

Grup A Streptokok İzolatlarında Emm Serotipinin Klinik Sunuma Etkisi: qPCR ile Yapılan Bir Serotiplendirme Çalışması

The Effect of Emm Serotype on Clinical Presentation in Group A Streptococcal Isolates: A Serotyping Study by qPCR

Ayşegül Zehra Uyan Erten*, Büşra Saygın*, Gülay Korukluoğlu**, Nilay Çöplü*, Bedia Dinç**

* Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

** Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Bilkent Şehir Sağlık Uygulama ve Arştırma Merkezi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

Atf/Cite as: Uyan Erten AZ, Saygın B, Korukluoğlu G, Çöplü N, Dinç B. Grup A streptokok izolatlarında emm serotipinin klinik sunuma etkisi: qPCR ile yapılan bir serotiplendirme çalışması. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2024;54(3):190-195.

Öz

Amaç: Grup A streptokok (GAS) özellikle pediatrik yaş grubunda invaziv ve non-invaziv hastalıklardan sorumlu olabilen bir patojendir. emm geni sekans varyasyonlarına göre tanımlanmış 200'den fazla serotipi bulunan bu patojenin güncel dolaşımında olan serotiplerinin belirlenmesi, hastalık seyri ile ilişkisinin araştırılması ve geliştirilmekte olan aşılarda kapsayıcılığı ile ilgili veri elde etmek amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

Yöntem: Haziran-Ağustos 2023 arasında laboratuvarımızda izole edilen GAS suşları çalışmaya dahil edilmiş olup serotip tayini kültürde üreyen kolonilerden CDC (Centers for Disease Control and Prevention) protokolüne göre tasarlanmış qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction) kiti ile çalışılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya 31 izolat (22 boğaz, 9 boğaz dışı) dahil edilmiştir. İzolatlardan üçü serotiplendirilememiştir (boğaz, yara, bronkoalveolar lavaj sıvısı). Boğaz izolatlarında en sık saptanan serotipler emm1 (n=7), emm2 (n=3), emm3 (n=3), emm89 (n=3), diğer (n=5) olurken; boğaz dışı izolatlarda ise emm28 (n=2), emm2 (n=1), emm3 (n=1), emm6 (n=1), emm12 (n=1), emm89 (n=1) saptanmıştır. İzolatların %89'unun aşı adaylarından 26 valanlı aşının kapsamında olduğu görülmüştür.

Sonuç: Dolaşımda olan emm serotiplerini belirleyerek güncel veri sağlamış olduk. Bu serotiplerin hastalık seyri ile ilişkisi ve toplum genelinde aşının etkin kullanımına yönelik daha güvenli veri sağlamak için daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: İnvaziv/non-invaziv Grup A streptokok enfeksiyonları, emm serotip, Grup A streptokok aşısı

ABSTRACT

Objective: Group A Streptococcus (GAS) is a pathogen responsible for both invasive and non-invasive diseases, particularly in the pediatric age group. This study was designed to identify the current circulating serotypes of this pathogen, which has over 200 serotypes defined by emm gene sequence variations, investigate their association with disease progression and gather data on the coverage of developing vaccines.

Methods: GAS strains isolated in our laboratory between June and August 2023 were included in the study. Serotyping was performed using a qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction) kit designed according to the CDC (Centers for Disease Control and Prevention) protocol from cultured colonies.

Results: A total of 31 isolates (22 throat, 9 non-throat) were included in the study. Three isolates could not be serotyped (throat, wound, bronchoalveolar lavage fluid). Among throat isolates, the most frequently identified serotypes were emm1 (n=7), emm2 (n=3), emm3 (n=3), emm89 (n=3) and other (n=5). Non-throat isolates showed serotypes emm28 (n=2), emm2 (n=1), emm3 (n=1), emm6 (n=1), emm12 (n=1) and emm89 (n=1). It was found that 89% of the isolates are covered by the 26-valent vaccine candidates.

Conclusion: We have provided current data on the circulating emm serotypes. Further large-scale studies are needed to obtain more reliable data on the association of these serotypes with disease progression and the effective use of vaccines in the general population.

Keywords: Invasive/non-invasive Group A Streptococcus infections, emm serotype, Group A Streptococcus vaccines

Alındığı tarih / Received:

27.02.2024 / 27 February 2024

Kabul tarihi / Accepted:

26.05.2024 / 26 May 2024

Yayın tarihi / Publication date:

20.09.2024 / 20 September 2024

ORCID Kayıtları

A. Z. Uyan Erten 0000-0001-9580-5159

B. Saygın 0000-0002-9060-2587

G. Korukluoğlu 0000-0001-7625-6350

N. Çöplü 0000-0003-1956-1417

B. Dinç 0000-0001-8318-2556

✉ aysegulzehrauyan@gmail.com

GİRİŞ

Grup A streptokok (GAS) özellikle pediatrik yaş grubunda tonsillofarenjitin önde gelen bakteriyel etkenlerinden biridir. Ayrıca invaziv seyirli olan septisemi, nekrotizan fasiit ve streptokokal toksik şok sendromu tablolarından da sorumlu olabilmektedir⁽¹⁾. Virülans faktörlerinden biri olan M proteini bakteriyi fagositozdan korumakta ve aynı zamanda immün yanıtı tetikleyerek bağışık yanıtın oluşmasında rol almaktadır. M proteinini kodlayan *emm* gen bölgesinin tespiti ile serotiplendirme yapılmaktadır. Bakterinin emm serotipleri ve bunların klinik durumu ile ilişkisi yapılan önceki çalışmalarda araştırılmıştır⁽¹⁻⁵⁾. Ayrıca geliştirilmekte olan 26 valanlı, 30 valanlı aşuların GAS enfeksiyonlarının ve sekellerinin önlenmesi amacıyla kullanıma girmesinden önce toplumda dolaşımda olan emm serotiplerinin belirlenmesi önemlidir⁽⁶⁾. Bu çalışmada boğaz ve boğaz dışı GAS izolatlarının hem emm serotipleri ve klinik durum arasındaki ilişkilerini araştırmayı hem de güncel veri sağlayarak aşının ülkemizde etkin kullanılabilirliğine katkı vermeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, 2 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (27.12.2023 tarih ve E2-23-5910 sayı) onaylanmıştır.

Haziran-Ağustos 2023 arası Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği Bakteriyoloji Laboratuvarı'na gelen klinik örneklerden elde edilen GAS izolatları çalışmaya dahil edilmiştir. Boğaz kültürü örnekleri %5 koyun kanlı agara, idrar örneği ek olarak kromojenik agara, diğer klinik örnekler ek olarak çikolata agar ve Mac-Conkey agara ekim yapılmıştır. Plaklar 35-37°C'da 18-24 saat inkübe edildikten sonra kültürde üreyen koloniler viral nükleik asit transport içeren tüplere (vNAT® Transfer Tüpü, Bioeksen, Türkiye) alınmış, her birinden 200 µl alınarak 5 µl proteinaz-K eklenmiş ve Zybio EXM3000 (Zybio Products, Çin) cihazı ile dokuz dakikada ekstraksiyon aşaması tamamlanmıştır. Serotip tayini, CDC (Centers for Disease Control and Prevention) protokolüne göre tasarlanan qPCR (quantitative polymerase chain reaction) ile yapılmıştır. Bu kit,

beş kuyucukta toplam 20 serotipe (emm1, 2, 3, 4, 6, 11, 12, 28, 49/151, 59, 75, 76, 77, 81, 82, 83, 87, 89, 92, 118) ait primer içermektedir. Kuyucukların herbirine 10 µl 2X PrimeScript Mix (Bio-Speedy, Bioeksen,Türkiye) enzim ve 5 µl Oligo Mix (Bio-Speedy, Bioeksen,Türkiye) dağıtılmıştır. Daha sonra her izolat için ekstraksiyon sonucu elde edilmiş nükleik asit süspansiyonu 5 µl eklenerek son hacim 20 µl olacak şekilde beş kuyucuğa pipetlenmiştir. CFX-96 Touch (BioRad Laboratories, Mannheim, Almanya) cihazında protokole (52°C 3 dakika, 95°C 10 saniye, 95°C 1 saniye, 67°C 15 saniye, 95°C 1 saniye, 55°C 15 saniye; 3. ve 4. basamaklar 11 tekrar, 5. ve 6. basamaklar 29 tekrar) uygun çalışılmış ve 45 dakikada sonuç alınmıştır.

BULGULAR

Toplam 31 adet GAS izolatı çalışmaya dahil edildi. İzolatların 22'si boğaz kültürü, dokuzu boğaz dışı (apse, yara, bronkoalveolar lavaj sıvısı, idrar) klinik örneklerden elde edildi. İzolatlara ait serotip sonuçları Tablo 1'de sunulmaktadır. İzolatlardan üçü (boğaz, yara, bronkoalveolar lavaj sıvısı) serotiplendirilemedi. Boğaz kültürü alınan hastalardan biri hariç hepsi pediatrik yaş grubundan olup boğaz dışı klinik örneklerin alındığı hastalardan ise beşi pediatrik yaş grubuna aitti.

Boğaz izolatlarına bakıldığında baskın olan serotipin emm1 (n=7) olduğu görüldü. Diğer serotipler sırasıyla en sık emm2 (n=3), emm3 (n=3), emm89 (n=3), emm4 (n=1), emm6 (n=1), emm12 (n=1), emm83 (n=1), emm87 (n=1) olarak belirlendi. Bir hastanın boğaz izolatı emm 3 serotipinde olup kızıl tablosu geliştiği görüldü. Bu hasta serviste yatırılarak seftriakson (2x1 gr/gün, intravenöz (IV), beş gün) ve devamında amoksisilin-klavulanik asit (80 mg/kg/gün, peroral (PO), beş gün) ile tedavi edildi. Diğer boğaz kültürü izolatlarının alındığı hastalar ayaktan tedavi edildi.

Boğaz dışı izolatlara bakıldığında serotiplerin dağılımı emm28 (n=2), emm2 (n=1), emm3 (n=1), emm6 (n=1), emm12 (n=1), emm89 (n=1) şeklindeydi. Hastaların klinik progresyonlarına baktığımızda; iki idrar izolatından (emm2, emm28);

Tablo 1. Çalışmadaki izolatlara ait serotip sonuçları

Araştırılan serotipler	Boğaz izolatları n=22	Boğaz dışı izolatlar n=9	
		Sayı	Örnek tipi
	emm1	7	-
	emm89	3	1 Apse
	emm12	1	1 Yara
1.kuyucuk	emm82	-	-
	emm28	-	2 İdrar, apse
	emm92	-	-
	emm77	-	-
2.kuyucuk	emm4	1	-
	emm59	-	-
	emm11	-	-
	emm3	3	1 Apse
3.kuyucuk	emm2	3	1 İdrar
	emm87	1	-
	emm81	-	-
	emm118	-	-
4.kuyucuk	emm6	1	1 Apse
	emm75	-	-
	emm49/151	-	-
	emm76	-	-
5.kuyucuk	emm83	1	-
Tiplendirilemeyen		1	2 Yara, bronkoalveolar lavaj sıvısı

emm2 serotipinin saptandığı hastada akut nefritik sendrom tablosu gelişmişken diğer hasta (emm28) ayaktan antibiyotik tedavisi ile izlendi. Akut nefritik sendrom tablosu gelişen hasta sefiksım (400 mg/gün, PO, 10 gün) ve destek tedavisi ile izlendi. Apse örneklerinden dört adet izolat üretilmiş olup ikisinde peritonsiller apse (emm3, emm6); birinde pilonidal apse (emm89); diğerinde ise derin boyun apsesi (emm28) gelişti. Bu hastalar hastanede yatırılarak tedavi edildi. Peritonsiller apse gelişen hastalardan biri(emm3) sulbaktam-ampisilin (4x3 gr/gün, IV, beş gün) ve devamında amoksisilin-klavulanik asit (2x1 gr/gün, PO, beş gün) ile tedavi edilirken; diğer hasta(emm6) piperasilin-tazobaktam (4x1 gr/gün, IV, sekiz gün) ve devamında amoksisilin-klavulanik asit (3x1 gr/gün, PO, altı gün) ile tedavi edildi. Pilonidal apse gelişen hasta(emm89); apse drenajı sonrası amoksisilin-klavulanik asit (2x1 gr/gün, PO,

10 gün) tedavisi aldı. Derin boyun apsesi gelişen hasta(emm28); meropenem (3x1 gr/gün, IV, 14 gün), teikoplanin (6 mg/kg/gün, IV, 14 gün) ve devamında amoksisilin-klavulanik asit (2x1 gr/gün, PO, 14 gün) ve siprofloksasin (2x500 mg/gün, PO, 14 gün) tedavileri ile izlendi. Yara yeri enfeksiyonu gelişen hasta(emm12) da servise yatırılarak sefotaksim (4x750 mg/gün, IV, beş gün), klindamisin (3x150 mg/gün, IV, beş gün) tedavilerini aldı ve amoksisilin-klavulanik asit (2x1 gr/gün, PO, beş gün) ile taburcu edildi. Mortal seyreden vaka olmadı.

TARTIŞMA

GAS için serotip ve invaziv/non-invaziv enfeksiyon ilişkisi daha önceki çalışmalarda da araştırılmıştır. Bu serotiplerin çeşitliliği ve yoğunluğu bölgesel

farklılıklar göstermektedir. Avrupa bölgesine baktığımızda; Almanya'da 2009-2014 yılları arasında kapsayan bir çalışmada invaziv GAS enfeksiyonlarında en sık emm1, emm28 ve emm89; İspanya'da; emm1, emm89, emm3, emm4, emm12, emm6 ve yine Almanya ile Polonya bölgesinde yapılan bir çalışmada emm28 bulunmuştur^(2,4,7). İrlanda'da yapılan başka bir çalışmada da invaziv enfeksiyonlarda sırasıyla en sık emm1, emm3, emm28, emm12 ve emm89, invaziv olmayan enfeksiyonlarda emm4, emm28, emm3, emm12, emm89 ve emm1 baskın serotip olarak bulunmuştur⁽⁵⁾. İran'da yapılan emm serotipleri ve klinik ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada emm1, emm28, emm42.1 ve emm55 tipleri sadece invaziv enfeksiyonlarda saptanırken emm68 tipi non-invaziv enfeksiyonlardan izole edilmiştir⁽³⁾. Türkiye'de yapılan çalışmalara baktığımızda çok merkezli bir çalışmada invaziv GAS izolatlarında sırayla en sık emm1, emm4, emm6, emm12, emm24, emm14, emm28; diğer bir çalışmada ise invaziv GAS izolatlarında sırayla en sık saptanan serotipler emm28, emm1, emm12, emm3, emm89 olmuştur^(8,9).

Çalışmamızda invaziv özellik gösteren GAS izolatlarının serotipleri emm2, emm3, emm6, emm12, emm28, emm89'dan oluşmaktadır. Gerek ülkemizde gerekse ülkemiz dışında yapılan çalışmalarda ortak serotiplerin olması bazı emm serotiplerinin daha invaziv seyirli olabileceğini düşündürmektedir.

GAS nedeni ile tonsillofarenjit tablosu geliştiğinde invaziv seyirli olmasa bile etkin ve zamanında antibiyotik tedavisi almayan hastalarda akut romatizmal ateş (ARA) gelişme olasılığı bulunmaktadır ve bu durum hastalar için ciddi sonuçlar doğurabilmektedir. Yeni Zelanda'da yapılan bir çalışmada ARA prevalansı yüksek ve düşük olan bölgeler karşılaştırıldığında yüksek olan bölgelerde emm1 ve emm12; düşük olan bölgelerde emm12 baskın bulunmuştur. Ayrıca prevalansın düşük olduğu bölgede emm3 varlığına ve emm41'in olmamasına dikkat çekilmiştir⁽¹⁰⁾. Hawaii'de yapılan bir çalışmada ise ARA gelişen hastalarda daha önce Amerika Birleşik Devletleri'nde ARA ile ilişkilendirilen emm tipleri dışında atipik emm serotipleri tespit edilmiştir⁽¹¹⁾.

GAS nedeni ile tonsillofarenjit tablosu gelişen hastalardaki emm serotiplerini araştıran çalışmalar incelendiğinde; Japonya'da boğaz izolatlarında yaygın olarak en sık emm12 ve emm1; Hindistan'da ise emm1 ve emm49 tespit edilmiştir^(12,13). Türkiye'de yapılan çalışmalarda ise; 2009 yılında GAS'a bağlı tonsillofarenjit ile başvuran hastalarda en sık emm1 ve emm3; 2012 yılında en sık emm1, emm89, emm18, emm19 ve 2019 yılında ise tonsillofarenjit hastalarında sırayla en sık emm89, emm44, emm6, emm84, emm1 ve emm18.1 saptanmıştır⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Çalışmamızda ise boğaz izolatlarında sırayla en sık saptanan serotipler emm1, emm2, emm3 ve emm89 olmuştur.

Bu tür çalışmaların farklı bölgelerde yapılması, yerel dolaşımda olan serotiplerin saptanması ve geliştirilmekte olan GAS aşılarının etkin kullanımının gözden geçirilmesi açısından önem arz etmektedir^(6,17). Bu aşı adaylarından 26 valanlı olan emm serotiplerinden 1.0, 1.2, 2, 3, 5, 6, 11, 12, 14, 18, 19, 22, 24, 28, 29, 33, 43, 59, 75, 76, 77, 89, 92, 94, 101 ve 114'ü içermektedir⁽¹⁸⁾. Diğer bir aşı adayı olan 30 valanlı aşı ise emm 1, 2, 3.1, 4, 5.14, 6.4, 11, 12, 14.3, 18, 19, 22, 24, 28, 29.2, 44, 49, 58, 73, 75, 77, 78, 81, 82, 83.1, 87, 89, 92, 114, 118 serotiplerini kapsamaktadır⁽⁶⁾. Yirmi altı valanlı aşının özellikle batı ülkelerindeki yaygın GAS serotiplerini hedef aldığı, Asya ve Pasifik ülkelerinde bulunan serotiplere karşı yeterli koruma sağlamadığı görülmüştür⁽¹⁹⁾. Otuz valanlı aşı da benzer şekilde ABD ve Kanada'daki tonsillofarenjit vakalarının %98'ini, Avrupa'daki invaziv GAS vakalarının %78'ini kapsarken; Avustralya'daki boğaz izolatlarının %40'ını, Hindistan'da ise %28'ini kapsadığı görülmüştür⁽²⁰⁾. Yirmi altı valanlı aşının Türkiye'de enfeksiyon etkeni olarak saptanan invaziv GAS izolatlarında GAS serotiplerini kapsama oranları; 2010-2011 yılları arası yapılan çalışmada %70.5; 2012 yılında yapılan bir çalışmada %74; 2017 yılındaki diğer bir çalışmada %84.88 olarak bulunmuştur^(8,9,15). Yine ülkemizde 2020 yılında yapılan bir çalışmada 26 valanlı aşı için kapsama oranı %61.5; 30 valanlı aşı için %84.6 olarak bulunmuştur⁽¹⁶⁾. Çalışmamızda bulunan 10 emm serotipinden yedisi (%70) 26 valanlı aşı kapsamında olup emm 4, 83 ve 87 kapsam dışında kalmıştır.

Çalışmada serotiplendirilen tüm izolatların %89'unun (25/28) aşı kapsamında olduğu belirlenmiştir. Diğer 30 valanlı aşı için subtip tayini yapmadığımız için kesin bir kapsayıcılık oranı verilememiştir.

GAS için emm serotip tayini yapılarak dolaşımda olan serotipler ile ilgili güncel veri sağlanmıştır. Aynı serotipe sahip bazı izolatlar farklı klinik sonuçlara sebep olmuştur. emm serotipinin GAS enfeksiyonu klinik sunumuna tek başına etkisinin yeterli olmayacağı sonucuna varılabilir. Fakat bazı serotiplerin önceki çalışmalar ile benzer şekilde invaziv GAS enfeksiyonlarında saptanması bu serotiplerin hastalık seyri ile ilgisini düşündürmüştür. Aşı kapsamı ile ilgili çok merkezli çalışmaların yapılması toplum kapsayıcılığı ile ilgili daha güvenli veri sağlayabilir. Ayrıca subtip tayini yapılması özellikle 30 valanlı aşının kapsayıcılığı hakkında daha sağlıklı verilerin ortaya konulmasını sağlayacaktır.

Etik Kurul Onayı: Bu araştırma, Ankara Bilkent Şehir Hastanesi, 2 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (27.12. 2023 tarih ve E2-23-5910 sayı) onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansman: Yoktur/bildirilmemiştir.

Ethics Committee Approval: This research was conducted with the approval of Ankara Bilkent City Hospital, No.2 Ethical Committee (06.12.2023; 8e4e07a2-b556-441c-a7f2-1a5d132ecd4a).

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Funding: None/not declared.

KAYNAKLAR

- Li Y, Rivers J, Mathis S, Li Z, et al. Genomic surveillance of *Streptococcus pyogenes* strains causing invasive disease, United States, 2016-2017. *Front Microbiol.* 2020;11:1547. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01547>
- Villalón P, Sáez-Nieto JA, Rubio-López V, et al. Invasive *Streptococcus pyogenes* disease in Spain: a microbiological and epidemiological study covering the period 2007-2019. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2021;40(11):2295-303. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04279-2>
- Khan RMA, Anwar S, Pirzada ZA. *Streptococcus pyogenes* strains associated with invasive and non-invasive infections present possible links with emm types and superantigens. *Iran J Basic Med Sci.* 2020;23(1):133-9. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2019.38635.9164>
- Imöhl M, Fitzner C, Perniciaro S, van der Linden M. Epidemiology and distribution of 10 superantigens among invasive *Streptococcus pyogenes* disease in Germany from 2009 to 2014. *PLoS One.* 2017;12(7):e0180757. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180757>
- Meehan M, Murchan S, Gavin PJ, Drew RJ, Cunney R. Epidemiology of an upsurge of invasive group A streptococcal infections in Ireland, 2012-2015. *J Infect.* 2018;77(3):183-90. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.05.010>
- Pastural É, McNeil SA, MacKinnon-Cameron D, et al. Safety and immunogenicity of a 30-valent M protein-based group A streptococcal vaccine in healthy adult volunteers: A randomized, controlled phase I study. *Vaccine.* 2020;38(6):1384-92. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.12.005>
- Strus M, Heczko PB, Golińska E, et al. The virulence factors of group A streptococcus strains isolated from invasive and non-invasive infections in Polish and German centres, 2009-2011. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017;36(9):1643-9. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-2978-8>
- Topkaya AE, Balıkcı A, Aydın F, et al. Türkiye'de invazif streptokok enfeksiyonlarının epidemiyolojisi, klinik ve mikrobiyolojik özellikleri, 2010-2011. *Mikrobiyol Bul.* 2014;48(1):1-13.
- Kızılyıldırım S. İnvaziv A grubu streptokok enfeksiyonlarından sorumlu suşlarda emm ve süperantijen genotiplerinin dağılımı, klinik korelasyonu ve filogenetik ilişkilerinin tespiti [Doktora tezi]. Adana: Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2017.
- Mhlanga N, Sharp G, Nulsen M. Emm type distribution of group A *Streptococcus* isolates from the throat swabs of children living in areas with a high (Northland and Gisborne) or low (Palmerston North) incidence of acute rheumatic fever. *N Z Med J.* 2017;130(1460):13-20.

11. Erdem G, Mizumoto C, Esaki D, et al. Group A streptococcal isolates temporally associated with acute rheumatic fever in Hawaii: Differences from the continental United States. *Clin Infect Dis*. 2007;45(3):e20-4. <https://doi.org/10.1086/519384>
12. Okabe T, Takeda S, Hida M, Narisada T. Study of T serotypes and Emm genotypes of *Streptococcus pyogenes* in children with pharyngitis and tonsillitis. *J Nippon Med Sch*. 2011;78(3):174-7. <https://doi.org/10.1272/jnms.78.174>
13. Arya DK, Sharma A, Mehta G, Dua M, Johri AK. Molecular epidemiology and virulence characteristics of prevalent group A streptococci recovered from patients in northern India. *J Infect Dev Ctries*. 2014;8(3):271-81. <https://doi.org/10.3855/jidc.2874>
14. Çakmak AE. İstanbul'da 2007-2009 döneminde çocuk hastaların boğaz kültürlerinden izole edilen A grubu beta hemolitik streptokokların M proteini (emm) geni tiplendirilmesi [Tıpta uzmanlık tezi]. İstanbul: İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, 2017.
15. Arslan U, Oryaşın E, Eskin Z, et al. *Streptococcus pyogenes* suşlarının emm genotiplerinin dağılımı ve antibiyotik duyarlılığı: Geliştirilmekte olan aşı ile karşılaştırma. *Mikrobiyol Bul*. 2013;47(2):318-23. <https://doi.org/10.5578/mb.4480>
16. Altun M. Tonsillofarenjitli hastalardan izole edilen *Streptococcus pyogenes* suşlarının tanınması, antibiyotik direnç profilleri ile emm ve ekzotoksin genlerinin tespiti [Doktora tezi]. Çanakkale: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2019.
17. Asturias EJ, Excler JL, Ackland J, et al. Safety of *Streptococcus pyogenes* vaccines: anticipating and overcoming challenges for clinical trials and post-marketing monitoring. *Clin Infect Dis*. 2023;77(6):917-24. <https://doi.org/10.1093/cid/ciad311>
18. McNeil SA, Halperin SA, Langley JM, et al. Safety and immunogenicity of 26-valent group a *Streptococcus* vaccine in healthy adult volunteers. *Clin Infect Dis*. 2005;41(8):1114-22. <https://doi.org/10.1086/444458>
19. Castro SA, Dorfmueller HC. A brief review on Group A *Streptococcus* pathogenesis and vaccine development. *R Soc Open Sci*. 2021;8(3):201991. <https://doi.org/10.1098/rsos.201991>
20. Iyer V, Sagar V, Toor D, et al. Group A *Streptococcus* infections: Their mechanisms, epidemiology, and current scope of vaccines. *Cureus*. 2022;14(12):e33146. <https://doi.org/10.7759/cureus.33146>