

**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNEKLERDE SUBKLİNİK MASTİTİS OLGULARINDAN İZOLE EDİLEN
STREPTOKOKLARIN SEROGRUPLANDIRMASI VE BİYOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Veteriner Hekim İsmail Hakkı EKİN

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Danışman
Doç. Dr. Kemal GÜRTÜRK**

Van – 1998

**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İNEKLERDE SUBKLİNİK MASTİTİS OLGULARINDAN İZOLE EDİLEN
STREPTOKOKLARIN SEROGRUPLANDIRMASI VE BİYOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Arş. Gör. İsmail Hakkı EKİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

JÜRİ ÜYELERİ

Başkan

Doç. Dr. Banur BOYNUKARA

ÜYE

**Doç. Dr. Kemal GÜRTÜRK
(Danışman Öğretim Üyesi)**

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Mehmet ÇABALAR

**TEZ KABUL TARİHİ
(20.02.1998)**

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT	II
ÖNSÖZ	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ ve LİTERATÜR BİLGİLERİ	1
1.1. Streptokokların Patojenik Önemi	1
1.1.1. Hayvanlardaki Enfeksiyonlar	1
1.1.1.1. Mastitis	1
1.1.1.2. Diğer Enfeksiyonlar	4
1.1.2. İnsanlardaki Enfeksiyonlar	4
1.1.3. Streptokokların Genel Özellikleri	5
1.1.3.1. Sınıflandırma	5
1.1.3.2. Hücresel Özellikler	8
1.1.3.2.1. Hücre Duvarının yapısı	8
1.1.3.2.2. Hücre Duvarı Antijenleri	9
1.1.3.2.2.1. Protein Antijenleri	9
1.1.3.2.2.1.1. M- Protein	9
1.1.3.2.2.1.2. Diğer Protein Antijenleri	9
1.1.3.2.2.2. C- Polisakkarit Antijeni	10
1.1.3.2.1.3. Diğer Polisakkarit Antijenleri	15
1.1.3.3. Ekstrasellüler Substanslar	15
1.1.3.3.1. Streptolizin	15
1.1.3.3.2. Hyaluronidaz	16
1.1.3.3.3. Streptokinaz	16
1.1.3.3.4. Neuroaminidaz	16
1.1.3.3.5. Deoksiribonükleaz (DNase)	17
1.1.3.3.6. Nikotinamid Adenin Dinükleotid Glikohidrolaz (NADase)	17
1.1.3.3.7. CAMP (Christie, Atkins and Munch-Peterson) Reaksiyonu	17

2.	MATERYAL ve METOT	18
2.1.	Materyal	18
2.2.	Metot	18
2.2.1	İneklerde Subklinik Mastitis Teşhisi	18
2.2.2.	Numune Alınması	18
2.2.3.	İzolasyon ve İdentifikasyon	18
2.2.3.1.	Besi Yerleri	19
2.2.3.2.	Serogruplandırma	19
2.2.3.3.	Biyokimyasal Testler	19
2.2.3.3.1.	Hemoliz Testi	19
2.2.3.3.2.	Eskulin Hidrolizi	19
2.2.3.3.3.	Na Hippurat Hidrolizi	19
2.2.3.3.4.	Arginin Hidrolizi	20
2.2.3.3.5.	CAMP Reaksiyonu	20
2.2.3.3.6.	%6.5 NaCl'li Ortamda Üreme	21
2.2.3.3.7.	%0.1 Metilen Mavili Sütte Üreme	21
2.2.3.3.8.	45°C'de Üreme	21
2.2.3.3.9.	Karbonhidrat Fermentasyon Testleri	21
3.	BULGULAR	23
4.	TARTIŞMA ve SONUÇ	28
5.	ÖZET	31
6.	SUMMARY	33
	KAYNAKLAR	34
	ÖZGEÇMİŞ	40

ÖZ

Bu çalışmada, subklinik mastitisli inek sütlerinden izole edilen streptokokların serogruplandırılması ve çeşitli biyokimyasal özellikleri incelendi.

Bu amaçla, Van ili ve çevresinde 3'ü devlet ve 35'i özel sektöre ait olan toplam 38 farklı işletmeden alınan 4.400 süt örneği arasından California Mastitis Test (CMT) pozitif 200 süt örneği kullanıldı. Süt örneklerinden yapılan bakteriyolojik ekimler sonucunda 92 adet *Streptococcus spp.* izole ve identifiye edildi. PRO-LAB DIAGNOSTICS (U.K.) firmasından temin edilen ve PROLEX™ PL-050 STREPTOCOCCAL GROUPPING LATEX KIT olarak anılan lateks aglutinasyon kitleri kullanılmak suretiyle yapılan serolojik incelemede, 92 adet streptokok kültürünün 15 (%16.3)'i B, 17 (%18.47)'si C, 1 (%1.08)'i D, 2 (%2.17)'si F serogrubunda bulundu. Grup B streptokokların birinin, grup C grup spesifik antiserumları ile pozitif reaksiyon verdiği gözlemlendi. Grup A ve grup G antiserumları ile hiçbir pozitif reaksiyon alınmadı. İncelenen 92 adet Streptokok kültürünün 26 (%28.26)'sı β -, 37 (%40.21)'si α - ve 29 (%31.52)'unun γ - hemolitik (non hemolitik) olduğu tespit edildi. Bunların arasında serogruplandırılabilen Streptokokların 14 (%15.21)'ü β -, 6 (%6.52)'sı α - ve 15 (%16.30)'i γ - hemolitik bulunurken, serogruplandırılmayan Streptokokların 12 (%13.04)'si β -, 31 (%33.69)'i α - ve 14 (%15.21)'ünün γ - hemolitik olduğu tespit edildi.

Anahtar kelimeler : Serogruplandırma, subklinik mastitis, inek, *Streptococcus*.

ABSTRACT

In this study, serogrouping and biochemical characteristics of streptococci isolated from bovine milk samples performed with latex agglutination and biochemical reagents.

The 92 streptococcal strains used in this study were isolated from CMT positive milk samples with subclinic mastitis. Grouping streptococci were performed according to the latex agglutination method. The latex agglutination reagents for A, B, C, D, F and G groups were provided from PRO-LAB DIAGNOSTICS (U.K.) called PROLEX™ PL-050 STREPTOCOCCAL GROUPPING LATEX KIT. Other biochemical reagents prepared in our laboratory. Among 92 isolates, 35 could be serogrouped by Latex Agglutination Test. Of the 35 isolates 15 (16.3%) in group B, 17 (18.47%) in group C, 1 (1.08%) in group D and 2 (2.17%) in group F were classified respectively. One of the isolate, reacted with group B specific antiserum were also found positive with group C specific antiserum. Among the 92 isolates 26 (28.26%) to β -, 37 (40.21%) to α - and 29 (31.52%) to γ - hemolytic (non hemolytic) were found. Of the 35 isolates 14 (15.21%) to β -, 6 (6.52%) to α - and 15 (16.30%) to γ - hemolytic, of the 57 which could'nt serogrouped strains 12 (13.04%) to β -, 31 (33.69%) to α - and 14 (%15.21) to γ - hemolytic were found.

Key words : Serogrouping, Subclinic Mastitis, Cow, Streptococcus.

ÖNSÖZ

Türkiye, hayvan varlığı bakımından dünyada ilk sıralarda yer alan ülkeler arasında olmasına rağmen, hayvanlardan elde edilen verim ve hayvansal gıda maddelerinin tüketimi yönünden ise, tam tersine son sıralarda yer almaktadır.

Hayvansal protein ihtiyacının karşılanmasında önemli bir kaynak olan süt, yüksek değerli olup, kompozisyonuna giren maddelerin farklılığı ile organizmanın çok çeşitli besin ihtiyaçlarını büyük ölçüde karşılayabilme özelliğine sahiptir. Özellikle yeni doğan yavruların beslenmesinde temel teşkil etmesi yanında, son yıllarda gıda endüstrisinin en önemli hammaddesi konumuna gelmiştir. Kaliteli süt ürünleri özellikle yüksek değerli çığ süttten imal edildiği için, süttün hayvandan sağlıklı ve yüksek değerli olarak elde edilmesi gereklidir.

Van ve yöresinde kültür ırkı süt sığırcılığı, halkın elinde bulunan küçük işletmeler, yöredeki üç süt fabrikası ve küçük çaptaki mandıraların da işletmeye açılması ile gittikçe gelişmekte ancak, buna rağmen henüz ihtiyaçlara tam olarak cevap verememektedir. Bu gelişim ile birlikte gün geçtikçe çeşitli problemler de gündeme gelmektedir. Bu problemlerin başında, mastitis gelmektedir. Mastitis, yöremizde yerli ırk hayvanlara nazaran özellikle verimi yüksek olan kültür ırkı sığırlarda sıklıkla rastlanan bir hastalık halini almıştır.

Mastitis, süt sığırı yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olan bir meme enfeksiyonudur. Sütçü ineklerde dünyada yaygın olarak görülen hastalıkların başında gelmektedir. Subklinik mastitis ise mastitisin önemli bir formu olup, meme dokusunda henüz önemli bir değişiklik şekillenmeden özel yöntemler kullanılarak tanımlanabilen ve süt veriminin önemli ölçüde düşmesine sebep olan bir meme enfeksiyonudur.

Mastitise neden olan biyolojik etkenler çok çeşitli olmalarına rağmen, etiyolojik çalışmalarda hastalığın genellikle koklardan ileri geldiği tespit edilmiştir.

Streptokoklar, ineklerde akut veya kronik seyreden mastitislere neden olmaktadır. Streptokokal mastitis olgularından çoğunlukla *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus pyogenes* ve *Streptococcus bovis* izole edilmektedir.

Streptokokların tür düzeyindeki identifikasyonları biyokimyasal testlerle yapılmaktadır. Ancak bu yöntemler uzun, zaman alıcı ve her koşulda uygun sonuç

vermemeleri nedeniyle araştırıcılar, bir çok enfeksiyöz hastalıkta olduğu gibi Streptokokların teşhisinde de bazı biyokimyasal testlerin yanında serolojik (presipitasyon, Counter Immunelektroforezis, lateks aglutinasyon ve ko-aglutinasyon) testler geliştirmişlerdir.

Ülkemizde subklinik mastitis olgularından izole edilen Streptokok türlerinin identifikasyonu genellikle biyokimyasal yöntemlerle yapılmakta ve çok az çalışmada serogruplandırmadan yararlanılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, subklinik mastitis'e sebep olan Streptokoklar'ın, çeşitli biyokimyasal özellikleri yanında serogruplandırılması da yapılarak, epidemiyolojik açıdan subklinik mastitislerin etiyolojisi konusunda yeterli bilgi sağlanacaktır.

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışmada, yardımlarından dolayı Danışman Hocam sayın Doç.Dr. Kemal GÜRTÜRK'e, çalışmadaki desteklerinden dolayı Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Doç.Dr. Banur BOYNUKARA'ya, Yrd.Doç.Dr. Mehmet ÇABALAR'a, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olan arkadaşlarıma ve eşim Ziraat Mühendisi Zehra EKİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu araştırmayı maddi olarak destekleyen Y.Y.. Araştırma Fonu Başkanlığı'na teşekkürü bir borç bilirim.

İsmail Hakkı EKİN

Bu araştırma, Y.Y.. Araştırma Fonu Başkanlığı 97 VF 034 no'lu proje kapsamında gerçekleştirildi.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	: Alkalın Fosfataz
ASO	: Anti Streptolizin O
CAMP	: Christie Atkins and Munch-Peterson
CMT	: California Mastitis Test
dak.	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNase	: Deoksiribonükleaz
gr	: Gram
Ig	: İmmunoglobulin
IgA	: İmmunoglobulin A
IgG	: İmmunoglobulin G
LDH	: Laktat Dehidrojenaz
MAP	: M – Associated Protein
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
µm	: Mikrometre
n	: İncelenen Streptokok sayısı
n'	: Pozitif Streptokok sayısı
NADase	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Glikohidrolaz
NAGase	: N – Asetil Glikozaminidaz
SCC	: Somatik hücre sayımı
s.g.	: Serogruplandırılabilenler
s.g.y.	: Serogruplandırılmayanlar
SOF	: Serum Opasite Faktörü

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. İncelenen tüm Streptokokların Lateks aglutinasyon testinde A, B, C, D, F ve G grup spesifik antiserumlarla yapılan serogruplandırılmasında elde edilen sonuçlar	23
Tablo 2. İncelenen tüm Streptokok kültürlerinin hemolitik özelliklerinin dağılımı ..	24
Tablo 3. İncelenen 92 adet Streptokok kültürünün biyokimyasal özelliklerine ilişkin sonuçlar	25
Tablo 4. İncelenen 92 adet Streptokok kültürünün bazı ortamlarda üreme özelliklerine ilişkin sonuçlar	25
Tablo 5. İncelenen 92 adet Streptokok kültürünün serogrup ve hemoliz özellikleri ile eskulin hidrolizi ve CAMP testinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması.....	26
Tablo 6. Grup C Streptokokların özellikleri	27

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Streptokokların Gram pozitif koklar arasındaki klasifikasyonu	5
Çizelge 2. Streptokokların sınıflandırılması ve bazı ayırt edici reaksiyonları	7

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Streptokokların hücre duvarının yapısı	8
--	---

1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

1.1. Streptokokların Patojenik Önemi

1.1.1. Hayvanlardaki enfeksiyonlar

1.1.1.1. Mastitis

Meme dokusunun süt yapan bezleri (alveoller ve meme parankimi) ile sinus ve kanallarında meydana gelen enfeksiyona Mastitis adı verilir (1,2).

Mastitis, kompleks bir hastalık olduğundan, patogenesisi henüz tam olarak açıklanamamıştır. Enfeksiyonda özellikle iki unsur dikkati çeker. Bunlar, bakteri kaynağı ve memelerdeki üreme ortamıdır (3).

Normal inek sütü, içerdiği doğal inhibitörler vasıtası ile bazı bakterilerin üremeleri üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir. Bunlar; lizozim, peroksidaz, ksantin oksidaz aktivitesi, laktoferrin, komplement komponentleri, antikorlar ve fagositik hücrelerdir (4). Fagositik hücreler, mastitise sebep olan mikroorganizmalara karşı, meme içindeki savunma mekanizmasında önemli bir role sahiptir (5).

Enfeksiyonun şekillenmesi ile, öncelikle süt kompartımanları ile kan arasında permabilite artışı gerçekleşir. Kandan süte polimorf çekirdekli lökositler geçmeye başlar ve bunlar sütle bol miktarda atılır. Ardından, süt sekresyonunda azalma, vizkozite artışı, süt komponentlerinde anormallikler, meme bezlerinde ısı artışı gibi sistemik reaksiyonlar meydana gelir (2). Kandaki bazı komponentlerden hemoglobin, fibrinojen ve serum albuminleri, mastitisli süte geçer ve bu faktörler, aynı zamanda mastitisli sütte bakterilerin üremesini belli oranda arttırıcı etki gösterir (4,6).

Mastitiste, enfeksiyonun şiddetine göre beş klinik form görülmektedir. Perakut olgularda, meme dokusunda ağrı, şişkinlik, ısı artışı; akut olgularda, şiddetli yangı; subakut olgularda hafif yangı ve sütün kompozisyonunda uzun süre gözlenebilen anormallikler; kronik olgularda, uzun süreli yangı ve süt kompozisyonunda düşük düzeyli değişiklikler (2,7) ve subklinik olgularda ise sütte makroskopik bir değişme şekillenmeyip yangının tek belirtisi olarak somatik hücre sayısında artış görülmektedir (2,4,5,7,8,9). Süt inekleri üzerinde yapılan çalışmalarda, mastitis olgularının % 93-98'ini subklinik mastitislerin oluşturduğu tespit edilmiştir (10,11).

Mastitisin teşhisi, sütte meydana gelen değişikliklerin California Mastitis Test (CMT) (6), Wisconsin mastitis testi, N-Asetil Glukozaminidaz (NAGase) testi (9,12), Somatik Hücre Sayımı (SCC), Laktoz, Laktat Dehidrojenaz(LDH), Aspartat Transferaz,

Alkalın Fosfataz(ALP), Klor, Sodyum, Potasyum, Magnezyum, Protein, Üre, değerleri (4,7,9,12) gibi testlerle tespitinin yanında, en güvenli olarak etken izolasyonu ve identifikasyonu ile mümkün olmaktadır (13,14,15).

Kapur ve Singh (16), hücre sayısı artışını dolaylı olarak gösteren CMT yardımı ile, ineklerde %90.98, mandalarda ise, %97.20 oranında subklinik mastitisleri tanıyabildiklerini bildirmişlerdir.

Bakteriyolojik inceleme sonucu izole edilen Streptokok türlerinin identifikasyonunda, biyokimyasal yöntemlerin yanı sıra, serolojik (Lancefield serogruplandırma) yöntemlerden de yararlanılmaktadır (2,7,14,17,18,19,20).

Mastitis ile ilgili yapılan etiyolojik çalışmalarda, subklinik mastitis olgularının %13-34'ünden *Streptococcus* cinsine bağlı bakteriler izole edilmektedir. Bunlar arasında özellikle *Streptococcus agalactiae* (%10-15) önemli bir yer tutmakta (2,13,15,21), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus spp.*, serogrup G ve *Streptococcus equi*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus dysgalactiae* gibi serogrup C streptokoklar ile daha az oranda *Streptococcus viridans* ve *Streptococcus pneumoniae* gibi Streptokoklar da subklinik mastitis olgularından izole edilmektedir (22,23,24,25).

Bunların arasında önemli ekonomik kayıplara sebep olan *Streptococcus agalactiae*, ineklerin kuru dönemi gibi sağım yapılmayan dönemlerinde, sütte hızla çoğalarak klinik mastitise ve bunun sonucu olarak memenin körelmesine sebep olur (26,27). *Streptococcus uberis*, subklinik ve akut klinik mastitise sebep olur ancak kısa süre içinde iyileşme görülür. *Streptococcus dysgalactiae*'nin ise meme kanalına adhese olarak, akut ve şiddetli seyreden mastitisler ile uzun süreli subklinik mastitise yol açtığı tespit edilmiştir (28).

Akay ve ark. (15), inek sütlerinden izole ettikleri 295 Streptokok kültürünün, koaglutinasyon testi ile yaptıkları serogruplandırmasında, Streptokok kültürlerinin 34 (%11.52)'ünün serogrup A, 107 (%36.27)'sinin serogrup B, 61 (%20.67)'inin serogrup C, 42 191(%14.23)'sinin serogrup D ve 15 (%5.08)'inin de E serogrubunda olduğunu ve 36 (%12.20)'sının ise serogruplandırılamadığını bildirmişlerdir.

Malinowski ve ark. (26), 20 çiftlikte inceledikleri 2084 sığırın 945 tanesinin 1791 lobunda CMT ile yaptıkları inceleme sonucunda subklinik mastitis olarak tespit ettikleri örneklerden izole ettikleri bakterilerin %33.7'sinin *Streptococcus spp.*, diğerlerinin ise %66.3 oranında olduğunu gözlemişlerdir.

Saxegaard (28), mastitisli olgulardan izole ettiği 200 Streptokok kültürünün serogruplandırmasını ko-aglutinasyon ve presipitasyon yöntemleri ile karşılaştırmalı olarak yaptığında, ko-aglutinasyon yöntemi ile 191 suşun (%95.5) serogruplandırılabilindiğini, geri kalan 9 suşun (%4.5) serogruplandırılmadığını gözlemiştir. Presipitasyon yöntemi ile serogruplandırılmayan 9 suşun 6'sının grup B, 1'inin grup G ve 2'sinin grup L Streptokok olduğunu tespit etmiştir. Bu serogruplar içerisinde grup A ile grup C, grup B ile grup G ve grup B ile grup L (sadece bir kaç suş ile) arasında kros reaksiyonların bulunduğunu tespit etmiştir.

Özbilgin (30), mezbahada kesilen mastitisli sığırların meme dokularını incelediğinde, yüksek oranda lökosit infiltrasyonları bulunduğunu ve fibrosis şekillendiğini tespit etmiş ve bu tür patolojik bozuklukların Streptokokal mastitislerin bir özelliği olarak kabul edildiğini bildirmiştir. *Streptococcus spp.* izole ettiği memelerde körelme tespit edilen 5 olay dışında makroskobik olarak bariz bir lezyona rastlanmadığını, histopatolojik incelemelerde ise alveol lumenlerinde, değişen derecelerde nötrofil lökosit infiltrasyonları dışında kronik induratif mastitis tablosu ve süt kanalı epitellerinde ise belirgin hiperplaziler görüldüğünü bildirmiştir.

Sandholm ve Mattila (31), süt inekleri üzerinde yaptıkları araştırmada, CMT ile tespit ettikleri subklinik mastitisli hayvanlarda, meme epitelinin sentez kapasitesinin azaldığını tespit etmişlerdir. Eseri ($\pm$) reaksiyonlarda %3, (1+)'lık reaksiyonlarda %11 ve (2+)'lık reaksiyonlarda ise %26 oranında süt kaybının şekillendiğini ve alınan sütlerin de ekonomik kalitesinin düştüğünü gözlemişlerdir.

Mackie ve Logan (32), deneysel olarak oluşturdukları *Streptococcus agalactiae*'ya bağlı mastitis olgularında, *Streptococcus agalactiae* ile önceden aşılanan ve aşılınmayan ineklerde, enfeksiyon sonrasında sütün kompozisyonunda önemli değişikliklerin ortaya çıktığını tespit etmişlerdir. Radial immunodiffüzyon tekniği ile yaptıkları ölçümlerde, sütlerdeki immunoglobulin konsantrasyonunda meydana gelen değişiklikleri incelemişlerdir. Sağlıklı hayvanlarda normal Ig düzeyi 9 mg/ml^{-1} iken, enfekte olduktan 12 saat sonra, aşılınmış hayvanlarda Ig düzeyinin $25\text{-}32 \text{ mg/ml}^{-1}$ 'e, aşılınmayanlarda ise $30\text{-}34 \text{ mg/ml}^{-1}$ 'e çıktığını tespit etmişlerdir. İmmunoglobulin düzeyini IgA, IgM, IgG₁ ve IgG₂ yönünden incelediklerinde, değişikliğin daha çok IgG₁ ve IgG₂ düzeyinde gerçekleştiğini saptamışlardır. Enfeksiyon öncesi IgG₁ düzeyi aşılınmayan hayvanlarda $0.29 (\pm 0.08) \text{ mg/ml}^{-1}$ ve IgG₂ düzeyi ise $0.048 (\pm 0.004)$ iken, enfeksiyonun 4-12 saat sonrasında, IgG₁

düzeyinin 0.8 mg/ml⁻¹'e ve IgG₂ düzeyinin ise 1.8 mg/ml⁻¹'e yükseldiğini, enfeksiyon sonunda da bu düzeylerin normale indiğini tespit etmişlerdir.

1.1.1.2. Diğer enfeksiyonlar

Streptococcus pyogenes (Grup A), neonatal enfeksiyonlar, sinusitis, mastoiditis, artrit, osteomyelitis, meningitis, endocarditis, cellulitis, omfalitis ve akut glomerulonefritise, Grup C Streptokoklar, sığır, tavşan, at, domuz ve pet hayvanlarında septisemi, atlarda gurm, üst solunum yolları ve yara enfeksiyonları, koyunlarda pneumoni ve pericarditis, Grup D Streptokoklar, enteritis, üriner sistem enfeksiyonları, subakut endocarditis, apandisit, otitis ve beyinde apselere, Grup E Streptokoklar, ruminantlarda ve domuzlarda septisemi ile domuzlarda ayrıca menigoensefalitise (2,7,33,34), Grup G Streptokoklar, köpeklerde ürogenital sistem enfeksiyonlarına (2,7,35), ve *Streptococcus pneumoniae*, ise sığır, koyun ve keçilerde pneumoni ve septisemi gibi enfeksiyonlara sebep olmaktadır(2,7,33,34).

1.1.2. İnsanlardaki enfeksiyonlar

Streptococcus pyogenes (Grup A), erisipel (yılancık), puerperal sepsis, septisemi, akut bakteriyel endocarditis, pyoderm, lenfadenitis, akut romatizmal ateş, pharyngitis ve kızıl gibi enfeksiyonlara, *Streptococcus agalactiae* (Grup B), yeni doğan bebeklerde ve çocuklarda septisemi, pneumoni, meningitis, konjunktivitis ve otitis media gibi enfeksiyonlara, erişkinlerde ise meningitis, pneumoni, pyelonefritis ve kadınlarda ürogenital sistem enfeksiyonlarına sebep olur. Grup C Streptokoklar, solunum sistemi, deri enfeksiyonları, endocarditis, meningitis ve üriner sistem enfeksiyonlarına, Grup D Streptokoklar, enteritis, üriner sistem enfeksiyonları, subakut endocarditis, apandisit, otitis ve beyinde apselerin oluşumuna(36,37), Grup G Streptokoklar, alt solunum yolları, gastrointestinal sistem, dişi genital sistemi, deri enfeksiyonları, puerperal septisemi, akut endocarditis, neonatal septisemi, artrit, ve faringitise (2,35,37), *Streptococcus pneumoniae* ise pneumoni, meningitis, otitis media, konjunktivitis, pericarditis ve artrit gibi enfeksiyonlara sebep olmaktadır (36,37).

1.1.3. Streptokokların genel özellikleri

Streptokoklar, Gram pozitif koklar grubunda olup genellikle yuvarlak veya oval, çapları 2 µm'den küçük, sporsuz, hareketsiz (bazı enterokok suşları hareketlidir) ve katalaz negatif mikroorganizmalardır (34,38).

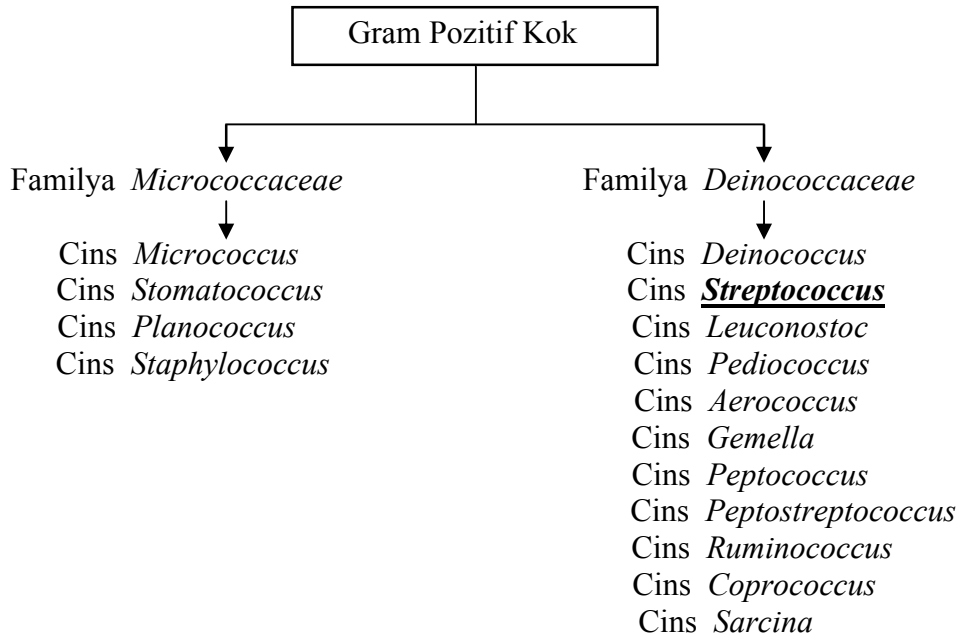
Optimum üreme sıcaklıkları 37°C, üreyebildikleri optimal pH ise 7.4'tür. Zenginleştirilmiş besi yerlerinde, özellikle kanlı agarda iyi ürerler. Adi besi yerlerinde üremeleri zayıftır. Sıvı besi yerlerinde ikili (diplokok) veya zincir (50 kok'tan oluşan zincirler de görülmüştür) oluşturarak üreme gösterirler (38,39).

Streptokokların büyük çoğunluğu, fakültatif anaerob mikroorganizmalardır. Sitokrom oksidaz enzimi içermediklerinden, canlılıklarını ve üremeleri için gerekli olan enerjiyi, karbonhidratları heksozdifosfat yoluyla fermente ederek sağlarlar. Karbonhidratların fermentasyonu sonucu laktik asit açığa çıkar (36,38).

Bütün Streptokoklar, kanlı agarda çapları ancak 1 mm'ye ulaşan küçük, bazıları mat, bazıları ise şeffaf ve parlak koloniler oluştururlar. Kolonilerin yüzeyleri düzgün ve görünüşleri tam bir daire şeklindedir. DNA'larındaki C + G oranı % 34 - 46 mol'dür (38,39).

1.1.3.1. Sınıflandırma

Gram pozitif koklar grubunda bulunan Streptokoklar, *Deinococcae* familyası, *Streptococcus* cinsinde yer almaktadırlar (38).



Çizelge 1 : Streptokokların Gram pozitif koklar arasındaki klasifikasyonu

Bugün geçerli olan klasifikasyona göre Streptokoklar, hemolitik özelliklerine, üreyebildikleri ısı derecelerine, bazı biyokimyasal özelliklerine ve antijen yapılarına göre, Pyojenik, viridans (oral), laktik, enterokok, anaerobik ve diğer grup Streptokoklar olmak üzere altı ana grupta incelenmektedir (38).

Pyojenik Streptokoklar, kanlı agarda genellikle β - hemoliz oluşturur ve polisakkarit yapıda hücre duvarına sahiptirler. Ancak bazı suşlar, α - hemolitik veya non hemolitik özellik gösterebilir. Optimal üreme sıcaklıkları 37°C olup çoğunlukla aerobik karakterdedirler. Bu grupta, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus equisimilis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus iniae* bulunur.

Viridans (Oral) Streptokoklar, kanlı agarda α -, β - ve γ - hemoliz yaparlar. Isıya daha dayanıklıdır. İnsanların ağız boşluğu, üst solunum yolu ve barsaklarında bulunan *Streptococcus salivarius* ve *Streptococcus mitis (mitior)*, bu grupta yer alır. Hayvanlardan izole edilen ve saprofit karakterde olan diğer oral Streptokoklar da, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus rattus*, *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus ferus*'dur.

Laktik Streptokoklar, patojen olmayan, sütteki laktozdan laktik asit yaparak onu pıhtılaştıran ve yüksek ısı derecesine dayanıklı streptokoklardır. Bu grupta, *Streptococcus lactis* ve *Streptococcus raffinolactis* yer alır.

Enterokoklar, insan ve hayvan barsaklarında normal florada yer alıp, sporadik enfeksiyonlara sebep olurlar. Bazı suşlar, motildir. Bu grupta, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus avium* ve *Streptococcus gallinarum* bulunmaktadır (38,40).

Anaerobik Streptokoklar, hayvanlarda önemli enfeksiyonlar oluşturmamaktadırlar. Bu grupta, *Streptococcus morbillorum*, *Streptococcus hansenii*, *Streptococcus pleomorphus* ve *Streptococcus parvulus* bulunmaktadır (38).

Diğer Streptokoklar grubunda *Streptococcus uberis* ve *Streptococcus bovis*, *Streptococcus acidominimus*, *Streptococcus equinus* ve *Streptococcus termophilus* bulunur (38).

Bu gruplarda sınıflandırılan türler ise, hemoliz, hidrolize ettikleri (eskulin, Na-hippurat ve arginin) maddeler ve değişik ortamlarda (pH 9.6'da, 10°C'de, 45°C'de, %6.5

NaCl'lü ve %40 safralı ortamda) üreme özelliklerine göre (Çizelge 2) birbirlerinden ayırt edilmektedir (38).

Çizelge 2. Streptokokların sınıflandırılması ve bazı ayırt edici reaksiyonları*

Türler	Ait olduğu grup	Serogrup	Hemoliz			Hidroliz			Üreme				
			α	β	γ	Hippurat	Eskulin	Arginin	pH 9.6	10°C	45°C	%6.5 NaCl	%40 Safralı
<i>S.pyogenes</i>	Pyojenik	A	-	+	-	-	d	+	-	-	-	-	-
<i>S.agalactiae</i>	Pyojenik	B	+	+	+	+	-	+	-	D	-	d	d
<i>S.equi</i>	Pyojenik	C	-	+	-	-	d	-	-	-	-	-	-
<i>S.equisimilis</i>	Pyojenik	C	-	+	-	-	d	+	-	-	-	-	-
<i>S.dysgalactiae</i>	Pyojenik	C	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>S.zooepidemicus</i>	Pyojenik	C	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>S.pneumoniae</i>	Pyojenik	?	+	-	-	-	d	+	-	-	-	-	-
<i>S.iniae</i>	Pyojenik	?	+	+	-	-	+	NT	-	+	-	-	-
<i>S.salivarius</i>	Oral	K	-	-	+	-	+	-	-	-	D	-	-
<i>S.sanguis</i>	Oral	H	+	-	-	-	d	+	-	-	D	-	-
<i>S.mitis (mitior)</i>	Oral	?	+	-	-	-	-	-	-	-	D	-	-
<i>S.milleri</i>	Oral	?	-	-	+	-	d	d	-	-	d	-	d
<i>S.mutans</i>	Oral	?	-	-	+	-	+	-	-	-	d	-	d
<i>S.rattus</i>	Oral	?	-	-	+	-	+	+	-	-	d	-	d
<i>S.cricetus</i>	Oral	?	-	-	+	-	d	-	-	-	d	d	d
<i>S.sobrinus</i>	Oral	?	-	-	+	-	d	-	-	-	d	d	d
<i>S.ferus</i>	Oral	?	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	NT
<i>S.faecalis</i>	Enterokok	D	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.faecium</i>	Enterokok	D	d	-	-	d	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.avium</i>	Enterokok	Q	d	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
<i>S.gallinarum</i>	Enterokok	D	+	-	-	d	+	d	-	+	-	-	+
<i>S.lactis</i>	Laktik	N	+	-	-	d	d	d	-	+	-	-	+
<i>S.raffinolactis</i>	Laktik	N	-	-	+	d	+	-	-	-	-	-	+
<i>S.morbillorum</i>	Anaerobik	?	d	-	-	-	-	-	NT	NT	NT	NT	-
<i>S.hansenii</i>	Anaerobik	?	-	-	+	-	d	-	NT	-	+	-	NT
<i>S.pleomorphus</i>	Anaerobik	?	-	-	+	-	NT	NT	NT	-	+	NT	NT
<i>S.parvulus</i>	Anaerobik	?	-	-	+	-	-	-	NT	-	+	-	-
<i>S.acidominimus</i>	Diğer	?	d	-	-	+	-	-	-	-	-	NT	NT
<i>S.uberis</i>	Diğer	?	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	d
<i>S.bovis</i>	Diğer	D	+	-	-	-	+	-	D	-	d	-	+
<i>S.equinus</i>	Diğer	D	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
<i>S.thermophilus</i>	Diğer	?	D	-	-	-	-	d	-	-	+	-	-

* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1986)'den alınmıştır.

+ : %90 Pozitif , - : %90 Negatif , d : %11-89 Pozitif , NT : Test edilmemiştir , ? : Serogruplandırılmamıştır.

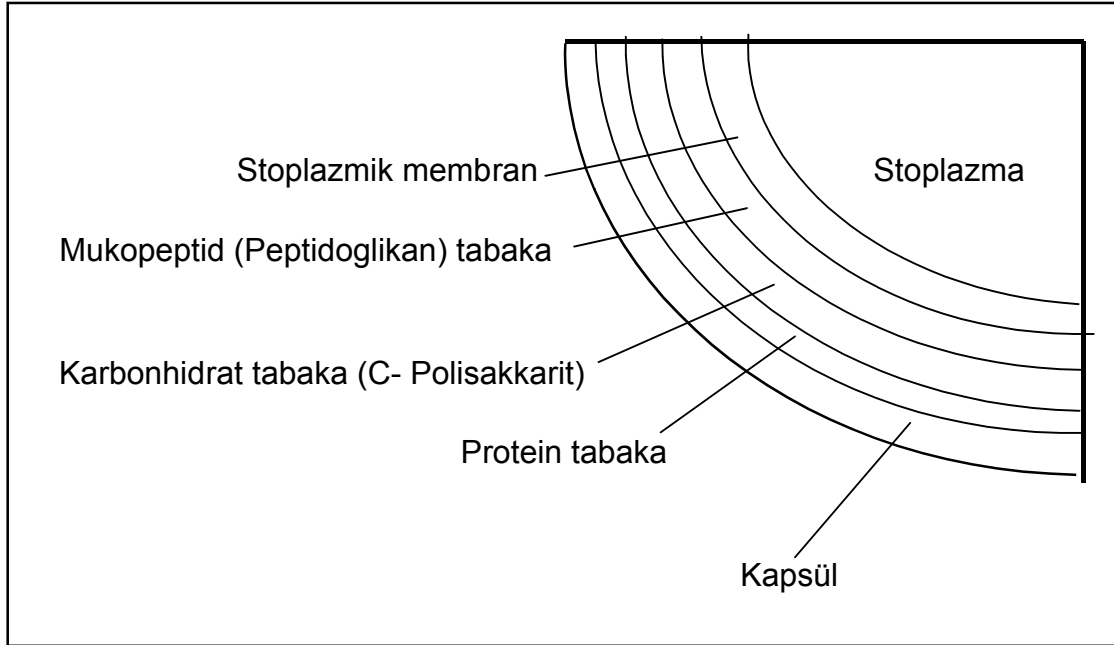
1.1.3.2. Hücresel özellikler

1.1.3.2.1. Hücre duvarının yapısı

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.

Hücre duvarı, dıştan içe doğru 3 tabakadan oluşmuştur :

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 (34,38).



Şekil 1. Streptokokların hücre duvarı yapısı

1.1.3.1.1. Hücre duvarı antijenleri

1.1.3.1.1.1. Protein antijenleri

1.1.3.1.1.1.1. M-protein

M-protein, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus uberis*, grup C ve grup G Streptokokların hücre duvarında, fimbria ile yakın ilişki içerisinde bulunan, protein yapıda ve tip spesifik bir antijendir (33,35,37). Bakteri virulensinin temel komponenti (41) olup, aynı zamanda antifagositik özelliği ile polimorfonükeer leukositlere karşı bakteriyi korur (35). M proteininin yapısında, kovalent bağlı polipeptidlerden oluşan alt üniteler bulunur. Bunların bir kısmı, amino asit zincirlerine sahiptir ve bu yapıda bazı oranlarda meydana gelen farklılıkların her biri, bir immunodominant grubu oluşturur (35,37,38). M1'den M75'e kadar, birbirinden farklı tiplerin bulunduğu ve her bir M-protein tipinin, farklı antijenik özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (37,42). Sıcağa karşı dirençli, tripsine ve diğer proteolitik enzimlere karşı duyarlıdır. Sentezlenebilmesi için, ortamda proteinazların bulunmaması ve yeterli miktarda proteinin bulunması gereklidir (38). Grup G Streptokokların bazı suşları, grup A Streptokokların protein yapıdaki M-6, M-12 , M-16 ve M-28 tipleri ile ortak özelliklere sahiptir (35,38).

1.1.3.1.1.1.2. Diğer protein antijenleri

M Associated Protein (MAP), grup A, B, C, E ve G Streptokoklarda bulunmaktadır (38,43). Bir hücre duvarı antijeni olup, diğer M- proteini ile yakın ilişki gösterdiğinden, bunların birbirlerinden ayrımları oldukça güçtür. Çoğu MAP proteinlerinin, gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarından sorumlu oldukları kabul edilmektedir (38).

T- antijeninin yapısı tam olarak açıklık kazanmamıştır. Grup A, B, C ve G Streptokoklarda bulunmaktadır (35,37). Protein yapıda olduğu kabul edilmektedir. Tripsine karşı dirençli olan bu tip antijenler, M- protein tipleri ile yakın ilişki içindedir. Grup G Streptokokların T2 ve T4 antijenleri ve grup C Streptokokların bazı suşları, grup A Streptokoklardaki T- protein antijenlerinden 2, 4, 8, 25 ve R 28 tip antijenleri ile ortak özelliklere sahiptir (35,37,38).

Fc -Reaktif Faktör, stafilokoklarda protein -A (tip I), grup A Streptokoklarda Fc Reaktif Faktör (tip II), grup C ve grup G (grup A Streptokokların Fc reseptöründen ve stafilokokların protein-A Fc reseptöründen farklı yapıda) Streptokoklarda protein -G (tip III), yine sığırlardan izole edilen grup G Streptokoklarda farklı yapıda olduğu tespit edilen

tip IV olarak bilinir (35,44). İnsanlardan izole edilen Streptokokların yüzey komponentlerinde bulunan ve protein -G olarak tanımlanan Fc reaktif faktörü (Grup C Streptokoklarda bulunan Fc reaktif faktör ile aynı özellik gösterir), nonspesifik olarak Ig G'lerin değişik sınıflarının Fc fragmenti ile bağlanabilme özelliğine sahip bir hücre duvarı proteindir. İnsan, fare, rat, tavşan, sığır, koyun, keçi ve atların Ig G'leri ile farklı reaksiyonlar verir (38,45).

Ic-, X- ve R- antijenleri, hücre duvarında lokalize olmuşlardır. Protein yapıda olup, tripsin ve pepsine karşı gösterdikleri farklı direnç ile birbirlerinden ayrılırlar. R- ve X- antijenleri, polisakkarit antijenlerinden II ve III ile çoğunlukla kombine halde bulunur. X antijeninin grup B, G ve L streptokoklarda bulunduğu tespit edilmiştir (35,46). R- antijeni, M- antijenine benzer fakat M-antijeni gibi koruyucu özelliği yoktur (38). R- antijeninin grup B, C ve G Streptokoklar ile grup A Streptokokların tip 2, 3, 28, 33, 43 ve 48'de bulunduğu tespit edilmiştir (47).

Serum Opasite Faktörü (SOF), tripsine duyarlı ve protein yapıda bir antijenik determinanttır. Grup A streptokoklarda bulunur (35). M-proteini ile ilişkisi olup spesifik M-tip antiserumları ile reaksiyon verir. Serumun bulanık hal almasına sebep olur (35,38).

1.1.3.1.1.2. C-polisakarit antijeni

Streptokokların günümüzde kullanılan serolojik klasifikasyonu, ilk olarak Lancefield tarafından yapılmıştır. Lancefield, Streptokokları hücre duvarlarındaki karbonhidrat tabakada bulunan C- Polisakkarit antijenine göre, A'dan V'ye kadar değişik harflerle adlandırılan ve diğer araştırmacılar tarafından geliştirilen serogruplara ayırmıştır. Veteriner hekimlikte klinik yönden önem arz eden Streptokoklar, grup A, B, C, D, E, F, G, L ve M Streptokoklar ile serogruplandırılamayan streptokoklardan *Streptococcus uberis* ve *Streptococcus pneumonia*'dır (34,36,38,40).

Serogruplandırmada, grup spesifik C- polisakkaritin ekstraksiyonu amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar; otoklav yöntemiyle, sıcak formamid ile, lizozim enzim ile, sıcak HCl ile ve nitrik asit ile yapılan ekstraksiyonlardır.

C- polisakkariti iki şekilde teşhis edilmektedir

1. Aglutinasyon yöntemi

a. Lateks aglutinasyon

b. Ko-aglutinasyon

2. Presipitasyon yöntemi

Lancefield'in yaptığı serogruplandırmada, serogruplara özgü grup spesifik C- polisakkarit antijenlerinin yapıları birbirlerinden farklı olmakla birlikte, bazı gruplar arasında kros reaksiyonların bulunduğu tespit edilmiştir (34,36,38). Buna göre;

Grup A Streptokoklarda, tek tür olan *Streptococcus pyogenes* bulunur. Hücre duvarı yapısına lipoteikoik asit girer (38). Hücre duvarındaki grup spesifik C- polisakkarit antijeni, % 60 L- rhamnoz, %30 N- Asetil D- glikozamin (immunodominant antijen)'den oluşur (34,37). G-grubu Streptokokların sentezlediği M6 proteini, grup A Streptokokların spesifik antiserumları ile kros reaksiyon verir (38).

Grup B'de, tek tür olarak *Streptococcus agalactiae* bulunur. Hücre duvarındaki grup spesifik C- polisakkarit antijeni, % 50.5 L-rhamnoz (immunodominant antijen), % 15 D- galaktoz ve % 12 N-Asetil-D-glikozamin'den oluşur (34,37). Bu yapı, grup G Streptokoklar ile pneumokokların Tip 23 spesifik antiserumları ile kros reaksiyon verir ve burada rhamnoz rol oynar (33,38).

Grup C'de, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus equisimilis* ve *Streptococcus equi* bulunur. Hücre duvarlarındaki grup spesifik C- polisakkarit antijeni, L-rhamnoz ve % 50 oranında da N- Asetil-D-galaktozamin (İmmunodominant antijen)'den oluşur (34,37,38).

Grup D'de, enterokoklar yer almaktadır. Bu grubun başlıca türleri, *Streptococcus faecalis* (subsp. *faecalis*, subsp. *liquefaciens*, subsp. *zymogenes*), *Streptococcus faecium*, *Streptococcus gallinarum*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus durans*, ve *Streptococcus equinus*'tur. Hücre duvarlarındaki grup spesifik C-polisakkarit antijeni, glikozamin, D- alanin ve galaktozamin (amino şekerler) yanında muramik asit, rhamnoz, glikoz ve galaktoz'dan oluşur. Enterokoklarda, diğer Streptokokların aksine, grup spesifik C- polisakkarit antijeni, hücre duvarında bulunmayıp, hücre duvarı ile plazma membranı

arasına veya plazma membranına lokalize olmuştur. Enterokokların tip antijenleri hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır (37,38).

Grup E’de, *Streptococcus infrequens*, *Streptococcus subacidus*, *Streptococcus lentis* ve *Streptococcus suis* bulunur. Hücre duvarlarında bulunan grup spesifik C- polisakkarit antijeni, rhamnoz ve glikoz (immunodominant antijen)’dan oluşur. Grup spesifik C- polisakkarit antijeninde, beş polisakkarit tipi ayırt edilmiştir. Bu tiplerde, farklı miktarlarda D- glikoz, L- rhamnoz ve D- galaktoz bulunur. Bu antijenler zayıf bir yapıya sahip olduklarından, asit ortamda bu yapıları hemen bozular. Domuzlarda ayrıca Tip 4 izole edilmiştir. Grup E Streptokoklar, grup P ve grup U spesifik antiserumları ile kros reaksiyon verirler. Ayrıca *Streptococcus uberis*, grup E, *Streptococcus suis* Tip 2 ve grup R streptokokların spesifik antiserumları ile reaksiyon verebilmektedir. Araştırmalar sonucunda bu Streptokokların, immunolojik olarak ortak antijenlere sahip oldukları ortaya çıkarılmıştır (34,38).

Grup F’de, *Streptococcus anginosus* ve *Streptococcus minutus* bulunur. Hücre duvarlarında bulunan grup spesifik C- polisakkarit antijeni, rhamnoz, glikoz, galaktozamin ve az miktarda glikozamin’den oluşur. İmmunodominant antijen olarak, disakkarit veya tetrasakkarit ile β - glikozit komponentleri belirlenmiştir (38).

Grup G’de, *Streptococcus canis* bulunur. Hücre duvarında bulunan grup spesifik C- polisakkarit antijeni, % 40.7 rhamnoz (İmmunodominant antijen), % 23 galaktoz, % 20.6 N- Asetilgalaktozamin’den oluşur. Bazı Grup G Streptokoklar, grup A tip 12M ve grup B Streptokokların grup spesifik antiserumları ile kros reaksiyon verirler (34,35,37,38).

Grup H’de, *Streptococcus sanguis* bulunur. Hücre duvarında bulunan grup spesifik C- polisakkarit antijeni, gliserol, fosfat ve glikoz içeren gliserol teikoik asittir (34).

Grup K’da, *Streptococcus salivarius* bulunur. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilememiştir (38).

Grup L’de, grup L *Streptococcus spp.* bulunur. Hücre duvarında bulunan grup spesifik C- polisakkarit antijeni, %30 rhamnoz, % 24 N- Asetilglikozamin ile bazı oranlarda N-Asetilgalaktozamin ve galaktoz’dan oluşur. Bu gruptaki Streptokoklar, grup A streptokoklar ile ortak özelliklere sahiptir (34).

Grup M’de, grup M *Streptococcus spp.* bulunur. Grup M Streptokokların, grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz açıklanmamıştır. Hücre duvarında, rhamnoz, glikoz ve galaktoz’un varolduğu düşünülmektedir. Grup M Streptokoklar, grup K Streptokokların spesifik antiserumları ile kros reaksiyon verirler (34).

Grup N’de, *Streptococcus lactis* (*Streptococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus lactis subsp. diacetilactis* ve *Streptococcus lactis subsp. cremoris*) ve *Streptococcus raffinolactis* bulunur. Hücre duvarlarında bulunan grup spesifik C- polisakkarit antijeni, galaktoz fosfat içeren gliserol teikoik asit’ten oluşur. Teikoik asit, tip spesifik antipneumonokok serumlarla reaksiyon verir.

Grup O’da, grup O *Streptococcus spp.* bulunur. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilmemiştir. Bu gruptaki Streptokoklarda rhamnoz yoktur. 2 / 3 oranında glikozamin ve galaktozamin, az oranda da glikoz ve galaktoz vardır. *Streptococcus viridans*, grup O Streptokokların spesifik antiserumları ile kros reaksiyon verir (34,38).

Grup P’de, *Streptococcus infrequens* bulunur. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilmemiştir. Spesifik hücre duvarı antijeni, grup E ve grup U Streptokokların spesifik antiserumları ile kros reaksiyon verir (38).

Grup Q’da, *Streptococcus avium* bulunur. Hücre duvarında bulunan grup spesifik C- polisakkarit antijeni, rhamnoz, glikoz ve galaktoz’dan oluşur. Kültürel ve biyokimyasal özelliğinden dolayı, bu yapı tespit edilebilir. Antijenik komponentleri, enterokoklarda olduğu gibi hücre duvarı ile plazma membranı arasında yer almaktadır.

Grup R’de, grup R *Streptococcus spp.* bulunur. Hücre duvarında bulunan grup spesifik C- polisakkarit antijeni, glikoz, galaktoz, rhamnoz ve glikozamin’dan oluşur (34,38).

Grup S’de, grup S *Streptococcus spp.* bulunur. Hücre duvarında bulunan grup spesifik C- polisakkarit antijeni, glikoz, galaktoz, rhamnoz ve glikozamin’dan oluşur.

Grup T’de, grup T *Streptococcus spp.* bulunur. Hücre duvarında bulunan grup spesifik C- polisakkarit antijeni, glikoz, galaktoz, rhamnoz ve glikozamin’dan oluşur.

Grup U’da, grup U *Streptococcus spp.* bulunur. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilmemiştir. Grup U Streptokoklar, grup P Streptokokların spesifik antiserumları ile kros reaksiyon verirler (34).

Grup V'de, grup V *Streptococcus spp.* bulunur. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilmemiştir. Biyokimyasal karakterleri bakımından grup E, P ve U Streptokoklar ile ortak özellikleri vardır (34,38).

Bu serogrupların dışında, serogruplandırılmayan diğer Streptokok türleri de bulunmaktadır.

Streptococcus pneumoniae, pyojenik Streptokoklar grubundadır. Hücre duvarında bulunan tip spesifik antijenleri, peptidoglikan, kolin-fosfat ve ribitol teikoik asit kompleksidir. Bu güne kadar yapılan bilimsel çalışmalarda, *Streptococcus pneumoniae*'ların 80'den fazla serotipinin ayırt edildiği bildirilmiştir (33,38).

Streptococcus uberis, pyojenik Streptokoklar grubundadır. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilmemiştir. Genel özellikleri, grup E Streptokoklar ile benzerlik gösterir. Ancak hücre duvarı yapısında muramik asit, glikozamin, rhamnoz, glikoz ve galaktoz bulunduğundan, grup E Streptokoklardan ayrılır. Bununla birlikte, bazı suşlar grup C, D, E, G ve P Streptokokların grup spesifik antiserumları ile kros reaksiyon vermektedir (34,38)

Streptococcus mutans, oral Streptokoklar grubundadır. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilmemiştir. Hücre duvarlarındaki peptidoglikan tabakası, glutamik asit, alanin, lizin, glikozamin ve muramik asit içermektedir.

Streptococcus mitis (mitior), oral Streptokoklar grubundadır. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilmemiştir. Ancak presipitasyon testi ile bir çok serotipi tespit edilmiş ve bazı suşların, aglutinasyon testi ile de grup O ve N Streptokokların grup spesifik antiserumları ile pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir.

Streptococcus milleri, oral Streptokoklar grubundadır. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilmemiştir. Hücre duvarındaki antijenik kompozisyonları kompleks ve heterojen özelliktedir. Bazı suşlar, çoğunlukla grup F, bazıları da grup A, C, G ve K Streptokokların grup spesifik antiserumları ile kros reaksiyon vermektedir.

Streptococcus thermophilus, oral Streptokoklar grubundadır. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilememiştir. Hücre duvarındaki peptidoglikan tabakası, *Streptococcus faecalis* ile uyum gösterir.

Streptococcus acidominimus, diğer Streptokoklar grubundadır. Grup spesifik antijenlerinin yapısı henüz tespit edilmemiştir (38).

1.1.3.1.1.3. Diğer polisakkarit antijenleri

Bu tür antijenler, grup B Streptokoklarda bulunur ve koruyucu özelliğindedir. Grup B Streptokokların, Ia, Ib, Ic, II, III, IV, R ve X olarak adlandırılan sekiz antijenik tipi ayırt edilmiştir. Lancefield'e göre, tip Ia, Ib, II, III (ilaveten glikoz içerirler) ve IV antijenleri polisakkarit yapıda olup, kapsülde lokalize olmuşlardır. Bu antijenler, tripsin ve pepsin'e karşı göstermiş oldukları farklı direnç ile birbirlerinden ayrılırlar (38).

1.1.3.2. Ekstrasellüler substanslar

Streptokoklar, organizma üzerinde etkili olabilecek, 20'den çok ve çeşitli özelliğe sahip toksin salgırlar. Bunların bir kısmı, hücre dışına salınır. Diğer bir kısmı ise hücre içinde oluşup, bakteri eridikten sonra bulunduğu ortama salınır (49).

1.1.3.2.1. Streptolizin

Streptokoklar, %8-10 koyun kanı katılmış kanlı agarda üreme şekillerine göre, sentezledikleri soluble yapıda ve türlere göre farklı antijenik tipte olan hemolizini (Streptolizin-O ve Streptolizin-S) vasıtasıyla, eritrositleri değişik derecelerde (α -, β -, γ -) lize ederler (35,48).

Kanlı agarda meydana getirdikleri β - hemolizde, oluşan kolonilerin etrafında eritrositlerin bütünüyle lize olmaları sonucu, dar alanda şeffaf bir zon meydana gelir ve tam hemoliz gerçekleşir. α - hemolizde, eritrosit tam parçalanamaz ve met-hemoglobin aşamasında kaldığından, koloni etrafında yeşil renkte bir hemoliz zonu oluşur. γ - hemolizde ise hemoliz görülmez (36).

Streptolizin O, grup A, C ve G Streptokoklar tarafından sentezlenir (35,37). Protein yapıda bir toksin olup, bakteri virulensinde önemli bir role oynar. Leukositler ve trombositler için toksik olduğu gibi, özellikle kardiyotoksik etkisinin bulunması bakımından büyük önem taşır. Kanlı agar içindeki Streptokok kolonilerinin etrafında oluşan hemoliz, streptolizin O tarafından oluşturulur (37,38,49). Oksijene karşı duyarlı olup hızla inaktive olur. Oksitlenmiş halde iken inaktif durumda olan streptolizin O, thiol'ün disülfid bağları arasındaki boşlukta, sistein, sodyum tioglikonat veya 2-metakaptoetanol'e indirgenmesi sonucunda yeniden aktivite kazanır. Streptolizin O, oksijene duyarlı ve thiol ile aktive olan tetanolizin, cereolizin, listeriolizin, perfringolizin

gibi diğerk gram pozitif bakteriler tarafından sentezlenen, toksinlerin prototipidir. Bu toksinler, hücre membranındaki kolesterol ile reaksiyona girerek, eritrositler ve diğerk hücreler üzerinde sitolitik ve sitotoksik etki gösterirler. Streptolizin O, kuvvetli antijenik özellikte olup organizmada, kendisine karşı oluşan ve Anti-Streptolizin O (ASO) olarak tanımlanan spesifik antikorlar ile nötralize edilebilir (33,35,37,49).

Streptolizin S ise oksijene dirençli olup, kanlı agarda yüzeydeki Streptokok kolonileri etrafında meydana gelen hemoliz zonunun oluşumunu sağlayan hemolizindir. Antijenik özelliğı yoktur. Daha az olmakla birlikte, streptolizin O gibi patojeniteye sahiptir. Ayrıca leukositlerin toksik aktivitelerine karşı, bakteriyi bir miktar korur (35,37,38,49).

1.1.3.2.2. Hyaluronidaz

Streptococcus suis, *Streptococcus pneumonia* ve Grup A, B, C Streptokoklar tarafından sentezlenen bu enzim, bağ dokusunun esasını oluşturan hyaluronik asidi depolimerize eden bir enzimdir. Bu etki, bakterinin doku içine kolayca yayılmasını sağlar. Antijenik yapıda olup, hemolitik Streptokokların büyük bir kısmı tarafından sentezlenir. Hyaluronidaz sentezleyemeyen bazı hemolitik Streptokoklar, hyaluronik asitten oluşan bir kapsüle sahip oldukları için, patojeniteleri kaybolmamaktadır (33,35,49).

1.1.3.2.3. Streptokinaz

Grup A, B, C, D, F ve G Streptokoklar tarafından sentezlenen bu enzim, Streptokokların doku içinde kolayca yayılmaları bakımından, hyaluronidaz ve DNase ile ortak özelliğe sahiptir (33,35,49). Streptokinaz'lar, özel antijen yapısında olup organizmada bunlara karşı meydana gelen antikorlar ile spesifik olarak inaktive edilebilirler (38).

1.1.3.2.4. Neuroaminidaz

Grup A ve grup B Streptokoklar tarafından oluşturulan enfeksiyonlarda ve özellikle insanlarda *Streptococcus pneumoniae*'nin neden olduğu bakteriyel meningitis olgularında, anormal konsantrasyonlarda N-Asetilneuraminik asidin tespiti, bu enzimin sentezlendiğini göstermektedir. Ayrıca neuroaminidaz, IgG'lerin kimyasal yapısında değişikliklere neden olur (33,35,49).

1.1.3.2.5. Deoksiribonükleaz (DNase)

Grup A, B, C, D, E ve kısmen de grup F, G ve L Streptokoklar tarafından sentezlenen ve deoksiribonükleik asidi (DNA) parçalayan enzimdir. İrinin koyuluğunu oluşturan deoksiribonükleo proteinleri depolimerize ederek, ortamı akıcı yapar. DNase'lar, A, B, C ve D olmak üzere dört farklı yapıdadırlar. Streptokok enfeksiyonlarının serolojik tanısında, B'ye karşı oluşan antikor tespitinin önemli bir yeri vardır. Bu enzimler, streptokinaz ve streptodornaz ile birlikte kullanılarak, seröz boşluk iltihaplanmalarında oluşan yapışıklıkların ayrılması ve koyu irinin akışkan hale getirilerek, boşaltılması amacı ile sağaltımda kullanılmaktadır (35,37,49,50).

1.1.3.2.6. Nikotinamid Adenin Dinükleotid Glikohidrolaz (NADase)

Grup A, C, G Streptokoklar tarafından sentezlenen ve virulens ile önemli ilgisi bulunan bu enzim, antijenik karakterde olup organizmada bunlara karşı meydana gelen antikorlar ile spesifik olarak nötralize edilebilir. Granulositler üzerinde leukotoksik etki gösterir. Bu etki, Streptokokların fagosit edilmelerinden kısa bir süre sonra leukositlerin şişmesi ve degranüle olarak bütünlüklerini kaybetmesi şeklinde gerçekleşir (49).

1.1.3.2.7. CAMP (Christie Atkins and Munch-Peterson) reaksiyonu

CAMP reaksiyonu, grup B Streptokokların (*Streptococcus agalactiae*) %95'inin sahip olduğu ve CAMP faktör olarak bilinen ekstrasellüler substans tarafından oluşturulur. Reaksiyon, stafilokokal β -lizin (sfingomyelinaz) varlığında Streptokokların hemolitik etkilerinin artması esasına dayanmaktadır (17,51,52). *Streptococcus agalactiae*'nin identifikasyonunda önemli rol oynayan bir faktör (51,53) olup, reaksiyonun grup U ve grup V streptokoklar ile bazı Grup A ve grup G streptokok türleri, *Streptococcus uberis* ve *Streptococcus suis* tarafından da oluşturulduğu tespit edilmiştir (51,54).

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak, Van ili ve çevresinde 3'ü devlet ve 35'i özel sektöre ait olan toplam 38 farklı işletmeden alınan 4.400 süt örneğinden izole edilen 92 Streptokok kültürü kullanıldı.

2.2. Metot

2.2.1. İneklerde subklinik mastitis teşhisi

Alınan süt örneklerinin subklinik mastitis yönünden incelenmesi amacıyla, Schalm ve ark. (6)'nın tarif ettiği şekilde California Mastitis Test (CMT) kullanıldı. Bu test, ayıraçta bulunan NaOH ve aniyonik deterjanın, mastitisli sütte bozukluğun derecesine göre memelere sızmış olan lökositlerin hücre zarını parçalayıp DNA'ları ile birleşerek jelatin bir kitle oluşturmaya esasına dayanmaktadır (1).

Ayıraç hazırlanırken, 1/300'lük Brom creosol purpure solüsyonundan 50 ml ve %3'lük Aniyonik deterjandan 100 ml. alınarak 900 ml distile su ile karıştırıldı ve NaOH ile karışımın pH'sı 6.8'e ayarlandı (1,6).

Testte, dört haneli özel mastitis kabına, her meme lobundan yaklaşık 2-3 ml olacak şekilde süt örneği alındı ve her bir süt örneğinin üzerine yine aynı miktarda CMT ayırıcı ilave edildi. Dairesel hareketlerle iyice karıştırmak suretiyle, 5-10 sn'de gerçekleşen reaksiyon gözlemlendi. Pozitif olgularda, enfeksiyonun derecesine göre karışımın mukoid oluşum, jelleşme, jel'nin kıvamı ve hafif gri-mordan koyu menekşe rengine kadar değişen renk değişikliğine göre, ($\pm$), (+1), (+2) ve (+3) şeklinde değerlendirme yapıldı. Hiçbir değişiklik görülmeyen, hafif gri renkte ve sıvı olarak kalan karışım, negatif olarak değerlendirildi (6).

2.2.1.1. Numune alınması

Numuneler, CMT'de pozitif sonuç veren ve klinik mastitis bulguları saptanmayan meme loplarından alındı. Bunun için önce meme başları %70 alkollü pamukla silindi ve meme kanalındaki saprofit bakterilerin giderilmesi amacıyla iki-üç sıkımlık süt dışarı sağıldı. Sonra, önceden numaralandırılan plastik kapaklı steril tüplere 8-10 ml miktarında süt örnekleri alınarak kısa sürede ve uygun koşullarda laboratuvara getirildi.

2.2.2. İzolasyon ve identifikasyon

Streptokokların izolasyonu için süt örneklerinden 2.2.2.1’de belirtilen besi yerlerine daha önce belirtilen standart yöntemlere göre ekim yapıldı. İzole edilen Streptokokların identifikasyonu, 2.2.2.2. ve 2.2.2.3.’te belirtilen yöntemlere göre yapıldı.

2.2.2.1.Besi yerleri

- Kanlı Agar (%8-10 defibrine koyun kanı katılmış) (OXOID®),
- Edwards Besi Yeri (%5-7 defibrine koyun kanı katılmış) (OXOID®)

2.2.2.2. Serogruplandırma

Serogruplandırmada, A, B, C, D, F, G grup spesifik antikorları ile kaplanmış lateks partiküllerinin hazır kitleri (PROLEX™ PL.050 STREPTOCOCCAL GROUPING LATEX KIT) kullanıldı ve test, önerildiği gibi uygulandı.

2.2.2.3.Biyokimyasal testler

2.2.2.3.1. Hemoliz testi

İzole edilen Streptokok kültürlerinin %8-10 defibrine koyun kanı katılmış kanlı agara ekimi yapıldı ve 37°C’de 18-24 saat inkübe edilerek oluşturdıkları hemoliz tipi (α -, β -, γ -) incelendi (39,55,56).

2.2.2.3.2. Eskulin hidrolizi

Streptokokların eskulini hidrolize edip etmediklerini araştırmak için %5-7 defibrine koyun kanı ilave edilmiş Edward besi yerine Streptokokların ekimi yapıldı. Koloni etrafında koyu kahverengi bir zon oluşumu pozitif, renk değişikliğinin görülmemesi ise negatif olarak değerlendirildi (17,39,40).

2.2.2.3.3. Hippurat hidrolizi

Bunun için önce, 1 gr Sodyum hippurat, 99 ml distile suda eritilerek %1’lik sodyum hippurat solüsyonu hazırlandı ve tüplere 0.4’er ml dağıtıldı. Ninhidrin ayırıcı hazırlanırken 50 ml butanol ve 50 ml aseton karışımına 3.5 gr ninhidrin ilave edilerek iyice karıştırıldı ve testte kullanıldı.

Test için, 24 saatlik bakteri kültüründen %1 sodyum hippurat içeren test tüplerine inokulasyon yapıldı ve 35°C’de 2-3 saat inkübe edildi. Sonra üzerine 0.2 ml ninhidrin ayırıcı ilave edilerek iyice karıştırıldı ve 35°C’de 10 dakika içinde oluşan reaksiyon değerlendirildi. Karışımın koyu mavi veya lacivert rengini aldığı test tüplerinde sonuç pozitif, renk değişikliğinin olmadığı veya açık mavi rengin görüldüğü tüplerde ise sonuç negatif olarak değerlendirildi (17,35,57).

2.2.2.3.4. Arginin hidrolizi

Bu test için besi yeri hazırlanırken,

- Tripton (5 gr.),
- Maya ekstraktı (2.5 gr.),
- D-glukoz (0.5 gr.),
- K_2HPO_4 (2.0 gr.),
- L-Arginin monohidroklorid (3.0 gr.),

Karışımı 1000 ml. distile suda çözündürüldükten sonra, tüplere beşer ml dağıtıldı ve 121°C'de 15 dak. sterilize edildi.

Nessler ayırıcı hazırlanırken 7 gr KI ve 10 gr HgI, 40 ml distile suda iyice çözündürüldü. Ayrıca 10 gr KOH, 50 ml distile suda çözündürüldü ve soğumaya bırakıldı. Bu iki çözelti karıştırılarak distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Çözelti, çökelme oluşuncaya kadar bekletildi ve üstteki sıvı alınarak testte kullanıldı.

Test için, 24 saatlik bakteri kültüründen besi yerine inokulasyonlar yapıldı ve 35-37°C'de 2-7 gün inkübe edildi.

İnkübasyon sonucunda tüpler, vorteks ile iyice karıştırıldı. Tüplerin her birine 0.1 ml nessler ayırıcı damlatıldı. Aynı anda gözlenen ve test ortamında portakal sarısından kahverengiye kadar değişen renk değişikliğinde reaksiyon pozitif, renk değişiminin görülmemesinde ise reaksiyon negatif olarak değerlendirildi (58).

2.2.2.3.5. CAMP (Christie, Atkins and Munch-Peterson) testi

Test için %8-10 defibrine koyun kanı katılmış kanlı agar besi yerine *Staphylococcus aureus* COWAN I suşu, çap boyunca çizgi şeklinde ekildi. CAMP pozitif ve CAMP negatif olduğu bilinen Streptokok kültürleri ile test edilecek Streptokok kültürlerinin ise bu çizginin her iki yanına temas etmeksizin 2-5 mm yakınından başlayarak ve dik olarak uzaklaşan çizgi hattı boyunca ekimi yapıldı. Plaklar, 35-37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Değerlendirmede belirgin olmayan *Staphylococcus aureus* COWAN I kültürünün hemoliz alanında yarım ay şeklinde tam bir hemolizin gerçekleşmesi pozitif, yarım ay şekillenmeyen kültürler ise negatif olarak değerlendirildi (17,52,53).

2.2.2.3.6. %6.5 NaCl ortamında üreme

Bu amaçla, BHI buyyona son konsantrasyonu %6.5 olacak şekilde NaCl ilave edildi ve tüplere üçer ml. dağıtılarak 121°C'de 15 dak. sterilize edildi. Tüplere 24 saatlik Streptokok kültürlerinin ekimi yapıldıktan sonra, 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi.

Tüplerin dibinde çökelti veya karıştırma sonucu bulanıklığın oluşması pozitif, tüpün berrak kalması ise negatif olarak değerlendirildi (17,56).

2.2.2.3.7. %0.1 Metilen mavili sütte üreme

Test için, 10 gr. yağsız süt tozu (Skim Milk Powder- Oxoid®-L31) distile su içerisinde çözdürüldü ve 100 ml'ye tamamlandı (%10 w/v). pH 7.4'e ayarlandıktan sonra 114°C'de 15 dak. sterilize edildi ve aseptik koşullarda suda çözdürülmüş 100 ml %1'lik metilen mavisi ilave edildi. Karışım, aseptik koşullarda tüplere 5'er ml. dağıtıldıktan sonra 0.1'er ml. 24 saatlik Streptokok kültürleri inokule edilerek 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Normalde açık mavi renkli besi yerinde meydana gelen beyazlaşma ve pıhtılaşma pozitif, herhangi bir değişikliğin olmaması ise negatif olarak değerlendirildi (40).

2.2.2.3.8. 45°C'de üreme

Bu amaçla Streptokok kültürlerinin BHI buyyona ekimi yapıldı ve 45°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Tüpün dibinde çökelti veya çalkalama sonucu şekillenen bulanıklık pozitif, berrak kalan tüpler ise negatif olarak değerlendirildi (17).

2.2.2.3.9. Karbonhidrat fermentasyon testleri

C grubu Streptokoklarda tür ayrımı için kullanılacak besi yeri hazırlanırken, 10 gr. bakteriyolojik pepton ve 5 gr NaCl, 1000 ml distile su içinde ısıtılmak suretiyle iyice eritildikten sonra pH 7.2'ye ayarlandı ve indikatör olarak son konsantrasyon %0.0025 olacak şekilde brom fenol mavisi ilave edildi. Besi yeri, tüplere 5'er ml. dağıtıldı ve 121 °C'de 15 dak. sterilize edildi. Sonra her tüpe son konsantrasyonu %1 olacak şekilde %10'luk şeker (trehaloz ve sorbitol) solusyonu ilave edildi ve her tüpe 0.1 ml 24 saatlik Streptokok kültürleri inokule edilerek 37°C'de 2-10 gün inkübe edildi. Besi yerinin sarı renk alması pozitif, renk değişiminin olmaması negatif olarak değerlendirildi (17,56).

3. BULGULAR

California Mastitis Test (CMT) ile incelenen 4.400 meme lobunun 200'ünde subklinik mastitis olgusu teşhis edildi.

Yapılan bakteriyolojik incelemelerde, 200 süt örneğinin 161'inde çeşitli bakteri türleri izole edildi. Bu örneklerden izole edilen toplam 239 bakterinin 92 (%38.5)'si Gram pozitif, zincir formunda ve katalaz negatif *Streptococcus spp.* olarak identifiye edildi.

İncelenen 92 adet Streptokok, kanlı agarda 37°C'de 18-24 saatte yaklaşık 1 mm çapında şeffaf, parlak ve düzgün kenarlı koloniler oluşturdu. Kanlı agarda oluşturdukları hemoliz tiplerine göre α -, β - ve γ - hemolitik (non hemolitik) olarak ayırt edildiler.

Streptokokların Lateks aglutinasyon testi ile yapılan serolojik incelemelerinde, 92 adet Streptokok'un 35 (%38.04)'i serogruplandırılabilirdi. Serogruplandırılabilen Streptokokların 15 (%16.3)'i B, 17 (%18.47)'si C, 1 (%1.08)'i D ve 2 (%2.17)'si F grup spesifik antiserumlar ile ayrı ayrı pozitif reaksiyon verdi. Tüm Streptokok kültürleri, A ve G grup spesifik antiserumlar ile negatif bulundu (Tablo 1). Grup B olarak identifiye edilen bir Streptokok, aynı zamanda grup C spesifik antiserumu ile pozitif reaksiyon verdi.

Tablo 2'de Streptokok kültürlerinin hemolitik özelliklerine göre dağılımı gösterildi. Buna göre incelenen 92 adet Streptokok'un 26 (%28.26)'sı β -, 37 (%40.21)'si α - ve 29 (%31.52)'unun γ - hemolitik (non hemolitik) olduğu tespit edildi. Bunların arasında serogruplandırılabilen Streptokokların 14 (%15.21)'ü β -, 6 (%6.52)'si α - ve 15 (%16.30)'i γ - hemolitik bulunurken, serogruplandırılmayan Streptokokların 12 (%13.04)'si β -, 31 (%33.69)'i α - ve 14 (%15.21)'ünün γ - hemolitik olduğu tespit edildi.

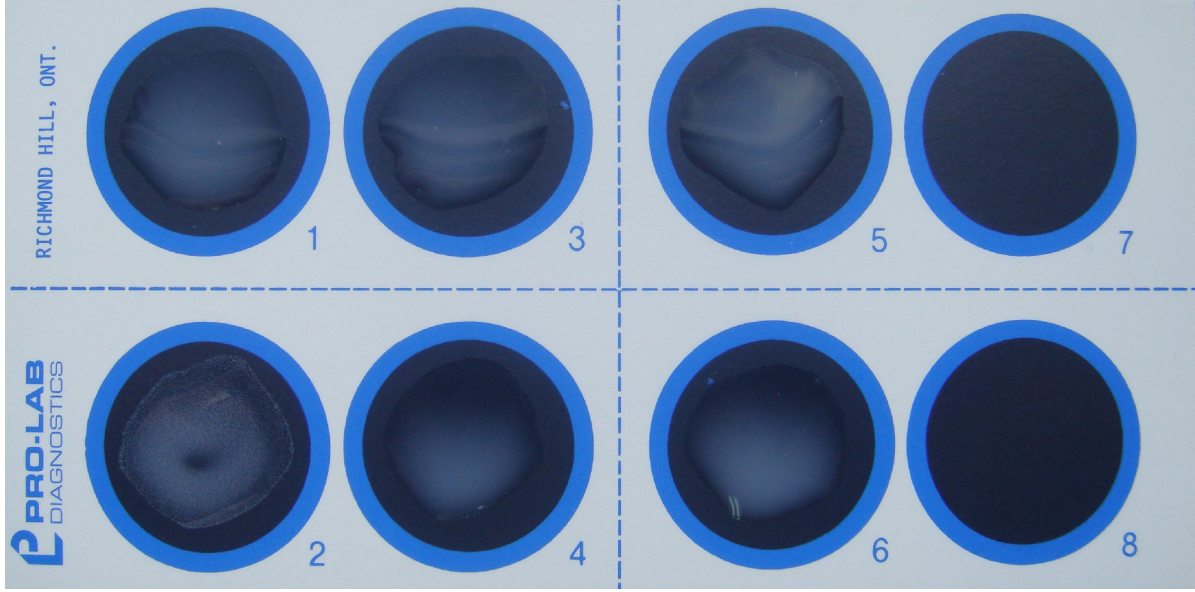
Tablo 1. İncelenen tüm Streptokokların Lateks aglutinasyon testinde A, B, C, D, F ve G grup spesifik antiserumlarla yapılan serogruplandırılmasında elde edilen sonuçlar.

n	Pozitif reaksiyon (%)						s.g.y.
	A	B	C	D	F	G	
92	0	15* (16.3)	17 (18.47)	1 (1.08)	2 (2.17)	0	57 (61.96)

s.g.y. : Serogruplandırılmayanlar, n : İncelenen Streptokok sayısı

* : Bir Streptokok, aynı zamanda grup C spesifik antiserumları ile pozitif reaksiyon verdi.

Resim 1.



Tablo 2. İncelenen tüm Streptokok kültürlerinin hemolitik özelliklerinin dağılımı

Grup	Hemoliz						Toplam
	β		α		γ		
	n	%	n	%	n	%	
s.g.	14	15.21	6	6.52	15	16.3	35
s.g.y	12	13.04	31	33.69	14	15.21	57
Toplam	26	28.26	37	40.21	29	31.52	92

s.g. : Serogruplandırılanlar, s.g.y. : Serogruplandırılmayanlar, n : İncelen Streptokok sayısı

Tablo 3’te, incelenen Streptokokların çeşitli biyokimyasal özellikleri gösterildi. İncelenen 15 adet B grubu Streptokok’un 3 (%20)’ü eskulin, 10 (%66.6)’u Na Hippurat ve 15 (%100)’i arginini hidrolize ederken, 11 (%73.3)’i de CAMP pozitif bulundu. İncelenen 17 adet C grubu Streptokok’un 4 (%23.5)’ü eskulin, 1 (%5.8)’i Na hippurat ve 16 (%94.1)’si da arginini hidrolizinde ederken, CAMP testinde hepsi negatif bulundu. Bir adet Grup D Streptokok, sadece Na hippuratu, 2 adet F grubu Streptokok’un 2 (%100)’si eskulini, 1 (%50)’i de arginini hidrolize etti.

İncelenen 57 adet serogruplandırılmayan Streptokok'un 20 (%35.08)'si eskulini, 19 (%33.3)'u Na hippuratı ve 15 (%26.31)'i de arginini hidrolize ederken, 7 (%12.28)'si CAMP testinde pozitif bulundu.

Streptokok kültürlerinin 45°C'de, %6.5 NaCl'lü ortamda ve %0.1 metilen mavisi katılmış sütte üremeleri ile ilgili sonuçlar Tablo 4'te verildi. Buna göre, B grubu Streptokokların sadece 3 (%20)'ü %6.5 NaCl'lü ortamda üredi. C grubu Streptokokların 2 (%11.76)'si 45°C'de, 4 (%23.52)'ü %6.5 NaCl'lü ortamda ve 1 (%5.88)'inin de %0.1 metilen mavili sütte ürediği tespit edildi. İncelenen 1 adet D grubu Streptokok'un her üç ortamda da ve 2 adet F grubu Streptokok'un ise sadece 1 (%50)'inin 45°C'de ürediği tespit edildi. Serogruplandırılmayan 57 adet Streptokok kültürünün ise 33 (%57.89)'ü 45°C'de ürerken, 23 (%40.35)'ü %6.5 NaCl'lü ortamda, 23 (%40.35)'ü de %0.1 metilen mavili sütte üredi.

Tablo 3. İncelenen 92 adet Streptokok kültürünün biyokimyasal özelliklerine ilişkin sonuçlar.

	n	Test* (%)			
		Eskulin	Na Hippurat	Arginin	CAMP Testi
Serogrup					
B	15	3 (20)	10 (66.6)	15 (100)	11 (73.3)
C	17	4 (23.5)	1 (5.8)	16 (94.1)	0
D	1	0	1 (100)	0	0
F	2	2 (100)	0	1	0
Serogruplandırılmayanlar	57	20 (35.08)	19 (33.3)	15 (26.31)	7 (12.28)

* : Pozitif Streptokok sayısı, n : İncelenen Streptokok sayısı

Tablo 4. İncelenen 92 adet Streptokok kültürünün bazı ortamlarda üreme özelliklerine ilişkin sonuçlar.

Grup	n	Test* (%)		
		45°C'de üreme	%6.5 NaCl'de üreme	%0.1 Met. Mavili sütte üreme
Serogrup				
B	15	0	3 (20)	0
C	17	2 (11.76)	4 (23.52)	1 (5.88)
D	1	1 (100)	1 (100)	1 (100)
F	2	1 (50)	0	0
Serogruplandırılamayanlar	57	33 (7.89)	23 (40.35)	23 (40.35)

* : Pozitif Streptokok sayısı, n : İncelenen Streptokok sayısı

Tablo 5. İncelenen 92 adet Streptokok kültürünün serogrup ve hemoliz özellikleri ile eskulin hidrolizi ve CAMP testinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması.

Hemoliz	Grup	n'	%	Test (%)			
				CAMP poz. Eskulin neg.	CAMP poz. Eskulin poz.	CAMP neg. Eskulin poz.	CAMP neg. Eskulin neg.
β-Hemoliz n : 26	B	6	23.07	1 (16.6)	2 (33.3)	1 (16.6)	2 (33.3)
	C	7	26.92	-	-	3 (42.85)	4 (57.14)
	F	1	3.84	-	-	1 (100)	-
	s.g.y.	12	46.15	4 (33.33)	-	-	8 (66.66)
α-Hemoliz n : 37	B	1	2.7	1 (100)	-	-	-
	C	3	8.1	-	-	1 (33.33)	2 (66.66)
	D	1	2.7	-	-	-	1 (100)
	F	1	2.7	-	-	1 (100)	-
	s.g.y.	31	83.78	16 (51.61)	-	-	15 (48.3)
γ-Hemoliz n : 29	B	8	27.58	7 (87.50)	-	-	1 (12.5)
	C	7	24.13	-	-	-	7 (100)
	s.g.y.	14	48.27	-	-	7 (50)	7 (50)

s.g.y. = Serogruplandırılamayanlar, n: İncelenen Streptokok sayısı, n': Pozitif Streptokok sayısı
poz. : Pozitif reaksiyon, neg. : Negatif reaksiyon

Tablo 5’te, incelenen 92 adet Streptokok kültürünün serogrup ve hemoliz özellikleri ile Eskulin hidrolizi ve CAMP testlerinden elde edilen sonuçlar karşılaştırıldı. Grup B Streptokokların 6 (%23.07)’sı β - hemolitik, 1 (%2.7)’i α - hemolitik ve 8 (%27.58)’inin γ - hemolitik, grup C Streptokokların ise 7 (%26.92)’si β - hemolitik, 3 (%8.1)’ü α - hemolitik ve 7 (%24.13)’sinin γ - hemolitik olduğu tespit edildi. Serogruplandırılamayan Streptokokların 12 (%46.15)’si β - hemolitik, 31 (%83.78)’i α - hemolitik ve 14 (%48.27)’ünün γ - hemolitik olduğu görüldü. F grubu Streptokoklardan 1 (%3.84)’i β - hemolitik 1 (%2.7)’i de α - hemolitik özellik gösterirken, 1 (%2.7) adet grup D Streptokok’un α - hemolitik olduğu tespit edildi.

γ - hemolitik grup B Streptokokların 7 (%87.5)’si ve 1 (%100) adet α - hemolitik B grubu Streptokok CAMP pozitif-Eskulin negatif bulunurken, β - hemolitik grup B Streptokoklardan sadece 1 (%16.6)’i benzer reaksiyon verdi. Serogruplandırılamayan α - hemolitik Streptokokların 16 (%51.61)’sı ve β - hemolitik olanlardan sadece 4 (%33.3)’ü benzer reaksiyon verdi.

İncelenen β -hemolitik B grubu Streptokokların sadece 2 (%33.3)’si CAMP pozitif-Eskulin pozitif bulundu.

C grubu γ - hemolitik Streptokokların tamamı CAMP negatif-Eskulin negatif reaksiyon verirken, α - hemolitik C grubu Streptokokların 2 (%66.66)’si ve β - hemolitik grup C Streptokokların 4 (%57.14)’ü her iki testte negatif bulundu. B grubu γ - hemolitik streptokokların sadece 1 (%12.5)’i ve β - hemolitik B grubu Streptokokların da 2 (%33.33)’si benzer reaksiyon verdi. Serogruplandırılamayan α - hemolitik Streptokokların 15 (%48.38)’i, γ - hemolitik olanların 7 (%50)’si ve β - hemolitik olanların da 8 (%66.66)’i her iki testte negatif bulundu.

Serogruplandırılamayan γ - hemolitik Streptokokların 7 (%50)’si CAMP negatif-Eskulin pozitif bulundu. Serogruplandırılamayan α - ve β - hemolitik Streptokoklarda bu özellik görülmedi. Sadece 1 (%16.6) adet β - hemolitik B grubu Streptokok, CAMP negatif-Eskulin pozitif reaksiyon verirken, 3 (%42.85) adet β - hemolitik ve 1 (%33.33) adet α - hemolitik C grubu Streptokok benzer reaksiyon verdi. α - ve β - hemolitik 2 adet F grubu Streptokok’un her biri CAMP negatif-Eskulin pozitif bulundu.

Tablo 6. Grup C Streptokokların özellikleri

Tür	n	Grup C	Hemoliz			Trehaloz	Sorbitol
			α	β	γ		
<i>S. dysgalactiae</i>	11	11	3	4	4	11	0
<i>S. zooepidemicus</i>	3	3	-	-	3	0	3
<i>S. equisimilis</i>	3	3	-	3	-	0	0

n : İncelenen Streptokok sayısı

Tablo 6’da, C grubu olarak serogruplandırılan 17 adet Streptokok’un 11(%64.70)’i *Streptococcus dysgalactiae*, 3 (%17.64)’ü *Streptococcus zooepidemicus* ve 3 (%17.64)’ü de *Streptococcus equisimilis* olarak tanımlanmıştır. *Streptococcus equisimilis*’in tamamı β - hemolitik, *Streptococcus zooepidemicus*’un tamamı γ - hemolitik ve *Streptococcus dysgalactiae*’nin 3’ü α -, 4’ü β - ve 4’ünün de γ - hemolitik olduğu tespit edildi.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Mastitis, ekonomik açıdan olduğu kadar, insan ve hayvan sağlığı açısından da büyük bir öneme sahiptir. Yapılan araştırmalarda subklinik mastitisin oluşumunda etkili olan etkenlerin çok çeşitli olması yanında çoğunlukla koklardan ileri geldiği tespit edilmiştir (15).

Süt inekleri üzerinde yapılan çalışmalarda, mastitis olgularının % 93-98'ini subklinik mastitislerin oluşturduğu tespit edilmiştir (10,11). Subklinik mastitis olgularının %13-34 gibi önemli bir bölümünden de *Streptococcus* cinsine bağlı bakteriler izole edilmektedir (15,26).

Malinowski ve ark. (26), 20 çiftlikte CMT ile incelemeye aldıkları 2084 sığırın 945'inin 1791 lobunda subklinik mastitis olgusu tespit etmişlerdir. Bu olgulardan bakteriyolojik inceleme sonucu; %33.7 oranında *Streptococcus spp.* izole etmişlerdir.

Martel ve ark.(59), 1984 ve 1985 yılları arasında Fransa'da, mastitisli ineklerden izole ettikleri 488 streptokok suşunun %35'ini *Streptococcus uberis*, %22'sini *Streptococcus agalactiae*, %29'unu *Streptococcus dysgalactiae* ve %5'ini *Streptococcus bovis* olarak tanımlamışlardır.

Strehle (60), Stuttgart yöresinde 30.000 inek üzerinde yaptığı çalışmada, %67'sinin normal, %21'inin subklinik mastitisli ve %12'sinin klinik mastitisli olduğunu tespit etmiştir. Bunların bakteriyolojik incelemesi sonucunda %4.3'ünden *Streptococcus spp.* izole edildiğini, bu streptokokların %28'inin *Streptococcus uberis*, %27'sinin *Streptococcus dysgalactiae* ve %12'sinin *Streptococcus agalactiae* olduğunu bildirmiştir.

Araştırmada, CMT pozitif 200 süt örneğinin bakteriyolojik incelemesinde 92 (%38.5) adet *Streptococcus spp.* izole ve tanımlanmıştır. İzolasyon oranının bu konuda yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu gözlemlenmiştir.

Streptokokların tanımlanmaları amacı ile genellikle biyokimyasal (2,17,18,36,38) ve serolojik (2,14,15,17,20,29,57,61,62,63) yöntemler kullanılmaktadır.

Akay, Ö. ve ark. (15), Ko-aglutinasyon yöntemiyle yaptıkları serolojik çalışmada 295 streptokok suşunun 34 (%11,52)'ünün grup A, 107 (%36,27)'sinin grup B, 61 (%20,67)'inin grup C, 42 (%14,23)'sinin grup D ve 15 (%5,8)'inin grup E Streptokok olarak serogruplandırıldığını, 36 (%12,20) suşun ise serogruplandırılmadığını bildirmişlerdir.

Son zamanlarda yaygın olarak kullanılan Lateks aglutinasyon yöntemi ile güvenilir sonuçlar alınmaktadır (61,64,65,66). Bu yöntemde, grup spesifik antikorlar ile kaplanmış lateks partikülleri kullanılmaktadır. Test, Streptokokların hücre duvarında bulunan grup spesifik C-polisakkaritinin, bu antiseumlarla reaksiyon vermesi esasına dayanır.

Banzhaf ve ark. (64), inek sütlerinden izole ettikleri 355 Streptokok suşunu grup B lateks aglutinasyon reagenti ve CAMP testi ile incelediklerinde, 183 (%98)'ünün grup B spesifik antiserumu ile reaksiyon verdiğini, 5'inin ise reaksiyon vermediğini tespit etmiş, reaksiyon veren tüm suşların %94'ünün ise CAMP pozitif olduklarını ve Lateks aglutinasyon test kitlerinin rutin olarak mastitis etkenlerinin identifikasyonunda güvenle kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Inzana ve ark. (65), 10 farklı hayvan türünün değişik bölgelerinden aldıkları 109 swaptan izole ettikleri Streptokokları grup C lateks aglutinasyon reagenti ile incelediklerinde, testin duyarlılığının %78, spesifitesinin ise %97.6 olduğunu tespit etmişlerdir.

Watts ve ark. (66), inek sütlerinden izole ettikleri 267 Streptokok kültürünü lateks aglutinasyon testi ile incelediklerinde, tüm *Streptococcus agalactiae* suşlarının pozitif reaksiyon verdiğini, bir *Streptococcus dysgalactiae* ve üç *Streptococcus uberis* kültürünün kros reaksiyon verdiğini tespit etmiş ve lateks aglutinasyon testinin inek sütlerinden izole edilen Streptokokların identifikasyonunda güvenle kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Hogan ve ark. (61), inek sütlerinden izole ettikleri 98 Streptokok kültürünü grup B lateks aglutinasyon reagenti ile incelediklerinde, testin duyarlılığının %97.6-98.2 oranında olduğunu tespit etmişlerdir.

Araştırmada, *Streptococcus spp.* olarak identifiye edilen 92 kültür, grup A, B, C, D, F ve G spesifik antiserumları içeren lateks aglutinasyon kitleri ile incelendi ve 92 adet Streptokok'un 35 (%38.04)'i serogruplandırılabilirdi. Serogruplandırılabilen Streptokokların 15 (%16.3)'i B, 17 (%18.47)'si C, 1 (%1.08)'i D ve 2 (%2.17)'si F grup spesifik antiserumlar ile ayrı ayrı pozitif reaksiyon verdi. Tüm Streptokok kültürleri, A ve G grup spesifik antiserumlar ile negatif bulundu. Grup B olarak identifiye edilen bir Streptokok, aynı zamanda grup C spesifik antiserumu ile pozitif reaksiyon verdi. Lateks aglutinasyon testi ile serogruplandırılan Streptokok kültürlerinin reaksiyon oranlarında (%92.85) genel olarak literatür bilgilerine (2,13,15,21) göre bir uyumun söz konusu olduğu gözlemlendi. Ancak serogruplandırılmayan kültür oranının (%61.95) yüksek olduğu, Grup A ve grup G

Streptokokların ise ineklerde sporadik mastitise neden olmaları itibarıyla izole edilemedikleri tespit edildi.

Streptococcus agalactiae, CAMP pozitif ve eskulin negatif streptokok türü olarak bilinmektedir (2,7,17,34,36,38,39,40,61). Bu özellikler, normal şartlarda identifikasyon için yeterli kriterlerdir. Lateks Aglutinasyon Testi ise duyarlılık oranı (%97.6-98.2) yüksek, alternatif bir testtir (61,64,65,66). *Streptococcus agalactiae*'nin serolojik incelemesinde, eskulin pozitif olan suşların hiç birinde CAMP reaksiyonu görülmeyp sadece 1 tanesinde serolojik olarak pozitif sonuç alınması itibarıyla Lateks Aglutinasyon yönteminin *Streptococcus agalactiae*'nin doğru identifikasyonu açısından uygun bir alternatif metot olduğu kabul edilmektedir (61).

Araştırmada, grup B streptokoklar üzerinde yapılan biyokimyasal incelemelerde, β -hemoliz oranının %40, α -hemoliz oranının %6.6, γ -hemoliz oranının % 53.3 ve eskulin hidrolizinin % 20 oranında olduğu ve bu konuda yapılan çalışmalarla uyuşmadığı, ancak CAMP reaksiyonu (%73.3), hippurat (%66.6) ve arginin (%100) hidrolizinin uygun olduğu, CAMP pozitif-eskulin negatif reaksiyonların da (%53.3) çoğunlukla γ -hemolitik kültürlerde bulunduğu tespit edildi.

Araştırmada alınan sonuçlar, lateks aglutinasyon testinin, mastitise neden olan streptokok suşlarının çabuk identifikasyonu açısından önemli sonuçlar verdiğini ortaya koydu. Bu çalışmada patojen nitelikteki streptokok serogruplarının (A, B, C, D, F, G) bulunduğu altı antiserumla yapılan incelemede 92 streptokok suşunun 35 (%38.43)'i serogruplandırılabilirdi. Serolojik testlerin, identifikasyonda istenilen düzeyde sonuç verebilmesi için kullanılacak grup spesifik ve tip spesifik antiserum sayılarının arttırılması, identifikasyon oranını önemli ölçüde arttıracaktır.

ÖZET

Bu çalışmada, Van şehir merkezi, çevre köyler ve ilçelerinde, 1.100 adet sağmal inekten alınan süt örnekleri, subklinik mastitis yönünden California Mastitis Test (CMT) ile incelendi. Subklinik mastitis olduğu tespit edilen 200 süt örneğinde yapılan bakteriyolojik inceleme sonucunda, 92 (%38.5) adet Streptokok izole ve tanımlanarak edildi. İzole edilen Streptokokların 35 (%38.04) tanesi, Lateks aglutinasyon testi ile serotiplendirilebildi. Yapılan serotiplendirmede, Streptokokların 15 (%16.3)'ü B, 17 (18.47)'si C, 1 (%1.08)'i D ve 2 (2.17)'si F serotip spesifik antiserumlar ile pozitif reaksiyon verdi. Grup B spesifik antiserum ile reaksiyon veren bir Streptokok, aynı zamanda grup C serotip spesifik antiserumu ile pozitif reaksiyon verdi. İncelenen 92 adet Streptokok'un 26 (%28.26)'sı β -, 37 (%40.21)'si α - ve 29 (%31.52)'unun γ - hemolitik (non hemolitik) olduğu tespit edildi. Bunların arasında serotiplendirilebilen Streptokokların 14 (%15.21)'ü β -, 6 (%6.52)'sı α - ve 15 (%16.30)'i γ - hemolitik bulunurken, serotiplendirilemeyen Streptokokların 12 (%13.04)'sı β -, 31 (%33.69)'i α - ve 14 (%15.21)'ünün γ - hemolitik olduğu tespit edildi. C grubu olarak serotiplendirilen 17 adet Streptokok'un 11 (%64.70)'i *Streptococcus dysgalactiae*, 3 (%17.64)'ü *Streptococcus zooepidemicus* ve 3 (%17.64)'ü de *Streptococcus equisimilis* olarak tanımlanarak edildi.

Streptokokların çeşitli biyokimyasal özellikleri incelendiğinde, 15 adet B grubu Streptokok'un 3 (%20)'ü eskulini, 10 (%66.6)'u Na-Hippurati, 15 (%100)'i arginini hidrolize ederken, 11 (%73.3)'i de CAMP pozitif bulundu. İncelenen 17 adet C grubu Streptokok'un 4 (%23.5)'ü eskulini, 1 (%5.8)'i Na-hippurati ve 16 (%94.1)'sı da arginini hidrolize ederken, CAMP testinde hepsi negatif bulundu. Bir adet Grup D Streptokok, sadece Na-Hippurati, 2 adet F grubu Streptokok'un 2 (%100)'sı eskulini, 1 (%50)'i de arginini hidrolize etti. İncelenen 57 adet serotiplendirilemeyen Streptokok'un 20 (%35.08)'sı eskulini, 19 (%33.3)'ü Na-Hippurati ve 15 (%26.31)'i de arginini hidrolize ederken, 7 (%12.28)'sı CAMP testinde pozitif bulundu.

Streptokok kültürlerinin 45°C'de, %6.5 NaCl'lü ortamda ve %0.1 metilen mavisi katılmış sütte üremeleri ile ilgili incelemede, B grubu Streptokokların sadece 3 (%20)'ünün %6.5 NaCl'lü ortamda, C grubu Streptokokların 2 (%11.76)'sinin 45°C'de, 4 (%23.52)'ünün %6.5 NaCl'lü ortamda ve 1 (%5.88)'inin de %0.1 metilen mavili sütte ürediği tespit edildi. İncelenen 1 adet D grubu Streptokok'un her üç ortamda da ve 2 adet F

grubu Streptokok'un ise sadece 1 (%50)'inin 45°C'de ürediği tespit edildi. Serogruplandırılamayan 57 adet Streptokok kültürünün 33 (%57.89)'ü 45°C'de ürerken, 23 (%40.35)'ü %6.5 NaCl'lü ortamda, 23 (%40.35)'ü de %0.1 metilen mavili sütte üredi.

Streptokok kültürlerinin serogrup, hemoliz özellikleri, eskulin hidrolizi ve CAMP testleri karşılaştırıldığında, γ - hemolitik grup B Streptokokların 7 (%87.5)'si ve 1 (%100) adet α - hemolitik B grubu Streptokok CAMP pozitif-eskulin negatif bulunurken, β - hemolitik grup B Streptokoklardan sadece 1 (%16.6)'i benzer reaksiyon verdi. Serogruplandırılamayan α - hemolitik Streptokokların 16 (%51.61)'sı ve β - hemolitik olanlardan sadece 4 (%33.3)'ü benzer reaksiyon verdi.

İncelenen 92 adet Streptokok'tan sadece 2 (%33.3) adet β - hemolitik grup B Streptokok, CAMP pozitif-eskulin pozitif bulundu.

SUMMARY

In this study, 1100 dairy cow's milk samples were examined for subclinic mastitis with CMT around Van. The 200 milk samples which were found to be positive with CMT, were examined bacteriologically and 92 streptococcal strains isolated and identified. Among 92 isolates, 35 could be serogrouped by Latex Agglutination Test. Of the 35 isolates 15 (16.3%) in group B, 17 (18.47%) in group C, 1 (1.08%) in group D and 2 (2.17%) in group F were classified respectively. One of the isolate, reacted with group B specific antiserum, also found positive with group C specific antiserum. Among the 92 isolates 26 (28.26%) to β -, 37 (40.21%) to α - and 29 (31.52%) to γ - hemolytic (non hemolytic) were found. Of the 35 isolates 14 (15.21%) to β -, 6 (6.52%) to α - and 15 (16.30%) to γ - hemolytic, of the 57 which couldn't serogrouped strains 12 (13.04%) to β -, 31 (33.69%) to α - and 14 (15.21%) to γ - hemolytic were found.

KAYNAKLAR

1. **Deveci, H., Apaydın, A.M., Kalkan, C. ve Öcal, H.** (1994) Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. F.Ü. Basımevi, Elazığ.
2. **Radostitis, O.M., Blood, D.C. and Gay, C.C.** (1995) Veterinary Medicine. Eight edition 563-627.
3. **Hueston, W.D., Heider, L.E., Harvey, W.R. and Smith, K.L.** (1987) The use of high somatic cell count prevalence in Epidemiologic investigations of Mastitis control practices. Preventive Vet. Med. 4, 447-461.
4. **Maisi, P., Mattila, T. And Sandholm, M.** (1984) Mastitis whey - a good medium for bacteria? Acta Vet. Scand. 25, 297-308.
5. **Lambot, M., Letesson, J.J., Lastrie, N. and Depelchin, A.** (1992) Streptococcal products and leukocyte activities. Vet. Immunol. and Immunopathol. 31, 129-140.
6. **Schalm, O.W., Carrol, F.J. and Jain, N.C.** (1971). Bovine Mastitis. Lea-Febiger, Philadelphia, USA.
7. **Fraser, C.M., Bergeron, J.A. and Aiello, S.E.** (1991) The Merck Veterinary Manual. A Handbook of Diagnosis, Therapy and Disease Prevention and Control for the Veterinarian. Seventh Edition, Merck & co.,Inc. Rahway, N.J., U.S.A.
8. **Saxena, R.K., Dutta, G.N., Borah, P. And Buragohain, J.** (1993) Incidence and etiology of bovine subclinical mastitis. Indian Vet. J. 70.
9. **Pyörälä, S. and Mattila, T.** (1987) Inflammatory changes during experimental bovine mastitis induced by Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae and Streptococcus uberis. J. Vet. Med. 34, 574-581.
10. **Havelka, B. and Skarkova, S.** (1989). Isolation of streptococci of various serological groups from animals. Vet. Med. 34 (12). 743-749.
11. **National Mastitis Council of USA** (1978). Current concepts of Bovine Mastitis Isr. J. Vet. Med. 42,4,405-415.
12. **Mert, N., Tayar, M., Oğan, M., Müftüoğlu, A. and Yavuz, M.** (1992) Süt ineklerinde subklinik mastitisin sütte meydana getirdiği biyokimyasal değişimler üzerine araştırmalar. Uludağ Üniversitesi Vet. Fak. Der. 11 (2) 13-18.
13. **Alaçam, E., Tekeli, T., Erganiş, O. ve İzgi, N.A.** (1989). İnek ve mandalarda subklinik mastitislerin tanısı, etkenlerin izolasyonu ve bunlara karşı etkili antibiyotiklerin belirlenmesi. J. of the Fac. of Vet. Med. Univ. of Selçuk. Cilt:5 sayı:1.

14. **Burdash, N.M., West, M.E. and Newell, R.T.** (1981) Group identification of streptococci: evaluation of three rapid agglutination methods. *Am. J. Clin. Pathol.* 76:819-822.
15. **Akay, Ö., İzgür, M., Esendal, Ö. ve Çetin, C.** (1993) İnek sütlerinden izole edilen streptokok suşlarının serogruplandırılması. TÜBİTAK Vet. Hay. Arş. Grubu. Proje No:VHAG-760.
16. **Kapur, M.P. and Singh, R.P.** (1977) Diagnosis of mastitis: A comparative study of four indirect tests. *Haryana Veterinarian*, 16,2,69-73.
17. **Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R., Janda, W.M. Sommers, H.M. and Winn, W.C.** (1988) Color atlas and text book of diagnostic microbiology third edition. Lippincott comp. Philadelphia. USA.
18. **Lämmle, C.** (1991) Biochemical and serological properties of *Streptococcus uberis*. *J. Vet. Med. Series B.* 38 (10) 737-742.
19. **Levchak, M.E. and Ellner, P.D.** (1982) Identification of group-D streptococci by SeroSTAT™. *J. Clin. Microbiol.* 15:58-60.
20. **Slifkin, M., Engwall, C. and Pouchert, G.R.** (1978) Direct-plate serological grouping of β -hemolytic streptococci from primary isolation plates with the Phadback streptococcus test. *J. Clin. Microbiol.* 7:346-360.
21. **Sears, P.M. and Heider, L.E.** (1981). Detection of mastitis. *Vet. Clin. North America*, 3,2,327-346.
22. **Gürsel, F. ve Uysal, Y.** (1986). İstanbul bölgesinde klinik ve subklinik mastitisli süt ineklerinden izole edilen aerob mikroorganizmaların identifikasyonları ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine bir araştırma. *Pendik Hay.Hast. Merk. Arş. Ens. Der.* 18:1-2, 12-27.
23. **Ateş, M., Erganiş, O., Çorlu, M. ve Serpek, B.** (1991). Konya yöresindeki mastitisli ineklerden elde edilen süt örneklerinin mikrobiyel florası ve LDH aktivitesi. TÜBİTAK VHAG-659. *Doğa-Tr.J. of Vet. and Anim. Sci.* 16, 19-29.
24. **Ulusoy, E., İzgür, M., Akay, Ö., Diker, K.S., Aydın, N. ve Arda, M.** (1985) Mastitisli inek sütlerinden izole edilen mikroorganizmaların identifikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine bir araştırma. *A.Ü.Vet.Fak.Dergisi.* 32(2):358-370.

25. **Kahraman, M.** (1985). Sığır mastitisi üzerine araştırmalar. Uludağ Üniversitesi Vet. Fak. Der. 1-2-3: 4,5.
26. **Malinowski, E., Klossowska, A. and Szalbierz, M.** (1992) Pathogenicity to the mammary gland of microorganisms isolated from clinical and subclinical mastitis. Medycyna Weterynaryjna. 48 (10) 467-469.
27. **Miller, R.H., Bitman, J., Bright, S.A., Wood, D.L. and Capuco, A.V.** (1992) Effect of clinical and subclinical mastitis on lipid composition of teat canal keratin. J. Dairy Sci. 75 (6) 1436-1442.
28. **Alexander, T.J.L.** (1990), Streptococcal infection of animals. J. Med. Microbiol. 33:2,VII.
29. **Saxegaard, F.** (1977). Comparative grouping of mastitis streptococci by means of co-agglutination and precipitation. Acta. Vet. Scand. 18, 509-514.
30. **Özbilgin, S.** (1992) Bursa yöresinde Mezbahada kesilen ineklerde rastlanan mastitis lezyonlarının makro ve mikroskopik incelenmesi. Uludağ Üniversitesi Vet. Fak. Der. 3:11.
31. **Sandholm, M. and Mattila, T.** (1986). Biochemical aspects of Bovine Mastitis. Isr. J. Vet. Med. 42,4,405-415.
32. **Mackie, D.P. and Logan, E.F.** (1986) Changes in immunoglobulin levels in whey during experimental Streptococcus agalactiae mastitis. Research in Vet. Sci. 40, 183-188.
33. **Gyles, C.L. and Thoen, C.O.** (1986) Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Iowa State Univ. Press, Ames. U.S.A.
34. **Blobel, H. und Schiesser, T.** (1980) Handbuch der Bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band II. New York.
35. **Gürtürk, K.** (1989) Untersuchungen an streptokokken der serologischen gruppe G von hund, rind und mensch unter besonderer breücksichtigung mutmaßlicher pathogenitaetsfaktoren. INAUGURAL-DISSERTATION zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachbereich Veterinaermedizin der Justus-Liebig-Universitaet Gießen.
36. **Bilgehan, H.** (1995) Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış yayınları 2.Baskı, Bornova, İzmir.

37. **Joklik, W.K., Willett, H.P. and Amos, D.B.** (1984) Zinsser Microbiology. Appleton-Century-Crofts. USA.
38. **Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G.** (1986) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.2. Baltimore. U.S.A.
39. **Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N. ve Akay, Ö.** (1997) Özel Mikrobiyoloji Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik Enfeksiyonlar Ders Kitabı. Medisan Yay. No:26. Ankara.
40. **Carter, G.R.** (1984) Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. Fourth edition. Springfield. Illinois. U.S.A.
41. **Jones, K.F. and Fischetti, V.A.** (1987) Biological and immunochemical identity of M protein on group G streptococci with M protein on group A streptococci. Infection and immunity, Mar. 502-506.
42. **Fischetti, V.A., Jones, K.F. and Scott, L.R.** (1985) Size variation of the M protein in group A streptococci. J. Exp. Med. 161: 1384-1401.
43. **Widdowson, J.P., Maxted, W.R. and Pinney, A.M.** (1971) An M-associated protein antigen (MAP) of group A streptococci. J. Hyg., Camb. 69, 553.
44. **Akerstrom, B., Nielsen, E. and Björck, L.** (1987) Definition of Ig G- and albumin binding regions of streptococcal protein G. The J. of Biological chemistry. 262:28.
45. **Guss, B., Eliasson, M., Olsson, A., Uhlen, M., Frej, A.K., Jörnvall, H., Flock, I. and Lindberg, M.** (1986) Structure of the Ig G binding regions of streptococcal protein -G. The EMBO J., 5:7, 1567.
46. **Lämmle, C., Gürtürk, K. and Blobel, H.** (1987). Streptococcal group B type antigen X in group L streptococci. J. Clin. Microbiol. 25; (9) 1803-1804.
47. **Wilkinson, H.W.** (1972) Comparison of streptococcal R antigens. Applied microbiol. 24/4 U.S.A.
48. **Holder, I.A.** (1985) Bacterial Enzymes and Virulence. Library of congress cataloging in publication data, Florida, U.S.A.
49. **Bhakdi, S., Jensen, J.T. and Sziegoleit, A.** (1985) Mechanism of membrane damage by streptolysin-O. Infection and Immunity, Jan. 52-60.
50. **Gudding, R.** (1979) The demonstration and characterization of deoxyribonucleases of streptococci group A, B, C, G and L. Acta Vet. Scand. 20, 102-121.

51. **Gürtürk, K. and Lämmner, Ch.** (1990). Purification and partial characterization of a Cohemolysin (CAMP-factor) produced by *Streptococcus canis*. FEMS Microbiol. Immunol. 64,97-102.
52. **Christie, R., Atkins, N.E. and Munch-Peterson, E.** (1944) A note on a lytic phenomenon shown by group B streptococci. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 22, 197-200.
53. **Darling, L.C.** (1975) Standardization and evaluation of the CAMP reaction for the prompt presumptive identification of *Streptococcus agalactiae* (Lancefield group B) in clinical material. J. Clin. Microbiol. 1, 171-174.
54. **Lämmner, Ch., Gürtürk, K. and Blobel, H.** (1987). CAMP-like reactions of group G streptococci from dogs. Med. Sci. Res. 15,217-218.
55. **Facklam, R.R.** (1985) Manual of Clinical Microbiology. Fourth edition. Washington. U.S.A.
56. **Arda, M.** (1997) Temel Mikrobiyoloji Ders Kitabı. Medisan Yay. No:25.Ankara.
57. **Rosner, R.** (1977) Laboratory evaluation of a rapid four-hour serological grouping of grouping of groups-A,-B,-C and -G β -streptococci by the Phadebact streptococcus test. J. Clin. Microbiol. 6:23-26.
58. **Harrigan, W.F. and McCance, M.E.** (1976) Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Revised ed. Academic press. London.
59. **Martel, J.L., Perin Coulliad, L. and Vaissaire, J.** (1985) Evolution of bovine streptococcal mastitis. Sci. Vet. Med. Comp., 87: 33-34.
60. **Strehle, U.** (1984) Occurrence of subclinical bovine mastitis in the Stuttgart region, particularly that caused by streptococci. Inau.Diss., München.
61. **Hogan, J.S. Smith, K.L., Todhunter, D.A. and Schoenberger, P.S.** (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.
62. **Schaufuss, P., Lammner, C. and Blobel, H.** (1986) Rapid diferantiation of streptococci isolated from cows with mastitis. J. Clin. Microbiol. 24:1098-1099.
63. **Dajani, A.S.** (1973) Rapid identification of beta haemolytic streptococci by counterimmunoelectrophoresis. J. Immunol. 110:1702-1705.

64. **Banzhaf, K. and Walser, K.** (1988) Identification of *Streptococcus agalactiae* with latex agglutination test and CAMP test. *Tierärztliche-Umschau.*, 43: 444, 447-449.
65. **Inzana, T.J. and Iritani, B.** (1989) Rapid detection of group C streptococci from animals by latex agglutination. *J. Clin. Microbiol.* 27: 2, 309-312.
66. **Watts, J.L. and Owens, W.E.** (1988) Evaluation of the rapid mastitis test for identification of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mammary glands. *J. Clin. Microbiol.* 26: 4, 672-674.

ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında Siirt'te doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Van'da tamamladı. 1989 yılında liseyi birincilikle bitirdi. 1990 yılında girdiği Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 1995 yılında Veteriner Hekim olarak mezun oldu. Aynı yıl 8 aylık askerlik görevini yerine getirerek, Eylül 1996'da Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Öğrenimine Başladı. Ekim 1996 - Ekim 1997 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Araştırma Görevliliği yaptı. Kasım 1997'de Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevliliğine başladı. Şubat 1998'de Yüksek Lisans Öğrenimini tamamlayarak mezun oldu.