

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIĞIR VE İNSANLARDAN İZOLE EDİLEN GRUP B STREPTOKOKLARIN
(*Streptococcus agalactiae*) SEROTİPLENDİRİLMESİ VE ÇEŞİTLİ
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim İsmail Hakkı EKİN
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kemal GÜRTÜRK

VAN – 2004

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIĞIR VE İNSANLARDAN İZOLE EDİLEN GRUP B STREPTOKOKLARIN
(*Streptococcus agalactiae*) SEROTİPLENDİRİLMESİ VE ÇEŞİTLİ
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim İsmail Hakkı EKİN
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kemal GÜRTÜRK

VAN – 2004

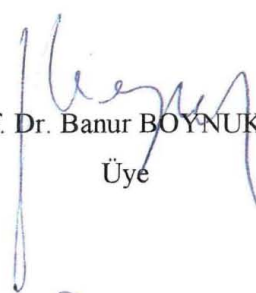
Bu araştırma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2001-VF-085 nolu proje olarak desteklenmiştir

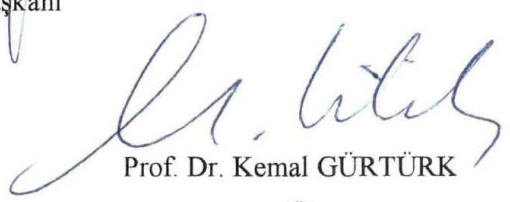
T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

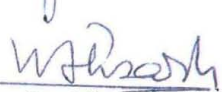
SIĞIR VE İNSANLARDAN İZOLE EDİLEN GRUP B STREPTOKOKLARIN
(*Streptococcus agalactiae*) SEROTİPLENDİRİLMESİ VE ÇEŞİTLİ
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Veteriner Hekim İsmail Hakkı EKİN
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ


Prof. Dr. Osman ERGANİŞ
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Banur BOYNUKARA
Üye


Prof. Dr. Kemal GÜRTÜRK
Üye


Doç. Dr. Mustafa ALIŞARLI
Üye


Yrd. Doç. Dr. Hasan SOLMAZ
Üye

TEZ KABUL TARİHİ

.09 / .07 / 2004

TEŞEKKÜR

Sunulan bu doktora tez çalışmasının yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız ve Tez İzleme Komitesi üyesi hocam sayın Prof. Dr. Banur BOYNUKARA, çalışmanın planlanması ve yürütülmesinin her aşamasında yardım ve önerileriyle büyük desteğini gördüğüm danışman hocam sayın Prof. Dr. Kemal GÜRTÜRK ve Doktora Tez İzleme Komitesi üyelerinden Doç. Dr. Mustafa ALIŞARLI başta olmak üzere; Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Mehmet ÇABALAR, Yrd. Doç. Dr. Hasan SOLMAZ ve Yrd. Doç. Dr. Ziya İLHAN'a, Araştırma Görevlisi arkadaşlarım Dr. Abdülbaki AKSAKAL, Dr. Timur GÜLHAN ve Uz. Vet. Hek. Ahmet ARSLAN'a; referans serotip kültürlerin sağlanmasında yardımlarını aldığım Justus Liebig Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Christoph LÄMMLER'e; kadınlardan örnek alınmasında yardımcı olan Van Doğumevi Başhekimliği ile Uzman Hekimlerine; istatistiksel analizlerin yapılmasında yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Abdullah YEŞİLOVA'ya ve çalışmalarım esnasında büyük fedakarlıklarda bulunan ve manevi desteğini esirgemeyen değerli eşim Yük. Zir. Müh. Zehra EKİN'e teşekkürlerimi borç bilirim.

Ayrıca bu araştırmayı destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	2
Teşekkür	3
İçindekiler	4
Simgeler ve Kısaltmalar	6
Şekiller Dizini	7
Tablolar Dizini	10
1. GİRİŞ	12
2. GENEL BİLGİLER	14
2.1. Tarihçe ve taksonomi	15
2.2. Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikler	16
2.3. Epidemiyoloji	18
2.4. Patogenezis	21
2.4.1. Enfeksiyon mekanizması	21
2.4.2. Hayvanlardaki enfeksiyonlar	23
2.4.3. İnsanlardaki enfeksiyonlar	24
2.5. Virulens faktörleri ve enzim aktiviteleri	25
2.5.1. Kapsül	25
2.5.2. Lipoteikoik asit	25
2.5.3. Hemolizin	26
2.5.4. CAMP Faktör	26
2.5.5. Hyaluronidaz	27
2.5.6. Deoksiribonükleaz	27
2.5.7. Streptokinaz (Fibrinolizin)	27
2.5.8. Nöraminidaz	28
2.6. Antijenik yapı	28
2.6.1. Protein antijenleri	29
2.6.2. Polisakkarit antijenler	31
2.7. Lektinlere bağlanma özellikleri	35
3. MATERYAL VE METOT	37
3.1. Materyal	37

3.1.1. Grup B Streptokok (<i>Streptococcus agalactiae</i>) suşları	37
3.1.2. Referans suşlar	37
3.1.3. Besiyerleri	38
3.1.4. Çözeltiler ve test ortamları	38
3.1.5. Deneme hayvanları	41
3.2. Metot	41
3.2.1. İzolasyon	41
3.2.2. İdentifikasyon	42
3.2.3. Hemaglütinasyon testi	49
3.2.4. Lektin aglütinasyon testi	49
3.2.5. İstatistiksel analiz	50
4. BULGULAR	51
4.1. GBS'ların izolasyon ve identifikasyon sonuçları	51
4.2. Serotiplendirme sonuçları	52
4.2.1. Referans GBS suşlarına karşı elde edilen antiserumlar ile tespit edilen sonuçlar	52
4.2.2. İzole edilen GBS suşlarının serotiplendirilmesinden elde edilen sonuçlar	71
4.3. Biyokimyasal test sonuçları	77
4.4. Hemaglütinasyon testinde elde edilen sonuçlar	82
4.5. Lektin aglütinasyon testlerinde elde edilen sonuçlar	84
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	88
ÖZET	105
SUMMARY	106
KAYNAKLAR	107
ÖZGEÇMİŞ	121
EKLER	
EK-1. Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Etik Kurul Raporu	122

SİMGELER VE KISALTMALAR

α -	: Alfa
β -	: Beta
γ -	: Gama
μ l	: Mikrolitre
μ M	: Mikromol
AGPT	: Agar Jel Presipitasyon Test
CAMP	: Christie Atkins & Munch Peterson
CMT	: California Mastitis Test
DN'az	: Deoksiribonükleaz
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
g	: Gravity
GBS	: Grup B Streptokok
gr	: Gram
HCl	: Hidroklorik Asit
kDa	: Kilodalton
KH ₂ PO ₄	: Potasyum di-hidrojen fosfat
KoAg	: Koaglutinasyon
lt	: Litre
M	: Molar (Molarite)
ml	: Mililitre
N	: Normal (Normalite)
n	: Sayı
Na ₂ HPO ₄	: Di-sodyum hidrojen fosfat
NaN ₃	: Sodyum azid
NaOH	: Sodyum Hidroksit
NT	: Serotiplendirilemeyen
PBS	: Phosphate Buffered Saline
ST	: Serotiplendirilen
THB	: Todd Hewitt Broth

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	<i>Streptococcus</i> cinsinin Gram pozitif koklar grubundaki taksonomik yeri	15
Şekil 2.	Referans GBS serotip Ia suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	56
Şekil 3.	Referans GBS serotip Ib suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	57
Şekil 4.	Referans GBS serotip Ic suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	58
Şekil 5.	Referans GBS serotip II suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	59
Şekil 6.	Referans GBS serotip III suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	60
Şekil 7.	Referans GBS serotip IV suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	61

Şekil 8.	Referans GBS serotip V suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	62
Şekil 9.	Referans GBS serotip VII suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	63
Şekil 10.	Referans GBS serotip VIII suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	64
Şekil 11.	Referans GBS serotip R suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	65
Şekil 12.	Referans GBS serotip X suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	66
Şekil 13.	Lam-koaglütinasyon testinde gözlenen pozitif (+) ve negatif (–) reaksiyonlar	68

Şekil 14.	İzole edilen GBS suşlarının AGPT ve koaglütinasyon testleri ile serotiplendirmesinde elde edilen sonuçların konakçıya göre dağılımı	72
Şekil 15.	Koaglütinasyon testi ile serotiplendirilen GBS suşlarında tespit edilen serotip ve kombinasyonlarının konakçılara göre dağılımı	76
Şekil 16.	İncelenen GBS suşlarının hemolitik özellikleri ve bazı biyokimyasal test sonuçlarının dağılımı	79
Şekil 17.	İzole edilen GBS suşlarının bazı enzim aktivitelerinin konakçılara göre dağılımı	81
Şekil 18.	İncelenen GBS suşları ile hemaglütinasyon testinde elde edilen sonuçların konakçılara göre dağılımı	83
Şekil 19.	Lam-hemaglütinasyon testinde gözlenen pozitif (+) ve negatif (–) reaksiyonlar	84
Şekil 20.	İncelenen GBS suşlarının lektinler ile tespit edilen aglütinasyon reaksiyonlarının konakçılara göre dağılımı	85
Şekil 21.	Lamda lektin aglütinasyon testinde gözlenen pozitif (+) ve negatif (–) reaksiyonlar	75

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Sığır ve insanlardan alınan örneklerin konakçı ile kaynaklara göre dağılımı	37
Tablo 2.	İzole edilen <i>Streptococcus spp.</i> ve GBS'ların sığır ve insanlardan alınan örneklerle göre dağılımı	51
Tablo 3.	Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının lateks aglütinasyon testi ile serogruplandırma sonuçları	51
Tablo 4.	GBS serotip-polispesifik antiserumların referans GBS serotip antijenler (HCl ekstrakt) ile AGPT'de tespit edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları	55
Tablo 5.	GBS serotip-polispesifik antiserumların kros reaksiyon veren heterolog referans GBS serotipleri ile adsorbsiyon işlemleri sonrasında referans GBS serotip antijenler ile AGPT'de gözlenen presipitasyon reaksiyon sonuçları	55
Tablo 6.	GBS Serotip polispesifik antiserumların referans GBS serotip antijenleri (HCl ekstrakt) ile koaglütinasyon testinde tespit edilen aglütinasyon reaksiyon sonuçları	67
Tablo 7.	GBS serotip polispesifik antiserumların kros reaksiyon veren heterolog serotipler ile adsorbsiyon işlemi sonrasında koaglütinasyon testinde tespit edilen aglütinasyon reaksiyon sonuçları	67
Tablo 8.	İzole edilen GBS suşlarının AGPT ve koaglütinasyon testleri ile serotiplendirilmesinde elde edilen sonuçlar	71
Tablo 9.	AGPT ve koaglütinasyon testleri ile tespit edilen GBS serotip ve kombinasyonlarının dağılımı	74
Tablo 10.	AGPT ve koaglütinasyon (KoAg) testleri ile tespit edilen GBS serotip ve kombinasyonlarının karşılaştırılması	75
Tablo 11.	İncelenen GBS suşlarının hemolitik özellikleri ve bazı biyokimyasal test sonuçlarının karşılaştırılması	78
Tablo 12.	İncelenen GBS suşlarının karbonhidrat fermentasyon testlerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması	80

Tablo 13.	İncelenen GBS suşlarının bazı enzim aktivitelerinden elde edilen sonuçlar	81
Tablo 14.	İncelenen GBS suşları ile hemaglütinasyon testinde elde edilen sonuçlar	82
Tablo 15.	İncelenen GBS suşlarının lektinler ile tespit edilen aglütinasyon reaksiyon sonuçlarının karşılaştırılması	85
Tablo 16.	Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının lektinlerle tespit edilen aglütinasyon reaksiyonlarının karşılaştırılması	87

1. GİRİŞ

Grup B Streptokoklar (GBS), insan ve hayvan sağlığı açısından önem arz eden mikroorganizmalardan biridir. Sığırlarda özellikle mastitis, insanlarda ise neonatal septisemiler, meningitis, solunum ve üriner sistem enfeksiyonlarına neden olmaktadır (1,2,3).

Mastitis, dünyada yaygın olarak görülen ve süt endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara neden olan bir meme enfeksiyonudur. Mastitise neden olan biyolojik etkenler çok çeşitli olmakla birlikte, etiyolojik çalışmalarda hastalığın önemli bir kısmının GBS'lerden ileri geldiği tespit edilmiştir. GBS'lar, yıllarca sığırların meme dokusunun önemli kronik patolojik bozukluklarının etkeni olarak bilinmesine karşın son yıllarda insanlarda özellikle neonatal purulent meningitis olgularının önemli bir etkeni olarak ortaya çıkmıştır (4).

İnek sütünün insanlarda ve özellikle çocuklarda besin maddesi olarak önemi dikkate alındığında mastitise neden olan etkenlerin aynı zamanda insan sağlığını tehdit eden önemli unsurlar olduğu kabul edilmektedir. Avrupa lkeleri ve ABD'de GBS enfeksiyonlarının yeni doğan ve erişkinlerdeki varlığı, yaygınlığı ve özellikleri ile ilgili çok çeşitli araştırma yapılmış olmasına rağmen, ülkemizde özellikle tıp hekimliğinde konunun öneminin vurgulayan araştırmalara pek rastlanmamaktadır. Ülkemizde insan ve hayvanlardan izole edilen streptokok türlerinin identifikasyonu genellikle biyokimyasal yöntemlerle yapılmakta ve nadiren serogruplandırılan streptokok türlerinin serotiplendirilmeleri yapılmamaktadır. Bu da streptokok enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve enfeksiyonlara yönelik alınacak önlemler açısından yetersiz kalmaktadır.

GBS enfeksiyonlarının patogenezesinde, serotiplerdeki antijenik farklılıklar, dokulardaki adhezyon kabiliyetleri ve sahip oldukları enzim ve toksinler büyük önem taşımaktadır. Söz konusu özelliklerin ortaya konması, hastalıklardan korunma stratejilerinin geliştirilmesinde önemli katkı sağlayacaktır. Yapılan literatür taramasında lkemizde Grup B Streptokokların serotiplendirilmesi, lektinlerle bağlanma gibi adhezyon özellikleri ve birbirleri ile olası ilişkileri üzerine yapılan bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Ülkemizde ilk olarak yapılan bu çalışma ile Van ve yöresinde sığır ve insanlardan izole edilen GBS'larda serotiplerin varlığı ve dağılımı, lektinlerle bağlanma özellikleri, hemaglütinasyon aktiviteleri, bazı enzim aktiviteleri ve biyokimyasal özellikleri karşılaştırılarak sığır ve insanlarda gözlenen GBS enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve bu enfeksiyonlar ile ilgili olarak yapılacak araştırmalara katkı sağlayabilecek bilgiler elde edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe ve taksonomi

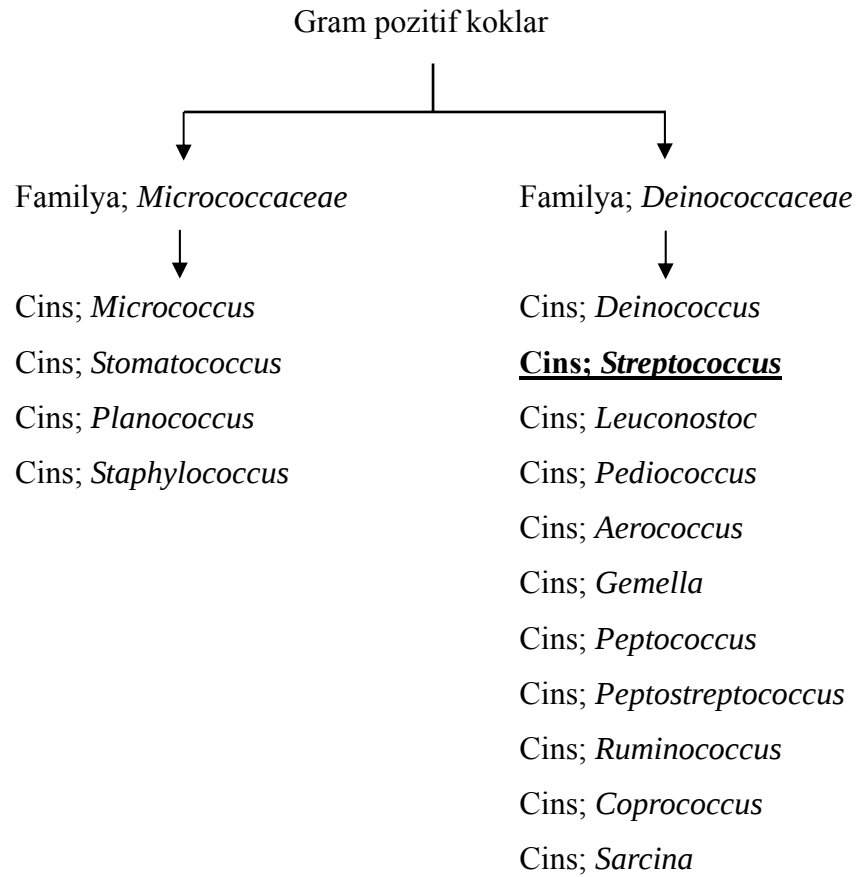
Streptokok cinsi, insan, hayvan ve bitkiler gibi geniş bir konakçı spektrumuna sahip mikroorganizmaları kapsamaktadır. *Streptococcus* terimi cins olarak ilk defa, 1884'te Rosenbach tarafından bir insandaki suppuratif lezyondan izole edilen zincir şeklindeki koklar tanımlanırken kullanılmıştır (5,6). Ayrıntılı taksonomik analiz çalışmaları sayesinde, streptokokların taksonomisi çeşitli revizyonlardan geçerek farklı sınıflandırmalara tabi tutulmuştur. Kültürel, biyokimyasal ve serolojik karakterleri yönünden en önemli çalışmalar Andrewes ve Horder (1906), Orla-Jensen (1919), Lancefield (1933) ve Sherman (1937) tarafından yapılmış ve bugünkü klasifikasyon gerçekleştirilmiştir. Bugün için yaygın olarak kullanılan sınıflandırma, Lancefield (1933) tarafından hücre duvarının polisakkarit yapılarındaki farklılıklara dayanılarak yapılan ve A'dan V'ye kadar harflerle adlandırılan serolojik gruplandırmadır (2,3,7,8).

Streptococcus agalactiae'nin bilinen ilk izolasyonu ise, 1887'de Nocard ve Mollereau tarafından sığırlarda mastitise sebep olan etkenler üzerine yaptıkları bir araştırmada gerçekleşmiştir (4,6,9,10). İlk önce *Streptococcus nocardii* olarak tanımlanan etkene, zaman içinde *Streptococcus mastitis contagiosae*, *Streptococcus mastitis sporadicae*, *Streptococcus mastitidis*, *Streptococcus agalactiae contagiosae* gibi çeşitli adlandırmalar yapılmış, son olarak 1896'da *Streptococcus agalactiae* olarak tanımlanmıştır (6,9).

Streptococcus agalactiae Lancefield (1933) tarafından hücre duvarındaki polisakkarit yapıya göre GBS'ların içinde sınıflandırılmıştır. Taksonomik olarak insan ve hayvanlardan izole edilen Grup B Streptokok ve *Streptococcus agalactiae* suşları arasında bulunan farklılıklar henüz tam olarak netlik kazanmamıştır (2). Yapılan analizlerde sığırlardan izole edilen GBS suşlarının hücre duvarında serotip antijeni olarak belirlenen polisakkarit antijenlerinin %12-50, protein antijenlerinin %22-58; insanlardan izole edilen suşların polisakkarit antijenlerinin ise %70-100, protein antijenlerinin de %3-17 oranlarında bulunduğu bildirilmiştir (11).

Bugün geçerli olan sınıflandırmada GBS'lar, Gram pozitif koklar grubunda, *Deinococcaceae* familyası, *Streptococcus* cinsinde yer almaktadır (2,9). Grup-spesifik hücre duvarı polisakkariti, L-ramnoz (%50.5), N-asetilglukozamin (%11.4) ve galaktozdan (%11) oluşmaktadır. L-ramnozun oranı diğerlerinden daha yüksek olup immunodominant karakter taşımaktadır. DNA'larındaki moleküler G + C oranı %34'dür (2,11). *Micrococcaceae* familyasından katalaz negatif olmaları ile ayrılan *Deinococcaceae* familyası içinde yer alan *Streptococcus* cinsi dışındaki diğer Gram pozitif kokları kapsayan cinsler Şekil 1'de gösterilmiştir.

Şekil 1. *Streptococcus* cinsinin Gram pozitif koklar grubundaki taksonomik yeri (2)



2.2. Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikler

GBS'lar, Gram pozitif, yuvarlak veya oval şekilli, çapları 2µm'den küçük, zincir şeklinde, sporsuz, kapsüllü, hareketsiz, anilin boyaları ile kolaylıkla boyanan, aerobik veya fakültatif anaerobik mikroorganizmalardır. Karbonhidratları fermente ederek laktik asit oluştururlar. Genel olarak GBS'lar adi besi yerlerinde zayıf, ancak kan, kan serumu ve glikoz ile zenginleştirilmiş besi yerlerinde kolaylıkla ürerler. Zenginleştirilmiş katı besi yerlerinde GBS'lar 1-2 mm çapında, S tipi şeffaf koloni oluştururken bazı suşlarda sarı-turuncu-kırmızı renkte pigmentli koloni oluşumu gözlemlendiği bildirilmiştir (2,3,7,12,13).

GBS'lar içinde sınıflandırılmış tek tür olan *Streptococcus agalactiae*, biyokimyasal özellikleri yönünden CAMP pozitif, eskulin negatif ve Na-hippurat pozitif olması ile diğer streptokok türlerinden ayırt edilmektedir (2,7,12,13). İnsan ve hayvanlardan izole edilen GBS suşları antijenik ve biyokimyasal özellikleriyle birbirinden ayırt edilememektedir. Ancak sığır suşları laktozu genelde fermente ederken salisini nadiren fermente etmektedir. İnsan suşları ise tam tersine salisini genelde fermente ederken laktozu nadiren fermente etmektedirler. Klinik olgulardan izole edilen suşların büyük çoğunluğunda da serotip Ia, Ib, II ve III spesifik polisakkarit antijen tespit edilirken, protein antijene sahip Ic serotipinin çoğu zaman serotip Ia spesifik polisakkarit antijeni ile birlikte bulunduğu bildirilmektedir. İnsan ve hayvan suşlarının bakteriyosin ve bakteriyofajlara (24 bakteriyofaj) duyarlılıklarına göre yapılan tiplendirme çalışmalarında 90 farklı GBS tipi tespit edilmiştir (14,15,16).

Finch ve Martin (15), inceledikleri insan orijinli GBS suşlarının %98.2'sinin hemolitik, %5.5'inin basitrasine duyarlı, %93.9'unun pigment oluşturduğunu, %6.1'inin laktoz pozitif ve %90.8'inin salisin pozitif olduğunu; incelenen hayvan orijinli suşların ise %21.3'ünün hemolitik, %91.8'inin basitrasine duyarlı, %9.8'inin pigment oluşturduğunu, %68.8'inin laktoz pozitif ve %6.6'sının salisin pozitif olduğunu bildirmektedirler.

Kunter (17), 1962-1985 yılları arasında sığır sütlerinden izole edilen 4323 adet *Streptococcus agalactiae* suşunun CAMP testi, eskulin hidrolizi ve hemolitik özelliklerini karşılaştırmalı olarak incelediği bir araştırmada suşların %62.4'ünü β-,

%26.8'ini α - ve %10.8'ini γ -hemolitik olarak belirlerken %86'sının CAMP pozitif ve %90.1'inin de eskulin negatif olduğunu saptamış ve yaptığı literatür araştırmalarında GBS suşlarında CAMP pozitiflik oranının %79.4-100 arasında değişiklik gösterdiğini bildirmiştir. Aynı araştırmacı, incelediği suşların %85.6'sının CAMP pozitif / eskulin negatif, %0.4'ünün CAMP pozitif / eskulin pozitif, %0.6'sının CAMP negatif / eskulin pozitif ve %13.4'ünün de CAMP negatif / eskulin negatif olduğunu rapor etmiştir.

Mosabi ve ark. (18), inceledikleri sığır orijinli suşların %58.7'sinin β -hemolitik, 41.3'ünün γ -hemolitik ve insan orijinli suşların ise tamamının β -hemolitik olduğunu, β -hemolitik suşların tamamının pigment oluşturduğunu ve γ -hemolitik suşlarda pigment oluşumu görülmediğini, insan orijinli suşların %12'sinin laktozu ve %88'inin ise salisini fermente ettiğini, sığır orijinli suşların ise %79'unun laktozu ve %66'sının salisini fermente ettiğini tespit etmişlerdir.

Streptokoklar, tipik bir hücre duvarına sahiptirler. Özellikle bazı patojen Streptokok türlerinde, hücre duvarının üzerini kaplayan, hyaluronik asit veya polisakkarit karakterinde belirgin bir kapsül bulunur. Hücre duvarında ayrıca protein tabakadan köken alıp dışarı doğru uzanan ve lipoteikoik karakterindeki piluslar bulunmaktadır (2,19).

Hücre duvarı, dıştan içe doğru 3 tabakadan oluşmuştur (2,3,19) :

1. Protein Tabaka : Streptokokların en önemli kısmıdır ve bazı streptokok türlerinin tiplendirilmesinde önemli rol oynar. Bu tabakada bulunan başlıca proteinler, M, T , R, X ve G proteinleridir.

2. Karbonhidrat Tabaka : Bu tabakada, grup spesifik C- polisakkariti bulunur. Streptokoklar, C- polisakkaritinin yapısına göre Lancefield tarafından serolojik olarak A'dan V'ye kadar serogruplara ayrılmışlardır.

3. Mukopeptid ya da Peptidoglikan Tabaka : Bu tabaka, hücrenin şeklini korumada önemli rol alır ve hücre duvarının %50 - 90'ını oluşturur.

Yapılan immunoelektronmikroskopik bir çalışmada (20) bazı GBS suşlarının grup spesifik antijenlerinin hücre duvarı içinde yayıldığı, tip spesifik antijenlerin ise hücre duvarı yüzeyinde heteropolimer kompleksler halinde bulunduğu bildirilmektedir.

GBS'ların kapsüler polisakkarit yapısındaki farklılıklara göre 9 farklı serotipin (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII), protein yapısındaki farklılıklara göre de 3 farklı serotipin (Ic, R, X) bulunduğu tespit edilmiştir (9,17,21).

2.3. Epidemiyoloji

Mastitis ile ilgili yapılan etiyolojik çalışmalarda (19,22,23,24,25), vakaların %13-34'ünden *Streptococcus* cinsine bağlı bakterilerin izole edildiği bildirilmektedir. Bunlar arasında özellikle GBS'lar (%10-58) önemli bir yer tutmaktadır.

GBS'lar, süt sığırlarında meme dokusunun obligat paraziti olup genellikle bulaşıcı karakterde nadiren kendiliğinden iyileşme gösteren meme enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. GBS'ların bulaştığı sürülerde enfeksiyonun prevalansının %44 gibi oldukça yüksek oranlara çıkabildiği bildirilmiştir (6).

Akay ve ark. (22), CMT pozitif süt örneklerinden izole ettikleri streptokokların %36.2'sini koaglutinasyon yöntemi ile GBS olarak tanımlamışlardır. Ekin (19), subklinik mastitis olgularından izole edilen streptokokların lateks aglutinasyon yöntemi ile %16.3'ünü GBS olarak tanımladığını; Ulusoy ve ark. (26) ise mastitis vakalarından izole ettikleri mikroorganizmaların %15.9'unu GBS olarak tespit ettiklerini rapor etmişlerdir.

Stoner (27), hayvanlardan izole edilen streptokok suşlarının koaglutinasyon yöntemiyle %27.4'ünü GBS olarak tespit ederken, Saxegaard (24), mastitis vakalarından izole ettiği streptokokların koaglutinasyon yöntemiyle %27.5'inin ve kapillar presipitasyon yöntemiyle de %30.5'inin GBS olarak tanımlanabileceğini belirtmektedir.

Hogan ve ark. (23), sığırlardan alınan süt örneklerinden izole edilen streptokokların lateks aglutinasyon yöntemi ile %58.2'sini GBS olarak belirlemişlerdir.

Yıllarca sığırların meme dokusunun önemli patojeni olarak bilinen GBS'lar (*Streptococcus agalactiae*), son yıllarda insanlarda neonatal purulent meningitis olgularının etkeni olarak önem kazanmıştır (16).

İnsanlarda en çok gözlenen serotip III'e bebeklerde, serotip Ia'ya ise yeni doğanlarda rastlanmaktadır. Sığırlardaki mastitis olgularından izole edilen GBS'ların ise çoğunlukla serotip X olmak üzere hemen hemen tüm serotipler yanında serotiplendirilemeyen suşlara da rastlanmaktadır (16,28).

Erişkinlerde primer rezervuar gastrointestinal sistem olup sonradan genitoüriner sisteme yayılma olmaktadır. Seksüel transmisyonun rolünün ise oldukça düşük olduğu bildirilmiştir (29). Neonatal GBS taşıyıcılarının %95'i, etkeni kongenital bulaşma yoluyla anneden almaktadır. Bazı vakalarda da etken nadir olarak hastane personeli veya anne sütünden bulaşmaktadır (21).

Farklı populasyonlarda yapılan araştırmalarda (29,30,31,32) GBS'ların hamile kadınlardaki kolonizasyonunun %10-30 arasında değiştiği bildirilmiştir. ABD ve Avrupa'nın batısında yapılan araştırmalarda (28,33) klinik örneklerin %86-90'ından GBS serotip Ia, II, III ve V izole edildiği ve bu populasyonlarda serotip IV, VI, VII, VIII ve serotiplendirilemeyen suşların yaygın olmadığı bildirilmektedir. ABD'de yeni doğanlarda gözlenen GBS enfeksiyonları ile ilgili yapılan bir araştırmada (34) ise GBS serotip Ia'nın %40, Ib'nin %9, II'nin %6, III'ün %27 ve V'in %15 düzeyinde görüldüğü ayrıca GBS serotip dağılımının, etnik yapı ve coğrafik bölgelere göre de farklılık gösterdiği rapor edilmektedir. Japonya'da hamile kadınlarda vaginal GBS kolonizasyonu üzerinde yapılan bir çalışmada (35) ise serotip VI ve VIII'in dominant olduğu bildirilmiştir.

ABD ve Avrupa'da insanlarda tespit edilen neonatal erken dönem GBS enfeksiyonlarında mortalite oranı 1970'li yıllarda %45-83 olarak gözlenirken 80'li yıllarda bu oran %11-47'lere ve 90'lı yıllarda ise %6-10'a kadar düştüğü rapor edilmiştir (4).

Finch ve Martin (15), insanlardan izole edilen GBS suşlarının %20.9'unu serotip Ia, %5.5'ini Ib, %25.8'ini Ic, %15.3'ünü II, %27'sini III ve %1.2'sini de II-Ic olarak

bulurken %4.3'ünün serotiplendirilemediğini; hayvanlardan izole edile suşların ise %42.6'sının serotip II, %3.3'ünün serotip Ia, %1.6'sının serotip III olarak identifiye edildiğini, %52.5'inin ise serotiplendirilemediğini rapor etmektedirler.

Jelinkova (9), 1960-1975 yılları arasında sığır ve insanlardan izole ettiği GBS suşlarının serotiplendirilmesinde; incelediği 413 adet sığır orijinli GBS suşunun %7.2'sini serotip Ia, %3.8'ini Ib, %2.2'sini Ic, %5.1'ini II, %6'sını III, %32.9'unu R, %27.6'sını X ve %21.5'ini de kombine olarak tiplendirdiğini, %7.9'unun ise serotiplendirilemediğini; 2415 adet insan orijinli GBS suşunun %6.1'ini serotip Ia, %26.2'sini Ib, %8.8'ini Ic, %5.2'sini II, %20.3'ünü III, %3.4'ünü R, %1.6'sını X ve %22.3'ünü kombine olarak bulurken %5.8'inin ise serotiplendirilemediğini bildirmektedir.

Mosabi ve ark. (18), insan orijinli suşların tamamının ve sığır orijinli suşların ise %85'inin kapillar presipitasyon yöntemi ile serotiplendirildiğini, insan orijinli GBS suşlarında en yaygın olarak serotip Ia (%29), serotip Ic (%24) ve serotip III (%15) antijeni görülürken; sığır orijinli GBS suşlarında da aynı serotipler sırasıyla %47, %12 ve %12 oranında bulunduğunu bildirmişlerdir.

Van Den Heever ve Erasmus (36), insanlardan izole ettikleri 100 adet GBS suşu ile sığır sütlerinden izole ettikleri 107 adet GBS suşunun serolojik ve biyokimyasal özelliklerini karşılaştırdıkları bir çalışmada, insanlardaki bazı enfeksiyonların sığır sütlerinden kaynaklanabilme ihtimalinin olabileceği kanısına varmışlardır.

Brglez (37)'in süt inekçiliği yapan 21 çiftlikte yaptığı araştırmada, sığırların %22'sinin *S. agalactiae* ile enfekte olduğunu, bu çiftliklerde çalışan 17 personelden de benzer GBS serotipleri (serotip II ve III) izole ettiğini ve etkenin enfekte hayvanların sütlerinden insanlara bulaşma olasılığının yüksek olduğunu vurgulamıştır. Ancak sığırlardan GBS'ların izole edilemediği çiftliklerdeki insanlardan GBS serotip Ib ve Ic'nin de izole edilebildiğini belirtmişlerdir.

İnsan ve hayvanlar arasında görülen GBS'lara (*Streptococcus agalactiae*) bağlı kros enfeksiyonların epidemiyolojik yönden değerlendirildiği Dünya Sağlık Örgütü

(WHO)'nın, 1981 yılındaki bildirgesinde GBS'ların neden olduğu enfeksiyonların zoonoz olarak ifade edildiği bildirilmiştir (8).

Jensen (38), Danimarka'da sütçü sığır çiftliklerini GBS rezervuarı olarak gördüğünü ve insan sağlığı yönünden değerlendirildiğinde çiftlik sahiplerine gelecekte tazminat ödetme vakalarının yaşanabileceğini vurgulamıştır.

Wanger ve Dunny (39), İnsan ve sığır orijinli *S. agalactiae* şuşları üzerinde DNA-DNA hibridizasyon yöntemiyle yaptıkları incelemede insan şuşlarının hayvan şuşları ile benzer yapılara sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

2.4. Patogenezis

2.4.1. Enfeksiyon mekanizması

2.4.1.1. Adhezyon ve kolonizasyon

GBS'lar, konakçıya genellikle oral yolla bulaşır ve etken sindirim sistemi florasında bulunur. Etken, ayrıca sığırlarda meme başı kanalından vücuda girerek meme dokusunda kolonize olurken, erişkin insanlarda genitoüriner sistem ve yeni doğanlarda da solunum sisteminde kolonize olurlar ve sık sık bakteriyemi ile merkezi sinir sistemine ulaşmaktadırlar (29).

GBS'ların hücre duvarı yapısında bulunan lipoteikoik asit ile yapısı henüz tam olarak belirlenemeyen bazı proteinler, bakterinin konakçı hücre ve dokularındaki kolonizasyonda rol oynayan en önemli adhezyon faktörleridir (21,40,41). Hücre duvarındaki lipoteikoik asitin miktarı adhezyon oranında etkin rol oynar (42). Protein yapıların varlığı üzerinde yapılan invitro araştırmalarda, proteaz ile muamele edilen bakterilerin adhezyon yeteneklerini belli oranlarda kaybettikleri bildirilmektedir (41,43,44). GBS'lar, adhezyonda özellikle fibronektin ve fibrinojen gibi plazma (ekstrasellüler matriks) proteinlerine affinite gösterir (21,45). Yapılan invitro çalışmalarda (6,40,41,46,47,48) GBS'ların vaginal, buccal, pulmoner ve endotelial epitel hücreler ile meme epitel hücrelerine tutunduğu bildirilmiştir. Kapsülsüz şuşların adherens yeteneklerinin yüksek olması, kapsüler polisakkaritlerin adherensi inhibe ettiği şeklinde yorumlanmıştır (43). Son zamanlarda *Streptococcus agalactiae*'nın hücre

duvarında yeni bir protein yapı (Lmb) tespit edilmiştir. İnsanlardan izole edilen tüm GBS serotiplerinde (I-VIII) gözlenen bu yapının, plasental membranın en önemli komponenti olan laminine bağlanmada rol oynadığı bildirilmektedir (49).

2.4.1.2. İnvazyon

Enfeksiyon sürecinde mikroorganizmalar, konakçının birbirinden farklı mekanizmalara sahip bazı bariyerleri ile karşılaşır. *Streptococcus agalactiae*, bu bariyerlerin bazılarını sentezlediği enzim ve toksinler aracılığı ile aşabilme yeteneğine sahiptir. Özellikle sahip olduğu hyaluronidaz enzimi ile, affinitesinin olduğu hedef dokular arasında yayılabilmekte (50), streptokinaz, nöraminidaz ve DN'az aracılığı ile de patolojik bozukluklara neden olmaktadır. Dolaşım sistemine giren etken, kısa sürede vasküler endotelial hücrelere ve pulmoner epiteliyal hücrelere yayılabilmektedir (43). Yapılan çalışmalarda (51), *Streptococcus agalactiae*'nin farklı ökaryotik hücrelerin içine girerek burada oluşan vakuollerde varlığını sürdürebildiği tespit edilmiştir. Adherens çalışmalarından elde edilen bulgulara benzer şekilde, büyük olasılıkla polisakkarit kapsülün, hücre yüzeyindeki proteinleri örtmesi ile bakterinin ökaryotik hücreler arasında invazyonunu önlediği bildirilmiştir (43,47).

2.4.1.3. Konakçı savunması ile ilişkiler

GBS'lar, sığırların süt kanallarında varlığını sürdürürken bazı olgularda bu kanallardan meme dokusuna yayılarak kronik mastitise neden olmaktadır. Bakterinin meme bezlerinde kolonize olması ile gelişen immun yanıt sonucu, kandan meme kanalları ve alveollere lökosit ve plazma faktörleri geçmekte ve sütün kompozisyonunda bulunan laktoperoksidaz-tiyosiyanat ve peroksidaz sistemleri bakterinin burada üremesini inhibe etmektedir. Ancak antimikrobiyel ajan kullanılmadığı sürece bakteri bulunduğu dokuda canlılığını sürdürebilir (16). Bakterinin vücuda girişinden itibaren konakçı immun sistemi fagositoz yoluyla etkeni ortadan kaldırma girişiminde bulunmaktadır. GBS'ların etkili fagositozu serotip-spesifik antikorlar ile opsonizasyon sonucu gerçekleşmektedir (21). Yeni doğanlarda immun yanıt büyük oranda komplement sistemi sayesinde gerçekleşirken, insanlarda plasentadan geçebilen serotip-spesifik IgG'ler de etkili rol oynamaktadır. Bakterinin

kapsüler polisakkariti, komplementin C3 komponentini inhibe ederek alternatif yoldan aktivasyonu engellemektedir (52). CAMP proteinleri ve c β - protein de immunglobulinlerin Fc porsiyonuna nonspesifik bağlanarak antikorların opsonizasyondaki etkinliklerini azaltmaktadır (53). Antijenik varyasyona sahip c α -protein ise yüzey proteinlerindeki değişkenlik sayesinde bakterinin koruyucu antikorlar tarafından tanınmasını engellemektedir (54). Fagositoz, bakterinin öldürülmesinde tam etkin değildir. Katalaz enzimine sahip olmamasına rağmen oksijen radikallerine karşı dayanıklılığından dolayı fagosit olmuştur etken, canlılığını 24 saatten fazla sürdürebilmektedir (55).

2.4.2. Hayvanlardaki enfeksiyonlar

Hayvanlarda GBS'lar tarafından oluşturulan en önemli enfeksiyon mastitistir. Süt endüstrisinin ekonomik yönden en büyük problemi olan bu hastalık, tüm laktasyon sürecinde %25 oranında süt veriminin kaybına neden olabilmektedir (56).

Diğer hayvanlar ile ilgili yapılan araştırmalarda, Kornblatt ve ark. (57), kedi ve köpeklerin solunum sistemi enfeksiyonlarından, kandan ve düşük doğum ağırlıklı köpek yavrularından GBS izole ettiklerini ve bu hayvanlardaki GBS enfeksiyonlarının pek gözlenmediğini vurgulamışlardır. Dow ve ark. (58), kusma, dolaşım yetersizliği, uyuşukluk ve idrar yollarında enfeksiyon bulunan kastre edilmiş 12 yaşındaki bir kedi ile güç doğum ve hemoraji bulguları saptanan 2.5 yaşındaki bir başka kediden GBS izole ettiklerini; yine benzer araştırmalarda (59,60), şiddetli diare gözlenen köpek yavruları, konjunktivitis gözlenen erişkin bir köpek ve purulent vaginitis gözlenen bir dişi köpek ile pododermatitis gözlenen bir kediden alınan örneklerden GBS izole edildiği rapor edilmektedir.

GBS'lar sığır ve koyunların meme bezleri ile kedi ve köpekler dışında sığır, maymun, koyun, domuz ve atların tonsilleri ile tavşan ve domuzlardan da izole edilmiş ve oral enfeksiyonlara dikkat çekilmiştir. Ayrıca kertenkele, kumru, balık, kurbağa, fare, hamster, mastitisli deve ve multiple apseli fillerde de GBS izolasyonları bildirilmiştir (8).

Wibawan ve ark. (61), bataklık kunduzu ve besi domuzlarından GBS izole ettiğini, doğal rezervuar olarak bilinen sığırlardan bu hayvanlara bulaşma olabileceğini ifade etmişlerdir.

2.4.3. İnsanlardaki enfeksiyonlar

GBS'ların insanlarda gözlenen ve özellikle pneumoni, sepsis ve meningitis ile karakterize olan enfeksiyonları, yeni doğan bebeklerde (neonatal erken dönem ve neonatal geç dönem) ve erişkinlerde olmak üzere iki grupta değerlendirilmektedir (1,62,63).

Neonatal erken dönem enfeksiyonlar, doğum sonrası ilk 24 saat ile bir hafta arasında ortaya çıkmakta ve GBS enfeksiyonlarının %80'ini oluşturmaktadır (4,28). Bulaşma genellikle hasta veya portör anneden kongenital yolla, enfekte amniyotik sıvının aspirasyonu yoluyla veya doğum esnasında olmaktadır (63,64). Enfeksiyonun seyrinde öncelikle septisemi, pneumoni ve meningitis gözlenir (septisemik form) (63). Bununla birlikte akciğerlerde epiteliyal hücre hasarı, yangısal infiltrasyon ve alveolar hemoraji gibi patolojik bozukluklar şekillenir (4). Genelde ani şok sonucu ölüm görülmektedir. ilk iki günde ölüm oranı oldukça yüksek olup (%15-20) özellikle prematüre bebeklerde bu oran %15-60'a kadar varabilmektedir (1).

Neonatal geç dönem enfeksiyonlar ise, doğumdan sonra ilk hafta ile 3. ayda ortaya çıkmaktadır. Bakterinin dolaşım sistemine girmesi ve serebrospinal sıvıya ulaşması sonucu klinik tablo ağırlaşmaktadır. Özellikle serotip III GBS'lar bakteriyemi sonucu pyojenik meningitis ile karakterize ve ölüm oranı yüksek olan enfeksiyonlara neden olur (28). Ayrıca osteomyelitis ve artritis gibi lokalizasyonlar da görülebilmektedir (1,65). Bu enfeksiyonların hazırlayıcı nedenleri arasında, plasental membran rüptürleri, prematüre doğumlar ve düşük doğum ağırlıkları sayılabilir (62).

Erişkinlerdeki GBS enfeksiyonları daha çok gebe ve doğum yapmış kadınlarda görülmektedir (1,63). Gebe kadınlarda GBS kolonizasyon oranı ortalama % 5-35 arasında değişmektedir (28,64). Doğum yapmış kadınlarda endometritis, üriner sistem enfeksiyonları ve sezaryen operasyonu sonrasında ortaya çıkan yara enfeksiyonları ile bunlara bağlı bakteriyemi ve septisemi ile karakterize enfeksiyonlar görülmektedir.

Bunun dışında fırsatçı patojen olarak GBS'ların, pyelonefritis, sellülitis, septik artrit, meningitis ve endokarditis gibi enfeksiyonlara da neden olduğu bildirilmiştir. Vaginalarında GBS bulunduğu tespit edilen kadınların eşlerinin % 50'sinin üretrasından da bu bakteriler izole edilebilmektedir (1,31,66,67).

2.5. Virulens faktörleri ve enzim aktiviteleri

2.5.1. Kapsül

GBS'ların bilinen en önemli virulens faktörü olan kapsül, polisakkarit yapıda olup glikoz, galaktoz, *N*-asetilglikozamin, hyaluronik asit ve sialik asit gibi yüksek molekül ağırlıklı polimerlerden oluşmaktadır (64,68). Kapsüler polisakkarit, yapısındaki *N*-asetilnöraminik asit sayesinde bakteriyi fagositozdan korumakta ve komplementin C3b faktörünün hücre yüzeyine bağlanmasını inhibe ederek alternatif yoldan aktivasyonu engellemektedir. Önemli patolojik bozuklukların görüldüğü enfeksiyonlardan izole edilen GBS etkenlerinin kapsüllü olduğu gözlenmiştir (69). Kapsülün yapısındaki karbonhidratların miktarlarında ve dizilişlerinde serotiplere göre bazı varyasyonlar görülmesine karşın serotip VIII'in kapsül yapısında *N*-asetilglikozamin yerine ramnoz yer alırken serotip VI'da ise *N*-asetilglikozamin bulunmamaktadır (68). GBS serotip Ia, Ib ve III'te sialik asit (Nöraminik asit) molekülün terminal kısmında yer almakta ve virulenste önemli rol oynamaktadır. Sialidaz enzimi ile muamele edilerek bu kısmın koparılması sonucu serotip III'ün in vitro ortamlarda, virulensini önemli derecede yitirdiği, opsonizasyon ve fagositozdan etkilendiği tespit edilmiştir (70,71,72). Kapsülü oluşturan komponentlerin 12 farklı gen (*lysR*, *cpsR*, *cpsA-cpsJ*) tarafından kodlandığı ve kapsüler polisakkaritin serotip-spesifitesinin ise *cpsK* genleri tarafından belirlendiği bildirilmektedir (73).

2.5.2. Lipoteikoik asit

GBS'ların hücre duvarında bulunan lipoteikoik asit, hücre duvarının peptidoglikan katmanı boyunca terminal glikolipidler ve sitoplazmik membran arasında, fosfatidil glikolipid yapılarına kovalent olarak bağlı olup gliserofosfat polimerine de 1,3 fosfodiester bağları ile bağlanmış polifosfogliserolün bir polimeridir (74,75,76). Bakterinin ökaryotik hücrelere tutunmasına aracılık ederek monositlerden yangısal

sitokinlerin salınması ile bakterinin patojenitesinde önemli rol oynamaktadır (76). Mastitis olgularında sığır suşlarının meme epiteline adhezyon kabiliyetinde önemli rol oynayan lipoteikoik asit bakterinin virulensini daha da arttırmaktadır. Serotipler arasında görülen virulens farklılığının bir nedeni de, lipoteikoik asit miktarına ve çeşitliliğine bağlı olarak konakçı hücre epitellerine adhezyon kabiliyetlerinin değişkenliğinden ileri gelmektedir (6,21,41).

2.5.3. Hemolizin

GBS'ların büyük çoğunluğu tarafından oluşturulan hemolizin, ilk olarak 1934 yılında Todd tarafından tanımlanmıştır. Hücre yüzeyi ile ilişkili bir molekül olup deterjan veya yüksek molekül ağırlıklı albumin ve nişasta içeren solüsyonlar ile hücre yüzeyinden ekstrakte edilebildiği bildirilmektedir (21). Bakterinin hemolitik aktivitesi ile turuncu-kırmızı pigment oluşumu arasında kuvvetli bir genetik ilişki bulunmaktadır (6). Neonatal erken dönem GBS enfeksiyonlarında görülen şiddetli pneumonilerin patolojik incelemelerinde, yaygın ve derin pulmoner hasarların bulunduğu gözlenmiş, bu bozukluklara neden olan bakteriyel faktörün gerçekte bir sitolizin olan ve pulmoner epiteliyal hücreler üzerinde sitopatik etkiler oluşturan GBS hemolizinleri olduğu belirlenmiştir (77).

2.5.4. CAMP faktör

GBS'ların identifikasyonunda yaygın olarak kullanılan CAMP fenomeni, ilk olarak 1944 yılında Christie ve ark. tarafından tanımlanmış, daha sonra bu fenomene neden olan faktörün 25 kDa'luk bir ekstrasellüler protein olduğu ortaya konulmuştur (78,79). CAMP faktör, *Staphylococcus aureus*'un oluşturduğu bir beta hemolizin olan sfingomyelinaz ile muamele edilen eritrositlerin membranını eritme yeteneğine sahiptir (80). GBS'lardaki CAMP faktörün insan ve hayvanlardaki IgG ve IgM'in Fc porsiyonuna nonspesifik olarak bağlandığı ve ko-hemolitik aktiviteyi inhibe ettiği gözlenmiştir (53,81). CAMP fenomenine GBS'lardan başka serogrup G ve *Streptococcus uberis*'te de rastlanmıştır (82).

2.5.5. Hyaluronidaz (Hyaluronate lyase)

GBS'ların virulens ve patojenitesinde oldukça önemli rol oynayan ve moleküler ağırlığı 121 kDa olan hyaluronidaz enzimi, *hylB* geni tarafından kodlanmaktadır. Bu enzim, dokularda *N*-asetil- β -D-glikozamin ve D-glukuronik asit arasındaki glikozid bağlarını (hyaluronat) eriterek ortamın permabilitesini ve viskozitesini arttırmakta, böylelikle bakterinin doku içinde kolayca yayılmasını sağlamaktadır (16,50,83). Konakçının deri, umbilikal kord, sinoviyal sıvı ve kıkırdak dokusunda bulunan hyaluronat, glikozid bağları ile bağlı *N*-asetil- β -D-glikozamin ve D-glukuronik asit'in oluşturduğu bir glikozaminoglikan polimeridir ve özellikle yumuşak dokulardaki ekstrasellüler matrixin ana komponentini oluşturmaktadır. Vücuttaki hyaluronat'ın %50'si deride bulunmaktadır. Hyaluronidaz enzimi, sığır ve koyunlarda meme epitelinin bütünlüğünü bozarak bakterinin meme dokusunda yayılmasına ve toksik etkilerini gösterebilmesine olanak sağlar (11,50). Bu enzim aktivitesi en fazla GBS serotip III'te tespit edilmiştir. Amniyotik sıvılarda bu enzime rastlanması, GBS'ların plasental bariyeri aşabilmesinde bu enzimin etkili olduğunu ortaya koymuştur (84).

2.5.6. Deoksiribonükleaz (DN'az)

DN'az enzimi, GBS'lardan başka serogrup A, C, D, E ve kısmen de grup F, G ve L streptokoklar tarafından sentezlenen ve deoksiribonükleik asidi (DNA) parçalayan bir enzimdir (11). İrinin koyuluğunu oluşturan deoksiribonükleo proteinleri depolimerize ederek, ortamı akıcı hale getirir. DN'azların, A, B, C ve D olmak üzere dört farklı antijenik yapıda olduğu belirlenmiştir. Streptokok enfeksiyonlarının serolojik tanısında, B'ye karşı oluşan antikor tespitinin önemli bir yeri vardır. Bu enzimler, streptokinaz ile birlikte kullanılarak seröz boşlukların iltihaplanmalarında oluşan yapışıklıkların ayrılması ve irin kitlesinin akışkan hale getirilerek, boşaltılması amacı ile sağaltımda kullanılmaktadır (11,19,85,86).

2.5.7. Streptokinaz (Fibrinolizin)

Streptokinaz (fibrinolizin), plazminojenin plazmine dönüşümünü katalize eden proteolitik bir enzimdir. İmmunojenik karakterde olup spesifik antikorlar ile nötralize

edilebilir. Lezyonların periferinde fibrin bariyerinin oluşumunu da inhibe etmektedir (11,16).

Plazmin, organizmanın fizyolojik sürecinde ekstrasellüler matriks proteinlerinin azaltılması, kan pıhtılarının çözülmesi (fibrinolizis), hücrel göç ve kanser metastazının önlenmesinde önemli rol oynayan kuvvetli bir proteinazdır (5).

Mikroorganizmalar açısından plazmin, fibrinlerin ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin eritilmesi, doku bariyerlerinin aşılarda derin dokulara ulaşabilmesi açısından önemli rol oynamaktadır. Kazeinolitik bir enzim olan plazminin varlığı, süte bakterinin üreyebilme yeteneğini artırır (11,87).

2.5.8. Nöraminidaz

Nöraminidaz, birçok streptokok türü tarafından sentezlenen bir enzimdir. Bu enzimin etkileri, *N*-asetilnöraminik asidin ayrıştırılmasına dayanmaktadır. Nöroaminidaz, iki farklı enzim tipine ayrılmaktadır. İlki serogrup K'da görülen ve sığırlarda salgısal musindeki nöraminik asidi ve sığır kolostrumundaki *N*-asetilnöraminillaktozu parçalayabilme yeteneğindedir. İkinci enzim tipi de diğer streptokoklarda görülen ve sığırlarda salgısal musindeki nöraminik asidi tamamen yok etmekte ve kolostrumda *N*-asetilnöraminillaktozdan nöraminik asidin oluşumunu tamamen engellemektedir. Spesifik antikorlar ile nötralize edilebilen bu enzimin patojenik mekanizması henüz tam olarak netlik kazanmamıştır (88).

Grup A ve grup B Streptokoklar tarafından oluşturulan enfeksiyonlarda ve özellikle insanlarda *Streptococcus pneumoniae*'nin neden olduğu bakteriyel meningitis olgularında, anormal konsantrasyonlarda *N*-asetilnöraminik asidin tespiti, bu enzimin sentezlendiğini göstermektedir. Ayrıca nöroaminidaz, IgG'lerin kimyasal yapısında değişikliklere neden olduğu bildirilmektedir (19).

2.6. Antijenik yapı

Hücre duvarında bulunan polisakkarit ve protein yapıdaki antijenlerin farklılıklarına göre GBS'lar 13 alt serotipe ayrılmıştır. Polisakkarit yapıda antijene sahip olan serotipler Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII ve VIII olarak tanımlanırken; protein

yapıdaki antijene sahip olan serotipler ise c, R ve X olarak adlandırılmıştır. Ayrıca protein antijene sahip bazı GBS serotiplerinde Ra (R-associated antigen) olarak adlandırılan protein yapıda diğer bazı antijenlerin de bulunduğu tespit edilmiştir (8,9,89,90,91).

İsveçte yapılan bir araştırmada (92), bir insandan izole edilen ve GBS serotip III olarak tanımlanan bir suşun moleküler analizinde 95 kDa ağırlığında bir protein içerdiği gözlemlenmiş, Rib (Resistance to protease, immunity, group B) olarak adlandırılan bu proteinin tip III polisakkarit antijen ile kombine olarak bulunabileceği rapor edilmiştir.

Hücre duvarındaki antijenik komponentleri kodlayan genler üzerine yapılan bir araştırmada (93), c β ve Rib protein antijenlerinin *bag* ve *rib* genleri tarafından kodlandığı tespit edilmiş, polisakkarit antijenlerin ise *cps* (örn: *cpsA*, *cpsB*) olarak bilinen ve alfabetik olarak adlandırılan genler tarafından kodlandığı bildirilmiştir (8).

Polisakkarit antijenler, hücre duvarında tek başlarına bulunmalarının yanı sıra protein antijenler ile kombine halde de bulunabilmektedirler. Polisakkarit antijenine sahip olmayan ve antijenik yapısı tanımlanamayan GBS serotipleri “Not Typed” (NT) olarak adlandırılmışlardır. Polisakkarit ve protein yapıdaki serotip antijenlerin ekstraksiyonu en yaygın olarak sıcak HCl yöntemiyle yapılmaktadır. Serotip-spesifik antijenler, kapıllar presipitasyon, koaglütinasyon ve double immundiffüzyon yöntemleri ile tespit edilebilmektedir (9).

2.6.1. Protein antijenleri

2.6.1.1. c-protein antijeni

GBS’ların en iyi tanımlanan virulens faktörlerinden biri olan yüzey antijeni c-protein kompleksidir (28,33,94,95). Bu kompleks, c α -, c β -, c γ - ve c δ - olarak adlandırılan, serolojik olarak birbirinden farklı ve bağımsız dört antijenik yapıdan oluşmaktadır. Pepsine duyarlılık gösteren bu yapılardan c α - proteininin tripsine dirençli, c β - proteininin ise tripsine duyarlı olduğu bildirilmektedir (8,96,97,98). Klinik isolatların %40-60’ında ve özellikle serotip Ia, Ib ve II’de c- proteine rastlanmaktadır

(33,95). Serotip III'te bulunan yüzey protein antijeni ise Rib olarak adlandırılmıştır (92). Serotip V'te bulunan proteinin ise α - proteine karşı oluşan antikorlar ile kros reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Bu suşlarda bulunan her iki yüzey proteini α - antijenine benzer yapıdadır (99). Suşlarda bulunan α - proteininin molekül ağırlığının 62.5 ile 200 kDa arasında değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. β - komponenti ise serotip III'ün kapsüler polisakkaritinde yer almakta ve bu yapı diğer serotiplere karşı koruyucu bağışıklığın şekillenmesinde etkili olmaktadır. Polisakkarit antijenden bağımsız olan γ - protein antijeninin ise erken dönem neonatal sepsisemi olgularından izole edilen GBS kültürlerinin γ - protein taşıyan suşlarının %37'sini oluşturduğu tespit edilmiştir (99,100).

GBS referans kültürlerinden biri olan Ic (A 909) kültürü, başlangıçta Ia/ α - β kültürü olarak adlandırılmıştır. Son yıllarda yapılan taksonomik değişikliklerde Ic (A 909) referans kültürü de Ic α (335 Bevanger) ve Ic β (70339 Bevanger) olmak üzere iki alt sınıfta değerlendirilmiştir (95,96,97,101).

2.6.1.2. R antijeni

Sığırlardan izole edilen GBS'ların ilk tanımlanan serotip antijenleri, protein yapıda olan R ve X antijenleridir (102). R- protein, tripsine dirençli, pepsine duyarlıdır (103). Serogrup A streptokokların yüzey antijenlerinden olan M ve T protein antijenlerine benzerlik gösterir. GBS serotip R antijeni, serogrup A streptokok R 28 serotip antijeni ve serogrup C, G ve L streptokoklarda tespit edilen R antijenine benzerlik göstermekte ve bu antijenler ile kros reaksiyon verdiği bildirilmektedir (11,103,104,105,106). Serogrup A, B ve C streptokoklarda, presipitasyon reaksiyonları ile birbirinden ayırt edilebilen 4 farklı R proteini (R1, R2, R3 ve R4) tespit edilmiştir (91). İnsanlardan izole edilen GBS'ların çoğunlukla R4 protein antijene sahip olduğu ve Western blot yöntemi ile yapılan analizlerde bu protein antijeninin, moleküler ağırlıkları 84 kDa ile 200 kDa olan iki farklı komponentten oluştuğu tespit edilmiştir (104).

İnsanlardan izole edilen GBS'larda tespit edilen R antijeni, çoğunlukla tip II ve III polisakkarit antijenle birlikte kombine olarak bulunmaktadır (9).

2.6.1.3. X antijeni

Grup B Streptokokların yüzey antijenlerinden biri olan X protein ilk olarak Pattison ve ark. (102) tarafından tanımlanmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda (105,107) GBS serotip X antijeni, Grup G ve L streptokoklarda da belirlenmiştir. X protein antijeni pepsine tamamen, tripsine kısmen duyarlıdır. X protein antijeninin Western blot analizinde, proteinin molekül ağırlığı 200 kDa ve 100 kDa'luk iki farklı komponentten oluştuğu tespit edilmiştir (103,108,109).

Yapılan deneysel çalışmalarda (109), X protein antijenine karşı şekillenen antikorların koruyucu özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. X proteine karşı aşılanmış hayvanlarda sütteki somatik hücre miktarının aşılanmamış hayvanlara göre daha hızlı arttığı ve aşılanmış hayvanlardaki in vitro bakterisidal aktivitenin (fagositoz ve opsonizasyon) de bariz bir artış gösterdiği tespit edilmiştir.

X protein antijeninin, özellikle sığırların mastitis olgularından izole edilen GBS suşlarında tespit edildiği ve izole edilen suşlarda tek başına veya polisakkarit antijenlerle birlikte (özellikle tip IV ve Ia antijenleri) kombine olarak bulunduğu bildirilmektedir (14,90).

2.6.2. Polisakkarit antijenleri

2.6.2.1. C-polisakkarit antijeni (Grup antijeni)

Streptokokların hücre duvarında, kapsül ile mukopeptid (peptidoglikan) katmanlarının arasında yaygın olarak bulunan karbonhidrat katmanına C-polisakkarit adı verilmiştir. Bu katmanın yapısındaki farklılıklara göre streptokoklar serolojik olarak A'dan V'ye kadar adlandırılan serogruplara ayrılmıştır (1,2,3,7,13,110).

Grup B Streptokokların grup spesifik C-polisakkarit antijeni, %45-50 L-ramnoz, %11-17 D-galaktoz, %11-25 N-asetil-D-glikozamin ve glusitolfosfattan oluşmaktadır (2,11,111).

C-polisakkaritin yapısında bulunan ramnoz, temel komponent olup serogruplandırmada belirleyici (immunodominant) bir rol oynar. Ancak bu yapı aynı

zamanda serogrup G ve *Streptococcus penumoniae* serotip 23 ile kros reaksiyon vermektedir (11,111,112).

Streptokokların serogruplandırılması amacıyla bakterinin hücre duvarında bulunan serogrup antijeni (C-polisakkarit) çeşitli yöntemlerle ekstrakte edilebilmektedir. Sıcak HCl ekstraksiyonu, otoklav ekstraksiyonu, sıcak formamid ekstraksiyonu ve nitrik asit ekstraksiyonu, kullanılan başlıca yöntemlerdir (110). Bunun yanında proneaz B ile ekstraksiyon, fenol-su ekstraksiyonu, lizozim ve murolitik enzim (mutanolizin) ile ekstraksiyon yöntemlerinden de yararlanılabileceği bildirilmektedir (113,114).

Serogrup antijenlerinin serogrup-spesifik antiserumlar ile tespiti amacıyla da double immundiffüzyon, kapillar presipitasyon, stafilokokal ko-aglutinasyon ve lateks aglutinasyon yöntemleri kullanılmaktadır (19,115,116).

2.6.2.2. Serotip antijenleri

Serotip Ia ve Ib polisakkarit antijenleri, temel olarak birbirinden ayırt edilebilen farklı glikozid bağlarına sahip olup galaktoz ve N-asetilglikozamin içermektedir. Glikozidik bağlar, serotip Ia'da β (1→4) ve serotip Ib'de β (1→3)'tür. Her iki polisakkarit birbirlerinin izomerleridir, ancak antijenik farklılıkları bulunmaktadır. Ia polisakkarit antijeni, galaktoz ve N-asetilglikozamin şekerlerini 3:1 oranında içerirken Ib polisakkarit antijeni aynı şekerleri 2:1 oranında içerdiği ve ana komponentlerin tip Ia suşlarında N-asetilglikozamin, tip Ib suşlarında ise glikozamin olduğu bildirilmiştir (9,117,118).

Tai ve ark. (119)'nın yaptığı bir araştırmada, Ib polisakkarit antijeninin yapısında galaktoz, glikoz, N-asetilglikozamin ve nöraminik asit'in bulunduğu ve bu komponentlerin sırasıyla 2:1:1:1 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.

GBS serotip Ia ve Ib suşları ile immunize edilen tavşanlardan native (nöraminik asit içeren) ve core (nöraminik asit içermeyen) polisakkarit antijenlerine karşı elde edilen antiserumların kullanıldığı bir araştırmada (120), native ve core antijenleri arasında, serotip Ia suşlarında kısmi benzerlik, serotip Ib suşlarında ise tam benzerlik bulunduğu bildirilmiştir.

Polisakkarit antijene bağlı olarak bulunan nöraminik asit, Ia antijenine özgü olarak belirleyici bir komponenttir ve belirlenen serotipler arasında Ia antijeninde en yüksek oranda bulunur (120). Polisakkarit antijende nöraminik asit içeriğinin artmasıyla tetrasiklinlere olan dirençliliğin de arttığı tespit edilmiştir (121).

GBS'ların insanların epiteliyal hücrelerine tutunmaları ile ilgili olarak farelerde yapılan deneysel çalışmalarda, serotip Ia'nın polisakkarit kapsülünün yokluğunda virulensinin de önemli ölçüde azaldığı bildirilmektedir (8). Fare denemelerinde serotip Ib'nin native polisakkarit antijenine karşı elde edilen monoklonal antikörlerin koruyucu özellikte oldukları, ancak core polisakkarit antijenine karşı oluşan antikörlerin ise koruyucu özellikte olmadığı tespit edilmiştir (122).

İnsan, sığır, fare, balık ve kurbağalardan izole edilen GBS serotip Ib suşlarının protein profillerinin benzer olmasına karşın suşlar arasında biyokimyasal özellikleri ile ilgili farklılıkların olduğu gözlenmiştir (123).

GBS serotip II polisakkarit antijeni, β -galaktoz ve α -nöraminik olmak üzere iki farklı komponent içermektedir. Buna göre serotip II polisakkarit antijenine karşı, birisi sadece nöraminik asit içeren native antijen, diğeri de hem native hem de nöraminik asit içermeyen core antijenleri ile ayrı ayrı reaksiyon veren iki farklı spesifitede antikör şekillendiği tespit edilmiştir (124). Hidroklorik asit, antijenik yapıdaki labil determinant olan nöraminik asiti yıkılmadığından, sıcak-HCl yöntemiyle nöraminik asit, tip II polisakkarit antijeninden ayrışarak core antijen içeren ekstrakt elde edilebildiği bildirilmektedir (8).

Native olarak bilinen tip II polisakkarit antijenin, galaktoz, glikoz, 2-asetamido-2-deoksiglikoz ve nöraminik asit yapılarını 3:2:1:1 oranlarında; core olarak bilinen tip II polisakkarit antijenin ise galaktoz, glikoz ve 2-asetamido-2-deoksiglikoz yapılarını 3:2:1 oranlarında içerdiği tespit edilmiştir (124). Lancefield ve ark. (125), fare denemelerinde GBS serotip II suşlarındaki native ve core polisakkarit antijenlerine karşı oluşan spesifik antikörlerin koruyucu özellikte olduklarını tespit etmişlerdir.

GBS serotip III polisakkarit antijeni, Lancefield tarafından serotip Ia, Ib ve II ile birlikte ilk olarak tespit edilen polisakkarit antijenlerden biridir (120). Tip III

polisakkarit antijeninin moleküler ağırlığı 15 kDa olarak belirlenmiş olup galaktoz, glikoz, glikozamin, *N*-asetilglikozamin ve nöraminik asitten oluştuğu bildirilmiştir. Tip III antijenini belirleyen determinantların nöraminik asit olduğu, ancak nöraminik asitin tek başına antijeniteyi belirlemediği tespit edilmiştir (126). Serotip III polisakkarit antijenin de serotip Ia, Ib ve II suşlarında tespit edilen native ve core antijen formları bulunmaktadır. Native antijen, %24 nöraminik asit, %25 galaktoz, %21 heptoz, %13 glikoz, %10 *N*-asetilglikozamin, %7 mannoz ve bazı aminoasitleri içermektedir. Core antijen, *Streptococcus pneumonia* serotip 4 suşlarındaki kapsül polisakkariti ile benzerlik gösterir ve bu suşlardan hazırlanan HCl ekstraktların GBS serotip III spesifik antiserumlar ile kros reaksiyon verdikleri gözlenmiştir (126,127). Fare denemelerinde, nöraminik asit içeren tip III native antijene karşı elde edilen monoklonal antikorların (IgA, IgG veya IgM) geniş bir koruyucu özelliklerinin olduğu, core antijene karşı elde edilen monoklonal antikorların ise koruyucu özellikte olmadığı belirlenmiştir (128).

GBS serotip IV polisakkarit antijeni ilk olarak Jelinkova ve Motlova (129) tarafından tespit edilmiş, daha sonra antijenlerinin glikoz, galaktoz, *N*-asetilglikozamin ve *N*-asetilnöraminik asit komponentlerinden oluştuğu ve bunların dağılım oranlarının ise 2:2:1:1 şeklinde olduğu belirlenmiştir (130).

GBS serotip V antijeninin pepsine duyarlı ve 90 kDa'luk bir komponent olduğu; yapısının glikoz, galaktoz, 2-asetamido-2-deoksiglikoz ve *N*-asetilnöraminik asit komponentlerinden oluştuğu ve bunların dağılım oranlarının ise 3:2:1:1 olduğu tespit edilmiştir (131). İyon değişim kromatografisi yöntemiyle yapılan saflaştırma çalışmalarında da (132), serotip V antijeninin yapısında Fbs-protein ve Rib-benzeri protein olarak adlandırılan iki yeni protein tespit edilmiştir. Bu komponentlerden Fbs-proteinin, GBS serotip V suşlarının %31'inde, Rib-benzeri proteinin ise suşların %59'unda bulunduğu bildirilmiştir.

GBS serotip VI polisakkarit antijeni ilk olarak Wilkinson (133) tarafından serotip VI adayı olarak belirlenmiş ve başlangıçta "NT6" olarak adlandırılmıştır. Daha sonra Hunolstein ve ark. (134), tip VI antijeninin glikoz, galaktoz ve *N*-asetilnöraminik asitten oluştuğunu ve bu komponentlerin 2:2:1 oranlarında dağılım gösterdiğini, diğer serotiplerin aksine *N*-asetilglikozamin içermediğini bildirmişlerdir. Fare denemelerinde, tip VI polisakkarit antijen spesifik antiserumların koruyucu özellikte olduğu, bu bakteri

suşlarının spesifik antikorların varlığında fagositoz ve opsonizasyondan etkilendiğini rapor etmişlerdir.

GBS serotip VII polisakkarit antijen ilk olarak Perch ve ark. (135) tarafından izole edilmiş ve “7271” kodunda GBS tip adayı olarak tanımlanmıştır. Yapılan analizlerde (136) tip VII polisakkarit antijenin yapısının D-glikoz, D-galaktoz, *N*-asetil-D-glikozamin *N*-asetilnöraminik asitten oluştuğu ve bu yapıları 2:2:1:1 oranlarında içerdiği tespit edilmiştir. Bariz bir kapsüle sahip olan serotip VII referans suşunun fare denemelerinde virulensinin yüksek olduğu ve tip-spesifik antikorların koruyucu özellikte olduğu gözlenmiştir. Antijenik yapısında sıklıkla c ve R proteine ait komponentlerin bulunduğu ve bu komponentlerden dolayı heterolog kültürlerle kros reaksiyon verdiği bildirilmiştir (8,137).

GBS serotip VIII polisakkarit antijeni ilk önce “M9” sonra “JM9” olarak kodlanmış ve en sonunda tip VIII (JM9) olarak tanımlanmıştır (138). Tip VIII polisakkarit antijen temel olarak D-glikoz, D-galaktoz, L-ramnoz ve *N*-asetilnöraminik asit komponentlerini aynı oranlarda içerdiği bildirilmektedir (68,139). Tüm GBS serotip VIII suşları *N*-asetilnöraminik asit komponentini içermekle beraber suşların yaklaşık yarısının antijenik yapısında ayrıca R proteinine ait antijenik komponentlerin bulunduğu rapor edilmiştir (140).

2.7. Lektinlere bağlanma özellikleri

Lektinler, yaygın olarak hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda tespit edilmiştir. Lektinler, spesifik olarak tanımlanabilen karbonhidrat yapılar ile kombine olarak bulunabilmektedir. Bu özellikleri ile lektinler, hücre duvarı yapısında bulunan ve hücreye özgü olan karbonhidrat yapının karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (141,142,143).

Lektinler, hücreler arasındaki adhezyonda önemli rol oynamaktadırlar. Bir lektin, genellikle karbonhidrat rezidülerine göre iki veya daha fazla bağlanma bölgesine sahip olabilmektedir (143).

Kan hücreleri ile olan reaksiyonlarından dolayı lektinler üzerinde kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Yapılan araştırmalarda (142,144,145) kullanılan lektinler,

tavşanlardan elde edilen antiserumlardan daha spesifik reaksiyon vermeleri, kolay ve ucuz bir şekilde elde edilmelerinden dolayı pratik kullanım alanı bulmuştur. İlk olarak Landsteiner, lektinlerin immunolojik olarak belirleyici olan spesifik antikorlarla birlikte kullanıldığında hücresel antijenlerle kompetitif olarak reaksiyona girdiklerini ve spesifik antikor yanıtını inhibe edebildiklerini tespit etmiştir (143).

Hücre duvarının spesifik terminal yapıları *N*-asetil- β -D-galaktozamin olan serogrup C streptokokların bazı lektinler ile olan aglütinasyon reaksiyonları, galaktoz veya laktoz ile inhibe edilebilmektedir. Bu hücre duvarı karbonhidrat yapıları, streptokokların spesifik antikorlar ve lektinler ile olan reaksiyonlarından sorumlu olarak kabul edilmektedir (141).

Motlová ve ark. (146), inceledikleri GBS suşlarından 52 adet serotip IV, 34 adet serotip V ve 7 adet NT6 suşunun sialik asit-spesifik lektin olan *Cepaea hortensis* ile aglütinasyon verdiğini bildirmişlerdir.

Munoz ve ark. (144), insanlardan izole edilen GBS suşlarının %24'ünün bir veya birden fazla lektin ile aglütinasyon verdiğini; Kellens ve ark. (147) ise insanlardan izole edilen 95 adet GBS suşunun lektinlerle gözle görülür aglütinasyon göstermediğini, ancak tripsin ile muamele edildikten sonra %44.2'sinin bir veya birden fazla lektin ile aglütinasyon gösterdiğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Grup B Streptokok (*Streptococcus agalactiae*) suşları

Araştırmanın materyalini, Van ve yöresindeki çeşitli işletmelerde yetiştirilen 375 adet sağmal inekten alınan 1400 süt örneğinden izole ve identifiye edilen 76 adet GBS suşu ile Van Doğumevi Polikliniğine gelen hastalardan alınan 300 adet vaginal sıvı örneğinden izole ve identifiye edilen 72 adet GBS suşu olmak üzere toplam 148 GBS suşu oluşturdu (Tablo 1).

Tablo 1. Sığır ve insanlardan alınan örneklerin konakçı ile kaynaklara göre dağılımı

Konakçı	Kaynak	Alınan örnek sayısı
Sığır	Erciş- Ulupamir	300
	Erciş- Çakırbey	288
	Saray- Dönerdere	340
	Merkez- Canik	160
	Van il merkezi	312
İnsan	Van Doğumevi	300
Toplam		1700

3.1.2. Referans suşlar

Streptococcus agalactiae serotip Ia (090), Ib (H 36 B), Ic (A 909), II (18 RS 21), III (6313), IV (3139), V (SS 1169), VII (7271), VIII (JM9 130013), R (25/60 Compton), X (24/60 Compton) ve *Staphylococcus aureus* Cowan I (NCTC 8530) referans suşları Prof. Dr. Christoph LÄMMLER (Justus Liebig University, Veterinary Faculty, Department of Pharmacology Giessen /Almanya)'den temin edildi.

3.1.3. Besi yerleri

GBS'ların izolasyon ve identifikasyonu ile biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla; Blood Agar Base (Merck), Edwards Medium (Oxoid), Todd Hewitt Broth (Oxoid), Brain Heart Infusion Broth (Oxoid), Phenol Rot Broth (Merck), Columbia Agar Base (Oxoid), Tryptic Soy Broth (Difco), Mueller Hinton Agar (Oxoid), Agar Bacteriological (Oxoid) besi yerleri kullanıldı. Besi yerleri üretici firmanın önerdiği şekilde hazırlandı.

3.1.4. Çözeltiler ve test ortamları

Sodyum hippurat solüsyonu (%1): 1 gr Na-hippurat, 50 ml steril distile suda çözdürüldü ve çözelti 100 ml'ye tamamlandı.

Ninhidrin solüsyonu (%3.5): 3.5 gr ninhidrin, eşit miktardaki butanol ve aseton karışımında çözdürüldü ve çözelti aynı karışım ile 100 ml'ye tamamlandı.

Karbonhidrat solüsyonları (%10): 10 gr karbonhidrat (salisin, laktoz, trehaloz, raffinoz, inulin), 50 ml steril distile suda çözdürüldü ve karışım 100 ml'ye tamamlandıktan sonra tindalizasyon yöntemi ile sterilize edildi.

HCl solüsyonları:

1 N HCl : 8.28 ml HCl (%37), 91.72 ml steril distile su ile karıştırılarak hazırlandı.

0.2 N HCl : 1.65 ml HCl (%37), 98.35 ml steril distile su ile karıştırılarak hazırlandı.

NaOH solüsyonları:

1 N NaOH : 4 gr NaOH, steril distile su içinde çözdürülüp 100 ml'ye tamamlandı.

0.1 N NaOH : 0.4 gr NaOH, steril distile su içinde çözdürülüp 100 ml'ye tamamlandı.

0.2 N NaOH : 0.8 gr NaOH, steril distile su içinde çözdürülüp 100 ml'ye tamamlandı.

PBS (Phosphate Buffered Saline) Çözeltileri:

Araştırmada kullanılan, farklı molarite ve pH'lara sahip her bir PBS çözeltisinin hazırlanmasında; 8.76 gr NaCl (0.14 M) üzerine aşağıda her bir molarite için ayrı ayrı hazırlanan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve KH_2PO_4 çözeltilerinden 250'şer ml ilave edildi. Çözeltinin pH'sı $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve KH_2PO_4 çözeltileri uygun oranlarda bir litreye tamamlanacak şekilde karıştırılarak pH metre cihazı (Mettler-Toledo MP230- U.K.) ile ölçülmek suretiyle ayarlandı. Hazırlanan PBS çözeltileri gerek görüldüğünde otoklavda sterilize edildi.

0.5 M PBS için :

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 89 gr $\Rightarrow$ Distile suda çözdürüldü ve 1 lt'ye tamamlandı.

KH_2PO_4 68 gr $\Rightarrow$ Distile suda çözdürüldü ve 1 lt'ye tamamlandı.

0.2 M PBS için :

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 35.6 gr $\Rightarrow$ Distile suda çözdürüldü ve 1 lt'ye tamamlandı.

KH_2PO_4 27.2 gr $\Rightarrow$ Distile suda çözdürüldü ve 1 lt'ye tamamlandı.

0.05 M PBS için :

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 8.9 gr $\Rightarrow$ Distile suda çözdürüldü ve 1 lt'ye tamamlandı.

KH_2PO_4 6.8 gr $\Rightarrow$ Distile suda çözdürüldü ve 1 lt'ye tamamlandı.

0.03 M PBS için :

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5.34 gr $\Rightarrow$ Distile suda çözdürüldü ve 1 lt'ye tamamlandı.

KH_2PO_4 4.08 gr $\Rightarrow$ Distile suda çözdürüldü ve 1 lt'ye tamamlandı.

Fizyolojik Tuzlu Su (FTS): 8.76 gr NaCl, distile su içinde çözdürülüp 1 lt'ye tamamlandı.

0.2 M Sodyum sitrat çözeltisi : 0.47 gr Sodyum sitrat, distile su içinde çözdürülüp 10 ml'ye tamamlandı.

0.002 M Fosfat buffer çözeltisi (pH 6.8): 0.36 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 (2\text{H}_2\text{O})$, steril distile su içinde çözdürülüp 1 lt'ye tamamlandı.

Fenol red çözeltisi (%1.5 alkollü):

Phenol rot	0.4 gr
NaOH (N/20)*	23.5 ml
Etil alkol	1.5 ml
Distile su	75 ml

* : N/20 NaOH için 0.002 gr NaOH, 1000 ml distile suda çözdürüldü

Agaroz jel (AGPT için):

Agarose (Purified Agar)	1 gr
Polyethylenglikol (Tip 6000)	3 gr
Natrium azide (NaN ₃)	0.05 gr
PBS (0.5 M, pH 7.5)	50 ml
Distile su	50 ml

0.2 M Tris-HCl buffer (pH 6.8):

Tris	2.4 gr
Tween 20	0.1 ml
Natrium azide (NaN ₃)	0.01 gr
Distile su	100 ml
Karışımın pH'sı 1 N HCl ile ayarlandı	

4-Methylumbelliferyl ile konjuge substratlar:

Stok solüsyonları : 0.2 ml *N,N*-dimethylformamide içerisinde 15µM *N*-acetyl-β-D-glikozaminide, 0.2 ml Dimethylsulfoxide içerisinde 15µM β-galaktopyranoside ve 0.2 ml Dimethylsulfoxide içerisinde 15µM β-D-glucuronide çözdürüldü.

0.2 M Na-acetat çözeltisi (pH 5.2) : 2.72 gr Na-acetat, distile su içinde çözdürülerek 100 ml'ye tamamlandı.

Substratların Kullanım solüsyonları : Her bir substrat stok solüsyonun 0.2 ml'si Na-acetat çözeltisi ile 10 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

3.1.5. Deneme hayvanları

GBS serotip-spesifik antiserumların elde edilmesi için yapılan immunizasyon işleminde 2-2.5 kg ağırlığında sağlıklı, erişkin New Zealand ırkı beyaz tavşanlar kullanıldı (9).

3.2. Metot

3.2.1. İzolasyon

3.2.1.1. Hayvanlardan izolasyon

Bu amaçla Van ve yöresindeki çeşitli işletmelerde yetiştirilen 375 adet sağmal inekten toplam 1400 süt örneği alındı. Süt örnekleri alınırken önce meme başları %70 alkollü pamukla silindi ve sağılan ilk süt dışarı atıldı. Daha sonra kapaklı steril tüplere 8-10 ml miktarında süt örnekleri alındı ve soğuk zincirde muhafaza edilerek kısa sürede laboratuvara getirildi (148). Örnekler iyice homojenize edildikten sonra 0.1'er ml alınarak Edwards medium'a ekimleri yapıldı. Besi yerinin 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmesinden sonra besi yerinde üreyen eskulin negatif ve pozitif koloniler katalaz aktivitesi yönünden incelendi (5,6,19). Katalaz negatif olduğu tespit edilen koloniler Gram yöntemiyle boyanarak incelendi. Gram pozitif, zincir biçimindeki koklar *Streptococcus spp.* olarak identifiye edildi (2,13,19,110) ve serogruplandırılmak üzere ayrıldı.

3.2.1.2. İnsanlardan izolasyon

İnsanlardan GBS izolasyonu amacıyla Van Doğumevi polikliniğine Van ve yöresi ile Hakkari, Ağrı, Bitlis ve Muş gibi yakın il ve ilçelerinden gelen toplam 300 hastanın poliklinik hekimleri tarafından spekulum kullanılarak steril sıvaplarla vaginal örnekleri alındı. Alınan sıvap örneklerinin transportu ve ön zenginleştirmesi amacıyla, yarı katı selektif Todd-Hewitt Broth (THB) (2 gr agar, 8 mg gentamisin ve 15 mg nalidiksik asit / lt ile supplemente edilmiş)'a konuldu ve hafifçe karıştırıldı (30,149). Besi yerinin 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyonundan sonra örnekler Edwards mediumda pasajlandı ve besi yeri 37°C'de 24 saat inkübe edildi (150). Besi yerinde

üreyen eskulin negatif ve pozitif koloniler katalaz aktivitesi yönünden incelendi. Katalaz negatif olduğu tespit edilen koloniler Gram yöntemiyle boyanarak Gram pozitif, zincir biçimindeki koklar *Streptococcus spp.* olarak tanımlanıp ve serogruplandırılmak üzere ayrıldı (1,2,7,13,110).

3.2.2. İdentifikasyon

3.2.2.1. Serogruplandırma

İnsan ve hayvanlardan izole edilen Streptokokların lateks aglütinasyon yöntemi ile serogruplandırılmasında, ticari lateks aglütinasyon kiti (AVIPATH-STREP / OMEGA® Diagnostic Ltd. U.K.) kullanıldı ve test, prospektüsünde önerildiği gibi uygulandı.

3.2.2.2. Serotiplendirme

3.2.2.2.1. İmmünizasyon

Referans serotip inokulumlarının hazırlanması : Bunun için, her bir referans GBS serotip kültüründen 200 ml THB'a ekimler yapıldı ve buyyonlar 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edildi. Bakteri kültürleri santrifüj edildi (10.000 x g, 15 dk.; ALC – PK 131R Multispeed Refrigerated Centrifuge - Italy) ve supernatant ayrıldı. Elde edilen sediment, 3.1.4.'te belirtilen steril 0.2 M PBS ile (pH 7.6) üç kez yıkandıktan sonra 20 ml PBS ile sulandırıldı. Polisakkarit antijene sahip olan serotip (Ia, Ib, II, III, IV, V, VII, VIII) kültürlerden hazırlanan süspansiyonlar 60°C'de 30 dk; protein antijene sahip olan serotip (Ic, R, X) kültürlerden hazırlanan süspansiyonlar ise 60°C'de 60 dk süreyle çalkalayıcı su banyosunda (Memmert – Germany) inaktive edildi. Bakteri süspansiyonlarının sterilite kontrolü için kanlı agara ekimler yapıldı ve besi yerlerinin 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübasyonundan sonra üreme görülmeyen bakteri süspansiyonları immünizasyon işleminde kullanıldı (9,151).

İmmünizasyon : GBS serotip-spesifik antiserumların elde edilmesi amacıyla 3.1.5.'te belirtilen tavşanlar kullanıldı. İmmünizasyon işlemine başlamadan önce tavşanlardan 1'er ml kan alınarak santrifüj edildi (2.000 x g, 15 dk) ve serumları ayrıldı.

Serumlar, AGPT’de her bir referans GBS serotip-spesifik antijen (HCl ekstrakt) ile serotip-spesifik antikor varlığı yönünden incelendi ve negatif sonuç veren hayvanlar immunizasyonda kullanıldı (9).

İmmunizasyon işleminde, her bir GBS serotipi için iki ayrı tavşan kullanıldı. Her bir GBS serotipi için ayrı ayrı hazırlanan inokulumlardan tavşanlara intravenöz olarak 0.5 ml enjekte edildikten bir hafta sonra, haftada üç kez gūnaşırı olacak şekilde dört hafta süre ile 1’er ml inokule edilerek immunizasyon işlemine devam edildi. Son enjeksiyondan 4-5 gün sonra antikor varlığı ve titresini kontrol etmek için kan örnekleri alındı ve AGPT’de incelendi. Antikor titresinin 1/16’dan daha az olduğu tespit edilen hayvanlarda immunizasyon işlemine 1-2 hafta süreyle aynı şekilde devam edildi (9). Bu süre sonunda genel anestezi altında tavşanların kalplerinden 20-50 ml miktarlarında kan alındı ve sonra hayvanlara ötenazi uygulandı.

Alınan kan örnekleri santrifüj edilerek (2000 x g, 15 dk) serumları ayrıldı. Elde edilen antiserumlar birer ml olacak şekilde ayrılarak incelenene kadar -20°C’de saklandı.

3.2.2.2.2. Monospesifik antiserumların elde edilmesi

Kros reaksiyonların incelenmesi : Tavşanlardan elde edilen GBS serotip-spesifik antiserumların spesifitesini tespit etmek amacıyla 3.2.3.4. ve 3.2.3.5.’te belirtilen AGPT ve ko-aglütinasyon testleri kullanıldı. Her bir serotip-spesifik antiserum, 3.2.3.3. te belirtildiğı şekilde homolog ve heterolog referans serotip kültürlerinden hazırlanan antijenler (HCl ekstrakt) ile ayrı ayrı test edildi. Her bir GBS serotip-polispesifik antiserum, kullanıldığı testte kros reaksiyon verdiğı heterolog referans GBS serotip kültürleri ile ayrı ayrı adsorbsiyon işlemine tabi tutuldu (9).

Adsorbsiyon işlemi : Tavşanlardan elde edilen GBS serotip-polispesifik antiserumların adsorbsiyon işlemi için önce referans GBS serotip kültürleri ayrı ayrı 200 ml THB’de 37°C’de 40 saat süreyle üretildi. Elde edilen bakteri kültürleri santrifüj (10.000 x g, 20 dk) edilerek supernatantı ayrıldıktan sonra elde edilen bakteri çökeltisi 0.14 M NaCl (FTS) ile 3 kez yıkandı ve son olarak 10 ml FTS ile sulandırıldı. Polisakkarit antijene sahip olan serotip (Ia, Ib, II, III, IV, V, VII, VIII) kültürlerden

hazırlanan süspansiyonlar 60°C’de 30 dk; protein antijene sahip olan serotip (Ic, R, X) kültürlerden hazırlanan süspansiyonlar ise 60°C’de 60 dk süreyle çalkalayıcı su banyosunda (Memmert – Germany) inaktive edildi. Bakteri süspansiyonlarının sterilite kontrolü için kanlı agara ekimler yapıldı ve besi yerlerinin 37 °C’de 18-24 saat süreyle inkübasyonundan sonra üreme görülmeyen bakteri süspansiyonları polispesifik antiserumların adsorbsiyon işleminde kullanıldı (9).

Adsorbsiyon işlemi için; adsorbe edilecek her bir polispesifik antiserum, kros reaksiyon verdiği her bir referans GBS serotip kültüründen yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonu ile 2/1 oranında karıştırıldı ve oda sıcaklığında 1 saat süre ile çalkalamak suretiyle (GFL – 3017 Orbital Shaker – Germany) muamele edildi. Karışım santrifüj (10.000 x g, 20 dk) edildikten sonra elde edilen her bir antiserum homolog ve heterolog referans GBS serotip kültürlerinden hazırlanan antijenler (HCl ekstrakt) ile test edildi. Her bir GBS serotip-spesifik antiserum sadece homolog referans GBS serotip antijen ile reaksiyon verene kadar adsorbsiyon işlemine devam edildi. Bu şekilde elde edilen referans GBS serotip-monospesifik antiserumlar, incelenecek GBS suşlarının serotiplendirilmesinde kullanılmak üzere -20°C’de saklandı (9).

3.2.2.2.3. Serotip spesifik antijenlerin ekstraksiyonu (HCl ekstrakt)

Bu amaçla, referans GBS serotip kültürleri ile incelenecek GBS kültürlerinin her biri 40 ml THB’de 37°C’de 18-24 saat süreyle üretildi ve bakteri kültürleri santrifüj (10.000 x g, 20 dk) edildi. Bakteri çökeltisi FTS ile 3 kere yıkandıktan sonra 350 µl 0.2 N HCl ile süspanse edilerek çalkalayıcı su banyosunda 52°C de 2 saat bekletildi. Bakteri süspansiyonu tekrar santrifüj (10.000 x g, 20 dk) edildikten sonra elde edilen supernatant ayrıldı ve üzerine 1 damla fenol red çözeltisi ilave edilerek pH’sı 1 N NaOH ile nötralize edildi. Bu şekilde elde edilen HCl-ekstrakt, seotiplendirmede kullanılmak üzere -20°C’de saklandı (9,13,110).

3.2.2.2.4. Agar jel presipitasyon testi (AGPT)

GBS serotip antijenlerin AGPT ile tespiti için, içeriği 3.1.4.’te belirtilen agar jeli hazırlandı. Belirtilen karışım alev üzerinde sık sık karıştırılmak suretiyle ısıtılarak

berrak bir görüntü sağlanıncaya kadar eritildi ve plastik petri kutularına (100x16 mm, Greiner®) 12-15 ml miktarında döküldü. Jel polimerize olduktan sonra, agar jel üzerinde perforatör aracılığıyla biri merkezde 6'sı onun çevresinde, her biri diğerinden 5 mm uzaklıkta 2.5 mm çapında toplam 7 kuyucuk açıldı.

Test için, açılan kuyucuklardan ortadakine 10 µl GBS serotip monospesifik antiserum, çevresindekilere de 10'ar µl ayrı ayrı incelenecek GBS kültürlerinden hazırlanan HCl ekstraktları konuldu. Petri kutuları oda sıcaklığında nemli ortamda 24-48 saat süreyle bekletildikten sonra antiserum kuyucuğu ile ekstrakt kuyucukları arasında şekillenen presipitasyon bantları çıplak gözle değerlendirildi (5,8,105,152,153).

3.2.2.2.5. Ko-aglütinasyon yöntemi

GBS serotip antijenlerinin ko-aglütinasyon yöntemi ile tespitinde kullanılan reaktanın hazırlanması için önce *Staphylococcus aureus* COWAN I kültürü 1000 ml Tryptic Soy Buyyonda 37°C'de 18 saat süreyle üretildi. Elde edilen stafilocok kültürü santrifüj edilerek supernatant ayrıldı ve bakteri çökeltisi steril 0.03 M PBS (pH 7.3) ile 2 kere yıkandıktan sonra %0.5 formaldehit içeren 20 ml PBS ile sulandırıldı. Bakteri süspansiyonu oda sıcaklığında 3 saat süreyle bekletildikten sonra PBS ile 4 kez yıkandı ve bakteri çökeltisi %0.1 NaN₃ içeren steril PBS ile sulandırıldı (1gr yaş ağırlık/10ml PBS). Daha sonra bakteri süspansiyonu 80°C'de 10 dk süreyle inaktive edildi. Sterilite kontrolü için inaktive edilen stafilocok süspansiyonundan kanlı agara ekim yapıldı ve besi yeri 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra inaktif stafilocok süspansiyonu ko-aglütinasyon reagentinin hazırlanmasında kullanıldı (115,153).

Ko-aglütinasyon reagentinin hazırlanması için yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan stafilocok süspansiyonunun 1 ml'si 0.14 ml GBS serotip-spesifik antiserum ile karıştırıldı ve oda ısısında çalkalayıcıda 45 dk süreyle muamele edildi. Karışım, 0.2 M Tris-HCl (pH 6.8) çözeltisi ile 2 kere yıkandıktan sonra elde edilen bakteri çökeltisi 1 ml çözelti ile sulandırıldı. Bu şekilde her bir referans GBS serotip-monospesifik antiserum ile ayrı ayrı hazırlanan ko-aglütinasyon reagenti testte kullanılmak üzere +4°C'de saklandı.

Ko-aglütinasyon testi için, yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan 20µl ko-aglütinasyon reagenti ile 3.2.3.3.' te belirtildiği şekilde GBS kültürlerinden hazırlanan 20µl HCl-ekstraktı temiz bir lam üzerinde karıştırıldı ve lam dairesel olarak yavaşça hareket ettirildi. Bir dakika içinde görülen aglütinasyon reaksiyonu pozitif olarak değerlendirildi. Her serotip için yapılan testte referans GBS serotip-spesifik ko-aglütinasyon reagenti ile pozitif kontrol için homolog referans GBS serotip antijeni; negatif kontrol için de FTS kullanıldı (8,22,115,153).

3.2.2.3. Biyokimyasal testler

3.2.2.3.1. Hemoliz testi

GBS Suşlarının hemolitik özelliklerinin tespiti için %5 defibrine koyun kanlı agar kullanıldı. Test için, 24 saatlik taze kültürlerden besi yerinde tek koloni oluşacak şekilde çizme yöntemiyle ekimler yapıldı ve kültürler 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda üreyen kolonilerin etrafında tam bir hemoliz alanı oluşması β - hemoliz, kolonilerin etrafında yeşillenme ile karakterize hafif hemolitik alanın oluşması α - hemoliz, koloni etrafında hemoliz alanının görülmemesi de γ - hemoliz (non hemolitik) olarak değerlendirildi (8,19,64,110,153).

3.2.2.3.2. Eskulin hidrolizi

Test için incelenecek GBS suşlarından hazırlanan 24 saatlik taze kültürlerden Edwards mediuma ekimler yapıldı. Besi yerinin 37°C'de 24-48 saat süreyle inkübasyonundan sonra koloni renginin siyahlaşması pozitif olarak değerlendirildi (13,19,110).

3.2.2.3.3. Sodyum hippurat hidrolizi

Test ortamı için, 3.1.4.'te belirtilen sodyum hippurat çözeltisi steril tüplere 0.4'er ml olacak şekilde taksim edildi. Test için, incelenecek GBS suşlarından hazırlanan 24 saatlik taze kültürlerden bir öze dolusu bakteri kolonisi sodyum hippurat çözeltisinde süspanse edildi. Test ortamı 35–37°C'de 3 saat süreyle inkübe edildi ve üzerine 3.1.4.'te belirtilen ninhidrin solüsyonundan 0.2 ml ilave edildi. Karışım 37°C'de 10 dk

bekletildikten sonra test ortamında koyu mavi veya lacivert rengin oluşması pozitif, açık mavi veya renk değişikliğinin olmaması negatif olarak değerlendirildi (7,19,110,154).

3.2.2.3.4. CAMP testi

Test için, %5-7 koyun kanlı agarda petri kutusunun çap hattı boyunca çizgi şeklinde *Staphylococcus aureus* COWAN I suşunun 24 saatlik taze kültürünün ekimi yapıldı. Bu ekim hattına 3-5 mm uzaklıktan başlayan ve dikey hat boyunca uzaklaşan GBS suşlarının 24 saatlik taze kültürlerinin ekimi yapıldı. Kültürlerin 35-37°C’de 18-24 saat süreyle inkübasyonundan sonra, *Staphylococcus aureus* COWAN I kültürünün ekim hattının çevresindeki belirgin olmayan hemoliz alanında GBS kültürlerinin yarım ay veya ok şeklinde tam bir hemoliz alanı oluşturmaları pozitif olarak değerlendirildi (8,13,152,153,155).

3.2.2.3.5. Karbonhidrat fermentasyon testi

Test ortamı için, Phenol Rot Broth kullanıldı. Hazırlanan test ortamı, tüplere 4.5 ml olacak şekilde taksim edildi. Otoklavda sterilize edildikten sonra tüplere 3.1.4.’te belirtildiği şekilde hazırlanan karbonhidrat çözeltilerinden (salisin, laktoz, trehaloz, rafinoz ve inulin) son konsantrasyonu %1 olacak şekilde 0.5’er ml ilave edildi. Test için, incelenecek GBS suşlarından hazırlanan 24 saatlik taze kültürlerden bir öze dolusu bakteri kolonisi karbonhidrat içeren buyyona inokule edildi. Buyyonların 37°C’de 24-96 saat süreyle inkübasyonundan sonra normalde kırmızı renkte olan besi yerinin sarı renge dönüşmesi pozitif, renk değişikliğinin olmaması ise negatif olarak değerlendirildi (5,8,13,110,152,153,155).

3.2.2.3.6. Basitrasin duyarlılık testi

Bunun için Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemi kullanıldı. Test için önce incelenecek GBS suşlarının 24 saatlik taze kültürleri THB’a inokule edildi ve buyyonların 37°C’de 2-3 saat süreyle inkübasyonundan sonra elde edilen her bir kültürden steril sıvap aracılığı ile Mueller Hinton Agar’a yayma yöntemi ile ekim yapıldı. Oda sıcaklığında 15-30 dk bekletildikten sonra besi yeri üzerine Basitrasin diski (Oxoid DD2- 10 Unit) yerleştirildi ve kültürler 37°C’de 18-24 saat inkübe edildi. Bu

süre sonunda disk etrafında oluşan inhibisyon zonunun çapı ölçülerek değerlendirme yapıldı. Disk etrafında 10 mm ve üzerinde inhibisyon zonu oluşan suşlar duyarlı olarak değerlendirildi (5,13,27,110).

3.2.2.3.7. Pigment oluşumu

İncelenecek GBS kültürlerinden Columbia agara ekimler yapıldı ve besi yerleri anaerobik ortamda 37°C’de 18-24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda kolonilerde sarı-kırmızı-turuncu renkte pigment oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (9).

3.2.2.3.8. Deoksiribonükleaz (DN’az) testi

İncelenecek GBS kültürleri birer cm aralıklarla DN’az agara nokta tarzında ekilerek 37°C’de 24 saat süreyle inkübe edildi. Bu süre sonunda besi yerinin üzerine 3.1.4.’te belirtildiği şekilde hazırlanan 5 ml 1 N HCl döküldü ve 5 dk içinde koloni etrafında şeffaf bir zonun oluşumu pozitif olarak değerlendirildi (19).

3.2.2.3.9. 4-Metilumbelliferil ile konjuge substratlar

GBS’ların *N*-asetil β -D glikozaminidaz, β - galaktozidaz ve β -D-glukuronidaz enzim aktivitelerinin ölçümünde 4- metilumbelliferil ile konjuge substratlardan yararlanıldı. Test, fluoresan vermeyen 4- metilumbelliferil ile konjuge substratlardan bakteriyel enzimlerin etkisiyle serbest kalan ve fluoresan verme özelliğine sahip 4-metilumbelliferon’un ölçümüne dayanmaktadır. Enzim aktivitelerinin tespitinde 4-metilumbelliferil - *N* - asetil β - D glikozaminid, 4- metilumbelliferil - β - D galaktopiranosid ve 4- metilumbelliferil - β - D glukuronid substratları kullanıldı. Test için, 3.1.4.’te belirtildiği şekilde öncelikle substratların ayrı ayrı stok ve kullanım solüsyonları hazırlandı. Enzim aktivitelerinin tespiti için incelenen bakteri kültüründen bir öze dolusu koloni nokta tarzında Whatman No 1 filtre kağıdı üzerinde ezilerek yayıldı ve üzerine hazırlanan substratın kullanım solüsyonundan bir damla damlatıldı. Etüvde 37°C de bir saat süreyle bekletildikten sonra üzerine bir damla 0.1 N NaOH ilave edildi ve 365 nanometre dalga boyunda ışık veren wood lambası (CAMAG®-022.9241) ile karanlık ortamda incelendi. Parlak mavi renkte fluoresan

rengin görülmesi, incelenen enzim aktivitesi yönünden pozitif olarak değerlendirildi (105,156,157).

3.2.3. Hemaglütinasyon testi

Bunun için, tavşanlardan intravenöz yolla alınan 5 ml kan, 3.1.4.'te belirtildiği şekilde hazırlanan 0.5 ml 0.2 M steril sodyum sitrat (pH 5.2) ile karıştırıldı ve 2.000 x g'de 10 dk santrifüj edildi. Supernatant (plazma), bir başka steril tüpe aktarıldıktan sonra eritrosit çökeltisi steril FTS ile 2 kere yıkandı ve son konsantrasyonu %2 olacak şekilde FTS ile sulandırıldı ve testte kullanıldı (48,158).

GBS'ların hemaglütinasyon özelliğinin belirlenmesinde önce incelenecek bakteri kültürü 10 ml THB'de 37°C'de 18-24 saat süreyle üretildi. Santrifüj edildikten sonra elde edilen pelet, 3.1.4.'te belirtildiği şekilde hazırlanan 0.002 M fosfat buffer (pH 6.8) ile üç kez yıkandı ve aynı tampon çözelti ile 3.2.4.'te belirtildiği şekilde sulandırıldı. Bakteri süspansiyonu ikiye bölündükten sonra birinin üzerine 10 µl tripsin (1 mg/ml PBS) ilave edildi 37°C' de bir saat muamele edildi. Bu süre sonunda bakteri süspansiyonu PBS ile tekrar 3 kere yıkandı ve aynı şekilde PBS ile sulandırıldı. Bu şekilde hazırlanarak tripsin ile muamele edilen ve edilmeyen bakteri süspansiyonları testte kullanıldı.

Test için temiz bir lam üzerine 25 µl bakteri süspansiyonu ve 25 µl eritrosit süspansiyonu konularak iyice karıştırıldı ve lam dairesel olarak yavaşça hareket ettirildi. Bir dakika içinde aglütinasyon reaksiyonunun görülmesi pozitif olarak değerlendirildi. Otoaglütinasyonun kontrolü için bakteri ve eritrosit süspansiyonları fosfat buffer ile ayrı ayrı test edildi (5,12,48).

3.2.4. Lektin aglütinasyon testi

GBS'ların lektinlerle aglütinasyon özelliğinin belirlenmesinde önce, incelenecek bakteri kültürü 10 ml THB'de 37°C de 18-24 saat süreyle üretildikten sonra santrifüj (10.000 x g) edildi. Elde edilen bakteri çökeltisi, 3.1.4.'te belirtildiği şekilde hazırlanan steril 0.05 M PBS (pH 7.5) ile üç kere yıkandı ve son olarak 400 µl aynı PBS ile sulandırıldı. Bakteri süspansiyonunun 200 µl'si bir başka steril tüpe aktarıldı ve üzerine

10 µl tripsin (1 mg/ml PBS) ilave edilerek 37°C’ de bir saat muamele edildi. Bu süre sonunda bakteri süspansiyonu PBS ile tekrar 3 kere yıkandı ve aynı şekilde 200 µl PBS ile sulandırılarak iyice homojenize edildi ve testte kullanıldı (5,142,156).

Testte kullanılacak lektin ekstraktlarının her biri üretici firmanın (Sigma®) önerdiği ve 3.1.4.’te belirtildiği şekilde hazırlanan steril 0.05 M PBS (pH 6.8) ile aşağıda belirtilen oranlarda sulandırıldı ve testte kullanıldı.

<i>Arachis hypogaeae</i> (Sigma® L 0881)	0.1 µg/ml
<i>Canavalia ensiformis</i> (Sigma® L 7647)	20 µg/ml
<i>Dolichos biflorus</i> (Sigma® L 2785)	20 µg/ml
<i>Helix pomatia</i> (Sigma® L 3382)	4 µg/ml
<i>Triticum vulgare</i> (Sigma® L 9640)	20 µg/ml

Test için, temiz bir lam üzerine 20’şer µl tripsin ile muamele edilmiş ve muamele edilmemiş normal bakteri süspansiyonları ayrı ayrı konuldu ve her birinin üzerine incelenecek lektin solüsyonundan 20’şer µl ilave edildi. Karışım, iyice karıştırıldı ve lam dairesel olarak yavaşça hareket ettirildi. Bir dakika içinde aglütinasyon reaksiyonunun görülmesi pozitif olarak değerlendirildi. Otoaglütinasyonun kontrolü için her bir bakteri süspansiyonu ve lektin çözeltisi PBS ile ayrı ayrı test edildi (5,142,156).

3.2.5. İstatistiksel analiz

Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının incelenen karakterleri ile ilgili olarak elde edilen bulguların istatistiksel analizi Minitab (Demo Ver-12.2) istatistik paket programı ile Z-oran testi yöntemine göre yapıldı (159).

4. BULGULAR

4.1. GBS'ların izolasyon ve identifikasyon sonuçları

Bu araştırmada, Van ve yöresindeki çeşitli işletmelerde yetiştirilen 375 adet sığırdan alınan toplam 1400 süt örneğinden 281 adet, Van Doğumevi'ne poliklinik muayene için gelen 300 hastadan alınan vaginal sıvı örneklerinden de 160 adet olmak üzere toplam 441 adet *Streptococcus spp.* izole edildi . İzole edilen toplam 441 streptokok suşunun ticari lateks aglütinasyon test kiti ile yapılan serogruplandırmasında, sığırlardan izole edilen 281 streptokok suşunun 76 (%27)'si ve insanlardan izole edilen 160 streptokok suşunun 72 (%45)'si serogrup B spesifik antiserumu ile kuvvetli derecede (++) pozitif reaksiyon verdi ve araştırmada kullanıldı (Tablo 2).

Tablo 2. İzole edilen *Streptococcus spp.* ve GBS'ların sığır ve insanlardan alınan örneklerle göre dağılımı

Konakçı	Alınan örnek sayısı	<i>Streptococcus spp</i> *	GBS (%)
Sığır	1400	281	76 (27)
İnsan	300	160	72 (45)
Toplam	1700	441	148 (33.5)

* Bazı örneklerden birden fazla streptokok türü izole edilmiştir

Sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun 2'si ayrıca serogrup C ve 3'ü de serogrup D spesifik antiserum ile, insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun 5'i serogrup C, 17'si serogrup D, 5'i serogrup F ve 2'si serogrup G spesifik antiserum ile zayıf (+) pozitif reaksiyon verdi (Tablo 3).

Tablo 3. Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının lateks aglütinasyon testi ile serogruplandırma sonuçları

		Streptokok serogrup spesifik antiserumları ile pozitif reaksiyon											
		A		B		C		D		F		G	
Konakçı	n	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+
Sığır	76	0	0	76	0	0	2	0	3	0	0	0	0
İnsan	72	0	0	72	0	0	5	0	17	0	5	0	2

(++) : Kuvvetli pozitif reaksiyon, (+) : Zayıf pozitif reaksiyon, n : İncelenen suş sayısı

4.2. Serotiplendirme sonuçları

4.2.1. Referans GBS suşlarına karşı elde edilen antiserumlar ile tespit edilen sonuçlar

Tavşanlardan elde edilen GBS serotip-spesifik antiserumların adsorbsiyon işlemlerinden önce ve sonra, homolog ve heterolog referans GBS serotip antijenleri (HCl ekstrakt) ile tespit edilen presipitasyon reaksiyonları AGPT ile incelendi (Tablo 4, 5, Şekil 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11,12).

GBS serotip Ia polispesifik antiserumu ile referans serotip Ia, Ib ve Ic antijenler arasında benzerlik gösteren presipitasyon bantları yanında referans serotip Ia ve Ic antijenler ile ayrıca farklı birer presipitasyon bandı oluşturdu. Serotip Ia polispesifik antiserumu, diğer referans serotip antijenler ile presipitasyon reaksiyonu vermedi. Heterolog referans GBS serotip kültürleri (Ib ve Ic) ile adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen GBS serotip Ia monospesifik serumu, sadece homolog referans serotip antijen ile reaksiyon verdi ve incelenen GBS suşlarının AGPT ile serotiplendirilmesinde kullanıldı (Şekil 2).

GBS serotip Ib polispesifik antiserumu ile referans serotip Ia, Ib ve Ic antijenler arasında benzerlik gösteren presipitasyon bantları yanında referans serotip Ia ve Ic antijenler ile ayrıca birbirlerine benzer presipitasyon bantları oluşturduğu gözlemlendi. Serotip Ib polispesifik antiserumu, diğer referans serotip antijenler ile reaksiyon vermedi. Heterolog referans serotip (Ia ve Ic) kültürler ile yapılan adsorbsiyon işleminden sonra heterolog referans serotip antijenler yanında homolog referans serotip antijen ile de presipitasyon reaksiyonu tespit edilemedi. Bu nedenle GBS serotip Ib monospesifik antiserumu elde edilemedi ve serotiplendirmede kullanılamadı (Şekil 3).

GBS serotip Ic polispesifik antiserumu ile referans serotip Ia, Ib ve Ic antijenler arasında benzerlik gösteren presipitasyon bantları tespit edilirken, diğer referans serotip antijenler arasında presipitasyon reaksiyonu gözlenmedi. Ayrıca homolog referans serotip antijen ile de ayrı bir presipitasyon bandı görülmedi. Serotip Ic polispesifik antiserumunun heterolog referans serotip kültürler (Ia ve Ib) ile adsorbsiyon işleminden sonra homolog ve heterolog referans serotip antijenler ile presipitasyon reaksiyonu

vermedi. Bu nedenle GBS serotip Ic polispesifik antiserumu, adsorbe edilmeden serotip Ia/b/c polispesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının AGPT ile serotiplendirilmesinde kullanıldı (Şekil 4).

GBS serotip II, III, IV ve VII polispesifik antiserumları, sadece homolog referans serotip antijenler ile presipitasyon bantları oluştururken diğer referans serotip antijenler ile presipitasyon reaksiyonu vermedi. Serotip II polispesifik antiserumu, referans serotip Ia kültürü ile, serotip III polispesifik antiserumu, referans serotip II kültürü ile, serotip IV polispesifik antiserumu, referans serotip III kültürü ile ve serotip VII polispesifik antiserumu da referans serotip IV kültürü ile adsorbe edildikten sonra her bir serotip monospesifik antiserum, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip II, III, IV ve VII monospesifik antiserumları olarak incelenen GBS suşlarının AGPT ile serotiplendirilmesinde kullanıldı (Şekil 5,6,7,9).

GBS serotip V polispesifik antiserumu, referans serotip V antijeni yanında bu antijenle kısmi benzerlik gösteren referans serotip R ve X antijenleri ile de presipitasyon bantları oluşturdu. Diğer referans serotip antijenler ile presipitasyon reaksiyonu vermedi. Referans GBS serotip R ve X kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip V monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip V monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının AGPT ile serotiplendirilmesinde kullanıldı (Şekil 8).

GBS serotip VIII polispesifik antiserumu, homolog referans serotip antijen yanında bundan farklı olarak referans serotip R antijen ile birbirine benzeyen farklı bir presipitasyon bandı oluşturdu. Diğer referans serotip antijenler ile presipitasyon reaksiyonu vermedi. Referans GBS serotip R kültürü ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip VIII monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip VIII monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının AGPT ile serotiplendirilmesinde kullanıldı (Şekil 10).

GBS serotip R polispesifik antiserumu, homolog referans serotip antijen yanında referans serotip VIII antijen ile ayrıca farklı bir presipitasyon bandı oluşturdu. Diğer referans serotip antijenler ile presipitasyon reaksiyonu vermedi. Referans GBS serotip VIII kültürü ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip R monospesifik antiserumu,

sadece homolog referans serotip antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip R monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının AGPT ile serotiplendirilmesinde kullanıldı (Şekil 11).

GBS serotip X polispesifik antiserumu, homolog referans serotip antijen yanında referans serotip R antijen ile ayrıca kısmi benzerlik gösteren presipitasyon bandı oluşturdu. Diğer referans serotip antijenleri ile presipitasyon reaksiyonu vermedi. Referans GBS serotip R kültürü ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip X monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotip antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip X monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının AGPT ile serotiplendirilmesinde kullanıldı (Şekil 12).

Tablo 4. GBS serotip-polispesifik antiserumların referans GBS serotip antijenler (HCl ekstrakt) ile AGPT’de tespit edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları

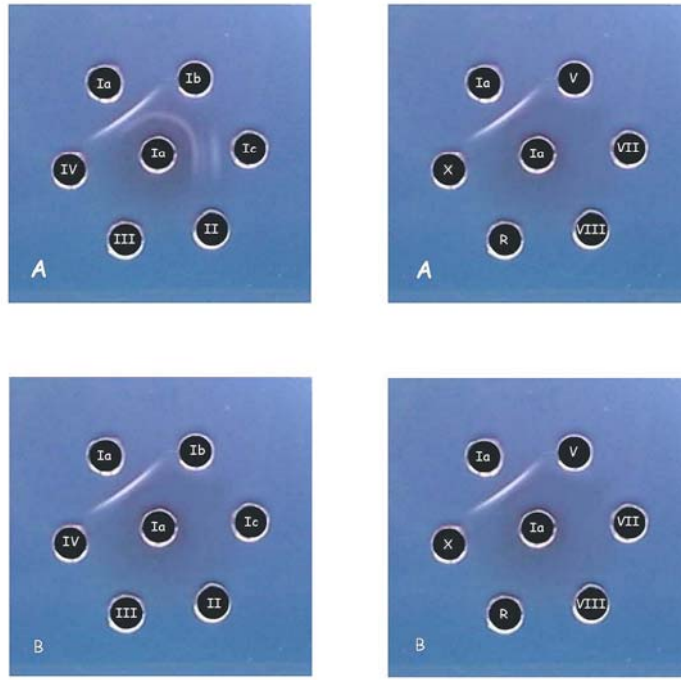
Polispesifik Antiserum	Referans serotip antijenler										
	Ia	Ib	Ic	II	III	IV	V	VII	VIII	R	X
Ia	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ib	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ic**	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
II	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
IV	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
VII	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
VIII	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
R	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

* : Adsorbsiyonda kullanılan referans serotip kültürler ,** : Adsorbe edilmedi,
(+) : Pozitif presipitasyon, (-) : Negatif presipitasyon,

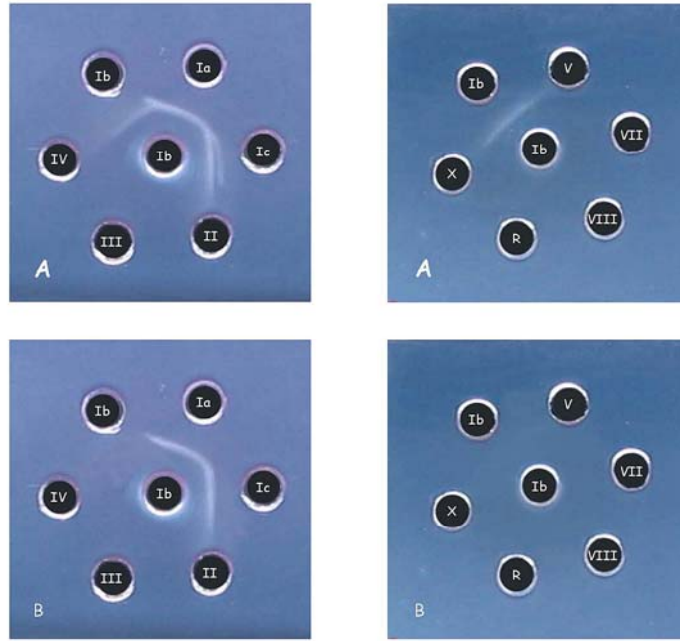
Tablo 5. GBS serotip-polispesifik antiserumların kros reaksiyon veren heterolog referans GBS serotipleri ile adsorbsiyon işlemleri sonrasında referans GBS serotip antijenler ile AGPT’de gözlenen presipitasyon reaksiyon sonuçları

Polispesifik Antiserum	Referans serotip antijenler										
	Ia	Ib	Ic	II	III	IV	V	VII	VIII	R	X
Ia	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ib	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ic	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
II	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
III	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
IV	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
VII	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
VIII	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

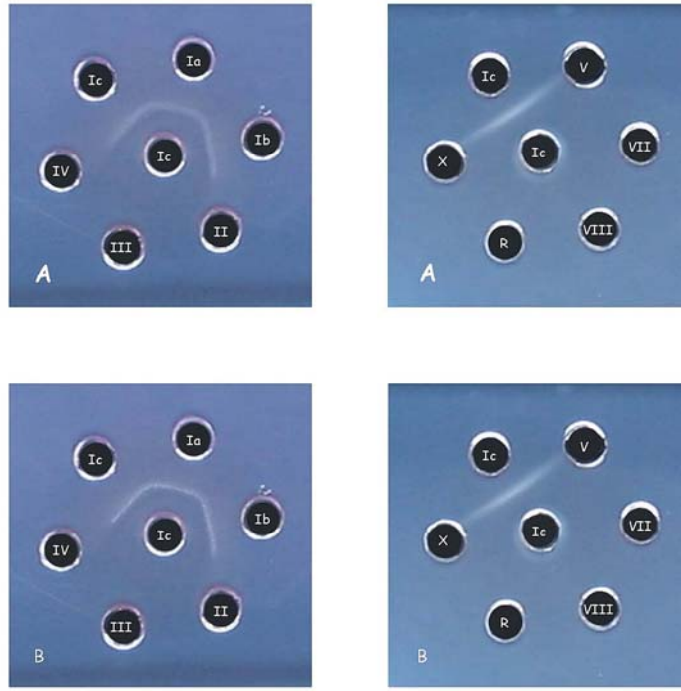
(+) : Pozitif presipitasyon, (-) : Negatif presipitasyon



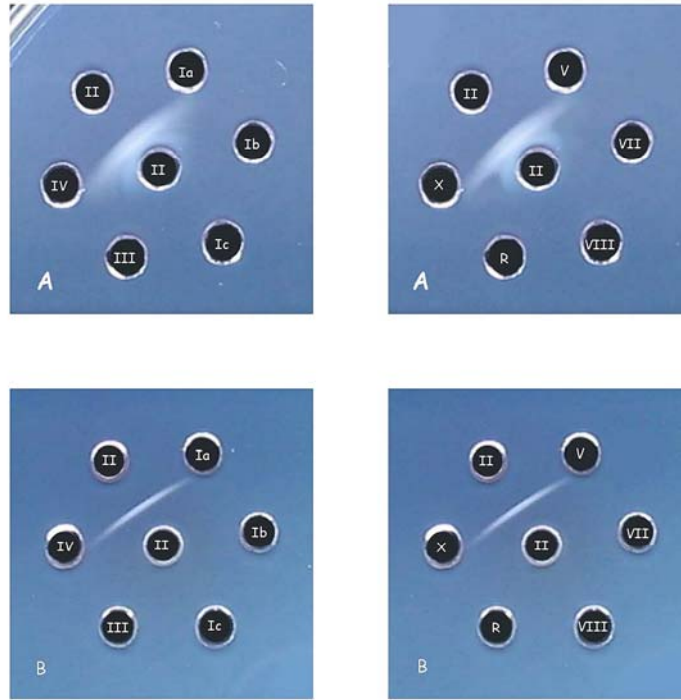
Şekil 2. Referans GBS serotip Ia suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları



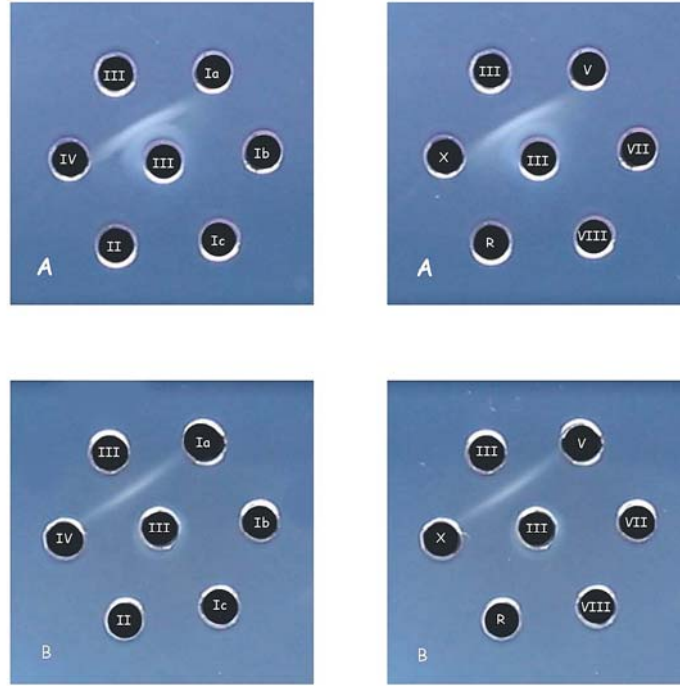
Şekil 3. Referans GBS serotip Ib suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları



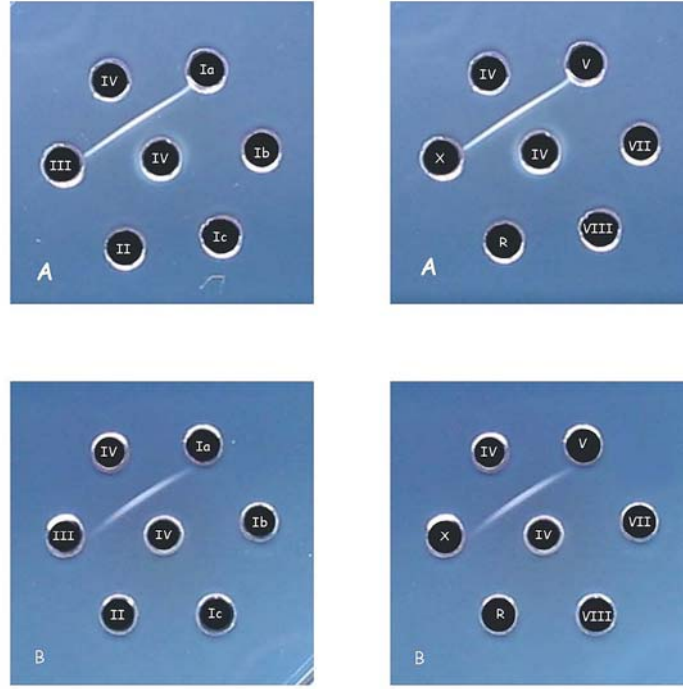
Şekil 4. Referans GBS serotip Ic suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları



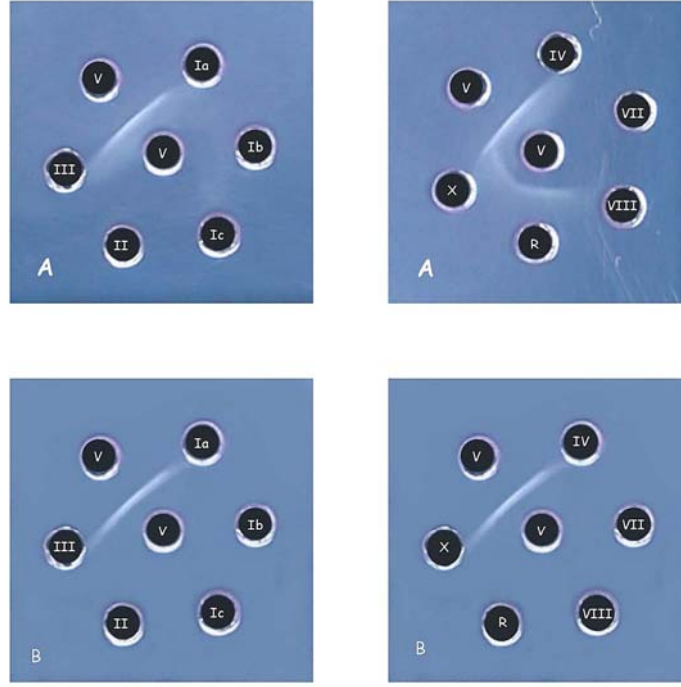
Şekil 5. Referans GBS serotip II suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları



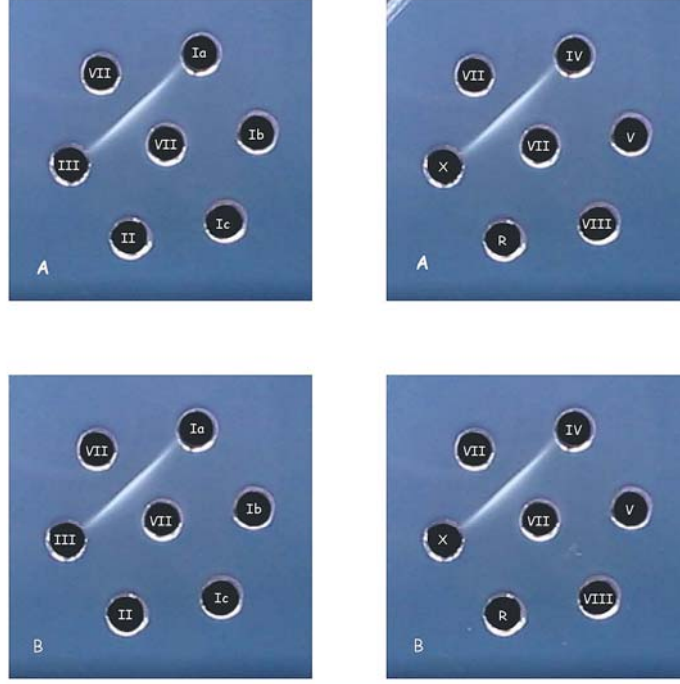
Şekil 6. Referans GBS serotip III suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları



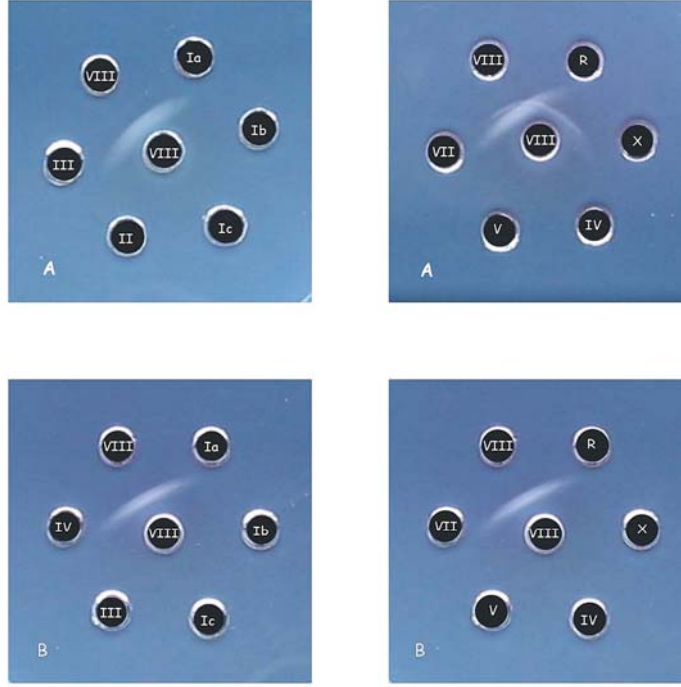
Şekil 7. Referans GBS serotip IV suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları



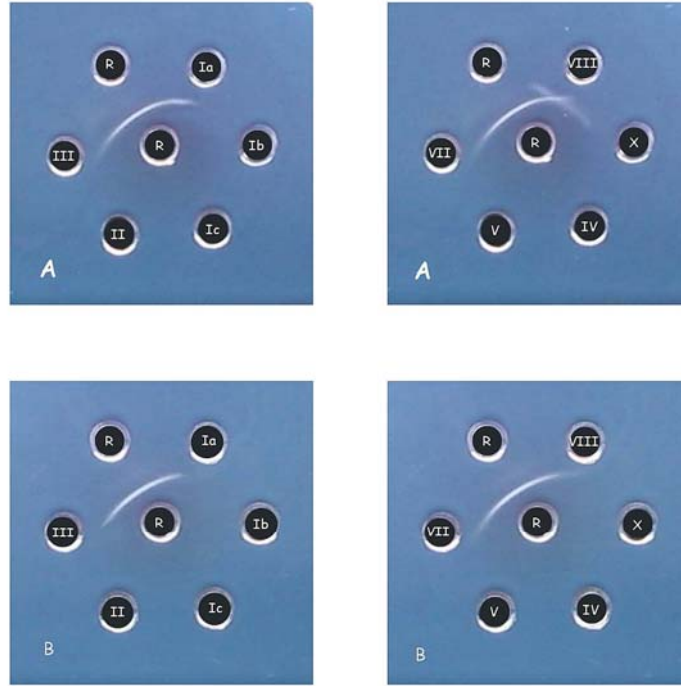
Şekil 8. Referans GBS serotip V suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları



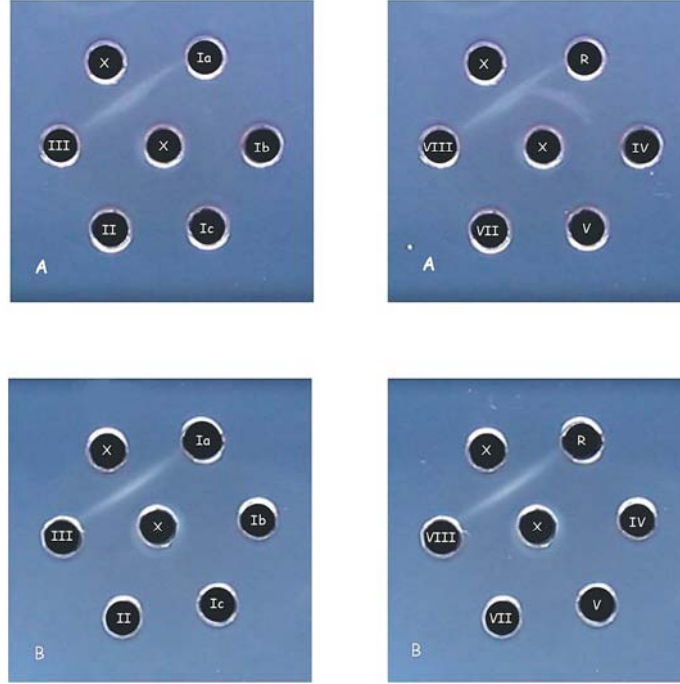
Şekil 9. Referans GBS serotip VII suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları



Şekil 10. Referans GBS serotip VIII suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları



Şekil 11. Referans GBS serotip R suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları



Şekil 12. Referans GBS serotip X suşu ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen polispesifik (A) ve adsorbsiyon işleminden sonra elde edilen monospesifik (B) serumların, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X suşlarından hazırlanan HCL ekstraktlar ile AGPT’de elde edilen presipitasyon reaksiyon sonuçları

Yukarıda belirtildiği şekilde AGPT ile belirlenen GBS serotip-spesifik antiserumlar koaglütinasyon testinde kullanıldığında, her bir GBS serotip-spesifik antiserum, homolog referans serotip antijen yanında bir veya birden fazla heterolog referans GBS serotip antijenler ile de kros reaksiyon verdi. Bu nedenle, her bir GBS serotip polispesifik antiserum ile kros reaksiyon veren heterolog referans serotip antijenler koaglütinasyon testi ile tekrar tespit edildi ve her bir GBS serotip polispesifik antiserum, tekrar adsorbsiyon işlemine tabi tutuldu. GBS serotip polispesifik antiserumların adsorbsiyon işlemlerinden önce ve sonra homolog ve heterolog referans GBS serotip antijenler (HCL ekstrakt) ile koaglütinasyon testinde gözlenen aglütinasyon reaksiyonları Şekil 13, tespit edilen sonuçlar ise Tablo 6 ve 7’de gösterildi.

Tablo 6. GBS Serotip polispesifik antiserumların referans GBS serotip antijenleri (HCl ekstrakt) ile koaglutinasyon testinde tespit edilen aglutinasyon reaksiyon sonuçları

Polispesifik Antiserum	Referans serotip antijenler										
	Ia	Ib	Ic	II	III	IV	V	VII	VIII	R	X
Ia	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Ib	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Ic	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IV	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-
V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VII	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-
VIII	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+
R	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
X	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) : 15 – 45 saniye içinde pozitif aglutinasyon reaksiyonu, (-) : 0 – 60 saniye içinde aglutinasyon yok

* : Adsorbsiyonda kullanılan referans serotip kültürler

Tablo 7. GBS serotip polispesifik antiserumların kros reaksiyon veren heterolog serotipler ile adsorbsiyon işlemi sonrasında koaglutinasyon testinde tespit edilen aglutinasyon reaksiyon sonuçları

Polispesifik Antiserum	Referans serotip antijenler										
	Ia	Ib	Ic	II	III	IV	V	VII	VIII	R	X
Ia	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ib	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ic	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
II	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
III	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
IV	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
V	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
VII	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
VIII	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
R	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

(+) : 0-45 saniye içinde pozitif aglutinasyon reaksiyonu, (-) : 0 – 60 saniye içinde aglutinasyon yok



(-)

(+)

Ko-aglütinasyon Testi

Şekil 13. Lam-koaglütinasyon testinde gözlenen pozitif (+) ve negatif (-) reaksiyonlar

GBS serotip Ia polispesifik antiserumu, referans serotip Ia, Ib, Ic ve VII antijenler ile koaglütinasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Diğer referans GBS serotip antijenler ile aglütinasyon gözlenmedi. Serotip Ia polispesifik antiserumunun, referans serotip Ib, Ic ve VII kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip Ia monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip Ia monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglütinasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

GBS serotip Ib polispesifik antiserumu, serotip II dışındaki diğer tüm referans serotip antijenler (Ia, Ib, Ic, III, IV, V, VII, VIII, R ve X) ile koaglütinasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Serotip Ib polispesifik antiserumunun referans serotip Ic ve VII kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip Ib monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip Ib monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglütinasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

GBS serotip Ic polispesifik antiserumu, sadece referans serotip Ia, Ib ve Ic antijenler ile koaglutınasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Diğer referans GBS serotip antijenler ile aglutınasyon gözlenmedi. Serotip Ic polispesifik antiserumunun referans serotip Ib, kültürü ile adsorbsiyon işleminden sonra kros reaksiyonların gözleendiği referans serotip IV, VII ve X kültürleri ile de adsorbsiyonu yapıldı. Bu şekilde elde edilen GBS serotip Ic monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip Ic monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglutınasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

GBS serotip II polispesifik antiserumu, tüm referans serotip antijenler ile koaglutınasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Serotip II polispesifik antiserumunun referans serotip Ia, Ic, VII, R ve X kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip II polispesifik antiserumu, homolog referans serotipe ait antijen yanında referans GBS serotip R ve X antijenleri ile de reaksiyon verdi ve GBS serotip II/R-X polispesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglutınasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

GBS serotip III polispesifik antiserumu, tüm referans serotip antijenler ile koaglutınasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Serotip III polispesifik antiserumunun, referans serotip Ic, IV ve VII kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip III monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip III monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglutınasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

GBS serotip IV polispesifik antiserumu, sadece referans serotip Ic, III, IV ve VII antijenler ile koaglutınasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Diğer referans GBS serotip antijenler ile aglutınasyon gözlenmedi. Serotip IV polispesifik antiserumunun referans serotip Ic ve VII kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra kros reaksiyonların gözleendiği referans serotip V ve R kültürleri ile de adsorbsiyonu yapıldı. Bu şekilde elde edilen GBS serotip IV monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip IV monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglutınasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

GBS serotip V polispesifik antiserumu, tüm referans serotip antijenler ile koaglutinasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Serotip V polispesifik antiserumunun, referans serotip VII, R ve X kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip V monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip V monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglutinasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

GBS serotip VII polispesifik antiserumu, sadece referans serotip Ic, VII ve VIII antijenler ile koaglutinasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Diğer referans GBS serotip antijenleri ile aglutinasyon gözlenmedi. Serotip VII polispesifik antiserumunun referans serotip Ic kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra kros reaksiyonun gözlendiği referans serotip V kültürü ile de adsorbsiyonu yapıldı. Bu şekilde elde edilen GBS serotip VII monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip VII monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglutinasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

GBS serotip VIII polispesifik antiserumu, sadece referans serotip Ic, II, IV, VII, VIII ve R antijenler ile koaglutinasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Diğer referans GBS serotip antijenler ile aglutinasyon gözlenmedi. Serotip VIII polispesifik antiserumunun, referans serotip VII ve R kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip VIII monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip VIII monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglutinasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

GBS serotip R polispesifik antiserumu, serotip III ve IV dışındaki diğer tüm referans serotip antijenler ile koaglutinasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Serotip R polispesifik antiserumunun, referans serotip VIII ve X kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip R polispesifik antiserumu, homolog referans serotipe ait antijen yanında referans GBS serotip VIII antijeni ile de reaksiyon verdi ve GBS serotip R/VIII polispesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglutinasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

GBS serotip X polispesifik antiserumu, tüm referans serotip antijenler ile koaglutinasyon testinde pozitif reaksiyon verdi. Serotip X polispesifik antiserumunun,

referans serotip Ic, II, VII ve R kültürleri ile adsorbsiyon işleminden sonra GBS serotip X monospesifik antiserumu, sadece homolog referans serotipe ait antijen ile reaksiyon verdi ve GBS serotip X monospesifik antiserumu olarak incelenen GBS suşlarının koaglütinasyon testi ile serotiplendirmesinde kullanıldı.

Yukarıda belirtilen ve koaglütinasyon testi ile serotiplendirmede kullanılan antiserumlar, homolog serotip antijenleri ile 30-45 saniye içinde pozitif reaksiyon verdi. Heterolog serotip antijenler ile 120 saniye içinde aglütinasyon reaksiyonu gözlenmedi.

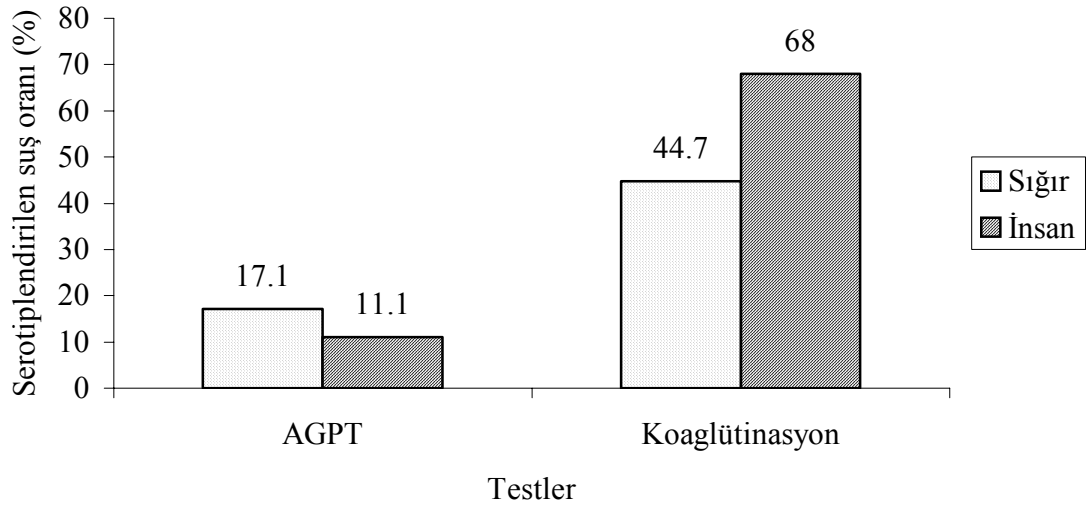
4.2.2. İzole edilen GBS suşlarının serotiplendirilmesinden elde edilen sonuçlar

Sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun 13 (%17.1)'ü AGPT ile, 34 (%44.7)'ü de koaglütinasyon testi ile; insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun 8 (%11.1)'i AGPT ile, 49 (%68)'u ise koaglütinasyon testi ile serotiplendirildi (Tablo 8, Şekil 14).

Tablo 8. İzole edilen GBS suşlarının AGPT ve koaglütinasyon testleri ile serotiplendirilmesinde elde edilen sonuçlar

Konakçı	n	Reaksiyon	Test sonuçları (%)	
			AGPT	Koaglütinasyon
Sığır	76	Pozitif	13 (17.1)	34 (44.7)
		Negatif	63 (83)	42 (55.2)
İnsan	72	Pozitif	8 (11.1)	49 (68)
		Negatif	64 (89)	23 (31.9)
Toplam	148	Pozitif	21 (14.2)	83 (56)
		Negatif	127 (85.8)	65 (43.9)

n : İncelenen GBS suş sayısı



Şekil 14. İzole edilen GBS suşlarının AGPT ve koaglutinasyon testleri ile serotiplendirmesinde elde edilen sonuçların konakçıya göre dağılımı

Sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %39.5'i koaglutinasyon testinde tek bir serotip-spesifik antiserum ile serotiplendirilebilirken, %5.2'si birden fazla serotip-spesifik antiserum ile aglutinasyon reaksiyonu verdi. Buna karşın AGPT ile incelenen GBS suşlarının %14.5'i tek bir serotip-spesifik antiserum ile serotiplendirilebilirken, %2.6'sı birden fazla serotip-spesifik antiserum ile presipitasyon reaksiyonu verdi. İnsanlardan izole edilen GBS suşlarının %59.7'si koaglutinasyon testinde tek bir serotip-spesifik antiserum ile serotiplendirilebilirken, %8.3'ü birden fazla serotip-spesifik antiserum ile aglutinasyon reaksiyonu verdi. Buna karşın AGPT ile incelenen GBS suşlarının %11.1'i tek bir serotip-spesifik antiserum ile serotiplendirildi (Tablo 9).

Sığırlardan izole edilen 34 adet GBS suşunun 5 (%6.5)'i serotip Ic, 1 (%1.3)'i serotip II, 8 (%10.5)'i serotip III, 1 (%1.3)'i serotip IV, 2 (%2.6)'si serotip V, 9 (%11.8)'u serotip VII, 3 (%3.9)'ü serotip VIII ve 1 (%1.3)'i serotip X olarak koaglutinasyon testi ile serotiplendirilirken, 1 (%1.3)'i serotip II-IV, 1 (%1.3)'i serotip II-IV-X, 1 (%1.3)'i serotip II-X ve 1 (%1.3)'i serotip IV-R spesifik antiserumlarla ayrı ayrı aglutinasyon reaksiyonu verdi. Sığırlardan izole edilen 13 adet GBS suşunun 2 (%2.6)'si serotip II, 2 (%2.6)'si serotip III, 6 (%7.8)'sı serotip VII, 1 (%1.3)'i serotip X ve 2 (%2.6)'si de serotip II-X olarak AGPT ile serotiplendirildi (Tablo 8). AGPT'de II-

X kombinasyonu gösteren 1 adet GBS suşu koaglütinasyon testinde serotip II, serotip II olarak serotiplendirilen 2 GBS suşundan 1'i koaglütinasyon testinde serotip II-IV, diğeri ise serotip II-IV-X kombinasyonu gösterdi (Tablo 10).

İnsanlardan izole edilen 49 adet GBS suşunun 24 (%33.3)'ü serotip Ic, 6 (%8.3)'sı serotip IV, 4 (%5.5)'ü serotip V, 5 (%6.9)'i serotip VIII ve 4 (%5.5)'ü serotip R olarak koaglütinasyon testi ile serotiplendirilirken, 2 (%2.7)'si serotip III-V-VII ve 4 (%5.5)'ü serotip VII-VIII spesifik antiserumlarla ayrı ayrı aglütinasyon reaksiyonu verdi. İnsanlardan izole edilen 8 adet GBS suşunun 2 (%2.8)'si serotip III, 4 (%5.5)'ü serotip IV ve 2 (%2.8)'si serotip V olarak AGPT ile serotiplendirildi (Tablo 8). AGPT ile serotip III olarak tespit edilen 2 suş koaglütinasyon testinde serotip III-V-VII spesifik antiserumlarla ayrı ayrı aglütinasyon reaksiyonu verdi (Tablo 10, Şekil 15).

Tablo 9. AGPT ve koaglütinasyon testleri ile tespit edilen GBS serotip ve kombinasyonlarının dağılımı

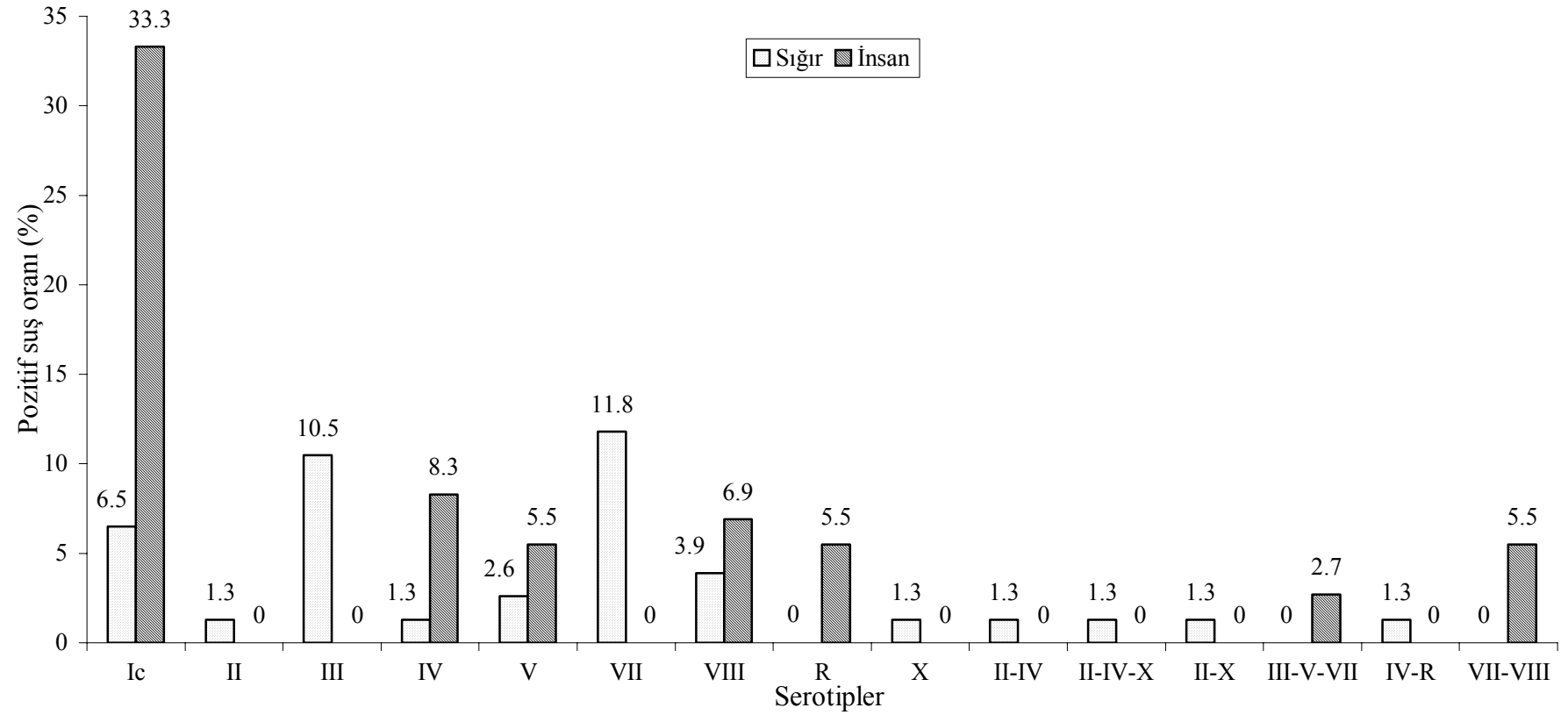
Serotip	Sığır		İnsan	
	AGPT*	Koaglütinasyon*	AGPT*	Koaglütinasyon *
Ia	-	-	-	-
Ib	-	-	-	-
Ic	-	5 (6.5)	-	24 (33.3)
II	2 (2.6)	1 (1.3)	-	-
III	2 (2.6)	8 (10.5)	2 (2.8)	-
IV	-	1 (1.3)	4 (5.5)	6 (8.3)
V	-	2 (2.6)	2 (2.8)	4 (5.5)
VII	6 (7.8)	9 (11.8)	-	-
VIII	-	3 (3.9)	-	5 (6.9)
R	-	-	-	4 (5.5)
X	1 (1.3)	1 (1.3)	-	-
Toplam	11 (14.5)	30 (39.5)	8 (11.1)	43 (59.7)
II-IV	-	1 (1.3)	-	-
II-IV-X	-	1 (1.3)	-	-
II-X	2 (2.6)	1 (1.3)	-	-
IV-R	-	1 (1.3)	-	-
III-V-VII	-	-	-	2 (2.7)
VII-VIII	-	-	-	4 (5.5)
Toplam	2 (2.6)	4 (5.2)	0	6 (8.3)
Genel Toplam	13 (17.1)	34 (44.7)	8 (11.1)	49 (68)

* : Serotip ve serotip kombinasyonlarının tüm suşlara göre dağılımı ve oranı

Tablo 10. AGPT ve koaglutinasyon (KoAg) testleri ile tespit edilen GBS serotip ve kombinasyonlarının karşılaştırılması

Serotip ve Kombinasyonlar	Sığır							İnsan				
	KoAg	AGPT						KoAg	AGPT			
	n	II	II-X	III	VII	X	n	n	III	IV	V	n
Ic	5	-	-	-	-	-	-	24	-	-	-	-
II	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-
III	8	-	-	2	-	-	2	-	-	-	-	-
IV	1	-	-	-	-	-	-	6	-	4	-	4
V	2	-	-	-	-	-	-	4	-	-	2	2
VII	9	-	-	-	6	-	6	-	-	-	-	-
VIII	3	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-
R	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-
X	1	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-
Toplam	30	0	1	2	6	1	10	43	0	4	2	6
II-IV	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
II-IV-X	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
II-X	1	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-
III-V-VII	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-	2
IV-R	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VII-VIII	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-
Toplam	4	2	1	0	0	0	3	6	2	0	0	2
Genel Toplam	34	2	2	2	6	1	13	49	2	4	2	8

n : Pozitif suş sayısı



Şekil 15. Koaglütinasyon testi ile serotiplendirilen GBS suşlarında tespit edilen serotip ve kombinasyonlarının konakçılara göre dağılımı

4.3. Biyokimyasal test sonuçları

GBS suşlarının hemolitik özelliklerinin dağılımında, sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun 49 (%64.5)'ü β , 15 (%19.7)'i α ve 12 (%15.7)'si de γ - hemolitik; insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun ise 17 (%23.6)'si β , 21 (%29.2)'i α ve 34 (%47.2)'ünün de γ - hemolitik olduğu belirlendi. GBS suşların bazı biyokimyasal özellikleri incelendiğinde; sığırlardan izole edilen suşların 20 (%26.3)'si CAMP pozitif, 27 (%35.5)'si eskulini ve 56 (%73.7)'si da Na-hippuratı hidrolize ederken, 54 (%71.1)'ü pigment pozitif ve 71 (%93.4)'i de basitrasine duyarlı bulundu. İnsanlardan izole edilen suşların ise 33 (%45.8)'ü CAMP pozitif, 12 (%16.7)'si eskulini ve 55 (%76.4)'i de Na-hippuratı hidrolize ederken, 49 (%68.1)'unun pigment pozitif ve 42 (%58.3)'sinin de basitrasine duyarlı olduğu tespit edildi (Tablo 11, Şekil 16).

Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının hemolitik özellikleri ve biyokimyasal test sonuçları karşılaştırıldığında; konakçılara göre β - ve γ - hemoliz sonuçları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulundu. İncelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen suşlar arasında sadece insanlarda β - hemoliz yönünden aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulunurken diğerleri önemsiz bulundu. CAMP testi ve basitrasine duyarlılık testi sonuçları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulundu. İncelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen GBS suşlarının biyokimyasal test sonuçları karşılaştırıldığında; sığırlardan izole edilen GBS suşlarının CAMP testi, eskulin hidrolizi, pigment oluşumu ve basitrasine duyarlılık test sonuçları arasındaki fark ile insanlardan izole edilen GBS suşlarının CAMP testi, eskulin hidrolizi, hippurat hidrolizi, pigment oluşumu ve basitrasine duyarlılık test sonuçları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulundu (Tablo 11).

İncelenen GBS suşlarının karbonhidrat fermentasyon test sonuçları Tablo 12'de gösterildi. Sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun 63 (%82.9)'ü laktoz'u, 70 (%92.1)'i salisin'i, 65 (%85.5)'i trehaloz'u, 73 (%96.1)'ü rafinoz'u ve 20 (%26.3)'si de inulin'i fermente ederken, insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun 59 (%81.9)'ünün laktoz'u, 64 (%88.9)'ünün salisin'i, 61 (%84.7)'inin trehaloz'u, 68 (%94.4)'inin rafinoz'u ve 21 (%29.2)'inin de inulin'i fermente ettiği belirlendi.

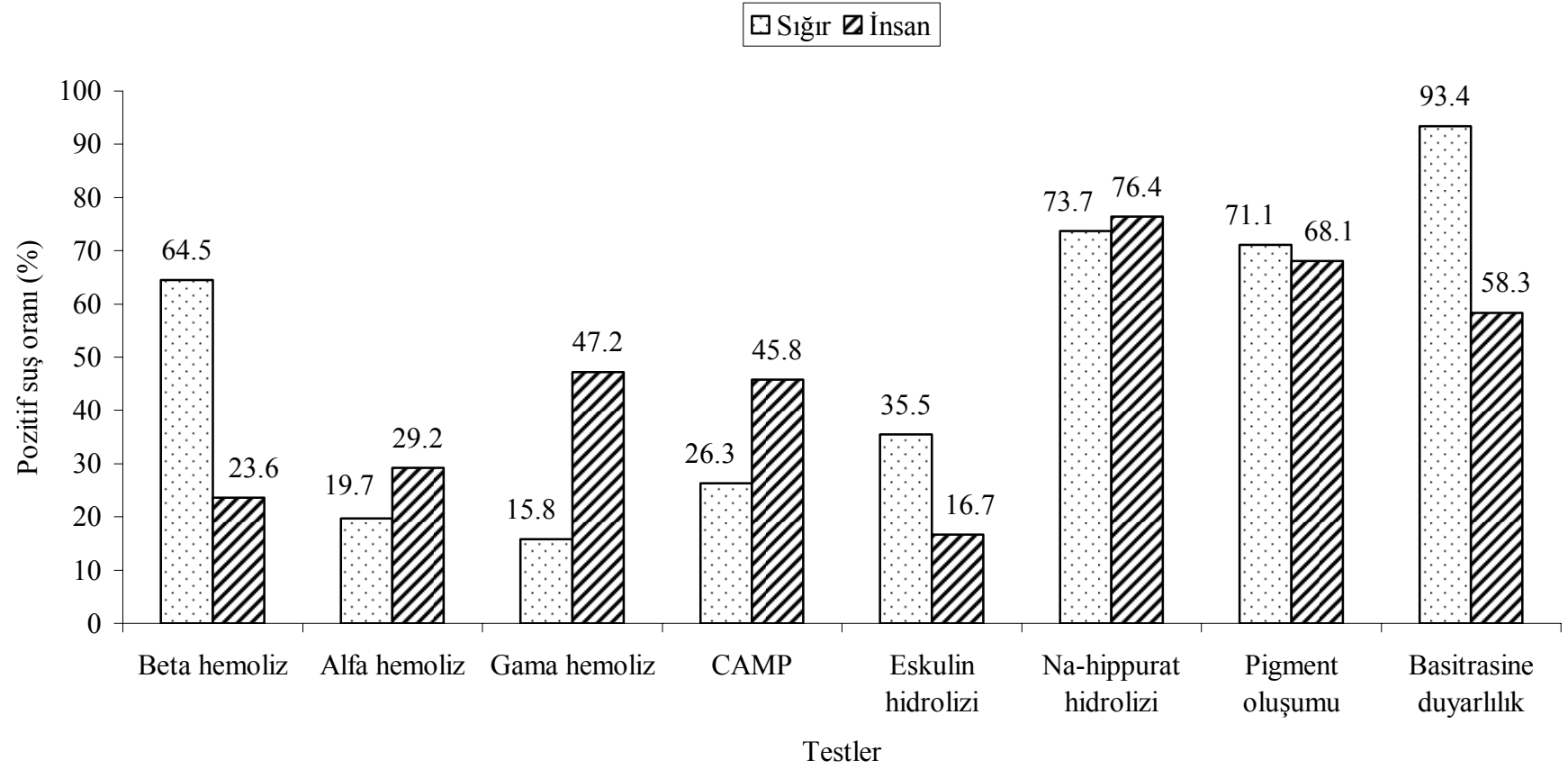
Tablo 11. İncelenen GBS suşlarının hemolitik özellikleri ve bazı biyokimyasal test sonuçlarının karşılaştırılması

			Hemoliz tipi (%)			Biyokimyasal testler (%)				
Konakçı	n		β	α	γ	CAMP	Eskulin	Hippurat	Pigment Oluşumu	Basitrasine Duyarlılık
Sığır	ST	34	21 (61.8)	6 (17.6)	7 (20.6)	15 (44.1) ^b	6 (17.6) ^b	27 (79.4)	18 (52.9) ^b	29 (85.3) ^b
	NT	42	28 (66.7)	9 (21.4)	5 (11.9)	5 (11.9) ^b	21 (50) ^b	29 (69)	36 (85.7) ^b	42 (100) ^b
Toplam		76	49 (64.5) ^a	15 (19.7)	12 (15.8) ^a	20 (26.3) ^a	27 (35.5)	56 (73.7)	54 (71.1)	71 (93.4) ^a
İnsan	ST	49	17 (34.7) ^b	12 (24.5)	20 (40.8)	27 (55.1) ^b	12 (24.5) ^b	41 (83.7) ^b	39 (79.6) ^b	24 (48.9) ^b
	NT	23	0 ^b	9 (39.1)	14 (60.9)	6 (26.1) ^b	0 (0) ^b	14 (60.7) ^b	10 (43.5) ^b	18 (78.3) ^b
Toplam		72	17 (23.6) ^a	21 (29.2)	34 (47.2) ^a	33 (45.8) ^a	12 (16.7)	55 (76.4)	49 (68.1)	42 (58.3) ^a

n : İncelenen suş sayısı, ST : Serotiplendirilen, NT : Serotiplendirilemeyen,

^a : İncelenen test yönünden konakçılara göre GBS suşları arasındaki fark önemli (P<0.05) bulundu

^b : İncelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen GBS suşları arasındaki fark önemli (P<0.05) bulundu



Şekil 16. İncelenen GBS suşlarının hemolitik özellikleri ve bazı biyokimyasal test sonuçlarının dağılımı

Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının karbonhidrat fermentasyon test sonuçları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemsiz bulunurken; incelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen GBS suşlarının karbonhidrat fermentasyon test sonuçları karşılaştırıldığında; sığırlardan izole edilen GBS suşlarının salisin ve trehaloz fermentasyon test sonuçları arasındaki fark ile insanlardan izole edilen GBS suşlarının sadece laktoz fermentasyon test sonuçları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulundu (Tablo 12).

Tablo 12. İncelenen GBS suşlarının karbonhidrat fermentasyon testlerinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması

			Karbonhidratlar				
Konakçı	n		Laktoz	Salisin	Trehaloz	Raffinoz	Inulin
Sığır	ST	34	27 (79.4)	28 (82.3) ^b	26 (76.5) ^b	32 (94.1)	6 (17.6)
	NT	42	36 (85.7)	42 (100) ^b	39 (92.8) ^b	41 (97.6)	14 (33.3)
Toplam		76	63 (82.9)	70 (92.1)	65 (85.5)	73 (96.1)	20 (26.3)
İnsan	ST	49	37 (75.5) ^b	43 (87.7)	43 (87.7)	47 (95.9)	17 (34.7)
	NT	23	22 (95.6) ^b	21 (91.3)	18 (78.3)	21 (91.3)	4 (17.4)
Toplam		72	59 (81.9)	64 (88.9)	61 (84.7)	68 (94.4)	21 (29.2)

n : İncelenen suş sayısı, ST : Serotiplendirilen, NT : Serotiplendirilemeyen,

^a : İncelenen test yönünden konakçılara göre GBS suşları arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulundu

^b : İncelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen GBS suşları arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulundu

GBS suşlarının DN'az ve 4 - metilumbelliferil ile konjuge substratlarla tespit edilen *N*-asetil β -D-glikozaminidaz, β -galaktozidaz ve β -D-glukuronidaz enzim aktiviteleri incelendiğinde; sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun 8 (%10.5)'i DN'az, 22 (%28.9)'si *N*-asetil β -D-glikozaminidaz, 31 (%40.8)'i β -galaktozidaz ve 35 (%46.1)'i β -D-glukuronidaz enzimleri yönünden pozitif bulunurken, insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun 2 (%2.8)'sinin DN'az, 58 (%80.5)'inin *N*-asetil β -D-glikozaminidaz, 64 (%88.9)'ünün β -galaktozidaz ve 64 (%88.9)'ünün β -D-glukuronidaz enzimleri yönünden pozitif oldukları tespit edildi. (Tablo 13, Şekil 17).

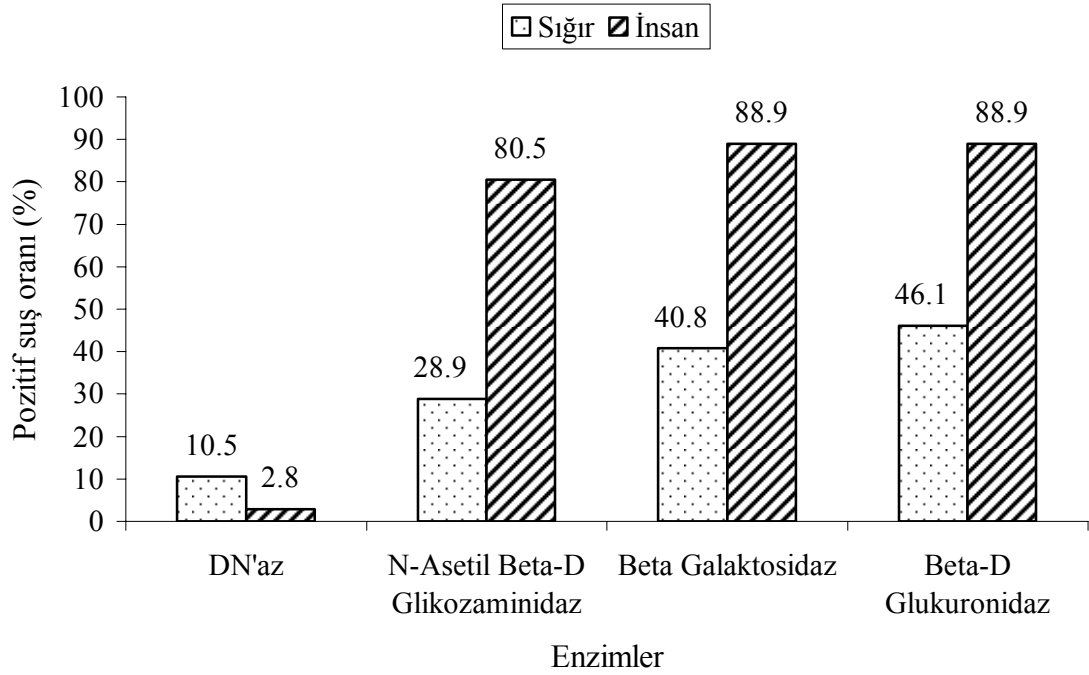
Tablo 13. İncelenen GBS suşlarının bazı enzim aktivitelerinden elde edilen sonuçlar

		Enzim Test Sonuçları				
Konakçı	n	DN'az	N-asetil β-D-Glikozaminidaz	β-Galaktozidaz	β-D-Glukuronidaz	
Sığır	ST	34	8 (23.5) ^b	8 (23.5)	13 (38.2)	16 (47.1)
	NT	42	0 (0) ^b	14 (33.3)	18 (42.8)	19 (45.2)
Toplam		76	8 (10.5)	22 (28.9) ^a	31 (40.8) ^a	35 (46.1) ^a
İnsan	ST	49	2 (4.1)	41 (83.7)	43 (87.7)	43 (87.7)
	NT	23	0 (0)	17 (73.9)	21 (91.3)	21 (91.3)
Toplam		72	2 (2.8)	58 (80.5) ^a	64 (88.9) ^a	64 (88.9) ^a

n : İncelenen suş sayısı, ST : Serotiplendirilen, NT : Serotiplendirilemeyen,

^a : İncelenen test yönünden konakçılara göre GBS suşları arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulundu

^b : İncelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen GBS suşları arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulundu



Şekil 17. İzole edilen GBS suşlarının bazı enzim aktivitelerinin konakçılara göre dağılımı

Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının *N*-asetil β -D-glikozaminidaz, β -galaktozidaz ve β -D-glukuronidaz enzim aktivitelerinin test sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulunurken; incelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen GBS suşlarının enzim aktivitelerinin test sonuçları karşılaştırıldığında; sığırlardan izole edilen GBS suşlarının DN'az test sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının enzim aktivitelerinin test sonuçları arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemsiz bulundu (Tablo 13).

4.4. Hemaglütinasyon testinde elde edilen sonuçlar

Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının hemaglütinasyon özellikleri incelendiğinde; sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun tripsinle muamele edilmeden önce 10 (%13.1)'u ve tripsinle muamele edildikten sonra da 24 (%31.6)'ü hemaglütinasyon reaksiyonu gösterirken, insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun tripsinle muamele edilmeden önce 2 (%2.8)'sinde ve tripsinle muamele edildikten sonra da 20 (%27.8)'sinde hemaglütinasyon reaksiyonu tespit edildi (Tablo 14, Şekil 18,19).

Tablo 14. İncelenen GBS suşları ile hemaglütinasyon testinde elde edilen sonuçlar

		Bakteri kültürü ile hemaglütinasyon		
Konakçı	n	Tripsin ile muamele edilmeden önce	Tripsin ile muamele edildikten sonra	
Sığır	ST	34	8 (23.5) ^b	10 (29.4)
	NT	42	2 (4.8) ^b	14 (33.3)
Toplam	76	10 (13.2) ^a	24 (31.6)	
İnsan	ST	49	0 (0)	6 (17.6) ^b
	NT	23	2 (4.8)	14 (33.3) ^b
Toplam	72	2 (2.8) ^a	20 (27.8)	

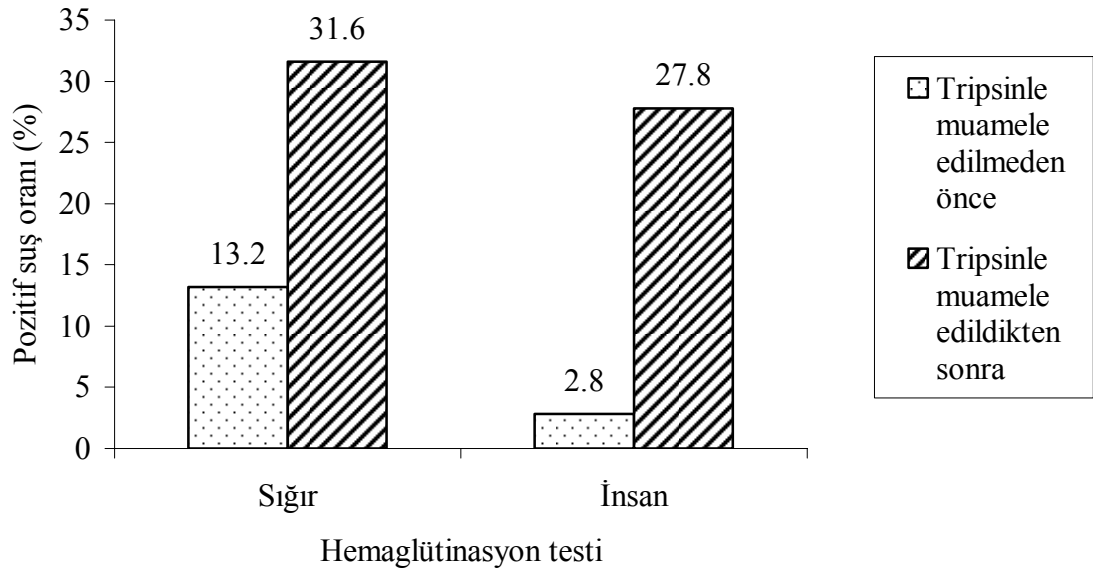
n : İncelenen suş sayısı, ST : Serotiplendirilen, NT : Serotiplendirilemeyen,

^a : İncelenen test yönünden konakçılara göre GBS suşları arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulundu

^b : İncelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen GBS suşları arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulundu

Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının hemaglütinasyon test sonuçları karşılaştırıldığında; tripsinle muamele edilmeden önce tespit edilen hemaglütinasyon

test sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulunurken; incelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen GBS suşlarının hemaglütinasyon test sonuçları karşılaştırıldığında; sığırlardan izole edilen GBS suşlarının tripsinle muamele edilmeden önce belirlenen hemaglütinasyon test sonuçları arasındaki fark ile insanlardan izole edilen GBS suşlarının tripsinle muamele edildikten sonra belirlenen hemaglütinasyon test sonuçları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulundu (Tablo 14).



Şekil 18. İncelenen GBS suşları ile hemaglütinasyon testinde elde edilen sonuçların konakçılara göre dağılımı



Şekil 19. Lam-hemagglütinasyon testinde gözlenen pozitif (+) ve negatif (-) reaksiyonlar

4.5. Lektin aglütinasyon testlerinde elde edilen sonuçlar

Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarından hazırlanan kültürler tripsin ile muamele edilmeden önce lektinlerle aglütinasyon reaksiyonu vermezken, kültürlerin tripsin ile muamelesinden sonra lektinlerle pozitif aglütinasyon reaksiyonları tespit edildi. GBS suşlarının bazı lektinlerle verdiği aglütinasyon reaksiyonları incelendiğinde; sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun 7 (%9.2)'si ve insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun 8 (%11.1)'i otoaglütinasyon verdi ve bu suşlar değerlendirmeye alınmadı.

Sığırlardan izole edilen 69 adet GBS suşunun 4 (%5.8)'ü *Arachis hypogea*, 9 (%13)'ü *Canavalia ensiformis*, 21 (%30.4)'i *Dolichos biflorus*, 12 (%17.4)'si *Helix pomatia* ve 19 (%27.5)'u da *Triticum vulgare* ile pozitif aglütinasyon verirken 20 (%28.9)'sinde aglütinasyon gözlenmedi. İnsanlardan izole edilen 64 adet GBS suşunun 12 (%18.7)'si *Arachis hypogea*, 24 (%37.5)'ü *Canavalia ensiformis*, 6 (%9.4)'sı *Dolichos biflorus*, 13 (%20.3)'ü *Helix pomatia* ve 9 (%14.1)'u da *Triticum vulgare* ile

pozitif aglütinasyon verirken, 19 (%29.7)'unda aglütinasyon gözlenmedi (Tablo 15, Şekil 20,21).

Tablo 15. İncelenen GBS suşlarının lektinler ile tespit edilen aglütinasyon reaksiyon sonuçlarının karşılaştırılması

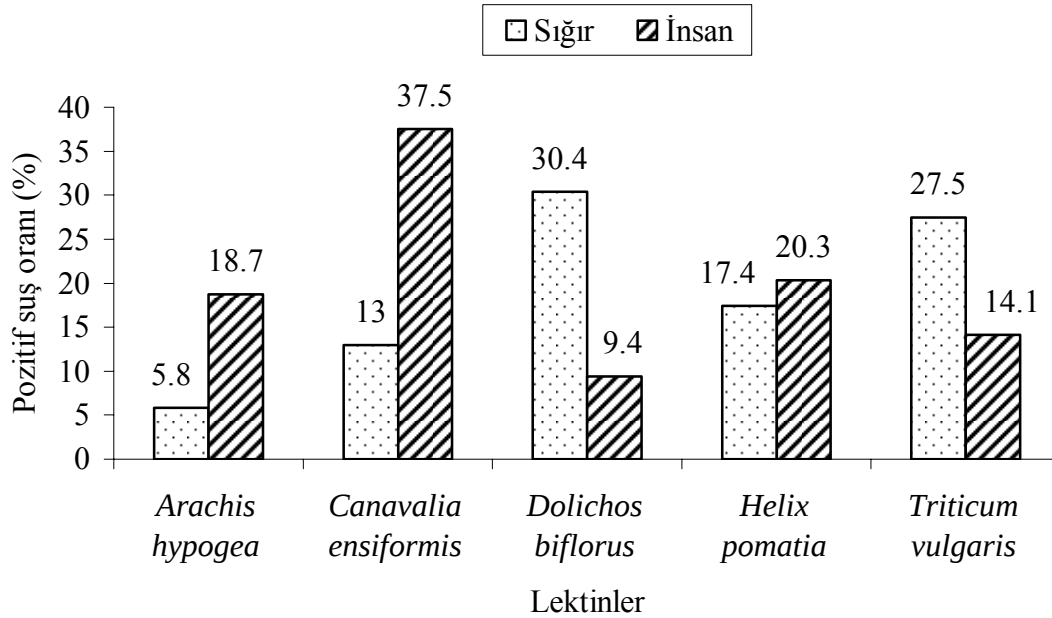
		Lektin Aglütinasyon Test Sonuçları					
Konakçı	n*	<i>Arachis hypogea</i>	<i>Canavalia ensiformis</i>	<i>Dolichos biflorus</i>	<i>Helix pomatia</i>	<i>Triticum vulgaris</i>	
Sığır	ST	29	1 (3.4)	4 (13.8)	7 (24.1)	6 (20.7)	8 (27.6)
	NT	40	3 (7.5)	4 (10)	14 (35)	6 (15)	12 (30)
Toplam	69	4 (5.8) ^a	8 (11.6) ^a	21 (30.4) ^a	12 (17.4)	19 (27.5)	
İnsan	ST	45	8 (17.8)	20 (44.4) ^b	2 (4.4)	4 (8.8) ^b	8 (17.8)
	NT	19	4 (21.1)	4 (21.1) ^b	4 (21.1)	9 (47.4) ^b	1 (5.3)
Toplam	64	12 (18.8) ^a	24 (37.5) ^a	6 (9.4) ^a	13 (20.3)	9 (14.1)	

* : Otoaglütinasyon gösteren 8 insan ve 7 hayvan suşu değerlendirilmedi

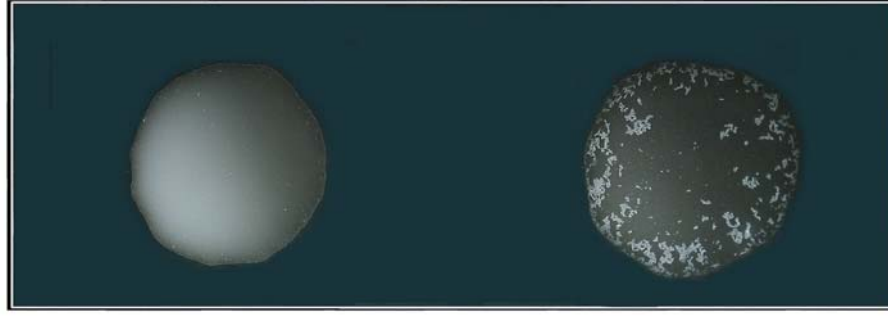
n : İncelenen suş sayısı, ST : Serotiplendirilen, NT : Serotiplendirilemeyen,

^a : İncelenen test yönünden konakçılara göre GBS suşları arasındaki fark önemli (P<0.05) bulundu

^b : İncelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen GBS suşları arasındaki fark önemli (P<0.05) bulundu



Şekil 20. İncelenen GBS suşlarının lektinler ile tespit edilen aglütinasyon reaksiyonlarının konakçılara göre dağılımı



(-)

(+)

Lektin Aglütinasyon Testi

Şekil 21. Lamda lektin aglütinasyon testinde gözlenen pozitif (+) ve negatif (-) reaksiyonlar

Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının lektinlerle verdiği aglütinasyon reaksiyonları incelendiğinde; sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %2.9'u sadece *Canavalia ensiformis* ile aglütinasyon reaksiyonu verirken, insanlardan izole edilen GBS suşlarının %17.2'si aynı reaksiyonu verdi. Buna karşın sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %18.8'i sadece *Dolichos biflorus* ile aglütinasyon reaksiyonu verirken, insanlardan izole edilen GBS suşlarının ise sadece %3.1'i aynı reaksiyonu verdi. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %21.7'si ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının %14'ü de sadece *Triticum vulgaris* ile aglütinasyon reaksiyonu verdi. Bunun dışında, incelenen GBS suşları değişen sayılarda birden fazla lektin ile aglütinasyon reaksiyonu verdi (Tablo 16).

Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının lektin aglütinasyon test sonuçları karşılaştırıldığında; *Arachis hypogea*, *Canavalia ensiformis* ve *Dolichos biflorus* aglütinasyon test sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulunurken; incelenen test yönünden aynı konakçıya ait serotiplendirilen ve serotiplendirilemeyen GBS suşlarının lektin aglütinasyon aktivite sonuçları

karşılaştırıldığında; sadece insanlardan izole edilen GBS suşlarının *Canavalia ensiformis* ve *Helix pomatia* ile belirlenen lektin aglütinasyon test sonuçları arasındaki fark, istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) bulundu (Tablo 15).

Tablo 16. Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının lektinlerle tespit edilen aglütinasyon reaksiyonlarının karşılaştırılması

Lektinler					Konakçı	
<i>Arachis hypogea</i>	<i>Canavalia ensiformis</i>	<i>Dolichos biflorus</i>	<i>Helix pomatia</i>	<i>Triticum vulgaris</i>	Sığır	İnsan
+	-	-	-	-	2 (2.9)	2 (3.1)
-	+	-	-	-	2 (2.9)	11 (17.2)
-	-	+	-	-	13 (18.8)	2 (3.1)
-	-	-	+	-	6 (8.7)	3 (4.7)
-	-	-	-	+	15 (21.7)	9 (14)
+	+	-	-	-	0	7 (10.9)
+	+	-	+	-	0	1 (1.5)
+	-	+	-	-	1 (1.4)	0
+	-	-	+	+	1 (1.4)	0
+	-	-	+	-	0	2 (3.1)
-	+	-	+	-	2 (2.9)	4 (6.2)
-	+	+	-	+	2 (2.9)	0
-	+	+	+	+	1 (1.4)	0
-	+	+	-	-	2 (2.9)	1 (1.5)
-	-	+	+	-	2 (2.9)	3 (4.7)
-	-	-	-	-	20 (28.9)	19 (29.7)
Toplam					69*	64*

+ : Pozitif reaksiyon, - : Negatif reaksiyon

* : Otoaglütinasyon gösteren 7 sığır ve 8 insan suşu değerlendirilmedi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, ülkemizde Van ve yöresinde sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşları serotiplendirilerek, lektinlerle aglütinasyon ve hemaglütinasyon özellikleri ile bazı enzim aktiviteleri ve biyokimyasal özellikleri karşılaştırıldı.

Sığırlarda mastitis, insanlarda ise neonatal sepsisemi, meningitis, solunum ve üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan GBS'lar, insan ve hayvan sağlığı açısından önemli bir yere sahiptir (1,2). Sığırlarda mastitis olgularının %15-36'sından GBS izole edildiği (19,22,25,155) ve GBS Ia, II, III, V ve X serotiplerinin ise mastitis olgularından izole edilen suşlarda yaygın olarak görüldüğü bildirilmektedir (15,18,38,152,160,161). İnsanlarda yapılan çalışmalarda (4,29,63,162,163) ise, kadınlarda vaginal GBS kolonizasyon oranının %5-40 arasında değiştiği ve yaygın olarak da GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III ve V suşlarının izole edildiği rapor edilmektedir (9,21,28,66,164,165). Yapılan araştırmalarda (17,166,167,168,169), *Streptococcus agalactiae* (GBS) suşlarının %75-100'nün CAMP pozitif ve %90-100'ünün de eskulin negatif olduğu rapor edilmektedir. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %10-49'unda hemaglütinasyon özelliği gözlenirken, insanlardan izole edilen suşlarda bu özelliğin görülmediği bildirilmektedir (8,48,153,158). GBS suşlarının lektinlerle aglütinasyon özellikleri ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda (142,144,146,147,156,170) ise GBS suşlarının %17-78'inde bazı lektinlerle aglütinasyon reaksiyonu tespit edilebildiği rapor edilmektedir.

Sığırlardaki mastitise neden olan mikroorganizmalara yönelik yapılan araştırmalarda (19,22,23,24,25,171) ise, izole edilen streptokokların %15-58'inin GBS olarak tanımlanıp edildiği bildirilmektedir.

Ülkemizde yapılan araştırmalarda; Akay ve ark. (22), mastitisli inek sütlerinden izole ettikleri streptokokların ko-aglütinasyon testi ile %36.2'sini; Ulusoy ve ark. (26), mastitis vakalarından izole ettikleri mikroorganizmaların %15.9'unu; Dakman (12), CMT pozitif ve negatif inek sütlerinden izole edilen streptokokların ko-aglütinasyon yöntemi ile %32.4'ünü; Aydın ve ark. (171), mastitis yönünden incelenen sığır sütlerinden izole edilen streptokokların %43.2'sini; Ekin (19) ise, subklinik mastitis olgularından izole edilen streptokokların lateks aglütinasyon testi ile %16.3'ünü GBS

olarak tanımladı ettiklerini rapor etmektedirler. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda ise Saxegaard (24), mastitis vakalarından izole edilen streptokokların ko-aglütinasyon yöntemiyle %27.5'ini ve presipitasyon yöntemiyle de %30.5'ini; Stoner (27), hayvanlardan izole edilen streptokok suşlarının presipitasyon ve ko-aglütinasyon yöntemleriyle %27.4'ünü; Hogan ve ark. (23) da, sığır sütlerinden izole edilen streptokokların lateks aglütinasyon yöntemi ile %58.2'sini GBS olarak tanımladı ettiklerini bildirmektedirler.

Bu çalışmada, inek sütlerinden izole edilen 281 streptokok suşunun %27'si latex aglütinasyon yöntemi ile GBS olarak tanımladı edildi. Araştırmada inek sütlerinden izole edilen GBS suşlarının oranı, bazı araştırmacıların (12,22,23,25,171) bulgularından düşük; Ulusoy (26) ile Ekin (19)'in bulgularından yüksek; Saxegaard (24) ve Stoner (27)'in bulguları ile benzer olduğu gözlemlendi. İnek sütlerinde GBS'ların yaygınlığında gözlenen bu farklılıklar araştırmaların farklı bölgelerde yapılmış olmasından ve incelenen örneklerin niteliğinden kaynaklanabilmektedir. Ayrıca elde edilen bulgular inek sütlerinden izole edilen streptokokların içinde GBS'ların önemini koruduğunu göstermektedir.

Yapılan araştırmalarda (150,163,172), GBS'ların kadınlarda vagino-rektal örneklerden sıklıkla izole edildiği bildirilmekte ve özellikle vaginal GBS kolonizasyonunun önemli olduğu vurgulanmaktadır. GBS'ların kadınlardaki kolonizasyon oranının da, bölgelere ve kullanılan izolasyon yöntemlerine göre %5-40 arasında değişkenlik gösterdiği rapor edilmektedir (4,29,63,162,163).

ABD'nin çeşitli eyaletlerini kapsayan bir çalışmada (32), kadınlarda GBS kolonizasyon oranlarının Columbia eyaletinde %26.4, Washington'da %17.5, Oklahoma'da %13.6 ve Texas'ta %9.2 oranında belirlenirken, GBS kolonizasyonunun zencilerde %21.2, beyazlarda %13.7 ve Latin Amerikalılarda da %20.9 oranlarında bulunduğu ve bu dağılımda coğrafik konum, hijyenik koşullar, ekonomik düzey ve etnik farklılıkların rol oynayabileceği ifade edilmektedir. Benzer araştırmalarda, Davies ve ark. (173), 1207 hamile kadından aldıkları vaginal örneklerin % 19.5'inden; Gil ve ark. (174), 702 hamile kadından alınan vagino-rektal örneğin %14.7'sinden; Fraile ve ark. (30), 450 vagino-rektal örneğin %19.8'inden; Quinlan ve ark. (172), 222 hastadan alınan vaginal örneğin %24.3'ünden; Crisp ve ark. (163), 374 hastadan alınan vaginal

örneğin %24.8'inden ve Dunne ve Staley (149) ise 264 vaginal sıvap örneğinin %21.2'sinden GBS izole edildiğini rapor etmektedirler. Çeşitli yaş gruplarındaki kadınlarda yapılan bir araştırmada ise (175), vaginal GBS kolonizasyonunun en yüksek oranda (%26.9) 24 yaş altındaki kadınlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan bir araştırmada (171) ise insanların boğaz kültürlerinden izole edilen streptokokların %18.7'sini GBS'ların oluşturduğu bildirilmektedir.

Bu araştırmada da, kadınlardaki vaginal GBS kolonizasyonunu tespit etmek amacı ile Van şehir merkezi ile yakın il ve ilçelerden Van Doğumevi polikliniğine gelen 300 hastadan alınan vaginal sıvap örneğininin %24'ünden GBS izole ve identifiye edildi. Elde edilen bulgular, Quinlan ve ark. (172), Crisp ve ark. (163) ve Regan ve ark. (32) ile uyumlu bulunurken diğer araştırmacıların (30,149,171,173,174,175) bulgularından daha düşük veya yüksek bulundu. Bu çalışmada elde edilen bulgular, Van ve yöresinde kadınlarda GBS kolonizasyonunun yüksek oranda olduğunu göstermektedir.

GBS suşları ile grup G, C streptokok ve *Streptococcus pneumonia* suşları arasında kros reaksiyonların gözlemlendiği bildirilmektedir (2,19). Bu çalışmada incelenen 7 adet GBS suşunun serogrup C spesifik antiserum ile; insanlardan izole edilen 17 adet GBS suşunun da serogrup D spesifik antiserum ile lateks aglütinasyon testinde kros reaksiyon verdiği gözlemlendi.

Bu araştırmada GBS suşlarının serotiplendirilmesinde, referans GBS serotip Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X kültürleri ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen antiserumlar kullanıldı. AGPT ve ko-aglütinasyon testlerinde polispesifik serumların heterolog referans kültürlerle verdiği kros reaksiyonlara göre yapılan adsorbsiyon işlemleri sonucunda, her bir test için ayrı ayrı serotip monospesifik antiserumlar elde edildi. Adsorbsiyon işlemleri sonucunda AGPT'inde GBS serotip Ia, II, III, IV, V, VII, VIII, R ve X antiserumlarının her birinin sadece kendi antijenleri ile spesifik reaksiyon verdiği gözlemlendi. Ancak GBS serotip Ib ve Ic antiserumları kros reaksiyon verdikleri Ia referans heterolog kültürü ile adsorbe edildiğinde gözle görülebilir presipitasyon reaksiyonları elde edilemedi. Bu nedenle bu araştırmada incelenen GBS suşları AGPT ile GBS serotip Ib ve Ic antiserumları ile tiplendirilemedi.

Yapılan araştırmalarda (9,176), Ic protein antijeninin Ibc olarak tanımlanan iki ayrı serolojik aktif determinanttan oluştuğu ve bu determinantların tüm tip Ib suşlarında bulunabileceği, bazı suşların da tip spesifik Ia polisakkarit antijenini taşıdığı bildirilmektedir. Bu nedenle serotip Ia ve Ib antiserumlarında da bulunabilen Ic protein antijenine karşı antikorların kros reaksiyonlara neden olduğu rapor edilmektedir. Mosabi ve ark. (18), referans GBS serotipleri ile immunize edilen tavşanlardan elde ettikleri antiserumlardan serotip spesifik antiserumların elde edilmesinde serotip Ia antiserumunun Ib ve Ic referans kùltürleri ile; Ib antiserumunun Ic referans kùltürü ile, Ic antiserumunun Ia referans kùltürü ile ve II antiserumunun Ic referans kùltürü ile adsorbe edildiğini bildirmişlerdir.

Bu araştırmada serotip Ib polispesifik antiserumda Ia, Ib ve Ic antijenlerine yönelik benzer presipitasyon bandı oluşturan ve ayrıca Ia ve Ic ile benzer presipitasyon reaksiyonu veren antikorlar gözlenirken, Ib spesifik ayrı bir presipitasyon bandı görùlmedi. Bu nedenle Ic veya Ia kùltürleri ile ayrı ayrı adsorbe edilen GBS serotip Ib antiserumları homolog antijen ile spesifik presipitasyon reaksiyonu vermedi. Dolayısıyla serotip Ib antiserumu homolog referans kùltür ile adsorbe edildiğinde sadece serotip Ia ve Ic antijenleri ile benzer kros reaksiyon verdi. Bu da serotip Ic protein antijeninin serotip Ia ve Ib suşlarının antijenik yapısında bulunabileceğini göstermektedir. Yapılan bir araştırmada da (125), Ic protein antijeninin Ia polisakkarit antijeni ile kombine olarak bulunabildiği ve bu suşların tip Ic olarak adlandırıldığı bildirilmektedir.

Bu çalışmada ko-aglütinasyon testinde GBS serotip Ia, Ib, Ic, III, IV, V, VII, VIII ve X monospesifik antiserumlarının her birinin sadece homolog antijenleri ile spesifik reaksiyon verdiği gözlendi. Ancak GBS serotip II antiserumu, kros reaksiyon verdiği tip X ve R kùltürler ile adsorbe edildiğinde tip II antiserumu homolog antijen ile reaksiyon vermedi. Ancak tip X spesifik antiserum, sadece homolog antijen ile, tip R spesifik antiserum ise ayrıca tip VIII antijen ile kros reaksiyon verdi.

Yapılan literatür araştırmalarında tip II antijeninin R protein ile antijenik ilişkisi üzerinde herhangi bir bilgiye rastlanmadı. Ancak X protein antijeninin R protein antijeninin yapısında bulunabileceği ve insanlardan izole edilen GBS'larda tespit edilen R protein antijeninin çoğunlukla tip II ve III polisakkarit antijenle birlikte kombine

olarak bulunduğu bildirilmektedir (9). Bu çalışmada ko-aglütinasyon testinde tip II antiserumunun R ve X antijenleri ile tespit edilen kros reaksiyonlarının AGPT’inde gözlenmemesi, aynı şekilde AGPT’inde Ib ve Ic antiserumlarının heterolog kültürlerle adsorbe edilmesinden sonra homolog antijenler ile reaksiyon vermemesi, ko-aglütinasyon testinin presipitasyon testine göre daha duyarlı olması ile açıklanabilir. Bu araştırmada incelenen GBS’ların serotiplendirilmesinde daha duyarlı ve pratik bulunduğu için ko-aglütinasyon testinden yararlanıldı. Ancak AGPT ile de serotiplendirme yapıldı ve ko-aglütinasyon testi ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı.

Yapılan araştırmalarda (15,18,38,152,160,161), sığırlardan izole edilen GBS suşlarında yaygın olarak Ia, II, III, V ve X serotiplerinin gözlendiği, kadınlarda vaginal GBS kolonizasyonuna yönelik yapılan çalışmalarda da (9,21,28,66,164,165), yaygın olarak Ia, Ib, Ic, II, III ve V serotiplerinin tespit edildiği rapor edilmektedir.

Farklı populusyonlarda yapılan araştırmalarda (29,30,31,32) GBS’ların hamile kadınlardaki kolonizasyonunun %10-30 arasında değiştiği bildirilmiştir. ABD ve Avrupa’nın batısında yapılan araştırmalarda (28,33) klinik örneklerin %86-90’ından GBS serotip Ia, II, III ve V izole edildiği ve bu populusyonlarda serotip IV, VI, VII, VIII ve serotiplendirilemeyen suşların yaygın olmadığı bildirilmektedir. ABD’de yeni doğanlarda gözlenen GBS enfeksiyonları ile ilgili yapılan bir araştırmada (34) ise GBS serotip Ia’nın %40, Ib’nin %9, II’nin %6, III’ün %27 ve V’in %15 düzeyinde görüldüğu ayrıca GBS serotip dağılımının, etnik yapı ve coğrafik bölgelere göre de farklılık gösterdiği rapor edilmektedir. Japonya’da hamile kadınlarda vaginal GBS kolonizasyonu üzerinde yapılan bir çalışmada (35) ise serotip VI ve VIII’in dominant olduğu bildirilmiştir.

Pasaribu (152), mastitisli sığır sütlerinden izole edilen 79 adet GBS suşunun %51.9’unun ko-aglütinasyon yöntemi ile serotiplendirdiğini, %25.3’ünün birden fazla antiserum ile kombine reaksiyon verdiğini ve %22.8’inin serotiplendirilemediğini belirtirken, suşların %2.5’inin tip Ia, %6.3’ünün tip IV, %1.3’ünün tip R ve %41.8’inin ise tip X olduğunu bildirmektedir. Aynı araştırıcı, insanlardan izole edilen 84 adet GBS suşunun %69’unun ko-aglütinasyon yöntemi ile serotiplendirilebildiğini, %26.2’sinin ise birden fazla antiserumla kombine reaksiyon verdiğini ve serotiplendirilen suşların %26.2’sinin tip Ia, %8.3’ünün tip Ic, %10.7’sinin tip II, %19’unun tip III ve %1.2’sinin

ise tip IV olduğunu tespit etmiştir. Jelinkova (9), sığırlardan izole edilen 413 adet GBS suşunun serotip Ia (%7.2), Ib (%3.8), Ic (%2.2), II (%5.1), III (%6), R (%32.9), X (%27.6) ve %21.5'inin kombine olduğu belirlenirken %7.9'unun serotiplendirilemediğini; insanlardan izole edilen 2415 adet GBS suşunun ise Ia (%6.1), Ib (%26.2), Ic (%8.8), II (%5.2), III (%20.3), R (%3.4), X (%1.6) ve %22.3'ünün kombine olduğu gözlenirken %5.8'inin de serotiplendirilemediğini rapor etmektedir. Finch ve Martin (15), mastitisli sığır sütlerinden izole edilen GBS suşlarının sırasıyla %42.6'sının serotip II, %3.3'ünün Ia, %1.6'sının III ve %52.5'inin serotiplendirilemediğini; kadınların vaginal sıvı, boğaz kültürü ve klinik örneklerden izole edilen GBS suşlarının %20.9'unun serotip Ia, %5.5'inin Ib, %25.8'inin Ic, %15.3'ünün II, %27'sinin III ve %1.2'sinin II-Ic olarak serotiplendirdiklerini, %4.3'ünü de serotiplendiremediklerini belirtmektedirler. Mosabi ve ark. (18), sığır sütlerinden izole ettikleri GBS suşlarının kapıllar presipitasyon yöntemi ile %85'inin serotiplendirildiğini, suşlar arasında Ia (%47), Ic (%12) ve III (%12) serotiplerinin yaygın olduğunu; kadınlardan alınan vaginal sıvı ve boğaz kültürü örneklerinden izole ettikleri GBS suşlarının ise tamamının serotiplendirilebildiğini, en yaygın olarak da Ia (%29), Ic (%24) ve III (%15) serotiplerinin tespit edildiğini bildirmektedirler. Jensen (38), mastitisli sığır sütlerinden izole edilen GBS suşlarının AGPT ile tespit edilen dominant serotipin tip III (%57) olduğunu, 27 farklı serotip kombinasyonunun bulunduğunu, özellikle X proteininin %62 oranında kombine serotiplerde bulunduğunu, incelediği suşların %5'inin de serotiplendirilemediğini rapor etmektedir. Kutschke (160), sığır sütlerinden izole ettiği GBS suşlarının %83.2'sinin serotiplendirilebildiğini, suşların %43.9'unun tip X, %12.5'inin tip Ia, %5.5'inin tip IV, %2.8'inin tip Ic, %2'sinin tip III, %1.2'sinin tip Ib, %1'inin tip R ve %14'ünün de kombine olduğunu; Lämmle ve ark (161) ise mastitisli sığır sütlerinden izole ettikleri 89 adet GBS suşunun immundiffüzyon ve ko-aglütinasyon yöntemleriyle %87'sinin serotiplendirildiğini, incelenen suşların %3.4'ünün tip Ia, %4.5'inin tip IV ve %5.6'sının tip V, %32.6'sının V/X, %29.2'sinin Ia/c, %5.6'sının NT/X, %4'ünün IV/X, %2.2'sinin Ia/X ve III/X olarak serotiplendirdiklerini rapor etmektedirler.

Davies ve ark. (173), kadınlardan alınan vaginal örneklerden izole ettikleri 118 adet GBS suşunun %80'inin serotiplendirilebildiğini, bunların %20.3'ünün tip Ia, %8.5'inin tip Ib, %8.5'inin tip II, %15.3'ünün tip III, %28'inin tip V olarak

belirlendiğini; Berg ve ark. (165), kadınlardan alınan vaginal sıvı, serebrospinal sıvı ve kan örneklerinden izole ettikleri 144 adet GBS suşunun %95.8'ini ko-aglutinasyon yöntemiyle serotiplendirilebildiğini bunların %39.9'unun tip III, %17.8'inin tip V, %12.8'inin tip Ia, %12.4'ünün tip Ib, %10.4'ünün tip II, %2.3'ünün tip IV olduğunu, rapor etmektedirler. Benzer bir çalışmada Ko ve ark. (66), kadınlarda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 351 GBS suşunun %87'sinin lateks aglutinasyon testi ile serotiplendirildiğini, bu suşların %12.7'sinin tip Ia, %11.9'unun tip Ib, %28.5'inin tip III, %1.7'sinin tip IV ve %27.1'inin tip V olduğunu; Lee ve ark. (177) da, klinik örneklerden izole ettikleri GBS suşlarının %12.6'sının tip Ia, %38.2'sinin tip Ib, %4.2'sinin tip II, %35.9'unun tip III, %2.9'unun tip V, %1.9'unun tip VI ve %1.3'ünün de tip VIII olarak belirlendiğini; Chong ve ark. (178) ise, ürogenital sistemden izole ettikleri GBS suşlarının %8.7'sinin tip Ia, %8.7'sinin Ia/c, %10.1'inin tip Ib, %24.6'sının Ib/c, %1.4'ünün tip II, %1.4'ünün II/c, %10.1'inin tip III, %26'sının III/R, %2.9'unun tip V, %1.4'ünün NT/c ve %1.4'ünün ise NT/R olarak belirlendiğini rapor etmektedirler.

Bu araştırmada, sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun %44.7'si ko-aglutinasyon testi ile, %17.1'i de AGPT ile serotiplendirilirken; insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun ise %68'i ko-aglutinasyon testi ile, %11.1'i de AGPT ile serotiplendirildi. Çalışmada sığırlardan izole edilen GBS suşlarında görülme sıklığına göre ko-aglutinasyon yöntemi ile tespit edilen başlıca serotiplerin VII (%11.8), III (%10.5), Ic (%6.5), VIII (%3.9), V (%2.6), II (%1.3), IV (%1.3), X (%1.3) ve %5.2'sinin de kombine olduğu; insanlardan izole edilen GBS suşlarında ise Ic (%33.3), IV (%8.3), VIII (%6.9), V (%5.5), R (%5.5) ve %8.3'ünün kombine olduğu tespit edildi. AGPT ile serotiplendirilen suşların hemen hemen tamamı ko-aglutinasyon testinde de aynı serotip-spesifik antiserum ile reaksiyon verirken, insanlardan izole edilen ve AGPT'inde tip III olarak tiplendirilen iki suşun ko-aglutinasyon testinde tip V ve VII spesifik antiserumlarla da reaksiyon verdiği gözlemlendi. Ayrıca sığırlardan izole edilen ve AGPT'inde tip II olduğu tespit edilen iki suşun ko-aglutinasyon testinde tip IV ve X spesifik antiserumlarla da reaksiyon verdiği gözlemlendi.

Bu çalışmada tespit edilen GBS serotipleri ile değişik bölgelerde yapılan diğer araştırmalarda (15,18,38,160,161,173,177,178) tespit edilen serotip dağılımlarının farklı

olmasının, bölgesel farklılıktan kaynaklandığı ileri sürülebilir. Diğer araştırmalarda da görüldüğü üzere sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarında tespit edilen dominant serotipler, suşlar arasında farklılık gösterebilmektedir.

GBS'ların hemolitik özelliklerinin belirlendiği araştırmalarda, sığır sütlerinden izole edilen GBS suşlarında β - hemolitik özelliğin %10 (8), %15.2 (153), %48.5 (167), %58.7 (18), %62.4 (17), %83 (166) ve %96.8 (168) arasında değiştiği, insanlardan izole edilen GBS suşlarında bu özelliğin %33.3 (8), %85.5 (167), %89.7 (166) ve %100 (18) oranlarında görüldüğü bildirilmektedir. GBS'larda α - hemolitik özelliğin sığır suşlarında %3.2 (168), %6.6 (19), %11.3 (166), %26.8 (17), %41.3 (18), %45 (167) ve %90 (8) arasında değiştiği, insanlardan izole edilen GBS suşlarında ise %8.5 (166), %13.9 (167) ve %66.6 (8) oranlarında görüldüğü bildirilmiştir. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarında γ - hemolitik özelliğin %5.6 (166), %6.5 (167), %10.8 (17) ve %53.3 (19) arasında değiştiği; insanlardan izole edilen GBS suşlarında ise %0.6 (167) ve %1.8 (166) oranlarında görüldüğü rapor edilmektedir.

Bu çalışmada, sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %64.5'i β -, %19.7'si α - ve %15.8'i de γ - hemolitik bulunurken; insanlardan izole edilen GBS suşlarının ise %23.6'sının β -, %29.2'sinin α - ve %47.2'sinin de γ - hemolitik olduğu tespit edildi. Araştırmada elde edilen bulgulara göre, sığırlardan izole edilen GBS suşlarında β - hemolitik suş oranının Hahn (166) ve Rund (168)'un bulgularından düşük, diğer araştırmacıların (8,17,18,19,153,167) bulgularından yüksek; α - hemolitik suş oranının Ekin (19), Hahn (166) ve Rund (168)'un bulgularından yüksek, diğer araştırmacıların (8,17,18,153,167) bulgularından düşük olduğu; γ - hemolitik suş oranının ise Ekin (19)'den düşük, diğer araştırmacıların (17,166,167) bulgularından yüksek olduğu gözlemlendi. İnsanlardan izole edilen GBS suşlarında ise β - hemolitik suş oranı diğer araştırmacıların (8,18,166,167) bulgularından düşük bulunurken, α - hemolitik suş oranının Hahn (166) ve Müler (167)'in bulgularından yüksek, Yıldırım (8)'in bulgularından düşük; γ - hemolitik suş oranının ise Hahn (166) ve Müler (167)'in bulgularından yüksek olduğu gözlemlendi.

Yapılan bu araştırmalarda GBS suşlarında β - hemolitik özelliğın hem insan hem de sığır suşlarında daha yaygın olarak görüldüğü, α - ve γ - hemolitik özelliğın sığırlardan izole edilen GBS suşlarında daha sık görüldüğü gözlenmektedir.

Bu çalışmada incelenen GBS suşlarında β - ve γ - hemoliz özellikleri yönünden sığır ve insanlardan izole edilen suşlar arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulundu. Ancak bu araştırma ile ülkemizde ve diğerk ülkelerde konu ile ilgili yapılan araştırma bulguları dikkate alındığında; GBS suşlarında tespit edilen hemoliz tiplerinin suşlar arasında değışkenlik gösterebileceğinden, sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarında gözlenen hemoliz tipleri arasındaki fark, incelenen örneklerin niteliğı ve çalışmaların değışik yörelerde yapılmış olmasından kaynaklanabilir.

GBS'lar içerisinde bilinen tek tür olan *Streptococcus agalactiae* suşlarının biyokimyasal yöntemlerle yapılan identifikasyonunda karakteristik olarak CAMP ve sodyum hippurat hidrolizi testlerinde pozitif, eskulin hidrolizi testinde ise negatif reaksiyon verdiğı bildirilmektedir (1,2,3,7,13,62,64,155). Ancak yapılan bazı çalışmalarda (23,167,168,169) bu özelliklerin GBS suşlarında değışiklik gösterdiğı tespit edilmiştir.

Ülkemizde değışik yörelerde yapılan araştırmalarda, Ekin (19), sığır sütlerinden izole edilen GBS suşlarının %73.3'ünün CAMP pozitif, %76.5'inin eskulin negatif ve %66.6'sının sodyum hippurat pozitif olduğunu; Dakman (12) ise sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %93.7'sinin CAMP pozitif, tamamının sodyum hippurat pozitif ve eskulin negatif olduğunu bildirmektedirler.

Diğerk ülkelerde yapılan araştırmalarda ise; sığırlardan izole edilen GBS suşlarında CAMP pozitiflik oranının %75 (169), %86 (17), %87 (168) ve %89.8 (167) arasında değıştiğı gözlenirken, insanlardan izole edilen GBS suşlarında bu özelliğın %66.6 (179), %83.3 (180) ve %86.9 (167) oranlarında olduğı bildirilmektedir. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarında sodyum hippurat pozitifliğın %97.9 (166) ve %100 (18) oranlarında olduğı gözlenirken, insanlardan izole edilen GBS suşlarında bu özelliğın %87.5 (179), %96.6 (180), %96.7 (181), %99 (166) ve %99.6 (182) oranlarında bulunduğı bildirilmektedir. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarında eskulin negatiflik oranının ise %90.1 (17), %95.8 (166) ve %96.8 (168) arasında değıştiğı;

insanlardan izole edilen GBS suşlarında da bu özelliğin %99 (166) oranında olduğu bildirilmektedir.

Bu araştırmada, sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %26.3'ü CAMP pozitif, %64.5'i eskulin negatif ve %73.7'sinin de sodyum hippurat'ı hidrolize ettiği; insanlardan izole edilen GBS suşlarının ise %45.8'inin CAMP pozitif, %83.3'ünün eskulin negatif ve %76.4'ünün de sodyum hippurat'ı hidrolize ettiği tespit edildi. Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının CAMP ve sodyum hippurat testlerinde pozitiflik ile eskulin hidrolizi testlerinde negatiflik yönünden elde edilen bulguların yukarıda belirtilen diğer araştırmacıların bildirdiği oranlardan düşük olduğu gözlemlendi. Konu ile ilgili olarak yörenizde daha önce yapılan bir araştırmada (19) bildirildiği gibi sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının identifikasyonunda sadece yukarıda belirtilen testlerden yararlanılmasının yeterli olamayacağı ve *Streptococcus agalactiae* suşlarının serolojik yöntemlerle GBS olarak identifiye edilmesinin önemi ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bu çalışmada sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının arasındaki fark sadece CAMP testi yönünden önemli ($P<0.05$) bulundu. Ancak bu özelliğe dayanarak sığır ve insanlardan izole edilen suşlar arasında yapılabilecek ayırımının literatür verileri ile desteklenmediği görülmektedir.

GBS suşlarının biyokimyasal özelliklerinin belirlendiği bazı karbonhidrat fermentasyon testlerinde sığır ve insanlardan izole edilen suşlar arasında önemli farklılıklar görülebilmektedir (14,15).

Yapılan araştırmalarda sığırlardan izole edilen GBS suşlarında laktoz pozitiflik oranının %79 (18), %87.3 (152), %88.5 (15), %88.7 (161), %94.2 (166) ve %100 (8,36,153) arasında değiştiği gözlenirken, insanlardan izole edilen GBS suşlarında bu özelliğin %6.1 (15), %12 (18), %22.6 (152), %28.3 (166), %33 (59) ve %36 (36) oranlarında olduğu bildirilmektedir. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarında salisin pozitiflik oranının ise %44.3 (153), %66 (18), %70 (8), %75.4 (15), %97.6 (166) ve %99 (36) arasında değiştiği gözlenirken, insanlardan izole edilen GBS suşlarında bu özelliğin %88 (18), %88.8 (8), %93 (36), %96.9 (15) ve %97.4 (166) oranlarında olduğu rapor edilmektedir. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarında trehaloz pozitiflik oranının da %29.1 (153), %79 (36), %80 (8) ve %95.3 (166) arasında değiştiği gözlenirken, insanlardan izole edilen GBS suşlarında bu özelliğin %94 (36), %95.3

(166) ve %100 (8) oranlarında olduğu belirtilmektedir. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarında rafinoz pozitiflik oranının ancak %1.8 (166) olduğu, insanlardan izole edilen GBS suşlarında bu özelliğin %1.1 (166) oranında kaldığı bildirilmektedir. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarının inulin testinde de negatif (153) veya ancak %3.9 (166)'unun pozitif olabileceği, insanlardan izole edilen GBS suşlarının ise %1 (166) oranında pozitif bulunabileceği rapor edilmektedir.

Bu araştırmada, sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun %82.9'u laktoz'u, %92.1'i salisin'i, %85.5'i trehaloz'u, %96.1'i rafinoz'u ve %26.3'ü inulin'i; insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun ise %81.9'unun laktoz'u, %88.9'unun salisin'i, %84.7'sinin trehaloz'u, %94.4'ünün rafinoz'u ve %29.2'sinin de inulin'i fermente ettiği tespit edildi. Çalışmada elde edilen bulgular ile diğer araştırmacıların bulguları karşılaştırıldığında, sığırlardan izole edilen GBS suşlarında laktoz fermentasyon oranının Mosabi ve ark. (18)'nin bulgularından yüksek, diğerlerinin (8,15,36,152,153,161,166,) bulgularından düşük olduğu; salisin ve trehaloz fermentasyon oranının Hahn (166)'ın bulgularından düşük, diğerlerinininkinden (8,15,36,153) yüksek; rafinoz ve inulin fermentasyon oranlarının da diğer araştırmacıların (153,166) bulgularından yüksek olduğu gözlemlendi. İnsanlardan izole edilen GBS suşlarında ise, laktoz fermentasyon oranının bildirilen araştırmacıların (8,15,18,36,59,152,166,) bulgularından yüksek; salisin fermentasyon oranının Mosabi ve ark. (18) ve Yıldırım (8)'in bulguları ile benzer, diğerlerinininkinden (15,36,59,152,166) düşük; trehaloz fermentasyon oranının diğer araştırmacıların (8,36,166) bulgularından düşük; rafinoz ve inulin fermentasyon oranının Hahn (166)'ın bulgularından yüksek olduğu belirlendi.

Literatürlerde bildirilen bulgular dikkate alındığında, sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşları arasında laktoz pozitiflik yönünden farklılık göze çarpmakta ve bunun epidemiyolojik anlamda önemli olabileceği araştırmacılar tarafından da ifade edilmektedir. Ancak bu araştırmada laktoz fermentasyon testi yönünden sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşları arasındaki fark önemsiz bulundu. Bunun yanında diğer karbonhidrat testlerinde elde edilen bulguların da literatür verilerinin aksine düşük veya yüksek olduğu, fakat literatürdeki verilere uygun olarak sığır ve insanlardan izole edilen suşlar arasında ayrımın yapılamayacağını gösterdi.

Basitrasin duyarlılık testinin, A Grubu streptokokların diğer streptokoklardan ayırt edilmesinde yaygın olarak kullanıldığı bildirilmektedir (1,2,3,7,13,62,64,155). Ancak yapılan çalışmalarda (15,18,153,161,183) GBS suşlarının da değişik oranlarda basitrasine duyarlı oldukları belirlenmiştir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada (171), çeşitli hayvanlardan izole edilen streptokokların %96.6'sının basitrasine duyarlı olduğu, bu suşların %89'unun sığırlardan izole edildiği, bu suşların da %43.2'sinin GBS olarak tanımlanmış olduğu; insanlardan izole edilen streptokokların ise %98.2'sinin basitrasine duyarlı olduğu, izole edilen suşların %18.7'sinin de GBS olarak tanımlanmış olduğu rapor edilmektedir. Diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda, sığırlardan izole edilen GBS suşları %2.3 (161), %7.5 (27), %73 (184) ve %91.8 (15) oranlarında basitrasine duyarlı bulunurken, insanlardan izole edilen GBS suşlarının ise %5.5 (15), %6 (182), %10.6 (184) ve %30 (36) oranlarında basitrasine duyarlı bulunduğu bildirilmektedir.

Bu çalışmada ise sığırlardan izole edilen suşların %93.4'ü, insanlardan izole edilen suşların ise %58.3'ü basitrasine duyarlı bulundu. Araştırmada tespit edilen bulguların her ne kadar diğer araştırmacıların (15,27,36,161,171,182,184) bulgularından yüksek olduğu gözlenirse de diğer araştırma bulgularına paralel olarak bu çalışmada basitrasine duyarlılık testi yönünden sığırlardan izole edilen GBS suşlarının, insanlardan izole edilen GBS suşlarına göre basitrasine daha duyarlı ve suşlar arasındaki farkın önemli ($P<0.05$) olduğu görüldü.

Sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarında pigment oluşumu yönünden farklılıkların bulunduğu ve GBS suşlarında pigment oluşumunun patojenik karakter ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (6,21).

Yapılan araştırmalarda sığırlardan izole edilen GBS suşlarında pigment oluşumunun %9.8 (15), %37 (185), %40 (8), %54.8 (184), %56 (161), %57.1 (183), %58.7 (18) ve %68.3 (153) oranlarında, insanlardan izole edilen GBS suşlarında ise pigment oluşumunun %66 (183), %92 (185), %92.9 (184), %93.9 (15), %95 (180) ve %100 (8,18) gibi daha yüksek oranlarda görüldüğü bildirilmektedir.

Bu araştırmada, sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %71.1'inde ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının ise %68.1'inde pigment oluşumu tespit edildi. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarında bu özellik, diğer araştırmacıların (8,15,18,153,161,183,184,185) bulgularına göre daha yüksek bulunurken; insanlardan izole edilen GBS suşlarında ise Brglez (183)'in bulgularından yüksek, diğer araştırmacıların (8,15,18,180,184,185) bulgularından düşük olduğu tespit edildi. Ancak pigment oluşumu yönünden sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşları arasındaki fark önemsiz bulundu. Bu da pigment oluşumunun sığır veya insanlardan izole edilen GBS suşlarına özgü olmadığını göstermektedir.

GBS suşlarının, patojenik karakterlerinde önemli rol oynayan *N*-asetil β -D glikozaminidaz, β -D galaktozidaz ve β -D glukuronidaz gibi bazı enzimler 4-metilumbelliferil ile konjuge substratlarla tespit edilebilmekte, bu enzimler sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarında farklı oranlarda bulunabilmekte ve GBS suşlarının çabuk identifikasyonunda kullanılabileceği bildirilmektedir (156,157,170).

Slifkin ve Gil (156), insanlarda klinik olgulardan izole edilen tüm GBS suşlarında β -D glukuronidaz enzim aktivitesi tespit edildiğini, ancak *N*-asetil β -D glikozaminidaz ve β -D galaktozidaz enzim aktivitesi bulunmadığını bildirmektedirler. Lämmler ve ark. (157), insan orijinli GBS suşlarının %12.2'sinde, sığır orijinli GBS suşlarının ise %96.1'inde β -D galaktozidaz enzim aktivitesi belirlendiğini ve bu enzim aktivitesinin sığır ve insan orijinli GBS suşlarının ayırımında kullanılabilecek karakteristik bir özellik olabileceğini vurgulamaktadırlar. Araştırmada ayrıca tüm GBS suşlarının β -D glukuronidaz aktivitesi gösterdiğini ancak *N*-asetil β -D glikozaminidaz aktivitesi göstermediği bildirmektedirler. Schaufuss ve ark (186) da mastitisli inek sütlerinden izole edilen GBS suşlarının sadece β -D glukuronidaz aktivitesine sahip olduğunu, *N*-asetil β -D glikozaminidaz aktivitesinin bulunmadığını; Fang ve ark. (187), sığır sütlerinden izole edilen GBS suşlarının tamamının β -D glukuronidaz aktivitesine sahip olduğunu; Matthews ve ark. (170) ise sığır sütlerinden izole edilen GBS suşlarının tamamında β -D glukuronidaz ve β -D galaktozidaz enzim aktivitesi, %42.8'inde de *N*-asetil β -D glikozaminidaz aktivitesi bulunduğunu rapor etmektedirler.

Bu araştırmada, sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun %28.9'unda *N*-asetil β -D glikozaminidaz, %40.8'inde β -D galaktozidaz ve %46.1'inde

β -D glukuronidaz enzim aktivitesi belirlenirken; insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun ise %80.5'inin *N*-asetil β -D glikozaminidaz, %88.9'unun β -D galaktozidaz ve %88.9'unun β -D glukuronidaz enzimleri yönünden pozitif olduğu tespit edildi. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarında *N*-asetil β -D glikozaminidaz enzim aktivitesi ile ilgili olarak elde edilen bulguların, Matthews ve ark. (170)'nın bulgularından düşük, diğer araştırmacıların (157,186) bulgularından yüksek olduğu, β -D galaktozidaz ve β -D glukuronidaz enzim aktiviteleri yönünden ise diğer araştırmacıların (157,170,186,187) bulgularından düşük olduğu gözlemlendi. İnsanlardan izole edilen GBS suşlarında *N*-asetil β -D glikozaminidaz ve β -D galaktozidaz enzim aktivitesi ile ilgili olarak elde edilen bulguların ise diğer araştırmacıların (156,157) bulgularından yüksek; β -D glukuronidaz enzim aktivitesi ile ilgili olarak da Slifkin ve Gil (156) ile Lämmeler ve ark. (157)'nin bulgularından düşük olduğu gözlemlendi. Bu çalışmada da *N*-asetil β -D glikozaminidaz, β -D galaktozidaz ve β -D glukuronidaz enzim aktiviteleri yönünden sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulundu. Ancak her üç enzim aktivitesi özellikle insanlarda izole edilen GBS suşlarında tespit edilmesine rağmen bu enzimlerin sığırlardan izole edilen suşlarda da görülebileceği dikkate alınmalıdır.

Brown (188), GBS suşlarının DN'az aktivitesi göstermediğini ancak ortamda DNA ve RNA birlikte bulunması ile suşların %27.4'ünde nükleaz enzim aktivitesi görüldüğünü rapor etmektedir. Bu çalışmada da, sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun %10.5'i ve insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun ise %2.8'inde DN'az enzim aktivitesi tespit edildi. Ancak suşlar arasındaki farkın önemli olmadığı görüldü.

Yapılan araştırmalarda (12,48,189) tavşan eritrositlerini aglütine (hemaglütinasyon) eden GBS suşlarının in-vitro ortamlarda tavşan alveolar makrofajlar ile HeLa hücre kültürlerine yüksek oranda tutunabildikleri bildirilmektedir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada (12), sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %15.1'inde hemaglütinasyon aktivitesi bulunduğu bildirilmektedir. Diğer ülkelerde yapılan bir çalışmada ise (153), sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %49.4'ünde hemaglütinasyon aktivitesi görüldüğü rapor edilmektedir. Wibawan ve ark. (48), sığırlardan izole edilen 83 adet GBS suşunun %43.4'ünde, Yıldırım (8) ise sığırlardan

izole edilen GBS suşlarının %10'unda hemagglütinasyon aktivitesi bulunduğunu, ancak insanlardan izole edilen GBS suşlarında ise hemagglütinasyon özelliğinin görülmediğini bildirmektedirler. Kurl ve ark. (158) da, insanlardan izole edilen 130 adet GBS suşunun sadece 1 (%0.8)'inde hemagglütinasyon aktivitesi tespit ettiklerini belirtmektedirler. Ayrıca bazı araştırmalarda (12,48) tripsin ile muamele edilen GBS suşlarının hemagglütinasyon özelliklerinde artış gözlenmediği bildirilmektedir.

Bu çalışmada, sığırlardan izole edilen 76 adet GBS suşunun %13.1'inde ve insanlardan izole edilen 72 adet GBS suşunun %2.8'inde hemagglütinasyon aktivitesi tespit edildi. Ancak incelenen GBS kültürlerinin tripsinle muamele edilmesinden sonra sığır suşlarının %31.6'sında, insan suşlarının ise %27.8'inde hemagglütinasyon özelliği belirlendi. Bu çalışmada sığırlardan izole edilen GBS suşlarında tespit edilen hemagglütinasyon aktivitesinin Dakman (12) ve Yıldırım (8)'dan yüksek, diğerlerinden (48,153) düşük olduğu gözlemlendi. Ayrıca sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarında, diğer araştırmacıların (8,48) aksine kültürlerin tripsin ile muamelesinden sonra hemagglütinasyon aktivitesinde artış tespit edilebildiği görüldü.

İnsan, hayvan, bitki ve mikroorganizmalarda tespit edilen lektinler, hücre duvarı yapısında spesifik olarak tanımlanabilen karbonhidrat yapılar ile kombine olarak bulunabilmekte ve hücreye özgü olan karbonhidrat yapının karakterizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (141,142,143).

Streptokokların çabuk identifikasyonu amacıyla yapılan araştırmalarda (156,170,186) mastitisli inek sütlerinden izole edilen GBS suşları ile insanlarda boğaz kültürlerinden izole edilen GBS suşlarının *Dolichos biflorus* lektin ile aglutinasyon reaksiyonu vermediği bildirilmektedir. Gram pozitif bakterilerin çeşitli lektinlerle olan ilişkilerinin incelendiği diğer bir çalışmada (142) ise, GBS suşlarının %17.4'ünün *Canavalia ensiformis* ve %73.9'unun *Triticum vulgare* lektin ile aglutinasyon verdiği, *Arachis hypogea*, *Dolichos biflorus*, *Helix pomatia* lektinler ile aglutinasyon görülmediği rapor edilmektedir. Aynı çalışmada, sığır ve atlardan izole edilen serogrup C streptokokların *Dolichos biflorus* ve *Helix pomatia* lektinleri ile spesifik olarak reaksiyon verdikleri, bu aktivitenin de grup spesifik polisakkarit antijen ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Swenson ve ark. (190), balıklardan izole edilen serogrup L streptokokların tümünün *Arachis hypogea* lektin ile aglutine olduklarını, bu

özelliğın serogrup L streptokokların çabuk identifikasyonunda kullanılabileceğini bildirmektedirler.

Bu araştırmada sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının, incelenen tüm lektinlerle değişen oranlarda aglütinasyon reaksiyonu verdiği gözlemlendi. Ancak sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %30.4'ünün ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının %9.4'ünün, daha önce yapılan araştırmaların (156,170,186) aksine *Dolichos biflorus* lektin ile aglütinasyon reaksiyonu verdiği görüldü. Buna karşın daha önce yapılan bir araştırmada (142) bildirildiği gibi GBS suşlarında görülen *Triticum vulgare* ve *Canavalia ensiformis* lektinleri ile aglütinasyon reaksiyonu, bu araştırmada da sığırlardan izole edilen GBS suşlarının sırasıyla %27.5 ve %11.6'sında ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının ise sırasıyla %10.1 ve %37.5'inde tespit edildi. Çalışmada *Arachis hypogea*, *Canavalia ensiformis* ve *Dolichos biflorus* lektin aglütinasyonları yönünden sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının arasındaki fark önemli ($P<0.05$) bulundu. Ayrıca bu araştırmada incelenen bazı GBS suşları *Helix pomatia* lektin ile de aglütinasyon reaksiyonu verdi. Elde edilen bu bulgular, her ne kadar sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının bazı lektinlerle verdikleri aglütinasyon reaksiyonları ile ayrılabileceğini gösterse de bu özelliğın GBS suşlarına özgü olmadığını ve grup spesifik antijenleri ile ilişkisi olduğunu belirten araştırmaların (142,190) aksine lektin aglütinasyon testinin streptokokların çabuk identifikasyonunda güvenilir bir şekilde kullanılamayacağını göstermektedir. Fakat özellikle grup C streptokokların çabuk identifikasyonunda kullanılması önerilen *Dolichos biflorus* lektin ile aglütinasyon reaksiyonunun bu araştırmada incelenen GBS suşlarında da görülmesi, her iki streptokok serogrubuna ait grup spesifik C-polisakkarit antijenleri arasında bir ilişkinin olabileceğini düşündürmektedir.

Sunulan bu araştırmadan elde edilen bulgular; sığır sütlerinde özellikle GBS serotip VII, III ve Ic, kadınların vaginal florasında ise GBS serotip Ic, IV, VIII, V ve R suşlarının yaygın olarak bulunduğunu; *Streptococcus agalactiae*'nin identifikasyonunda kullanılan CAMP, eskulin ve sodyum hippurat testleri ile diğerk bazı biyokimyasal testlerin, sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının identifikasyonu ve epidemiyolojik ayırımında kullanışlı olmadığını gösterdi. Bunun yanında, hemaglütinasyon özelliğının hem sığır hem de insanlardan izole edilen GBS suşlarında

görülebileceği; GBS suşlarının identifikasyonunda ilave bir test olarak lektinlerle aglütinasyon testlerinden yararlanılamayacağı, ancak sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının ayırımında *Dolichos biflorus*, *Canavalia ensiformis* ve *Arachis hypogea* lektinleri ile aglütinasyon testlerinden yararlanılabileceği gözlemlendi.

Sonuç olarak, Van ve yöresinde sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarında görülebilen başlıca serotipler, ülkemizde ilk defa yapılan bu araştırma ile ortaya kondu ve GBS suşlarında tespit edilebilen hemaglütinasyon ve lektinlerle aglütinasyon özelliklerine yönelik elde edilen bulgularla birlikte konu ile ilgili yapılacak epidemiyolojik araştırmalara katkı sağlayacağı kanısına varıldı.

ÖZET

Ekin İ.H. Sığır Ve İnsanlardan İzole Edilen Grup B Streptokokların (*Streptococcus agalactiae*) Serotiplendirilmesi Ve Çeşitli Biyokimyasal Özellikleri İle Karşılaştırılması, Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Van, Türkiye, 2004. Bu çalışmada, Van ve yöresinde sığır ve insanlardan izole edilen Grup B Streptokok (GBS) suşları serotiplendirildi ve lektinlerle aglütinasyon, hemaglütinasyon özellikleri, bazı enzim aktiviteleri ile biyokimyasal özellikleri karşılaştırıldı. Bu amaçla Van ve yöresinde çeşitli işletmelerdeki sığır sütlerinden izole edilen 76 adet ve Van Doğumevi polikliniğine gelen hastalardan izole edilen 72 adet olmak üzere toplam 148 adet Grup B Streptokok (GBS) suşu incelendi. 11 adet referans *Streptococcus agalactiae* serotip antijenleri ile immunize edilen tavşanlardan elde edilen antiserumlar kullanılarak yapılan koaglütinasyon testi ile sığırlardan izole edilen GBS suşlarının 34 (%44.7)'ü ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının 49 (%68)'u serotiplendirildi. Sığırlardan izole edilen GBS'larda yaygın olarak VII (%11.8), III (%10.5), Ic (%6.5), VIII (%3.9), V (%2.6), II (%1.3), IV (%1.3) ve X (%1.3) serotipleri görülürken suşların %5.2'sinin kombine serotip olduğu tespit edildi. İnsanlardan izole edilen suşlarda ise yaygın olarak Ic (%33.3), IV (%8.3), VIII (%6.9), V (%5.5) ve R (%5.5) serotipleri görülürken %8.2'sinin kombine serotip olduğu tespit edildi. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarının 25 (%32.9)'i ve insanlardan izole edilen GBS suşlarının 20 (%27.7)'si tavşan eritrositleri ile hemaglütinasyon testinde pozitif bulundu. Sığırlardan izole edilen GBS suşları özellikle *Dolichos biflorus* (%29) ve *Triticum vulgare* (%27.5) ile aglütine olurken, insanlardan izole edilen GBS suşlarının da *Canavalia ensiformis* (%37.5) ve *Helix pomatia* (%20.3) lektinleri ile aglütinasyon reaksiyonu verdiği tespit edildi. Sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %26.3'ü CAMP ve %73.7'si sodyum hippurat pozitif bulunurken %64.5'i eskulin negatif bulundu. İnsanlardan izole edilen GBS suşlarının ise %45.8'inin CAMP ve %76.4'ü sodyum hippurat pozitif bulunurken %83.3'ünün eskulin negatif olduğu belirlendi. Bu araştırmada, sığırlardan izole edilen GBS suşlarının %28.9'unda *N*-asetil β -D glikozaminidaz, %40.8'inde β -D galaktozidaz ve %46.1'inde β -D glukuronidaz enzim aktivitesi belirlenirken; insanlardan izole edilen GBS suşlarının ise %80.5'inin *N*-asetil β -D glikozaminidaz, %88.9'unun β -D galaktozidaz ve %88.9'unun β -D glukuronidaz enzimleri yönünden pozitif olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, Van ve yöresinde sığır ve insanlardan izole edilen GBS suşlarında görülebilen başlıca serotipler, ülkemizde ilk defa yapılan bu araştırma ile ortaya kondu ve GBS suşlarında tespit edilebilen hemaglütinasyon ve lektinlerle aglütinasyon özelliklerine yönelik elde edilen bulgularla birlikte konu ile ilgili yapılacak epidemiyolojik araştırmalara katkı sağlayacağı kanısına varıldı.

Anahtar sözcükler : Grup B Streptokok, Serotip, Sığır, İnsan, Biyokimyasal özellikler, Hemaglütinasyon, Lektin Aglütinasyon

SUMMARY

Ekin, İ.H. Serotyping of group B Streptococci (*Streptococcus agalactiae*) isolated from bovine and human in comparison with some biochemical properties. University of Yüzüncü Yıl, Institute of Health Sciences, PhD Thesis, Van, Turkey, 2004. In this study, the Group B Streptococci (GBS) isolated from bovine and human in and around Van-Turkey were serotyped in comparison with the lectin agglutination and haemagglutination properties as well as some enzyme and biochemical properties. For this purpose, a total of 148 GBS of which 76 were isolated from bovine milk and 72 from patients in polyclinic for maternity, were examined. In co-agglutination test with serotype-specific rabbit antisera against type antigens of 11 different reference *Streptococcus agalactiae* strains, 34 (44.7%) of bovine isolates and 49 (68%) of human isolates were serotyped. In bovine isolates, serotype VII (11.8%), III (10.5%), Ic (6.5%), VIII (3.9%), V (2.6%), II (1.3%), IV (1.3%) and X (1.3%) were mostly seen whereas 5.2% of the strains to be serotyped reacted with two or more typ specific antisera. The human isolates could mostly be serotyped with antisera to serotype Ic (33.3%), IV (8.3%), VIII (6.9%), V (5.5%) and R (5.5%) whereas 8.2% of the strains to be serotyped reacted with two or more serotype specific antisera. In haemagglutination test with rabbit erythrocytes, 25 (32.9%) of bovine isolates and 20 (27.7%) of human isolates were found to be positive. The GBS strains isolated from bovine showed significantly positive agglutination reaction with *Dolichos biflorus* (29%) and *Triticum vulgare* (27.5%) lectins whereas the GBS strains isolated from human were found to be positive for *Canavalia ensiformis* (37.5%) and *Helix pomatia* (20.3%) lectins. Out of the bovine isolates, 20 (26.3%) and 56 (73.7%) were positive in CAMP and Na-hippurate tests respectively and 49 (64.5%) were negative in esculin test. Out of the human isolates, 33 (45.8%), 55 (76.4%) were positive in CAMP and Na-hippurate tests respectively and 60 (83.3%) were found to be negative in esculin test. In respect to the enzyme activity of GBS, 28.9%, 40.8% and 46.1% of the bovine isolates were found to be positive for N-Acetyl β -D Glucosaminidase, β -D Galactosidase and β -D Glucuronidase respectively whereas 80.5%, 88.9% and 88.9% of the human isolates showed N-Acetyl β -D Glucosaminidase, β -D Galactosidase and β -D Glucuronidase enzyme activity respectively. The present study demonstrated firstly the most common serotypes of GBS isolated from bovine and human in and around Van/Turkey. It could also be concluded that the results of the presented study in respect to haemagglutination and agglutination with lectins as well as serotyping of the GBS will contribute to the epidemiological studies on this subject.

Key words : Group B Streptococci, Serotype, Bovine, Human, Biochemical properties, Haemagglutination, Lectin agglutination

KAYNAKLAR

1. Bilgehan H (1992). Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. 227-228. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir.
2. Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME and Holt JG (1986). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.2, Baltimore, U.S.A.
3. Blobel H und Schiesser T (1980). Handbuch der Bakteriellen Infektionen bei Tieren, Band II, New York. U.S.A.
4. Schuchat A and Wenger JD (1994). Epidemiology of group B streptococcal disease, *Epidemiol Rev*, 16, 2, 374-402.
5. Izharul-haq K (2002). Identification and further characterization of *Streptococcus uberis* and *Streptococcus parauberis* isolated from bovine milk samples. Veterinary Science at Faculty of Veterinary Medicine Justus-Liebig-University, Giessen Germany (Doktora tezi).
6. Keefe GP (1997). *Streptococcus agalactiae* mastitis: A review, *Can Vet J*, 38, 7, 429-437.
7. Carter GR (1984). Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. 4th Ed, Springfield Illinois. U.S.A.
8. Yıldırım AÖ (2002). Phäno-und Genotypisierung von Streptokokken der serologischen Gruppe B (*Streptococcus agalactiae*), isoliert von verschiedenen Tierarten. Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen (Doktora tezi).
9. Jelinkova J (1977). Group B streptococci in the human population, *Curr Top Microbiol Immunol*, 76, 127-165.
10. Wilson GS and Miles AA (1961). Streptococcus and leuconostoc, chapter 24, 649-689 in: "Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity", 4th Ed, Edward Arnold Ltd. London, U.K.
11. Hahn G, Heeschen W und Tolle A (1970). Streptococcus; Eine Studie zur Struktur, Biochemie, Kultur und Klassifizierung, *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 22, 333-546.
12. Dakman A (2000). Mastitise neden olan B grubu streptokokların teşhisinde konvansiyonel testler ile hemaglutinasyon testinin karşılaştırılması, *Ankara Üniv Sağ Bil Ens* (Doktora Tezi).
13. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Sommers HM and Winn WC (1988). Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology, 3rd Ed, Lippincott Comp. Philadelphia. U.S.A.
14. Devriese LA (1991). Streptococcal ecovars associated with different animal species: Epidemiological significance of serogroups and biotypes, *J Appl Bacteriol*, 71, 478-483.
15. Finch LA and Martin DR (1984). Human and bovine group B streptococci: Two distinct populations. *J Appl Bacteriol*, 57, 273-278.

16. Gyles CL and Thoen CO (1986). Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 1st Ed, 3-13. Iowa State University, U.S.A.
17. Kunter E (1988). Zur bakteriologischen Diagnostik des *Streptococcus agalactiae* in Milchproben: CAMP-Test, hydrolyse von Äskulin, Hämolysearten, *Arch Exper Vet Med*, 42, 71-82.
18. Mosabi JM, Arimi SM and Kangethe EK (1997). Isolation and characterization of group B streptococci from human and bovine sources within and around Nairobi, *Epidemiol Infect*, 118, 215-220.
19. Ekin İH (1998). İneklerde subklinik mastitis olgularından izole edilen streptokokların serogruplandırılması ve çeşitli biyokimyasal özellikleri üzerine araştırmalar, *YYÜ Sağ Bil Ens* (Yüksek Lisans Tezi).
20. Wagner B, Kubin V, Wagner M and Gunther E (1982). Immunoelectron microscopic analysis of polysaccharide and protein surface antigens in wild strains of group B streptococci, *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A*, 253, 3, 331-343.
21. Spellerberg B (2000). Pathogenesis of neonatal *Streptococcus agalactiae* infections (Review), *Microbes Infect*, 2, 1733-1742.
22. Akay Ö, İzgür M, Esenal Ö ve Çetin C (1993). İnek sütlerinden izole edilen streptokok suşlarının serogruplandırılması, *Tr J Vet Anim Sci*, 17, 89-95.
23. Hogan JS, Smith KL, Todhunter DA and Schoenberger PS (1988). Sensitivity and specificity of latex agglutination tests used to identify *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus* isolated from bulk tank milk, *Am J Vet Res*, 49, 9, 1537-1539.
24. Saxegaard F (1977). Comparative grouping of mastitis streptococci by means of co-agglutination and precipitation, *Acta Vet Scand*, 18, 509-514.
25. Kitchen BJ, Kwee WS, Middleton G and Andrews RJ (1984). Relationship between the level of *N*-acetyl β -D-glucosaminidase (NAGase) in bovine milk and presence of mastitis pathogens, *J Dairy Res*, 51, 11-16.
26. Ulusoy E, İzgür M, Akay Ö, Diker KS, Aydın N ve Arda M (1985). Mastitisli inek sütlerinden izole edilen mikroorganizmaların identifikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine bir araştırma, *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 32, 2, 358-370.
27. Stoner RA (1978). Bacitracin and coagglutination for grouping of beta hemolytic streptococci, *J Clin Microbiol*, 7, 5, 463-466.
28. Schuctat A (1998). Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: Shifting paradigms, *Clin Microbiol Rev*, 11, 3, 497-503.
29. Turow J and Spitzer AR (2000). Group B streptococcal infection early onset disease controversies in prevention guidelines and management strategies for the neonate, *Clin Pediatr*, 39, 6, 317-326.
30. Fraile MR, Granger JR, Lopez MC, Sampedro A, Gaye EB, Haro JM and Andreu A (1999). Use of Granada medium to detect group B streptococcal colonization in pregnant women, *J Clin Microbiol*, 37, 8, 2674-2677.

31. Paoletti LJ, Bradford J and Paoletti LC (1999). A serotype VIII strain among colonizing group B streptococcal isolates in Boston, Massachusetts, *J Clin Microbiol*, 37, 11, 3759-3760.
32. Regan JA, Klebanoff MA and Nugent RP (1991). The epidemiology of group B streptococcal colonization in pregnancy, *Obstet Gynecol*, 77, 4, 604-610.
33. Hickman ME, Rench MA, Ferrieri P and Baker CJ (1999). Changing epidemiology of group B streptococcal colonization, *Pediatrics*, 104, 2, 203-209.
34. Lin FY, Clemens JD, Azimi PH, Regan JA, Weisman LE, Philips JB, Rhoads GG, Clark P, Brenner RA and Ferrieri P (1998). Capsular polysaccharide types of group B streptococcal isolates from neonates with early-onset systemic infection, *J Infect Dis*, 177, 3, 790-792.
35. Lachenauer CS, Kasper DL, Shimada J, Ichiman Y, Ohtsuka H, Kaku M, Paoletti LC, Ferrieri P and Madoff LC (1999). Serotypes VI and VIII predominate among group B streptococci isolated from pregnant Japanese women, *J Infect Dis*, 179, 4, 1030-1033.
36. Van den Heever LW and Erasmus M (1980). Group B streptococcus-comparison of *Streptococcus agalactiae* isolated from humans and cows in the Republic of South Africa, *J S Afr Vet Assoc*, 51, 2, 93-100.
37. Brglez I (1981). A contribution to the research of infection of cows and humans with *Streptococcus agalactiae*, *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [B]*, 172,4-5, 434-439.
38. Jensen NE (1980). Distribution of serotypes of group B streptococci in herds and cows within area of Denmark, *Acta Vet Scand*, 21, 354-366.
39. Wanger AR and Dunny GM (1985). Development of a system for genetic and molecular analysis of streptococcus agalactiae, *Res Vet Sci*, 38,2, 202-208.
40. Molinari G and Chhatwal GS (1999). Streptococcal invasion, *Curr Opin Microbiol*, 2, 56-61.
41. Tamura GS and Nittayajarn A (2000). Group B streptococci and other Gram-positive cocci bind to cytoreactin 8, *Infect Immun*, 68, 4, 2129-2134.
42. Nealon TJ and Mattingly SJ (1984). Role of cellular lipoteichoic acids in mediating adherence of serotype III strains of group B streptococci to human embryonic, fetal, and adult epithelial cells, *Infect Immun*, 43, 2, 523-530.
43. Tamura GS, Kuypers JM, Smith S, Raff H and Rubens CE (1994). Adherence of group B streptococci to cultured epithelial cells: roles of environmental factors and bacterial surface components, *Infect Immun*, 62, 6, 2450-2458.
44. Miyazaki S, Leon O and Panos C (1988). Adherence of *Streptococcus agalactiae* to synchronously growing human cell monolayers without lipoteichoic acid involvement, *Infect Immun*, 56, 2, 505-512.
45. Tamura GS and Rubens CE (1995). Group B streptococci adhere to a variant of fibronectin attached to a solid phase, *Mol Microbiol*, 15, 3, 581-589.

46. Rainard P. (1993). Binding of bovine fibronectin to mastitis-causing *Streptococcus agalactiae* induces adherence to solid substrate but not phagocytosis by polymorphonuclear cells, *Microb Pathog*, 14, 239-248.
47. Wibawan IWT, Lämmler C and Pasaribu FH (1992). Role of hydrophobic surface proteins in mediating adherence of group B streptococci to epithelial cells, *J Gen Microbiol*, 138, 1237-1242.
48. Wibawan IWT, Lämmler C, Seleim RS and Pasaribu FH (1993). A haemagglutinating adhesin of group B streptococci isolated from cases of bovine mastitis mediates adherence to HeLa cells, *J Gen Microbiol*, 139, 2173-2178.
49. Spellerberg B, Rozdzinski E, Martin S, Weber-Heynemann J, Schnitzler N, Luttkicken R and Podbielski A (1999). Lmb, a protein with similarities to the Lral adhesin family, mediates attachment of *Streptococcus agalactiae* to human laminin, *Infect Immun*, 67, 2, 871-878.
50. Hynes WL and Walton SL (2000). Hyaluronidases of Gram-positive bacteria (Minireview), *FEMS Microbiol Lett*, 183, 201-207.
51. Winram SB, Tamura GS and Rubens CE (1998). Invitro systems for investigating group B streptococcal: Host cell and extracellular matrix interactions, *Methods Cell Sci*, 20, 191-201.
52. Edwards MS, Wessels MR and Baker CJ (1993). Capsular polysaccharide regulates neutrophil complement receptor interactions with type III group B streptococci, *Infect Immun*, 61, 7, 2866-2871.
53. Jürgens D, Sterzik B and Fehrenbach FJ (1987). Unspecific binding of group B streptococcal cocytolysin (CAMP factor) to immunoglobulins and its possible role in pathogenicity, *J Exp Med*, 165, 3, 720-32.
54. Gravekamp C, Horensky DS, Michel JL and Madoff LC (1996). Variation in repeat number within the alpha C protein of group B streptococci alters antigenicity and protective epitopes, *Infect Immun*, 64, 9, 3576-3583.
55. Cornacchione P, Scaringi L, Fettucciari K, Rosati E, Sabatini R, Orefici G, Von Hunolstein C, Modesti A, Modica A, Minelli F and Marconi P (1998). Group B streptococci persist inside macrophages, *Immunology*, 93, 1, 86-95.
56. Janzen JJ (1970). Economic losses resulting from mastitis: A review, *J. Dairy Sci.*, 53, 9, 1151-1161.
57. Kornblatt AN, Adams RL, Barthold SW, Cameron GA. (1983). Canine neonatal deaths associated with group B streptococcal septicemia, *JAVMA*, 183, 6, 700-701.
58. Dow SW, Jones RL, Thomas TN, Linn KA, Hamilton HB. (1987). Group B streptococcal infection in two cats, *JAVMA*, 190, 1, 71-72.
59. Yildirim AÖ, Lämmler C, Weiß R and Kopp P (2002). Pheno - and genotypic properties of streptococci of serological group B of canine and feline origin, *FEMS Microbiol Lett*, 212, 187-192.

60. Lämmle C, Abdulmawjood A, Weiss R. (1998). Properties of serological group B streptococci of dog, cat and monkey origin, *Zentralbl Veterinarmed B*, 45, 9, 561-566.
61. Wibawan IW, Lämmle C, Smola J (1993). Properties and type antigen patterns of group B streptococcal isolates from pigs and nutrias, *J Clin Microbiol*, 31, 3, 762-764.
62. Boyd RF and Hoerl BG (1991). Basic Medical Microbiology, 4th Ed, 408-409. Little, Brown and Company, London, U.K.
63. Schuchat A (1999). Group B streptococcus (Seminar), *Lancet*, 353, 51-56.
64. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Schreckenberger PC and Winn WC (1997). The Gram positive cocci part II: Streptococci, enterococci and streptococcus like bacteria, chapter 12 in "Color Atlas And Text Book of Diagnostic Microbiology" 5th Ed. 577-629, *Lippincott Comp*, Philadelphia, New York, U.S.A.
65. Quentin R, Huet H, Wang FS, Geslin P, Goudeau A and Selander R (1995). Characterization of *Streptococcus agalactiae* strains by multilocus enzyme genotype and serotype: Identification of multiple virulent clone families that cause invasive neonatal diseases, *J Clin Microbiol*, 33, 10, 2576-2581.
66. Ko WC, Lee HC, Wang LR, Lee CT, Liu AJ and Wu JJ (2001). Serotyping and antimicrobial susceptibility of group B streptococcus over an eight-year period in southern Taiwan, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 20, 334-339.
67. Salasia SIO, Wibawan IWT, Lämmle C and Sellin M (1994). Phase variation in streptococci of serological group B: Characteristic properties of isolates from human and bovine infection, *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand (APMIS)*, 102, 12, 925-930.
68. Kogan G, Uhrin D, Brisson JR, Paoletti LC, Blodgett AE, Kasper DL and Jennings HJ (1996). Structural and immunochemical characterization of the type VIII group B streptococcus capsular polysaccharide, *J Biol Chem*, 271, 15, 8786-8790.
69. Marques MB, Kasper DL, Pangburn MK and Wessels MR (1992). Prevention of C3 deposition by capsular polysaccharide is a virulence mechanism of type III group B streptococci, *Infect Immun*, 60, 10, 3986-3993.
70. Holm SE, Bergholm AM, Wagner B and Wagner M (1985). A sialic-acid-specific lectin from *Cepaea hortensis* that promotes phagocytosis of a group-B, type-Ia, streptococcal strain, *J Med Microbiol*, 19, 3, 317-323.
71. Shigeoka AO, Rote NS, Santos JI and Hill HR (1983). Assessment of the virulence factors of group B streptococci: correlation with sialic acid content, *J Infect Dis*, 147, 5, 857-863.
72. Wessels MR, Haft RF, Heggen LM and Rubens CE (1992). Identification of a genetic locus essential for capsule sialylation in type III group B streptococci, *Infect Immun*, 60, 2, 392-400.

73. Kuypers JM, Heggen LM and Rubens CE (1989). Molecular analysis of a region of the group B streptococcus chromosome involved in type III capsule expression, *Infect Immun*, 57, 10, 3058-3065.
74. Dunne DW, Resnick D, Greenberg J, Krieger M and Joiner KA (1994). The type I macrophage scavenger receptor binds to Gram-positive bacteria and recognizes lipoteichoic acid, *Proc Natl Acad Sci*, 91, 1863-1867.
75. Poyart C, Pellegrini E, Marceau M, Baptista M, Jaubert F, Lamy MC and Cuot PT (2003). Attenuated virulence of *Streptococcus agalactiae* deficient in D-alanyl-lipoteichoic acid is due to an increased susceptibility to defensins and phagocytic cells, *Mol Microbiol*, 49, 6, 1615-1625.
76. Maurer JJ and Mattingly SJ (1991). Molecular analysis of lipoteichoic acid from *Streptococcus agalactiae*, *J Bact*, 173, 2, 487-494.
77. Nizet V, Gibson RL, Chi EY, Framson PE, Hulse M and Rubens CE (1996). Group B streptococcal beta-hemolysin expression is associated with injury of lung epithelial cells, *Infect Immun*, 64, 9, 3818-3826.
78. Takaisi-Kikuni NB, Jurgens D, Wecke J and Fehrenbach FJ (1997). Immunochemical localization of CAMP factor (protein B) in *Streptococcus agalactiae*, *Microbios*, 89, 360-361, 171-185.
79. Jürgens D, Shalaby FYYI and Fehrenbach FJ (1985). Purification and characterization of CAMP-factor from *Streptococcus agalactiae* by hydrophobic interaction chromatography and chromatofocusing, *J Chromatogr*, 348, 363-370.
80. Brown JG, Farnsworth R, Wannamaker LW and Johnson DW (1974). CAMP factor of group B streptococci: Production, assay and neutralization by sera from immunized rabbits and experimentally infected cows, *Infect Immun*, 9, 2, 377-383.
81. Fehrenbach FJ, Jürgens D, Rühlmann J, Sterzik B and Özel M (1988). Role of CAMP-factor (protein B) for virulence, *Zentralbl Bakt Mikrobiol Hyg Suppl*, 17, 351-357.
82. Lämmle C, Gürtürk K and Blobel H. (1987). CAMP-like reactions of group G streptococci from dogs, *Med. Sci. Res.*, 15, 217-218.
83. Lin B, Hollingshead SK, Coligan JE, Egan ML, Baker JR and Pritchard DG (1994). Cloning and expression of the gene for group B streptococcal hyaluronate lyase, *J Biol Chem*, 269, 48, 30113-30116.
84. Milligan TW, Baker CJ, Straus DC and Mattingly SJ (1978). Association of elevated levels of extracellular neuraminidase with clinical isolates of type III group B streptococci, *Infect Immun*, 21, 3, 738-746.
85. Ferrieri P, Gray ED and Wannamaker LW (1980). Biochemical and immunological characterization of the extracellular nucleases of group B streptococci, *J Exp Med*, 151, 56-68.
86. Wannamaker LW and Yasmineh W (1967). Streptococcal nucleases. I. further studies on the A, B, and C enzymes, *J Exp Med*, 126, 3, 475-496.
87. Taylor FB and Tomar RH (1970). Streptokinase, 19, 807-821. in: "Methods in Enzymology" Perlman GE and Lorand L. Academic Press, U.S.A.

88. Hayano S and Tanaka A (1969). Sialidase-like enzymes produced by group A, B, C, G and L streptococci and by *Streptococcus sanguis*, *J Bact*, 97, 3, 1328-1333.
89. Pattison IH and Matthews PRJ (1955). Type classification by Lancefield's precipitin method of human and bovine group B streptococci isolated in Britain, *J Path Bact*, LXIX, 43-50.
90. Wibawan IWT and Lämmle C (1990). Properties of group B streptococci with protein surface antigens X and R, *J Clin Microbiol*, 28, 12, 2834-2836.
91. Wilkinson HW (1972). Comparison of streptococcal R antigens, *Appl Microbiol*, 24, 4, 669-670.
92. Stalhammar-Carlemalm M, Stenberg L and Lindahl G (1993). Protein rib: A novel group B streptococcal cell surface protein that confers protective immunity and is expressed by most strains causing invasive infections, *J Exp Med*, 177, 6, 1593-1603.
93. Wästfelt M, Carlemalm MS, Delisse AM, Cabezon T and Lindahl G (1996). Identification of a family of streptococcal surface proteins with extremely repetitive structure, *J Biol Chem*, 271, 31, 18892-18897.
94. Berner R, Bender A, Rensing C, Forster J and Brandis M (1999). Low prevalence of the immunoglobulin-A-binding β antigen of the C protein among *Streptococcus agalactiae* isolates causing neonatal sepsis, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 18, 545-550.
95. Bevanger L and Iversen OJ (1981). The Ibc protein fraction of group B streptococci: Characterization of protein antigens extracted by HCl, *Acta Path Microbiol Immunol Scand B*, 89, 205-209.
96. Bevanger L and Iversen OJ (1983). The Ibc proteins of group B streptococci: Trypsin extracted α antigen and detection of the α and β antigens, *Acta Path Microbiol Immunol Scand B*, 91, 75-81.
97. Bevanger L (1985). The Ibc proteins of group B streptococci: Isolation of the α and β antigens by immunosorbent chromatography and test for human serum antibodies against the two antigens, *Acta Path Microbiol Immunol Scand B*, 93, 113-119.
98. Johnson DR and Ferrieri P (1984). Group B streptococcal Ibc protein antigen: Distribution of two determinants in wild-type strains of common serotypes, *J Clin Microbiol*, 19, 4, 506-510.
99. Lachenauer CS and Madoff LC (1996). A protective surface protein from type V group B streptococci shares N-terminal sequence homology with the alpha C protein, *Infect Immun*, 64, 10, 4255-4260.
100. Lindén V, Christensen KK and Christensen P. (1983). Correlation between low levels of maternal IgG antibodies to R protein and neonatal septicemia with group B streptococci carrying R protein, *Int Archs Allergy Appl Immun*, 71, 168-172.
101. Bevanger L and Naess AI (1985). Mouse protective antibodies against Ibc proteins of group B streptococci, *Acta Path Microbiol Immunol Scand B*, 93, 121-124.

102. Pattison IH, Matthews PRJ and Howell DG (1955). The type classification of group B streptococci with special reference to bovine strains apparently lacking in type polysaccharide, *J Path Bact*, LXIX, 51-61.
103. Lindén V. (1983). Mouse-protective effect of rabbit anti-R protein antibodies against group B streptococci type II carrying R-protein, *Acta Path Microbiol Immunol Scand B*, 91, 145-151.
104. Flores AE and Ferrieri P (1985). The type-specific polysaccharide and the R protein antigens of the L-phase from a group B, type III streptococcus, *Zbl Bakt Hyg A*, 259, 165-178.
105. Gürtürk K (1989). Untersuchungen an streptokokken der serologischen gruppe G von hund, rind und mensch unter besonderer breücksichtigung mutmaßlicher pathogenitaetsfaktoren, Fachbereich Veterinärmedizin der Justus – Liebig Universität, Gießen (Doktora tezi).
106. Lindén V, Christensen KK and Christensen P. (1983). The occurence of R-protein among isolates of group B streptococci from human sources, *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B*, 91, 153-156.
107. Lämmle CH, Gürtürk K, and Blobel H (1987). Streptococcal group B type antigen X in group L streptococci, *J Clin Microbiol*, 25, 1803-1804.
108. Lautrou Y, Rainard P, Poutrel B, Zygmunt MS, Vénien A and Dufrenoy J (1991). Purification of the protein X of *Streptococcus agalactiae* with monoclonal antibody, *FEMS Microbiol Lett*, 80, 141-146.
109. Rainard P, Lautrou Y, Sarradin P and Poutrel B (1991). Protein X of *Streptococcus agalactiae* induces opsonic antibodies in cows, *J Clin Microbiol*, 29, 9, 1842-1846.
110. Lenette EH, Balows A, Hausler WJ and Shadomy HJ (1985). Manual of Clinical Microbiology, 4th Ed. 154-175. *Am Soc Microbiol*, Washington D.C. U.S.A.
111. Heidelberger M, Davie JM and Krause RM (1967). Cross-reactions of the group-specific polysaccharides of streptococcal groups B and G in anti-pneumococcal sera with especial reference to type XXIII and its determinants, *J Immun*, 99, 4, 794-796.
112. Curtis SN and Krause RM (1964). Antigenic relationships between groups B and G streptococci, *J Exp Med*, 120, 629-637.
113. Ederer GM, Herrmann MM, Bruce R, Matsen JM and Chapman SS (1972). Rapid extraction method with pronase B for grouping beta-hemolytic streptococci, *J Appl Microbiol*, 23, 2, 285-288.
114. Benson JA, Flores AE, Baker CJ, Hillier SL and Ferrieri P (2002). Improved methods for typing nontypable isolates of group B streptococci, *Int J Med Microbiol*, 292,1, 37-42.
115. Finch RG (1979). Serotyping of group-B streptococci by a slide co-agglutination method, 258-259. In: "Pathogenic Streptococci" Parker MT Reedbooks Ltd. Chertsey, Surrey, U.K.

116. Kirkegaard MK and Field CR (1977). Rapid slide coagglutination test for identifying and typing group B streptococci, *J Clin Microbiol*, 6, 3, 266-270.
117. Jennings HJ, Rosell KG and Kasper DL (1980). Structure and serology of the native polysaccharide antigen of type Ia group B streptococcus, *Proc Natl Acad Sci, U.S.A.*, 77, 5, 2931-2935.
118. Wilkinson HW (1975). Immunochemistry of purified polysaccharide type antigens of group B streptococcal types Ia, Ib, and Ic, *Infect Immun*, 11, 4, 845-852.
119. Tai JY, Gotschlich EC and Lancefield RC (1979). Isolation of type-specific polysaccharide antigen from group B type Ib streptococci, *J Exp Med*, 149, 1, 58-66.
120. Schifferle RE, Jennings HJ, Wessels MR, Katzenellenbogen E, Roy R and Kasper DL (1985). Immunochemical analysis of the types Ia and Ib group B streptococcal polysaccharides, *J Immunol*, 135, 6, 4164-4170.
121. Nagano Y, Nagano N, Takahashi S, Suzuki A and Okuwaki Y (1989). Screening of type Ia and Ib *Streptococcus agalactiae* strains with high sialic acid levels by determination of susceptibility to tetracyclines, *J Clin Microbiol*, 27,12, 2767-2771.
122. Pritchard DG, Egan ML, Gray BM and Dillon HC Jr (1988). Immunochemical characterization of the polysaccharide antigens of group B streptococci, *Rev Infect Dis*, 2, 367-371.
123. Elliott JA, Facklam RR and Richter CB (1990). Whole-cell protein patterns of nonhemolytic group B, type Ib, streptococci isolated from humans, mice, cattle, frogs and fish, *J Clin Microbiol*, 28, 628-630.
124. Jennings HJ, Rosell KG, Katzenellenbogen E and Kasper DL (1983). Structural determination of the capsular polysaccharide antigen of type II group B streptococcus, *J Biol Chem*, 258, 3, 1793-1798.
125. Lancefield RC, McCarty M and Everly WN (1975). Multiple mouse-protective antibodies directed against group B streptococci. Special reference to antibodies effective against protein antigens, *J Exp Med*, 142, 1, 165-179.
126. Wessels MR, Pozsgay V, Kasper DL and Jennings HJ (1987). Structure and immunochemistry of an oligosaccharide repeating unit of the capsular polysaccharide of type III group B streptococci, *J Biol Chem*, 262, 8262-8267.
127. Baker CJ, Kasper DL and Davis CE (1976). Immunochemical characterization of the "native" type III polysaccharide of group B streptococcus, *J Exp Med*, 143, 2, 258-270.
128. Egan ML, Pritchard DG, Dillon HC and Gray BM (1983). Protection of mice from experimental infection with type III group B streptococcus using monoclonal antibodies, *J Exp Med*, 158: 1006-1011.
129. Jelinkova J and Motlova J (1985). Worldwide distribution of two new serotypes of group B streptococci: Type IV and provisional type V, *J Clin Microbiol*, 21, 3, 361-362.

130. Wessels MR, Benedi VJ, Jennings HJ, Michon F, Di Fabio JL and Kasper DL (1989). Isolation and characterization of type IV group B streptococcus capsular polysaccharide, *Infect Immun*, 57, 1089-1094.
131. Wessels MR, Di Fabio JL, Benedi VJ, Kasper DL, Michon F, Brisson JR, Jelinkova J and Jennings HJ (1991). Structural determination and immunochemical characterization of type V group B streptococcus polysaccharide, *J Biol Chem*, 266, 6714-6719.
132. Areschoug T, Carlemalm MS, Larsson C and Lindahl G (1999). Group B streptococcal surface proteins as targets for protective antibodies: Identification of two novel proteins in strain of serotype V, *Infect Immun*, 67, 12, 6350-6357.
133. Wilkinson HW (1977). Nontypable group B streptococci isolated from human sources, *J Clin Microbiol*, 6, 2, 183-184.
134. Hunolstein CV, D'ascenzi S, Wagner B, Jelinkova J, Alfarone G, Recchia S, Wagner M and Orefici G (1993). Immunochemistry of capsular type polysaccharide and virulence properties of type VI *Streptococcus agalactiae* (group B streptococci), *Infect Immun*, 61, 4, 1272-1280.
135. Perch B, Kjems E and Henrichsen J (1979). New serotypes of group B streptococci isolated from human sources, *J Clin Microbiol*, 10, 109-110.
136. Kogan G, Brisson JR, Kasper DL, Von Hunolstein C, Orefici G and Jennings HJ (1995). Structural elucidation of the novel type VII group B streptococcus capsular polysaccharide by high resolution NMR spectroscopy, *Carbohydr Res*, 277, 1, 1-9.
137. Von Hunolstein C, Parisi L, Tissi L, Recchia S, Alfarone G, Nicolini L, Volpe C, Wagner B, Motlova J and Orefici G (1999). Virulence properties of type VII *Streptococcus agalactiae* (group B streptococci) and immunochemical analysis of capsular type polysaccharide, *J Med Microbiol*, 48, 11, 983-990.
138. Sugiyama M, Nishiyama Y, Yokoo Y, Inazumi Y and Murai T (1990). Antigenicity of group B streptococcus strain "M9" and its prevalence in Japan, *Kansenshogaku Zasshi*, 64, 3, 321-327.
139. Kogan G, Uhrin D, Brisson JR, Paoletti LC, Blodgett AE, Kasper DL and Jennings HJ (1996). Structural and immunochemical characterization of the type VIII group B streptococcus capsular polysaccharide, *J Biol Chem*, 271, 15, 8786-8790.
140. Wagner M, Murai T, Wagner B, Gunther E and Jelinkova J (1994). JM9 strains, a new type of group B streptococci from Japan, *Zentralbl Bakteriol*, 280, 4, 488-496.
141. Ottensooser F, Nakamizo Y, Sato M, Miyamoto Y and Takizawa K (1974). Lectin detecting group C streptococci, *Infect Immun*, 9, 5, 971-973.
142. Niewerth B (1987). Wechselwirkungen zwischen Gram-positiven Bakterien, Lektinen und Körperzellen, Fachbereich Veterinärmedizin der Justus Liebig Universität, Gießen (Doktora tezi).

143. Berg JM, Tymoczko JL and Stryer L (2002). Lectin are specific carbohydrate binding proteins In: "Biochemistry", W.H. Freeman and Company, New York U.S.A. (<http://www.ncbi.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=stryer.section.1549>).
144. Munoz A, Lopez A and Llovo J (1994). Lectin typing of beta-haemolytic streptococci of groups A and B, *J Med Microbiol*, 41, 5, 324-328.
145. Slifkin M and Cumbie R (1987). Identification of Group B streptococcal antigen with lectin bound polystyrene particles, *J Clin Microbiol*, 25, 7, 1172-1175.
146. Motlova J, Wagner M and Jelinkova J (1986). A search for new group B streptococcal serotypes, *J Med Microbiol*, 22, 101-105.
147. Kellens JT, Jacobs JA, Peumans WJ and Stobberingh EE (1993). The agglutination of beta-haemolytic streptococci by lectins, *J Med Microbiol*, 39, 6, 440-445.
148. Heras, A.L., Domínguez, L. and Garayzábal, J.F.F. (1999). Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in dairy ewes of the Madrid region, *Small Rumin Res*, 32, 21-29.
149. Dunne WM Jr and Staley CAH (1998). Comparison of NNA agar culture and selective broth culture for detection of group B streptococcal colonization in women, *J Clin Microbiol*, 36, 8, 2298-2300.
150. Bourbeau PP, Heiter BJ and Figdore M (1997). Use of gen-probe accu-probe group B streptococcus test to detect group B streptococci in broth cultures of vaginal-anorectal specimens from pregnant women: Comparison with traditional culture method, *J Clin Microbiol*, 35, 1, 144-147.
151. Ainsworth AJ and Capley G (1986). Monoclonal antibodies produced to *Streptococcus agalactiae*, *Am J Vet Res*, 47, 6, 1211-1213.
152. Pasaribu FH (1985). Vergleichende Untersuchungen an Streptokokken der serologischen Gruppe B von Rind und Mensch, Fachbereich Veterinärmedizin der Justus Liebig Universität, Gießen (Doktora tezi).
153. Kristin F (2002). Phäno- und genotypische Charakterisierung von *Streptococcus agalactiae* (Lancefield-Serogruppe B), isoliert von subklinischen Rindermastitiden, Fachbereich Veterinärmedizin der Justus Liebig Universität, Gießen (Doktora tezi).
154. Hwang MN and Ederer GM (1975). Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of Group B Streptococci, *J Clin Microbiol*, 1, 1, 114-115.
155. Baron EJ and Finegold SM (1990). Streptococci and related genera, chapter 25 336-352. in: "Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology", 8th Ed, The C.V. Mosby Company. St. Luis, U.S.A.
156. Slifkin M and Gil GM (1983). Rapid biochemical tests for identification of group A, B, C, F and G streptococci from throat cultures, *J Clin Microbiol*, 18, 1, 29-32.
157. Lämmle C, Schaufuss P and Blobel H (1986). β -D-galactosidase activity in streptococci of serological group B, *Zbl Bakt Hyg A*, 261, 167-169.

158. Kurl DN, Haataja S and Finne J (1989). Hemagglutination activities of group B, C, D and G streptococci : Demonstration of novel sugar-specific cell-binding activities in *Streptococcus suis*, *Infect Immun*, 57, 2, 384-389.
159. Minitab (1998). Minitab for windows demo version 12.2, Minitab inc., <http://www.minitab.com>.
160. Kutschke VC (1986). Zur serologischen Typendifferenzierung von Streptokokken der Gruppe B, *Monatsh Veterinarmed*, 41, 227-228.
161. Lämmle C, Wibawan IWT, Schött S und Kielwein G (1993). Serotypisierung und weitergehende Charakterisierung von Streptokokken der serologischen Gruppe B (*Streptococcus agalactiae*), isoliert von Rindermastitiden in Thüringen, *Monatsh Veterinarmed*, 48, 645-650.
162. Park CH, Ruprai D, Vandel NM, Hixon DL and Mecklenburg FE (1996). Rapid detection of group B streptococcal antigen from vaginal specimens using a new optical immunoassay technique, *Diagn Microbiol Infect Dis*, 24, 125-128.
163. Crisp BJ, Yancey MK, Uyehara C and Nauschuetz WF (1998). Effect of delayed inoculation of selective media in antenatal detection of group B streptococci, *Obstet Gynecol*, 92,6, 923-925.
164. Cropp CB, Zimmerman A, Jelinkova J, Auernheimer AH, Bolin RA. and Wyrick BC (1974). Serotyping of group B streptococci by slide agglutination fluorescence microscopy and microimmunodiffusion, *J Lab Clin Med*, 84, 4, 594-603.
165. Berg S, Trollfors B, Lagergard T, Zackrisson G and Claesson A (2000). Serotypes and clinical manifestations of group B streptococcal infections in Western Sweden, *Clin Microbiol Infect*, 6, 9-13.
166. Hahn G (1981). Ergebnisse aus der Streptokokken-Zentrale in Kiel von 1965 bis 1978- mastitis Streptokokken, *Zbl Bakt Hyg*, 249, 323-340.
167. Müller G (1967). Die typisierung der Streptokokken der Gruppe B, *Arch Exper Vet Med*, 22, 3, 521-534.
168. Rund J (1986). Zur bakteriologischen untersuchung von milchproben auf *Streptococcus agalactiae*, *Arch Exp Vet Med*, 40, 4, 587-590.
169. Schlerka G (1991). The use of the Auto-Microbic-System (AMS) for mastitis diagnosis in cattle, *Tierrarztl Prax*, 19, 1, 24-26.
170. Matthews KR, Oliver SP and King SH (1991). Evaluation of two fluorogenic assays for identification of streptococcus species isolated from bovine mammary glands, *J Dairy Sci*, 74, 2, 421-425.
171. Aydın N, Girgin H, Canbazoglu M ve Aksak E (1990). İnsan ve hayvan kökenli beta hemolitik streptokokların serolojik gruplandırılması, *Tr J Vet Anim Sci*, 14, 228-238.
172. Quinlan JD, Hill DA, Maxwell BD, Bone S, Hoover F and Lense JJ (2000). The necessity of both anorectal and vaginal cultures for group B streptococcus screening during pregnancy, *J Fam Pract*, 49, 5, 447-448.

173. Davies HD, Adair C, McGeer A, Ma D, Robertson S, Mucenski M, Kowalsky L, Tyrell G and Baker CJ (2001). Antibodies to capsular polysaccharides of group B streptococcus in pregnant Canadian women: Relationship to colonization status and infection, *J Inf Dis*, 184, 285-291.
174. Gil EG, Rodriguez MC, Bartolome R, Berjano B, Cabero L and Andreu A (1999). Evaluation of the Granada agar for detection of vaginal and rectal group B streptococci in pregnant women, *J Clin Microbiol*, 37, 8, 2648-2651.
175. Orrett FA (2003). Colonization with group B streptococci in pregnancy and outcome of infected neonates in Trinidad, *Pediatr Int*, 45, 319-323.
176. Lancefield RC (1938). Two serological types of group B haemolytic streptococci with related, but not identical, type specific substances, *J Exp Med*, 67, 25-39.
177. Lee K, Shin JW, Chong Y and Mikamo H (2000). Trends in serotypes and antimicrobial susceptibility of group B streptococci isolated in Korea, *J Infect Chemother*, 6, 93-97.
178. Chong Y, Lee K, Kwon OH, Nahm CH, Murai T and Inazumi Y (1993). Trend of isolation and serotypes of group B streptococci in Korea, *Yonsei Med J*, 34, 1, 78-83.
179. Nsagha DS, Bello CS and Kandakai-Olukemi YT (2000). Hippurate hydrolysis and Christie, Atkins, Munch-Peterson tests as epidemiological diagnostic tools for *Streptococcus agalactiae* carriage in pregnancy, *East Afr Med J*, 77, 1, 34-36.
180. Arora S, Jindal N, Walia G and Gulati VL (1994). Presumptive identification & antibiotic susceptibility of group B streptococci, *Ind J Pathol Microbiol*, 37, 2, 185-190.
181. Facklam RR, Padula JF, Wortham EC, Cooksey RC and Rountree HA (1979). Presumptive identification of group A,B and D streptococci on agar plate media, *J Clin Microbiol*, 9, 6, 665-672.
182. Facklam RR, Padula JF, Thacker LG, Wortham EC and Sconyers BJ (1974). Presumptive identification of group A, B, and D streptococci, *Appl Microbiol*, 27, 1, 107-113.
183. Brglez I (1983). Pigment production in human and bovine *Streptococcus agalactiae* strains, *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg B*, 177, 6, 533-8.
184. Wibawan IWT, Lautrou Y and Lämmle C (1991). Antibiotic resistance patterns and pigment production of streptococci of serological group B isolated from bovines and human, *J Vet Med B*, 38, 731-736.
185. Merritt K and Jacobs NJ (1978). Characterization and incidence of pigment production by human clinical group B streptococci, *J Clin Microbiol*, 8, 1, 105-107.
186. Schaufuss P, Lämmle C and Blobel H (1986). Rapid differentiation of streptococci isolated from cows with mastitis, *J Clin Microbiol* 24, 6, 1098-1099.
187. Fang W, Vikerpuur M and Sandholm M (1995). A fluorometric beta-glucuronidase assay for analysis of bacterial growth in milk, *Vet Microbiol*, 46, 4, 361-367.

188. Brown AL (1950). A survey of nuclease production by streptococci, *J Bacteriol*, 60, 5, 673-675.
189. Bopp V, Lämmle CH and Hermann G (1995). Adherence of haemagglutinating streptococci of serological group B to alveolar macrophages of rabbits, *J Vet Med B*, 42, 633-637.
190. Swenshon M, Lämmle C and Siebert U (1998). Identification and molecular characterization of beta-hemolytic streptococci isolated from harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) of the North and Baltic Seas, *J Clin Microbiol*, 36, 7, 1902-1906.

ÖZGEÇMİŞ

1971 Yılında Siirt'in Aydınlar ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Van'da tamamladı. 1989 yılında liseyi birincilikle bitirdi. 1990 yılında girdiği Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 1995 yılında mezun oldu. Aynı yıl askerlik görevini yerine getirerek, Eylül 1996'da Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı ve 1998 yılında mezun oldu. Şubat 1998'de Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Doktora öğrenimine başladı. Kasım 1997'de Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesinde Araştırma Görevliliğine atandı. Halen bu görevini sürdürmekte olup evli ve iki çocuk babasıdır.