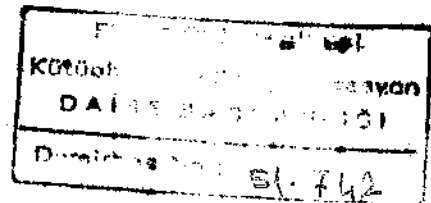


ELAZIĞ YÖRESİNDE BOĞAZ KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN β-HEMOLİTİK STREPTOKOKLARIN GRUPLANDIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SELMA AY

F. Ü. Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Araştırma Görevlisi



ELAZIĞ — 1989

22
Y.L.
SAR. 011

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında yakın ilgilerini esirgemeyen
Danışman Hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. Mustafa YILMAZ'a, Yrd.Doç.
Dr. S.Sırrı KILIÇ'a, Yrd.Doç.Dr. Sıtkı ORAK'a, Prof.Dr.Haluk
ARVAS'a, Arş.Gör. Mehmet GÜNGÖR'e ve Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı Personeline teşekkür ederim.

Fırat Üniversitesi Merkez Kütüphanesi



0067809

255.07.02.03.00.00/08/0067809

TTP YL/2

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
A - GİRİŞ VE AMAÇ	1
B - GENEL BİLGİLER	2
1- STREPTOKOKLARIN GÖRÜNÜM VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ	3
2- STREPTOKOKLARIN ÜREME ÖZELLİKLERİ	5
3- STREPTOKOKLARIN ÜREME VE HEMOLİZ YAPMA ÖZELLİKLERİNE ETKİLİ FAKTÖRLER	7
4- STREPTOKOKLARDA GÖZLENEN DEĞİŞİMLER	8
5- STREPTOKOKLARDA DİRENÇ	9
6- STREPTOKOKLARIN TOKSİN VE ENZİMLERİ	9
7- STREPTOKOKLARIN SINIFLANDIRILMASI	12
8- STREPTOKOKLARIN ANTİJENİK YAPISI	15
9- STREPTOKOKLARIN LABORATUVAR TANISI	17
10- STREPTOKOKLARIN SEROLOJİK İDANTİFİKASYONU ..	18
11- STREPTOKOKLARIN BİYOKİMYASAL İDANTİFİKASYONU	19
12- STREPTOKOKLARIN YAPTIĞI HASTALIKLAR	21
13- STREPTOKOK İNFEKSİYONLARINDA BAĞIŞIKLIK	23
C - GEREÇ VE YÖNTEM	26
I- GEREÇLER	26
II- YÖNTEM	29
1-BOĞAZ KÜLTÜRLERİ VE B-HEMOLİTİK STREPTO- KOKLARIN İZOLASYONU	29
2- STREPTOKOKLARIN İDANTİFİKASYONU	29

	<u>Sayfa</u>
D - BULGULAR	37
E - TARTIŞMA	47
F - SONUÇ	59
G - ÖZET	61
H - KAYNAKLAR	62

TABLO VE RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
TABLO - I : Gram (+) Kokların Ayırımı	4
TABLO - II : Streptokokların Sınıflandırılması	14
TABLO - III : Streptokokların Bazı Biyokimyasal Özellikleri	22
TABLO - IV : A Grubu β -hemolitik Streptokokların Antiijenleri ve Bunlara Karşı Oluşan Antikorlar	25
TABLO - V : İzole Edilen 100 β -hemolitik Strepto- kok Suşunun Lancefield Gruplarına Dağılımı	38
TABLO - VI : A Grubu ve A Grubu Dışındaki β -hemo- litik Streptokokların Yaş Gruplarına Dağılımı	39
TABLO - VII : İzole Edilen 100 β -hemolitik Strepto- kok Suşunun Bazı Biyokimyasal Özel- likleri	43
TABLO - VIII : β -hemolitik Streptokokların Eşeye Göre Dağılımı	44
TABLO - IX : β -hemolitik Streptokokların Yaş Gruplarına Dağılımı	46
RESİM - 1 : β -hemolitik Streptokokların Koyun Kanlı Agardaki Görünümleri	31
RESİM - 2 : β -hemolitik Streptokokların Gram Boyalı Preparattaki Görünümü	31
RESİM - 3 : β -hemolitik Streptokokların Bazı Antimikrobiklere Duyarlılıkları	35
RESİM - 4 : CAMP Testinin Koyun Kanlı Plaktaki Görünümü	35

A - GİRİŞ VE AMAÇ

Streptokoklar ; bazı türleri insan ve hayvan normal florasında bulunan, bazen de çeşitli infeksiyonlara (sepsis, pnömoni, anjin, endokardit v.s.) neden olan, doğada oldukça yaygın, Gram (+), fakültatif anaerop, oval yapılı mikroorganizmalar grubudur (1,2,3).

1928 yılında Rebecca Lancefield tarafından polisakkarit antiijenlerine dayanılarak sınıflandırılan streptokoklardan, insanlar için patojen olanları A,B,C,D,F ve G gruplarında yer alır. Bunlardan A-grubu streptokoklar insanlarda en fazla infeksiyona neden olanıdır. Bununla birlikte diğer gruplar da çeşitli klinik örneklerden izole edilebilmektedirler. Bu mikroorganizmalar insan vücudunda değişik bölgelere yerleşip, çeşitli hastalıklara neden olurlar. Antimikrobiklere duyarlılıkları farklılıklar gösterir.

Yapılan araştırmalar A-Grubu β -hemolitik streptokok infeksiyonları ile romatizmal ateş ve akut glomerulonefrit arasında sıkı bir ilişki bulunduğunu ortaya koymuştur.

İzole edilen β -hemolitik streptokokların gruplandırılması ile hem infeksiyon etkeni belirlenmiş, hem de gereksiz tedavinin önüne geçilmiş olur (1,4,7).

Biz de bu düşünceler doğrultusunda, Elazığ yöresinde boğaz kültürlerinden izole edilen β -hemolitik streptokokları immunoserolojik yöntemler yanında biyokimyasal özelliklerinden de yararlanmak suretiyle gruplandırmayı ve konuya açıklık getirmeyi amaçladık.

B - GENEL BİLGİLER

Streptokoklar doğada yaygın, süt ve süt ürünleri gibi besin maddelerinde saprofit olarak bulunurlar. İnsan vücudu normal florasında yer alanlar yanında insan ve hayvanlarda çeşitli infeksiyonlara neden olan türleri de bulunabilir(1).

Streptokokları ilk olarak Billroth 1874 yılında, yılan-cık ve yara infeksiyonlarında görmüş fakat infeksiyon etkeni olabileceğini kabul etmemiştir. 1879'da Pasteur bu mikroor-ganizmaları hemokültürde üretmiştir. Fehleisen ise strepto-kokları saf kültür halinde üretilip bu bakteriye *Streptococcus erysipelatus* ismini vermiştir (1,2,3).

Schotmüller (1903) bu mikroorganizmaların kanlı besi-yerlerinde hemoliz oluşturdıklarını tespit etmiş, Brown (1919) ise hemoliz tiplerine göre Alpha (α), Beta (β) ve Gamma (γ , nonhemolitik) streptokoklar olarak üç gruba ayırmıştır. Lancefield (1928) ise streptokokları immunoserolojik yöntem-lerle gruplandırmıştır (1,2,3,4).

Yeni Bergey sistemine göre : Gram olumlu (Gr+), ko-koid, aerob, fakültatif anaerob olanlar Micrococcaceae ve Streptococcaceae, zorunlu anaeroplara ise Peptococcaceae fa-milyası içerisine alınmışlardır. Streptococcaceae familyası içinde altı cins yer alır. Bunlar ; Streptococcus, Enterococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Aerococcus ve Gemella'dır. Bunlardan Streptococcus ve Enterococcus cinsleri içinde in-sanlarda patojen olan veya normal florada yer alan (üreme, kimyasal, biyokimyasal yönden çeşitli ayırmalar gösteren)

21'den fazla tür bulunmaktadır (1,2). Gram (+) kokların ayırımı Tablo I'de gösterilmiştir.

1- STREPTOKOKLARIN GÖRÜNÜM VE BOYANMA ÖZELLİKLERİ

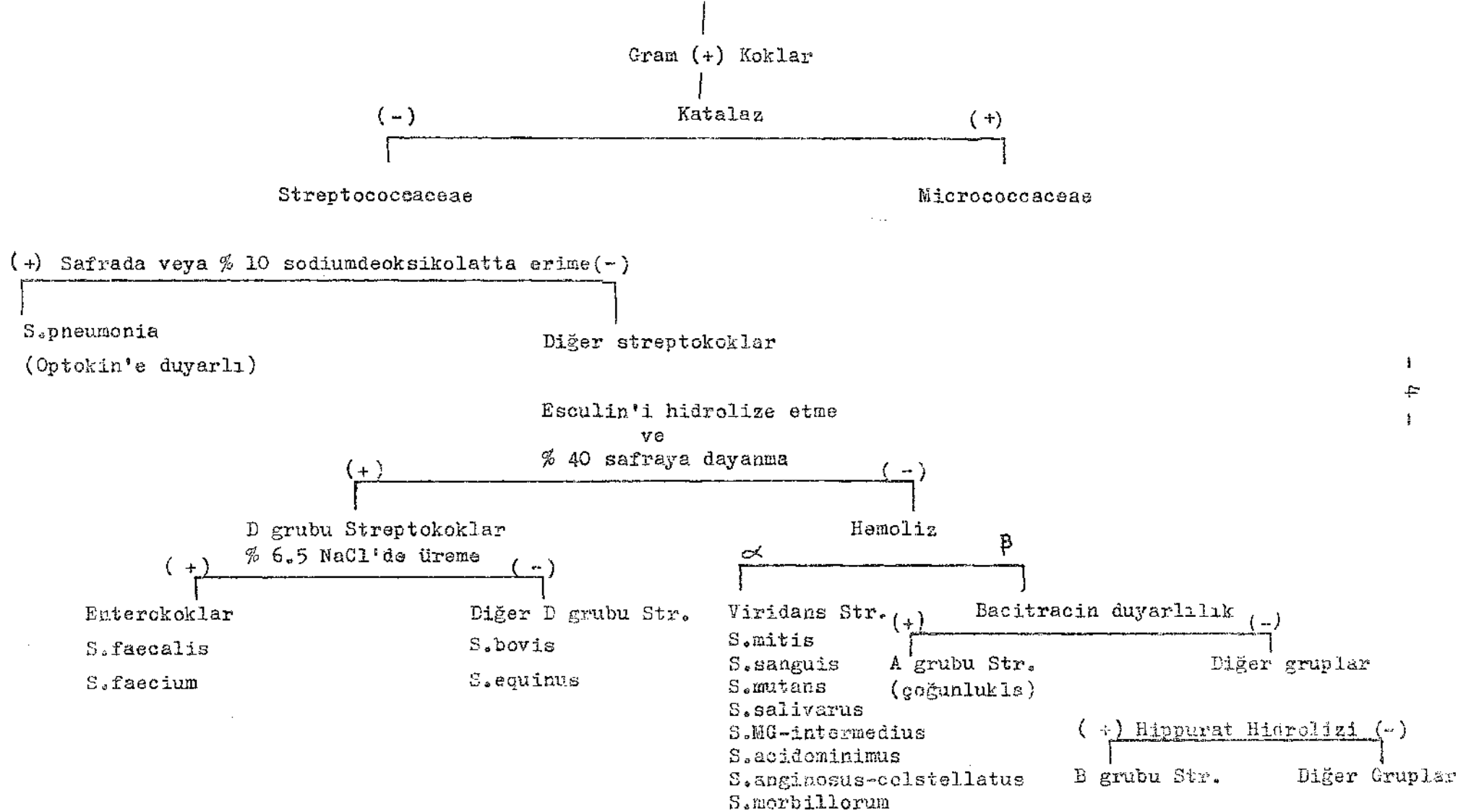
Streptokoklar ikiye ikiye duran veya zincirler yapan 2 μ m (mikrometre) den küçük, genellikle 0,6 - 1 μ m çapında koklardır. Katalaz ve oksidaz testleri negatif olup DNA'larındaki Guanin + Cytosin (G + C) oranı % 33-42 mol dır (1,2,3).

Hastalık materyalinden yapılan boyalı preparatlarda 5-8 kokdan ibaret kısa zincirler yaptıkları görülür. Zincirlerin uzunluğu çevresel faktörlere bağlı olarak büyük değişiklikler gösterir. Katı besiyerlerinde 3-5, bazen de 5-8 kokdan oluşan kısa zincirler yaptıkları halde sıvı besiyerlerinde daha uzun zincirler yaparak ürerler. Bazı streptokoklar zincir yapma alışkanlığında olmayıp diplokok şeklinde bulunurlar. Streptokok zincirleri ilk bakışta bir diplokok zincirini andırır. Zincir yapan koklar zincirin eksenine dik bir düzlemde bölünür. Birbirlerine hücre çeperine ait köprülerle bağlı olduğundan çalkalamayla zincirler koparılamazlar (1,4).

D grubu içinde yer alan Enterokoklar oval yapıda, ikiye ikiye duran, zincir yapan ve Pnömonokok'a benzeyen koklardır (2).

Streptokoklar sporsuz ve hareketsizdirler, ancak Enterococcus faecium'un hareketli kökenlerine rastlanmıştır (1,2,4).

TABLO I : Gram (+) Olumlu Kokların Ayırımı (1).



Genç kültürlerinden yapılan Gram boyalı preparatlarda Gram (+) görünürler. Boyama sırasında alkolle biraz fazla dekolore edildiğinde veya 24 saatlikten daha eski kültürlerinden yapılan boyalı preparatlarda Gram (-) görünüm alırlar. Ayrıca polimorf nüveli lökositler (PNL) tarafından fagosite edilen ve antibiyotik tedavisi görmüş hastalardan izole edilen streptokoklar Gr (-) boyanırlar (5,6).

A,B,C grubunda yer alan streptokoklarda hiyaluronik asit yapısında bir kapsül bulunur. Kapsül, organizmadan yeni ayrılmış ve zenginleştirilmiş besiyerlerinde üretilen streptokoklarda, ilk 2-4 saat içinde görülebilir. Büyüme süreci içinde aynı zamanda hiyaluronidaz enzimi de oluşturulduğundan eskimiş kültürlerinde kapsül görülmez. Ancak, hiyaluronik asit besiyeri içinde dağılmış olarak saptanabilir (1,4,7,8).

Streptokokların hücre çeperi gruba özgül karbonhidrat (C-maddesi), tipe özgül proteinler (M,R,T) ve peptidoglikandan yapılmıştır (2,4).

A grubu streptokoklarda hücre çeperinden dışarı çıkan tüy şeklinde pililer vardır. Pililer kısmî olarak M-proteini içerir ve lipoteichoic asitle kaplanmışlardır. Lipoteichoic asit, streptokokların mukoza epitellerine yapışmasında önemli rol oynar, bu ise infeksiyonun oluşması yönünden gerekli görülmektedir (4,7,8).

2 - STREPTOKOKLARIN ÜREME ÖZELLİKLERİ

Streptokoklar adi besiyerlerinde yavaş, buna karşılık

zenginleştirilmiş besiyerlerinde ise kolaylıkla ürerler. Bu amaçla ; Thioglycolate broth, Tripticase soy agar, Heart infusion, Todd-Hewitt broth, Nutrient broth, Proteose peptonlu, tamponlu, kanlı, serumlu besiyerleri kullanılır. Asit ortamlar Streptolizinin-S'i inhibe ettiğinden hemolizinin saptanması açısından uygun değildir. Bu nedenle üretilmelerinde karbonhidratlı besiyerleri kullanılmaz (1,2,4,5,9).

Besiyerlerini zenginleştirmek için % 5-10 defibrine koyun kanı, at kanı veya at serumu kullanılabilir. At serumu ile hazırlanan nişastalı besiyerlerinde özellikle B grubu streptokoklar kırmızı pigment oluşturarak ürerler (4,8,10,11).

Streptokoklarda en iyi üreme pH : 7,3-7,6 arasında sağlanır. Pigment oluşturma özelliğine dayanan seçici-ayırıcı besiyerlerinde, pH : 7,3'ün üstünde pigment oluşumu inhibe olduğundan ortam pH'sı önemlidir (2,8,11).

Streptokoklar fakültatif anaerob, 35-37°C de, % 3-10 CO₂'li ortamlarda 13-24 saatte tipik koloniler oluşturarak ürerler (1,2,8,12,13,14,15,16,17).

Katı besiyerlerinde mukoid, şeffaf, 1-2 mm çapında, yuvarlak, yassı tipik koloniler oluştururlar (4,6,8). Sıvı besiyerlerinde üretilen streptokoklar üstte zar oluşturmaz, genellikle tüpün alt kısmında toplanma eğilimindedirler (2).

Streptokoklar % 5-10 defibrine koyun kanlı katı besiyerlerinde üretildiklerinde, hemoliz yapma yeteneklerine göre koloni etrafında değişik hemoliz zonu oluştururlar veya hiç hemoliz meydana getirmezler (1,4).

24 saatlik streptokok kültürlerinin incelenmesinde dört farklı hemoliz tipi görülebilir. Bunlar :

1- Beta hemoliz (β -hemolysis)

Koloni etrafında eritrositlerin tamamı erimiştir, cam gibi berrak, temiz bir alan görülür. Hemoliz çapı koloni çapından büyüktür.

2- Alfa hemoliz (α -hemolysis)

Koloni etrafında yeşilimsi refle veren bir alan bulunur. Eritrositler tam erimemiştir, renk değişimi vardır. Hemoliz alanında sağlam eritrositler görülebilir. Yeşil - esmerimsi renkte olan bu alanın sınırları tam belirgin değildir.

3- Alfa üstü veya geniş bölgeci alfa hemoliz

Koloni etrafındaki α -hemolizli bölgeyi tam hemolizli bir bölge takip eder. Bu tip hemoliz bir gece buzdolabında bekletilen kültürlerde daha belirgin hale gelir.

4- Gamma hemoliz (γ -hemoliz, non hemolysis)

Eritrositlerde herhangi bir değişim olmadığından hiç hemoliz zonu görülmez (1,2,4,8).

3- STREPTOKOKLARIN ÜREME VE HEMOLİZ YAPMA
ÖZELLİKLERİNE ETKİLİ FAKTÖRLER

1- Kullanılan kanın cinsi

Streptokokların üretildiği besiyerlerinde kullanılan kanın cinsi hemolizi etkiler. Enterokoklar at, tavşan ve insan kanı ile hazırlanmış katı besiyerlerinde β -hemoliz yaptıkları halde koyun kanlı agarda α -hemoliz yaparlar. Koyun

kanı kullanmanın diğerk olumlu yanı da, insanların normal boğaz florasında yer alan Haemophylus haemolyticus'un bu besiyerinde üreyememesidir. Çünkü bu mikroorganizma β -hemoliz yapar ve sıklıkla da β -hemoliz yapan streptokoklarla karıştırılabilir (1,4,5,8).

2- Besiyerinde kullanılan kanın konsantrasyonu ve besiyerinin kalınlığı.

% 5-10 defibrine koyun kanı ile hazırlanan ve 4 mm kalınlığında dökülen besiyerlerinde hemoliz en iyi şekilde gözlenebilir (2,5,6).

3- Mikroorganizmaların üretildiği ortamın atmosferi

Streptokokların hemolitik özellikleri salgıladıkları iki tip enzime bağlıdır. Bu enzimler ; Streptolizin - O ve Streptolizin - S'dir. β -hemolitik streptokoklar oksijeni azaltılmış ortamlarda daha iyi hemoliz yaparlar (2,4,5).

Bu sayılan faktörlerden başka streptokokların ürettiği besiyerlerine katılacak olan Trimethoprim-sulfometoxasole, Gentamisin, Kristal-violet, Colistin, Oxalinic asit diğerk bakterilerin üremesini inhibe ederken, streptokokların üremesini kolaylaştırır (2,5).

4- STREPTOKOKLARDA GÖZLENEN DEĞİŞİMLER

Bir streptokok suşunda çeşitli etkenler karşısında bazı değişimler oluşur. Buna bağlı olarak değişik tipte koloniler yapabilirler. Bu özellik en fazla A grubunun üyelerinde görülür. Streptokoklar Mukoid (M), Smooth (S), Rough (R) ve Mat kolonililer oluşturabilirler. Mukoid koloniler fazla

miktarda M-proteini içeren mikroorganizmalar tarafından yapılır, şeffaf koloni yapanlarda M-proteini daha az bulunur. Penisilin ve litik enzimlere maruz kalan streptokoklarda L-formları oluşur, bu formlar L-tipi koloni yaparlar. β -hemolitik şekillerden α -hemolitik ve nonhemolitik şekillere geçiş saptanmıştır (4,8).

Bunlardan başka özellikle eskimiş kültürlerde, görünüm yönünden kimi koklarda şişme ve boyanma özelliklerinde de değişiklikler görülebilir (2,3,4,8).

5- STREPTOKOKLARDA DİRENÇ

Streptokoklar kuruluğa dirençli olup irin ve proteinli maddeler içinde kuruduklarında haftalarca canlılıklarını korurlar. Genellikle 55°C de 15-20 dakika ısıtmakla ölürlər (1,3). A grubu streptokoklar 60°C de 30 dakikada öldükleri halde Enterokoklar ısıya daha dayanıklıdırlar (7).

Streptokoklar sulfonamidler ve birçok antimikrobiğe duyarlıdırlar. A grubu streptokoklar antimikrobiklere karşı zor direnç kazanırlar buna karşılık α -hemolitik Viridans streptokokların antimikrobiklere karşı direnç durumları farklılıklar gösterir (1,2).

6- STREPTOKOKLARIN TOKSİN VE ENZİMLERİ

Streptokoklar organizma üzerine etkili olan 20'den fazla madde salgırlarlar. Bu maddelerden bir kısmı hücre dışına salınırken bir kısmı da hücre içinde oluşup ancak bakteri eridikten sonra ortama salınırlar. Bunlar arasında

antijenik yapıya sahip olanlar yanında antijen özelliği göstermeyen çok sayıda ürün tespit edilmiştir (1,7).

Streptokokların en önemli toksin ve enzimleri :

a)- Eritrojenik toksinler (Pirojenik eksotoksin)

Kızıl döküntüsüne neden olan toksin olup, daha çok A grubu streptokokların bir kısmı tarafından yapılır. Eritrojenik toksini bulunan ve üst solunum yolunda enfeksiyona neden olan C ve G grubu streptokoklar da kızıl etkeni olabilirler (1,2). Bu toksin sadece lizojen bakterilerce yapılır. Antijenik yapıda ve immunolojik yönden farklı en az dört çeşit (A,B,C,D) eritrojenik toksin bilinmektedir. Bu toksine karşı organizmada özgül bir antitoksin meydana gelir. Vücutlarında antitoksin bulunan kişiler streptokok enfeksiyonlarına duyarlı oldukları halde deri döküntüleri meydana gelmez (1,2,4,8).

b)- Streptolizininler

Streptokokların çoğu, antijen yapısı ve bir kısım fizyolojik özellikleri birbirinden farklı iki tip hemolizinin salgırlarlar. Streptolizinin-O (SLO) ve Streptolizinin-S (SLS). Her iki enzim de in-vitro koşullarda eritrositleri değişik derecelerde eritebilirler (1,2,3,4,8).

1- SLO :

A,C ve G grubu streptokoklar tarafından yapılan, protein yapısında bir enzimdir. Oksijen karşısında aktivitesini kaybeder, redüklendiğinde tekrar aktif hale getirilebilir. SLO'nun eritrositler, lökositler ve doku kültürlerinde değişik tip hücreler üzerinde toksik etkili olduğu bilinmektedir.

Streptokok enfeksiyonlarını takip eden 2-3 hafta

içinde, genellikle 10-14. günlerde serumda SLO'ya karşı antikor tespit edilebilir. Tekrarlayan infeksiyonlarda daha hızlı bir anamnestic cevap alınır. Anti-SLO titresinin saptanması geçirilmiş streptokok infeksiyonunun belirlenmesi veya geçirilmekte olan infeksiyonun izlenmesinde yararlıdır. Bu titrenin 160-200 Birim/ml'den yüksek bulunması anlamlıdır. Kalp üzerine toksik etkisi olan bu enzimin virulansla ilişkili olduğu kabul edilmektedir (1,3,4,7,8).

2- SLS :

Antijenik değildir, oksijene dirençli olup etkinliğini yitirdiğinde redüksiyonla tekrar aktif hale getirilemez. Eritrositler, lökositler ve bakterilerin L-formları üzerinde eritici etki yapar. Kanlı plakta üreyen streptokok kolonilerinin etrafındaki hemoliz oluşumundan sorumludur. Bu enzimi ihtiva etmeyen streptokoklar hemoliz yapamazlar. SLS'nin in-vivo ortamdaki etkileri ise henüz açıklığa kavuşturulamamıştır (2,4,7,8).

Yapıları farklı olduğundan, söz konusu iki tip streptolizin birbirlerine karşı çapraz reaksiyon vermezler (3).

c)- Deoksiribonükleazlar (DN'ases)

A grubu streptokoklar tarafından yapılan bir enzimdir. Antijenik yönden farklı dört tip deoksiribonükleaz vardır (A,B,C,D). En yaygın olan B-tipidir. Bu tipe karşı oluşan antikorların serolojik yöntemlerle gösterilmesi streptokok infeksiyonları tanısında (özellikle deri infeksiyonları sonucunda) önemli yer tutmaktadır (2,4,7).

d)- Hiyaluronidaz

A grubu streptokokların bir çok üyeleri tarafından yapılan, antijenik bir enzimdir. Bu enzimlerden Tip-4 ve Tip-22 A grubu streptokoklarda in-vitro kuşullarda saptanabilir. Bu enzimin substratı olan hiyaluronik asit, streptokokların kapsülünü oluşturan maddedir (7,8).

e)- Streptokinaz

A,C ve G grubu streptokoklarca yapılan, antijenik yapıda bir enzimdir. Özgül antikorlarla inaktive olurlar. Antijenik yönden stabil olmadıkları için bunlara karşı oluşan antikorların gösterilmesinin pratikte önemi yoktur. Plazminojen'i aktive edip plazmin'e dönüşmesini sağlarlar. Fibrin eritici özelliğe sahip olduğundan tedavi amacıyla kullanılırlar (1,4,7).

f)- Difosfopiridin nükleotidaz

Antijenik yapıda olup A,C,G grubu streptokoklar tarafından yapılır. Üst solunum yolu ve deri infeksiyonları sonunda bu maddelere karşı antikor saptanabilir (7).

g)- Diğer enzimler

Yukarıda sayılan enzimlerden başka birçok streptokok tarafından, proteinaz (özellikle ortam pH'sının aniden düşmesi sonucu) NAD'ase, ATP'ase, fosfataz, amilaz, nöraminidaz, lipoproteinaz, kardiohepatik toksin gibi enzimler oluşturulabilir (8).

7- STREPTOKOKLARIN SINIFLANDIRILMASI

Streptokoklar çeşitli özellikleri göz önüne alınarak

değişik şekillerde sınıflandırılmışlardır (Tablo II). Bu özellikler şöyle sıralanabilir :

- a)- Koloni morfolojisi ve kanlı agardaki hemoliz tipleri,
- b)- Biyokimyasal reaksiyonları, kimyasal ve fiziksel faktörlere direnç durumları,
- c)- Gruba özgül maddelerle (hücre duvarı veya kapsül antijenlerine göre) yapılan serolojik sınıflandırma,
- d)- Ekolojik özelliklerine göre sınıflandırma (4).

Brown streptokokları kanlı agarda hemoliz özelliklerine göre; β -hemolitik streptokoklar, α -hemolitik streptokoklar ve nonhemolitik streptokoklar olarak üç grubu ayırmıştır (1,2,3).

Sherman ise ; hemoliz tipleri, üreyebildikleri ısı dereceleri, bazı biyokimyasal özellikleri ve antijenik yapılarına göre streptokokları dört gruba ayırmıştır. Bunlar :

1- Piyojen streptokoklar

Bu grupta β -hemoliz yapan streptokoklar bulunur. Lancefield sınıflamasına göre A,B,C,D,E,F,G ve H bu grupta yer alırlar.

2- Viridans streptokoklar

α -hemoliz yapar, ısıya dayanıklıdırlar. Bu grupta yer alan ve normal florada bulunan streptokoklar herhangi bir nedenle bulundukları yerden ayrılıp, diğer doku ve organlara yerleştiklerinde infeksiyonlara neden olabilirler.

TABLO II : Streptokokların Sınıflandırılması (5).

Türler	Lancefield Sınıflaması	Sherman Sınıflaması	Brown Sınıflaması (Hemoliz)	İzolasyonu
<i>S.pyogenes</i>	A	piyogen	β, γ	insan
<i>S.agalactiae</i>	B	"	β, γ	sığır, insan
<i>S.equisimilis</i>	C	"	β	insan, hayvan
<i>S.zooepidemicus</i>	C	"	β	hayvan
<i>S.equi</i>	C	"	β	at
<i>S.anginosus</i>	F, non (A,C,G) ^x	"	β	insan
<i>E.faecalis</i>	D	Enterokok	α, β, γ	memeli dışkıları
<i>E.faecium</i>	D	"	α, β, γ	"
<i>E.durans</i>	D	"	α, β, γ	"
<i>S.avium</i>	D	"	α, γ	kuş dışkıları
<i>S.bovis</i>	D	non-enterokok	α, γ	memeli dışkıları
<i>S.equinus</i>	D	"	α	at dışkıları
<i>S.mutans</i>	grubu yok	viridans	α	sığır, toprak
<i>S.intermedius</i>	Grubu yok ^{xx}	viridans	α, γ	insan
<i>S.constellatus</i>				
<i>S.sangius I</i>				
<i>S.sangius II</i>				
<i>S.salivarius</i>				
<i>S.mitis</i>				
<i>S.morbilorum</i>				
<i>S.acidominimus</i>	Grubu yok	viridans	γ	sığır

x : *S.anginosus*'un % 75'i F grup antijeni taşır. % 10 C,G veya A grubu antijeni taşıyabilirler. % 15'i grup antijenine sahip değildir.

xx: % 75'i grup antijeni taşımaz. % 25'i A-O arasında (B grubu hariç) herhangi bir grup antijeni içerebilir.

3- Lactic streptokoklar

Patojen olmadıkları kabul edilir. Sütteki laktozu laktik aside çevirirler.

4- Enterokoklar

İnsan ve hayvan bağırsağında bulunur, ısıya, alkali'ye ve safraya dayanıklıdırlar. β -hemolitik, α -hemolitik veya non-hemolitik olabilirler (1,2,5).

Diğer bir sınıflandırma Lancefield sınıflandırmasıdır. Lancefield (1928) streptokokları hücre duvarında bulunan gruba özgül ve karbonhidrat yapıdaki C-maddesinin gösterdiği antijen ayırımlarına göre sınıflandırmıştır. Streptokok infeksiyonları sırasında organizmada bu maddelere karşı anti-C maddesi meydana gelir. Bu maddelerle antijenler arasında yapılan presipitasyon reaksiyonları yardımıyla streptokoklar A'dan V'ye kadar serolojik gruplara ayrılmışlardır. Serolojik idantifikasyon yöntemiyle sadece β -hemolitik streptokoklar gruplandırılabilir. α ve nonhemolitik streptokoklar antijenik yönden yeterli ayırım göstermediklerinden gruplandırılmazlar. Bu nedenle söz konusu streptokoklar ancak biyokimyasal özellikleri, kimyasal ve fiziksel faktörlere direnç durumlarına göre gruplandırılabilirler (1,2,3,5,12).

8- STREPTOKOKLARIN ANTİJENİK YAPISI

İnsanlarda hastalık meydana getiren streptokokların çoğu β -hemoliz yaparlar. Antijenik bakımdan özellik gösterdikleri için en çok incelenen β -hemolitik streptokoklar olmuştur (1). Streptokokları gruplandırmada ve tiplendirmede

rol oynayan en önemli antijenik yapılar hücre duvarında yer alır (18). Bu maddeler :

a)- Karbonhidratlar

Streptokoklarda hücre duvarı yapısında bulunan ve gruplandırmada esas alınan amino şeker yapısında bir karbonhidrat olan C-maddesi yer alır (2). C-maddesi, streptokok kültürlerini sıcakta-HCl veya sıcakta-Formamid ile muamele ederek ya da pepsin, tripsin gibi enzimlerle eriterek elde edilebilir (2,4,5,6,8).

b)- Proteinler

A,C ve G grubu streptokoklarda M,R,T olarak isimlendirilen proteinler bulunur (2,4,8).

1- M-protein :

A,C ve G grubu streptokoklarda bulunur. Virulansla ilişkili olan bu proteine dayanılarak A grubu streptokokların 60'dan çok tipi saptanmıştır. Mukoid koloni yapanlarda fazla miktarda bulunur ve tekrarlanan pasajlarda M-proteini kaybolur. Fakat hayvan pasajları yapılarak tekrar oluşturulabilir. M-proteini bakterinin fagositer hücreler içine alınmasına engel olur. M-proteine karşı oluşan antikor koruyucu niteliktedir (2,4,6,8).

2- R-protein :

A,B,C ve G gruplarında yer alan bazı kökenlerde bulunur. Virulansla ilişkisi bilinmemektedir.

3- T-protein :

Virulansla ilgili olmayan bu protein, M-antijeni

olmayan veya henüz bilinmeyen antijenli kökenleri incelemelerde önemlidir. M ve T antijenleri birlikte bulunurlar (2).

c)- Kapsül antijeni

Hyaluronik asit yapısındaki kapsülün virulansla ilişkisi, M proteininden daha azdır (8).

d)- Nükleoproteinler

Birçok streptokokun hücre duvarında P-maddesi olarak isimlendirilen, protein yapısında maddeler bulunur (4).

9- STREPTOKOKLARIN LABORATUVAR TANISI

Streptokok infeksiyonlarında infeksiyonun yerine göre boğaz sürüntüsü, cerahat veya kan incelemeye alınır. Antikor tayini ise serumda yapılır. Lokalize kapalı süpürasyonlarda deri hafif bir antiseptikle temizlendikten sonra steril enjektörle veya bistüri ile açılarak eküvyonla materyal alınır. Sepsis, akut ve subakut bakteriyel endokarditlerde kan kültürü yapılır (1,4).

a)- Boyalı preparatlar

Süpürasyonlu bölgelerden alınan materyallerden preparat yapılarak Gram boyası ile boyandığında ; polimorf nüveli lökositler yanında streptokoklar, zincirden çok tek tek veya diplokok tarzında görülürler (1,4).

b)- Kültür yöntemleri

Streptokok infeksiyonu olabileceği düşünülen bölgelerden alınan örnekler, koyun kanlı veya at kanı ile hazırlanmış besiyerlerine ekilir. Anaerob streptokok düşünülüyorsa

tiyoglikolat besiyerine de ekim yapılmalıdır. Kanlı agar da yapılan çalkalama kültürlerin kanlı plak yöntemine göre hiç bir üstünlüğü olmadığı, % 5-10 CO₂'li ortamlarda inkübasyonun hemolizi arttırdığı bildirilmektedir (1,4,5).

c)- Hayvan Deneyleri

İnsanlarda virulan olan birçok streptokok, laboratuvar hayvanları için virulan değildir. Bu nedenle hayvan deneyleri yapmanın teşhisde değeri azdır. Streptococcus pyogenes tavşan ve farelerde hastalandırıcı, kobaylarda ise daha az virulandır (2,4).

10- STREPTOKOKLARIN SEROLOJİK İDANTİFİKASYONU

Streptokokların serolojik gruplandırılmaları ve tiplendirilmeleri ticari kitlerle yapılmaktadır. Bu kitlerle çalışılırken önce enzimatik veya kimyasal yöntemlerle antijen elde edilir. İdentifikasyon amacıyla kullanılan bu kitlerde ; streptokok antijenlerine karşı elde edilen antikörlerin latex partikülleri veya öldürülmüş stafilokoklar üzerine yapıştırılmasıyla hazırlanmış sulu sistemlerin kullanılması esastır (4,5,6,9,10,12,15,21).

Streptokokların serolojik idantifikasyonunda kullanılan yöntemler ; Presipitasyon, Floresan Antikor (FA), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve Latex agglutinasyon ile Coagglutinasyon yöntemleridir.

Antijen hazırlamak için çeşitli yöntemler tarif edilmiştir. Bunlar ; Lancefield Metodu, Fuller Metodu, Nitroz-asit yöntemi, Rantz-Randall'ın otoklav (120°C de 15 dakika)

yöntemleridir (2,5,9,10,15).

11- STREPTOKOK GRUPLARININ BİYOKİMYASAL İDANTİFİKASYONU

1- A-grubu streptokoklar (GAS)

Streptococcus pyogenes'in büyük çoğunluğu A-antijeni içerir. Hepsi β -hemoliz yaparlar (5). A grubu streptokokların diğer streptokoklardan ayrı bir özelliği Bacitracin'e duyarlı olmalarıdır (1). M-proteini içermeyen A grubu streptokoklar bacitracin'e dirençlidirler. Bacitracin duyarlılık testi ile A grubu streptokokların % 95 oranında doğru gruplandırılabilceği bildirilmektedir (7,16,19,20,21,22,23). A grubu dışında yer alan streptokoklar arasında, % 10-20 oranında bacitracin'e duyarlı suşlara rastlanılmaktadır (1,6).

A grubu streptokokların Pyroglutamil aminopeptidaz enzimleri vardır. Bu enzimin substratı olan L-pyrolidonyl beta-napthylamid, streptokokların üretildiği besiyerinin katıldığında, eğer bakteri bu substratı hidroliz etmişse, besiyerine PYR reagenti (N,N-dimetil amino cinnamaldehit) damlatıldığında kırmızı renk oluşur (5,19,20).

2- B-grubu streptokoklar (GBS)

Morfolojik görünümleri yönünden diğer streptokoklardan farklı değildirler. Çoğunluğu β -hemoliz yapar ve % 5-10 oranında non-hemolitik olabilirler. Koloni genellikle büyük, mukoid, hemoliz zonu A grubundan daha küçüktür. Sıvı besiyerlerinde A,C ve G grubu β -hemolitik streptokoklar daha uzun zincir yaptıkları halde, B grubu streptokoklar kısa zincir yaparlar (7). Lancefield gruplamasına göre B grubu antijenine

sahip tek grup *Streptococcus agalactiae*'dir (1,2,5,6). Seçici besiyerlerinde çoğunluğu (% 97) sarı, kırmızı veya turuncu pigment yaparlar. Besiyerine glukoz ilavesi pigment yapımını inhibe eder. Tavşan kanlı besiyerlerinde ilk inkübasyondan sonra bir gece buzdolabında bekletildiğinde iki dairesel hemoliz gözlenir (2,5,6,13,14,24).

B grubu streptokoklar sodium hippurati hidroliz ederler, CAMP testi pozitifdir (Christie, Atkins ve Munch-Petersen isimli araştırmacıların isimlerinin baş harfleri alınarak CAMP faktörü denilmiştir)(2,4,5).

B grubu streptokokların çoğu % 6.5 NaCl'li, az bir kısmı da % 40 safralı besiyerlerinde üreyebilirler. Esculin'i hidrolize etmez, 45°C de üreyemezler. B grubu streptokokların bir kısmı bacitracin'e duyarlıdırlar ancak SLO enzimleri yoktur (2,4,13,19).

3- C GRUBU STREPTOKOKLAR (GCS)

Koloni morfolojileri A grubu streptokoklara benzer. Bütün üyeleri (*Streptococcus dysgalactiae* dışında) β -hemoliz yaparlar (7). Sodium hippurati hidrolize etmez fakat % 40 safralı besiyerlerinde ürerler. *Streptococcus equisimilis*, SLO ve diğer hücre dışı ürünleri salgılar (5,6,7).

4- D GRUBU STREPTOKOKLAR (GDS)

Bu grupta yer alan streptokoklar genellikle diplokok veya kısa zincirler yaparak ürerler, Enterokok ve non-Enterokok olmak üzere iki grubu ayrılırlar. B, α veya nonhemoli-

tik olabilirler (5,6,7). Safralı ve % 6.5 NaCl'li besiyerlerinde ürerler, 60°C de 15 dakika ısıtmaya dayanır ve Esculin'i hidrolize ederler (5,6).

Enterokoklarda PYR testi ve % 6.5 NaCl'li besiyerlerinde üreme pozitif, non-Enterokoklarda ise negatiftir (5,19).

5- G GRUBU STREPTOKOKLAR (GGS)

G antijenine sahiptirler. Koyun kanlı agarda β -hemoliz yaparlar. SLO, streptokinaz, NAD'ase, DN'ase ve hiyaluronidaz enzimleri vardır (4,8).

Streptokokların bazı biyokimyasal özellikleri Tablo III'de gösterilmiştir.

12- STREPTOKOKLARIN YAPTIĞI HASTALIKLAR

GAS : Genellikle üst solunum yolunun bakteriyel infeksiyonlarından sorumludur. Kızıl, impetigo, menenjit, pnömoni, endokardit nedeni olabildikleri gibi sıklıkla da üst solunum yolu taşıyıcılarından izole edilebilirler (1,2,3,4,5,6,7,25, 26). GAS'ların süt ve yumurta ile hazırlanan, uygun ortamlarda saklanmayan besinler içerisinde üreme olanağı bularak streptokok farenjitlerine neden olabildikleri bildirilmiştir (27).

GBS : Son yıllarda yenidoğan sepsislerinden sıklıkla izole edilmektedir. Bu infeksiyonlarda % 50'ye varan oranlarda ölüm görülebilmektedir. Menenjit, üriner sistem infeksiyonları, yara ve fokal infeksiyonlardan sorumlu olabilirler.

TABLO III : Streptokokların Bazı Biyokimyasal Özellikleri (1,5).

Grup	Duyarlılık			Hidroliz			Esculin %6.5 NaCl %40 safralı			Optokin duyarlılık
	Hemoliz	Bacitracin	SXT	Hippurat	PYR	CAMP	Hidrolizi	Üreme	By.üreme	
A	β	+	-	-	+	-	-	-	-	-
B	β^b	- ^b	-	+	-	+	-	+ ^b	- ^b	-
B-hem.str. (A,B,D dışında)	β	- ^b	+	-	-	-	-	-	-	-
Grup D Enterokoklar	α, β, γ	-	-	- ^b	+	-	+	+	+	-
Grup D non-Enterokoklar	α, γ	-	+ ^b	-	-	-	+	-	+	-
Viridans STR.	α, γ	- ^b	+	- ^b	-	-	- ^b	-	+	-
Phomokoklar	α	+	?	-	-	-	-	-	-	+

Semboller :

SXT : Trimethoprim-sulfometoxazole, PYR : L-Pyrrolidonyl, β -naphthylamide

+ : Pozitif reaksiyon veya duyarlı, - : Negatif reaksiyonlu veya dirençli

b : Nadiren istisnalar görülebilir.

GBS'larda üst solunum yolu taşıyıcılığı olabileceği bildirilmiştir. Yenidoğan sepsisi görülen bebeklerin annelerinin vagen ve dışkı kültürlerinden B grubu streptokoklar izole edilebilmektedir (7,11,13,28).

GCS : İnsanda nadiren infeksiyon yapan bu grup üst solunum yolu taşıyıcılarından izole edilebilmektedir. Ayrıca anjin, endokardit, glomerulonefrit, üriner sistem infeksiyonları, yılançık, puerperal ateş nedeni de olabilmektedir (7).

GDS : Nadir olarak endokardit, üriner sistem infeksiyonları, menenjit, gastrointestinal sistem infeksiyonları ve intraabdominal abselerden izole edilebilmektedirler (7,29,30,31,32).

GFS : Nadiren yara, bakteriyemi ve birkaç olguda da menenjit etkeni olabileceği gösterilmiştir (7).

GGS : Üst solunum yolu taşıyıcılarından, yara ve fokal infeksiyonlar, üriner sistem ve üst solunum yolu infeksiyonlarından izole edilebildikleri bildirilmiştir (7,9,19,33).

Viridans Streptokoklar : Üst solunum yolu ve gastrointestinal sistemin normal florasında yer alırlar. Herhangi bir nedenle (diş çekimini takiben veya bir travma sonucu) kolayca kan dolaşımına katılıp endokardit ve sepsis nedeni olabilmektedirler (7,17,30,32).

13- STREPTOKOK İNFEKSİYONLARINDA BAĞIŞIKLIK

Streptokok infeksiyonlarına, vücudun doğal ve kazanılmış direnci karşı koyar. İnfeksiyon sonunda bakterinin ken-

disine veya ürünlerine karşı antikorlar meydana gelir. Bağışıklık tipe özgül ve koruyucu niteliktedir. Streptokinaz ve SLO'ya karşı oluşan antikorlar serolojik testlerle, eritrojenik toksine karşı oluşan antitoksinler ise deri testi (DICK) ile tespit edilebilir (1,2,4,7). A grubu streptokokların antijenleri ve bunlara karşı oluşan antikorlar Tablo IV'de gösterilmiştir.

Streptokok infeksiyonlarından korunmak için aşı hazırlama çalışmaları yapılmıştır. Ancak 70'den fazla serotipi bulunan streptokokların tamamının sahip olduğu anti-M antikorlarını içeren bir aşı hazırlanmasının zorluğu nedeniyle bu konudaki çalışmalar halen devam etmektedir (7). Tip M-12 aşısı ile yapılan çalışmalar aşılananların bazısında antikor cevabının geliştiğini göstermiştir. İntranazal Tip M-1 aşısının ise koruyucu değeri saptanamamıştır. Yeni doğanlarda B grubu streptokok infeksiyonlarına karşı etkili aşılar araştırılmaktadır (7,18).

TABLO IV : A Grubu Streptokokların Antijenleri ve Bunlara Karşı Oluşan Antikorlar (7).

	ANTİJEN	ANTİKOR	BAĞIŞIKLIK
HÜCRE İÇİ	M protein	Anti-M protein	Tipe özgül bağışıklık
	C karbonhidratı	Grup-A	İnfeksiyonu takiben yavaş oluşur
	Streptolizin-O	Anti-streptolizin-O	A grubu streptokok infeksiyonlarından sonra artar
HÜCRE DIŞI	Hiyaluronidaz	Anti-hiyaluronidaz	A grubu streptokok infeksiyonlarından sonra artar
	Streptokinaz	Anti-streptokinaz	A grubu streptokok infeksiyonlarından sonra artar
	Deoksiribonükleazlar A, B, C ve D	Anti-DNase	En fazla B-tipine karşı oluşur. A ve C'ye karşı oluşanlar stabil değildir
	Difosfopiridinnükleotidaz (A, C ve G serogruplarında)	Anti-DPN'ase	A grubu ile oluşan ÜSYE sonunda oluşur. Deri infeksiyonları sonunda zayıf cevap
	Proteinaz	Anti-proteinaz	A grubu streptokok infeksiyonlarını takiben zayıf cevap
	Eritrojenik toksin (3 veya 4 tip)	Anti-toksin	DİCK deri testi : Pozitif ise kızıl'a duyarlı Negatif ise kızıl'a bağışık

C - GEREÇ VE YÖNTEM

I- GEREÇLER

1- BOĞAZ KÜLTÜRLERİ

Değişik yaş gruplarından oluşan toplam 1116 hastadan rastgele boğaz kültürleri yapıldı.

2- KULLANILAN BESİYERLERİ

- a)- Trypticase Soy Broth (Difco)
- b)- Blood Agar (Oxoid)
- c)- Brain-Hearth Infusion Broth (Difco)
- d)- % 40 safralı-koyun kanlı agar
- e)- % 6.5 NaCl'li buyyon
- f)- Todd-Hewitt Besiyeri

3- SEROLOJİK İDANTİFİKASYONDA KULLANILAN ANTİSERUMLAR

- a)- Sera For Identifying The Serological Group of a Streptococcus Strain (Diagnostics Pasteur)

Group A (Code 61412)

Group B (Code 61422)

Group C (Code 61432)

Group G (Code 61472)

- b)- Strepslide (Cambridge Biomedical Limited, CB601)

Strepslide Latex, Group A (CB 602)

" " Group B (CB 603)

" " Group C (CB 604)

" " Group D (CB 605)

" " Group F (CB 606)

Strepslide Latex, Group G (CB 607)

Strepslide Extraction Enzyme Preparation (CB608)

4- KİMYASAL MADDELER

- a)- H_2O_2 (% 30'luk)
- b)- N,N-dimethyl-p-phenylendiamine monohydrochlorid
(% 1'lik)
- c)- NaCl
- d)- Safra tozu (Bile-desiccate)
- e)- Beef Extract
- f)- Na_2HPO_4
- g)- $NaHCO_3$
- h)- Bacitracin disk (Difco)
- ı)- Optokin disk (Difco)
- j)- Penicillin diski (10 U/disk)
- k)- Bactrim diski (1,25 Mg Trimethoprim - 23,75 Mg
sulfometoxasole/disk).

5- CAM ALETLER

- a)- Desikatör
- b)- Cam boncuk
- c)- Kapiller tüp
- d)- Kapiller pipet

6- ELEKTRİKLI ALETLER

- a)- Etüv (35 ve 37°C ye ayarlı)
- b)- Benmari (37°C ye ayarlı)
- c)- Otoklav

7- BOYALAR

a)- Gram Boyası

b)- 1/1000 lik Kristal - violet

8- DİĞERLERİ

0,5 cm çapında hazırlanan diskler için Waltman-

No : 1 disk kartonu kullanıldı.

II - YÖNTEM

1- BOĞAZ KÜLTÜRLERİ VE β -HEMOLİTİK STREPTOKOKLARIN İZOLASYONU

Bu çalışma ; Ekim 1988 ile Ocak 1989 tarihleri arasında F.Ü. Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapıldı. Çeşitli kliniklerden laboratuvarımıza gönderilen, değişik yaş gruplarından oluşan 1116 hastadan, kliniğine bakılmaksızın boğaz kültürleri yapıldı. Alınan boğaz kültürleri hiç bekletilmeden % 5-8 defibrine koyun kanlı, Kristal - violet'li Trypticase Soy Agar'a ekildi. 35°C de desikatörde 18-24 saat inkübe edildi (2,5,6,8). Inkübasyon sonunda ilk aşamada koloni morfolojileri, hemoliz tipleri, katalaz ve oksidaz reaksiyonları yanında Gram boyama da yapılarak β -hemolitik streptokoklar izole edildi. Saf kültür elde etmek için tek kolonilerden koyun kanlı Kristal-violet'li Trypticase Soy Agar'a ekimleri yapıp yeniden inkübasyona bırakıldı. Sero-lojik gruplandırmada ve biyokimyasal idantifikasyonda saf kültürler kullanıldı. Gruplandırma amacıyla, boğaz kültürlerinden soyutlanan 100 β -hemolitik streptokok örneği çalışma kapsamına alındı.

2- STREPTOKOKLARIN İDANTİFİKASYONU

Streptokokların idantifikasyonunda şu özelliklerinden yararlanıldı:

A)- Koloni morfolojisi ve Hemoliz tipleri :

Çalışma kapsamına sadece β -hemoliz yapan streptokoklar dahil edildi. Inkübasyon sonunda, koloni çevresinde tüm erit-

rositlerin erimiş olması, sağlam eritrosit bulunmaması β -hemoliz olarak değerlendirildi. Hemoliz tipine karar veremediğimiz koloniler, ışığı azaltılmış mikroskop altında (10 x 10) incelenerek değerlendirildi (Resim 1).

B)- Gram Boyalı preparatlar :

Kültürden hazırlanan preparatlar alevde tespit edilip Gram boyama yöntemiyle boyandı. İmmersiyon objektifi ile Gram (+), diplokok ya da zincir yapan koklar araştırıldı (Resim 2).

C)- Biyokimyasal İdentifikasyon :

İzole edilen β -hemolitik streptokokların biyokimyasal identifikasyonu için aşağıdaki testler uygulandı ;

1- Katalaz deneyi :

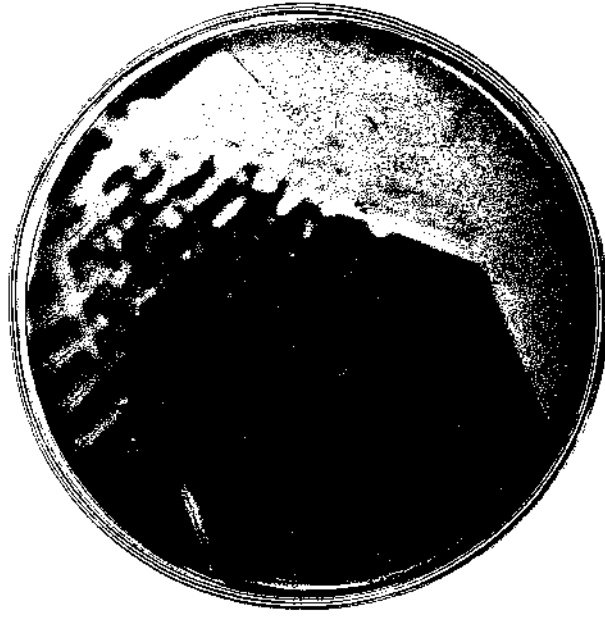
% 30'luk H_2O_2 solüsyonundan 1 damla temiz bir lam üzerine damlatıldı. Brain-Hearth infusion Broth içerisinde üretilen saf streptokok kültüründen bir damla bu solüsyona ilave edilip homojen hale getirildi. Gaz çıkışının görülmesi pozitif olarak değerlendirildi. Bu testin kontrolü katalaz olumlu Stafilokoklarla yapıldı (4,5).

2- Oksidaz deneyi :

N, N-dimethyl-p-phenylendiamine monohydrochlorid'in % 1'lik solüsyonundan koloni üzerine bir damla damlatıldı. Kolonilerde renk değişimi olması pozitif olarak değerlendirildi (2,4,5).

3- Optokin'e duyarlılık :

Koyun kanlı agara ekimi yapılan streptokokların 18-24 saat desikatörde inkübasyonu sonunda optokin diski etrafında



RESİM 1 : β -hemolitik Streptokokların Koyun Kanlı Agardaki Görünümleri.



RESİM 2 : β -hemolitik Streptokokların Gram Boyalı Preparattaki Görünümü.

herhangi bir inhibisyon zonu bulunmayışı optokin'e dirençli olarak değerlendirildi (4). (Resim 3).

4- Bacitracin'e duyarlılık :

Koyun kanlı agar streptokoklar ekildikten sonra, Bacitracin diski konularak 18-24 saat desikatörde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda değerlendirildiğinde ; Bacitracin diski etrafında herhangi bir inhibisyon zonu bulunuşu, zon çapına bakılmaksızın duyarlı (hassas) kabul edildi (2,4,6), (Resim 3).

5- Penicilin'e duyarlılık :

Bu amaçla herbirinde 10 U Penicillin bulunacak şekilde hazırlanan diskler kullanıldı. Zon çaplarına göre ; 11 mm : Dirençli, 12-21 mm Az Hassas, 22 mm den büyük ise Hassas olarak değerlendirildi (34), (Resim 3).

6- Bactrim (SXT)'e duyarlılık :

Disk başına 1,25 Mg (Mikrogram) Trimethoprim ve 23,75 Mg Sulfometoxasole düşecek şekilde hazırlanan diskler etrafındaki herhangi bir inhibisyon zonu hassas, inhibisyon zonu bulunmayışı ise dirençli olarak değerlendirildi (5), (Resim 3)

7- % 40 safralı-koyun kanlı agarda üreme :

Safra tuzunun % 10'luk eriyiği hazırlandı. Taze safra-ya karşılık gelen bu solüsyondan Tripticase Soy Agar içerisine % 40 oranında ilave edildi. Tüplere 5'er ml olarak dağıtıldı, otoklavda 121°C de 20 dakika steril edildi. Tüpler 45°C ye kadar soğuduktan sonra, her tüpe steril şartlarda 0,5 ml defibrine koyun kanı ilave edilip yatık olarak katılaştırıldı (2).

Bu besiyerine ekilen streptokoklar bir gece 35°C de aerop ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreme olup olmadığı değerlendirildi (2).

8- % 6.5 NaCl'li besiyerinde üreme :

Brain-Hearth infusion Broth içerisine % 6.5 oranında NaCl konularak hazırlandı, testin kontrolü tuz katılmadan hazırlanan Brain-Hearth infusion Broth ile yapıldı. Streptokoklar tuzlu ve tuzsuz olarak hazırlanan iki besiyerine ekildi. 37°C de 24 saat aerop inkübe edildi. Bu süre sonunda tuz ilave edilmemiş besiyerindeki üremenin yoğunluğuna göre, tuzlu besiyerinde üreyip üremediğine karar verildi (2,5,22).

9- Todd-Hewitt Besiyeri :

Todd-Hewitt besiyeri serolojik gruplandırılması yapılacak olan B-hemolitik streptokokların üretilmesi amacıyla kullanıldı. Bu besiyeri şu şekilde hazırlandı (35) :

	x	
Beef Extract	2 gr	
NaHCO ₃	0,2 gr	
Glikoz	0,2 gr	
NaCl	0,2 gr	
Na ₂ HPO ₄ .12 H ₂ O	0,1 gr	
Distile su	100 ml	

Bu besiyerine ekilen streptokoklar 37°C de bir gece aerop olarak inkübe edildi. Ertesi gün antijen eriyiği elde edilerek gruplandırmada kullanıldı.

x : Et suyu yerine et özeti kullanıldı.

10- CAMP Deneyi :

CAMP faktörü; suda eriyebilir, ısıya dayanıklı, hücre dışına salınan bir protein olup B grubu streptokoklarca yapılır. β -hemoliz yapan Stafilokoklarla birlikte sinerjik etki göstererek koyun ve sığır kanlı besiyerlerinde tipik hemoliz oluştururlar. CAMP faktörünün tayini için, koyun kanlı besiyerine β -hemoliz yapan stafilokoklar 2-3 cm genişliğinde, streptokoklar ise buna dik olarak ve birbirlerine değmeyecek biçimde ekildi. 35°C de 18-24 saat aerob olarak inkübe edildikten sonra, ok başı veya hilal şeklinde hemoliz görülmesi CAMP pozitif olarak değerlendirildi (5,22), (Resim 4).

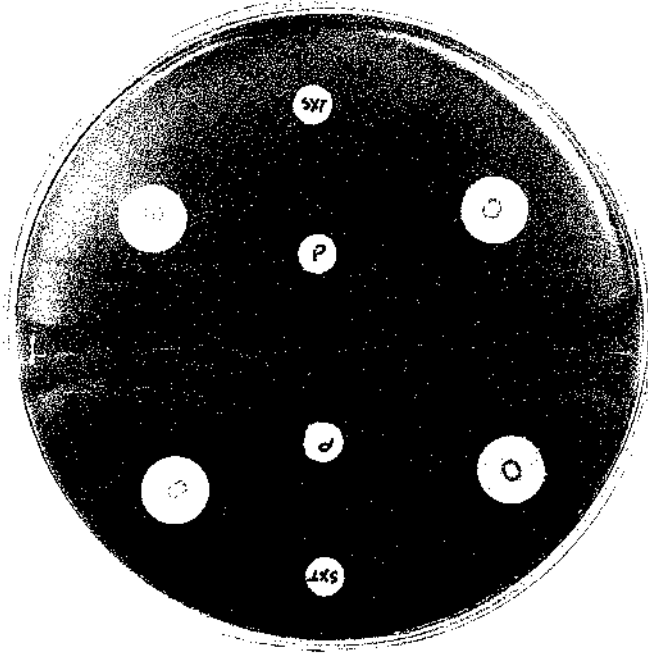
D - Serolojik İdentifikasyon :

Boğaz kültürlerinden izole edilen 100 β -hemolitik streptokok suşu Presipitasyon ve Latex Agglutinasyon yöntemleri yardımıyla gruplandırıldı.

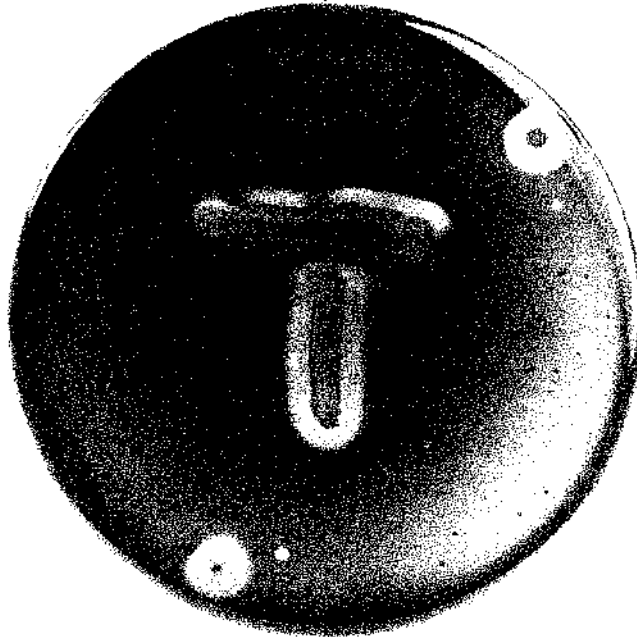
1- Presipitasyonla Gruplandırma :

a)- Antijen hazırlama :

Antijen, Lancefield'in sıcakta-HCl ile muamele yöntemine göre (Lancefield's method) hazırlandı. Bunun için 10 ml'lik Todd-Hewitt besiyerine streptokoklar ekildi, 37°C de bir gece aerob ortamda inkübe edildi. Ertesi gün kültür santrifüj edilip üst kısmı atıldı. Çöküntüye 0.5 ml 0.2 N HCl ilave edilerek kaynayan su banyosunda 10 dakika inkübasyona bırakıldı. Soğuduktan sonra içerisinde 1 damla Fenol-red (% 0.2 lik solüsyondan) bulunan, 0.5 N NaOH'dan damla damla ilave edilmek suretiyle nötralize edildi. Pembe rengin meydana geldiği



RESİM 3 : β -hemolitik Streptokokların Bazı Antimikrobiklere Duyarlılıkları (B : Bacitracin, O : Optokin, P : Penicillin, SXT : Trimethoprim-sulfometoxasole).



RESİM 4 : CAMP Testinin Koyun Kanlı Plaktaki Görünümü.

noktada NaOH damlatılmasına son verildi. Bu işlemten sonra tekrar santrifüj edilip üstteki berrak kısım presipitasyonda kullanıldı.

b)- Presipitasyon reaksiyonu :

Mikrotüpler içerisine kapiller pipet yardımıyla 0.5 cm kadar gruba özgül antiserum ve üzerine eşit miktarda hazırlanan antijen eriyiğinden konuldu. Hava kabarcığı oluşmamasına ve iki sıvının birbirine karışmamasına özen gösterildi. İki sıvının temas ettiği bölgede beyaz, yoğun bir halka görülmesi o grup için pozitif olarak değerlendirildi.

2- Latex Agglutinasyon Metodu ile Gruplandırma :

a)- Antijen hazırlama :

Bu metotda antijen enzimatik yöntemle hazırlandı. Temiz bir deney tüpü içerisine 0.4 ml hazır enzim konuldu. Sıvı besiyerinde üretilen saf streptokok kültüründen 0.1 ml alınarak bu enzime ilave edildi. 37°C de su banyosunda 10 dakika inkübe edildi. Inkübasyondan 5 dakika sonra tüpler hızla çalkalandı. Daha sonra agglutinasyon işlemine geçildi.

b)- Lam agglutinasyonu :

Özel lamalar üzerine her grup için özgül antiserumdan birer damla konuldu. Hazırlanan antijenden pastör pipeti ile birer damla antiserumlar üzerine ilave edilip, her grup ayrı bir karıştırıcı ile karıştırıldı ve bir dakika içinde oluşan agglutinasyon değerlendirildi.

D - BULGULAR

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına başvuran toplam 1116 hastadan yapılan boğaz kültürlerinden 244 (% 21,85)ünde β -hemolitik streptokok üredi. Bunlar arasından seçilen 100 β -hemolitik streptokok suşu saf kültür haline getirilerek serolojik yöntemlerle gruplandırıldı. Biyokimyasal identifikasyonda Facklam'ın önerdiği bir seri testlerin yanında Christie ve Atkins'in CAMP testi de uygulandı (4,5,6,19,20,22).

Serolojik yöntemlerle grupları tayin edilen 100 β -hemolitik streptokok içerisinde en fazla izole edilen A grubu streptokoklar (GAS) olup 51 (% 51) olguda saptandı. GAS'ları sırasıyla 21 (% 21) olgu ile B grubu streptokoklar (GBS), 10 (% 10) olgu ile G grubu streptokoklar (GGS), 9 (% 9) olgu ile C grubu streptokoklar (GCS), 3 (% 3) olgu ile D grubu streptokoklar (GDS) ve 1 (% 1) olgu ile F grubu streptokoklar (GFS) takip etmektedir. İzole edilen 5 streptokok örneğinde ise bu yöntemlerle gruplandırma yapılamadı. 100 β -hemolitik streptokok örneğinin Lancefield gruplarına dağılımı Tablo V'de gösterilmiştir.

A grubu β -hemolitik streptokokların yaş gruplarına dağılımı yapıldığında ; GAS'ların 7-12 yaş grubunda % 24 oranında ilk sırayı aldığı belirlendi. Aynı yaş grubunda GAS dışındaki β -hemolitik streptokokların oranı ise % 20 olarak saptandı (Tablo VI).

TABLO V : İzole Edilen 100 β -hemolitik Streptokok Suşunun Lancefield Gruplarına Dağılımı

Gruplar	A n (%)	B n (%)	C n (%)	D n (%)	F n (%)	G n (%)	Gruplandırılmayan n (%)	Toplam n (%)
Suş Sayısı	51 (51)	21 (21)	9 (9)	3 (3)	1 (1)	10 (10)	5 (5)	100 (100.0)

TABLO VI : A Grubu ve A Grubu Dışındaki β -hemolitik Streptokokların Yaş Gruplarına Dağılımı

Yaş Grupları	A - Grubu n (%)	A - Grubu Dışı n (%)	Toplam n (%)
0 - 6	10 (10)	15 (15)	25 (25)
7 - 12	24 (24)	20 (20)	44 (44)
13 - 18	5 (5)	1 (1)	6 (6)
19	12 (12)	13 (13)	25 (25)
Toplam	51 (51)	49 (49)	100 (100)

GAS olduğu belirlenen 51 örneğin 46 (% 90,1)'si bacitracin'e duyarlı, 4 (% 7,8)'ünde CAMP testi pozitif bulundu. GAS'lar içerisinde % 6.5 NaCl'lü ve % 40 safralı besiyerinde üreyen suş saptanamadı.

GBS'lardan 21 suşun 18 (% 85,7)'inde CAMP testi pozitif bulundu. 4 (% 19,04) olgu % 6.5 NaCl'lü besiyerinde ve 1 örnek de % 40 safralı besiyerinde üreme gösterdi. 4 (% 19,04) örneğin ise bacitracin'e duyarlı olduğu saptandı.

9 GCS'den 2 (% 22,2)'si bacitracin'e duyarlı iken sadece 1 örnek % 6.5 NaCl'lü besiyerinde üredi. CAMP testi pozitif ve aynı zamanda % 40 safralı besiyerinde üreyebilen suş saptanamadı.

Serolojik yöntemle D grubu olduğu belirlenen 3 örneğin tümü % 6.5 NaCl'lü ve % 40 safralı besiyerlerinde üreme gösterdi. D grubu streptokoklar içerisinde bacitracin'e duyarlı suş saptanamadı.

F grubu olarak idantifiye edilen 1 örnek bacitracin'e duyarlı, CAMP testi negatif, % 40 safralı ve % 6.5 NaCl'lü besiyerlerinde üreme özellikleri negatif olarak saptandı.

10 GGS'dan 4'ü bacitracin'e duyarlı, 3'ünde CAMP testi pozitif bulunurken, % 6.5 NaCl'lü ve % 40 safralı besiyerlerinde üreme gözlenmedi.

Gruplandırılan 100 β -hemolitik streptokok suşundan 59 (% 59)'u bacitracin diskine duyarlı olarak saptandı. Bunlardan 46 (% 46)'sı A grubu, 4 (% 4)'ü B grubu, 2 (% 2)'si C grubu, 4 (% 4)'ü G grubu, 1 (% 1)'i F grubu, 2 (% 2)'si de gruplandırılmayan β -hemolitik streptokoklar içerisinde.

Gruplandırılan 100 β -hemolitik streptokok suşundan 25 (% 25)'inde CAMP testi pozitif bulundu. CAMP testi pozitif 25 örneğin 18'i GBS, 4'ü GAS, 3'ü GGS'lar içerisinde saptandı. B grubu olduğu belirlenen 21 örneğin 18 (% 85,7)'inde CAMP testi pozitif olarak saptandı.

İzole edilip gruplandırılan β -hemolitik streptokokların penicillin'e karşı direnç durumları incelendiğinde ; 51 GAS suşundan 48 (% 94,1)'i penicillin'e duyarlı bulundu. 21 GBS'dan 11 (% 52,38)'i, 9 GCS'dan 6 (% 66)'sı, 10 GGS'dan 7 (% 70)'si ve gruplandırılmayan 5 örnekten 4 (% 80)'ü penicillin'e duyarlı olarak saptandı. Ayrıca idantifiye edilen 1 GFS örneğinin de penicillin'e duyarlı olduğu görüldü. Özetle ; izole edilen 100 β -hemolitik streptokok suşundan % 77'si penicillin'e hassas bulunurken % 23'ünün penicillin'e dirençli olduğu belirlendi.

İzole edilen 100 β -hemolitik streptokok suşunun SXT (Trimethoprim-sulfometoxasole)'e duyarlılıkları belirlendi. Bacitracin diski ile birlikte değerlendirildiğinde :

Bacitracin	SXT
H	D ise GAS,
D	D ise GBS,
D	H ise non-A ve B,
H	H ise A grubu olup olmadığı serolojik yöntemlerle belirlenmelidir (5,20).

Bu bilgiler doğrultusunda ; 51 GAS'dan 34 (% 76,47)'ü bacitracin'e hassas ve aynı zamanda SXT'ye dirençli olarak saptandı.

21 GBS'dan 15 (% 71,42)'inin ise hem bacitracin'e hem

de SXT'ye dirençli olduğu saptandı.

A ve B grubu dışındaki 28 streptokok örneğinden 18 (% 64,28)'inde ise bacitracin ve aynı zamanda SXT hassas olarak saptandı. Serolojik yöntemlerle gruplandırılan 100 β -hemolitik streptokok suşunun bazı biyokimyasal özellikleri Tablo VII'de gösterilmiştir.

İncelemeye alınan 1116 boğaz kültüründe üreyen β -hemolitik streptokokların eşeye göre dağılımı Tablo VIII'de gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel anlamlılık testi ile iki eşey arasında β -hemolitik streptokok üremesi açısından anlamlı bir fark saptanamadı. ($\chi^2 = 0,014$ $df = 1$ $P > 0,05$).

β -hemolitik streptokokların yaş gruplarına göre dağılımı yapıldığında, 7-12 yaş grubundan alınan 317 boğaz kültüründen 104 (% 9,31)'ünde β -hemolitik streptokok üretildi. 0-6 yaş grubundan alınan 344 boğaz kültüründen 60 (% 5,37)'inde 13-18 yaş grubunda 89 boğaz kültüründen 20 (% 1,79)'sinde, 19 ve daha ileri yaş grubunda 366 boğaz kültüründen 60 (% 5,37)'inde β -hemolitik streptokok üretildi.

0-6 ile 7-12 yaş grubu arasında β -hemolitik streptokok üremesi açısından istatistiksel anlamda bir fark olup olmadığı araştırıldı. Yapılan test sonucu ; iki yaş grubu arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptandı ($\chi^2 = 20,86$ $df = 1$ $p < 0,05$).

0-6 ile 13-18 yaş grubu arasında β -hemolitik streptokok üremesi yönünden istatistiksel farkın anlamlı olmadığı saptandı ($\chi^2 = 1,17$ $df = 1$ $p > 0,05$).

TABLO VII : İzole Edilen 100 β -Hemolitik Streptokok Suşunun Bazı Biyokimyasal Özellikleri

Gruplar	Suş sayısı n (%)	Racitracin		Penicillin		SXT		CAMP		% 6.5 NaCl'de Üreme		% 40 safrada Üreme	
		H	D	H	D	H	D	+	-	+	-	+	-
A	51	46	5	48	3	12	39	4	47	-	51	-	51
B	21	4	17	11	10	6	15	18	3	4	17	1	20
C	9	2	7	6	3	8	1	-	9	1	8	-	9
D	3	-	3	-	3	3	-	-	3	3	-	3	-
F	1	1	-	1	-	1	-	-	1	-	1	-	1
G	10	4	6	7	3	10	-	3	7	-	10	-	10
Gruplandı- rılmayan	5	2	3	4	1	5	-	-	5	-	5	-	5
Toplam	100	59	41	77	23	45	55	25	75	4	96	4	96

Semboller :

SXT : Trimethoprim-sulfometoxazole, H : Hassas veya duyarlı, D : Duyarsız veya Dirençli,

+ : Test veya Üreme olumlu, - : Test veya Üreme olumsuz.

Bütün değerler n (%) olarak verilmiştir.

TABLO VIII : β -Hemolitik Streptokokların Eşeye Göre Dağılımı

Eşey	β -Hemolitik Streptokok Üreyen		β -Hemolitik Streptokok Üremeyen		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Bayan	112	10,03	399	35,78	511	45,81
Erkek	132	11,82	473	42,38	605	54,2
Toplam	244	21,85	872	78,13	1116	100,0

0-6 yaş grubu ile 19 ve daha ileri yaş grupları karşılaştırıldığında bu iki grup arasında β -hemolitik streptokok üremesi yönünden istatistiksel farkın anlamlı olmadığı saptandı ($\chi^2 = 0,122$ df = 1 $p > 0,05$).

7-12 ve 13-18 yaş grupları arasında β -hemolitik streptokok üremesi yönünden istatistiksel farkın anlamlı olmadığı belirlendi ($\chi^2 = 3,48$ df = 1 $p > 0,05$).

13-18 yaş grubu ile 19 ve daha ileri yaş grupları karşılaştırıldığında istatistiksel farkın anlamlı olmadığı saptandı ($\chi^2 = 1,81$ df = 1 $p > 0,05$).

7-12 ve 19 dan büyük yaş grupları arasında χ^2 analizi yapılarak bu iki grup arasında β -hemolitik streptokok üremesi açısından istatistiksel farkın anlamlı olduğu belirlendi ($\chi^2 = 25,07$ df = 1 $p < 0,05$).

7-12 yaş grubu ile diğer gruplar arasında β -hemolitik streptokok üremesi yönünden istatistiksel farkın anlamlı olduğu saptandı ($\chi^2 = 310,24$ df = 1 $p < 0,05$).

β -hemolitik streptokokların yaş gruplarına göre dağılımı Tablo IX'da gösterilmiştir.

TABLO IX : β -Hemolitik Streptokokların Yaş Gruplarına Dağılımı

Yaş Grupları	Olgular	β -Hemolitik Streptokok Üreyen	
		n	%
0 - 6	344	60	5,37
7 - 12	317	104	9,31
13 - 18	89	20	1,79
19	366	60	5,37
Toplam	1116	244	21,85

E - TARTIŞMA

Streptokokların oluşturduğu infeksiyonlar 1000 yılı aşkın bir süredir bilinmesine karşın etken izolasyonu ve infeksiyonlarının klinik formlarının belirlenmesi ancak 19. yüzyılda mümkün olmuştur. Streptokokların yaptığı başlıca hastalıklar ; anjin, kızıl ve deri infeksiyonları (impetigo, yılanlık) dır. Bunun yanında streptokoklar süpüratif infeksiyonlara (septisemi, endokardit) da neden olmaktadır. Infeksiyonları takiben ortaya çıkan romatizmal ateş ve akut glomerulonefrit önemli bir sağlık sorunudur (2,4,7,18).

İnsanlarda en fazla infeksiyona neden olan A grubu β -hemolitik streptokoklardır. Son yıllarda, ABD'de yapılan çalışmalarda B grubu streptokokların yenidoğan sepsislerinden sıklıkla izole edildiği bildirilmektedir. C ve G grubu streptokokların özellikle ılıman bölgelerde taşıyıcılık şeklinde görülebildiği ve nadiren streptokok infeksiyonu yapabileceği bildirilmektedir. Yine bazı ülkelerde C grubu streptokokların farenjit nedeni olabileceği gösterilmiştir (7).

Streptokokların yaygınlığı bölgelere, mevsimlere, yaşa ve hatta sosyoekonomik faktörlere bağlı olarak değişiklikler göstermektedir (7,25,26).

Dünyada yapılmış olan çalışmalarda β -hemolitik streptokoklar en yüksek oranda (% 83.5) 1963-1964 yılları arasında saptanmıştır. Bu yıllar arasında GAS'ların oranı ise % 74,6 olarak bildirilmiştir. β -hemolitik streptokoklar 1970-1971 yılları arasında ve % 33 oranında en düşük düzeyde sap-

tanmış olup, GAS'ların oranı ise % 27 olarak bildirilmiştir (7,25,26,36,38).

Joklik ve Smith sağlıklı bireylerin boğazında % 8-10 oranında β -hemolitik streptokok bulunabileceğini bildirmektedirler (8).

Redd ve arkadaşları Arizona'da yaptıkları bir çalışmada yaşları 1-78 arasında değişen 286 akut farenjitli hastanın 86 (% 30,1) sinda β -hemolitik streptokok izole etmişlerdir(37).

Hoffmann Danimarka'da faringotonsilitli 424 hastadan yaptığı boğaz kültürlerinin 159 (% 38) unda β -hemolitik streptokok izole ettiğini bildirmektedir (16).

Yurdumuzda da buna benzer çalışmalar yapılmıştır. Bilgel ve arkadaşları Bursa'da bir öğretim yılı boyunca 6 - 13 yaş grubunda 2050 öğrencide β -hemolitik streptokok üreme oranını % 46 olarak saptamıştır. Bu çalışmada, koyun kanı ile hazırlanmış besiyerinde üretilen β -hemolitik streptokoklar sadece hemoliz özelliklerine göre değerlendirilmiştir (36).

Orak ve arkadaşları Elazığ'da bir anaokulundaki 33 çocuktan (2-4 yaş) alınan boğaz kültürlerinde β -hemolitik streptokok üreme oranını % 37, daha sonra yaptıkları bir çalışmada da % 53 olarak bildirmişlerdir (38,39).

Yaptığımız bu çalışmada değişik yaş gruplarından(0-78) alınan boğaz kültürlerinde β -hemolitik streptokok üreme oranını % 21,85 olarak saptadık. Bulduğumuz bu oran yurt içinde ve yurt dışında yapılmış olan çalışmalarda bulunan oranlardan düşük çıkmıştır. Bunun nedenlerini şu şekilde açıklayabiliriz:

1- Çalışmamızda üst solunum yolu infeksiyonu bulunan hastalar yanında normal bireylerden de boğaz kültürleri alındı. Sadece üst solunum yolu infeksiyonu olan hastalardan örnek alınmış olsaydı, şüphesiz farklı bulgular elde edilebilirdi.

2- Boğaz kültürleri alınan bireylerin yaşları 0 - 78 arasında değişmektedir. Eğer boğaz kültür örnekleri belirli bir yaş grubundan örneğin; 6-13 yaş grubu gibi özellikle β -hemolitik streptokok infeksiyonlarının ve taşıyıcılığının sık görüldüğü bir toplumdaki alınmış olsaydı, bulduğumuz oran daha yüksek çıkabilirdi.

Yapılan çalışmalarda β -hemolitik streptokokların yüksek oranda bulunmasının örneklerin toplumdaki rastgele değil de belirli bir yaş grubu ya da üst solunum yolu infeksiyonu bulunan hastalardan alınmış olmasıyla ilgili olduğu kanısındayız.

Streptokokların üretildiği ortamın atmosferi, besiyerinde kullanılan kanın cinsi, konsantrasyonu ve besiyerinin kalınlığı bu mikroorganizmaların üreme ve hemoliz yapma özellikleri üzerinde etkili olmaktadır (1,4,5,8).

İnsan kanı ile hazırlanan besiyerlerinde β -hemoliz yapan bazı kolonilerin koyun kanlı agarda α -hemoliz'e dönüştüğü bildirilmektedir (1,4,5,6,8,42).

Öztürk ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada insan kanı ile hazırlanmış besiyerlerinde β -hemoliz yapan 23 streptokok örneğini koyun kanlı agara pasaj yaptıklarında ancak 14 (% 60,8) ünün β -hemoliz yaptığını gözlemişlerdir. İnsan kanı ile hazırlanan besiyerlerinde % 44'lük bir yanılma payı

bulduklarını vurgulamışlardır (42).

Çalışmamız sırasında zorunlu durumlarda insan kanı ile hazırlanmış besiyerlerine ekimlerimizde, β -hemoliz yapan bazı kolonilerden koyun kanlı agara pasaj yaptığımızda α -hemolize dönüştüğünü saptadık. İnsan kanında antistreptolizinler bulunabileceğinden, kan bankalarından temin edilen kanlar ise antikoagulan madde içerdiğinden dolayı uygun değildirler. Çünkü bu maddeler mikroorganizmanın hemoliz özelliğini olumsuz yönde etkilerler (1,4,5,8).

Bu nedenle ; β -hemolitik streptokokların hemoliz özelliklerinin belirlenebilmesi için mutlaka defibrine koyun kanı ile ve taze hazırlanmış besiyerlerinin rutin olarak kullanılması gerektiğine inanıyoruz.

Streptokokların üreme ve hemoliz özelliği üzerinde etkili faktörlerden birisi de mikroorganizmanın üretildiği ortamın atmosferidir. β -hemolitik streptokokların, oksijeni azaltılmış veya anaerop ortamlarda daha iyi hemoliz yaptıkları bildirilmektedir. Anaerop ortamlarda inkübe edilen boğaz kültürlerinde β -hemolitik streptokok izolasyonunun artacağını ileri süren araştırmacılar bunun nedenlerini şöyle açıklamaktadırlar :

1- Anaerop ortam Streptolizin-O'nun inaktivasyonunu önler,

2- Anaerop ortamda normal florada yer alan aerob bakterilerin üremesi inhibe edilir ve bu mikroorganizmalar Peroksidaz enzimi oluşturamazlar. Çünkü Peroksidaz, A grubu streptokokların üremesini olumsuz yönde etkileyen bir enzimdir(4,5).

Bu nedenle streptokoklar aneerop veya % 5-10 CO₂'li ortamlarda ve 35°C de üretilmelidirler (5,6).

Streptokokların üretildiği besiyerine katılacak olan bazı boyalar ve antimikrobikler diğer bakterilerin üremesini inhibe ederken streptokokların üremesini kolaylaştırır (2,5).

Çalışmamızda defibrine koyun kanı ile hazırlanmış Kristal-violet'li besiyerleri (1/1000'lik solüsyondan 2 ml/L besiyerine) kullanıldı (2,5). Besiyerinin kalınlığının 4 mm olmasına özen gösterildi. Bu besiyerine ekilen ve 35°C de, desikatörde inkübe edilen boğaz kültürlerinde, bazı örneklerde hemen hemen saf kültür halinde β -hemolitik streptokok ürettiği gözlemlendi.

Yurt içinde ve yurt dışında yapılan çalışmalarda ; Ginsburg, Levin, Bilgel ve Yavuz β -hemolitik streptokok üremesinin eşey farkı göstermediğini bildirmektedirler (25,26, 36,43). Biz bu çalışmamızda β -hemolitik streptokok üremesi açısından eşeyler arasında istatistiksel farkın anlamlı olmadığını saptadık ($\chi^2 = 0,014$ df = 1 $p > 0,05$) (44).

β -hemolitik streptokokların yaş gruplarına dağılımı yapıldığında 7-12 yaş grubu ile bu yaş grubu dışındaki gruplarda β -hemolitik streptokok üremesi açısından istatistiksel farkın anlamlı olduğu belirlendi ($\chi^2 = 310,24$ df = 1 $p < 0,05$). Bulduğumuz sonuçlar diğer araştırmacıların bulguları ile uyum göstermektedir (25,26).

Hoffmann, Danimarka'da boğazdan izole ettiği 159 β -hemolitik streptokok örneğini bacitracin diski yardımıyla gruplandırarak 125 (% 79) inin A grubu β -hemolitik strepto-

kok olduğunu bildirmiştir. Hoffmann bu çalışmada, bacitracin testinin duyarlılığını arttıran Streptocult besiyerini kullanmıştır (16).

Ginsburg ve arkadaşları Amerika'da, 24 aylık bir süre içerisinde 3 aylık - 14 yaş grubundan 1362 çocukta A grubu β -hemolitik streptokok oranını % 3,3 oranında saptamışlardır. Araştırmacılar gruplandırmada, bacitracin diski yanında Lancefield'in presipitasyon yöntemini de kullanmışlardır (27).

Hadfield ve arkadaşları İngiltere'de yaptıkları bir çalışmada 646 farenjit'li hastada A grubu β -hemolitik streptokokları % 15,6 oranında, A grubu dışındaki β -hemolitik streptokokların oranını ise % 8,7 olarak saptamışlardır (40).

Wolinsky ve arkadaşları Ohio'da yaptıkları bir çalışmada streptokok farenjiti şüpheli 300 çocuktan 39 (% 13) unda A grubu β -hemolitik streptokok izole etmişlerdir (41).

Öztürk ve arkadaşları boğazdan izole edilen ve koyun kanlı besiyerinde β -hemoliz yapan 14 streptokok suşunu presipitasyon yöntemiyle gruplandırarak 9 GAS, 4 GFS ve 1 GDS izole etmişlerdir (42).

Yavuz Kayseri'de ilk ve ortadereceli okullarda 630 öğrencide yaptığı çalışmada GAS oranını % 3,01 olarak saptamıştır. Bu çalışmada streptokoklar, hemoliz özellikleri ve bacitracin'e duyarlılık testleriyle gruplandırılmıştır (43).

Ayhan ve arkadaşları Ankara'da üst solunum yolu enfeksiyonu bulunan 0-16 yaş grubundan 46 hastada GAS oranını % 78,3, 17 ve daha ileri yaş grubundan 31 hastada ise GAS oranını % 54,8 olarak saptamışlardır (33).

Çalışmamızda boğaz kültürlerinden soyutladığımız 100 β -hemolitik streptokok örneğini Presipitasyon ve Latex agglutinasyon yöntemleriyle gruplandırdık. GAS oranını % 51, GAS dışındaki β -hemolitik streptokokların oranını ise % 49 olarak bulduk. GAS'ları en yüksek oranda 7-12 yaş grubunda ve % 24 oranında saptadık (Tablo IX). Bulduğumuz bu oranlar boğazda yerleşen β -hemolitik streptokoklar arasında ilk sırayı GAS (% 51) ların aldığını, bunun yanında A grubu dışındaki streptokokların (% 49) önemli oranda izole edilebileceğini göstermektedir.

Bacitracin diski ile GAS'larda % 2-7 oranında yalancı negatiflik, A grubu dışındaki streptokoklarda ise % 5-20 arasında yalancı pozitiflik saptanabileceği bildirilmektedir (6, 19). Yapılan diğer çalışmalarda GAS'ların bacitracin'e duyarlılığının % 54-99,5 arasında değişebileceğini gösteren yayınlar da vardır (5,6,19,22).

Çalışmamızda boğaz kültürlerinden izole ettiğimiz β -hemolitik streptokokların bacitracin'e duyarlılıkları incelendiğinde ; GAS'ların % 90,1'ini gruplandırırken, % 9,8 oranında yalancı negatif sonuç elde ettik. Bu bulgulara dayanarak sadece bacitracin diski yardımıyla ve % 99 ihtimalle, GAS'ların %79-100 oranında doğru olarak gruplandırılabilceğini saptadık $[P (0.795 \leq \pi \leq 1.009) = 0.99]$ (45). Bunun yanında A grubu dışındaki β -hemolitik streptokoklardan % 22'sinin bacitracin'e hassas olduğunu saptadık. Gruplamada bacitracin diskinin güvenilirliği 100 β -hemolitik streptokok örneğine yansıtıldığında ; GAS'ların bacitracin diski yardımıyla

% 99 güvenle, ancak % 44-83 oranında doğru gruplandırılabilceğini söyleyebiliriz $[P (0,443 \leq \bar{A}_1, \bar{A}_2 \leq 0,831) = 0,99]$. Bu nedenlerle sadece bacitracin'e duyarlılık özelliklerine göre A grubu ve A grubu dışındaki streptokokların ayırımını yapmanın sağlıklı bir yöntem olamayacağı açıktır.

Ayhan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada β -hemolitik streptokokları serolojik yöntemler yanında bazı biyokimyasal testleri de kullanarak gruplandırmışlardır. Bu çalışmada CAMP testini GBS'larda % 100 oranında pozitif, A grubunda ise % 13 oranında pozitif saptamışlardır (22).

Facklam yaptığı bir çalışmada 141 GBS'dan 2'sinde CAMP (-), daha sonra yaptığı bir çalışmada ise 46 örnekten 1'inde CAMP (-) bulunduğunu rapor etmektedir (20).

Biz de CAMP testi uyguladığımız 21 GBS'dan 18 (% 85,7) inde CAMP (+), 3 (% 14,28)ünde ise CAMP (-) olarak saptadık. GBS dışındaki β -hemolitik streptokoklardan 7 (% 28) sinde CAMP testi pozitif bulundu. CAMP testi ile GBS'ların % 99 güvenle ve % 64-100 oranında doğru olarak gruplandırılabilceği söylenebilir $[P (0,644 \leq \bar{A}_1, \bar{A}_2 \leq 1,076) = 0,99]$.

D grubu streptokoklar % 6.5 NaCl'lü ve % 40 safralı besiyerinde ürerler, bu iki özellikleri ile doğru olarak gruplandırılabilirler (2,4,5,19,20,29). Biz de serolojik yöntemlerle gruplandırdığımız 3 GDS örneğinin % 6.5 NaCl'lü ve % 40 safralı besiyerlerinde ürediğini saptadık. Bulduğumuz sonuçlar diğer araştırmacıların bulgularını desteklemektedir.

Bacitracin ve SXT disklerinin birlikte değerlendirilmesiyle β -hemolitik streptokokların kabaca gruplandırılabil-

ceği öne sürülmektedir (5,20). Bu yöntemi kullanarak 51 GAS' dan 34 (% 66) ünün bacitracin'e ^{hassas} ve aynı zamanda SXT'e dirençli olduğunu bulduk. Bu testin güvenilirliğini hesapladığımızda; bacitracin ve SXT disklerini birlikte kullanılarak GAS'ların % 99 güvenle, ancak % 49-83 oranında doğru gruplandırılabilceğini saptadık $[P(0,49 \leq \pi \leq 0,835) = 0,99]$.

Aynı yöntemi kullanarak 21 GBS'dan 15 (% 71) inin bacitracin ve aynı zamanda SXT'e dirençli olduğunu saptadık. Bacitracin ve SXT disklerini birlikte kullanarak GBS'ların % 99 güvenle ve % 42-99 oranında doğru olarak gruplandırılabilceğini belirledik $[P(0,42 \leq \pi \leq 0,99) = 0,99]$.

A ve B grubu dışındaki 28 streptokok örneğinden 18 (% 64,28) inde ise bacitracin ve SXT hassas olarak saptandı.

Çalışmamızda uyguladığımız biyokimyasal testler (bacitracin ve SXT'e duyarlılık, CAMP faktör tayini ile % 6.5 NaCl' lü ve % 40 safralı besiyerinde üreme özellikleri) yardımıyla sadece D grubu β -hemolitik streptokokları doğru olarak gruplandırabildik. Diğer gruplarda ise değişik oranlarda doğru gruplandırma yapılabileceğini saptadık.

Bulduğumuz bu oranlardan anlaşılacağı gibi sadece biyokimyasal test sonuçlarına göre β -hemolitik streptokokları gruplandırmanın yeterli olamayacağı açıkça görülmektedir. Çalışmamızda uyguladığımız testler yanında PYR ve sodium hippurat hidrolizi testlerini de uygulamış olsaydık daha olumlu sonuçlar elde edebilirdik. Çünkü PYR hidrolizi GAS'larda pozitifdir ve yapılan çalışmalarda bu testin, bacitracin duyarlılık testinden daha spesifik olduğu bildirilmektedir (5,20).

PYR testi Enterokoklarda da pozitifdir fakat GAS'lardan % 6.5 NaCl'lü besiyerinde üreme özellikleri ile ayırdedilebilir (5, 19,20). Sodium hippurat hidrolizinin GBS'lar için spesifik bir test olduğu ve bu test yardımıyla,% 100 oranında B grubu streptokokların doğru gruplandırılabilceğı bildirilmektedir (5,19,22).

Serolojik yöntemlerle gruplandırdığımız 100 β -hemolitik streptokok suşunun penicillin'e direnç durumları incelendiğinde ; % 77'sinin penicillin'e duyarlı, % 23'ün ise dirençli olduğu belirlendi. GAS'lar içerisinde % 5-10 oranında penicillin'e dirençli suşlar bulunabileceğı bildirilmektedir (7). Çalışmamızda GAS'ların % 94.1, oranında penicillin'e duyarlı % 5,9 oranında ise dirençli olduğunu saptadık. Fakat GAS'lar üst solunum yollarında yerleşen ve enfeksiyona neden olan tek serolojik grup değildir. Boğazdan izole ettiğimiz A grubu dışındaki streptokoklardan % 40,8'inin penicillin'e dirençli olduğunu saptadık. Bu nedenle klinik örneklerden izole edilen β -hemolitik streptokokların gruplandırılması ve antimikrobiklere hassasiyet testlerinin yapılması gerektiğine inanıyoruz. Ancak bu şekilde enfeksiyon etkeni belirlenebilir ve etkili bir tedavi sağlanabilir.

β -hemolitik streptokokları gruplandırmak amacıyla iki serolojik yöntem kullandık. Bunlardan birisi Presipitasyon yöntemidir. Bu yöntem hem zaman alıcı hem de çalışan kişinin özel becerisini gerekmektedir. Karışık kültürlerle çalışıldığında ve hazırlanan antijen eriyiğinin nötralizasyonu sırasında, pH'nın nötralizasyon noktasının altında veya üstünde olması

halinde çapraz reaksiyonlar gözlenmektedir (9,22,46). Bu yöntemle gruplandırma yaparken en fazla A,C ve G grupları arasında çapraz reaksiyonlar gözledik. Söz konusu durumlarda test ve işlemler tekrar edildi. Presipitasyon yöntemi ile 5 örnek gruplandırılmadı. Bunun nedenleri şöyle açıklanabilir :

1- Presipitasyon yönteminde kullandığımız kit sadece A,B,C ve G antiserumlarını içermektedir. Gruplandıramadığımız 5 örnek bu 4 grubun dışında herhangi bir gruba ait olabilir.

2- Antijen hazırlamak için aldığımız streptokok miktarı az gelmiş veya hiç örnek alınamadığından gruplandırmada test negatif çıkmış olabilir.

3- Antijen eriyiği hazırlarken ya da nötralizasyon sırasında yapılabilecek muhtemel bir hatadan dolayı bu 5. örneğin gruplandırılmadığı kanısındayız.

Gruplandırmada kullandığımız diğer bir yöntem Latex agglutinasyon yöntemidir. Bu yöntemle gruplandırma yaparken çapraz reaksiyon gözlenmedi. İzole ettiğimiz bütün örnekleri gruplandırabildik. Bu kit A,B,C,D,F ve G grubu gibi insanlarda en fazla enfeksiyona neden olan grup antiserumlarını içermektedir. Yurt dışında yapılan birçok çalışmada Latex, Coagglutination gibi lam agglutinasyon yöntemleri, presipitasyon ve Counterimmunoelectrophoresis (CIE) yöntemleri ile karşılaştırılarak birbirlerine üstünlükleri tartışılmıştır. Lam agglutinasyon yöntemleri hem çalışma kolaylığı hem de kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle presipitasyon yöntemine bir alternatif olarak gösterilmektedir (9,12,15,21,29,40,47,48).

β -hemolitik streptokokları . gruplandırmada kullandığımız lam agglutinasyon yönteminin bir olumlu yanı da ; ilk ekimden sonra tek düşen kolonilerden 2-3 koloni alınıp gruplandırma yapılabilmektedir.(47). Biz de bir kaç örnekte bu yöntemi denedik ve olumlu sonuç aldık. Ancak, kitlerimizi tasarruflu kullanmak amacıyla, ilk ekimden sonra streptokokları sıvı besiyerinde üretilip daha sonra gruplandırmayı uygun bulduk. Fakat bu şekilde çalışıldığında sonuca ulaşmanın 6 - 8 saat gecikeceğini de belirtmeliyiz.

Genel özellikleri ile ele alındığında, gerek izolasyon gerekse gruplandırma çalışmalarımızın sonuçlarının literatürle uyumlu olduğu görülmektedir.

F - SONUÇ

Boğaz kültürlerinden soyutlanan β -hemolitik streptokokların idantifikasyonu ve gruplandırılmaları çalışmalarında saptanan bulguların değerlendirilmesinden varılan sonuçlar şunlardır :

1- Yaşları 0-78 arasında değişen toplam 1116 kişiden üst solunum yolu infeksiyonu bulunup bulunmadığı dikkate alınmadan yapılan boğaz kültürlerinde β -hemolitik streptokok üreme oranı % 21,85 olarak saptandı. Bu oran yöremizde β -hemolitik streptokokların yaygın olduğunu göstermektedir.

2- Eşeyler arasında β -hemolitik streptokok üremesi açısından istatistiksel farkın anlamlı olmadığı belirlendi ($\chi^2 = 0,014$ df = 1 P > 0,05).

3- 7-12 yaş grubu ile diğer yaş grupları karşılaştırıldığında, bu iki grup arasında β -hemolitik streptokok üremesi yönünden istatistiksel farkın anlamlı olduğu görüldü ($\chi^2 = 310,24$ df = 1 P < 0,05).

4- İzole edilen 100 β -hemolitik streptokok suşunun serolojik yöntemlerle gruplandırılmasında ; GAS'ların oranı % 51, GAS dışındaki β -hemolitik streptokokların oranı ise % 49 olarak saptandı. Boğaz infeksiyonlarında tek etken olarak kabul edilen GAS'lar kadar diğer grupların da etken olabileceği kanısına varıldı.

5- Çalışmamızda uyguladığımız biyokimyasal testler yardımıyla β -hemolitik streptokokların hangi oranlarda doğru

olarak gruplandırılabilceği araştırıldığında; biyokimyasal yöntemlerin idantifikasyon amacıyla tek başına kullanılamıyacağı ancak gruplandırmada serolojik yöntemlerden sonra baş vurulacak ikinci bir yöntem olabileceği belirlendi.

6- Penicillin'e dirençli suşların oranı GAS'larda % 5,9, GAS dışındaki β -hemolitik streptokoklarda ise % 40,8 olarak saptandı. Bulgulardan da anlaşılacağı gibi etkin bir tedavinin ancak izole edilen β -hemolitik streptokoklarda grup tayini ve hassasiyet testlerinin yapılması ile mümkün olabileceğine inanıyoruz.

G - ÖZET

F.Ü. Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına başvuran değişik yaş gruplarından (0-78), toplam 1116 hastadan üst solunum yolu infeksiyonu bulunup bulunmadığına bakılmaksızın boğaz kültürleri alındı. Alınan kültürler hiç bekletilmeden % 5-10 defibrine koyun kanı ile hazırlanmış ve içinde Kristal-violet bulunan besiyerlerine ekildi. Desikatörde, 35°C de bir gece inkübe edildi. Inkübasyon süresi bitiminde ilk aşamada hemoliz özellikleri, koloni morfolojileri, katalaz ve oksidaz reaksiyonları yanında Gram boyalı preparatlar da yapılarak β -hemolitik streptokoklar teşhis edildi. 1116 örneğin 244 (% 21,85) ünde B-hemolitik streptokok üretildi.

İzole edilen β -hemolitik streptokoklardan 100 örnek saf kültür haline getirilerek serolojik yöntemlerle gruplandırıldı. Gruplandırma sonucu olguların 51 (% 51) inde GAS, 21 (% 21) inde GBS, 10 (% 10) unda GGS, 9 (% 9) unda GCS, 3 (% 3) ünde GDS ve 1 (% 1) olguda ise GFS saptandı. İzole edilen 5 β -hemolitik streptokok suşunda ise gruplandırma yapılamadı.

100 β -hemolitik streptokok suşunun bacitracin, optokin, penicillin, trimethoprim-sulfometoxasole'e duyarlılıkları, CAMP testi, % 6.5 NaCl'li ve % 40 safralı besiyerlerinde üreme özellikleri araştırıldı.

β -hemolitik streptokokların yaş ve eşeye dağılımı incelenerek, istatistiksel anlamlılıkları değerlendirildi.

H - KAYNAKLAR

- 1- Bilgehan, H. : Klinik Mikrobiyoloji. 3. Baskı, 249 - 277, İzmir, 1987.
- 2- Unat, E.K. : Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi. 2. Baskı, Dergah Tıp Yayınları No: 1, 445-479, İstanbul, 1986.
- 3- Onul, B. : İnfeksiyon Hastalıkları. 4. Baskı, 460 - 464, Ankara, 1971.
- 4- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. : Review of Medical Microbiology, Seventeenth Edition, 223-229, U.S.A. 1987.
- 5- Howard, B.J., Klaas, J. Rubin, S.J.: Klinikal and Pathogenic Microbiology. 245-260, Toronto, 1987.
- 6- Bauer, J.D. : Clinical Laboratory Methods. Ninth Edition 835 - 840, Toronto, 1982.
- 7- Evans, A.S., Feldman, H.A. : Bacterial Infections of Humans, Epidemiology and Control. 2 nd Edition, 525-547, ABD, 1984.
- 8- Joklik, W.K., Smith, D.T. : Zinsser Microbiology. 18 th Edition, 463 - 475, USA, 1984.
- 9- Burdash, N.M., West, M.E., Newell, R.T. : Group Identification of Streptococci. Evaluation of Three Rapid Agglutination Methods. Am. Soc. Clin. Path., 819-822, 1981.
- 10- Engel, H.W.B., Silfhout, A.V. : Simplified Coagglutination Test For Serological Grouping of β -Hemolytic Streptococci, J. Clin. Microbiol, 14 (3) : 252 - 255, 1982.

- 11- Rosa, M.D.L., Villareal, R., Vega, D. : Granada Medium for Detection and Identification of Group B Streptococci. J. Clin. Microbiol, 18 (4): 779 - 785, 1983.
- 12- Appelbaum, P.C., Chourushiya, P.S., Jacobs, M.R. : Evaluation of the Rapid Strep System for Species Identification of Streptococci. J. Clin. Microbiol., 19 (5) : 588 - 591, 1984.
- 13- Lim, D.V., Morales, W.J., Falsh, A.F. : Lim Group B Strep Broth and Coagglutination for Rapid Identification of Group B Streptococci in Preterm Pregnant Women. J. Clin. Microbiol., 25 (2): 452 - 453, 1987.
- 14- Ruoff, K.L., Kunz, L.J., Ferraro, M.J. : Occurance of Streptococcus Milleri Among β -hemolytic Streptococci Isolated from Clinical Specimens. J. Clin. Microbiol, 22 (2): 149 - 151, 1985.
- 15- Kamm, W., Bille, J. : Evaluation of a Rapid Latex Agglutination Test (Directigen) For the Direct Detection of Group A Streptococci from Throat Swabs. Infection 13 (4): 179 - 181, 1985.
- 16- Hoffmann, S. : Lack of Reliability of Primary Grouping of β -hemolytic Streptococci by Culture of Throat Swabs with Streptocalt Supplemented with Bacitracin Disks in General Practice. J. Clin. Microbiol, 22 (4): 497-500, 1985.
- 17- Ruoff, K.L., Kunz, L.J. : Use of the Rapid Strep System for Identification of Viridans Streptococcal Species. J. Clin. Microbiol, 18 (5) : 1138 - 1140, 1984.
- 18- Tumbay, E., Anđ, Ö., Karakartal, G. : I Ulusal Infeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları, No: 11 : 113 - 154, 1987.

- 19- Slifkin, M., Gil, M.G. : Rapid Biochemical Tests for the Identification of Groups A,B,C,F and G Streptococci from Throat cultures. J. Clin. Microbiol, 18 (1): 29 - 32, 1983.
- 20- Facklam, R.R., Thocker, L.G., Eriquez, L. : Presumptive Identification of Streptococci With a New Test System. J. Clin. Microbiol, 15 (6): 987 - 990, 1982.
- 21- Wellstood, S. : Evaluation of Phedebact and Streptex Kits for Rapid Grouping of Streptococci Directly from Blood Cultures. J. Clin. Microbiol, 15 (2): 226-230, 1982.
- 22- Ayhan, Z., Günalp, A. : β -hemolitik Streptokokların Gruplandırmasının Önemi ve Gruplamada Kullanılan Çeşitli Testlerin Karşılaştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni, 18: 81 - 80, 1984.
- 23- Giunta, S., Sampaoli, G., Bilei, L. : Inhibition of Specific Streptococcal Coagglutination Reactions. J. Clin. Microbiol, 17 (2): 192 - 194, 1983.
- 24- Slifkin, M., Cumbie, R.: Identification of Group B Streptococcal Antigen With Lectin-Bound Polystyrene Particles. J. Clin. Microbiol, 25 (7): 1172-1175, 1987.
- 25- Ginsburg, C.M., Cracken, G.H., Crow, S.D.: Seroepidemiology of the Group-A Streptococcal Carriage State in a Private Pediatric Practice. AJDC, 139: 614-617, June 1985.
- 26- Levin, M.R., Grossman, M., Jordan, C. : Group A Streptococcal Infection in Children Younger than Three Years of Age. Pediatr Infect Dis, 7 (8): 581-587, 1988.
- 27- Martin, T.A., Haff, G.L., Gibson, V. : Foodborne Streptococcal Pharyngitis Kansas City. Missouri. Am. J. Epidemiol, 22 (4): 706 - 709, 1985.

- 28- Freidman, C.A., Wender, D.F., Rawson, J.E. : Rapid Diagnosis of Group B Streptococcal Infection Utilizing a Commercially Available Latex Agglutination Assay. Pediatrics, 73 (1): 27 - 30, 1984.
- 29- Chang, G.T., Ellner, P.D. : Evaluation of Slide Agglutination Methods of Identifying Group D Streptococci. J. Clin. Microbiol, 17 (5): 804 - 806, 1983.
- 30- Vanzo, S.J., Washington, J.A. : Avaluation of Rapid Latex Agglutination Test For Identification of Group D Streptococci. J. Clin. Microbiol, 20 (3): 575 -576, 1984.
- 31- Nachamkin, I., Lynch, J.R., Dalton, H.P. : Evaluation of Rapid System For Species Identification of Alpha - Hemolytic Streptococci. J. Clin. Microbiol, 16 (3): 521 - 524, 1982.
- 32- Swenson, F.J., Rubin, S.J. : Clinical Significance of Viridans Streptococci Isolated from Blood Cultures. J. Clin. Microbiol, 15 (4): 725 - 727, 1982.
- 33- Ayhan, Z., Günalp, A. : β -hemolitik Streptokok Gruplarının Klinik Örnek ve Yaş Gruplarına Göre Dağılımı. Mikrobiyoloji Bülteni, 19 (1) : 15 - 22, 1985.
- 34- Bilgehan, H. : Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. 3. Baskı, 237 - 238, İzmir, 1987.
- 35- Çetin, E.T. : Genel ve Pratik Mikrobiyoloji. 3. Baskı, 810, İstanbul, 1973.
- 36- Bilgel, N., Aytekin, H., Okan, N.: GEAD İlkokullarındaki Çocuklarda Boğaz Florasında β -hemolitik Streptokok İnsidansı ve Akut Romatizmal Ateş. Uludağ Univ. Tıp Fak. Derg. (3): 247 - 254, 1987.

- 37- Redd, S.C., Wacklam, R.R., Collin, S. : Rapid Group A Streptococcal Antigen Defection Kit : Effect on Anti-microbial Therapy For Acute Pharyngitis. Pediatrics, 82 (4): 576 - 580, 1988.
- 38- Orak, S., Aşçı, Z., Ay, S.: F.Ü. Anaokulunda Görülen bir Kızıl Olgusu Nedeniyle Çocukların Boğaz Kültürlerinin İncelenmesi. 22.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Serbest Bildiriler. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları, No:10 Sivas, 1986.
- 39- Orak, S., Aşçı, Z., Erol, G. : Anaokulu Çocuklarının Boğazlarında Mevsimlere Göre Üreyen β -hemolitik Strep-tokok İnsidansı. I. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları, No: 11, İzmir, 1987.
- 40- Hadfield, S.G., Petts, D.N., Kennedy, P. : Novel Coler Test For Rapid Defection of Group A Streptococci. J. Clin. Microbiol, 25 (7): 1151 - 1154, 1987.
- 41- Wolinsky, E., Adams, W.: Diagnosis of Streptococcal Pharyngitis by Rapid Antigen Detection From the Throat Swabs. The Journal of Family Practice, 22 (3): 277 - 280, 1986.
- 42- Öztürk, N., Gürel, M. : Boğazdan Soyutlanan β -hemolitik Streptokokların tipleri ve Hemolizin salgılama yetenek-leri. 22. T. Mikrobiyoloji Kongresi, Serbest Bildiriler. T. Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları No: 10, Sivas, 1986.
- 43- Yavuz, H.: Kayseri Şehrindeki okul çocuklarında A grubu Streptokok Prevalansı. Uzmanlık Tezi, 1982.
- 44- Özdamar, K. : Biyoistatistik. 1. Baskı, İstanbul, 1985.
- 45- Özçelik, S. : Uygulamalı Genel İstatistik. I. Elazığ, 1987.

- 46- Diagnosties Pasteur : Sera For Identifying The Serological Group of a Streptococcus Strain.
- 47- Strep Slide (Cambridge Biomedical Limited, CB 601).
- 48- Fung, J.C., Wicher, K. : Comparison of Slide Agglutination Test (Phadebact) wit Counterimmungelectrophoresis for Detection of Streptococal Group Antigens. Am. Soc. Clin. Pathol, 77 (5): 608 - 610, 1982.