brunelli S.p.a, Italy). For identification, bacitracin sensitivity, PYR test and latex agglutination test in addition to Bruker MALDI-TOF MS (Daltonics, Germany) system were used. The density of GAS growth in the culture was noted. The samples that were false negative with Mascia Brunelli test were re-tested with QuickVue + Strep A Test (Quidel Corporation, San Diego, USA) rapid antigen test. A total of 833 patients, 376 (45.2%) female and 457 (54.8%) male were included in the study. The age range was between 0-94 years with a mean value of 7.86 ± 6.72 . 125 (15%) and 94 (11.28%) of the samples were positive with culture and rapid antigen test, respectively. Mascia Brunelli antigen test gave negative results for 31 culture positive samples. Of these 31 samples, 28 were found positive by QuickVue + Strep A antigen test. As a result, the sensitivity of the test was found to be independent of the inoculum effect. The culture positivity rate in patients between 5-15 years was 18.4%. The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and the accuracy of Mascia Brunelli antigen test, with respect to culture, were 75.2%, 100%, 100%, 95.81% and 96.28%, respectively. In conclusion, the selection of rapid antigen tests with high sensitivity in the diagnosis of GAS pharyngitis will contribute to the prevention of resistance development by appropriate use of antibiotics as well as early diagnosis and appropriate treatment. However, confirmation of negative rapid antigen test results by culture is very important in terms of false diagnosis and prevention of incomplete treatment.

Keywords: GAS; rapid antigen test; *Streptococcus pyogenes*.

GİRİŞ

Farenjit sıklıkla viral mikroorganizmalara bağlı gelişmekte ve bakteriyel etkenler arasında en fazla A grubu beta-hemolitik streptokoklar (GAS) görülmektedir¹. GAS, tonsillofarenjit, impetigo ve bakteriyemi yanında erizipel, sellülit, nekrotizan fasiit, streptokokal toksik şok sendromu ve kızıl gibi daha şiddetli, ayrıca septisemi, pnömoni ve menenjit gibi ölümlü seyredabilen enfeksiyonlara neden olabilmektedir². Enfeksiyonun ardından gelişen akut poststreptokoksik glomerulonefrit ve akut romatizmal ateş gibi komplikasyonlar nedeniyle, GAS'ın hızlı tanı ve tedavisi önem kazanmıştır^{3,4}. Altın standart boğaz kültürünün sonuçlanması en az bir günlük süre gerektirdiğinden, tonsillofarenjitli vakalarda etkenin daha hızlı belirlenmesi için hızlı antijen testleri geliştirilmiştir⁵. Yüksek duyarlılığa sahip bir hızlı test kullanımı, erken tanı ve uygun tedaviye önemli katkı sağlamaktadır. Bu çalışmanın amacı, boğaz sürüntü örneklerinde GAS tespitinde Mascia Brunelli hızlı antijen testinin etkinliğini değerlendirmektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Laboratuvarımıza Haziran 2016-Ağustos 2016 tarihleri arasında farenjit tanısıyla gönderilen 833 boğaz sürüntüsü değerlendirildi. İşe girme öncesi muayene, genel tıbbi muayene ve rutin çocuk sağlığı muayenesi için gönderilen örnekler çalışma dışı bırakıldı. Örnekler, BD BBL™ CultureSwab™ EZ II (Le Pont de Claix, Fransa) ikili eküvyon çubukla alındı.

Boğaz sürüntü örneklerinden GAS antijen saptanması için "lateral-flow immunoassay" temelli Mascia Brunelli Strep A Card (Mascia Brunelli S.p.a, İtalya) kullanıldı. Eş zamanlı olarak boğaz kültürü yapıldı. İnkübasyon sonrası plaklar beta-hemolitik koloni yönünden 24 ve 48 saat sonra değerlendirildi. Üreme varlığında, üreme yoğunluğu birden dörde numaralandırıldı⁶. Gram-pozitif ve katalaz negatif koloniler; BD BBL™ DrySlide™ PYR Kit (Becton Dickinson, ABD), lateks aglütinasyon Streptokok Gruplama Test Kiti (Plasmatec, Birleşik Krallık) ve basitrasın duyarlılık (0.04U disk) (Oxoid, Birleşik Krallık) testleri ve Bruker (Daltonics, Almanya) MALDI-TOF MS sistemi kullanılarak tanımlandı. Daha önceden moleküler yöntemle tanımlanmış bir klinik *Streptococcus pyogenes* izolatu kalite kontrolü amacıyla kullanıldı.

Mascia Brunelli testiyle yalancı negatif bulunan örnekler; laboratuvarımızda daha önce yaklaşık 4000 örnekle duyarlılığı %89.07 olarak belirlenen QuickVue + Strep A Test (Quidel Corporation, ABD) ile tekrar çalışıldı.

İstatistiksel analiz için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi ve Mc Nemar testi kullanıldı. Duyarlılık, özgüllük hesaplamalarında tanı tarama testlerinden yararlanıldı ve anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışma 376'sı (%45.2) kadın, 457'si (%54.8) erkek olmak üzere toplam 833 hasta ile yapılmıştır. Olguların yaşları 0-94 arasında olup, ortalaması 7.86 ± 6.72 olarak bulunmuştur. Örneklerin, 705'i acil-çocuk kliniği olmak üzere toplam 784'ü (%94) çocuk kliniklerinden, 49'u (%6) erişkin kliniklerinden gönderilmiştir. Kültür ve hızlı antijen testinin karşılaştırmalı sonuçları Tablo I'de gösterilmiştir. Mascia Brunelli hızlı antijen testinin kültüre göre duyarlılığı %75.2, özgüllüğü %100, pozitif prediktif değeri %100, negatif prediktif değeri %95.8, doğruluğu %96.2 olarak saptanmıştır. Kültür sonucu pozitif olan hastaların yaş gruplarına göre dağılımında; 38 hasta 1-5 yaş arasında, 83 hasta 5-15 yaş arasında, dört hasta ise 16 yaş ve üstü grupta yer almıştır. Cinsiyetlere göre kültür sonuçlarının dağılımında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Kültür pozitif 31 örnek Mascia Brunelli antijen testiyle negatif bulunmuştur. Bu 31 örneğin 28'i QuickVue + Strep A Test ile pozitif bulunmuştur. Bu örneklerin 30'unun kültür pozitifliği (+3) ve (+4) üreme yoğunluğundayken, bir örneğin (+1) üreme yoğunluğunda olduğu görülmüştür (Tablo II).

TARTIŞMA

Akut tonsillofarenjit, sağlık kuruluşuna en sık başvuru nedenlerinden biridir⁷. Etkenlerin büyük kısmını virüsler oluştururken, bakteriyel etkenler arasında en sık GAS'lar görülmektedir^{1,5}. Yaşlara göre değerlendirildiğinde çocuk yaş grubunda GAS'a bağlı farenjit sıklığı genellikle %20-40 arasında değişirken, erişkinlerde %5-15 arasında görülmektedir^{8,9}. Viral tonsillofarenjitlerde öksürük, konjunktivit, burun akıntısı gibi ayırıcı semptomlar olabilsede GAS farenjitlerinin semptomlarıyla genellikle benzerlik gösterirler. Bu nedenle yalnız klinik özelliklere bakılarak yapılan tanının duyarlılığı ve özgüllüğü düşüktür¹⁰. GAS farenjitinde antibakteriyel tedavinin gecikmeden başlanması komplikasyonların gelişimini önlerken, klinik semptomların görülme süresi ve bulaş riskini azaltması nedeniyle hastanın GAS farenjiti olup olmadığına karar vermek önemli bir klinik adımdır¹¹.

Tablo I. Kültür-Hızlı Antijen Test Sonuçlarının Karşılaştırılması

GAS saptanması		Hızlı antijen testi		
		Pozitif	Negatif	Toplam
Kültür	Pozitif	94	31	125
	Negatif	0	708	708
	Toplam	94	739	833

GAS: A grubu beta-hemolitik streptokok.

Tablo II. Kültür Sonucu Pozitif Olan Olgularda Farklı Üreme Yoğunluklarında Hızlı Antijen Testlerinin Pozitiflik Oranları

Üreme yoğunluğu	Mascia Brunelli pozitif/ kültür pozitif	QuickVue pozitif/ kültür pozitif
+1	0/1	1/1
+2	0/0	0/0
+3	16/20	2/4
+4	78/104	25/26
Toplam	94	28

Beş farklı ülkede yapılmış sekiz farklı çalışmanın sonuçları, çocuklarda GAS prevalansının %21-%48 (ortalama %36) aralığında olduğunu göstermiştir³. Ülkemizde yapılmış, 0-18 yaş arası hastaları kapsayan iki farklı çalışmada GAS prevalansı %25 olarak belirlenmiştir^{12,13}. Çalışmamızda GAS farenjiti prevalansı olguların tamamı değerlendirildiğinde %15, 5-15 yaş arası çocuklarda %18.4 olarak belirlenmiş ve diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Farenjit tanısında standart yöntem kültür olmakla birlikte, 24-48 saatte sonuçlanmaktadır. Sürecin uzaması tedavide gecikmeye veya gereksiz antibiyotik kullanımına neden olabilmektedir. Türkiye’de antibiyotiklerin sık ve uygunsuz tüketildiği vurgulanmaktadır¹⁴. Günümüzde lateral migrasyon immünoassay ve hızlı immünokromatografik yöntemlere dayalı yeni jenerasyon hızlı antijen testleri kullanılmaktadır⁵. Cohen ve arkadaşları, çocuklarda hızlı antijen testlerinin değerlendirildiği çalışmaları incelemiş ve testlerin duyarlılığının %66-94, özgüllüklerinin %40-88 arasında değiştiğini belirlemiştir³. Başka bir araştırmada, 105 çalışma ve yaklaşık 116 farklı hızlı antijen testi incelenmiş ve hızlı antijen testlerinin ortalama duyarlılığının %86, özgüllüğünün %95 olduğu belirtilmiştir⁵. 2000-2009 yılları arasındaki 24 çalışmayı kapsayan bir meta analiz çalışmasında ise, hızlı antijen testlerinin duyarlılığı %65.6-96.4, özgüllüğü %68.7-99.3, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla %87.8-98 ve %59.4-97.4 olarak belirlenmiştir¹⁵. Laboratuvarımızda yapılan maliyet etkinlik değerlendirmesi kapsamında hızlı antijen testleriyle ilgili çeşitli markalar test edilmiştir. Çalışmamızda, Mascia Brunelli hızlı antijen testinin duyarlılığı %75.2, özgüllüğü %100, pozitif prediktif değeri %100, negatif prediktif değeri %95.8, testin doğruluğu ise %96.2 olarak saptanmıştır. Çalışmanın yapıldığı dönemde

hastaların %85 gibi büyük bir kısmı çocuk acil servisine farenjit ön tanısıyla başvuran hastalardan oluşmaktaydı. Örneğin laboratuvara kabulünden itibaren yaklaşık yarım saat içinde klinisyene sonuç verilerek hasta gönderilmeden tedaviye kısa sürede başlanmış olması, hızlı antijen testlerinin önemli bir avantajı olarak değerlendirilmiştir.

Hızlı antijen testinin duyarlılık ve özgüllüğünü etkileyen çeşitli faktörler mevcuttur. GAS farenjitini destekleyen semptom ve bulguların varlığı, kullanılan test kiti ve inokulum miktarı bu faktörlerden başlıcalarıdır^{3,5,16}. İnokulum miktarının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada in vitro ortamda GAS'ın çeşitli dilüsyonlarında beş farklı testin duyarlılığı araştırılmış ve inokulum miktarının artmasının test duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir¹⁷. Çalışmamızda yoğun üreme olan (+3 ve +4) grubunda hızlı antijen testi pozitiflik oranı %75.2 iken, üreme yoğunluğu düşük (+1 ve +2) gruptaki bir örnek, antijen testi ile negatif bulunmuştur. Çalışmamızda düşük üreme yoğunluğundaki örnek sayısı az olduğundan karşılaştırma yapılmamıştır. Ancak yoğun üreme gösteren grupta bulunan ve kültür pozitif, antijen testi negatif olan 31 örneğin 30'unda başka bir hızlı antijen testi ile pozitiflik saptanması testin duyarlılığının inokulum etkisinden bağımsız ve kullanılan kite bağlı olduğunu göstermektedir. Bu sonuç duyarlılığı yüksek bir test kullanımının taniya katkısını ortaya koymaktadır.

GAS farenjiti tanısında yüksek duyarlılığa sahip hızlı antijen testlerinin kullanımı, erken tanı ve uygun tedaviye ve antibiyotiklerin uygun olarak kullanılması ile önemli bir problem olan direnç gelişiminin önlenmesine katkı sağlanmış olacaktır. Ayrıca negatif hızlı antijen test sonuçlarının kültürle doğrulanması, yanlış tanı ve eksik tedavinin önlenmesi açısından da oldukça önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Vincent MT, Celestin N, Hussain AN. Pharyngitis. *Am Fam Physician* 2004; 69(6): 1465-70.
2. Bisno AL, Stevens DL. *Streptococcus pyogenes*. pp: 2593-610. In: Mandell GL (eds). *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 2010, 7th ed. Churchill Livingstone, Philadelphia.
3. Cohen JF, Cohen R, Levy C, et al. Selective testing strategies for diagnosing group A streptococcal infection in children with pharyngitis: a systematic review and prospective multicentre external validation study. *CMAJ* 2015; 187(1): 23-32.
4. Spinks A, Glasziou PP, Del Mar CB. Antibiotics for sore throat. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 5(11): CD000023.
5. Cohen JF, Bertille N, Cohen R, Chalumeau M. Rapid antigen detection test for group A streptococcus in children with pharyngitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; 7: CD010502.
6. Church DL. *Aerobik Bakteriyoloji*. pp: 301-409. Garcia LS, Isenberg HD: Başustaoğlu A, Yıldırım ŞT (çeviri ed.). *Klinik Mikrobiyoloji Yöntemleri El kitabı*. 2007, 3. Baskı. Atlas Kitapçılık, Ankara.
7. Çoban B, Kaplan H, Topal B, Ülkü N. The sensitivity and specificity of rapid antigen test in group A streptococcal tonsillopharyngitis. *J Pediatr Inf* 2013; 7: 143-6.
8. Shaikh N, Leonard E, Martin JM. Prevalence of streptococcal pharyngitis and streptococcal carriage in children: a meta-analysis. *Pediatrics* 2010; 126(3): e557-64.
9. Wessels MR. Clinical practice. Streptococcal pharyngitis. *N Engl J Med* 2011; 364(7): 648-55.
10. Van Brusselen D, Vlieghe E, Schelstraete P, et al. Streptococcal pharyngitis in children: to treat or not to treat? *Eur J Pediatr* 2014; 173(10): 1275-83.

11. Llor C, Madurell J, Balagué-Corbella M, Gómez M, Cots JM. Impact on antibiotic prescription of rapid antigen detection testing in acute pharyngitis in adults: a randomised clinical trial. *Br J Gen Pract* 2011; 61(586): e244-51.
12. Gözüküçük R, Göçmen İ, Nas Y, Yılmaz F, Ünüvar E. Streptokoksik tonsillofarenjit tanısında Strep A hızlı testinin etkinliği. *Çocuk Dergisi* 2011; 11(4): 157-9.
13. Uludag Altun H, Meral T, Aribas ET. The specificity and sensitivity results of the rapid antigen test used in the diagnosis of group A beta hemolytic streptococcal tonsillopharyngitis. *Acta Medica Mediterranea* 2015; 31: 287.
14. Karabay O. Birinci basamakta antibiyotik kullanımında Türkiye’de durum. *ANKEM Derg* 2007; 21(Ek 2): 252-6.
15. Ruiz-Aragón J, Rodríguez López R, Molina Linde JM. Evaluation of rapid methods for detecting *Streptococcus pyogenes*. Systematic review and meta-analysis. *An Pediatr (Barc)* 2010; 72(6): 391-402.
16. Cohen JF, Chalumeau M, Levy C, et al. Effect of clinical spectrum, inoculum size and physician characteristics on sensitivity of a rapid antigen detection test for group A streptococcal pharyngitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32(6): 787-93.
17. Lasseter GM, McNulty CA, Richard Hobbs FD, Mant D, Little P; PRISM Investigators. In vitro evaluation of five rapid antigen detection tests for group A beta haemolytic streptococcal sore throat infections. *Fam Pract* 2009; 26(6): 437-44.