

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN
STREPTOCOCCUS AGALACTIAE İZOLATLARININ
SEROTİPLENDİRİLMESİ VE
ST-17 KLONUNUN ARAŞTIRILMASI**

Eda YAZICI ÖZÇELİK

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Mikrobiyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

KOCAELİ
2018

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İDRAR ÖRNEKLERİNDEN İZOLE EDİLEN
STREPTOCOCCUS AGALACTIAE İZOLATLARININ
SEROTİPLENDİRİLMESİ VE
ST-17 KLONUNUN ARAŞTIRILMASI**

Eda YAZICI ÖZÇELİK

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Mikrobiyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Zeynep Gülden SÖNMEZ TAMER

Destekleyen Kurum: Kocaeli Üniversitesi BAP yüksek lisans destek program
Proje No: 2017/045

KOCAELİ

2018

KABUL ve ONAY

KABUL ve ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

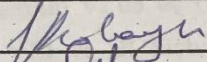
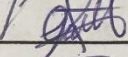
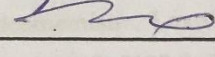
Tez Adı: İdrar örneklerinden izole edilen *Streptococcus agalactiae* izolatlarının serotiplendirilmesi ve ST-17 klonunun araştırılması

Tez yazarı: Araş. Gör. Eda YAZICI ÖZÇELİK

Tez savunma tarihi: 22.06.2018

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zeynep Gülden SÖNMEZ TAMER

Bu çalışma, sınav kurulumuz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI olarak kabul edilmiştir.

SINAV KURULU ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI-SOYADI	
BAŞKAN	Prof. Dr. Fatma Kolaylı	
ÜYE (DANIŞMAN)	Prof. Dr. Zeynep Gülden Sönmez Tamer	
ÜYE	Prof. Dr. Zerrin Aktaş	
ÜYE		
ÜYE		

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.... /.... /2018

Prof. Dr. SEMA KEÇELİ
KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

İdrar Örneklerinden İzole Edilen *Streptococcus agalactiae* İzolatlarının Serotiplendirilmesi ve ST-17 Klonunun Araştırılması

Amaç: Çalışmamızda, idrar yolu enfeksiyonu etkeni olarak tanımlanan *S. agalactiae* izolatlarının kapsül polisakkaritlerine göre polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile serotiplendirilmesi, ST-17 klonunun araştırılması, çıkan sonuçların hasta profili ve antibiyogram duyarlılıkları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: İdrar yolu enfeksiyon etkeni olarak tanımlanan 120 *S. agalactiae* izolatı, multipleks PZR yöntemi ile serotiplendirilmiştir. PZR metodu ile ST-17 klonu araştırılmıştır. Ayrıca izolatların penisilin, vankomisin, levofloksasin, tetrasiklin, klindamisin, eritromisin antibiyotiklerine duyarlılıkları ve fenotipik olarak indüklenebilir klindamisin direnci araştırılmıştır.

Bulgular: Serotip III'te 39 (%32,5), serotip Ia'da 23 (%19,2), serotip V'de 21 (%17,5), serotip Ib'de 18 (%15), serotip II'de 15 (%12,5), serotip VI'da üç (%2,5) ve serotip IV'de bir (%0,8) izolat tanımlanmıştır. Serotip VII, VIII ve IX hiçbir izolatta saptanmamıştır. Hipervirulan klon ST-17, 15 suşta saptanmış ve en çok gebelerden izole edilmiştir. Penisilin ve vankomisin antibiyotiğine direnç gözlenmemiştir. Levofloksasin, tetrasiklin, klindamisin ve eritromisin antibiyotiklerine sırasıyla %22,5, %98,8, %38,4 ve %27,5 direnç saptanmıştır. İndüklenebilir klindamisin direnci 31 izolatta bulunmuştur. Gebe, diyabet ve kronik böbrek hastaları GBS enfeksiyonunun en sık rastlandığı gruplar arasındadır. Serotip III ve V'in tetrasiklin, levofloksasin klindamisin ve eritromisin antibiyotiklerine duyarlılığı karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$).

Sonuç: Yeni serotiplerin ortaya çıkması, saptanamayan izolatlar, serotiplerdeki değişim ve kaymalar bu alandaki ilerlemeyi güçleştirmektedir. Ulaştığımız kaynaklara göre ülkemizde, *S. agalactiae* serotiplerinin ve ST-17 klonunun PZR yöntemi ile araştırılması ilk kez bu çalışmada yapılmıştır. Ancak bu alanda daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: *Streptococcus agalactiae*, serotip, ST-17, PZR.

*Tez çalışması Kocaeli Üniversitesi BAP yüksek lisans destek programı tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2017/045).

ABSTRACT

Serotyping of *Streptococcus agalactiae* Isolates Isolated from Urine Specimens and Investigation of ST-17 Clone

Aim: In our study, it was aimed to determine *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*) serotypes by polymerase chain reaction (PCR), investigate ST-17 clone and compare the results with patient profile and antibiogram susceptibility according to capsular polysaccharides of isolates of *S. agalactiae* which are defined as urinary tract infection agent.

Metod: A total of 120 isolates of *S. agalactiae*, defined as urinary tract infections, were serotyped by the multiplex PZR method. ST-17 clone was investigated by the PCR method. In addition, susceptibilities of isolates to penicillin, vancomycin, levofloxacin, tetracycline, clindamycin, erythromycin antibiotics and phenotypically inducible clindamycin resistance were investigated.

Results: As a result of typing with PCR, 39 (32.5%) of serotype III, 23 (19.2%) of serotype Ia, 21 (17.5%) of serotype V and 18, 15 (12.5%) of serotype II, 3 (2.5%) of serotype VI and one (0.8%) of serotype IV were identified. Serotypes VII, VIII and IX were not found on any isolates. The hyperviruled clone ST-17 was identified in 15 strains and was isolated from most of the pregnant. No resistance to penicillin and vancomycin antibiotics was observed. Resistance of levofloxacin, tetracycline, clindamycin and erythromycin to antibiotics was 22.5%, 98.8%, 38.4% and 27.5% respectively. Inducible clindamycin resistance was found in 31 isolates. Pregnancy, diabetes, and chronic kidney disease are among the most frequent groups of GBS infections. Serotypes III and V were compared with tetracycline, levofloxacin clindamycin and erythromycin antibiotics susceptibility and statistically significant differences were found ($p < 0.05$).

Conclusions: The emergence of new serotypes, undetectable isolates, drifts and shifts in serotypes make progress in this area difficult. According to the sources we have reached, the first study of *S. agalactiae* serotypes and ST-17 clones by PZR method was performed in this study. However, this field requires more extensive research.

Key words: *Streptococcus agalactiae*, serotypes, ST-17, PCR.

*This thesis was supported by Kocaeli University BAP Graduate Support Program Project (No:2017/045).

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın her aşamasında bana yol gösteren, eğitimim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen, anlayış ve hoşgörüsüyle desteğini her daim hissettiğim tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Zeynep Gülden SÖNMEZ TAMER'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimde emeği geçen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Fetiye KOLAYLI, Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ, Prof. Dr. Fatma BUDAK, Prof. Dr. Sema Keçeli, Prof. Dr. Zeki YUMUK, Prof. Dr. Devrim DÜNDAR ve Yard. Doç. Dr. Erdener BALIKÇI'ya desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tezimdeki istatistik çalışmalarında bana zaman ayıran Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Canan BAYDEMİR'e,

Çalışmamızda serotiplerin belirlenmesi için kullanılan pozitif kontrolleri bizimle paylaşan Oslo Üniversitesi (Norveç), Klinik Tıp Enstitüsün'den Prof. Dr. Anne Karin Brigtsen ve ekibine desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında görev yapan ekip arkadaşlarım Uzm. Dr. Serpil GENÇ, Dr. Zehra DUYMAZ, Dr. Melike KURT, Dr. Melike DEMİR, Dr. Elif OKUMUŞ, Araş. Gör. Hüseyin UZUNER, Dr. Ufuk AKBAYIRLI ve deney aşamasında yardımını esirgemeyen Araş. Gör. Doğanhan Kadir ER'e teşekkür ederim.

Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakteriyoloji ve Parazitoloji Laboratuvarında, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı II'de çalışan personellere de teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen bugünlere gelmemde sonsuz emekleri olan ailem sevgili annem Ayşe, babam Kemal ve ablam Selda YAZICI'ya teşekkür ederim.

Son olarak bu süreçte hep yanımda olan çalışmalarımın her basamağında en büyük destekçim, hayat arkadaşım, sevgili eşim Emrah ÖZÇELİK'e sonsuz sabrı, desteği, sevgisi ve anlayışı için teşekkür ederim.

TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

Tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, çizim, çizelge ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimin herhangi bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir İntihal Programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.

19/06/2018

Eda YAZICI ÖZÇLİK

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÇİZİMLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Streptococcaceae	1
1.2. Streptokokların Sınıflandırılması	1
1.2.1. Grup B Streptokoklar (<i>S. agalactiae</i> , GBS)	2
1.2.2. <i>S. agalactiae</i> Tanımlanması	3
1.2.2.1. Morfolojik Özellikleri	3
1.2.2.2. CAMP Testi	3
1.2.2.3. Hippurat Testi ve Eskulin Hidroliz Testi	3
1.3. <i>S. agalactiae</i> Serotipleri	3
1.4. Sekans Tipleri ve Hipervirulan ST-17 Klonu	4
1.5. <i>S. agalactiae</i> Virulans Faktörleri	5
1.6. GBS Enfeksiyonları	8
1.6.1. Yenidoğan Enfeksiyonu	8
1.6.2. Gebelerde GBS Enfeksiyonu	9
1.6.3. Yetişkin Enfeksiyonu	10
1.6.4. İdrar Yolu Enfeksiyonu	11
1.7. Hastalık Kontrolü ve Korunma	12
2. AMAÇ	14
3. YÖNTEM	15
3.1. Etik Kurul Onayı	15
3.2. Suşların Toplanması	15
3.3. Besiyeri ve Tampon Çözeltilerin Hazırlanması	15
3.3.1. %5 KKA	15
3.3.2. Triptik Soy Broth (TSB)	15

3.3.3. %15 Gliserol İçeren Triptik Soy Broth Saklama Besiyeri	16
3.3.4. Tris HCl	16
3.3.5. EDTA	16
3.3.6. Tris-Asetik Asit-EDTA (TAE)	16
3.4. DNA İzolasyonu	16
3.5. Serotiplerin ve ST-17 Klonunun Belirlenmesi	17
3.5.1. Primerler	17
3.5.2. PZR	19
3.5.3. DNA Dizi Analizi	22
3.6. Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi	22
3.6.1. Disk Diffüzyon Yönteminin Uygulanması	22
3.6.2. Broth Mikrodilüsyon Yönteminin Uygulanması	23
3.6.2.1. Besiyerinin Hazırlanması	23
3.6.2.2. Mikrodilüsyon Yönteminin Uygulanması	24
4. BULGULAR	26
4.1. <i>S. agalactiae</i> Serotipleri	27
4.2. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları	32
4.3. ST-17 Klonunun Dizileme Sonucu	34
4.4. Hasta Verilerinin Karşılaştırılması	35
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	40
KAYNAKLAR DİZİNİ	42
ÖZGEÇMİŞ	48
EKLER	50
Ek 1. Tez Denetleme Listesi	50
Ek 2. Etik Kurul Onayı	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

KOÜ GOKAEK: Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

ATCC: American Type Culture Collection

CAMP: Christie-Atkins-Munch-Petersen

MHB: Muller Hinton Broth

TSB: Triptik Soy Broth

KKA: Koyun Kanlı Agar

LHB: Lysed Horse Blood

EDTA: Etilendiamin Tetraasetik Asit

TAE: Tris- Asetat- Etilendiami Tetraasetik Asit

PBS: Phosphate Buffered Saline

DNA: Deoksiribonükleik Asit

rRNA: Ribozomal Ribonükleik Asit

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PFGE: Pulsed-Field Gel Electrophoresis

MİK: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu

MLEE: Multilokus Enzim Elektroforezi

MLST: Multilokus Sekans Tiplendirmesi

bç: Baz Çifti

Tm: Erime Sıcaklığı

Rpm: Revolutions Per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)

İYE: İdrar Yolu Enfeksiyonu

GBS: Grup B Streptokok

ST-17: Sekans Tip 17

CO₂: Karbokdioksit

dH₂O: Distile Su

NaCl: Sodyum Klorür

NaOH: Sodyum Hidroksit

HCl: Hidrojen Klorür

ÇİZİMLER DİZİNİ

Çizim 3.1. ELISA plaklarında penisilin MİK değerinin belirlenmesi.	25
Çizim 4.1. Hastaların yaşlara göre dağılımı.....	26
Çizim 4.2. <i>S. agalactiae</i> serotiplerine ait pozitif kontroller ve örnek hastalar.....	28
Çizim 4.3. <i>S. agalactiae</i> suşlarının serotiplerine ait jel görüntüleri.....	30
Çizim 4.4. ST-17 klonuna ait jel görüntüleri (* ST-17).....	30
Çizim 4.5. Örnek disk difüzyon görüntüsü.	32



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. <i>S. agalactiae</i> virulans faktörlerinin özellikleri. Landwehr- Kenzel ve Henneke (2014)'den alınmıştır.....	7
Çizelge 3.1. <i>S. agalactiae</i> serotiplerine ait primer adları, primer dizileri, erime sıcaklıkları ve moleküler ağırlıkları.	18
Çizelge 3.2. ST-17 klonuna ait primer adları, primer dizileri, erime sıcaklıkları ve moleküler ağırlıkları.	19
Çizelge 3.3. <i>S. agalactiae</i> serotiplerinin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı.....	20
Çizelge 3.4. <i>S. agalactiae</i> pozitif ID numaraları.	20
Çizelge 3.5. ST-17 klonunun saptanmasında kullanılan PZR karışımı.....	21
Çizelge 3.6. Antibiyotikler ve sınır değerleri (CLSI, 2016).....	23
Çizelge 3.7. Penisilin antibiyotiğinin MİK değeri.	25
Çizelge 4.1. Hastaların cinsiyet ve yaş dağılımları.	27
Çizelge 4.2. Hastaların demografik dağılımı.....	27
Çizelge 4.3. <i>S. agalactiae</i> serotiplerinin görülme sıklığı.	28
Çizelge 4.4. Hastaların <i>S. agalactiae</i> serotiplerine göre dağılımı.	31
Çizelge 4.5. <i>S. agalactiae</i> serotip III'de ST-17 klonu olarak saptanan hastaların demografik bilgileri.	31
Çizelge 4.6. <i>S. agalactiae</i> izolatlarının broth mikrodilüsyon yöntemi ile penisilinin MİK değerleri.....	33
Çizelge 4.7. <i>S. agalactiae</i> izolatlarının Kirby – Bauer Disk Difüzyon yöntemi antibiyogram sonuçları.	34
Çizelge 4.8. ST-17 klonunun dizi analizi sonucunun değerlendirilmesi.....	34

1.GİRİŞ

1.1. Streptococcaceae

Streptococcaceae ailesinden, Streptococcus cinsi bakteriler tıbbi ve endüstriyel alanda önemli gram pozitif bakteri grubudur. Streptokoklar, sıvı besiyerinde üretildiklerinde zincirler veya çiftler oluşturan, hareketsiz, sporsuz ve kok şekilli bakterilerdir. Diğer gram pozitif koklardan katalaz ve oksidaz negatif olma özelliği ile ayrılabilirler. Çoğu tür fakültatif anaeroptur. *Streptococcus pneumoniae* %5 CO₂ içeren ortamda daha iyi gelişmektedir. En iyi üreme sıcaklığı türden türe değişmekle birlikte genellikle 37°C'dir. Glukoz ve diğer karbonhidratların fermantasyonu sonucu başta laktik asit olmak üzere asetik asit, formik asit, etanol ve karbodioksit oluşturmaktadır. Streptococcaceae ailesi içinde Enterococci ve Lactococci, Streptococci cinsine en yakın üyelerdir.

Hücre duvar yapısı incelendiğinde, klasik gram pozitif bakterilerle benzerlik göstermektedir. Hücre duvarı karbonhidratlar, teikoik asit, lipoprotein ve hücre duvarına tutunan yüzey protein antijenlerinden oluşmaktadır. Streptococcus türleri arasındaki farklılık bu maddelerin değişkenliklerinden kaynaklanmaktadır (Michon ve diğ. 1987a, Michon ve diğ. 1988b).

1.2. Streptokokların Sınıflandırılması

1- Hemoliz özelliklerine göre sınıflandırma:

Brown sınıflandırmasına göre Streptococcus cinsi bakteriler koyun kanlı besiyerinde oluşturdukları hemoliz özelliklerine göre sınıflandırılır. Günümüzde hala kullanılan bu sınıflandırmada üç grup bulunmaktadır:

- Beta Hemolitik Streptokoklar: Koyun kanlı besiyerinde üretildiklerinde koloni çevresinde eritrositlerin tümünün parçalanması β hemoliz olarak tanımlanmaktadır. Koloni çevresinde temiz bir zon oluşur. Bu zonun büyüklüğü türden türe, ortam şartlarına göre değişim göstermektedir.

- Alfa Hemolitik Streptokoklar: Koyun kanlı besiyerinde üretildiklerinde koloni çevresindeki eritrositlerin tamamen parçalanmaması alfa hemoliz olarak tanımlanmaktadır. Koloni çevresinde yeşilimsi bir zon oluşmaktadır.

- Gama Hemolitik (Hemolitik olmayan) Streptokoklar: Koloni çevresinde hemoliz oluşmamaktadır. Bu bakteriler aynı zamanda 'nonhemolitik' olarak da adlandırılmaktadır.

Bakterinin oluşturduğu hemoliz besiyerinin özelliğine, kullanılan kırmızı kan hücrelerin miktarına ve bakterinin üretildiği ortama göre değişim gösterebilmektedir (Baron 1996).

2- Sherman sınıflandırılması:

Sherman 1930'lu yıllarda bakterilerin fizyolojik özelliklerine göre Streptokokları sınıflandırmıştır. Bu sınıflandırma bakterilerin hemoliz özelliklerinin yanı sıra 10°C ve 45°C sıcaklıkta üreme yetenekleri, %6,5 NaCl'de üreyebilmeleri, pH 9,6 ve %0,1'lik metilen mavisi bulunan ortamda üremeleri gibi farklı fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre dört gruba ayrılmıştır. Daha sonraları yapılan araştırmalarla, Streptokoklar'ın 16S rRNA dizi analizlemesiyle yedi grubu ayrıldığı ortaya konmuştur. Bunlar:

- 1) Piyojenik grup
- 2) Mitis grubu
- 3) Mutans grubu
- 4) Anginous grubu
- 5) Salivarius grubu
- 6) Bovis grubu
- 7) Miscellaneous Streptococci grubu (Sherman 1937)

3- Antijen yapılarına göre sınıflandırılması (Lancefield sınıflandırması)

Rebecca Lancefield, 1928 yılında bu aileye ait üyeleri β hemolitik streptokokların hücre duvarında bulunan karbonhidrat antijenlerine göre serolojik olarak sınıflandırmıştır. Günümüzde de hala kullanılan bu sınıflandırma 'Lancefield gruplandırması' olarak adlandırılmaktadır. Alfabetik olarak sıralanan bu gruplandırmada 'A-H' ve 'K-V' olarak 20 farklı grup bulunmaktadır (Lancefield 1933).

Lancefield sınıflandırmasına göre *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*) B grup Streptokok olarak adlandırılmaktadır.

1.2.1. Grup B Streptokoklar (*S. agalactiae*, GBS)

S. agalactiae, Lancefield sınıflandırmasına göre 'Grup B Streptococcus', gastrointestinal ve genitoüriner sistemde kommensal olarak yaşayan gram pozitif bir bakteridir. Nocard-Mollerau tarafından 1887 yılında ilk kez izole edilmiştir ve 19. yüzyılın başlarında sığır mastit etkeni olarak saptanmıştır. Daha sonraları yenidoğanda, hamilelerde ve yetişkinlerde de enfeksiyona neden olduğu görülmüştür. Özellikle yenidoğanda sepsis, pnömoni ve menenjit gibi invaziv enfeksiyon oluşturmaktadır (Stevens ve Kaplan 2000).

1.2.2. *S. agalactiae* Tanımlanması

1.2.2.1. Morfolojik Özellikleri

Streptococcus ailesinden *S. agalactiae* katalaz negatif, zorunlu anaerobik ve gram pozitif bakteri türüdür. Kanlı besiyerinde üretildiklerinde çoğunlukla morfolojik olarak gri-beyaz ve hafif mukoid görünümlü koloniler oluştururlar. Kanlı besiyerinde koloni çevresinde oluşan ya da bazen sadece koloni kaldırıldığında altında görülen hemoliz zonu bulunması ile tipik bir β hemoliz özellikleri vardır. Ancak bazı izolatlarda nonhemoliz ya da alfa hemoliz de görülebilmektedir. Sıvı besiyerinde üretildiklerinde ya da hasta örneklerinden incelendiklerinde zincir yapmış koklar şeklinde görülür (Koneman ve diğ. 2017).

1.2.2.2. CAMP Testi

CAMP (Christie-Atkins-Munch-Petersen) faktörü, *S. agalactiae*'nın diğer Streptococcus ailesine ait türlerden ayrımını sağlar. Koyun kanlı besiyerinde uygulanan bir testtir. *S. agalactiae* tarafından üretilen CAMP faktörü ile, *Staphylococcus aureus* tarafından üretilen sfingomiyelinaz enziminin oluşturduğu biyokimyasal bir reaksiyondur. Sfingomiyelinaz enzimi eritrositlerin hücre membranında bulunan sfingomiyelini seramide hidroliz eder ve *S. agalactiae* tarafından üretilen CAMP faktörüne eritrositin duyarlı olmasını sağlar (Lang ve Palmer 2003).

1.2.2.3. Hippurat Testi ve Eskulin Hidroliz Testi

Hippurat testi Grup B Streptokok izolatlarının tanımlanmasında kullanılmaktadır. *S. agalactiae* hippurati hidrolize ederek glisin oluşturmaktadır. Grup B Streptokok diğer streptokoklardan ayrılırken eskülin hidroliz testi de kullanılmaktadır. Enterokoklar, eskülini hidrolize edebilirken, Grup B Streptokoklar eskülini hidrolize edemezler (Hwang ve Ederer 1975).

1.3. *S. agalactiae* Serotipleri

S. agalactiae kapsül polisakkarit antijenlerine göre serogruplara ayrılmaktadır. Lancefield sınıflamasına göre on serotip (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII ve IX) tanımlanmıştır (Brimill ve diğ. 2006). Slotved ve diğ. (2007) tiplendirilemeyen *S. agalactiae* suşlarını moleküler yöntemlerle yaptıkları çalışmalar sonucunda serotip Ib, V

ya/ya da IV arasındaki rekombinasyon ve/veya mutasyon sonucu oluştuğu düşünülen ‘serotip IX’ olarak bildirilenmiştir.

S. agalactiae serotipleri lateks aglütinasyon, polimeraz zincir reaksiyonu ve DNA-blot sistemi gibi biyokimyasal ya da moleküler metodlar ile saptanabilmektedir (Imperi ve diğ. 2010).

Farklı coğrafik bölge, ırk, cinsiyet ve altta yatan hastalıklar *S. agalactiae* enfeksiyonunun ve serotiplerinin dağılımını etkilemektedir. Farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda Amerika ve Avrupa’da serotip Ia, II, III ve V, Japonya’da VI ve VIII, Çin’de III, Ia, Ib, V, Afrika’da III, V ve Ib serotipleri daha sık görülmektedir. Serotip Ia, Ib, II, III ve IV’ün yenidoğan enfeksiyonlarının %96’sından, yetişkin enfeksiyonlarının ise %88’inden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Hickman ve diğ. 1999, Lachenauer ve diğ. 1999, Wang ve diğ. 2015, Belard ve diğ. 2015).

1.4. Sekans Tipleri ve Hipervirulan ST-17 Klonu

S. agalactiae suşlarının çeşitliliği DNA ve protein yapılarındaki farklılıklara göre farklı metodlar ile analiz edilebilmektedir. Bunlar arasında microarray, DNA-blot hibridizasyon, pulse-field jel elektroforezi (PFGE), multi lokus enzim elektroforezi (MLEE) ve multi lokus sekans tiplendirmesi (MLST) yöntemleri bulunmaktadır. MLST ile klonlar arasındaki filogenetik ilişki de araştırılmaktadır. Bu metod yedi korunmuş genin yaklaşık 500 bç’lik parçalarını dizilemeye yönelik moleküler bir yöntemdir.

MLST metodu ile *S. agalactiae*’nın yaklaşık 500 sekans tipi (<http://pubmlst.org/sagalactiae/>) bulunmaktadır. ST-17 klonu, yenidoğan menenjitisi ile ilişkilidir. Bu etkisi nedeniyle ‘hipervirulan klon’ olarak tanımlanmaktadır. ST-17 klonuna özgü yüzey proteini olan HvgA önemli bir virulans faktörüdür. HvgA ve BibA proteinleri içeren ST-17 ve ST-23 klonları ile yapılan hücre kültürü çalışmalarında ST-17 klonunun intestinal epitelyal hücrelere, kan-beyin bariyeri ile ilişkili hücrelere, beyin primer mikrokapiller endotel hücrelere ve koroid pleksus epitelyal hücrelere çok daha etkili bağlandığı görülmüştür. HvgA proteininin intestinal hücre ve kan-beyin bariyerindeki hücrelere özgü olduğu düşünülmektedir. ST-17 klonal grupta *PI-2b* ekspresyonunun düzenlenmesi konakda yayılma potansiyelini artırırken aynı zamanda konakçı immün yanıtının azalmasına da neden olmaktadır (Jones ve diğ. 2003, Sørensen ve diğ. 2010, Tazi ve diğ. 2010, Bellais ve diğ. 2012, Perichon ve diğ. 2017).

1.5. *S. agalactiae* Virulans Faktörleri

Kapsül, *S. agalactiae*'nin önemli bir virulans faktörüdür. Kapsül yapısı glukoz, galaktoz, N-asetilglukozamin ve N-asetilnörominik asit (siyalik asit) bileşenlerinden oluşmaktadır. Siyalik asit kapsül bileşeninde bulunur ve virulansta görevlidir (Koneman ve diğ. 2017, Slotvet ve diğ. 2007, Brigtsen ve diğ. 2015). Kapsül, özellikle yapısındaki siyalik asitin etkisiyle, bakterinin etrafını sararak fagositozdan korunmasını, kompleman sistemden ve opsonofagositozdan kaçmasını sağlamaktadır (Rajagopal 2009, Toniolo ve diğ. 2015, Wessels ve diğ. 1989, Schuab ve diğ. 2015).

β -Hemolizin/ Sitolizin, *S. agalactiae*'da bulunan β -hemolizin konak hücre bariyerini parçalayarak bakterinin yayılmasını neden olur. Özellikle akciğer epitelinin, endotel hücrenin ve kan-beyin bariyerinin aşılmasında önemli bir etkisi bulunmaktadır. Üriner sistem enfeksiyonunun patogeneğinde β -hemolizin/sitolizinin mesane hücrelerine bağlanmada, invazyonda ve inflamasyon oluşumunda önemli rolü olduğu bilinmektedir (Rose-Fraileve diğ. 2014, Leclercg ve diğ. 2016).

Hyalurinidaz, *hylB* geni tarafından üretilen enzim konak hücrenin ekstraselüler matriksinde bulunan hyaluronik asiti parçalayarak kolonizasyonu ve invazyonu sağlamaktadır (Vorngahen ve diğ. 2017).

Lipoteikoik asit, konakta enfeksiyon oluşturmada önemli bir virulans faktördür. İnsan monositleri için sitotoksiktir. TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini indükleyerek inflamasyona neden olmaktadır. Sitotoksik etki ile adezyon, invazyon ve konak bağışıklığından korunabilmektedir (Tan ve diğ. 2011).

C5a peptidaz, *scpB* tarafından eksprese edilen korunmuş bakteri yüzey proteindir. Kompleman sistemdeki C5a, bakteri tarafından salgılanan C5a peptidaz proteini ile inaktif hale getirilir. Aynı zamanda enfeksiyon bölgesine inflamatuvar hücre göçünü de engellemektedir (Brown ve diğ. 2005, Santillan ve diğ. 2008). C5a peptidaz enzimini üreten *S. agalactiae* fibronektin laminin gibi konak hücre yüzey proteinlerine bağlanarak kolonizasyon, adezyon ve invazyonu kolaylaştırmaktadır (Cheng ve diğ. 2002, Beckmann ve diğ. 2002).

Pigment, *cylE* geni tarafından üretilen *S. agalactiae*'ya ait turuncu bir pigmenttir. Pigment bakteriyi, fagositer hücrelerde bulunan süperoksit radikallerinden koruyarak virulansa katkı sağlamaktadır (Liu ve diğ. 2004, Rose-Fraile ve diğ. 2014).

Pili kodlayan genler, *Pilus Island PI-1*, *Pilus Island PI-2a* ve *Pilus Island PI-2b* olmak üzere üç farklı adacıktır. Her suşta en az bir adacık bulunmaktadır. İlk defa gram pozitif bakterilerde biyofilm çalışmaları sırasında *Streptococcus pyogenes*'de pili yapısı ve

patogeneze katkısı gösterilmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalarla *S. agalactiae*'nin da pilus adacıklarına sahip olduğu görülmüştür. Konak epitel hücreindeki kollojen, fibrinojen, fibronektin ve ekstraselüler matriks elemanlarına bağlanarak virulansa yardımcı olmaktadır (Rosini ve Margarit 2015, Vornhagen ve diğ. 2017, Lazzarin ve diğ. 2017, Patras ve Nizet 2018). Ayrıca pili ve kapsül yapısı virulans özelliğinde olup biyofilm oluşumunda önemli katkı sağlamaktadır (Shabayek ve Spellerberg 2018).

Hücre yüzey proteinlerinin birçoğunun adezyon ve invazyondan sorumlu olduğu bilinmektedir. Serine-rich repeat (Srr) glikoprotein, gram pozitif bakterilerde bulunan bir yüzey proteindir. Pili gibi adezyon ve invazyondan sorumlu virulans özellik gösterir. Endotel hücre, epitel hücre, fibrinojen ve keratin gibi insanda çok farklı hücre ve moleküllere bağlanabilmektedir. Ayrıca menenjit, endokardit ve bakteriyemi gibi birçok enfeksiyonun oluşumundan da sorumludur. Fonksiyonel olarak benzer iki Srr proteinini tanımlanmıştır. Srr-1'in Ia, Ib, V, III serotiplerinde, Srr-2'nin ise serotip III ve ST-17 klonuna özgü olduğu ve yenidoğan enfeksiyonunda önemli bir virulans özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. ST-17 klonunda Srr proteininin dışında adezinden sorumlu barsak duvarını ve kan beyin bariyerini aşabilen yüksek virulans özellik gösteren bir diğer protein HvgA'dır (Seifert ve diğ. 2006, Rajagopal 2009, Sheen ve diğ. 2011, Landwehr-Kenzel ve Henneke 2014, Pyburn ve diğ. 2011, Vornhagen ve diğ. 2017).

Srr glikoproteini ve pilus dışında *S. agalactiae*'da virulanstan sorumlu birçok yüzey proteini de bulunmaktadır. İnvazyonda görev alan α -C proteini (bca), konakta IgA'ya bağlanarak konak bağışıklık sisteminden kaçmaya yarayan β -C proteini (bca), invazyonda ve menenjit oluşumunda önemli görevi olan invazyonla ilişkili protein (iagA) bulunmaktadır. Özellikle servikal ve akciğer epitel hücrelerine bağlanabilen immünojenik bakteriyel adezin (BibA) immün sistemden kaçışdan, fibronojen bağlayıcı protein A (FbsA) adezyondan, fibrinojen bağlayıcı protein B (FbsB) ise konak hücreye invazyondan sorumludur. Ayrıca laminin bağlayıcı protein (lmb) gibi farklı konakta farklı bölgelere bağlanıp virulansa katkı sağlayan proteinler de vardır (Kong ve diğ. 2006, Persson ve diğ. 2008, Eskandarian 2015). Virulans özellikleri Çizelge 1.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.1. *S. agalactiae* virulans faktörlerinin özellikleri. Landwehr- Kenzel ve Henneke (2014)'den alınmıştır.

	Kolonizasyon	Adezyon	İnvazyon	İmmun sistemden kaçma	Nörotropizm
Fibrinojen bağlayıcı protein A (FbsA)	+	+			
Fibrinojen bağlayıcı protein B (FbsB)			+		
Laminin bağlayıcı protein			+		+
Alfa C protein (bca)	+	+	+	+	
Serine rich repeat protein (Srr)	+	+	+		
Pili	+	+	+	+	+
Hipervirulan GBS adezin proteini (hvgA)	+	+	+	+	+
β -hemolizin/sitolizin (β -H/C)	+	+	+	+	+
Kapsüller polisakkarit				+	
C5a peptidaz				+	
GBS immünojenik bakteriyel adezin (BibA)				+	
IgA bağlayan β -antijen				+	

1.6. GBS Enfeksiyonları

S. agalactiae 19. yüzyılın ilk yarısından sonra Amerika'da yenidoğanlarda erken başlangıçlı enfeksiyonlarda yüksek mortalite ve morbiditeye neden olmuştur. Yenidoğanda yüksek oranda invaziv hastalık oluşturmasının sebebinin bu etkenin gebelerin %10-30'nun ürogenital ve gastrointestinal sisteminde kolonize olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Chaiwarith 2011, Murray ve diğ. 2009).

1.6.1. Yenidoğan Enfeksiyonu

Yenidoğanda oluşan enfeksiyon erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı enfeksiyon olarak sınıflandırılmıştır. Yenidoğanda oluşan *S. agalactiae* enfeksiyonu farklı coğrafik bölgelerde, farklı oranda görülmektedir (Johri ve diğ. 2013).

Erken başlangıçlı yenidoğan enfeksiyonu, vajen kolonizasyonu olan anneden bebeğe doğum esnasında solunum ile ya da vertikal yolla geçmektedir. Erken başlangıçlı enfeksiyon, yaşamının sıfır ile yedinci günü arasında değişen, çoğunlukla ilk 48 saatte ortaya çıkan enfeksiyondur. Amerika ve Avrupa başta olmak üzere birçok bölgede yüksek mortalite ve morbidite oranına sahiptir. Ancak, son 20 yıldır profilaksi uygulaması ile erken başlangıçlı enfeksiyonun önüne geçilmeye çalışılmaktadır (Clifford ve diğ. 2011, CDC 2010).

Gebelikte ikinci trimesterden sonra rutin tarama yapılması bebekte erken başlangıçlı enfeksiyonun önlenebileceğini göstermiştir (Schrag ve diğ. 2002). Erken başlangıçlı GBS enfeksiyonunda genellikle menenjit, septisemi ve pnömoni görülmektedir. Daha çok serotip Ia, Ib, II, III, V saptanmış ve serotip III'ün erken başlangıçlı menenjitin en yaygın nedeni olduğu bildirilmiştir. Özellikle klonal grup ST-23, ST-24 ve hipervirulan ST-17'nin erken başlangıçlı enfeksiyonla yakından ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Hipervirulan ST-17 klonunun sahip olduğu HvgA ve Srr2 adezin proteinlerinin virulansta önemli rol aldığı bilinmektedir (Six ve diğ 2015, Kolter ve Henneke 2017, Zimmerman ve diğ. 2017). Hastalıklardan kontrolü ve önlenmesi merkezi (Centers for Disease Control and Prevention- CDC) rehberinde hamilelerin GBS taşıyıcılığı için gebeliğin son dönemlerinde taramalarının yapılmasıyla ve profilaktik antibiyotik tedavisinin başlanmasıyla yeni doğanda erken başlangıçlı enfeksiyonun önlenebileceği bildirilmiştir (Verani ve diğ. 2010).

Yaşamın ilk yedi gün sonrası ve 90. günlerinde oluşan geç başlangıçlı enfeksiyon ise menenjit ve nörolojik sekellere neden olabilmektedir. Enfeksiyonun oluşumu hakkında net

bir bilgi olmasa da araştırmacılar enfeksiyonun gastrointestinal sistemdeki kolonizasyondan kaynaklandığını düşünmektedir. Yapılan araştırmalarda geç başlangıçlı enfeksiyonlarda sıklıkla III, Ia, V serotipleri saptanmıştır. Geç başlangıçlı enfeksiyonda menenjit ve septiseminin yanında selülit, osteomyelit ve septik artrit de görölmektedir. Anne sütünde *S. agalactiae* kolonizasyonu olabileceği de düşünölmektedir. Hala kesin olarak ortaya konmasa da geç başlangıçlı GBS enfeksiyonunun anne sütünden kaynaklanabileceği ya da bulaşın ağız yoluyla veya hastane kaynaklı enfeksiyon olabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Erken başlangıçlı enfeksiyonda olduğu gibi geç başlangıçlı enfeksiyonda da ST-17 yüksek oranda görölmektedir (Graham ve diğ. 2006, Elling ve diğ. 2014, Kolter ve Henneke 2017, Zimmerman ve diğ. 2017).

1.6.2. Gebelerde GBS Enfeksiyonu

Normal insan vajinal mikrobiyotası bir denge içindedir. Bu denge bakteriyel vajinozis ve üriner sistem enfeksiyonu gibi hastalıklardan korunmada önemlidir. Kadınlarda vajinal mikrobiyota farklılık göstermektedir. Gebelikte bu bakteriyel çeşitlilik azalmakta ve *Lactobacillus* türleri daha baskın olmaktadır. Gebelikte fırsatçı patojenlerin ortaya çıkması gibi vajinal mikrobiyomda olağan dışı değişiklikler anne ve yenidoğanda önemli problemlere neden olmaktadır (Roesch ve diğ. 2017). *S. agalactiae* hamile kadınların idrarında %2-7 oranında bulunmaktadır.

Sağlıklı kadınlardaki GBS kolonizasyonu zararsız olabilmesine rağmen hamilelerde ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Kadınlarda gebelik esnasındaki GBS kolonizasyonu erken doğum ve perinatal bulaşa yol açabilmektedir. Erken doğumlar genellikle enfeksiyon kaynaklı olup yaklaşık %10'una GBS enfeksiyonu neden olmaktadır. Gebelikteki GBS enfeksiyonu annenin, bebeğin ya da her ikisinin sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Amniyotik enfeksiyonun yayılımı ile annede sepsis, nadiren de menenjit de görölebilmektedir. Anneden bebeğe GBS geçişi, doğum esnasında doğum kanalından ya da enfekte olan amniyotik sıvının aspirasyonu ile olabilmektedir (Schuchat 1999, Verani ve diğ. 2010). Amerika ve birçok ölkede gebeliğin 35-37. haftaları arasında rutin olarak rektovajinal örneklerden tarama yapılmaktadır. Eğer hastaların rektovajinal kültürleri pozitif ise, idrarda GBS pozitifliği ya da perinatal GBS enfeksiyonu öyküsü varsa intrapartum proflaktik antibiyotik uygulaması başlanmaktadır (Vornhagen ve diğ. 2017).

1.6.3. Yetişkin Enfeksiyonu

GBS, 1930'lu yıllarda yenidoğan enfeksiyon etkeni olarak ortaya çıkmış, gebe ve bebek sağlığı açısından önemli bir patojen olarak görülmüştür. Ancak son yıllarda yapılan araştırmalar gösteriyor ki sadece yenidoğan ve gebelerde değil erkek ve gebe olmayan kadınlarda da ciddi enfeksiyon oluşturmaktadır. GBS enfeksiyonu sağlıklı kişilerde daha az sıklıkta görülürken, özellikle diyabet, kanser hastalarında, organ nakli olan hastalarda, karaciğer hastalarında, böbrek yetmezliği olan hastalarda, felçli hastalarda ve immün sistemi baskılanmış hastalarda daha sıklıkla görülmektedir. Ayrıca GBS enfeksiyonuna, 70 yaşından büyük kadın ve erkeklerde yaklaşık dört kat daha fazla rastlanmaktadır. Yapılan bir çalışmada 186 hastadan alınan toplam 197 örnek invaziv ve kolonize olan *S. agalactiae* açısından incelenmiştir. Bu hastaların %20,4'ünün diyabet, %14'ünün hematolojik olmayan malignansı olduğu ve %9,1'nin kronik böbrek hastası tanısı aldığı görülmüştür. Siroz, talesemi, nörolojik mesanesi olanlar ve hamilelerde daha az oranda saptanmıştır (Schuchat 1999, Farley ve Strasbaugh 2001, Johri ve diğ. 2006, Chaiwarith ve diğ. 2011, Piccinelli ve diğ. 2015, Saad ve diğ. 2017).

S. agalactiae yetişkinlerde sepsis, pnömoni, selülit ve artrit gibi yumuşak doku enfeksiyonuna ve asemptomatik bakteriüri, sistit, pyelonefrit, üretrit, ürosepsis gibi komplikasyonları içeren idrar yolu enfeksiyonuna neden olmaktadır (Schuchat 1999, Johri ve diğ. 2006, Johri ve diğ. 2013, Rosini ve Margarit 2015, Ruppen ve diğ. 2018).

GBS kaynaklı sepsis oluşumunda bakteri intestinal sistemden yayılmaktadır. Bakteri öncelikle kolonda, ince barsakta kolonize olmakta ve daha sonra epitelyal hücrelere geçmektedir. İmmün sistemden sahip oldukları virulans özellikleri ile kaçarak sepsise yol açmaktadır (Landwehr-Kenzel ve Henneke 2014).

Klinik olarak idrar yolu enfeksiyonu şüpheli tüm hastaların yaklaşık %2'sinin idrar örneklerinden GBS izole edilmiştir (Fabre ve diğ. 2007). GBS üriner sistemde semptomatik ya da asemptomatik olarak enfeksiyon oluşturabilmektedir. GBS kaynaklı asemptomatik bakteriüriye gebelerde yaygın olarak rastlanırken, sistit daha sık yaşlılarda ve bağışıklığı baskılanmış kişilerde görülmektedir. GBS üropatojenik olarak bilinmesine rağmen üriner sistem enfeksiyonlarında GBS'nin klinik ve mikrobiyolojik özelliği ve hangi GBS serotipinin enfeksiyon oluşturmaya daha yatkın olduğuna dair yeterli veri bulunmamaktadır. Üriner sistemdeki GBS enfeksiyonunun kliniği, diğer üropatojenlerin sebep olduğu üriner sistem enfeksiyonları ile benzerdir. Kadınlarda görülen üriner sistemdeki GBS kolonizasyonunun vajinadaki kolonizasyondan olabileceği ve burada asemptomatik olarak kalabileceği düşünülmektedir. Son zamanlarda yetişkinlerde (gebe

olmayan) GBS enfeksiyonu ile ilgili birçok araştırma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda 70 yaş üstü semptomatik üriner sistem enfeksiyonlu hastaların %39'unda GBS görüldüğü bildirilmektedir. Başka bir çalışmada ise yetişkinlerde GBS kaynaklı üriner sistem enfeksiyonunun tüm invaziv GBS enfeksiyonlarının üçte birini oluşturduğu vurgulanmaktadır (Edwards ve Baker 2005, Falagas ve diğ. 2006, Muller ve diğ. 2006, Ulett ve diğ. 2009).

GBS kaynaklı akut idrar yolu enfeksiyonunun patogenezi hakkında yeterli bilgi olmamasına karşın yüzey proteinlerinin, adezin moleküllerinin ve toksinlerin enfeksiyon patogenezine katkı sağladığı bildirilmektedir. *S. agalactiae* insan mesane üretelyal hücrelerine bağlanarak burada kolonize olabilmekte ve kolonizasyonu takiben interlökin-1 α üretimini indüklemektedir. Klinik olarak hastalardan izole edilen üropatojenik ve asemptomatik bakteriüriye sebep olan *S. agalactiae* örneklerinin, deney hayvanlarında patogenezinin incelenmesi ile üropatojenik *S. agalactiae*'nin daha adeziv, invaziv ve sitotoksik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Leclercq ve diğ. 2016).

İdrardan izole edilen *S. agalactiae* izolatlarının serotiplendirmesi yapılmış, serotip V, Ia ve III daha sık görülürken, serotip II, Ib ve IV'e daha az rastlanmıştır (Ulett ve diğ. 2009). Falagas ve diğ. (2006), beş yıllık süreçte 65 hastadan toplam 69 *S. agalactiae* suşu toplamışlar ve bu hastaların 34'ünün klinik bilgisine ulaşabilmişlerdir. Yapılan çalışmada 34 örneğin %56'sı idrardan izole edilmiştir. Alabama Üniversitesinde yapılan bir başka çalışmada üriner sistem enfeksiyonu geçiren çoğunluğu kadın 34367 hastadan toplanan idrar örneklerinin 387 (%1,1)'sinden *S. agalactiae* sorumlu tutulmuştur (Domingo ve diğ. 1997).

1.6.4. İdrar Yolu Enfeksiyonu

İdrarda bakteri bulunması bakteriüri olarak tanımlanır. İdrarın mililitresinde 10⁵'den daha fazla bakteri görülmesi bakteriüri için anlamlıdır. İdrar yolu enfeksiyonundan (İYE) dünya genelinde her yıl milyonlarca insan etkilenmektedir. İYE kadınlarda ve erkeklerde önemli morbiditeye neden olmaktadır. Pyelonefrit, erken doğum, küçük çocuklarda böbrek hasarı ve yüksek düzeyde antibiyotik direnci gibi önemli komplikasyonları da beraberinde getirmektedir.

İYE komplike ve komplike olmayan olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır. Komplike olmayan İYE özellikle yapısal ya da nörolojik anormallikleri bulunmayan sağlıklı bireylerde görülür. Bu tip enfeksiyonlar alt üriner (sistit) ve üst üriner sistem enfeksiyonu olarak ikiye ayrılır. Sistit mesane enfeksiyonu, piyelonefrit ise böbreğin

semptomatik enfeksiyonudur. Komplike İYE, idrar yolları veya nörolojik hastalıkların neden olduğu idrar retansiyonu, immünsüpresyon, böbrek yetmezliği, böbrek nakli, hamilelik ve kateterler gibi yabancı cisimlerin varlığı ile ilişkilidir. Komplike İYE idrar yolunu veya konakçı savunmasını tehlikeye sokan faktörler ile ilişkilidir (Foxman 2003, Lee ve Neild 2007, Flores-Mireles ve diğ. 2015, Schuab ve diğ. 2017).

1.7. Hastalık Kontrolü ve Korunma

Gebelerde GBS enfeksiyonu tanısında, anne-bebek sağlığının korunması açısından intrapartum proflaktik antibiyotik kullanılması CDC tarafından önerilmektedir (Verani ve diğ. 2010).

Penisilin, yetişkinlerde GBS enfeksiyonunda intrapartum antibiyotik profilaksisinde başvuru ilk antibiyotiktir. Alternatif olarak ampisilin de kullanılmaktadır. Penisilin de içinde bulunduğu β -laktam türevi antibiyotiklere allerjisi olan kişilerde tedavide ikinci olarak tercih edilen antibiyotik grubu makrolidlerdir. Tedavide ve korunmada florokinolonlar da önemli bir alternatiftir (Picinelli ve diğ. 2015, Belard ve diğ. 2015).

Ancak GBS enfeksiyonunun tedavi ve korunmasında antibiyotik kullanımının bakterilerde direnç gelişimini arttırdığı gözlenmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda Japonya ve Kuzey Amerika'da penisilin duyarlılığında azalma olduğu saptanmıştır. Ayrıca alternatif olarak kullanılan eritromisin, klindamisin gibi antibiyotiklere karşı duyarlılığın azaldığı bildirilmektedir (Kimura ve diğ. 2008, Cooper ve diğ. 2016).

Proflaksi ile yenidoğanda erken başlangıçlı enfeksiyon oluşumunda önemli oranda azalma olduğu bildirilmiştir (Zhao ve diğ. 2008). Ancak geç başlangıçlı enfeksiyonda değişiklik olmamıştır. Ayrıca proflaktik antibiyotik kullanımı ile antibiyotik direncinin ortaya çıktığı da bilinmektedir. GBS enfeksiyonlarının önlenmesinde en etkili stratejinin aşılama olduğu düşünülmektedir. Etkili aşılar, fonksiyonel olarak plasentayı geçer, yenidoğanlarda GBS enfeksiyonuna karşı koruma sağlar ve aktif antikor üretimini teşvik eder. En umut verici aşı çalışmaları, kapsül ve yüzey proteinlerine karşı olanlardır.

GBS enfeksiyonlarında kapsül proteinine (CPS) spesifik antikorların koruyucu niteliği 1930'larda Rebecca Lancefield tarafından CPS-spesifik poliklonal tavşan serumunun fareler üzerinde denenmesiyle gösterilmiştir. Bir başka çalışmada, yenidoğanlarda GBS enfeksiyonunu önlemek için kapsül antijeni kullanmış ve hamilelerde aşılamanın etkili olduğu gösterilmiştir (Baker ve Kasper 1976).

GBS aşıları ile ilgili ilk araştırmalarda modifiye edilmemiş türe özgü polisakkarit antijenler kullanılmıştır. İlk insan klinik aşılama denemeleri 1980'lerde saflaştırılmış doğal serotip Ia, II veya III polisakkarit antijenleri ile hamile kadınlar dahil sağlıklı yetişkin gönüllülerde yapılmıştır. Her ne kadar birinci nesil aşı denemelerinin güvenli ve iyi tolere edildiği gösterilmiş olsa da immünojenitesinin geliştirilmesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Bu amaçla ikinci nesil glikokonjugat yapıda olan GBS aşılarının üretimine geçilmiştir. Yüksek immünojenik bir proteinin CPS antijenlerine konjugasyonu ile güçlü ve uzun süreli bir bağışık yanıt oluşturulmuştur. Tetanoz toksoidi (TT) ile birleşmiş GBS'ye özgü CPS (Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII ve VIII) ile hazırlanan konjugat aşıları, hayvan modellerinde prelinik olarak test edildiğinde, proteinle konjuge edilmemiş CPS'den daha yüksek immünojenite göstermiştir (Wessels ve diğ. 1990, Paoletti ve diğ. 1992, Paoletti ve Kasper, 2002, Paoletti ve Madoff 2002).

GBS'ye özgü CPS antijenlerinin insandaki immünojenitesi TT'ye konjugasyon yoluyla artırılmış olmasına rağmen, immün yanıt serotipe özgü olmuştur. Bu nedenle, dünya çapında en yaygın görülen suşlara karşı etkili bir aşı elde etmek için, konjuge formülasyonlarının multivalan olması gerekmektedir (Phares ve diğ. 2008, Barcaite ve diğ. 2008, Le Doare and Heath, 2013).

GBS enfeksiyonlarında multivalan kapsüller konjugat aşıları, ileri evre gelişim aşamasında olsa da, serotipe özgü immünite, tiplendirilmemiş izolatları kapsamaması ve serotip değişimi gibi potansiyel problemlerin varlığı protein bazlı aşı çalışmalarını gündeme getirmiştir. CPS antijenlerinden farklı olarak, proteinler koruyucu T-hücresi bağımlı antikor yanıtını ve uzun süreli bağışıklığı indükleyebilmektedir. Aşı çalışmaları kor genom (Sip protein vb.) ve pilus proteinlerine karşı da (BP-2a protein vb.) yapılmıştır (Nucitelli ve diğ. 2015).

2. AMAÇ

S. agalactiae insanda gastrointestinal ve genitoüriner sistemde kommensal olarak bulunmaktadır. Yetişkinlerde ya da immün sistemi baskılanmış hastalarda sepsis, menenjit, pnömoni ve idrar yolu enfeksiyonu gibi hastalıklara neden olmaktadır. Özellikle gebe kadınlardaki enfeksiyonu, yenidoğana bulaş riski ve oluşturduğu komplikasyonlar nedeni ile erken tanı ve tedaviyi gerektirmektedir.

S. agalactiae, Ia-Ib ve II'den IX'a kadar 10 serotipe ayrılmaktadır. Serotipler serolojik olarak lateks aglütinasyon metodu ya da multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gibi moleküler yöntemlerle saptanmaktadır. *S. agalactiae* izolatlarının serotiplendirilmesinde serolojik metodlarda kapsül polisakariti ekspresyonunun az ya da olmaması yüzünden izolatların tanımlanmasında bazı sorunlar yaşanabilmektedir. Farklı cinsiyet, yaş ve ırklara göre GBS ile enfekte olmuş kişilerden çeşitli serotipler izole edilmiş ve farklı antibiyotik duyarlılıklarının olduğu görülmüştür.

Yapılan yüksek lisans tez çalışmasında Hastanemiz Merkez Laboratuvarı Bakteriyoloji Birimi'nde idrar yolu enfeksiyonu etkeni olarak tanımlanan *S. agalactiae* izolatlarının kapsül polisakaritlerine göre multipleks PZR yöntemi ile serotiplerinin belirlenmesi ve önemli bir patojen olan hipervirulan ST-17 klonunun araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca farklı serotipler ile antibiyotik duyarlılık testleri arasındaki ilişkinin araştırılması ve hasta profilleri ile karşılaştırılması hedeflenmiştir. Ulaşabildiğimiz kaynaklara göre ülkemizde ilk defa moleküler bir yöntem ile *S. agalactiae* serotipleri ve ST-17 klonu araştırılmıştır.

3. YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Kocaeli Üniversitesi Girişimsel olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna (KOÜ GOKAEK) ‘Etik Kurul Onayı’ için 16.04.2017 tarihinde başvurulmuştur. KOÜ GOKAEK 2017/95 numaralı araştırma projesi etik kurulundan onaylanarak tarafımıza bildirilmiştir.

3.2. Suşların Toplanması

Çalışmaya Kocaeli Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakteriyoloji Birimi’ne kültür isteği ile gönderilen orta akım idrar örneklerinden izole edilen Grup B Streptokoklar alınmıştır. Araştırma için 20.03.2017-30.03.2018 tarihleri arasında örnekler toplanmıştır.

İdrar örneklerinden %5 Koyun Kanlı Agar (KKA) (RTA, Türkiye) besiyerine kalibre özelerle kantitatif ekim yapılarak 37°C’de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Kültürde tipik β-hemolizli kolonilerden Gram boyama yapılmıştır. Mikroskopta gram pozitif görülen bakteriler daha sonra katalaz, CAMP testleri ve Vitek MS (BioMérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılarak tanımlanmıştır. *S. agalactiae* olarak tanımlanan izolatlar, %15 gliserol içeren Triptik Soy Broth (Merck, Almanya) besiyerinde hasta bilgileri etiketlenerek, çalışma başlayana kadar -80°C’de saklanmıştır.

3.3. Besiyeri ve Tampon Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. %5 KKA

Bakteri tanımlaması, hemolizlerin tespit edilebilmesi ve antibiyogram testlerinin yapılması için %5 KKA ticari olarak satın alınmıştır (RTA, Türkiye).

3.3.2. Triptik Soy Broth (TSB)

Ticari olarak satın alınan Triptik Soy Buyyon (Merck, Almanya) besiyeri, üretici firmanın talimatlarına göre hazırlanmıştır. Otoklavda, 121°C’de 15 dakika, sterilizasyon işlemi ardından 15 ml’lik steril falkonlara üç ml hacminde porsiyonlanmış ve kullanılabileceği kadar +4°C’de saklanmıştır.

3.3.3. %15 Gliserol İçeren Triptik Soy Broth Saklama Besiyeri

Ticari olarak satın alınan Triptik Soy Broth (Merck, Almanya) üretici firmanın talimatlarına göre hazırlanmıştır. İlk olarak 100 ml besiyeri için üç g besiyeri tartılıp, 85 ml distile su ile karıştırılarak üzerine 15 ml gliserol (Merck, Almanya) eklenmiştir. Karışım otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilizasyon işlemi ardından 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplere bir ml olacak şekilde porsiyonlanmış ve kullanılabildiği kadar +4 °C'de saklanmıştır.

3.3.4. Tris HCl

Tris HCl stok çözelti hazırlamak için; 39,4 g Tris HCl tartılarak 250 ml distile su içerisinde çözülmüş ve pH 8 olana kadar NaOH eklenmiştir.

3.3.5. EDTA

İki yüz elli ml 0,5 M EDTA stok çözeltisi hazırlamak için; 36,53 g EDTA tartılarak 200 ml distile suyun içerisinde manyetik ısıtıcıda 65°C'de çözülünceye kadar NaOH ilave edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra pH 8 olduğunda NaOH ilavesi kesilmiştir. Son hacim distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

3.3.6. Tris-Asetik Asit-EDTA (TAE)

Agoroz jel elektroforezinde kullanılan solüsyon 50X/1 konsantrasyonda hazırlanıp stok oluşturulmuştur. İlk olarak 242 g Tris Base 750 ml ultra saf distile suda (ddH₂O) çözülmüştür. Daha sonra 0,5 M EDTA'dan 100 ml ve 57,1 ml glisial asetik asit eklenip bir litreye tamamlanmıştır. Çalışmada kullanılacak olan solüsyon 1X/1 seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.4. DNA İzolasyonu

S. agalactiae serotiplerinin ve ST-17 klonal grubun belirlenmesi için yapılacak PZR'da kullanılacak DNA, kaynatma metodu ile elde edilmiştir.

1. *S. agalactiae* olarak tanımlanan %15 gliserol içeren TSB besiyerinde saklanan izolatlar KKA besiyerine tek koloni elde etme metodu ile ekilmiştir. Daha sonra 37 °C' de 24 saat inkübe edilmiştir.

2. Üç ml TSB bulunan 15 ml'lik falkonlara, KKA besiyerinde canlandırılan suşlardan beş-altı koloni alınarak ekim yapılmıştır. Sonra 37°C'de 18 saat çalkalamalı etüvde inkübe edilmiştir.

3. İnkübasyon sonrası falkonlar 4000 rpm’de beş dakika santrifüj edilmiştir.
4. Üst sıvı atılmış ve üzerine bir ml fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) eklenmiş ve süspanse edilmiştir. Falkon içindeki sıvı 1,5 µl’lik mikrosantrifüj tüpüne alınmış ve 4400 rpm’de bir dakika santrifüj edilmiştir.
5. Dördüncü basamak tekrarlanmıştır.
6. Üst sıvı atılmıştır. PBS ile yıkama işlemi bittikten sonra 200 µl TrisEDTA solusyonu eklenerek 99°C’de 20 dakika inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonunda mikrosantrifüj tüplerinin oda ısısına gelmesi beklenmiş ve 8000 rpm’de bir dakika santrifüj edilmiştir.
8. Santrifüj sonrası üst sıvılar temiz ependorflara alınmış ve çalışmada kullanılmak üzere -20°C’de saklanmıştır.

3.5. Serotiplerin ve ST-17 Klonunun Belirlenmesi

3.5.1. Primerler

S. agalactiae serotipleri, kapsül polisakkaritlerini kodlayan farklı ‘*cps*’ genlerinin belirlenmesinde kullanılacak primerler için referans Imperi ve diğ. (2010)’nin çalışmasından alınmış ve *cpsL* primeri pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Primer dizileri, erime sıcaklığı (T_m) değerleri ve moleküler ağırlıkları Çizelge 3.1’de gösterilmiştir. Liyofilize halde firmadan temin edilen primerler önerildiği şekilde sulandırılmış, 100 µM’lık stok primer çözeltisi olarak hazırlanmış ve kullanılana kadar -20°C’de saklanmıştır.

S. agalactiae’nın ‘hipervirulan ST-17 klonunun’ araştırılması için Gosiewski ve Brzywczy-Włoch (2012) tarafından yapılan çalışma referans alınmıştır. Kullanılacak primer dizileri ST17S/ST17AS, erime sıcaklıkları (T_m °C) ve moleküler ağırlıkları Çizelge 3.2’de verilmiştir. Liyofilize halde alınan ST17S/ST17AS primerleri de firmanın önerisi doğrultusunda sulandırılmıştır. Daha sonra 50 µM’lık stok primer çözelti şeklinde -20°C’de saklanmıştır.

Çizelge 3.1. *S. agalactiae* serotiplerine ait primer adları, primer dizileri, erime sıcaklıkları ve moleküler ağırlıkları.

Serotipler	Primer adları	Primer dizisi	Erime sıcaklığı (T _m) °C	Moleküler ağırlık (bç)
Ia	<i>cpsL</i>	F-CAATCCTAAGTATTTTCGGTTCATT	52.1 °C	688
		R-TAGGAACATGTTCATTAACATAGC	51.4 °C	
	<i>cpsG</i>	F-ACATGAACAGCAGTTCAACCGT	55.3 °C	272
		R-ATGCTCTCCAAACTGTTCTTGT	58.2 °C	
Ib	<i>cpsL</i>	F-CAATCCTAAGTATTTTCGGTTCATT	52.1 °C	688
		R-TAGGAACATGTTCATTAACATAGC	51.4 °C	
	<i>cpsJ</i>	F-GCAATTCTTAACAGAATATTCAGTTG	51.4 °C	621
		R-GCGTTTCTTTATCACATACTCTTG	53.0 °C	
	<i>cpsG</i>	F-ACATGAACAGCAGTTCAACCGT	55.3 °C	272
		R-ATGCTCTCCAAACTGTTCTTGT	58.2 °C	
II	<i>cpsL</i>	F-CAATCCTAAGTATTTTCGGTTCATT	52.1 °C	688
		R-TAGGAACATGTTCATTAACATAGC	51.4 °C	
	<i>cpsJ</i>	F-CATTTATTGATTCAGACGATTACATTGA	52.5 °C	465
		R-CCTCTTTCTCTAAAATATTCCAACC	52.5 °C	
	<i>cpsG</i>	F-ACATGAACAGCAGTTCAACCGT	55.3 °C	272
		R-ATGCTCTCCAAACTGTTCTTGT	58.2 °C	
III	<i>cpsL</i>	F-ACATGAACAGCAGTTCAACCGT	52.1 °C	688
		R-ATGCTCTCCAAACTGTTCTTGT	51.4 °C	
	<i>cpsG</i>	F-ACATGAACAGCAGTTCAACCGT	58.2 °C	352
		R-TCCATCTACATCTTCAATCCAAGC	56.0 °C	
IV	<i>cpsL</i>	F-CAATCCTAAGTATTTTCGGTTCATT	52.1 °C	688
		R-TAGGAACATGTTCATTAACATAGC	51.4 °C	
	<i>cpsJ</i>	F-CATTTATTGATTCAGACGATTACATTGA	52.9 °C	538
		R-CCTCAGGATATTTACGAATTCTGTA	52.5 °C	
	<i>cpsG</i>	F-ACATGAACAGCAGTTCAACCGT	55.3 °C	272
		R-ATGCTCTCCAAACTGTTCTTGT	58.2 °C	
V	<i>cpsL</i>	F-CAATCCTAAGTATTTTCGGTTCATT	52.1 °C	688
		R-TAGGAACATGTTCATTAACATAGC	51.4 °C	
	<i>cpsN</i>	F-ATGCAACCAAGTGATTATCATGTA	52.9 °C	582
		R-CTCTTCACTCTTTAGTGTAGGTAT	51.9 °C	
	<i>cpsG</i>	F-ACATGAACAGCAGTTCAACCGT	55.3 °C	272
		R-ATGCTCTCCAAACTGTTCTTGT	58.2 °C	
VI	<i>cpsL</i>	F-CAATCCTAAGTATTTTCGGTTCATT	52.1 °C	688
		R-TAGGAACATGTTCATTAACATAGC	51.4 °C	

	<i>cpsI</i>	F-GAATTGATAACTTTTGTGGATTGCGATGA R-CAATTCTGTCGGACTATCCTGATG	57.3 °C 56.4 °C	470
	<i>cpsG</i>	F-ACATGAACAGCAGTTCAACCGT R-TCCATCTACATCTTCAATCCAAGC	58.2 °C 56.0 °C	352
VII	<i>cpsL</i>	F-CAATCCTAAGTATTTTCGGTTCATT R-TAGGAACATGTTCATTAACATAGC	52.1 °C 51.4 °C	688
	<i>cpsG</i>	F-ACATGAACAGCAGTTCAACCGT R-ATGCTCTCCAACTGTTCTTGT	55.3 °C 58.2 °C	272
	<i>cpsI</i>	F- CTGTAATTGGAGGAATGTGGATCG R- TGTCGCTTCCACACTGAGTGTTGA	57.3 °C 62.0 °C	179
VIII	<i>cpsL</i>	F-CAATCCTAAGTATTTTCGGTTCATT R-TAGGAACATGTTCATTAACATAGC	52.1 °C 51.4 °C	688
	<i>cpsJ</i>	F-TATTTGGGAGGTAATCAAGAGACA R-GTTTGGAGCATTCAAGATAACTCT	54.3 °C 54.1 °C	438
IX	<i>cpsL</i>	F-CAATCCTAAGTATTTTCGGTTCATT R-TAGGAACATGTTCATTAACATAGC	52.1 °C 51.4 °C	688
	<i>cpsG</i>	F-ACATGAACAGCAGTTCAACCGT R-ATGCTCTCCAACTGTTCTTGT	55.3 °C 58.2 °C	272
	<i>cpsI</i>	F-CTGTAATTGGAGGAATGTGGATCG R-AATCATCTTCATAATTTATCTCCCATT	56.9 °C 50.9 °C	229

Çizelge 3.2. ST-17 klonuna ait primer adları, primer dizileri, erime sıcaklıkları ve moleküler ağırlıkları.

<i>Sekans Tip</i>	Primer adları	Primer dizisi	Erime sıcaklığı (T_m) °C	Moleküler ağırlık (bç)
ST17	ST17S	ATA CAA ATT CTG CTG ACT ACC G	51.1	210
	ST17AS	TTA AAT CCT TCC TGA CCA TTC C	51.1	

3.5.2. PZR

PZR ticari olarak satın alınan PROMEGA M7422 (GoTaq® G2 Hot Start Master Mixes) marka karışım kullanılmıştır. Tepkime için G2 Hot Start Master karışımı, primer çifti, kalıp DNA ve steril distile su (dH₂O) toplam 25 µl olacak şekilde bir karışım hazırlanmıştır. PZR karışımında her bir örnek için kullanılan miktarlar Çizelge 3.3'de gösterilmiştir. PZR'da kullanılacak primerlerden karışım oluşturulup stoklanmıştır. Stok çözelti, serotip VI ve VII'de *cpsI* geni için kullanılan F primer ve serotip VII ve IX da

bulunan *cpsI* geni için kullanılan F primer 400 nM ve diğer primerler için 250 nM konsantrasyon olacak şekilde hazırlanmıştır.

PZR için hazırlanan karışım kontaminasyon riskini en aza indirmek ve reaktiflerin dondurulup çözülme sayısını azaltarak aktivasyon özelliğini azaltmamak için 21 örneklilik karışımlar şeklinde hazırlanmıştır. DNA eklenmeden hazırlanan toplam 483 µl karışım steril olarak etiketlenmiş, 200 µl'lik mikrosantrifüj tüplerin içerisine toplam hacim 23 µl olacak şekilde paylaştırılmıştır. Son olarak karışımın üzerine 2 µl kalıp DNA eklenmiştir. Ayrıca pozitif kontrol olarak tüm serotiplere ait DNA örnekleri Oslo Üniversitesi Mikrobiyoloji Departmanından temin edilmiştir. Kullanılan pozitif kontrollerin ID numaraları Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. *S. agalactiae* serotiplerinin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı.

Reaktifler	Her örnek için hacim
G2 Hot Start Master karışımı	12,5 µl
Primerler	6,3 µl
dH ₂ O	4,2 µl
DNA	2 µl
Toplam hacim	25 µl

Çizelge 3.4. *S. agalactiae* pozitif ID numaraları.

Serogruplar	ID numaraları
Ia	CCUG 29779
Ib	CCUG 29780
II	CCUG 29781
III	CCUG 29782
IV	CCUG 29783
V	CCUG 29784
VI	CCUG 29785
VII	Jelinkova 7271
VIII	Jelinkova JM9
IX	SSI 04-534

PZR tepkime döngüleri Imperi ve diğ. (2010) tarafından daha önce yapılan çalışma referans alınarak uygulanmıştır. PZR, iCycler (BioRad, ABD) marka thermal cycler'da gerçekleştirilmiştir. Döngüler sırası ile 95°C'de dört dakika denatürasyon, 15'er döngü 95°C'de 60 saniye denatürasyon, 54°C'de 60 saniye bağlanma, 72°C'de iki dakika uzama, ek olarak 25'er döngü 95°C'de 60 saniye denatürasyon, 56°C'de 60 saniye bağlanma, 72°C'de iki dakika uzama, 72°C'de 10 dakika son uzama ve 4°C'de sonsuz bekletme şeklinde yapılmıştır.

PZR ile oluşan ürünleri görüntülemek için yatay jel elektroforezi kullanılmıştır. Elektroforez için TAE tampon içerisinde 70 ml %1,5'luk jel hazırlanmıştır. Jele 3,5 µl RedSafe™ (Korea) ilave edilmiştir. Jel donduktan sonra her bir kuyucuğa 4 µl PZR ürünü yüklenmiştir. Jelin ilk ve son kuyucuğuna GeneRuler 50 bç ve 100 bç DNA Ladder (Thermo Scientific, ABD) eklenmiştir. Daha sonra 90 voltta 75 dakika elektroforez gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, Azur C600 (USA) model görüntüleme sisteminde değerlendirilmiştir.

ST-17 klonunun polimeraz zincir reaksiyonunda PROMEGA M7422 (GoTaq® G2 Hot Start Master karışımı) marka karışım kullanılmıştır. Reaksiyon için G2 Hot Start Master, primer çifti, kalıp DNA ve dH₂O toplam hacmi 25 µl olacak şekilde bir karışım hazırlanmıştır. Karışımda kullanılan maddelerin hacimleri Çizelge 3.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. ST-17 klonunun saptanmasında kullanılan PZR karışımı.

Reaktifler	Her örnek için hacim
G2 Hot Start Master karışımı	12,5µl
Primerler	0,8 µl
dH ₂ O	6,7 µl
DNA	5 µl
Toplam hacim	25 µl

PZR'de iCycler (BioRad, ABD) marka thermal cycler cihazı kullanılmıştır. Döngüler sırası ile 95°C'de beş dakika denatürasyon, 50 döngü 95°C'de 60 saniye denatürasyon, 52°C'de 60 saniye bağlanma, 72°C'de üç dakika uzama, 72°C'de 10 dakika son uzama, 4°C'de sonsuz bekletme şeklinde yapılmıştır. PZR ürünleri görüntülemek için yatay jel elektroforezi kullanılmıştır. Elektroforez için 70 ml TAE tampon içerisinde %2 agoroz jel mikrodalga fırında eritilerek hazırlanmıştır. Jelin sıcaklığı yaklaşık 50-55°C'de iken 3,5 µl

RedSafe™ (Korea) eklenmiş ve jelin tamamen donması için yaklaşık 25 dk beklenmiştir. Tamamen donan jel elektroforez tankına alınmış ve üstünü biraz geçecek şekilde TAE tamponu eklenmiştir. Jelin ilk ve son kuyucuğuna GeneRuler 50 bç DNA Ladder yüklenmiştir. Sonra 90 voltta 60 dk elektroforez işleminin ardından görüntüleme cihazından alınan veriler değerlendirilmiştir.

3.5.3. DNA Dizi Analizi

ST-17 klonuna ait pozitif kontrol olmaması nedeniyle jel görüntüsü sonucu elde ettiğimiz bantları doğrulamak amacıyla dizi analizi yaptırılmıştır. Saflaştırılmış PZR ürünleri, DNA dizi analizi için MedSanTek Laboratuvar Malzemeleri San. ve Tic. Ltd. Şirketine (İstanbul, Türkiye) gönderilmiştir. Gelen nükleotid dizilerinin çift yönlü dizi analizi sonucu, NCBI Nucleotide BLAST sayfasına yapıştırılarak elde edilen sonuçlara göre yüzde (%) benzerlikleri karşılaştırılmıştır (Altschul ve diğ. 1997).

3.6. Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

İzolatların eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, levofloksasin ve vankomisin antibiyotiklerine duyarlılıklarının belirlenmesinde Kirby – Bauer Disk Difüzyon, penisilin antibiyotiğinin duyarlılığının belirlenmesinde ise Broth Dilüsyon yöntemleri kullanılmıştır (Vinnemier ve diğ. 2015).

3.6.1. Disk Diffüzyon Yönteminin Uygulanması

Kirby – Bauer Disk Difüzyon yönteminde çalışılan antibiyotiklerin disk içerikleri, duyarlılık zonları ve antibiyotik grupları Çizelge 3.6'da verilmiştir. Antibiyotik duyarlılık testi için, izolatlar saklamadan çıkartıldıktan sonra iki kez pasajlanmıştır. Her bir izolattan BaSO₄ 0,5 McFarland (5x10⁸ organizma) standart değerinde bakteri süspansiyonu oluşturulmuştur. McFarland standardı süspansiyondaki yaklaşık bakteri miktarını belirtmektedir. McFarland standard %1'lik H₂SO₄ ve %1,175'lik BaCl₂.2H₂O ile vida kapaklı tüplerde hazırlanmıştır. İzolatlardan hazırlanan 0,5 McFarland süspansiyonları ile standart 0,5 McFarland değeri, Wickerham eşeli ile gözle belirlenmiştir. Disk difüzyon testinde besiyeri olarak %5 KKA (RTA, Türkiye) kullanılmıştır. McFarland standardı hazırlandıktan sonra, çalışılacak izolatlar 15 dakika içerisinde besiyerine inoküle edilmiştir. İnokülasyonun besiyerinin her tarafına homojen olarak yayılmasına ve boşluk kalmayacak şekilde yapılmasına dikkat edilmiştir. Besiyerine inokülasyonundan sonra aseptik şartlar altında antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Vankomisin, tetrasiklin ve

levofloksasin aynı petride, klindamisin ve eritromisin ise farklı plakta değerlendirilmiştir (CLSI, 2016).

İndüklenebilir klindamisin direncini saptamak için D-zon testi yapılmıştır (CLSI 2016). Bunun için izolatların 0,5 McFarland değerinde süspansiyonlar hazırlanmış %5 KKA besiyerine inokülasyonu yapılmıştır. Klindamisin ve eritromisin diskleri besiyerine disklerin iç kenarları arasında 15 mm mesafe olacak şekilde yerleştirilmiştir. Eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı olan suşlarda inkübasyon sonrası klindamisin diskinin çevresinde oluşan zonda eritromisin antibiyotiğine bakan kısımda 'D' şekline benzer bir zon var ise 'D-zon test' pozitif olarak değerlendirmiştir.

Tüm disk diffüzyon testleri, antibiyotik disklerinin inokülasyonu sonrası 37°C'de, %5 CO₂'li etüvde 18-24 saat inkübe edilmiş ve daha sonra değerlendirilmiştir. Kontrol olarak, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 (ATCC, ABD) kullanılmıştır.

Çizelge 3.6. Antibiyotikler ve sınır değerleri (CLSI, 2016).

Antibiyotik	Grup	Disk in içeriği	Duyarlı (S) (mm)	Orta duyarlı (I) (mm)	Dirençli (R) (mm)
Eritromisin	Makrolid	15 µg	≥ 21	16–20	≤ 15
Klindamisin	Linkozamit	2 µg	≥ 19	16–18	≤ 15
Vankomisin	Glikopeptit	30 µg	≥ 17	-	-
Levofloksasin	Florokinolon	5 µg	≥ 17	14–16	≤ 13
Tetrasiklin	Tetrasiklin	30 µg	≥ 23	19–22	≤ 18

3.6.2. Broth Mikrodilüsyon Yönteminin Uygulanması

3.6.2.1. Besiyerinin Hazırlanması

S. agalactiae penisilin duyarlılığının belirlenmesinde broth mikrodilüsyon metodu kullanılmıştır. Çalışmada CLSI önerileri referans alınmıştır (CLSI, 2016). Penisilin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) Çizelge 3.7'de gösterilmiştir. Broth mikrodilüsyon metodu uygulamasında aşağıdaki basamaklar uygulanmıştır.

Lize edilmiş at kanının (lysed horse blood, LHB) hazırlanması:

- 1- Aseptik şartlarda 25 ml at kanı ile 25 ml deiyonize su karıştırılmıştır.
- 2- Kan hücreleri tamamen parçalana kadar, yaklaşık yedi gün (her gün dondurulup çözündürülmek koşulu ile) -20°C'de dondurulup tekrar oda ısısında çözünmeye bırakılmıştır.

Muller Hinton Broth besiyerinin hazırlanması:

- 1- Üretici firmanın önerisi doğrultusunda 11,5 g Mueller Hinton Broth (MHB) tozu (Merck, Almanya) 475 ml distile su içerisinde çözülmüş ve 121°C’de, 15 dk sterilizasyon işlemi uygulanmıştır.

Katyon ayarlı MHB besiyerinin hazırlanması:

- 1- İçerisinde 25 mg/l, Ca⁺⁺ ve 12,5 mg/l Mg bulunması gereken katyon ayarlı MHB besiyeri için; 100 ml deiyonize su içine 8,36 g MgCl₂.6H₂O, ve yine 100 ml deiyonize su içine 3,68 g CaCl₂.2H₂O ilave edilerek iki ayrı stok çözelti hazırlanmıştır.
- 2- Besiyerinin katyon ayarı 500 ml besiyeri için 1,25 ml CaCl₂.2H₂O stok çözeltisinden ve 0,625 ml MgCl₂.6H₂O stok çözeltisinden eklenerek yapılmıştır.

Katyon ayarlı %5 LHB MHB besiyeri:

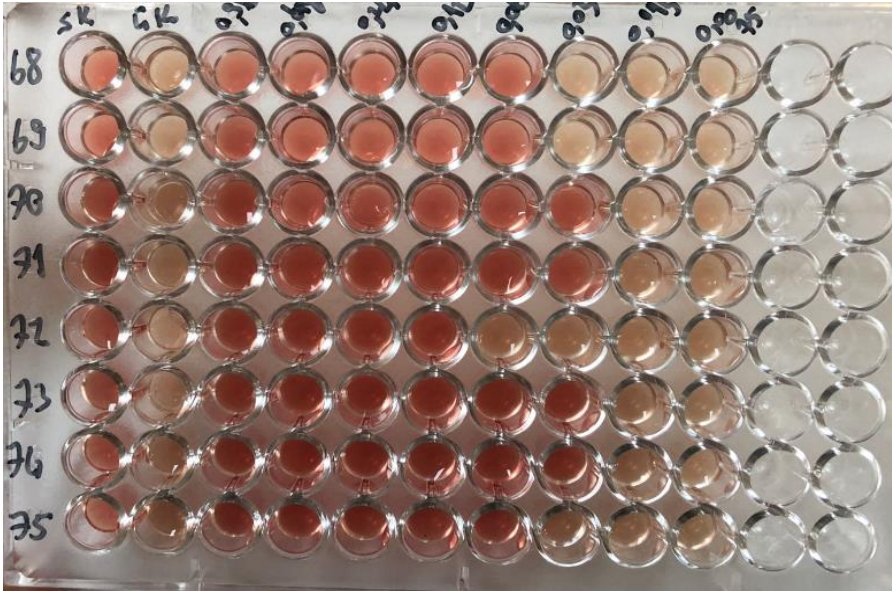
- 1- Katyon ayarlı 475 ml besiyeri, 25 ml lize edilmiş at kanı ile steril şartlarda karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.6.2.2. Mikrodilüsyon Yönteminin Uygulanması

- 1- U tabanlı 96 kuyucuklu steril Granier marka ELISA plakları ve kapakları önceden hazırlanmıştır.
- 2- ELISA plaklarında her bir satır için bir izolat inoküle edilmiştir.
- 3- Birinci kuyucuk sterilite kontrolü, ikinci kuyucuk üreme kontrolü olarak ayarlanmıştır. Antibiyotik dilüsyonlarının 0.96 µg/ml’den başlayarak 0.0075 µg/ml’ye kadar seri sulandırımı yapılmıştır.
- 4- Sterilite kontrol kuyucuğu dışındaki tüm kuyucuklara 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri solüsyonları, 1/10 sulandırıldıktan sonra en fazla 15 dakika içerisinde her kuyucuğa beşer µl olacak şekilde eklenmiştir.
- 5- ELISA plaklarının kurummasını engellemek için parafilm ile çevresi sarılmış ve 37°C’ de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- 6- İnkübasyon sonrası üremenin olmadığı ilk kuyucuk MİK değeri olarak belirlenmiştir (Çizim 3.1).

Çizelge 3.7. Penisilin antibiyotiğinin MİK değeri.

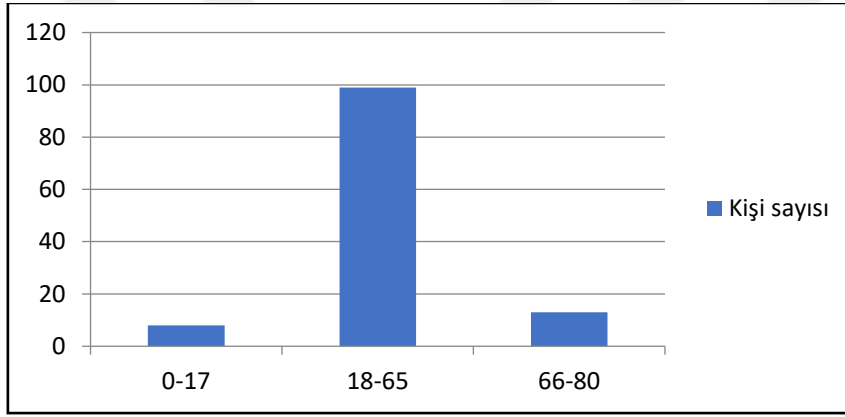
Antibiyotik	Grup	İçerik	MİK yorumlama değeri (µg/ml)		
			Duyarlı (S)	Orta duyarlı (I)	Dirençli (R)
Penisilin	Penisilin	10 ünite	≤0.12	-	-



Çizim 3.1. ELISA plaklarında penisilin MİK değerinin belirlenmesi.

4. BULGULAR

S. agalactiae serotiplerinin, ST-17 klonunun ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması için Mart 2017-Mart 2018 tarihleri arasında toplam 120 idrar örneği incelenmiştir. Hastaların dağılımı; 107 (%89,2) kadın ve 13 (%10,8) erkek şeklindedir. İdrarda *S. agalactiae* izole edilen sekiz kişi 17 yaş ve altında, 99 kişi 18-65 yaş arasında, 13 kişi 66-80 yaşları arasındadır (Çizim 4.1). En küçük yaş beş, en büyük yaş 80 olup hastaların yaş ortalaması 40,8'dir. Hastaların cinsiyet ve yaş dağılımı Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.



Çizim 4.1. Hastaların yaşlara göre dağılımı.

Çalışmaya alınan örneklerin 18'i (%15) diyabet, 17'si (%14,2) kronik böbrek hastalığı olanlar, beşi (%4,2) gastrointestinal sistem hastalığı olanlar, 28 (%23,3) gebe, dördü (%3,3) hematolojik hastalığı olanlar, biri (%0,8) kardiyak hastalığı olanlar, altısı (%5) kanser hastalığı olanlar, beşi (%4,2) otoimmün hastalığı olanlar, ikisi (%1,6) solunum hastalığı olanlar, beşi (%4,2) diyabet dışı endokrin bozukluğu olanlar, 16'sı (%13,3) diğer ürogenital sistem hastalığı olanlar ve 13'ü (%10,8) altta yatan hastalığı olmayan kişilerden oluşmaktadır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. Hastaların cinsiyet ve yaş dağılımları.

Cinsiyet	Yaş		
	0-17	18-65	66-80
Kadın (n)	7	89	11
Erkek (n)	1	10	2
Toplam (n)	8	99	13

Çizelge 4.2. Hastaların demografik dağılımı.

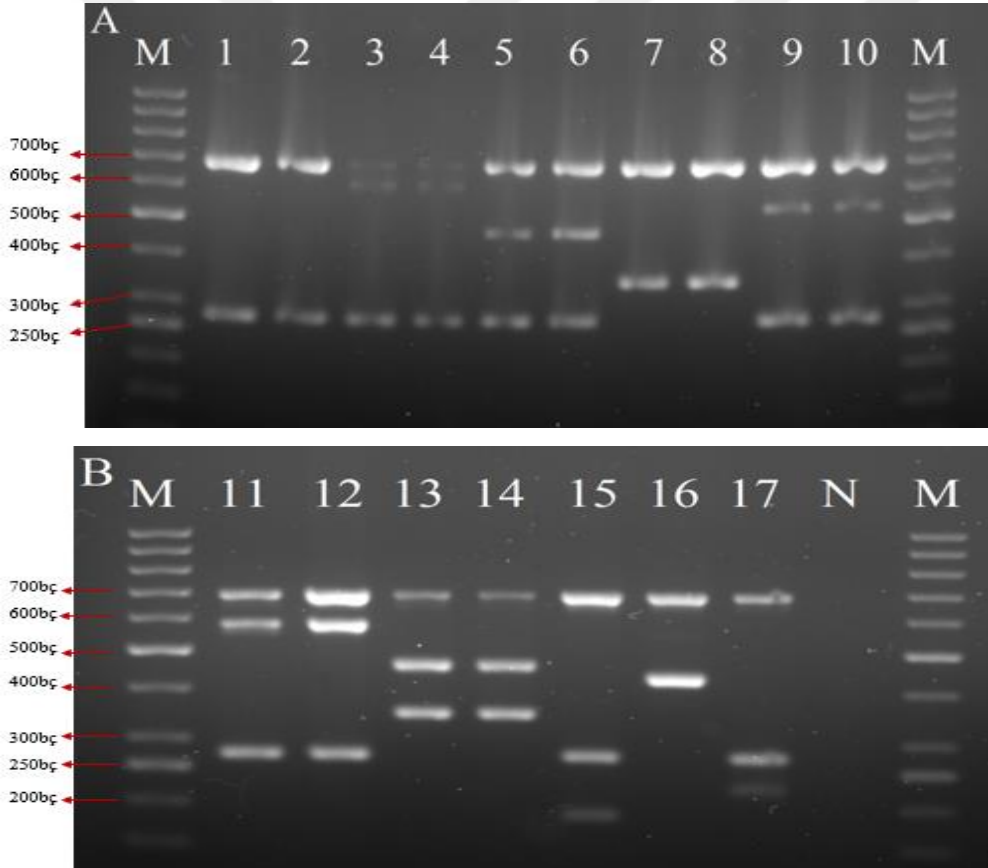
	Toplam n (%) (n=120)
Diyabet	18 (%15)
Kronik böbrek hastalığı olanlar	17 (%14,2)
Gastrointestinal sistem hastalığı olanlar	5 (%4,2)
Gebeler	28 (%23,3)
Hematolojik hastalığı olanlar	4 (%3,3)
Kardiyak hastalığı olanlar	1 (%0,8)
Malignitesi olanlar	6 (%5)
Otoimmün hastalığı olanlar	5 (%4,2)
Solunum sistem hastalığı olanlar	2 (%1,6)
Diyabet dışı endokrin bozukluğu olanlar	5 (%4,2)
Diğer ürogenital sistem hastalığı olanlar	16 (%13,3)
Altta yatan hastalığı olmayanlar	13 (%10,8)

4.1. *S. agalactiae* Serotipleri

Multipleks PZR ile yapılan serotiplendirmenin sonucunda 23 (%19,2) izolat serotip Ia, 18 (%15) izolat serotip Ib, 15 (%12,5) izolat serotip II, 39 (%32,5) izolat serotip III, bir (%0,8) izolat serotip IV, 19 (%17,5) izolat serotip V ve üç (%2,5) izolat da serotip VI olarak saptanmıştır. Serotiplerin dağılımları Çizelge 4.3'de gösterilmiştir. Örnek sayısı istatistiksel değerlendirme açısından yetersiz olduğundan sonuçlar yüzde değerler verilerek yorumlanmıştır. Serotip VII, VIII ve IX'a rastlanmamıştır. Çalışılan suşlar arasında tiplendirilemeyen izolat bulunmamaktadır. Jel elektroforez sonrası görüntüleme cihazından alınan sonuçlar Çizim 4.2'de gösterilmiştir.

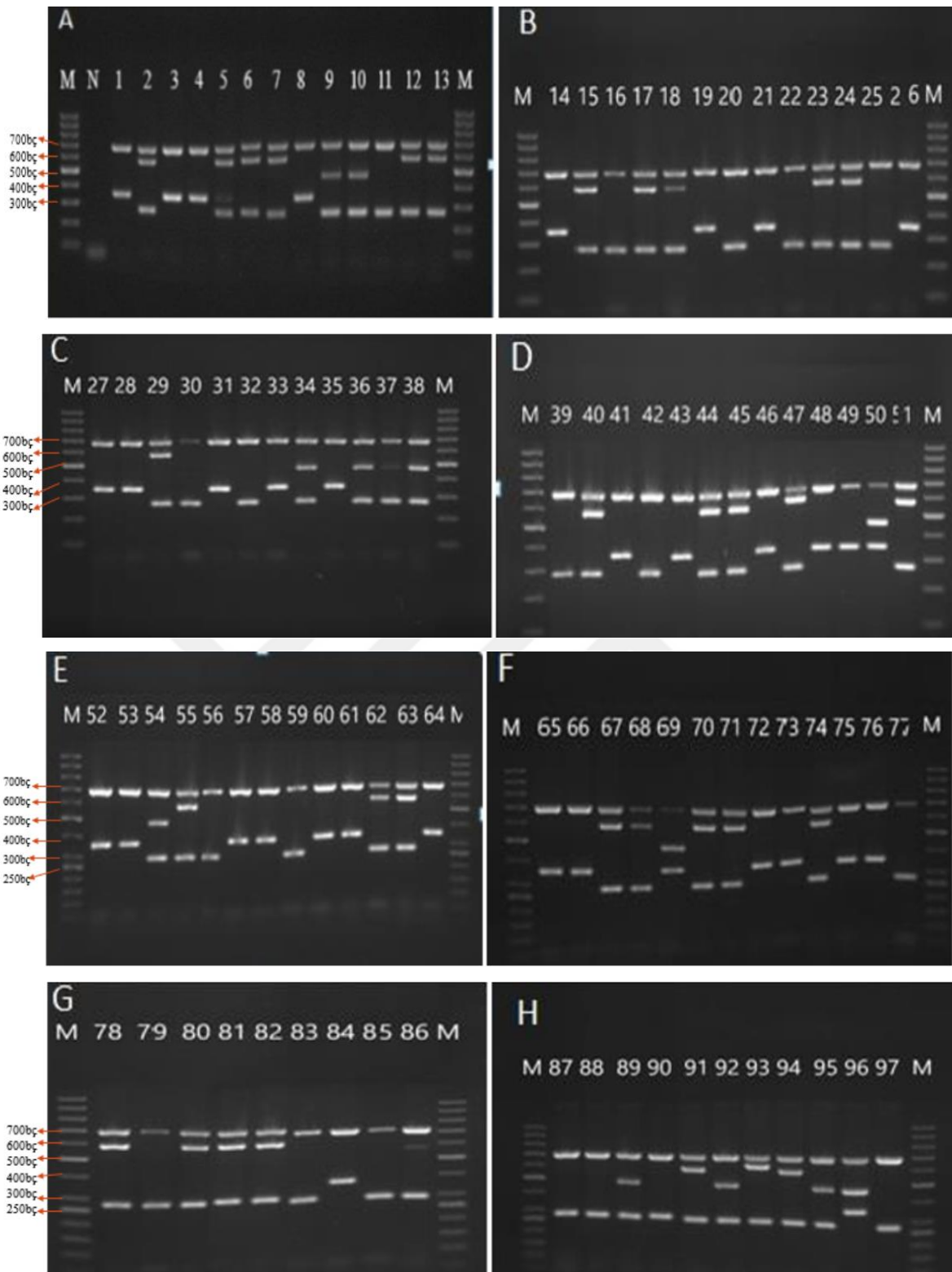
Çizelge 4.3. *S. agalactiae* serotiplerinin görülme sıklığı.

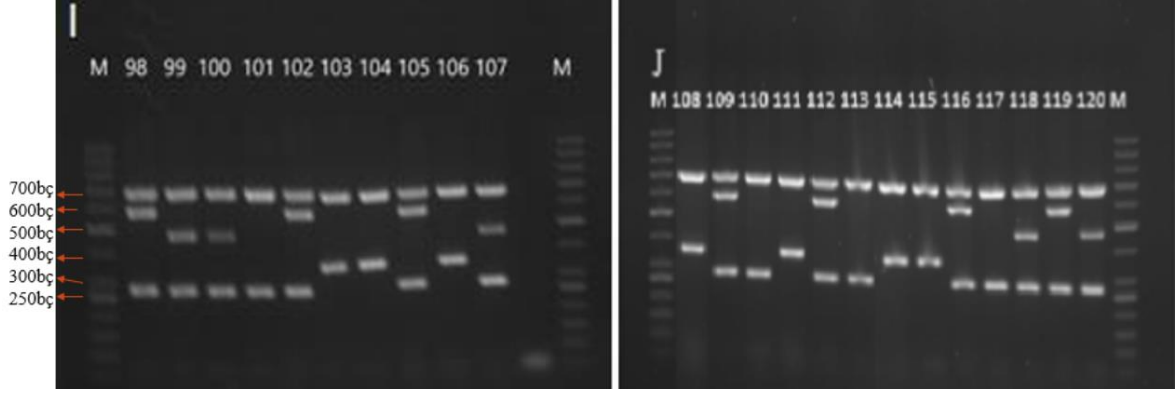
Serotip	Hasta sayısı n (%)
Ia	23 (%19,2)
Ib	18 (%15)
II	15 (%12,5)
III	39 (%32,5)
IV	1 (%0,8)
V	21 (%17,5)
VI	3 (%2,5)
VII	Saptanmadı
VIII	Saptanmadı
IX	Saptanmadı
Toplam	120 (%100)



Çizim 4.2. *S. agalactiae* serotiplerine ait pozitif kontroller ve örnek hastalar.

A. M, 50bç marker; 1, serotip Ia pozitif kontrol (CCUG 29779); 2, serotip Ia saptanan hasta; 3, serotip Ib pozitif kontrol (CCUG 29780); 4, serotip Ib saptanan hasta; 5, serotip II pozitif kontrol (CCUG 29781); 6, serotip II saptanan hasta; 7, serotip III pozitif kontrol (CCUG 29782); 8, serotip III saptanan hasta; 9, serotip IV pozitif kontrol (CCUG 29783), 10, serotip IV saptanan hasta. B. M, 50bç marker; 11, serotip V pozitif kontrol (CCUG 29784); 12 serotip V saptanan hasta; 13 serotip VI pozitif kontrol (CCUG 29785); 14, serotip VI saptanan hasta; 15, serotip VII pozitif kontrol (Jelinkova 7271); serotip VIII pozitif kontrol (Jelinkova JM9); serotip IX pozitif kontrol (SSI 04-534); N, negatif kontrol.

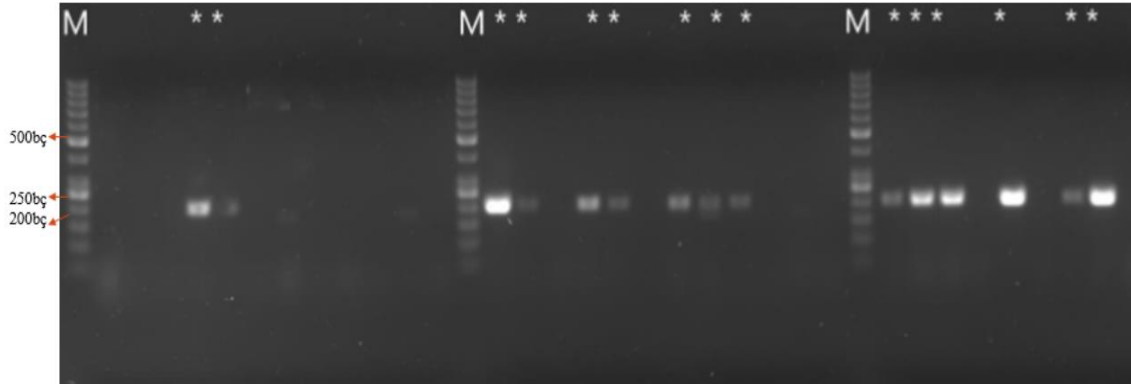




Çizim 4.3. *S. agalactiae* suşlarının serotiplerine ait jel görüntüleri.

A. M, 100 bç Marker; N, negatif kontrol; 1-13 nolu hasta örnekleri; B. M, 100 bç Marker; 14-26 nolu hasta örnekleri; C. M, 100 bç Marker; 27-38 nolu hasta örnekleri; D. M, 100 bç Marker; 39-51 nolu hasta örnekleri; E. M, 100 bç Marker; 52-64 nolu hasta örnekleri; F. M, 50 bç Marker; 65-77 nolu hasta örnekleri; G. M, 50 bç Marker; 78-86 nolu hasta örnekleri; H. M, 50 bç Marker; 87-97 nolu hasta örnekleri; I. M, 50 bç Marker; 98-107 nolu hasta örnekleri; J. M, 50 bç Marker; 108-120 nolu hasta örnekleri.

S. agalactiae ST-17 klonu serotip III ve serotip IV’de yapılan PZR sonucunda 15 hastada pozitif olarak saptanmıştır. ST-17 klonu olarak tanımlanan suşların hepsi serotip III grubunun içinde yer almaktadır. Serotip IV’de ST-17 klonuna rastlanmamıştır. İdrarında *S. agalactiae* ST-17 klonu saptanan hastaların 12’si kadın üçü erkektir. ST-17 klonu tanımlanan hastaların yaş ortalaması 39,5’tir (Çizelge 4.5).



Çizim 4.4. ST-17 klonuna ait jel görüntüleri (* ST-17).

S. agalactiae serotipleri ile hastalıklar arasındaki dağılım Çizelge 4.4’de gösterilmiştir. En fazla saptanan serotip III, gebelerde ve diğer ürogenital sistem hastalığı olan kişilerde daha sık rastlanmıştır.

Çizelge 4.4. Hastaların *S. agalactiae* serotiplerine göre dağılımı.

	Ia	Ib	II	III	IV	V	VI
Diyabet	4	3	4	5	0	1	1
Kronik böbrek hastalığı olanlar	2	2	2	6	0	4	1
Gastrointestinal sistem hastalığı olanlar	1	1	1	1	0	1	0
Gebeler	5	7	3	9	0	4	0
Hematolojik hastalığı olanlar	1	1	0	0	0	2	0
Kardiyak hastalığı olanlar	0	0	0	0	0	1	0
Malignitesi olanlar	2	0	1	3	0	0	0
Otoimmün hastalığı olanlar	2	0	1	1	0	1	0
Solunum sistemi hastalığı olanlar	0	1	1	0	0	0	0
Diyabet dışı endokrin bozukluğu olanlar	0	0	0	2	1	2	0
Diğer ürogenital sistem hastalığı olanlar	2	2	1	8		2	1
Altta yatan hastalığı olmayanlar	4	1	1	4	0	3	0

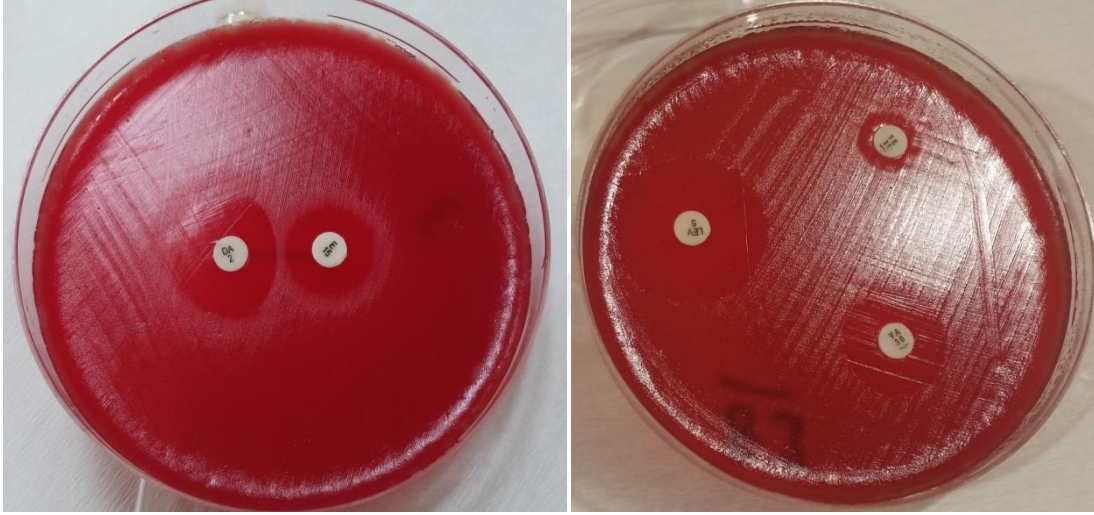
Çizelge 4.5. *S. agalactiae* serotip III'de ST-17 klonu olarak saptanan hastaların demografik bilgileri.

No	Yaş	Cinsiyet	Hastalık
1	35	Kadın	Diğer ürogenital sistem hastası
2	18	Kadın	Diyabet
3	18	Kadın	Diyabet
4	46	Kadın	Diğer ürogenital sistem hastası
5	59	Kadın	Malignite hastası
6	77	Kadın	Diyabet dışı endokrin bozukluğu olan hasta
7	30	Kadın	Gebe
8	29	Kadın	Gebe
9	59	Kadın	Gastrointestinal sistem hastası
10	21	Erkek	Kronik böbrek hastası
11	30	Kadın	Gebe
12	53	Kadın	Diğer ürogenital sistem hastası
13	68	Erkek	Malignite hastası
14	22	Erkek	Kronik böbrek hastası
15	28	Kadın	Gebe

4.2. Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

Toplam 120 *S. agalactiae* izolatın eritromisin, klindamisin, vankomisin, tetrasiklin ve levofloksasin antibiyotiklerine duyarlılıkları Kirby – Bauer Disk Difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Tüm suşlar vankomisine duyarlı (%100) bulunmuştur. Levofloksasin antibiyotiğine 27 izolat dirençli, 93 izolat duyarlı olarak bulunmuştur. Tetrasiklin antibiyotiğine ise 106 izolat dirençli, 14 izolat duyarlı olarak saptanmıştır. Klindamisin antibiyotiğine 33 izolat dirençli, 87 izolat duyarlıdır. Eritromisine ise 46 izolat dirençli, 74 izolat duyarlı olarak belirlenmiştir. Fenotipik olarak D-zon testi ile değerlendirilen indüklenebilir klindamisin direnci 31 izolatta pozitif bulunmuştur (Çizim 4.4).



Çizim 4.5. Örnek disk difüzyon görüntüsü.

Penisilin için yapılan broth mikrodilüsyon yönteminde tüm izolatlar duyarlı saptanmıştır. Penisilin MİK₅₀ değeri 0,03 µg/ml ve MİK₉₀ değeri 0,12 µg/ml olarak saptanmıştır.

S. agalactiae serotiplerinin antibiyotik duyarlılıkları sonucunda serotip Ia olarak saptanan tüm izolatlar (n=23) vankomisin ve levofloksasine duyarlı, beş izolat tetrasiklin, 21 izolat klindamisin ve 18 izolat ise eritromisin antibiyotiğine duyarlı saptanmıştır. İndüklenebilir klindamisin direnci iki izolatta rastlanmıştır.

Serotip Ib'de tüm izolatlar (n=18) vankomisin ve levofloksasine duyarlı, üç izolat tetrasiklin, 14 izolat klindamisin ve 14 izolat eritromisin antibiyotiğine duyarlı saptanmıştır. Ayrıca indüklenebilir klindamisin direnci iki izolatta görülmüştür.

Serotip II'de tüm izolatlar (n=15) vankomisine duyarlı, 14 izolat levofloksasine duyarlı, bir izolat tetrasiklin, 11 izolat klindamisin ve 12 izolat eritromisin antibiyotiğine duyarlı saptanmıştır. Bir izolatta indüklenebilir klindamisin direnci belirlenmiştir.

Serotip III'de tüm izolatlar (n=24) vankomisine duyarlı, 15 izolat levofloksasin, iki izolat tetrasiklin, 15 izolat klindamisin ve 14 izolat eritromisin antibiyotiğine duyarlı saptanmıştır. Yine 12 izolatta indüklenebilir klindamisin direnci görülmüştür.

Sadece bir adet saptanan serotip IV'deki izolat, tetrasiklin dışında tüm antibiyotiklere duyarlı bulunmuştur.

Serotip V'te tüm izolatlar (n=21) vankomisine duyarlı, 12 izolat levofloksasine duyarlı, 15 izolat klindamisin ve 10 izolat eritromisin antibiyotiğine duyarlı saptanmıştır. Tüm izolatlarda tetrasiklin direnci görülmüştür. Eritromisine dirençli 11 izolatın sekizinde indüklenebilir klindamisin direnci görülmüştür.

Serotip VI'da tüm izolatlar (n=3) vankomisine, levofloksasine, eritromisin ve klindamisine duyarlı, iki izolat ise tetrasikline duyarlı olarak saptanmıştır.

Serotip III olarak tanımlanan klonal grup ST-17'de yine tüm izolatlar vankomisine, yedi izolat levofloksasine, bir izolat tetrasikline, yedi izolat klindamisine, iki izolat eritromisine duyarlı saptanmış ve sekiz izolatta indüklenebilir klindamisin direnci görülmüştür. Serotiplere ait hem eritromisin hem de klindamisin antibiyotiklerine direnç sayıları diğer sonuçlara ek olarak çizelge Çizelge 4.6'da gösterilmektedir.

Çizelge 4.6. *S. agalactiae* izolatlarının broth mikrodilüsyon yöntemi ile penisilin MİK değerleri.

Antibiyotik	MİK	Ia (n=23)	Ib (n=18)	II (n=15)	III (n=39)	IV (n=1)	V (n=21)	VI (n=3)
Penisilin MİK (µg/ml) ≤ 0.12	MİK ₅₀ (µg/ml)	0,03	0,03	0,03	0,03	-	0,03	0,03
	MİK ₉₀ (µg/ml)	0,12	0,06	0,12	0,06	-	0,12	0,06

Çizelge 4.7. *S. agalactiae* izolatlarının Kirby – Bauer Disk Difüzyon yöntemi antibiyogram sonuçları.

Antibiyotik Serotip	VA		LEV		TET		E		DA		D- zon	E+DA
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	Pozit if	R
Ia (n=23)	23	-	23	-	5	18	18	5	21	2	2	2
Ib (n=18)	18	-	18	-	3	15	14	4	14	4	2	2
II (n=15)	15	-	14	1	1	14	12	3	11	4	1	2
III (n=24)	24	-	15	9	2	22	14	10	15	9	10	5
ST-17 (n=15) (serotip III)	15	-	7	8	1	14	2	13	7	8	8	7
IV (n=1)	1	-	1	-	-	1	1	-	1	-	0	
V (n=19)	21	-	12	9	-	21	10	11	15	4	8	4
VI (n=3)	3	-	3	-	2	1	3	-	3	-	0	0
Toplam (n=120)	120	-	93	27	14	106	74	46	87	33	31	22

VA: Vankomisin; LEV: Levofloksasin; T: Tetrasiklin; E: Eritromisin; DA: Klindamisin.
S: Duyarlı; R: Dirençli.

4.3. ST-17 Klonunun Dizileme Sonucu

Çizelge 4.6. ST-17 klonunun dizi analizi sonucunun değerlendirilmesi.

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Acession
<i>Streptococcus</i> sp. 'group B' strain FDAARGOS_229 chromosome, complete genome	385	385	% 100	3e-103	% 100	CP020432.2
<i>Streptococcus agalactiae</i> strain 874391 chromosome, complete genome	385	385	% 100	3e-103	% 100	CP022537.1
<i>Streptococcus agalactiae</i> strain SG-M6, complete genome	385	385	% 100	3e-103	% 100	CP021869.1
<i>Streptococcus agalactiae</i> isolate BM110 genome assembly, chromosome: I	385	385	% 100	3e-103	% 100	LT714196.1

ST-17 klonuna ait sekans sonuçlarının dizi analizleri NCBI, nucleotide BLAST'a kopyalanmış ve elde edilen sonuçlar yüzde olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar benzerlik %100 olarak belirtilmiştir (Çizelge 4.8).

4.4. Hasta Verilerinin Karşılaştırılması

Hasta profilleri ile izole edilen *S. agalactiae* suşları ve serotiplerin dağılımının karşılaştırılması ki-kare testi ile değerlendirilmiş ve anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

Daha sık rastlanan serotip III ve V'in tetrasiklin, levofloksasin klindamisin ve eritromisin antibiyotiklerine dirençliliği karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.05$). Levofloksasine direnç, serotip III de %43,6 oranında (en yüksek direnç) saptanmıştır.

Yaş kategorilerine göre serotiplerin dağılımı kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

5. TARTIŞMA

S. agalactiae toplumda sağlıklı insanların yaklaşık %35'inde, hamilelerin %20-30'unda gastrointestinal ve genitoüriner sistem mikrobiyotasında bulunan bir patobiyonttur (Wang ve diğ. 2015, Shabayek ve Spellerberg 2018). Ayrıca üriner sistem enfeksiyonlarının yaklaşık %2,3'ünden sorumlu olup, daha çok 15-49 yaş arasındaki kadınlarda görülmektedir (Magliona ve diğ. 2012, Leclercq ve diğ. 2016).

S. agalactiae enfeksiyonunun gebelik ve gebelik sonrası dönemle ilişkili olduğu ve özellikle 70 yaşından büyük, altta yatan hastalığı olan kişilerde sıklıkla rastlandığı bilinmektedir. Diyabet, kronik böbrek yetmezliği, siroz, kanser ve bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda GBS enfeksiyonu büyük önem taşımaktadır (Wang ve diğ. 2014, Picinelli ve diğ 2015).

Ulett ve diğ. (2009) diyabet hastalarında (%23,5), kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda (%18,6) ve üriner sistem enfeksiyonu öyküsü olan kişilerde (%19,6) daha sıklıkla idrarda *S. agalactiae*'ya rastlamışlardır. Biz de yaptığımız çalışmada daha çok gebelerin, diyabet hastalarının ve kronik böbrek yetmezliği olan hastaların idrar örneklerinden *S. agalactiae*'yı izole ettik. Farklı ülkelerde yapılan birçok çalışmada da GBS enfeksiyonunun diyabet hastalığı ile daha yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir. Saad ve diğ. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada kronik böbrek hastalarında *S. agalactiae* bakteriyemisi daha sık görülmüştür (%30,8).

S. agalactiae kapsül polisakkaritlerine göre 10 serotipe (Ia-Ib, II-IX) ayrılmaktadır. Farklı coğrafik bölgelere ve ırklara göre serotiplerin dağılımı değişmektedir. Çin'de sırasıyla serotip III (%32,1), serotip Ia (%17,9), serotip Ib (%16,1) ve serotip V (%14,3) daha sık olarak tanımlanmıştır (Wang ve diğ. 2015). Japonya'da yapılan bir çalışmada sırasıyla serotip Ib'ye (%39,5), V'e (%16,0), III'e (%13,8), VI'ya (%9,5), Ia'ya (%8,6), II'ye (%7,4), VIII'e (%3,8), IV'e (%0,9) ve VII'ye (%0,2) daha çok rastlanmıştır (Morozumi ve diğ. 2016). Amerika'da erkek ve hamile olmayan kadınları kapsayan bir çalışmada daha çok serotip V olmak üzere, serotip Ia ve III'ün invaziv hastalıklardan sıklıkla izole edildiği bildirilmiştir (Skoff ve diğ. 2009). Tayvan'da yapılan bir çalışmada serotip V, Ib ve III daha çok izole edilmiştir (Wang ve diğ. 2014). Ülkemizde İstanbul'da idrar örneklerinden izole edilen *S. agalactiae* izolatlarının lateks aglütinasyon metodu ile yapılan tiplendirmesinde en sık serotip V'e (%30) rastlanmış, serotip II (%23,3), Ia

(%16,7), III (%15) daha az sıklıkta ve birbirlerine yakın oranlarda belirlenirken; Ib (%3,5), VI (%1,7) ve VII (%1,7) çok daha az görülmüştür. Serotip IV, VII ve IX'a rastlamamışlardır (Baba ve Aydın 2016). Çalışmamızda serotip III (%32,5) en sık belirlenmiş olup Ia (%19,2), V (%17,5), Ib (%15), II (%12,5) serotipleri birbirlerine yakın oranlarda saptanmıştır. Serotip VI (%2,5) ve serotip IV (%0,8) daha az sıklıkta rastlanmıştır.

Gana'da gebe kadınlarda *S. agalactiae* serotiplerinin dağılımı ve taşıyıcılığını araştıran bir çalışmada en sık rastlanan serotipler VII ve IX olmuştur (Slotved ve diğ. 2017). Çalışmamızda 29 gebeden izole edilen *S. agalactiae* suşlarında serotip III ve serotip Ib'ye daha sıklıkla rastlanırken, serotip VII ve IX hiç görülmemiştir.

Amerika'da 15-20 yıl önce yapılan bir çalışmada serotip IV daha az sıklıkla ya da hiç görülmezken, son zamanlarda Kanada'da yapılan bir çalışmada *S. agalactiae* serotip IV'ün yetişkinlerde GBS enfeksiyonunun %16,9'undan sorumlu olduğu bildirilmiştir (Zeleznik ve diğ. 2000, Teatero 2015). Bu çalışmada, toplanan idrar örneklerinden izole edilen 120 *S. agalactiae* izolatından sadece bir izolat serotip IV olarak saptanmıştır.

Hamile olmayan yetişkinlerde invaziv GBS enfeksiyonlarının incelenmesinde altta yatan hastalıklar değerlendirildiğinde diyabet, kanser ve kalp yetmezliği daha sıklıkla rastlanmıştır. Yapılan bir çalışmada 2005-2006 yılları arasında invaziv GBS enfeksiyonunun incelenmesi sonucunda serotip V'in özellikle 18-39 yaş aralarındaki hastalarda daha sık görüldüğü bildirilmiştir (Skoff ve diğ. 2009). Çalışmamızda diyabet hastalarında serotip III diğer serotiplere göre daha fazla görülmüştür. Serotip V ise benzer olarak 19-65 yaş aralığında daha çok rastlanmıştır.

Yaşlılarda (>70) GBS'ye bağlı üriner sistem enfeksiyonunun böbrek taşı, kronik böbrek yetmezliği ve diyabet ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Edwards ve Baker 2005). Bu çalışmadaki 70 yaş ve üzeri hastalar değerlendirildiğinde toplam sekiz hastanın dördünün kronik böbrek yetmezliği olduğu ve iki hastanın diyabet tanısı aldığı görülmüştür. Ayrıca serotip Ia'ya da daha sık rastlanmıştır.

S. agalactiae semptomatik sistit ve asemptomatik bakteriüriye sebep olmaktadır. Bu enfeksiyonlar gebe, gebe olmayan ya da yetişkin hasta grupları ile ilişkilendirilmektedir. Hamile kadınlarda bakteriüri yenidoğana bulaş açısından önem taşımaktadır. Akut sistit ve pyelonefriti olan kişilerden izole edilen üropatojenik *S. agalactiae*'nin idrarda üreyemediği ancak üroepitel hücrelere yapışarak burada kolonize olduğu bazı izolatların ise idrarda üreyerek asemptomatik bakteriüriyle ilişkilendirildiği bildirilmiştir. Son zamanlarda *S. agalactiae*'nin genomik ve virülansı üzerine yapılan araştırmalar, bir dizi hastalık/konak

ile ilişkili genetik özelliklerini ve virülans mekanizmalarını tanımlamıştır (Ipe ve diğ. 2016). Yaptığımız yüksek lisans tez çalışmasında hastalıklar ile serotiplerin ilişkileri de incelenmiştir. Daha sonraki dönemde ise suşların virülans özellikleri, idrar yolu enfeksiyonunun yeri ve kökeni detaylı olarak araştırılacak ve örnek sayıları artırılarak daha farklı araştırmalar yapılacaktır.

Üriner sistem enfeksiyonuna diyabet hastalarında sıklıkla rastlanılmaktadır. Özellikle diyabetli kadın hastalarda diyabetli olmayan kadınlara göre daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. *S. agalactiae*'nin asidik ortamda daha iyi geliştiğini bildiren yayınlar bulunmaktadır. Sağlıklı bir bireyin idrar pH 4.5 ile 8 arasındadır. İdrar pH<4.5 altına düşerse asidik, üstüne çıkarsa bazik özellik gösterir. Tip II diyabet hastalarında ve böbrek hastalarında idrar pH'sı azalmaktadır (Cameron ve diğ. 2006, Maalouf ve diğ. 2010, D'Urzo ve diğ. 2014). D'Urzo ve diğ. (2014) *S. agalactiae* serotip III ve serotip V olarak tanımlanan izolatların asidik şartlar altında güçlü bir biyofilm oluşturduğunu ve en iyi biyofilm formunun hipervirulan ST-17 klonunda gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda 16 diyabet hastasının idrarından izole edilen *S. agalactiae* izolatlarının beşi serotip III, bir tanesi ise serotip V olarak saptanmıştır. Kronik böbrek hastalığı olanların ise idrarından izole edilen suşların beşinin serotip III olduğu ve bunların ikisinde hipervirulan ST-17 klonunun saptandığı görülmüştür. Dört izolat ise serotip V olarak tanımlanmıştır.

S. agalactiae ST-17 klonu yenidoğan enfeksiyonu ile ilişkilendirilmektedir. HvgA, Srr2 ve pilus yapılarını kodlayan *PI-1* ve *PI-2b* hipervirulan özelliği kazanmasında önemlidir. Son zamanlarda Kanada'da yetişkinlerde de invaziv GBS enfeksiyonlarında hipervirulan ST-17 klonu sıklıkla rastlanmıştır (Teatero ve diğ. 2016). Çalışmamızda da ST-17 klonu saptanan hastaların hepsi yetişkin ve yaş ortalaması 41 olarak saptanmıştır.

GBS enfeksiyonlarında penisilin profilaksi ve tedavide ilk tercih edilen antibiyotiktir. B-laktam allerjisi olan kişilerde penisiline alternatif olarak makrolid ve linkozamid grubu antibiyotikler tercih edilmektedir. GBS'nin klinik izolatlarının penisilin gibi B-laktam türevi antibiyotiklere duyarlı olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda penisilin antibiyotiğine duyarlılığın azaldığı (Longtin ve diğ. 2011), makrolidlere direncin arttığı bildirilmiştir (Mousavi ve diğ. 2016). Picinelli ve diğ. (2015), üriner sistem enfeksiyonuna neden olan *S. agalactiae* izolatlarının tamamının penisiline duyarlı olduğunu, izolatların %19'unun klindamisin ve eritromisine dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada penisilin duyarlılığı broth mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmış ve tüm suşların duyarlı olduğu belirlenmiştir. Ancak disk difüzyon yöntemi ile araştırılan klindamisin ve eritromisin

direnci sırası ile %38 ve %27 olarak saptanmıştır. Literatür ile kıyaslandığında makrolid direncinin daha yüksek olduğu görülmüştür.

İtalya'da yapılan bir çalışmada 901 GBS izolatının %1,4'ünün levofloksasin antibiyotiğine dirençli olduğu belirtilmiştir (Picinelli ve diğ. 2015). Gaziantep'de 2014 yılında yapılan bir araştırmada gebelerden izole edilen *S. agalactiae* izolatlarının lateks aglütinasyon metodu ile serotiplendirmesi ve antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır. Toplam 28 izolatın tamamının levofloksasin antibiyotiğine duyarlı olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda 120 izolatın antibiyogram sonucunda 27 izolatta levofloksasin direnci olduğu görülmüştür. Levofloksasin direnci olan izolatların tamamına yakınının serotip III ve serotip V içinde yer aldığı saptanmıştır.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda idrar yolu enfeksiyonu etkeni olarak tanımlanan *S. agalactiae* izolatlarının PZR yöntemi ile kapsül polisakkaritlerine göre serotiplendirmesi yapılmış ve hipervirulan ST-17 klonu araştırılmıştır. Ayrıca çıkan sonuçlar hasta profili ve antibiyogram duyarlılıkları ile karşılaştırılmıştır.

GBS enfeksiyonu 18-65 yaş aralığında daha sık görülmüştür. Gebeler, diyabet ve kronik böbrek hastalarında bu enfeksiyon yüksek oranda saptanmıştır. Bu bulgular daha önceki çalışmalarla da uyumlu bulunmuştur.

Serotiplendirmenin sonucunda; serotip III, Ia ve V sık görülürken, serotip VII, VIII ve IX'a hiç rastlanmamıştır.

ST-17 klonu serotip III olarak tanımlanan izolatların yaklaşık yarısında görülmüştür. ST-17 klonuna gebelerde daha sık rastlanılmıştır.

Penisilin ve vankomisin antibiyotiklerine direnç belirlenmezken tetrasiklin, levofloksasin, klindamisin ve eritromisin antibiyotiklerine yüksek oranda direnç saptanmıştır. Serotip III ve V'in tetrasiklin, levofloksasin klindamisin ve eritromisin antibiyotiklerine duyarlılığı karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$).

S. agalactiae izolatlarının PZR yöntemiyle serotiplendirilmesi ve ST-17 klonunun araştırılması ulaşabildiğimiz kaynaklara göre ülkemizde ilk defa yapılmıştır. PZR ile serotiplerin belirlenmesinin lateks aglütinasyon yöntemine göre düşük maliyetli olması ve tiplendirilemeyen serotiplerin daha az olması nedeniyle bu metodun daha kullanışlı olabileceği düşünülmektedir (Yao ve diğ. 2013).

S. agalactiae'ya ait güncel aşı çalışmaları serotiplerin dağılımına göre devam etmektedir. Aşı çalışmaları ile hem intrapartum antimikrobiyal profilaksinin potansiyel yan etkileri hem de yenidoğan ve maternal hastalıkların etkili bir şekilde önlenmesi sağlanacaktır. *S. agalactiae*'nın kapsül polisakkaritlerine özgü antikorların koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir. Ancak yeni serotipler, saptanamayan izolatlar, serotiplerdeki değişiklikler aşı çalışmalarını olumsuz etkilemektedir (Li ve diğ 2018). Bu araştırma ülkemizde *S. agalactiae* serotiplerinin dağılımını ve ST-17 klonunun saptaması yönünden önemlidir. Yapılacak ek çalışmalarla bu izolatların virulans faktörlerinin de incelenmesi planlanmaktadır.

S. agalactiae'nın virulans faktörlerinin, antibiyotik duyarlılıklarının, patogenezinin ve kökenlerinin daha iyi anlaşılması açısından MLST, PFGE gibi daha kapsamlı moleküler çalışmaların yapılmasıyla literatüre ülkemizden de verilerin eklenmesi büyük önem taşımaktadır.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA ve diğ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 1997; 25: 3389–402.
- Baba S, Aydın MD. Investigation of the serotype distribution, biofilm production and antibiotic susceptibilities of group B streptococci isolated from urinary samples. *Mikrobiyoloji bulteni*, 2016; 50(3): 353-360.
- Baker C, Kasper D. Correlation of maternal antibody deficiency with susceptibility to neonatal group B streptococcal infection. *N Engl J Med.* 1976; 294: 753–756.
- Barcaite E, Bartusevicius A, Tameliene R ve diğ. Prevalence of maternal group B streptococcal colonisation in European countries. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008; 87: 260–271.
- Baron S. Medical Microbiology. *University of Texas Medical Branch at Galveston* (4. Baskı), 1996.
- Beckmann C, Waggoner JD, Harris TO ve diğ. Identification of novel adhesins from group B streptococci by use of phage display reveals that C5a peptidase mediates fibronectin binding. *Infection and immunity*, 2002; 70(6): 2869-2876.
- Belard S, Toepfner N, Capan-Melser M ve diğ. *Streptococcus agalactiae* serotype distribution and antimicrobial susceptibility in pregnant women in Gabon, Central Africa. *Scientific reports*, 2015; 5: 17281.
- Bellais S, Six A, Fouet A ve diğ. Capsular switching in group B Streptococcus CC17 hypervirulent clone: a future challenge for polysaccharide vaccine development. *The Journal of infectious diseases*, 2012; 206(11): 1745-1752.
- Brigtsen AK, Dedi L, Melby KK ve diğ. Comparison of PCR and serotyping of Group B Streptococcus in pregnant women: the Oslo GBS-study. *J Microbiol Methods.* 2015; 108: 31–5.
- Brimil N, Barthell E, Heindrichs U ve diğ. Epidemiology of *Streptococcus agalactiae* colonization in Germany. *International Journal of Medical Microbiology*, 2006; 296(1): 39-44.
- Brown CK, Gu ZY, Matsuka YV ve diğ. Structure of the streptococcal cell wall C5a peptidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005; 102(51): 18391-18396.
- Cameron MA, Maalouf NM, Adams-Huet B ve diğ. Urine composition in type 2 diabetes: predisposition to uric acid nephrolithiasis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2006; 17(5): 1422-1428.
- Chaiwarith R, Jullaket W, Bunchoo M ve diğ. *Streptococcus agalactiae* in adults at Chiang Mai University Hospital: a retrospective study. *BMC infectious diseases*, 2011; 11(1): 149.
- Cheng Q, Stafslin D, Purushothaman SS ve diğ. The group B streptococcal C5a peptidase is both a specific protease and an invasins. *Infection and immunity*, 2002; 70(5): 2408-2413.
- Clifford V, Heffernan HM, Grimwood K ve diğ. Variation in erythromycin and clindamycin resistance patterns between New Zealand and Australian group B streptococcus isolates. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2011; 51(4): 328-332.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty sixth informational supplement, 2016, Wayne, USA.
- Cooper K, Abbott F, Gould IM. Reduced penicillin susceptibility of group B Streptococcus: an assessment of emergence in Grampian, Scotland. *British journal of biomedical science*, 2006; 73(1): 25-27.
- Domingo P, Barquet N, Alvarez M ve diğ. Group B streptococcal meningitis in adults: report of twelve cases and review. *Clinical infectious diseases*, 1997; 25(5): 1180-1187.

- D'Urzo N, Martinelli M, Pezzicoli A ve diğ. Acidic pH strongly enhances in vitro biofilm formation by a subset of hypervirulent ST-17 *Streptococcus agalactiae* strains. *Applied and environmental microbiology*, 2014; 80(7): 2176-2185.
- Edwards MS, Baker CJ. Group B streptococcal infections in elderly adults. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41(9):839–847.
- Elling R, Hufnagel M, de Zoysa A ve diğ. Synchronous recurrence of group B streptococcal late-onset sepsis in twins. *Pediatrics*, 2014; 133(5): e1388-e1391.
- Eskandarian N, Ismail Z, Neela V ve diğ. Antimicrobial susceptibility profiles, serotype distribution and virulence determinants among invasive, non-invasive and colonizing *Streptococcus agalactiae* (group B streptococcus) from Malaysian patients. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2015; 34(3): 579-584.
- Fabre R, Cavallo JD, Arzouni JP ve diğ. Community-acquired urinary tract infections in 15 to 65 years old female patients in France. Susceptibility of E. coli according to history: AFORCOPI-BIO network 2003. *Medecine et maladies infectieuses*, 2007; 37(9): 594-598.
- Falagas ME, Rosmarakis ES, Avramopoulos I ve diğ. *Streptococcus agalactiae* infections in non-pregnant adults: single center experience of a growing clinical problem. *Medical science monitor*, 2006; 12(11): CR447-CR451.
- Farley MM, Strasbaugh LJ. Group B streptococcal disease in nonpregnant adults. *Clinical Infectious Diseases*, 2001; 33(4): 556-561.
- Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M ve diğ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature reviews microbiology*, 2015; 13(5): 269.
- Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Disease-a-month*, 2003; 49(2): 53-70.
- Gosiewski T, Brzychczy-Włoch M, Heczko PB. The application of multiplex PCR to detect seven different DNA targets in group B streptococci. *Folia microbiologica*, 2012; 57(3): 163-167.
- Graham III PL, Begg MD, Larson E ve diğ. Risk factors for late onset gram-negative sepsis in low birth weight infants hospitalized in the neonatal intensive care unit. *The Pediatric infectious disease journal*, 2006; 25(2): 113-117.
- Hickman ME, Rench MA, Ferrieri P ve diğ. Changing epidemiology of group B streptococcal colonization. *Pediatrics*, 1999; 104: 203–209.
- Hwang MN, Grace ME. Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 1975; 1(1): 114-115.
- Hwang MN, Ederer GM. Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 1975; 1(1): 114-115.
- Imperi M, Pataracchia M, Alfaroni G ve diğ. A multiplex PCR assay for the direct identification of the capsular type (Ia to IX) of *Streptococcus agalactiae*. *Journal of microbiological methods*, 2010; 80(2): 212-214.
- Ipe DS, Zakour NLB, Sullivan MJ ve diğ. Discovery and characterization of human-urine utilization by asymptomatic-bacteriuria-causing *Streptococcus agalactiae*. *Infection and immunity*, 2016; 84(1): 307-319.
- Johri AK, Lata H, Yadav P ve diğ. Epidemiology of Group B Streptococcus in developing countries. *Vaccine*, 2013; 31: D43-D45.

- Johri AK, Paoletti LC, Glaser P ve diğ. Group B Streptococcus: global incidence and vaccine development. *Nature Reviews Microbiology*, 2006; 4(12): 932.
- Jones N, Bohnsack JF, Takahashi S ve diğ. Multilocus sequence typing system for group B streptococcus. *Journal of clinical microbiology*, 2003; 41(6): 2530-2536.
- Kılıç Ş. Gebelerde saptanan Grup B Streptokokların serotipleri ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Yüksek lisans tezi. *Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 2014.
- Kimura K, Suzuki S, Wachino JI ve diğ. First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2008; 52(8): 2890-2897.
- Kolter J, Henneke P. Codevelopment of Microbiota and innate immunity and the Risk for Group B Streptococcal Disease. *Frontiers in immunology*, 2017; 8: 1497.
- Koneman, EW, Allen SD, Janda WM ve diğ. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (Color Atlas & Textbook of Diagnostic Microbiology) (7. Baskı). *L.W.W yayıncılık* 2017.
- Kong F, Gidding HF, Berner R ve diğ. *Streptococcus agalactiae* C β protein gene (bac) sequence types, based on the repeated region of the cell-wall-spanning domain: relationship to virulence and a proposed standardized nomenclature. *Journal of medical microbiology*, 2006; 55(7): 829-837.
- Lachenauer C, Kasper DL, Shimada J ve diğ. Serotype VI and VIII predominate among group B streptococci isolated from pregnant Japanese women. *J. Infect. Dis.* 1999; 179: 1030–1033.
- Lancefield RC. A serological differentiation of human and other groups of streptococci. *J. Exp. Med.* 1933; 57: 571-595.
- Landwehr-Kenzel S, Philipp H. Interaction of *Streptococcus agalactiae* and cellular innate immunity in colonization and disease. *Frontiers in immunology*, 2014; 5: 519.
- Lang S, Palmer M. Characterization of *Streptococcus agalactiae* CAMP factor as a pore-forming toxin. *Journal of Biological Chemistry*, 2003; 278(40): 38167-38173.
- Lazzarin M, Mu R, Fabbrini M ve diğ. Contribution of pilus type 2b to invasive disease caused by a *Streptococcus agalactiae* ST-17 strain. *BMC microbiology*, 2017; 17(1): 148.
- Le Doare K, Heath P. An overview of global GBS epidemiology. *Vaccine*, 2013; 31(Suppl. 4): D7–D12.
- Leclercq SY, Sullivan MJ, Ipe DS ve diğ. Pathogenesis of Streptococcus urinary tract infection depends on bacterial strain and β -hemolysin/cytolysin that mediates cytotoxicity, cytokine synthesis, inflammation and virulence. *Scientific reports*, 2016; 6: 29000.
- Li S, Wen G, Cao X ve diğ. Molecular characteristics of *Streptococcus agalactiae* in a mother-baby prospective cohort study: Implication for vaccine development and insights into vertical transmission. *Vaccine*, 2018; 36(15): 1941-1948.
- Liu GY, Doran KS, Lawrence T ve diğ. Sword and shield: linked group B streptococcal β -hemolysin/cytolysin and carotenoid pigment function to subvert host phagocyte defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004; 101(40): 14491-14496.
- Longtin J, Vermeiren C, Shahinas D ve diğ. Novel mutations in a patient isolate of *Streptococcus agalactiae* with reduced penicillin susceptibility emerging after long-term oral suppressive therapy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2011; 55(6): 2983-2985.
- Maalouf NM, Cameron MA, Moe OW ve diğ. Metabolic basis for low urine pH in type 2 diabetes. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 2010; 5(7): 1277-1281.
- Magliano E, Grazioli V, Deflorio L ve diğ. Gender and age-dependent etiology of community-acquired urinary tract infections. *The Scientific World Journal*, 2012.

- Michon F, Brisson JR, Dell A, Kasper DL ve diğ. Multiantennary group-specific polysaccharide of group B Streptococcus. *Biochemistry*, 1988; 27: 5341–5351.
- Michon F, Katzenellenbogen E, Kasper DL ve diğ. Structure of the complex group-specific polysaccharide of group B Streptococcus. *Biochemistry*, 1987; 26: 476–486.
- Morozumi M, Wajima T, Takata M ve diğ. Molecular characteristics of group B streptococci isolated from adults with invasive infections in Japan. *Journal of clinical microbiology*, 2016; 54(11): 2695-2700.
- Mousavi SM, Nasaj M, Hosseini SM ve diğ. Survey of strain distribution and antibiotic resistance pattern of group B streptococci (*Streptococcus agalactiae*) isolated from clinical specimens. *GMS hygiene and infection control*, 2016; 11.
- Muller AE, Oostvogel PM, Steegers Eave diğ. Morbidity related to maternal group B streptococcal infections. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2006; 85: 1027–1037.
- Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH ve diğ. (Çeviri ed: A. Başustaoğlu) Klinik Mikrobiyoloji, 9. baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara, 2009.
- Nuccitelli A, Rinaudo CD, Maione D. Group B Streptococcus vaccine: state of the art. *Therapeutic advances in vaccines*, 2015; 3(3): 76-90.
- Paoletti L, Wessels M, Michon F ve diğ. Group B streptococcus type II polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine. *Infect Immun.* 1992; 60: 4009–4014.
- Paoletti L, Kasper D. Conjugate vaccines against group B streptococcus types IV and VII. *J Infect Dis.* 2002; 186: 123–126.
- Paoletti L, Madoff L. Vaccines to prevent neonatal GBS infection. *Semin Neonatol.* 2002; 7: 315–323.
- Patras KA, Victor N. Group B Streptococcal Maternal Colonization and Neonatal Disease: Molecular Mechanisms and Preventative Approaches. *Frontiers in Pediatrics*, 2018; 6(27).
- Périchon B, Szili N, Du Merle L ve diğ. Regulation of PI-2b pilus expression in hypervirulent *Streptococcus agalactiae* ST-17 BM110. *PLoS one*, 2017; 12(1): e0169840.
- Persson E, Berg S, Bevanger L ve diğ. Characterisation of invasive group B streptococci based on investigation of surface proteins and genes encoding surface proteins. *Clinical Microbiology and Infection*, 2008; 14(1): 66-73.
- Phares C, Lynfield R, Farley M ve diğ. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999–2005. *JAMA.* 2008; 299: 2056–2065.
- Piccinelli G, Biscaro V, Gargiulo F ve diğ. Characterization and antibiotic susceptibility of *Streptococcus agalactiae* isolates causing urinary tract infections. *Infection, Genetics and Evolution*, 2015; 34: 1-6.
- Piccinelli G, Gargiulo F, Corbellini S ve diğ. Emergence of the first levofloxacin-resistant strains of *Streptococcus agalactiae* isolated in Italy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2015; 59(4): 2466-2469.
- Pyburn TM, Bensing BA, Xiong YQ ve diğ. A structural model for binding of the serine-rich repeat adhesin GspB to host carbohydrate receptors. *PLoS pathogens*, 2011; 7(7): e1002112.
- Rajagopal L. Understanding the regulation of Group B Streptococcal virulence factors. *Future Medicine*, 2009; 4(2): 201-221.
- Roesch LFW, Silveira RC, Corso AL ve diğ. Diversity and composition of vaginal microbiota of pregnant women at risk for transmitting Group B Streptococcus treated with intrapartum penicillin. *PLoS one*, 2017; 12(2): e0169916.

- Rosa-Fraile M, Shaynoor D, Barbara S. Group B streptococcal haemolysin and pigment, a tale of twins. *FEMS microbiology reviews*, 2014; 38(5): 932-946.
- Rosini R, Immaculada M. Biofilm formation by *Streptococcus agalactiae*: influence of environmental conditions and implicated virulence factors. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2015; 5(6).
- Ruppen C, Notter J, Strahm C ve diğ. Osteoarticular and skin and soft-tissue infections caused by *Streptococcus agalactiae* in elderly patients are frequently associated with bacteremia. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 2018; 90(1): 55-57.
- Saad EJ, Baenas D, Boisseau CS. Streptococcus agalactiae bacteremia in non-pregnant adult patients at two teaching hospitals. *Revista Argentina de microbiologia*, 2017.
- Santillan DA, Mark EA, Stephen KH. Protective immunization in mice against group B streptococci using encapsulated C5a peptidase. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 2008; 198(1): 114-e1.
- Schrag SJ, Zell ER, Lynfield R ve diğ. A population-based comparison of strategies to prevent early-onset group B streptococcal disease in neonates. *New England Journal of Medicine*, 2002; 347(4): 233-239.
- Schuab RB, Arêas GP, Souza VC ve diğ. Molecular epidemiology of *Streptococcus agalactiae* recovered from significant bacteriuria. *Infectious Diseases*, 2015; 47(9): 637-642.
- Schuchat A. Group B streptococcus. *The Lancet*, 1999; 353(9146): 51-56.
- Seifert KN, Adderson EE, Whiting AA ve diğ. A unique serine-rich repeat protein (Srr-2) and novel surface antigen (ϵ) associated with a virulent lineage of serotype III *Streptococcus agalactiae*. *Microbiology*, 2006; 152(4): 1029-1040.
- Shabayek S, Barbara S. Group B streptococcal colonization, molecular characteristics, and epidemiology. *Frontiers in Microbiology*, 2018; 9(437).
- Sheen TR, Jimenez A, Wang NY ve diğ. Serine-rich repeat proteins and pili promote *Streptococcus agalactiae* colonization of the vaginal tract. *Journal of Bacteriology*, 2012; 193(24): 6834-6842.
- Sherman, J. M. The streptococci. *Bacteriological reviews*, 1937; 1(1); 3.
- Six A, Bellais S, Bouaboud A ve diğ. Srr2, a multifaceted adhesin expressed by ST-17 hypervirulent group B Streptococcus involved in binding to both fibrinogen and plasminogen. *Mol Microbiol*. 2015; 97(6):1209–22.
- Skoff TH, Farley MM, Petit S ve diğ. Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in nonpregnant adults, 1990–2007. *Clinical Infectious Diseases*, 2009; 49(1): 85-92.
- Slotved HC, Dayie NT, Banini JA ve diğ. Carriage and serotype distribution of *Streptococcus agalactiae* in third trimester pregnancy in southern Ghana. *BMC pregnancy and childbirth*, 2017; 17(1): 238.
- Slotved HC, Kong F, Lambertsen L ve diğ. Serotype IX, a proposed new *Streptococcus agalactiae* serotype. *Journal of clinical microbiology*, 2007; 45(9): 2929-2936.
- Sørensen UBS, Poulsen K, Ghezzi C ve diğ. Emergence and global dissemination of host-specific *Streptococcus agalactiae* clones. *MBio*. 2010; 1(3): e00178-10.
- Stevens DL, Kaplan EL. Streptococcal infections: clinical aspects, microbiology, and molecular pathogenesis. *Oxford University Press, USA*, 2000.
- Tan CK, Carey AJ, Ipe D ve diğ. Current understanding of streptococcal urinary tract infection. *In Clinical Management of Complicated Urinary Tract Infection. InTech*. 2011, (DOI: 10.5772/22012)
- Tazi A, Disson O, Bellais S. The surface protein HvgA mediates group B streptococcus hypervirulence and meningeal tropism in neonates. *Journal of Experimental Medicine*, 2010; jem-20092594.

- Teatero S, Athey TB, Van Caesele P. Emergence of serotype IV group B Streptococcus adult invasive disease in Manitoba and Saskatchewan, Canada, is driven by clonal sequence type 459 strains. *Journal of clinical microbiology*, 2015; 53(9): 2919-2926.
- Teatero S, Ramoutar E, McGeer A ve diğ. Clonal complex 17 group B Streptococcus strains causing invasive disease in neonates and adults originate from the same genetic pool. *Scientific reports*, 2016; 6: 20047.
- Toniolo C, Balducci E, Romano MR. ve diğ. *Streptococcus agalactiae* capsule polymer length and attachment is determined by the proteins CpsABCD. *Journal of Biological Chemistry*, 2015; 290(15): 9521-9532.
- Ulett KB, Benjamin WH, Zhuo F ve diğ. Diversity of group B streptococcus serotypes causing urinary tract infection in adults. *Journal of clinical microbiology*, 2009; 47(7): 2055-2060.
- Verani JR, Lesley M, Stephanie JS. Prevention of perinatal group B streptococcal disease: Revised guidelines from CDC, 2010. *CDC*. 2010; 59(RR10); 1-32.
- Vinnemeier CD, Brust P, Owusu-Dabo E ve diğ. Group B Streptococci serotype distribution in pregnant women in Ghana: assessment of potential coverage through future vaccines. *Tropical Medicine & International Health*, 2015; 20(11): 1516-1524.
- Vornhagen J, Kristina M, Adams W ve diğ. Perinatal group B streptococcal infections: virulence factors, immunity, and prevention strategies. *Trends in microbiology*, 2017; 25(11): 919-931.
- Wang P, Tong JJ, Ma XH ve diğ. Serotypes, antibiotic susceptibilities, and multi-locus sequence type profiles of *Streptococcus agalactiae* isolates circulating in Beijing, China. *PLoS One*, 2015; 10(3): e0120035.
- Wang YH, Chen HM, Yang YH. Clinical and microbiological characteristics of recurrent group B streptococcal infection among non-pregnant adults. *International Journal of Infectious Diseases*, 2014; 26: 140-145.
- Wessels MR, Rubens CE, Benedi VJ ve diğ. Definition of a bacterial virulence factor: sialylation of the group B streptococcal capsule. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1989; 86(22): 8983-8987.
- Wessels M, Paoletti L, Kasper D ve diğ. Immunogenicity in animals of a polysaccharide-protein conjugate vaccine against type III group B Streptococcus. *J Clin Invest*. 1990; 86: 1428-1433.
- Yao K, Poulsen K, Maione D ve diğ. Capsular gene typing of *Streptococcus agalactiae* compared to serotyping by latex agglutination. *Journal of clinical microbiology*, 2013; 51(2): 503-507.
- Zaleznik DF, Rench MA, Hillier S ve diğ. Invasive disease due to group B Streptococcus in pregnant women and neonates from diverse population groups. *Clinical infectious diseases*, 2015; 30(2): 276-281.
- Zhao Z, Kong F, Zeng X ve diğ. Distribution of genotypes and antibiotic resistance genes among invasive *Streptococcus agalactiae* (group B streptococcus) isolates from Australasian patients belonging to different age groups. *Clinical Microbiology and Infection*, 2008; 14(3): 260-267.
- Zimmermann P, Gwee A, Curtis N. The controversial role of breast milk in GBS late-onset disease. *Journal of Infection*, 2017; 74: S34-S40.

ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler:

Adı – Soyadı: Eda YAZICI ÖZÇELİK

Doğum yeri ve tarihi: KARABÜK- 10.01.1988

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Evli

Çalıştığı kurum: Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı

İletişim Adresi: Mimar Sinan Mahallesi Gül Sokak Bekiroğlu Apartmanı No:29/B
Kat:2 Daire:4

Telefon: 05347158625

2. Eğitim Bilgileri:

2015 – 2018: Yüksek Lisans: Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

2010 – 2015: Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zooloji
Anabilim Dalı

2006 – 2010: Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

2002 – 2005: Lise: Karabük Demir Çelik Lisesi

Yabancı Dil Bilgileri:

	İngilizce
Okuma	iyi
Yazma	orta
Konuşma	orta

3. Ünvanları:

ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ

4. Mesleki Deneyimi:

2015 – 2018: Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

5. Üye Olduğu Mesleki Kuruluşlar

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti (2017- devam)

6. Bilimsel Etkinlikler

Uluslararası Poster:

- 1- Özçelik E, Er D, Tamer G, Genç S, Dünder D. Investigation of susceptibility to various Antimicrobials and changing in penicilin susceptibility of group B Streptococci between years. (10th Balkan Congress of Microbiology) in November, 2017, Sofia, Bulgaria.
- 2- Yazıcı E, Uzuner H, Özdemir L, Karadenizli A. STX1 and STX2 frequency in patients prediagnosed with haemolytic uremic syndrome in Turkey. (10th Balkan Congress of Microbiology) in November, 2017, Sofia, Bulgaria.
- 3- Yazıcı Özçelik E, Sonmez Tamer G. The prevalence of rotavirus and adenovirus infections in immunocompetent patients with acute gastroenteritis in Kocaeli, Western Turkey. (10th Balkan Congress of Microbiology) in November, 2017, Sofia, Bulgaria.

Sözlü Bildiri:

- 1- Yazıcı E, Yiğit N, Gül N, Toprak Ş, Bayramoğlu D. Diflubenzuronun Akutik Ekosistemlerdeki Rezidüel Etkinliği. III. Biyosidal Kongresi (Ulusal) 04-06.11.2012, Şanlıurfa, Türkiye

Projeler:

İdrar örneklerinden izole edilen *Streptococcus agalactiae* izolatlarının serotiplendirilmesi ve ST-17 klonunun araştırılması, KOÜ BAP, Proje No: 2017/ 045, Araştırmacı.

EKLER

Ek 1. Tez Denetleme Listesi

Tez Denetleme Listesi

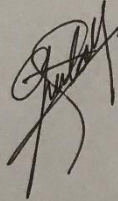
Tez, aşağıdaki denetimler yapılarak tamamlanmıştır.

- Kapak ve iç kapak sayfalarında BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA şeklinde elde edilen unvanlar yazıldı (Kapak sayfasına danışman adı yazılmamalıdır).
- Kapak sayfasına mezun olunan PROGRAMIN (Anabilim dalının değil) adı yazıldı.
- Tez kapağı sırt kısmına kılavuzda belirtilen çizimde (yazının yönüne dikkat!) ad, program, yıl yazıldı.
- Onay sayfası uygun çizimde hazırlandı (kazanılan unvanlar BİLİM UZMANLIĞI ya da DOKTORA olmalıdır) imzalatıldı (Enstitü Müdürü'nün imzası da gereklidir, imzaların aynı renk kalemle atılmasına dikkat edilmelidir).
- Dizinler kılavuzda belirtildiği gibi sıralandı.
- Ön sayfalara i, ii, iii şeklinde Roma rakamları konuldu.
- Sayfa numaraları kılavuzda belirtildiği şekilde konuldu.
- Sayfa düzeni kılavuzda belirtildiği şekilde yapıldı.
- Ana metin yazı boyutu 12 olacak biçimde basıldı.
- Dipnot yazı boyutu 10 olacak şekilde basıldı.
- Ana metin satır aralığı 1.5 olacak şekilde yazıldı.
- Kaynaklar abecesel sıralamaya göre yazıldı.
- Kaynak gösterme ilkelerine ve yazım kurallarına uyuldu. Ekler kılavuzda belirtildiği gibi verildi.

19/ 06/ 2018

Prof. Dr. Zeynep Gülden SÖNMEZ TAMER

İmza



Ek 2. Etik Kurul Onayı

		T.C. KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ		EUA European University Association	
		GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		BSE RESERVATORY KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ	
Etik Kurul Bilgileri	Adı	Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu			
	Adres	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Ara Kat 41380 Umuttepe Yerleşkesi /KOCAELİ			
	Telefon	0262 303 74 50			
	Faks	0262 303 74 63			
	E-Posta	gokaetikkurul@kocaeli.edu.tr			
Başvuru Bilgileri	Araştırmacının Adı	İdrar örneklerinden üretilen Streptococcus agalactiae izolatlarının Serotiplendirilmesi ve ST-17 klonunun araştırılması			
	Araştırma Proje Numarası	KÜ GOKAEK 2017/95			
	Sorumlu Araştırmacı Unvanı/Adı/Soyadı	Doç. Dr. Gülden SÖNMEZ TAMER			
	Sorumlu Araştırmacının Uzmanlık Alanı	Tıbbi Mikrobiyoloji			
	Araştırma Merkezi	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD Mikrobiyoloji Laboratuvarı			
	Destekleyici				
	Araştırmacının Türü	Yüksek Lisans Tezi			
	Araştırmaya Katılan Merkezler	Tek Merkezli	Çok Merkezli	Ulusal	Uluslararası
	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Değerlendirilen Belgeler	Belge Adı	Var	Yok	Açıklama	
	Başvuru Dilekçesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Başvuru Formu	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Araştırmacının Türü	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Koleksiyon Materyalle Yapılacak Araştırma/Rutin Muayene sırasında elde edilmiş materyalle yapılacak araştırma	
	Araştırma Protokolü	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Kullanılacak Form Örnekleri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Aydınlatılmış Onam Formu	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Araştırma Bütçesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Literatür Örneği	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Taahhütname	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Biyolojik Materyal Transfer Anlaşması	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	İzin Belgeleri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Başhekimlik Onayı	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Özgeçmişler	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
	Değişiklik Bilgi Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Proje Sonuç Formu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
Diğer	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu		Belge Kodu	Rev. Tarihi / No.su	Sayfa	
		Onay formu	21.09.2016/KDGOEK/01.1	1/2	

Karar Bilgileri	Karar No: KÜ GOKAEK 2017/5.30	Proje No: 2017/95	Tarih: 12/6/2017
	Doç. Dr. Gülden SÖNMEZ TAMER sorumluluğunda yapılan ve yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçesi, amacı, yaklaşım ve yöntemleri, gönüllüler için beklenen yarar ve riskler dikkate alınarak değerlendirilmiş ve araştırmanın ilgili protokol doğrultusunda belirtilen merkezlerde yürütülmesi etik açıdan, <input checked="" type="checkbox"/> Uygun bulunmuştur. <input type="checkbox"/> Eksikliklerin tamamlanması koşulu ile uygun bulunmuştur.* <input type="checkbox"/> Uygun bulunmamıştır.*		

Dayanakları	Hasta Hakları Yönetmeliği (01.08.1998/23420); Biyoloji ve Tıbbın Uygulanması Bakımından İnsan Hakları ve İnsan Haysiyetinin Korunması Sözleşmesi; İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesinin Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (09.12.2003/25311); Biyotıp Araştırmalarına İlişkin İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesine Ek Protokolün Onaylanmasının Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (29.03.2011/27899); İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik (13.04.2013/28617); Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği (06.09.2014/29111); Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi; İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu; Türk Tabipleri Birliği Hekimlik Meslek Etiği Kuralları; Türk Tabipleri Birliği Araştırma Etiği Bildirgesi
-------------	--

Etik Kurul Üyeleri

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlişki		Toplantıda Bulunma		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Prof. Dr. Kadir Babaoğlu Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İ. Erdem Okay Üye	Genel Cerrahi	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Haluk Emre Özel Üye	Restoratif Diş Tedavisi	Kocaeli Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Canan Baydemir Üye	Biyostatistik	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Selcen Göçmez Üye	Farmakoloji	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Özlem Yıldız Gündoğdu Üye	Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Yusufhan Yazır Üye	Histoloji ve Embriyoloji	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Aslıhan Akpınar Raportör	Tıp Tarihi ve Etik	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ceyla Eraldemir Üye	Biyokimya	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	

* Gerekçe ve öneriler:

KÜ Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onay Formu

Belge Kodu	Rev. Tarihi / No:	Sayfa
Onay Formu	21.09.2016/KOGDEK01.1	2/2