

T. C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BOĞAZ KÜLTÜRLERİNDEN GRUP A STREPTOKOK ÜRETME
AÇISINDAN DÖRT FARKLI BESİYERİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Nuri KIRAZ

ESKİŞEHİR - 1990

1990

İ Ç İ N D E K İ L E R

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Streptokokların Genel Özellikleri	2
2.1.1. Tarihçe	2
2.1.2. Taksonomideki yeri	3
2.1.3. Mikrobiyolojik özellikleri	3
2.1.4. Üreme ve biyokimyasal özellikleri	4
2.1.5. Streptokokların sınıflandırılması	7
2.1.6. Klinik önemi olan Non-Grup A Streptokoklar	8
2.2. Grup A Streptokoklar(GAS)	9
2.2.1. Tarihçe	9
2.2.2. Morfolojik özellikleri ve sınıflandırma	9
2.2.3. Klinik önemi	11
2.2.4. Tanı yöntemleri	13
2.2.4.1. Kültür	13
2.2.4.2. Serolojik testler	14
2.2.4.3. Epidemiyoloji ve serotiplendirme ..	14
2.2.4.4. Patogenez ve bağışıklık	16
2.2.4.5. GAS enfeksiyonlarında tedavi ve koruma	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
4. BULGULAR	24
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇLAR	38
7. ÖZET	40
8. KAYNAKLAR DİZİNİ	43

TEŐEKKÜR

Tıp Fakóltesi öğrencilik yıllarımdan başlayarak, Őu ana gelinceye kadar yetiŐmemde, çalıŐmalarımın ynlen-
dirilmesinde, bütünlüğe kavuŐmasında, somuca ulaŐmasında
tüm ilgi ve yardımlarımı esirgemeyen, fikirleri ile yol
gösteren değerli hocam Prof.Dr.Filiz AKŐİT'e, ayrıca uz-
manlık eğitimim sırasında bilgi ve tecrübeleri ile bana
yardımcı olan değerli hocalarım Doç.Dr.Yurdanur AKGÜN ve
Y.Doç.Dr.Tülay KOçOğLU ile tüm çalışma arkadaŐlarıma Ők-
ran ve teŐekkürü bir borç bilirim.

1. G İ R İ Ő

Streptokoklar, Streptococcaeae familyasında yer alan Gram olumlu, yuvarlak veya oval Şekilde, genelde zincir oluşturan mikroorganizmalardır. Streptokoklar insanda bir çok ciddi enfeksiyon ve komplikasyonlara neden olabilen bakterilerdir. İlk defa Billroth ve Ehrlich tarafından antijenlerinden yararlanarak A'dan V'ye kadar gruplandırılmıŐtır. İnsanda en önemli enfeksiyon etkeni A grubu olmakla birlikte B,C,D,F ve G grupları da oluşturdukları enfeksiyon sebebi ile önem kazanmaya başlamışlardır(20,29,61).

Grup A Streptokoklar(GAS) oluşturdukları akut enfeksiyonların yanı sıra akut romatizmal ateş ve glomerulonefrit gibi hastalıklara da yol açabilmektedirler. GAS'lar akut faringotonsillitlerin en sık nedenidirler. Bu enfeksiyonun tanınlanması ve etkene yönelik tedavideki yaklaŐımları önem kazanmakta, mikrobiyolojik tanıda kültür en duyarlı ve güvenilir yöntem olarak yerini korumaktadır. Boğaz srntlerinin karışık flora içermelerinin kültürde GAS üremesini sağlamak amacıyla normal flora üyelerinin üremesini baskılayan sodium azide, crystal violet, nalidixic acid, sulfamethoxazole-trimethoprim, neomycin, gentamycin, colistin, oxolinic acid gibi inhibitör maddeler eklenmiş besiyerleri denenmektedir(17,29,31).

Çalışmamızda inhibitör madde içermeyen koyun kanlı agar ve Columbia Blood Agar ile Colistin Nalidixic Acid Agar (CNA agar) ve CNA agara 1/500.000 crystal violet eklenmesi ile hazırlanan Colistin Nalidixic Acid Crystal Violet Agar (CNAK agar) besiyerleri kullanılarak boğaz kültürlerinden Grup A Streptokok retme açısından farklılık olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla ilk kez alıŐmamızda CNAK agar besiyeri olarak araştırma kapsamına alındı.

2. G E N E L B İ L G İ L E R

2.1. Streptokokların Genel Özellikleri

2.1.1. Tarihçe

İlk olarak Billroth(1874) erizipel ve yara enfeksiyonlarında zincir yapan kokları görmüş, fakat bunların yara enfeksiyonu etkeni olabileceğini kabul etmemiştir. 1879 da Pasteur bunları lohusalık hummasında görmüş, 1881 de Ogston irinden izole etmiş, 1881'de R.Koch bunların her zaman erizipel lezyonlarında bulunabileceklerini göstermiş ve 1882'de Fehleisen saf kültür halinde izole etmiş ve erizipelli hastaların lezyonlarında üretilen streptokoklarla gönüllülerde erizipel meydana getirmiştir(8,61,65).

Streptococcus terimi ilk defa 1884'de Rosenbach tarafından süpüratif lezyonlardan yapılan kültürlerde üretilmeleri nedeniyle Streptococcus pyogenes olarak kullanılmıştır. Daha sonra Andrewes ve Harder 1906'da Orland-Jensen 1919'da Streptokokları sınıflandırmaya çalışmışlar sa da, ilk sistematik sınıflama Brown tarafından yapılmış ve streptokoklar kanlı agardaki hemoliz durumlarına göre alfa, beta ve gama hemolitik olmak üzere üç grupta toplanmıştır(3,61,65).

1933'de Rebecca Lancefield Streptokok dünyasında yeni bir çağır açmıştır. Patojen streptokokları hücre duvarında bulunan, polisakkarit yapısındaki C maddesine göre serolojik gruplara ayırmıştır. 1937'de Sherman tarafından hemoliz yapıp yapmamalarına, üreyebildikleri ısı derecelerine, bazı biyokimyasal özelliklerine ve antijen yapılarına göre streptokoklar; pyojenik, viridans, laktik, enterokok ve pnömokoklar olarak beş gruba ayrılmıştır(2,17,29,32).

2.1.2 Taksonomideki yeri

Streptokoklar, Streptococcaceae ailesinde yer alırlar. Bu aile içerisinde yer alan mikroorganizmalar Gram pozitif, oksidaz negatif, yuvarlak veya ovoid, çeşitli uzunlukta zincirler yapan ve bazen de tetradlar oluşturan, hareketsiz ve sporsuz bakterilerdir.

Streptococcaceae familyası Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'de beş gruba ayrılmıştır(17).

1. Aerococcus
2. Gamella
3. Leuconostoc
4. Pediococcus
5. Streptococcus

Streptococcaceae familyası içerisinde yer alan ve insanlar için en patojen olanı Streptococcuslardır(8,20).

2.1.3. Mikrobiyolojik özellikleri

Streptokoklar genel olarak yuvarlak ve yaklaşık olarak 0.6-1.0 mikrometre çapında koklardır. Koklar tam yuvarlak, ovoid görünümlü ve değişik büyüklükte olabilirler (32,33). Streptokoklar karakteristik olarak zincir şeklinde ürerler. Zincirler 2-12 veya daha fazla kokdan oluşmuştur(61). Bir zincir içinde diğerlerinden iri koklar görülebilir. Zincir yapma sıvı besiyerinde daha iyidir(8). Besiyerlerinde uzun zincirler yapan ve patojen olduğu bilinen streptokokların hastalık materyalinde 5-8 kokdan ibaret kısa zincirler yaptıkları bilinir. Bazı streptokokların besiyerlerinde zincir yapma alışkanlığı bulunmayıp diplokok şeklinde bulunurlar(32,33,65).

Streptokokların zincirleri çoğu kez çift çift kokların yanyana gelmesi suretiyle oluşurlar. İlk bakışta bir diplokok zincirini andırırlar. Zincir yapan koklar birbir-

lerine hücre çeperlerine ait köprülerle bağlı kaldıklarından çalkalama yoluyla zincirler kopmazlar. Ancak özel enzimlerin etkisi ile zincirlerin sınırsız uzaması önlenir (8,33,65).

Streptokoklar sporsuz ve hareketsizdirler, ancak D grubunda bulunan bazı suşlar, örneğin Streptococcus faecium hareketlidir(33,61,65).

Streptokokların bazılarında hyaluronik asit yapısında kapsül bulunur(32). Özellikle A,B ve C grubu streptokoklarda bulunan bu kapsül organizmadan yeni ayrıldıklarında ve zengin besiyerlerinde belirgindir. Kapsüller üremenin ilk 2-4 saati içinde gösterilebilir(32,65).

Genel olarak bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar. Gram olumludurlar. Eski kültürlerde arada Gram olumsuzları tespit edildiği gibi aynı zincir üzerinde Gram olumlu ve olumsuz koklara rastlanabilir(24).

2.1.4 Üreme ve biyokimyasal özellikleri

Streptokoklar genelde fakültatif anaerobdurlar. Streptokoklar adi besiyerlerinde ancak yavaş yavaş çoğalırlar, besiyerine glikoz, serum asit ve kan eklenmesi üremeyi arttırır(8,65). Optimal üreme ısıları 37°C dir. D grubu Streptokokların çoğu ise 10-45°C arası ısılarda üreyebilirler. Optimal üreme pH sı 7.4-7.6 dır(17,29).

Genel olarak streptokoklar kanlı agarda 18-24 saat inkubasyondan sonra 0.5 mm çapında üç tip koloni oluştururlar(17). Oluşturdukları koloniler mukoid, mat ve parlak kolonilerdir. Mukoid koloniler geniş kapsül oluşturan bakteriler tarafından meydana getirilir. Fazla miktardaki hyaluranik asid jeli koloniye parlak su damlası görünümü verir. Mat koloniler daha düz ve kabadır. Parlak koloniler S kolonileridir. Bunlar küçük yarı saydam, konveks ve hafif granüler görünümde dir(17,32). Aynı tür-

içindeki değişik varyasyonları farklı koloniler yapabilirler. Bu özellik daha çok Grup A Streptokok (GAS) larda görülür. Hem mat hem de parlak koloniler oluşturabilirler. Mat koloniler, bakterinin hücre duvarında yer alan M proteinin çok miktarda yapılması ile ilgilidir. Bu tip mikroorganizmler virulandır ve insan lökositlerinin fagositozundan kolayca kurtulurlar. Parlak koloniler az miktarda M proteini üretimi gösterirler ve genellikle avirulandır(32).

Streptokoklar hemoliz yeteneklerine göre, alfa, beta ve gamma hemolitikdirler. Hemoliz çapı 2-4 mm olabilir. Alfa hemoliz zonunun en dış kısmında eritrositlerin tam erimesi ile meydana gelmiş ince bir tam hemoliz varlığına alfa prime hemoliz denir ve beta hemoliz ile karıştırılabilirliği nedeniyle önemlidir. Mikroskobun X10 büyütmesi ile incelendiğinde hemoliz alanı içerisinde sağlam eritrositlerinin bulunması bunu beta hemolizden ayırır(17,32).

Streptokokların kanlı agardaki hemoliz derecesi kullanılan eritrositlere göre farklılıklar gösterir. Hemoliz'in en iyi ortaya çıkması at eritrositleri kullanılması halinde görülür. Koyun eritrositleri ikinci derecede, insan eritrositleri ise bu yönden en az olumlu sonuçlar verir. Koloni görünimleri beta hemolitik streptokoklarla karışıklığa yol açabilen Haemophilus haemolyticus koyun kanlı agar da üreyememesi ayırıcı bir özelliktir(17,24).

Grup A Streptokok(GAS) ların çoğu koyun kanlı agar da beta hemoliz meydana getirirler. Koloniyi çevreleyen hemoliz zonu koloni çapından bir kaç kez daha büyüktür. B,C,F ve G Grubu streptokoklarında çoğu beta hemoliz oluştururlar. D grubu streptokoklar ise alfa, beta hemoliz oluşturabildikleri gibi non-hemolitik de olabilirler. Viridans streptokoklar ve pnömokoklar alfa hemoliz oluştururlar. Bazı streptokoklar ise hemoliz yapmazlar(20,29).

İnce yapı, salgı ve antijenik özellikleri: Bazı streptokoklarda bakterinin en dış tabakasını oluşturan,

hyaluronik asid yapısında bir kapsül bulunur. Kapsülün dış yüzeyinde fimbrialar bulunur. Fimbrialar hücre duvarından başlar, kapsülü delerek dışarı doğru uzanır. M proteinlerine göre GAS'lar tiplere ayrılırlar ve bu gün 80 den fazla tipi bilinmektedir. Tipler harflerle gösterilir. M proteinine karşı oluşan antikorlar aynı tip GAS enfeksiyonlarına karşı koruyucudur(32). Streptokokların hücre duvarı; protein antijenler, grup karbonhidratları ve mukopeptidler olmak üzere üç tabakadan oluşur. Protein antijenler tabakasında M, T ve R proteinleri yer alır. T proteini tipe spesifik değildir. Virulansla ilişkisi yoktur. Bazı M tiplerinde bir veya birden fazla T proteini bulunur. R proteininin virulans veya immunité ile ilişkisi gösterilememiştir(32).

Hücre duvarında protein antijen tabakasının altında grup karbonhidratlarının yer aldığı bölümler bulunur ve serolojik gruplandırmada faydalanılır. Karbonhidrat antijeni ilk olarak 1933 yılında Rebecca Lancefield bulmuştur. Bu C karbonhidratı esas alınarak streptokoklar A-H ve K-U'ya kadar serolojik gruba ayrılmıştır. Viridans streptokokların dışında bütün streptokoklar C karbonhidratlarına sahiptir(2,32,33).

Hücre duvarının en iç bölümünü mukopeptid tabaka oluşturur. Hücre duvarının rijiditesini sağlar. N-acetyl muramic acid ve N-acetyl glucosamine polisakkarit birimlerinden oluşmuştur. Streptokokkal hastalık ve sekellerdeki rolü bildirilmemiştir(32).

Streptokoklar hücre dışı enzim ve toksin oluştururlar. Özellikle GAS tarafından yirmiden fazla ekstrasellüler madde sentezlendiği bilinmektedir(32). Bu enzimlerin başlıcaları streptokinaz, streptodornaz, hyalurinidaz, eritrojenik toksin, streptolizin, diphosphopyridine nucleotidase, proteinaz ...dır(8,32).

Streptokoklar katalaz ve sitokrom oksidaz negatif bakterilerdir. Streptokokların oksidaz negatif olmaları

nedeniyle benzidine testi de olumsuzdur. Stafilokoklardan ayrılmasında benzidine testinden yararlanılabılır(17).

Streptokokların çoğu bir çok şekeri fermente edebilir. Genellikle inülini fermente etmezler, optokinin yüksek konsantrasyonları karşısında üremelerini sürdürebilirler. Sığır safrası veya %10 oranında safra tuzlarında erimezler. Bu üç özellik alfa hemolitik streptokokları pnömokoklardan ayırmada kullanılır(17,20).

Streptokoklar kuruluğa oldukça dayanıklı bakterilerdir. Özellikle irin ve proteinli maddeler içerisinde kurutulursa uzun süre dayanırlar. Enterokok dışındakiler ısıya dirençsiz (55°C de 15 dak.) enterokoklar nispeten dirençli (60°C de 30 dak.) dirler(1,65).

2.1.5. Streptokokların sınıflandırılması

Streptokokların çeşitli özellikleri dikkate alınarak farklı sınıflandırılmaları yapılmıştır(2,4).

a) Hemoliz yapma karakterlerine göre;

1. Beta hemolitik
2. Alfa hemolitik
3. Gamma hemolitik

İnsanlarda enfeksiyon oluşturan streptokoklar daha çok beta hemolitik olanlarıdır(8,32,65).

b) Antijenik sınıflandırma(Lancefield);

Streptokokları hücre duvarında yer alan C maddesine göre A,B,C...V olarak gruplandırmak mümkündür. İlk olarak Lancefield tarafından ortaya atılan bu sınıflandırma sonradan yeni çalışmalarla geliştirilmiştir(17,32). Bazı alfa hemolitik ve non hemolitik streptokoklar antijen bakımından ayırım göstermediklerinden gruplandırılmaları olarak dışıdır(8).

c) Sherman sınıflandırması;

Sherman, Streptokokları hemoliz durumlarına, üreyebildikleri ısı ve pH derecelerine ve bazı biyokimyasal özelliklerine göre 4 gruba ayırmıştır(29).

1. Pyogen Streptokoklar
2. Viridans Streptokoklar
3. Laktik Streptokoklar
4. Enterokoklar
5. Pnömonokoklar

2.1.6. Klinik önemi olan Non-Grup A Streptokoklar(Non-GAS);

Grup B Streptokok(*Streptococcus agalactiae*): Kadın genital florasının bir üyesidir. Yenidoğan sepsis ve menenjitlerinin en önemli etkenlerinden birisidir. Koyun kanlı agarda tipik olarak dar beta hemoliz zonu oluştururlar. %1-2 oranında hemoliz yapmayabilirler. Sodyum hip-purata hidrolize ederler, nadiren basitrasine duyarlıdır ve %6.5 sodyum klorürlü ortamda üreyebilirler(2,17,61).

Grup C streptokoklar: Bu gruptaki streptokokların morfolojisi GAS'a benzerlik gösterir. *S.dysgalactiae* dışında beta hemolitikdir. C grubu streptokoklar farenjit, puerperal sepsis, endokardit, bakteriyemi, osteomyelit, beyin absesi, post-operatif yara enfeksiyonu ve pnömoni nedeni olabilir. Ayrıca C Grubu Streptokokların post streptokoksik akut glomerulonefrite neden olduğu bildirilmiştir (20,61,65).

Grup D Streptokok: Bu grup streptokoklar enterokok ve nonenterokok olmak üzere ikiye ayrılır. Normalde deri, barsak, üst solunum yolu florasında olmakla birlikte yenidoğanda sepsis, erişkinde üriner sistem enfeksiyonları ve endokardite yol açabilir. Non-enterokoklar penisiline duyarlı, enterokoklar ise dirençlidirler(4,29,65).

Grup F Streptokoklar: Kanlı agarda çok küçük beta hemolitik koloniler oluştururlar. İnsanlarda nadiren sinüs

ve beyin abseleri, ampiyem, menenjit, deri ve yara enfeksiyonlarına neden olurlar(17,61).

Grup G Streptokoklar: İnsanlarda gastrointestinal sistem veya vajende kolonize olabilirler. A ve B Grubu Streptokoklardan sonra en sık rastlanan G Grubu Streptokoklar yara, puerperal ateş ve farenjit epidemilerine yol açabilir. Bu grubun da GAS ile antijenik benzerliği vardır. Akut romatizmal ateş ve kızıl原因 neden olabilir. Ayrıca G grubunun da post-streptokoksik glomerulonefrite neden olduğu bildirilmiştir(9,20,25).

2.2. Grup A Streptokoklar(GAS)

2.2.1. Tarihçe

Streptokokun 1879 Yılında Pasteur tarafından görülen bakteri olduğu kabul edilir(61). 1882'de Fehleisen erizipelli hastaların lezyonlarından üretilen streptokoklarla gönüllülerde erizipel meydana getirilmiştir(1). 1884 Yılında Rosenbach irinli lezyonlarda zincir teşkil ederek büyüyen kok görünümündeki mikroorganizmaları izole etmiş ve bunlara "Streptococcus pyogenes" adı vermiştir. Thomsons ve ark. tarafından 1920'lerde ciddi tonsillitlerin bazı formlarında beta hemolitik streptokokların neden olabileceğini göstermişlerdir(65). 1933 Yılında Lancefield streptokokları önce spesifik polisakkaritlerine göre gruplandırmıştır. Daha sonra GAS'ları protein yapılarına göre tiplendirilmiştir(2,65).

2.2.2. Morfolojik özellikleri ve sınıflandırma

GAS'lar 0.6-1.0 mikrometre büyüklüğünde yuvarlak veya oval biçimde çift veya zincirler halinde görülen Gram olumlu koklardır. En iyi 37°C de ve %10 CO₂'li ortamda ürerler. Fakültatif anaerobdurlar. Katı besiyerinde 24

saatlik inkubasyondan sonra 0.5-0.75 mm çapında yarı saydam, kabarıkça, üstü hafif taneli ve yuvarlak koloniler oluşturur. 48-72 saat sonra kolonileri büyür, ortası kabarık, kenarları daha düzleşir. Sıvı besiyerinde ise dip-te çöküntü yaparak ürerler(20,29,32).

Bazı GAS suşları 2-4 saatlik kültürlerde hyaluronik asid yapısında bir kapsül oluştururlar. Eğer bakteri hyaluronidaz yaparsa kapsül teşekkülü önlenemez. M proteini yapısındaki lipoteikoik asid ile kaplı olan pililer streptokokların epitel hücrelerine tutunmasında önemli rol oynarlar(8,32).

GAS'ların bazıları ise mat koloni oluştururlar. Matlık Streptokokların çok fazla miktarda M proteini yapısına bağlıdır. Böyle streptokoklar daha virulandır. Fagositoza dirençte rol oynarlar(32).

GAS'ların çoğu kanlı agarda beta hemoliz meydana getirirler. Koloniyi çevreleyen hemoliz zonu koloni çapından bir kaç kez daha büyüktür(1,61). GAS'lar basitrasine duyarlı, sulfamethaksazol-trimethoprim(SXT)'e dirençli olmaları ile diğer streptokoklardan ayrılırlar. GAS'lar ve Enterokoklar L-pyrrolidonyl-beta-naphtylamide(PYR)'i hidrolize ederler. Buna karşılık diğer beta hemolitik streptokoklar PYR'i hidrolize eden pyroglutamyl aminopeptidase enzimi taşımazlar. Enterokoklar %6.5 NaCl ortamda üreyebilirler, safra-eksulin testi olumsuzdurlar. GAS'lar ise bu özelliklere sahip değildir. Dolayısıyla bu testler iki grubun ayırımında kullanılır(29).

GAS'lar özgül polisakkarit yapısındaki hücre duvarı antijenlerine göre gruplandırılır. Çeşitli serolojik yöntemler bu amaçla kullanılmaktadır. GAS'lar M proteinlerine karşı hazırlanmış özgül antiserumlar ile aglutinasyon yöntemleri kullanılarak tiplendirilmiş ve toplam 80 serotip bulunmuştur(29,32). Poststreptokoksik hastalıklardan sorumlu GAS M serotipleri bilinmektedir(32).

2.2.3. Klinik önemi

Pyojenik streptokokların en önemli grubunu oluşturan GAS'lar, oluşturdıkları akut enfeksiyonların yanı sıra akut romatizmal ateş ve akut glomerulonefrit gibi hastalıklara da yol açabilmektedir. Sıklıkla akut farenjit ve deri enfeksiyonlarından izole edilirler. Özellikle 5-15 yaş grubunda hastalık insidansı yüksektir. En önemli özellikleri gelişmiş ülkelerde toplumun 100.000 de 6-12 sinde olduğu belirlenen akut romatizmal ateş etyolojisinde rol oynamaktadır(2).

GAS'ın doğal kaynağı insanlardır. İnsandan insana geçiş nazofarenks, deri, vajen veya rektumda GAS kolonizasyonu olan asemptomatik taşıyıcılarla yakın temas sonucu olur(2,9).

Akut tonsillo-farenjit, ateş, boğazda ağrı, kızarma, şişme ile seyreden ve en sık görülen klinik şekildir. Bu tip GAS enfeksiyonunun seyri hastalanan kişinin yaşıyla ilgili olarak değişik üç klinik şekil gösterir(17,49).

1. 3 Yaşından küçük çocuklarda ve yenidoğanlarda düşük ateşli, subakut farenjit şeklinde bir tablo görülür. Enfeksiyon orta kulağa ve mastoidlere geçerek otitis media ve mastoidit oluşur. Buralarda meninkslere yayılma eğilimi vardır.

2. 3-12 Yaş arasındaki çocuklarda yüksek ateş, boğazda kızarıklık, ödem, lokal eksuda, boyun lenf bezlerinin şişmesi ve ağrması ile seyreden nazofarenjit ve tonsillit biçiminde enfeksiyonlara rastlanır.

3. Daha yukarı yaşlarda enfeksiyon, şiddetli irinlenmeler şeklinde kendini gösterir. Tonsillaların ve lenfoid dokunun süpürasyonu, cerahatin yayılarak peritonsiller apse yapması, ağız tabanı ve retrofaringial bölgeye yayılarak Ludwig anjini meydana getirmesi olanaklıdır.

Kızıl, lizojenik fajla enfekte GAS'lar ve nadiren

C ve G Grubu Streptokokların oluşturduğu, 39-41°C yükselen ateş, daha çok gövdede görülen yaygın döküntülerle seyreden bir klinik tablodur(8).

GAS'lar deride erizipel, sellulit, impetigo meydana getirebilir. Ayrıca lohusalık ateşi, sepsis ve akut bakteriyel endokardite neden olabilir(8,61).

Poststreptokoksik Enfeksiyonlar:

1. Akut romatizmal ateş: GAS'ların yaptığı üst solunum yolu enfeksiyonunu takiben 1-4 haftalık latent bir dönemin sonunda %3-%0.3 oranında ortaya çıkan bir hastalıktır(2). Kalp, eklemler, deri altı dokuları ve merkezi sinir sistemi enflamasyonu ile karakterizedir. Kalpte kronik ilerleyici harabiyet oluşur. Romatizmal ateş GAS'ların sadece farinks yerleşimi yapan GAS'lar neden olabilir. Bu suşlar çok miktarda M proteini ve hyaluronik aside sahip olup serum opasite faktörü içermezler. GAS'ların nasıl romatizmal ateşe neden oldukları bugün tam olarak bilinmemektedir. Muhtemelen otoimmün bir olay söz konusudur. Streptokoklar ile insan dokusu arasında çapraz reaksiyon veren antijenlerin varlığı gösterilmiştir. Romatizmal ateşli hastaların serumlarında oluşan antikörler kardiyak miyozinlerle çok güçlü reaksiyona girmektedir. Ayrıca bu antikörler bazı GAS serotiplerinin M proteinleriyle adsorblanmaktadır. Bu antikörler üzerindeki çalışmalar halen devam etmektedir(2,61,65).

2. Akut glomerulonefrit: GAS'ların yaptığı üst solunum ve daha çok deri enfeksiyonlarını takiben 1-3 haftalık latent dönemden sonra ortaya çıkar. Ödem, proteinüri, hematüri, hipertansiyon bulguları ile belirlenen bir hastalıktır. Nefritojenik karakter gösteren bazı streptokok serotiplerinin bulunduğu bahsedilmektedir(A Grubu Streptokok tip 4,12,57 ve özellikle 49). Bu tiplerin sitoplazmik zarlarında bulunan antijenlere karşı iki üç hafta zarfında oluşan antikörler hastalık patogeneğinde rol oynarlar. Antijen-antikör komplekslerinin böbrek glomerul basal

membranında birikmeleri ve komplemanın da katılması ile bir immün kompleks mekanizmasına dayalı olarak oluşan doku zedelenmesi akut glomerulonefrite yol açar(2,8,32).

2.2.4. Tanı Yöntemleri

2.2.4.1. Kültür

GAS izolasyonunda, karışık floranın bulunduğu özellikle boğaz sürüntüsü örneklerinden örnek alındığı için seçici besiyeri önerilmektedir. Besiyerine sodyum azide, kristal viyole, nalidiksik asid, polimiksin, neomisin, gentamisin, kolistin, oksolinik asid, SXT gibi inhibitör maddeler konarak oldukça başarılı bir şekilde difteroid, neisserialar ve stafilokoklarda Gram olumsuz basillerin üremesi durdurulabilir(17,29,31).

Streptokoklar bazı biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerinden yararlanarak A,B,D gruplarının olası tanımlanması sağlanmaktadır. Tablo I'de streptokok gruplarının tanı amacıyla kullanılan bazı testler ve verdikleri sonuçlar gösterilmektedir(29).

Testlerin yorumlanması:

1. Beta hemolitik, basitrasine duyarlı, SXT'ye dirençli, PYR'i hidrolize ediyorsa ve diğer testler negatif ise, A Grubu Beta Hemolitik Streptokok.

2. Beta hemolitik, hippurat hidroliz ve CAMP testleri pozitif, diğer testler negatif ise, B Grubu Beta Hemolitik Streptokok.

3. Alfa,beta veya gamma hemolitik, safra-eksülin ve %6.5 NaCl'de pozitif, diğer testler negatif ise, D Grubu (enterokok) Streptokok.

4. Beta hemolitik, tüm testler negatif ise, Non-A, B,D Streptokok olarak değerlendirilir.

PYR(L-Pyrrolidonyl-beta-naphthylamide) Testi: PYR

GAS ve enterokokların %100'ü tarafından hidrolize edilen bir substrattır. Diğer bütün streptokoklar PYR'i hidrolize etmezler. Test agarda ve buyyonda yapılabilir. PYR agar testinde mikroorganizma agara inokule edilir. Normal atmosferde 37°C'de bir gece inkube edilir. İnkubasyon sonunda besiyerinin yüzeyine PYR miyarı (N,N-Dimethylamino-cinnamaldehyde) damlatılır. Kırmızı renk oluşumu üreyen bakterinin S.pyogenes veya enterokok olduğunu, sarı renk oluşumu veya renk oluşmaması diğer streptokokların olduğunu gösterir. Buyyonda PYR testi ise, tüpteki sıvı besiyerine 3-4 kolonu beta hemolitik streptokok ekilip, 37°C'de 4-5 saat inkubasyondan sonra 1 damla PYR miyarı damlatılır. Bir dakika sonra renk oluşumu değerlendirilir. Değerlendirme PYR agar testi gibidir(17,29).

2.2.4.2. Serolojik testler

GAS'ların grup tayininde kullanılan serolojik testler kılcal tüpte presipitasyon, counter immunoelctrophoresis, jel diffüzyon, floresan antikor testi, lateks aglutinasyon ve koaglutinasyon testleridir. Son üçü en çok kullanılan testlerdir(17,20,32).

2.2.4.3. Epidemiyoloji ve serotiplendirme

İnsanda hastalık yapan bu streptokok için en önemli kaynaklar burun, boğaz ve üst solunum yollarında bu bakteriyi taşıyan insanlardır. Bunlar sessiz enfeksiyonlu veya hasta olabilirler. Hastalık belirtisi vermeyen erişkinlerin %5-15'inde, çocukların %20'sinde boğazda bu streptokoklar bulunmaktadır. Tonsillektomili kişilerde prevalans daha düşüktür. Ancak tonsillektomiden sonra nazofarenks taşıyıcılığı artmaktadır(2,49,65).

GAS için ana kaynak insan olmakla birlikte bu bakteri ineklerde mastit yapabilir. Streptokok enfeksiyonları-

nın, enfeksiyonlu kişilerden sağlamlara geçmesi direkt temasla veya bu bakterilerle kontamine olan eşyalarladır. Direkt bulaşmada damlacıklar veya eller önemlidir. Mikroplar eşyaya, çevreye, sağlam insanlara yahut yaralara, yarıklara damlacık çekirdekleri veya tozlarla ulaşabilirler. Fakat önemli olan ıslak salgılardır. Bunlardan başka streptokokların sütlerle veya diğer gıdalarla bulaşması ile salgınlar oluşabilir. Yiyecek ve sulara bağlı epidemiler bildirilmiştir(2,60,61).

Streptokokkal farenjit çocukluk yaş grubunun en sık görülen bakteriyel enfeksiyonları arasında yer alır. Hastalık en çok 5-10 yaş arasında görülür. Hastalığa bütün yaş grupları duyarlıdır(2,44,49).

Streptokoklarla oluşan enfeksiyonlar ilkbahar ve kış aylarında sık görülür. Deri yerleşimli GAS daha çok tropikal iklimlerde görülürken boğaz enfeksiyonları insidansı sıcak iklimlerde yüksektir, hastalığın ağırlığı ise soğuk havada artmaktadır(44).

Streptokoklarla olan enfeksiyonlardan kızılın epidemiyolojisi difteriye benzer. Bu iki hastalıkta da boğaza yerleşme ve ekzotoksin salınımı vardır. Her iki hastalıkta da taşıyıcıların sayısı hastaların sayısından fazladır. Ayrıca her iki enfeksiyonda çocukluktan itibaren sessiz enfeksiyonlarla aktif bir bağışıklama olmaktadır. Taşıyıcılık oranı %5-25 arasında değişir. Kışın ve ilkbaharda en yüksek seviyeye ulaşır(61).

Hastalığın insidansı süt çocukluğunda en düşüktür. Zira tipe spesifik antikorlar plasental geçiş ile koruyuculuk sağlar(44).

Damlacık enfeksiyonu veya direkt temas ile bulaştırıcı olduğundan kalabalık yerler örneğin; çok kişinin bir arada yaşadığı evler, okullar, askeri kışlalar, kreşler ve yuvalar hastalığın yayılmasını kolaylaştırır. İnsidans erişkin yaşa doğru azalır(2,44,49).

2.2.4.4. Patogenez ve bağışıklık

Farenksde infeksiyon oluşabilmesi için 2×10^7 GAS'ın farenksde kolonizasyonu gereklidir. İn hale edildikten sonra streptokoklar süratle çoğalırlar. Mukozaya lökosit akımı olur ve fagositoz işlevi başlar. Ancak her zaman bakterileri öldürmezler. Streptokokun M proteini ve kapsüldeki hyaluronik asid antifagositik aktive gösterir. Hücre duvarındaki polisakkarit-glikopeptid kompleksi enzimatik yıkıma dirençlidir. Ayrıca mikroorganizmalar lökotosik DPN aze ve streptolizin S ile birlikte iş görürler. Fagositte edilmemiş streptokokların streptolizin O enzimlerinin lökotosik etkisi vardır. Lökositlerin ve eritrositlerin lizisi ile inflamatuvar odaklar oluşur(32,44,49).

Streptokinaz fibrini parçalar ve hyalurinidaz ile birlikte bakterinin dokuda yayılmasını sağlar. Eritrojenik toksin bağışıklığı olmayan bir organizmada gelişirse kızıl hastalığı ortaya çıkar(32,44,49).

İnsan ve farelerde M antikorları da streptokok enfeksiyonlarına karşı koruyucudurlar. Streptokok enfeksiyonlarından iyileşenlerde M antikorları yavaş yavaş gelişir öyle ki haftalar hatta aylar sonra ortaya çıkabilir. M antijenleri ile ilgili bağışıklık tipe özgüdür, diğer tiplere karşı çok az bağışıklık sağlar. Antibiyotiklerle yeterli derecede tedavi edilen hastalarda M antikorları gelişmeyebilir. Bu gibi insanlar iyileşme sırasında yeniden enfeksiyona yakalanabilirler. Bu olay penisilin tedavisi çıktıktan sonra artan tekrarlayan enfeksiyonları açıklayabilir. M antikorları fagositozu kolaylaştırır(2,49,61).

2.2.4.5. GAS enfeksiyonlarında tedavi ve korunma

Streptokok enfeksiyonunun tedavisi için tercih edilecek antibiyotik penisilindir. İn vivo şartlarda tüm GAS'lar penisiline duyarlıdır. Uygun bir tedavi ile streptokok

enfeksiyonları kontrol altına alınarak komplikasyonlar önlenebilir, romatizmal ateş insidansı düşer. Tedaviye 10 gün devam etmek şarttır, zira ancak doku ve kandaki streptokoka etkili kan düzeyi sağlanabilir. Çalışmalar streptokok farenjiti veya pyoderminin günde 4 doz halinde oral yolla 15 mg/kg/gün penisilin V ile tedavi olabileceğini göstermiştir. Penisilin V'nin mide dolu iken bile istenilen kan düzeyini sağlayacak emilimi olmaktadır. Ayrıca benzathine penicillin G 1.200.000 İ.Ü tek doz i.m olarak uygulanabilir(2,33,49).

Penisilin allerjisi olan kişilerde eritromisin kullanılır. 20-40 mg/kg/gün 2 veya 4'e bölünerek verilir. Tetrasiklinlere direnç geliştiği bildirilmektedir. Oral sefalosporinler, streptokokal farenjitin tedavisinde etkilidir. Bununla birlikte penisilin dışındaki antibiyotiklerle tedavi gören çocuklarda relaps sıktır. Sülfonamidler tedavide kullanılmaz, fakat romatizmal ateş profilaksisinde kullanılabilir. Üç haftada bir tekdoz halinde 1.200.000 ünite benzathin penisilin kas içine uygulanması romatizmal ateşe karşı iyi bir koruma sağlar.(44)

Tablo I: Streptokok gruplarının ayırıcı tanısında kullanılan testler(29)

<u>Streptokok Grubu</u>	<u>Hemoliz</u>	<u>Basitrasin Duyarlilik</u>	<u>SXT</u>	<u>CAMP</u>	<u>Hippurat Hidroliz</u>	<u>PYR</u>	<u>Safra-esk. Hidroliz</u>	<u>% 6.5 Tuz Tolerans</u>
Grup A	Beta	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Grup B	Beta	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(D)
Grup D								
Enterokok	Gamma	(-)	(-)	(-)	(D)	(+)	(+)	(+)
Non-enterokok	Gamma	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Non-A,B,D hemolitik streptokoklar	Beta	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Viridans grup	Alfa	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Gamma							

Not: SXT= Trimethoprim-sulfame thaxazole

PYR= L-pyrrolidonyl-B-naphthylamide

3. G E R E Ç V E Y Ö N T E M

Anadolu Üniversitesi Eğitim ve Uygulama Hastanesi' ne boğaz ağrısı, ateş... gibi üst solunum yolu şikayetleri ile başvuran 400 hastanın boğaz sürüntüsü örnekleri GAS izole etmede dört ayrı besiyerine ekim yapılarak Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarımızda değerlendirildi. GAS izole etmede kullanılan dört ayrı besiyerinin farklılık ve üstünlükleri araştırıldı.

Hasta grupları: Üst solunum yolu şikayetleri olan 400 hasta eküvyon ile her iki tonsilladan, farenks arka duvarından ve özellikle lezyonlu bölgelere bastırılarak ve döndürülerek alındı. Daha sonra eküvyon içinde steril buyyon bulunan tüpe batırıldı. Örnekler en geç bir saat içinde Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderildi.

Kullanılan besiyerleri^x: Boğaz sürüntü örnekleri için taşıyıcı sıvı besiyeri olarak Brain Heart Infusion Broth kullanıldı. GAS üretmede farklılık ve üstünlüklerini belirlemek amacıyla boğaz sürüntüleri önce Columbia Blood Agar Base besiyerine, sonra herhangi bir sıraya dikkat etmeksizin Columbia CNA Agar, CNAK Agar ve Koyun Kanlı Agar besiyerlerine ekim yapıldı. Bu besiyerlerine %5 defibrine steril koyun kanı katıldı. Bu çalışmada Columbia CNA Agar içine kristal viyolete katarak yeni modifiye bir besiyeri oluşturarak CNAK Agar olarak adlandırdık. İlk kez kullandığımız CNAK Agar'ı GAS izole etmedeki duyarlılığı, üstünlüğü yönünden karşılaştırdık.

Kültürlerin değerlendirilmesi: Kültürler 37°C de 24 saat %5-10 CO₂'li ortamda inkube edildi. %5-10 CO₂'li ortam, mumlu kavonoz içinde mum yakarak oluşturuldu(31). Bu inkubasyondan sonra saptanan beta hemolitik, morfolojik olarak streptokoklar ile uyumlu koloniler, Gram boyama, mikros-

^x Çalışmada kullanılan besiyeri ve diğer testlerle ilgili ayrıntılı bilgi 21. sayfada alfabetik sıra ile verilmiştir.

kobik görünüm, katalaz olumsuz özellikleriyle streptokok olarak kabul edildi.

Kültürler koloni sayıları dikkate alınarak üreme yoğunluğu bakımından;

1. (1-10 koloni) +
2. (10-50 koloni) ++
3. (50'den fazla koloni) +++
4. (Baskın üreme veya saf kültür) ++++

olarak değerlendirildi (17).

Grup A Streptokokların (GAS) gruplandırması: Basitrasin-SXT duyarlılığına göre muhtemel GAS tanısı konabilir. Basitrasine duyarlı SXT'ye dirençli streptokoklar muhtemelen A grubudur (17). Test kısaca şöyle yapılır. Öze ile yoğunca beta hemolitik kolonisi alınıp %5 koyun kanlı agar besiyerinin yarısına pasaj yapılarak üzerine 0.04 Ü basitrasin içeren diskler (Difco, 1631-33-6) ve bunun 2 cm kadar uzağına 1.25 mg trimethoprim ve 23.75 mg sulfamethaxazole (SXT) diskleri konup 37°C'de %5-10 CO₂'li ortamda 24 saat inkube edildi. Basitrasin etrafında oluşan herhangi bir inhibisyon zonu 11 mm altında ise dirençli kabul edildi (17, 29).

Basitrasin-SXT testleri sonucuna bakmaksızın beta hemolitik streptokokların gruplandırılmasında lateks aglutinasyon testi (Bacto Strep Group A Reagent, 3861-83-2) uygulandı.

Lateks aglutinasyon işleminden önce beta hemolitik streptokokun hücre duvarında yer alan gruba özel C karbonhidratı açığa çıkarıldı. Bu amaçla Bacto Antigen Extractant 1, 2 ve 3 karışımından oluşan Bacto Antigen Extraction Set (Difco, 3870-32-3) kullanıldı. Bacto Antigen Extractant 1'den 5 damla steril bir tüpe damlatıldı. Test edilecek, kültür veya pasajdan 4-5 adet beta hemolitik streptokok kolonisi bir öze yardımı ile alınıp bu tüp içerisinde süspansiyon haline getirildi. 3 damla Bacto Antigen Extractant 2 solusyonundan ilave edilip 5 dakika oda ısısında bekle-

tildi. Daha sonra 2-damla Bacto Antigen Extractant 3 solusyonundan tüp içine damlatıldı. Çalkalanıp 2 dakika beklendi. Daha sonra pastör pipeti kullanarak, ekstrakte edilen süspansiyonlardan bir damla alınarak bir lam üzerine konuldu ve üzerine bir damla Bacto Strep Group A Reagent damlatılıp bir çubuk ile karıştırılarak homojenize edildi. Yavaş bir şekilde lam çevrilerek, bir dakikanın sonundaki aglutinasyon varlığı araştırıldı.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde Kirby-Bauer Disk Diffüzyon yöntemi kullanıldı(38).

Çalışmamızda kullanılan besiyeri ve diğer testlerle ilgili ayrıntılı bilgiler aşağıda görülmektedir(14).

Besiyerleri:

Brain Heart Infusion Broth (Oxoid, code CM 225)

Calf Brain Infusion Solids	12.5 g
Beef Heart Infusion Solids	5 g
Proteose Peptone(Oxoid L 46)	10 g
Soduim Chloride	5 g
Dextrose	2 g
Disodium phosphate, anhyd.	2.5 g
Distile su	1000 ml

pH: 7.4(yaklaşık)

Hazırlanışı: 37 Gram toz besiyeri 1000 ml distile suda eritildi. Eküvyonlu tüplere 2'şer ml konduktan sonra otoklavda 121°C de steril edildi.

Columbia Blood Agar Base (Difco, 0792-05-7)

Bacto antone	10 g
Bacto Bitone	10 g
Tryptic Digest of Beef Heart	3 g
Corn Starch	1 g
Sodium Chloride	5 g
Bacto Agar	15 g
Distile Su	1000 ml

pH: 7.3 - 0.2 (25°C'de)

Columbia CNA(Colistin-Nalidiksik Asid) Agar(Difco, 0867-05-7)

Bacto Pantone	10 g
Bacto Bitone	10 g
Tryptic Digerst of Beef Heart	3 g
Corn Starch	1 g
Sodium Chloride	5 g
Colistin Sulfate	10 mg
Nalidixic Acid	15 mg
Bacto Agar	15 g
Distile Su	1000 ml

pH: 7.3 - 0.2 (25°C'de)

Columbia CNAK Agar(Columbia CNA Agar+1/500.000 Kristal Viyoleto)

İlk defa bizim çalışmamızda kullanılan bu besiyeri Columbia CNA Agar'a 1/500.000 oranında kristal viyoleto boyası ilavesi ile elde edildi.

Crystal Violet (Merck, Art.1408)

Koyun Kanlı Agar'ın içeriği;

Lab-Lemco Powder(Oxoid, L 29)	6.25 g
Bacto-Peptone(Difco, 0118-01-8)	11.25 g
Natrium Chlorid Krist.(Merck, art.6404)	5 g
Bacto-Agar(Difco, 0140-01-8)	12.5 g

pH: 7.3 - 0.2 (25°C'de)

Katı besiyerlerinin hazırlanışı:

Columbia Blood Agar Base'nin hazırlanışı: 44 gram toz besiyeri 1000 ml distile suda çözündürüldü. Otoklavda 121°C de 15 dakikada steril edildi. 45°C ye soğutulurak %5 defibrine koyun kanı ilave edilip steril petri kutularına uygun miktarlarda dağıtıldı.

Columbia CNA Agar'ın hazırlanışı: Columbia Blood Agar Base'de olduğu gibidir.

CNAK Agar'ın hazırlanışı: 44 Gram toz besiyeri 1000 ml distile suda çözüldürüldü. 2 mg kristal viyoleet ilave edildi. Otoklavda 121°C de 15 dakikada steril edildi. 45°C ye soğutularak %5 defibrine koyun kanı ilave edilip, steril petri kutularına uygun miktarlarda dağıtıldı.

Koyun Kanlı Agar'ın hazırlanışı: 1000 ml distile su içine 6.25 g Lab-lemco powder, 11.25 g Bacto Peptone, 5 g Natrium Chloride kristali, 12.5 g Bacto Agar katılıp eritildi. Otoklavda 121°C de 15 dakikada steril edildi. 45°C ye soğutularak %5 defibrine koyun kanı ilave edilip, uygun miktarlarda steril petri kutularına dağıtıldı.

4. B U L G U L A R

Anadolu Üniversitesi Eğitim ve Uygulama Hastanesine başvuran üst solunum yolu enfeksiyonu ön tanısı almış 400 hastanın boğaz kültürleri değerlendirildi. Toplam 400 olgudan 178'i 3 besiyerine 222'si 4 besiyerine ekilerek iki ayrı grupta ele alındı. Sonuçları topluca değerlendirildi.

1.Grup: 178 Boğaz sürüntü örneği Columbia, CNA ve CNAK Agara ekilerek besiyerlerindeki üremeler karşılaştırıldı. Değerlendirmeye aldığımız 178 boğaz sürüntüsünün 30'unda (%17) A grubu, 12(%7) sinde Non-GAS üretildi. 30 GAS'un 20(%67) si Columbia Agar, 27(% 90)si CNA, 28(%93)i CNAK besiyerlerinde üretildi. 12 Non-GAS'ın ise 5(%42) si Columbia, 11(%92)'si CNA ve 11(%92)'si CNAK besiyerlerinde üretildi. Sonuçlar Tablo II ve III 'de verilmiştir.

2.Grup: 222 Boğaz sürüntüsü Columbia, CNA, CNAK ve Koyun Kanlı Agar'a ekilerek besiyerleri karşılaştırıldı. 222 Boğaz sürüntüsünün 35'inde(%15.76) GAS ve 10'unda (%4.5) Non-GAS üretildi. 35 GAS'ın 15(%42.8) Columbia, 32' si(%91.4) CNA, 32'si(%91.4) CNAK ve 27'si(%77.1) Koyun Kanlı Agar besiyerlerinde üretildi. 10 GAS'ın 5'i(%50) Columbia, 8'i(%80) CNA, 9'u(%90) CNAK ve 4'ü(%40) Koyun Kanlı Agar besiyerlerinde üretildi. Sonuçlar TabloIV ve V'de verilmiştir.

Toplam: 400 Boğaz sürüntüsünde Columbia, CNA, CNAK besiyerlerinde üreyen GAS ve Non-GAS'lar Tablo VI ve VII de verilmiştir. 400 boğaz kültüründe toplam 65(%16. 5) GAS ve 22(%5.5) Non-GAS üretilmiştir. 65 GAS'ın 35'i(%53.8) Columbia, 59'u(%90.7) CNA ve 60'ı(%92.3) CNAK besiyerlerinde üretildi. Üretilen 22 Non-GAS'ın 11'i(%50) Columbia, 19'u(%86.3) CNA ve 20'si(%90.9) CNAK besiyerlerinde üretil-di.

Boğaz sürüntülerinden GAS izole etme yönünden besiyerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlılığı-

nı test ettik. Bu amaçla bağımlı örneklerde X^2 testi uygulayarak GAS üretmede kullanılan besiyerleri ikili olarak karşılaştırılmış sonuçlar tablo VIII,IX,X,XI,XII,XIII'de gösterilmiştir.

CNAK besiyeri streptokoklar için tam bir seçicilik göstermiş olup bu besiyerinde sadece streptokoklar üreyebilmiştir. CNA besiyerinde koliform bakterilerin hiç üreyemediği, fakat bazı stafilokok ve neisseriaların üreyebildiği görülmüştür. Columbia besiyerinde ise çoğu neisseria suşları çok geniş ve R tipi koloni oluşturarak, diğer bütün bakterilerin üzerini kaplayacak şekilde üremişlerdir. Bu üç besiyerinin en az birinde GAS ürerken, besiyerlerinde floranın 1/5'inden daha fazla miktarda üreyen bakteriler değerlendirmeye alınmış ve sonuçlar tablo XIV'de verilmiştir.

65 GAS'ın tamamı basitrasine duyarlı, 63'ü(%96.9) SXT'ye dirençli bulundu. 22 Non-GAS'ın tamamı ise basitrasine dirençli, 17'si(%77.3) SXT'ye duyarlı, 5'i(%22.7) dirençli bulundu.

Bütün GAS suşları penisilin G, ampisilin, metisilin, amoxicillin+clovulonik asid'e duyarlı bulunmuştur. Eritromisin'e 2(%3.1), kloramfenikol'e 4(%6.2), tetrasiklin'e 5(%7.8) suşun dirençli olduğu saptanmıştır. Linkomisin, aztreonam ve amikasin'e sırasıyla 58(%90.6), 59(%92.2), 62(%96.8) suşun dirençli olduğu saptanmıştır. 64 GAS'ın on farklı antibiyotiğe duyarlılık sonuçları tablo XV'de verilmiştir.

Tablo II: 178 Boğaz sürüntüsünden izole edilen 30 GAS'ın üç farklı besiyerinde üreme oranlarının dağılımı.

	Üreme Yoğunluğu	Columbia	CNA	CNAK
+	(1-9 koloni)	5	7	5
++	(10-50 koloni)	1	4	5
+++	(50 koloni)	0	2	4
++++	(Baskın veya saf üreme)	14	14	14
Üremelerin toplamı		20	27	28

TabloIII: 178 Boğaz sürüntüsünden izole edilen 12 Non-GAS'ın üç farklı besiyerinde üreme oranlarının dağılımı.

	Üreme Yoğunluğu	Columbia	CNA	CNAK
+	(1-9 koloni)	1	4	5
++	(10-50 koloni)	1	4	3
+++	(50 koloni)	0	0	0
++++	(Baskın veya saf üreme)	3	3	3
Üremelerin toplamı		5	11	11

TabloIV: 222 Boğaz sürüntüsünden izole edilen 35 GAS'ın dört farklı besiyerinde üreme oranlarının dağılımı.

	Üreme Yoğunluğu	Columbia	CNA	CNAK	Koyun Kanlı
+	(1-9 koloni)	5	7	9	4
++	(10-50 koloni)	2	10	9	7
+++	(50 koloni)	4	9	8	7
++++	(Baskın veya saf üreme)	4	6	6	9
Üremelerin toplamı		15	32	32	27

Tablo V : 222 Boğaz sürüntüsünden izole edilen 10 Non-GAS'ın dört farklı besiyerinde üreme oranlarının dağılımı.

	Üreme Yoğunluğu	Columbia	CNA	CNAK	Koyun Kanlı
+	(1-9 koloni)	3	3	3	1
++	(10-50 koloni)	1	4	3	1
+++	(50 koloni)	1	1	3	2
++++	(Baskın veya saf üreme)	0	0	0	0
Üremelerin toplamı		5	8	9	4

Tablo VI : Toplam 400 boğaz sürüntüsünden izole edilen 65 GAS'ın üç farklı besiyerinde üreme oranlarının dağılımı.

	Üreme Yoğunluğu	Columbia	CNA	CNAK
+	(1-9 koloni)	10	14	14
++	(10-50 koloni)	3	14	14
+++	(50 koloni)	4	11	12
++++	(Baskın veya saf üreme)	18	20	20
Üremelerin toplamı		35	59	60

Tablo VII : Toplam 400 boğaz sürüntüsünden izole edilen 22 Non-GAS'ın üç farklı besiyerinde üreme oranlarının dağılımı.

	Üreme Yoğunluğu	Columbia	CNA	CNAK
+	(1-9 koloni)	4	7	8
++	(10-50 koloni)	3	8	6
+++	(50 koloni)	1	1	3
++++	(Baskın veya saf üreme)	3	3	3
Üremelerin toplamı		11	19	20

Tablo VIII: GAS üretmesi açısından CNAK ve Koyun Kanlı Agar besiyerlerinin karşılaştırılması.

Koyun Kanlı	CNAK		Toplam
	Üreyen	Üremeyen	
Üreyen	26	1	27
Üremeyen	6	2	8
Toplam	32	3	35

χ^2 : 0.1241, $p > 0.05$

GAS üretme açısından CNAK ve Koyun Kanlı Agar besiyeri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

TabloIX: GAS üretmesi açısından CNA ile Koyun Kanlı Agar besiyerlerinin karşılaştırılması.

Koyun Kanlı	CNA		Toplam
	Üreyen	Üremeyen	
Üreyen	25	2	27
Üremeyen	7	1	8
Toplam	32	3	35

$$\chi^2: 0.8759, p > 0.05$$

GAS üretme açısından CNA ve Koyun Kanlı Agar besiyerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Tablo X : GAS üretmesi açısından Columbia ile Koyun Kanlı Agar besiyerlerinin karşılaştırılması.

Koyun Kanlı	Columbia		Toplam
	Üreyen	Üremeyen	
Üreyen	16	11	27
Üremeyen	2	6	8
Toplam	18	17	35

$$\chi^2: 0.0964, p > 0.05$$

GAS üretme açısından Columbia ve Koyun Kanlı Agar besiyerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Tablo XI: GAS üretmesi açısından CNAK ve CNA besiyerlerinin karşılaştırılması.

CNAK	CNA		Toplam
	Üreyen	Üremeyen	
Üreyen	54	6	60
Üremeyen	5	0	5
Toplam	59	6	65

$$\chi^2: 0.6061, p > 0.05$$

GAS üretme açısından CNAK ve CNA besiyerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Tablo XII : GAS üretmesi açısından Columbia ve CNA besiyerlerinin karşılaştırılması.

CNA	Columbia		Toplam
	Üreyen	Üremeyen	
Üreyen	37	22	59
Üremeyen	1	5	6
Toplam	38	27	65

$$\chi^2: 0.0407, p < 0.05$$

GAS üretme açısından Columbia ve CNA besiyerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. CNA, GAS üretme açısından Columbia'dan üstündür.

Tablo XIII: GAS üretme açısından Columbia ve CNAK besiyerlerinin karşılaştırılması.

CNAK	Columbia		Toplam
	Üreyen	Üremeyen	
Üreyen	38	22	60
Üremeyen	0	5	5
Toplam	38	27	65

$$\chi^2: 0.0098, p < 0.01$$

GAS üretme açısından Columbia ve CNAK besiyerleri arasındaki fark istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulunmuştur. CNAK, GAS üretme açısından Columbia'dan üstündür.

Tablo XIV: Üç farklı besiyerinde 65 GAS ürerken eşlik eden diğer bakterilerin sayısı^{xx}

Eşlik eden bakteri	Columbia	CNA	CNAK
Alfa hemolitik streptokoklar	50	47	48
Neisserialar	36	13	0
Stafilokoklar	10	6	0

Boğaz kültürlerinde GAS ile birlikte alfa-hemolitik streptokok üremesi bakımından üç besiyerinde fark olmadığı, neisseria ve stafilokokların CNAK besiyerinde üremelerinin tamamen inhibe olduğu, Columbia besiyeri standart alındığında CNA besiyerinde neisserialar %63.8, stafilokoklar %40 oranında inhibe edildiği tablo XV'de verilmektedir.

Tablo XV : Toplam 400 boğaz sürüntüsünden izole edilen 64 GAS'ın 10 antimikrobik maddeye duyarlılık durumları.

İlaç Adı	Duyarlı	Dirençli	Dirençlilik yüzdesi
Penisilin G	64	0	0
Ampisilin	64	0	0
Amoksisilin-Klavulonik Asid	64	0	0
Metisilin	64	0	0
Eritromisin	62	2	3.1
Kloramfenikol	60	4	6.2
Tetrasiklin	59	5	7.8
Linkomisin	6	58	90.6
Aztreonam	5	59	92.2
Amikasin	2	62	96.8

xx: Besiyerindeki üremenin 1/5'inden daha fazla olan bakterilerin sayısı.

5. T A R T I Ő M A

Boğaz sürüntülerinde GAS tanımlanmasında en duyarlı yöntem etkenin üretilmesidir. %5 koyun kanlı agar dünyanın bir çok laboratuvarında kullanılan standart besiyeridir(17,63,64). Geçen yüzyılın sonlarından beri beta hemolitik streptokokların kültürde üretilmesinin daha duyarlı hale getirmeye yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır (5-7,17,31). Bu amaçla kültürlerin değişik atmosferlerde inkubasyonu denenmiştir. Anaerop ortamın aerop ortama göre istatistiksel önemi olmayan oranlarda daha fazla üreme sağladığı fakat anaerop ortam daha uzun süreli(48 saat) inkubasyon gerektirmiştir(37). Bir çok araştırmacı bunun aksine anaerop inkubasyonun aerop inkubasyondan üstün olduğunu bulmuşlardır(16,28,40,41,48). GAS izole etme yönünden anaerop ve %5-10 CO₂'li ortamda inkubasyon arasında fark olmadığı bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiş (37,41), hatta %5 CO₂'li ortamın anaerop ortamdaki üstün olduğu gösterilmiştir(48). GAS izole etmek için boğaz kültürleri çoğu laboratuvarında %5-10 CO₂'li ortamda inkube edilmektedir(20). Bizde bu yüzden çalışmada kullanılan bütün besiyerlerini %5-10 CO₂'li ortamda inkube ettik.

Boğaz sürüntülerinde GAS tanımlanmasındaki diğer bir yöntem streptokokların gruba özgül "C" karbonhidrat antijenlerinin direkt gösterilmesine yöneliktir. Bu amaçla çok sayıda kit piyasaya sürülmüş olup bu konuda çok sayıda araştırma yapılmıştır. Stömberg ve Schwan(57), 264 boğaz sürüntüsünde bir koaglutinasyon testi olan Phadirect Strep-A testi ile standart boğaz kültürünü karşılaştırdıklarında, direkt koaglutinasyon testinin duyarlılığını %78, özgüllüğünü %97 bulmuşlardır. Aynı konuda değişik kitlerle çalışan araştırmacılar duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla Mc Cusker ve ark.(39) %90.9 ve %92.2, Slifkin ve Gil(54) %95.1 ve %99.3, Durupınar ve ark.(15) %79 ve %85, Gerber ve ark.(22) %84 ve %99, White ve ark.(63) %78 ve %88, Graham ve

ark. (26) %95.1 olarak bulmuşlardır. Facklam(18) makalesinde boğaz sürüntülerinden GAS tanımlanmasında 27 araştırmacının sonuçlarını karşılaştırmış olup genel olarak özgüllük %88-100 ve duyarlılık %44-100 arasında değişmektedir. Bu testleri genel olarak değerlendirdiğimizde %70-80 duyarlılığa ve %85-95 özgüllüğe sahiptirler. Bu yöntemler 10-15 dakika gibi kısa sürede sonuç vermelerine rağmen kültüre göre duyarlılıkları az ve daha pahalıdır. Bu yüzden boğaz sürüntülerinden GAS izole etmede kültür yöntemi halen önemini korumaktadır.

Beta hemolitik streptokokların kültürde üretilmesinin daha duyarlı hale getirmeye yönelik çalışmalardan bir diğeri de, besiyerine beta hemolitik streptokoklar için seçici özellik kazandıran antimikrobik maddelerin konulmasıdır(17,47). Graham ve ark.(26), Koyun Kanlı Agar ile colistin, kristal viyolet, trimethoprim-sulfamethaksazol içeren koyun kanlı agarı karşılaştırdıklarında duyarlılıklarını sırasıyla %86.2 ve %99.3 olarak bulmuşlardır. Carlson ve ark.(11) aynı besiyerlerini karşılaştırmışlar ve duyarlılıklarını sırasıyla %91.7 ve %98.9 olarak bulmuşlardır. Gunn ve ark.(27) koyun kanlı agar ile her ml.sinde 23.75 mikrogram sulfamethaksazol ve 1.25 mikrogram trimethoprim içeren koyun kanlı agarı boğaz kültürlerinde GAS izole etme yönünden karşılaştırmışlardır. Sonuçta seçici madde içeren besiyerini koyun kanlı agara göre %42 oranında üstün bulmuşlardır. Kurzynski ve Meise(35) aynı besiyerlerinde yaptıkları çalışmada koyun kanlı besiyerinin duyarlılığını %79.4, SXT içeren koyun kanlı besiyerinin duyarlılığını %90.7 olarak bulmuşlardır. Kurzynski ve ark.(36) aynı besiyerlerinde yaptığı çalışmada duyarlılıkları sırasıyla %74 ve %99 olarak bulmuşlardır. Libertin ve ark.(37) aynı besiyerlerinde diğer araştırmacıların tersine 1805 boğaz sürüntüsünden koyun kanlıda 215 (%11.9) SXT'li koyun kanlıda 130(%7.2) oranında GAS izole edilmiştir. Benzer sonuçlar Mirrett ve ark.(40) tarafından elde edilmiştir ve duyarlılıkları sırasıyla %79.1 ve %77.1 olarak

bulunmuştur. Bir başka benzer sonuç da Raddey ve ark.(50) tarafından elde edilmiş olup, burada seçici ajan olarak kristal viyoleto, colistin ve SXT kullanılmış, 512 boğaz sürüntüsünün 180'inde(%35) koyun kanlıda ve selektif koyun kanlıda 167'sinde(%33) GAS üretilmiştir. Vincent ve ark. (62) seçici madde olarak neomisin ve nalidiksik asit kullandıklarında 208 boğaz sürüntüsünün 64'ünde(%30.7), koyun kanlı besiyerinde, 66'sında(%31.7) seçici besiyerinde GAS izole etmişlerdir. Dykstra ve ark.(16) yaptıkları benzeri çalışmada duyarlılıkları sırasıyla %98 ve %84 olarak bulmuşlardır.

Boğaz sürüntülerinden GAS izole etmede besiyerine seçici madde katılmasını önerenler yanında aleyhinde görüş bildirenler de bulunmaktadır. Boğaz sürüntüleri karışık flora içeren örneklerdir. Bu yüzden az miktarda bulunduğunda GAS'ların bu flora tarafından baskılanması kaçınılmaz olacaktır. Diğer flora bakterilerinin üremelerini baskılamak amacıyla SXT, gentamisin, amikasin, sodyum azide, feniletanol ve fusidik asid gibi maddeler denenmiştir(11,17,21, 28,30). Bu maddelerin besiyerlerine katılmaları ile boğaz sürüntülerinden GAS izole etmede başarı oranı genellikle artmaktadır. Bu amaçla kullanılan colistin-nalidiksik asid kombinasyonu Gram negatif bakterileri inhibe ettiği halde stafilokok ve difteroidleri inhibe etmede yetersiz kalmaktadır. 1/500.000 Konsantrasyonda kristal viyoleto ise streptokokları etkilemeksizin stafilokokları inhibe edebilecek bir maddedir. Çalışmamızda colistin-nalidiksik asid karışımına, kristal viyoleto ekleyerek, hem gram negatif bakterilerin, hem de stafilokokların üremelerini baskılamayı amaçlayan ve ilk kez bu çalışmada kullanılan, "CNAK" - Columbia Agar'ı GAS üretmede denedik. CNA Agar'a 1/500.000 sulandırılmış kristal viyoleto ekleyerek hazırlanan bu besiyerini, Columbia Agar, CNA Agar ile boğaz sürüntülerinden GAS izole etme yönünden duyarlılıklarını saptamak amacıyla karşılaştırdık. 178 Boğaz kültüründe toplam 30 GAS ve 12 Non-GAS üretilmiştir. 30 GAS süşunun 20'si(%67) Columbia'da

27'si(%90) CNA'da ve 28'i(%93) CNAK besiyerlerinde üretilmiştir(tablo II). 12 Non-GAS'ın 5'i(%41.6) Columbia'da, 11'i(%91.6) CNA'da ve 11'i(%91.6) CNAK besiyerlerinde üretilmiştir(tablo III). GAS izole etme yönünden CNA ve CNAK besiyerleri arasında belirgin bir fark yoktur(tablo XI, $X^2:0.6061$, $p>0.05$). Bu iki besiyeri ile Columbia besiyeri arasında belirgin bir fark bulunmuştur. GAS üretmede CNA ve CNAK agar Columbia agardan üstün olarak belirlenmiştir (tablo XII ve XIII, $X^2:0.0407$, $p<0.05$; $X^2:0.0098$, $p<0.01$). CNA ve CNAK besiyerleri arasında GAS üretme yönünden belirgin bir fark olmamasına rağmen CNAK besiyerinde streptokoklar dışında bütün bakteriler inhibe edildiğinden değerlendirme daha kolay işlemler daha az zaman alıcı olmaktadır.

Non-GAS üretme yönündende üç besiyeri karşılaştırıldığında CNA ve CNAK'agarın Columbia agara göre üstün olduğu görülmüştür(tablo III).

Deneyin ikinci bölümünde dört besiyeri karşılaştırdık. Bunlar Columbia, CNA, CNAK ve koyun kanlı agardı. GAS izole etme yönünden en üstün CNA ve CNAK agar bulundu. İkinci sırada koyun kanlı agar ve onu takiben Columbia agar bulundu(tablo X-XIII). Non-GAS izole etmede ise en üstün CNA ve CNAK ikinci sırada hemen hemen aynı duyarlılıkta Columbia ve koyun kanlı agarın yer aldığı görüldü(tablo V).

Tablo XIV'de GAS ürerken ona eşlik eden bakterilerin dağılımı görülmektedir. CNAK besiyeri streptokoklar için tam bir seçicilik göstermiş olup, bu besiyerinde sadece streptokoklar üreyebilmiştir. Bu sonuç beklediğimiz bir durumdur. Çünkü bu besiyerindeki colistin nalidiksik asid kombinasyonu koliformları inhibe etmektedir(17). Üçüncü seçici madde olarak ilave ettiğimiz kristal viyoleto ise stafilokok, neisseria, difteroid gibi bakterilerin üremelerini inhibe etmektedir(17,29). CNA agarda 13(%20) neisseria ve 6(%9) stafilokok ürerken Columbia'da 36(%55) neisseria ve 10(%15) stafilokok üretilmiştir. CNA besiyerinin içinde bulunan colistin-nalidiksik asid kombinasyonu neis-

seria ve stafilokokların inhibisyonunda tam başarılı olamamaktadır. Columbia agarda %50 oranında neisseria üremiştir. Bu neisseriaların R tipinde çok geniş koloniler yaptığı görülmüş ve GAS'ların üremesini baskıladığı ve değerlendirmede güçlük çıkardığı belirlenmiştir.

Boğaz kültürlerinde GAS'ın karışık ürettiği durumlarda CNA ve CNAK besiyerlerine pasaj yapılarak saf GAS suşu elde edilebilir. Bu da laboratuvarında GAS tanımlanmasında oldukça kolaylık sağlar.

Çalışmamızda koyun kanlı agar ile hem CNA ve CNAK hem de Columbia Agar arasında GAS üretme açısından istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Boğaz kültüründe üreyen GAS'ların sayısı koyun kanlı agarda CNA ve CNAK agara göre daha düşüktür. Koyun kanlı agara kristal viyoleto gibi bir madde ilave edilerek boğaz sürüntülerinden GAS üretmedeki duyarlılığı arttırılabilir.

65 GAS'ın tamamı basitrasine duyarlı, 63'ü ise SXT'ye dirençli bulunmuştur. 22 Non-GAS'ın tamamı basitrasine dirençli, 17'si(%77.3) SXT'ye duyarlı 5'i(22.7) dirençli bulundu. Oskovi ve ark.(43) ürettikleri 58 GAS'ın 46'sını (%79.31) basitrasine duyarlı, 12'si(%20.68) basitrasine dirençli 92 Non-GAS'ın 1(%1.08) basitrasine duyarlı 91'i (%98.92) basitrasine dirençli bulmuşlardır. Bir çok temel kitapda GAS'ların basitrasine %99 duyarlılığından söz edilmektedir(4,20,29). Diğer beta hemolitik streptokokların da değişen oranlarda (%10-20) basitrasine duyarlı olmaları nedeniyle son yıllarda bunun yanına SXT eklenmiştir. Basitrasine duyarlı SXT'ye dirençli olan beta hemolitik streptokoklar büyük olasılıkla A grubudur(17,29). Bizim çalışmamızda sadece basitrasine duyarlılığına bakılarak A grubu streptokok öntanısı koymak mümkün görülmektedir. GAS'ların basitrasine %100 duyarlılığı söz konusu olsa bile Non-GAS'ların %10-20 oranında basitrasine duyarlı olabileceğini varsayarak SXT duyarlılık testinin eklenmesi daha sağlıklı sonuç verecektir(17,29).

Streptococcus pneumoniae ve enterokok dışındaki streptokokların çoğu penisiline duyarlıdır(17). Grup A Streptokokların tümüyle penisiline duyarlı olmalarından dolayı rutin olarak antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılmasının gerekmediği ve ancak penisilin allerjisi varlığında veya tedaviden cevap alınmadığı durumlarda önerilmektedir. Ayrıca çeşitli araştırmalarda(7,10,43,52,58) üretilen GAS'ların hepsinin penisiline duyarlı olduğu belirtilmektedir. Bazı yayınlarda ise GAS'ların boğazdan eradikasyonunda değişen oranlarda(%2-43) başarısızlıkla karşılaşıldığı belirtilmektedir(13,19,23,53,55). Buradaki başarısızlığın nedenini araştırmacılar etken olan suşların penisiline toleran olabileceği(13,34), tükürükte beta laktamaz aktivitesinin varlığı(51), olguların çoğunun taşıyıcı olması(23), başarısızlıktan çok reenfeksiyon varlığı(59) olabileceği sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda incelediğimiz 65 GAS'ın tamamı penisiline duyarlı bulunmuştur. Bu bulgumuz literatür bilgisi ile uyumludur(17,29). Sonuç olarak penisilin keşfinden bu yana beta hemolitik streptokoklara karşı etkinliğinden hiçbir şey yitirmemiş olması, direncin hızla geliştiği ve yeni antibiyotik arayışlarının hızla sürdüğü günümüzde çok sevindirici bir durumdur. Ayrıca incelediğimiz 65 GAS suşunun tamamı ampisilin, amoksisilin-klavulonik asit ve metisiline duyarlı, eritromisinin %3.1'i, kloramfenikolün %6.2'si, tetrasiklinin %7.8'i, linkomisinin %90.6'sı dirençli ve daha çok gram negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde yeri olan aztreonamın %92.2'si, amikasinin %96.8'i dirençli bulunmuştur.

Sultan ve ark.(58) yaptığı çalışmada GAS'ların ampisilin, amoksisilin ve penisilin G'ye %100 duyarlı, eritromisine %3.33 dirençli bulunmuştur. Özsan ve ark.(46) yaptığı çalışmada tedavi yanında enfeksiyonun yayılmasını önlemede tek doz benzathine penisilin G 1.200.000 ile %99 başarı sağlamışlardır. Sıdal ve ark.(52) aynı dozda benzathine

penisilin G'nin iki doz uygulamasının GAS'ları boğazdan eradike etmede %100 etkinliğini göstermiştir. Bourbeau ve Campos(10) yaptıkları çalışmada ürettikleri 132 GAS'ın hiç birinde direnç saptamamış, eritromisine karşı %3, tetrasiklinlere karşı %5 direnç saptamışlardır.

Cengiz ve ark.(12) GAS'larda çeşitli antibiyotiklere değişen oranlarda direnç saptamışlardır. Ürettikleri 100 GAS'ın antibiyotik dirençliliği penisilin G %24, ampisilin %59, amoksisilin %17, metisilin %31, linkomisin %77, kloramfenikol %26 oranında dirençli bulunmuştur.

Çalışma sonuçlarımız Cengiz ve ark. yaptığı çalışma dışındaki yayınlarla uygunluk göstermektedir(7,43,52,58). Cengiz ve ark. yaptığı çalışmalarında GAS' tanısı için sadece basitrasine duyarlılığı kullanması, Non-GAS'ların da çalışmalarla GAS penisilin dirençliliğinin araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Antibiyogram sonuçlarımıza göre faringo-tonsilittlerin tedavisinde dolayısıyla postst reptokokal hastalıkları önlemede ilk tercih edilecek ilaç penisilindir. Tedaviye cevap alınamıyorsa veya penisilin allerjisi varlığında antibiyogram yapmak mümkün olamıyorsa öncelikle eritromisin, ikinci sırada kloramfenikol, üçüncü sırada ise tetrasiklin düşünülmelidir. Linkomisin, aztreonam ve amikasinin GAS tedavisinde etkisiz kaldığı sonucuna varılmıştır. Tekrarlayan GAS enfeksiyonlarında üretilen suşlara antibiyogram yapılmalıdır. Ancak in vitro duyarlılığa rağmen GAS enfeksiyonlarının penisilin G ile tedavisinde karşılaşılan başarısızlığın nedenleri dikkatlice araştırılmalıdır (45).

6. S O N U Ç L A R

1..Boğaz sürüntülerinden Grup A Streptokok izole etme yönünden inhibitör madde içeren CNA ve CNAK agar, inhibitör madde içermeyen Columbia Blood Agar'a göre üstün bulunmuştur. Koyun kanlı agar ile hem CNA ve CNAK hemde Columbia Agar arasında GAS üretme açısından istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. CNA ve CNAK besiyerlerinde GAS izole etme yönünden fark olmamakla birlikte, GAS ile bazen karışabilen beta hemolitik stafilocokların CNA besiyerinde üreyememesi ayrı bir üstünlük olarak değerlendirilmiştir.

..Colombia agar boğaz sürüntülerinden GAS izole etmede üstün bulunmamıştır.

2..Üst solunum yolu şikayetleri ile başvuran hastaların %16.25'inde GAS etken olarak yer almaktadır.

3..Basitrasin testi GAS tanımlanmasında %100 duyarlı bulunmuş olduğundan muhtemel tanı testi olarak önemini koruduğu sonucuna varılmıştır.

4..Üretilen 64 GAS suşunun tamamının penisilin ve türevlerine duyarlı bulunması nedeniyle GAS enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçilecek ilaç yine penisilin olmaktadır.

5..CNA ve CNAK besiyerleri boğaz sürüntülerinde az miktarda bulunan GAS'ları üretebildiklerinden tarama çalışmalarında kullanılabilir.

6..Boğaz kültürlerinde GAS'ın karışık ürediği durumlarda CNA ve CNAK besiyerlerine pasaj yapılarak saf GAS suşu elde edilebilir.

7..Koyun kanlı agara kristal viyoleet gibi bir inhibitör madde ilave edilerek boğaz sürüntülerinden GAS üretmedeki duyarlılığı arttırılabilir ve araştırmaya değer bir konudur.

8..Linkomisine karşı %90.6'a varan yüksek orandaki

direncin bulunmuş olması ise, bu antibiyotiğin yaygın kullanımını göz önünde tutulacak olursa akut faringotonsillitlerin ampirik tedavisindeki yaklaşımın hatalı olabileceğini düşündürmektedir.

7. Ö Z E T

Streptokoklar Streptococceae familyasında yer alan, insanlarda bir çok ciddi enfeksiyon ve komplikasyonlara neden olabilen bakterilerdir. İnsanlarda en önemli enfeksiyon etkeni A grubu olmakla beraber B,C,D,F ve G grubunda oluşturdukları enfeksiyonlar sebebi ile önem kazanmaya başlamışlardır(20,29,61).

Grup A Streptokok(GAS)'lar oluşturdukları akut enfeksiyonların yanı sıra akut romatizmal ateş ve glomerulonefrit gibi hastalıklara da yol açabilmektedir. Bu enfeksiyonun tanımlanması ve tedavisi önemli olmaktadır. Etkenin mikrobiyolojik tanısında kültür en duyarlı ve güvenilir yöntem olarak değerini korumaktadır. Boğaz sürüntüleri karışık flora içerdiklerinden GAS izolasyonunda seçici besiyeri önerilmektedir. Sadece GAS üremesini sağlamak amacıyla normal flora üyelerinin üremesine baskılayan sodium azide, crystal violet, nalidixic acid, sulfamethoxazole-trimethoprim, neomycin, gentamycin, colistin, oxolononic acid gibi inhibitör maddeler eklenmiş besiyerleri denenmektedir(17,29,31).

Bu çalışmada inhibitör madde içermeyen koyun kanlı agar ve Columbia Blood Agar ile Colistin Nalidixic Acid (CNA) Agar ve CNA Agar'a 1/500.000 crystal violet eklenmesi ile hazırlanan Colistin Nalidixic Acid Crystal Violet (CNAK) Agar besiyerleri kullanarak boğaz kültürlerinden GAS üretme açısından farklılık olup olmadığı araştırıldı. Bu amaçla ilk kez çalışmamızda CNAK Agar besiyeri olarak kullanıldı.

Üst solunum yolu enfeksiyonu olan 400 hastanın boğaz sürüntülerinden 178'i üç besiyerine, 222'si dört besiyerine ekilerek sonuçlar topluca değerlendirildi. 178 boğaz sürüntüsünün %17'sinde(30) GAS ve %7'sinde(12) Non-GAS üretildi. 30 GAS'ın %67'si(20) Columbia Agar, %90'ı(27) CNA Agar, %93'ü(28) CNAK Agar besiyerlerinde üretildi. 12 Non-GAS'ın ise %42'si(5) Columbia, %92'si(11) CNA ve CNAK Agar besi-

yerlerinde üretildi.

222 Boğaz sürüntüsünün %15.76'sında(35) GAS ve %4.5'inde(10) Non-GAS üretildi. 35 GAS'ın %42.8'i(15) Columbia, %91.4'ü(32) CNA ve CNAK Agar besiyerlerinde üretilmiştir. 10 GAS'ın %50'si(5) Columbia, %80'i(8) CNA Agar ve %90'ı(9) CNAK Agar ve %40'ı(4) koyun kanlı agar besiyerlerinde üretilmiştir.

400 Boğaz kültüründe toplam %16.25(65) GAS ve %5.5 (22) Non-GAS üretildi. 65 GAS'ın %53.8'i(35) Columbia, %90.7'si(59) CNA Agar ve %92.3'ü(60) CNAK Agar besiyerlerinde üretildi. Üretilen 22 Non-GAS'ın %50'si(11) Columbia, %86.3'ü(19) CNA Agar ve %90.9'u(20) CNAK Agar besiyerlerinde üretildi.

Boğaz kültürlerinde GAS üretme açısından CNA ve CNAK Agar besiyerleri, Columbia üstün bulunmuştur. Koyun kanlı agar ile hem CNA ve CNAK, hem de Columbia Agar arasında GAS üretme açısından istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. CNAK Agar besiyeri Streptokoklar için tam bir seçicilik göstermiş olup bu besiyerinde sadece streptokoklar üreyebilmiştir. CNA Agar besiyerinde koliform bakterilerin hiç üreyemediği, fakat bazı stafilokok ve neisseriaların üreyebildiği görülmüştür. Columbia besiyerinde ise bir çok neisseria suşları geniş ve R tipi koloniler oluşturarak, diğer bütün bakterilerin üzerini kaplayacak şekilde üredikleri gözlenmiştir.

65 GAS'ın tamamı basitrasine duyarlı, 63'ü SXT'ye dirençli bulunmuştur. 22 Non-GAS'ın tamamı ise basitrasine dirençli, 17'si(%77.3) SXT'ye duyarlı 54i(%22.2) dirençli bulunmuştur. Basitrasin testinin GAS muhtemel tanısında önemini koruduğu sonucuna varılmıştır.

Bütün GAS suşları penisilin G, ampisilin, metisilin, amoksisilin-klavulonik asid'e duyarlı bulunmuştur. Eritromisine 2(%3.1), kloramfenikole 4(%96.2), tetrasikline 5 (%7.8) suşun dirençli olduğu saptanmıştır. Linkomisin,

aztreonam ve amikasinine sırasıyla 58(%90.6), 59(%92.2), 62 (%96.8) suşun dirençli olduğu bulunmuştur. GAS'ların neden olduğu faringotonsillitlerin tedavisinde dolayısıyla post-streptokokal hastalıkları önlemede ilk tercih edilecek ilaç olarak penisilin G ve türevlerinin kullanılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

K A Y N A K L A R D İ Z İ N İ

1. Akan, E.: Tıbbi Mikrobiyoloji, Oba Kitapevi, Konya, 1986, s:23-48.
2. Alan, L.B.: Classification of Streptococci, In, Principles and Practice of Infectious Diseases, Mandell/Douglas/Bennett(Editors), Wiley, Med.Pub., Newyork, 1986, pp:1123.
3. Ayhan, Z.: Beta hemolitik streptokokların gruplandırılmasında kullanılan yöntemlerinin karşılaştırılması ve Grup B streptokokların önemi, Uzmanlık tezi, Ankara, 1984.
4. Bauer, J.D.: Clinical Laboratory Methods, Mosby Company, Toronto, Ninth edition, 1982, pp:835.
5. Beermen, CA., Goldblatt, SA.: Screening for group A streptococcus by means of anaerobic primary plate technique. Journal Pediatrics, 100/1:70-72, 1982.
6. Belli, CD., and et al.: Throat cultures for group A β -hemolytic streptococcus, AJDC 138:274-276, 1984.
7. Berkman, E., Yıldız, Y.: A grubunda beta hemolitik streptokokların tanımlanmasında basitrasın özel disklerinin kullanılması. Mikrobiol.Bült., 11:117-120, 1977.
8. Bilgehan, H.: Klinik Mikrobiyoloji, Bilgehan Basımevi, İzmir, 1986, s:249.
9. Bolatlı, T.: Gebelerde son trimesterde Grup B streptokok kolonizasyonunun araştırılması. Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 1989.
10. Bourbeau, P., Campos, JM.: Current antibiotic susceptibility of group A beta hemolytic streptococci. J. Infect Dis., 145:916, 1982.
11. Carlson, J.R., end et al.: Improved Recovery of Group A Beta Hemolytic Streptococci with a New Selective Medium, J.Clin. Microbiol., 21/3:307-309, 1985.
12. Cengiz, T., ve ark.: A grubu beta hemolitik streptokokların antibiyotiklere duyarlılığı. Mikrobiol.Bült. 23:163-173, 1989.
13. Dagan, R., et al.: A epidemic of penicillin-tolerant group A streptococcal pharyngitis in children living in a closed community: mass treatment with erythromycin. J Infect Dis., 156:514-516, 1987.
14. Difco Manual Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology, 10th ed. Difco Laboratories Detroit, Michigan, 1984.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

15. Durupınar, B., Özkuyumcu, C., Eren, Z.: A Grubu Streptokok infeksiyonlarının tanısında boğaz kültürü ve hızlı lateks aglutinasyon yönteminin karşılaştırılması, *Ondokuz Mayıs Üni.Tıp Fak.Derg.* 5(4):501-506, 1988.
16. Dykstra, M.A. and et al.: Comparison of Media and Techniques for Detection of Group A Streptococcus in Throat Swab Specimens. *J.Clin Microbiol.* 9/2: 236-238, 1979.
17. Facklam, R.R. and Carey, B.R.: Streptococci and Aerococci, in, *Manual of Clinical Microbiology*, Lennette, Balows, Hausler, Shadomy (Editors), 1985, pp:154.
18. Facklam, R.R.: Specificity Study of Detection of Group A Streptococci Directly from Throat Swabs. *J.Clin. Microbiol.* 25(3):504-508, 1987.
19. Feldmans, S., and et al.: Efficacy of benzathine penicillin G in Group A Streptococcal pharyngitis. Reevaluation. *J.Pediatr.* 110:783-787, 1987.
20. Finegold, S.M. and Baron, E.J.: *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, The C.V.Mosby Company, St. Louis, Toronto, Princeton, 1986, pp:366.
21. Freeburg, P.W. and Buckingham, J.M.: Evaluation of BacTilab Streptococci Culture Systems for Selective Recovery and Identification of Group A Streptococci. *J.Clin.Microbiol.* 3/4:443-446, 1976.
22. Gerber, M.A. and et al.: Latex agglutination tests for rapid identification of Group A Streptococci directly from throat swabs, *J.Pediatr.* 105(5):702-705, 1984.
23. Gestenaduy, A.S. and et al.: Failure of penicillin to eradicate Group A Streptococci during an outbreak of pharyngitis. *Lancet* ii. 498-502, 1980.
24. Ginsburg, I.: Streptococcus, In: *Microbiology*, Braude, I.A., Davis, E.C.(Editors), W.B. Saunders Company, Igaku-Shoin/Saunders International Edition, 1982, pp:281.
25. Gnenn, J.W., Gray, B.M., Griffin, F.M., Dismukes, W.E.: Acute glomerulonephritis following Group G Streptococcal infection. *J.Infect.Dis.* 156:411-412, 1987.
26. Graham, L. and et al.: Effect of Medium and Cultivation Conditions on Comparisons between Latex Agglutination and Culture Detection of Group A Streptococci, *J.Clin.Microbiol.* 24(4):644-646, 1986.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam ediyor)

27. Gunn, B.A. et al.: Selective and Enhanced Recovery of Group A and B Streptococci from Throat Cultures with Sheep Blood Agar Containing Sulfamethaxazole and Trimethoprim. *J.Clin Microbiol.*5(6):650-655, 1977.
28. Hayden, G.F. and et al.: Use of an Anaerobic Culture Jar in Processing Pediatric Throat Cultures. *Clinical Pediatrics.* 23(4):224-227, 1984.
29. Howard, B.: Streptococcus, in *Clinical and Pathogenic Microbiology*, Ed(Howard B, Klaas II J, Rubin SJ. Weissfeld AS, Tilton RC). The C.V.Mosby Company, St.Louis, Washington DC, Toronto, 1987. pp:245-264.
30. Hryniewicz, V. et al.: Comparison of three methods for grouping streptococci. *J.Clin Microbiol.*4(1):28-31, 1976.
31. İnanç, D.: Neomisin sulfate ve nalidixic asid ilave edilmiş ve çeşitli peptonlarla hazırlanmış besiyerlerinde beta hemolitik streptokokların elde edilmesi. *İst.Tıp Fak.Mecmuası*, 39:164-179, 1976.
32. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A.: *Review of Medical Microbiology*, Lange Med, Pub., California, 1987, pp:222.
33. Joklit, Willett, Amos.: *Zinsser Microbiology*, Appleton-Century-Crofts Pub., Norwalk, 1984, pp:464-474.
34. Kim, K.S., Kaplan, E.L.: Association of penicillin tolerance with failure to eradicate group A streptococci from patients with pharyngitis. *J.Pediatr.*107: 681-684, 1985.
35. Kurzynski, T.A. and et al.: Improved Reability of the primary Plate Bacitrasin test on throat cultures with sulfamethaxazole-trimethoprim Blood Agar plates, *J.Clin.Microbiol.*9(1):144-6, 1979.
36. Kurzynski, T.A. et al.: Evaluation of Sulfamethaxazole-Trimethoprim Blood Agar Plates for Recovery of Group A Streptococci From Throat Cultures. *J.Clin.Microbiol.* 9(2):189-193, 1979.
37. Libertin, C.R. and et al.: Effects of Trimethoprim-Sulfamethoxazole and Incubation Atmosphere on Isolation of Group A Streptococci. *J.Clin.Microbiol* 18(3): 680-682, 1983.
38. Matsen, J.M.: Antimicrobial susceptibility test: Laboratory testing in support of antimicrobial therapy, In Sonnenwirth A.C, Jarret, L.(Ed). *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*, Eight Ed. Mosby Company, 1980.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam ediyor)

39. Mc Cusher, J.J. and et al.: Comprasion of Directigen Group A Strep Test With a Traditional Culture Technique for Detection of Group A Beta-Hemolytic Streptococci. J.Clin.Microbiol.20(4):824-825, 1984.
40. Mirret, S. and et al.: Comparative Evaluation of Medium and Atmosphere of Incubation for Isolation of Streptococcus pyogenes. Diagn.Microbiol.Infect. Dis.6:217-221, 1987.
41. Murray, P.R. and et al.: Effects of selective Media and Atmosphere of Incubation on the Isolation of Group A Streptococci. J.Clin. Microbiol.4(1): 54-56, 1976.
42. Mutlu, G., Yalçın, Ş.: Beta hemolitik streptokokların gruplandırılması ve penisilin duyarlılıkları. Akdeniz Üniv.Tıp Fak. Derg. 5(4):406-408, 1988.
43. Oskovi, H., Kuştimur, S., Ergüven, S.: A grubu beta hemolitik streptokokların Ko-aglutinasyon ve basit-rasin duyarlılık yöntemleri ile saptanması. Gazi Üni.Tıp Fak.Derg.1(2-3):101-108, 1986.
44. Öneş, Ü.: Streptokok infeksiyonları, infeksiyon hastalıkları, Çetin, E.T.(Editör), İstanbul Üniv.Tıp Fakültesi Ders Kitapları, Çeliker Matbaacılık, 1987, s:131.
45. Özgüneş, İ. ve ark.: Çeşitli klinik örneklerde izole edilen beta hemolitik streptokokların gruplandırılması 2.Ulusal infeksiyon hastalıkları kongresi, serbest bildiriler özet kitabı. Serbest bildiri no:37, 1989.
46. Özsen, K. ve ark.: Türkiye'de okul çocuklarında streptokok enfeksiyonlarının kontrolü. Doğa Tıp ve Ecz. Der.11(2):282, 1987.
47. Petts, D.N.: Colistin-Oxolononic Acid-Blood Agar: a New Selective Medium for Streptococci, J.Clin.Microbiol.19(1):4-7, 1984.
48. Pien, F.D. and et al.: Evaluation of Anaerobic Incubation for Recovery of Group A Streptococci From Throat Cultures. J.Clin.Microbiol.10(3):392-393, 1979.
49. Quinn, R.W.: Streptococcal Infections, In, Bacterial Infections of Humans, Epidemiology and Control, Evens, S.A. and Feldmen, H.A.(Editors), Plenum Pub, Newyork, 1984, pp:525.

50. Roddey, O.F. and et al.: Comprasion of a latex agglutination test and four culture methods for idenfication in a pediatric office laboratory. J. Pediatr.108:345-351, 1986.
51. Roos, K.: Evaluation of beta-lactamase activity and microbial interferens in treatment failures of acute streptococcal tonsillitis. Scând.infect. Dis.18:313-319, 1986.
52. Sıdal, M. ve ark.: A grubu beta hemolitik streptokokların benzathine penisilin G'nin etkinliği. ANKEM Dergisi. 1/2:166, 1987.
53. Slater, G.J. and Greenwold, D.: Detection of penicillin tolerance in streptococci. J.Clin.Microbiol. 36:1353-1356, 1983.
54. Slifken, M. and Gil, G.M.: Evaluation of the Culturette Brend Ten-Minute Group A Strep ID Technique, J. Clin.Microbiol.20(1):12-14, 1984.
55. Smith, T.D. et al.: Efficacy of beta-lactomase-resistant penicillin and influence of penisillin tolerance in eradicating streptococci from the pharynx after failure of penisillin therapy for group A streptococcal pheryngitis. J.Pediatr.110:777-782, 1987.
56. Sonnenwirth, A.C.: Gram positive and Gram negative cocci, In, Gredwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, Sonnenwirth, A.C., Jerret, L.(Editors), C.V. Mosby Comp. Pub., St.Louis, 1980, pp:1181.
57. Strömberg, A. and Schwen, A.: A comprasion between a commercial co-agglutination test and conventional throat culture for the detection of Group A streptococci in throat swebs. Scând.J.infect.Dis.18: 85-86, 1986.
58. Sultan, N. ve ark.: A grubu beta hemolitik streptokokların penisilin ve türevlerine karşı duyarlılığı ve beta laktamaz yönünden incelenmesi. Gazi Üniv. Tıp Fak.Derg.III(2):57-62, 1987.
59. Tuncer, A.M. ve ark.: Akut farenjitte A grubu beta hemolitik streptokok sıklığı, penisilin tedavisi ile başarısız olgularda sefadroksil, klavulonik asitle kombine amoksisilin ve eritromisinle alınan sonuçlar. Mikrobiol.Bült.21:171-177, 1987.
60. Ulutan, F. ve ark.: Bir kamu kuruluşunda görülen besin kaynaklı A grubu beta hemolitik streptokok farenjit epidemisi. 2.Ulusal Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi. Serbest bildiriler özet kitabı. Serbest bildiri no:39, 1989.

KAYNAKLAR DİZİNİ(devam ediyor)

61. Unat, E.K.: Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, Dergah Yayınları, İstanbul, 1982, s:445-467.
62. Vincent, F. and et al.: Selective Medium for the Isolation of Streptococci From Clinical Specimens. Applied Microbiology. 22(5):942-943, 1971.
63. White, C.B. and et al.: An in vitro comparison of eight rapid streptococcal antigen detection tests. J. Pediatrics. 113(4):691-693, 1988.
64. White, C.B. and et al.: Rapid latex agglutination compared with the throat culture for the detection of Group A Streptococcal infection. Pediatric Infectious Diseases. 5(2):208-212, 1986.
65. Wilson and Topley: Streptococcus and Leuconostoc. In Principles of Bacteriology and Immunity, Edward Arnold(Pub.) Ltd.Fifth Ed., in two volumes, London, 1966, pp:693-715.