

22399

TC
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN GRAM POZİTİF, KATALAZ NEGATİF
KOKLARIN İDENTİFİKASYONU

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof.Dr.Enis DALKILIÇ

Dr.Neriman AYDIN
UZMANLIK TEZİ

KAYSERİ-1992

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

İÇİNDEKİLER

TEZDE KULLANILAN KISALTMALAR.....	ii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	iii
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	2
GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
BULGULAR.....	26
TARTIŞMA.....	32
SONUÇ.....	38
ÖZET.....	39
SUMMARY.....	41
KAYNAKLAR.....	43

TEZDE KULLANILAN KISALTMALAR

ASO	:Anti Streptolizin-O
BE	:Bile-esculin
BS	:Basitrasin
CAMP	:Christie, Atkins, Munch-Peterson
DNase	:Deoksiribonükleaz
HH	:Hippurat Hidrolizi
LAP	:Lösinaminopeptidaz
MRS	:Mann-Rogosa-Sharpe
NADase	:Nikotinamidadeninükleotidaz
OPT	:Optokin
PYR	:Pyrrolydonyl arylamidase
SAT	:Satellitizm
SE	:Safrada Erime
SOR	:Sorbitol
SXT	:Trimetoprim-sulfametoksazol
SVS	:Steril vücut boşluğu sıvısı
TRE	:Trehaloz
VP	:Voges-Proskauer

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo I	:Gram Pozitif, Katalaz Negatif Koklar ve Özellikleri.....	4
Tablo II	:Gram Pozitif,Katalaz Negatif Kokların Bakteriyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri.....	10
Tablo III	:Beta Hemolitik Streptokokların Ayırım Özellikleri.....	11
Tablo IV	:Non-Beta Hemolitik Streptokokların Ayırımı.....	12
Şekil 1	:B Grubu Streptokokların Oluşturduğu Ok Başı Hemoliz..	20
Tablo V	:Klinik Örneklerden İzole Edilen Beta Hemolitik Streptokok ve Non-Beta Hemolitik Gram Pozitif,Katalaz Negatif Kokların Dağılımlı.....	27
Tablo VI	:Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Pozitif, Katalaz Negatif Kokların İdentifikasyonu.....	28
Tablo VII	:Gruplandırılan Beta Hemolitik Streptokokların Klinik Örneklerle Dağılımlı.....	29
Tablo VIII	:İdentifiye Edilen Non-Beta Hemolitik Kokların Klinik Örneklerle Dağılımlı.....	31

GİRİŞ

Streptokoklar, pek çok tür içeren Gram pozitif koklar olup, farinjit, kızıl, neonatal sepsis, menenjit, bakteriyel endokardit, romatizmal ateş ve glomerulonefrit gibi infeksiyonların etyopatogenezinden sorumlu tutulmaktadır (9,11). Önceleri insan için patojen olmadığı kabul edilen Streptococcaceae cinslerinden bazılarının günümüzde infeksiyon etkeni olduğu bildirilmektedir(27,34). İzolasyonu yapılan streptokokların identifikasyonunda bakteriyolojik yöntemlere ilaveten biyokimyasal, serolojik ve DNA-DNA hibridizasyon teknikleri uygulanmaktadır (18,65). Morfolojik olarak streptokoklara benzeyen Gram pozitif kokların ilk ayırımında en yaygın olarak uygulanan katalaz testidir (37).

Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Hastanesi klinik ve polikliniklerine değişik şikayetlerle başvuran hastaların klinik örneklerinden bakteriyolojik yöntemlerle izole edilen Gram pozitif, katalaz negatif kokların biyokimyasal testlerle identifikasyonu amaçlandı.

GENEL BİLGİLER

Streptokoklar ilk olarak 1874 yılında Billroth tarafından yara infeksiyonlarında görülmüş, 1879 yılında Pasteur tarafından puerperal sepsisli bir hastanın kanından izole edilmiştir (9). Bundan üç yıl sonra Rossenbach bu mikroorganizmalara, Streptococcus pyogenes adını vererek, morfolojik ve kültürel karakterleri ile virulanlarını tanımlamıştır (15). Streptokokların sınıflandırma çalışmaları 1903 yılında Schötmuller'in kanlı agar tekniğini uygulaması ile başlamış ve Brown tarafından 1919 yılında alfa , beta ve gama hemoliz patenlerini tanımlanmıştır. Lancefield tarafından, streptokokların hücre duvarından salınan ve C maddesi olarak bilinen antijenlerin tanımlanması ile, streptokokların serogruplandırılması yapılmış ve bu sınıflandırma streptokok infeksiyonlarının epidemiyolojisinde bir dönüm noktası olmuştur (9). Daha sonraları streptokoklar değişik olarak sınıflandırılmışsada bugün sistematikte uygulanan sınıflandırma, geliştirilen DNA-DNA hibridizasyon tekniklerine dayanmaktadır (65).

Gram pozitif, katalaz negatif kokların morfolojik özellikleri ve sınıflandırılması

Streptokok cinsinde; glikozu hekzos difosfat yoluyla fermante ederek dekstrojir laktik asit oluşturan, tek yönde bölünerek zincir yapan yada çift olarak kalan, değişken anaerob ve DNA'daki guanin+sitozin (G+C) % 33-42 olan koklar toplanmıştır (8). Bunlar Gram boyamada 0,6-1,0 mikrometre boyunda kok, kokobasil veya basil şeklinde Gram pozitif, ikili veya zincir yapmış olarak görülürler. Sporsuz olan bu bakterilerin çoğu kapsülsüzdür, ancak bazılarında hyalüronik asitten bazılarında polisakkaritden oluşan kapsülleri bulunmaktadır (9,15,18).

Gram pozitif, katalaz negatif koklar; Streptococcus, Aerococcus, Enterococcus, Pediococcus, Lactococcus, Gemella ve Leuconostoc olmak üzere yedi cins altında toplanmaktadır (20). Streptococaceae familyasının cinsleri kanlı agarda yaptığı hemoliz tiplerine göre; alfa, beta ve gama ve içerdikleri grup antijenlerine göre; A-V (A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, ve V) olarak gruplandırılmaktadır (39). Gram pozitif katalaz negatif kokların sınıflandırılması ve özellikleri tablo l'de özetlenmektedir. Streptokok cinsi içinde yer alan ve beta hemoliz yapan türlerden Streptococcus pyogenes (S. pyogenes) A; S. agalactia B; S. equisimilis, S. zooepidemicus ve S. equi C; Lancefield grup G streptokoklar G; S. anginosus F (A, C, G veya hiçbiri) grup antijenleri içermektedir. Alfa hemoliz yapan streptokok türlerinden yalnız S. bovis'de D grubu antijeni bulunmakta; S. pneumoniae ve viridans streptokok türlerinde yeterli düzeyde grup antijeni bulunmamaktadır. S. agalactia ile S. anginosus'un alfa hemoliz ve S. bovis ile bazı viridans streptokokların gama hemoliz yapan suşları vardır. Enterokok cinsi her üç tip hemoliz yapmakta ve D grubu antijen içermektedir. Grup N antijeni içeren laktokoklar alfa hemoliz, grup antijeni içermeyen aerokok. gemella. lökonostok cinsleri ise alfa ve gama tipi hemoliz yapmaktadırlar (19,37).

Tablo I. Gram Pozitif, Katalaz Negatif Koklar ve Özellikleri (20,37).

Cins/Tür	Hemoliz Tipi	Grup Antijeni	Koloni Özellikleri ^a
1. Streptococcus			
<i>S.pyogenes</i>	β	A	0.5 mm çapında saydam/yarı saydam kubbe şeklinde koloni; koloninin 2-4 katı hemoliz
<i>S.agalactia</i>	β, α	B	Büyük (>0.5 mm), saydam/kremimsi, yassı koloni; koloni çapından küçük tam hemoliz
<i>S.equisimilis</i>	β	C	A grubu gibi
<i>S.zooepidemicus</i>	β	C	A grubu gibi
<i>S.equi</i>	β	C	A grubu gibi
Lancefield grubu G	β	G	A grubu gibi
<i>S.anginosus</i>	β, α, γ	F(A,C,G) ^b veya hiçbiri	β hemoliz oluşturanlar çok küçük koloni; koloninin 2-4 katı hemoliz; diğerleri viridans streptokoklar gibi
<i>S.pneumoniae</i>	α	-	1 mm çapında düzgün kenarlı mukoid ve başlangıçta kubbe şeklinde koloni; 2 mm çapında α hemoliz
<i>S.bovis</i> <i>S.bovis variant</i>	α, γ	D	0.5-1 mm çapında, hafif opak, gri/gri-beyaz koloni; genellikle γ hemoliz
Viridans streptokoklar	α, γ	- ^c	0.1-0.5 mm çapında, mukoid, yarı saydam veya opak ve konveks koloni
<i>S.mutans</i> <i>S.sanguis</i> <i>S.mitis</i> <i>S.salivarius</i> <i>S.anginosus</i> (<i>S.intermedius</i> , <i>S.milleri</i> , <i>S.constellatus</i>)			

Devamı var

Tablo 1'nin Devamı

Cins/Tür	Hemoliz Tipi	Grup Antijeni	Koloni Özellikleri ^a
2. Enterococcus E.avium E.malodoratus E.rafinosus E.pseudoavium E.faecalis E.solitarius E.faccium E.casseliflavus E.mundtii E.galinarum E.durans E.hirae	β, α, γ	D	0.5-1.5 mm çapında, beyaz veya gri-beyaz, yarı saydam, parlak koloni; zayıf α hemoliz
3. Lactococcus L.cremoris	α	N	Enterokoklar gibi
4. Aerococcus A. viridans	α, γ	-	Viridans streptokoklar gibi
5. Gemella G.haemolysans G.morbilliorum	α, γ	-	Viridans streptokoklar gibi
6. Pediococcus P.acidilactici P.pentosaceus P.damnosus P.dextrinius P.urinequi P.parvulus	α, γ	-	Viridans streptokoklar gibi
7. Leuconostoc L.citreum L.lactic L.mesenteroides L.pseudomesenteroides L.paramesenteroides L.cremoris L.dextranicus	α, γ	-	Enterokoklar gibi

^a % 5 defibrine koyun kanlı agarda 24 saatte üreyen kolonilerde

^b *S. anginosus*'un % 75'i F grup antijeni içerir, % 15'i grup antijeni içermez, % 10'u ise A,C veya G grup antijeni içerir.

^c Viridans streptokokların % 75'i grup antijeni içermez, % 25 ise B ve D dışında bir grup antijeni (A-O) içerir

Streptokoklar; lipoteikoik asit, yüzey proteinleri ve peptidoglikan polisakkarit kompleksi gibi yapısal elemanlar ile streptolizin O, streptolizin S, eritrojenik toksin, streptokinaz, hyalüninidaz, deoksiribonükleotidaz (DNase), nikotinamid adenin dinükleotidaz (NADase) , esteraz, amilaz ve nöraminidaz gibi enzimler içermektedir (39,9).

Streptokokların hücre duvarı, peptidoglikan tabakaya kovalent bağlarla bağlı gruba özgül polisakkaritlerden oluşmaktadır. Hücre duvarında bulunan lipoteikoik asit önemli bir virulans faktörü olup, biyolojik membranlara yapışması sonucu kolonizasyonun ilk basamağından sorumludur (9,37). A grubu streptokokların hücre yüzeyinde fibröz bir protein olan M proteini, major virulans faktörüdür. Bu proteince zengin suşlar kompleman yoluyla opsonizasyona ve sonradan polimorfonükleer lokositlerin fagozitozuna karşı dirençlidirler (9,37,39). Streptokoksik infeksiyonlarda immünite, M proteinine karşı antikorların oluşmasına bağlıdır (37).

Streptokoklar Streptolizin-o ve Streptolizin-S olmak üzere iki hemolizin oluştururlar. Streptolizin-O, A grubunun pek çok suşu, C ve G grubunun bir çok suşu tarafından sentezlenmektedir. Bu hemolizin, bakterilerin protoplast ve L formlarına etkisiz olmasına karşın, memeli hücrelerinin çoğunu eritmektedir. Ayrıca nötrofil hareketlerini ve kemotaksisini supresyon, makrofajların fagositoz fonksiyonunu inhibisyon ve kardiotoksisite gibi biyolojik aktiviteleri de bulunmaktadır. Antijenik etkisi kuvvetlidir ve kendisine karşı organizmada nötralizan antikorlar oluşmaktadır. Anti Streptolizin-O (ASO) denilen bu antikorlardan, streptokoksik infeksiyonların tanısında ve takibinde yararlanılmaktadır. Bu antikorlar, farinjiyal ve sistemik infeksiyonlarda 10-14 gün içerisinde artmasına rağmen, deri infeksiyonlarında ya çok az yada hiç görülmemektedir. Streptolizin-O beta hemolitik streptokokların kanlı besiyeri içerisinde oluşturdukları beta hemolizden sorumludurlar ve oksijen karşısında oksitlenerek inaktive olmaktadır (37,39). Serumlu ortamda sentezlenmesi nedeniyle Streptolizin-S adı verilen hemolizinler; A, C ve G grubu streptokoklar tarafından yapılmakta ve bunlar kanlı agar yüzeyinde oluşan hemolizden sorumlu tutulmaktadır (8,37). Bu hemolizinler, bakterilerin protoplastları ve L formlarını ve hücre membranında bulunan fosfolipidlere bağlanarak osmotik yolla eritrositleri eritmektedirler. Ayrıca T lenfositlerini suprese edici ve lökotoksite gibi biyolojik aktiviteleri de vardır. Streptokoksik infeksiyonlardaki rolü bilinmemektedir (37).

Bir ılımlı faj ile lizojenik olan A grubu streptokok suşlarında entrojenik toksinler sentezlenmektedir (39). İmmünolojik olarak farklı A, B, C ve D olmak üzere 4 tip eritrojenik toksin bulunmaktadır (8). A grubu streptokok suşlarının dışında bazı G grubu streptokok suşlarında eritrojenik toksinler sentezleyebilmektedir (37).

A, C ve G grubu streptokoklar tarafından oluşturulan streptokinazlar, plazmada bulunan komplemanın 3. komponentini C_{3a} ve C_{3b}'ye (Kemotaktik faktör) ayırarak plazminojenin plazmine dönüşmesini sağlamakta ve fibrinolitik aktivite göstermektedirler (37,39). Antijenik olan bu enzimler özgül antikörlere inaktive edilirler (8).

Hemolitik streptokokların büyük kısmı tarafından oluşturulan hyalünnidaz, hem streptokok kapsülünde hem de memeli dokusunda bulunan hyalünnik asiti hidrolize eden bir enzimdir (8,39). Bu enzim bir yayılma faktörü olarak rol oynamaktadır.

Polisakkarit yapısında olan *S. pneumoniae*'nin kapsülü, önemli bir virülans faktörüdür ve fagoşitozun inhibisyonundan sorumludur (37). Ayrıca pnömokoklarda tavşan ve farelerin deri ve iç organlarında hemorajilere yol açan ve "purpura oluşturma prensibi" adında ısıya dayanaksız bir madde bulunmaktadır. Bu maddenin ağır pnömokok sepsislerinde purpurik döküntülere neden olduğu düşünülmektedir (8,49).

Streptokoksik infeksiyonlarda streptokoklar tarafından oluşturulan Streptolizin-S, O, eritrojenik toksin, streptokinaz ve hyalünnidaz en önemli enzimlerdir. Ayrıca DNazlar nükleik asitlerin azalmasına neden olmakta ve DNaz B faringeyal ve deri infeksiyonlarının tanısında değer taşımaktadır. Bunların dışında proteinaz, NADaz, esteraz, amilaz, nöraminidaz ve serum opasite faktörü gibi bir çok enzimlerin de önemi vardır (9,37,39).

Streptokoklar kuruluğa karşı oldukça dayanıklı, özellikle irin ve proteinli maddeler içerisinde kurutulursa uzun süre harap olmadan kalabilen bakterilerdir. Enterokoklar nispeten ısıya dirençli, diğerleri ise dirençsizdirler. Ortalama pH 7.4'de iyi üreyen bu bakteriler pH değişikliklerinde üremeleri zorlaşır. Optimal üreme ısıları 37°C (20-40) dir. Enterokoklar ise 15-45 °C'de ve pH 9.6'da üreyebilirler (8,62).

Kültür özellikleri

İnfeksiyon odaklarından alınan klinik örneklerden streptokokların üretilmesinde bakteriyolojik kültür yöntemleri uygulanmaktadır. Streptokoklar kan veya serum ilave edilmiş triptikaz soy, Todd Hewitt veya proteaz pepton gibi besiyerlerinde iyi üreyen ve hemoliz yapan değişken anaerob mikroorganizmalardır (15,20,37). Bu besiyerlerinde streptokoklar ve diğer Gram pozitif, katalaz negatif koklar 35-37°C'de 24 saat inkübasyon süresinde 0,5-1,0 mikrometre çapında saydam/ yarı saydam, kubbe/ yassı veya konveks şeklinde beyaz/gri beyaz renkte , bazıları mukoid olmak üzere alfa, beta ve gama hemolizli koloniler oluştururlar. Kullanılan besiyerleri streptokoklar için gerekli olan besinleri sağladığı gibi, beta hemolitik streptokokların oluşturduğu hemolizi etkileyebilecek karbonhidrat içermezler (9,20). Enterokoklar; at, tavşan ve insan kanında beta hemoliz, koyun kanlı agarda alfa hemoliz oluştururlar. Hemoliz; % 5 defibrine koyun kanı bulunan 4 mm derinlikte agarda ve % 5-10 CO₂'li veya % 85-90 N₂'lu atmosferde 35-37°C'de inkübasyon ile en iyi şekilde görülmektedir (37). Streptokoklar kan ilave edilmiş besiyerlerinde üredikleri zaman 4 tip hemoliz oluşturmaktadırlar (Tablo I).

i-Alfa hemoliz; kolonilerin etrafında eritrositlerin parsiyel hasarına bağlı besiyerinin çıplak gözle yeşilimsiden kahverengiye değişen renkte görülmesidir. Kolonilerin mikroskopik incelenmesinde çevrelerinde erimemiş. kümeleşmiş eritrositler görülmektedir.

ii-Beta hemoliz; koloni etrafında renksiz zon bulunması ve eritrositlerin erimesi ile karakterize tam bir hemoliz tipidir.

iii-Gama hemoliz; koloni etrafında hemolizin görülmediği tiptir.

iiii- Alfa prime hemolysis (Wide - zone Hemolysis); koloni etrafında oluşan alfa hemolizin dışında ince bir beta hemoliz zonunun da oluşması halidir. Bu durum makroskopik incelemede beta hemoliz ile karıştırılabilir.

İlk kez 1960 yılında tanımlanmış olan nutritionally variant streptococci 'lerin üretilmesinde, besiyerlerine B₆ (% 0.001 oranında piridoksal hidroklorid) ilave edilmektedir (37).

İdentifikasyon

Gram pozitif koklar sitokrom içermelerine göre iki gruba ayrılmaktadır. Staphylococcus ve Strotomatococcus cinsleri sitokrom içermekte; Streptococcus, Aerococcus, Lactococcus, Enterococcus, Gemella, Pediococcus ve Leuconostoc cinsleri sitokrom içermemektedirler (20,37). Sitokrom negatif kokların tanımlanmasında katalaz testi uygulanmakta ve katalaz testi bu cinslerde negatiftir. Bazı aerokok ve streptokok suşlarında zayıf katalaz pozitifliği, bazı stafilokok ve strotomatokok suşlarında katalaz negatifliği görülmektedir. Bu durumlarda benzidin testinden yararlanılmaktadır. Streptokoklar eski kültürlerinde Gram negatif boyandıklarından Neisseriae'larla karıştırılabilmektedirler. Ancak Neisseriae türleri sitokrom oksidaz pozitif oluşları ile ayrılmaktadırlar (37).

Gram pozitif katalaz negatif koklar, kültürlerinden yapılan boyamalarda kok olarak görülmesinin yanısıra streptokoklar ve aerokoklar kokobasil ve basil; enterokoklar ve laktokoklar ise kokobasil şeklinde görülebilirler. Bu mikroorganizmalardan streptokoklar, enterokoklar, laktokoklar ve lökonostoklar zincir ve diplokok; aerokok ve pediokoklar diplokok, tetrad ve küme yapma özelliğindedir. Pediokok ve lökonostoklar dışında hepsi vankomisine duyarlı olup, lökonostoklar glikozdan gaz yapma özelliği ile ayrılırlar. Enterokok aerokok ve gemella cinsinde PYR testi pozitif olup bunlardan enterokok ve aerokoklar % 6.5 NaCl'de ürerler. Enterokoklar +10°C, +45°C'de, laktokok ve lökonostoklar +10°C ve pediokoklar +45°C'de üremelerine rağmen diğerleri bu derecelerde üreyemezler. Gram pozitif, katalaz negatif kokların bakteriyolojik ve biyokimyasal özellikleri tablo II'de özetlendi.

Beta hemolitik streptokokların ayırımı

Beta hemolitik streptokokların ayırımında Voges Proskauer (VP), pyrrolidonyl arylamidase (PYR), CAMP (Christie, Atkins, Munch-Peterson) testleri ; basitrasin, ko-trimoksazol duyarlılığı; sodyum hippurat hidrolizi ve sorbitol, trehaloz fermantasyonu gibi testler uygulanmaktadır (Tablo III). A grubu beta hemolitik streptokoklar, koyun kanlı agarda düşük seviyede basitrasine duyarlı ve ko-trimoksazole dirençli oluşları ile

Tablo II. Gram Pozitif, Katalaz Negatif Kokların Bakteriyolojik ve Biyokimyasal Ayırımları (18,20)

Testler	Streptokok	Enterokok	Laktokok	Aerokok	Gemella	Pediokok	Lökonostok
Morfoloji ^a	+	+	+	+	+	+	+
Kok	+	+	+	+	+	+	+
Kokobasil	+	+	+	-	-	-	+
Basil	+	-	-	-	-	-	+
Gram boyama	+	+	+	+	+	+	+
Zincir	+	+	+	+	+	+	+
Diplokok	+	+	+	+	+	+	+
Tetrad	-	-	-	-	-	-	-
Küme	-	-	-	-	-	-	-
Vankosin duyarlılığı ^b	S	S	S	S	S	S	R
Glikozdan gaz oluşturma	-	-	-	-	-	-	+
PYR ^e	-	+	-	+	+	+	-
Safra eskülin hidrolizi	D	+	D	D	-	+	+ ^d
LAP ^f	+	+	+	+	D	+	-
% 6.5 NaCl'de üreme	-	+	D	+	-	D	D
+45 °C'de üreme	D	+	-	-	-	+	-
+10 °C'de üreme	-	+ ^d	+	-	-	-	+

^aTiyoglikolat buyyonda 1 veya 2 günlük kültürden, ^bS: Duyarlı, R: Dirençli, ^cS. pyogenes, L. gargiae, PYR Po-
zitif, ^dNadiri dışında, ^ePYR: Pyrrolidonylarylamidase, ^fLAP: Lösinaminopeptidaz

diğer beta hemolitik streptokoklardan ayrılırlar (3,54). Ayrıca A grubu beta hemolitik streptokoklar için duyarlı ve daha özgül olan PYR testi ile de tanımlanabilmektedirler (37).

B grubu beta hemolitik streptokoklar, sodyum hippurati benzoik asit ve glisine hidrolize etmektedirler. Bu hidrolitik aktiviteden intrasellüler veya hücreye bağlı hippürikaz enzimi sorumludur (22,32). Bu mikroorganizmalarda CAMP testi pozitifdir. CAMP faktörü B grubu streptokoklar tarafından oluşturulan, ısıya dirençli, yayılabilir, ekstrasellüler bir proteindir. Moleküler ağırlığı 23.500 dalton olan bu proteinler stafilokokların sfingomyelinazı ile birlikte olduğunda aktivite göstererek, koyun veya sığır eritrositlerinin hemolizini artırır (39). İnsan, at ve tavşan eritrositlerinde bu etki görülmemektedir (37). B grubu streptokokların çoğu % 6.5 oranında NaCl, az bir kısmı % 50 safra varlığında üreyebilmektedir. Bu grup streptokoklar eskülünü hidrolize etmemeleriyle D grubundan ayrılırlar (39).

C grubu streptokoklar trehaloz ve sorbitol fermantasyon testi, *S. anginosus* ise VP testi pozitifliği ile karakterizedir (20).

Tablo III. Beta Hemolitik Streptokokların Ayırım Özellikleri (20)

Tür/Grup	Serolojik grup	Testler ^a			
		VP	PYR	TRE	SOR
<i>S. pyogenes</i>	A	-	+	U ^b	U
<i>S. agalactia</i>	B	-	-	U	U
<i>S. equi</i>	C	-	-	-	-
<i>S. equisimilis</i>	C	-	-	+	-
<i>S. zooepidemicus</i>	C	-	-	-	+
Lancefield grup G	G	-	-	U	U
<i>S. anginosus</i>	A, C, F, G, (veya hiçbiri)	+	-	U	U

^aVP: Voges-Proskauer, PYR: Pyrrolidonyl arylamidase, TRE, SOR: Trehaloz ve sorbitol fermantasyonu.

^b Uygulanamaz.

Non-beta hemolitik streptokokların ayırımı

Non-beta hemolitik streptokokların ayırımı için optokin (ethyl hydrocuprein hydrochloride), safra duyarlılığı, safra eskülin hidrolizi, % 6.5 NaCl'de üreme, satellitizm ve CAMP testleri uygulanmaktadır (Tablo IV). *S. pneumoniae*'nin ayırımında optokin duyarlılığı ve safrada erime testinden yararlanılmaktadır. Optokin bir kinin derivesi olup pnömokokların üremesini inhibe etmektedir (39). Pnömokokların safrada erimesi; safra, safra tuzları, saponin ve diğer katyonik deterjanların, otolitik bir enzim olan amidazı aktive etmesiyle amidazın peptidoglikan tabakasındaki muramik asit ile alanin arasındaki bağı ayırarak hücrenin erimesiyle sonuçlanan bir olaydır (32). *S. bovis* safra eskülin testi pozitif olması ile diğer non-beta hemolitik streptokoklardan ayrılmaktadır.

Tablo IV. Non-beta Hemolitik Streptokokların Ayırımı (20)

Tür/Grup	Testler ^a						
	OPT	SE	BE	NaCl	PYR	SAT	CAMP
<i>S. pneumoniae</i>	+	+	-	-	-	-	-
<i>S. bovis</i>	-	-	+	-	-	-	-
<i>S. agalactia</i>	-	-	-	-,+	-	-	+
Viridans streptokoklar	-	-	-b	-	-	-	-
NVS	-	-	-	-	+	+	-

^a OPT: optokin, SE: safrada erime, BE: safra eskülin hidrolizi, NaCl: %6.5 NaCl 'de üreme, PYR: pyrrolidonylarylamidase, SAT: satellitizm, CAMP: CAMP testi
^b nadirleri dışında.

Serolojik tanımlama

Serogruplandırılma hücre duvarından salınan özgül grup antijeni ile bunlara özgül anti serum arasındaki presipitasyon reaksiyonuyla yapılmaktadır. Grup antijenlerinin çoğu karbonhidrat, D ve N grubu ile pnömokokların grup antijenleri teikoik asit

yapısında. Streptokok grupları tipe özgül protein-karbonhidrat antijenleriyle serotiplere ayrılmaktadır (37,39).

A grubu streptokoklarda grup antijeni, bir ramnoz dimeri ile 2:1 oranında bulunan N-asetil glikozamindir. Bunlarda tipe özgül M, T ve R antijenleri bulunmaktadır. Bir major virulans faktörü olan ve epidemiyolojik çalışmalarda yararlanılmakta olan M antijeninin 80 tipi vardır (9,37). B grubu streptokoklarda D-glikozamin, D-galaktoz, glusitol ve L-ramnozdan meydana gelen ve gruba özgül karbonhidrat antijenleri vardır. L-ramnoz major antijenik determinant olup 6 serotipe ayrılmaktadır. C grubu streptokoklarda gruba özgül karbonhidrat; L-ramnoz polimeri ile major antijenik determinant olan N-asetil galaktozaminde oluşmaktadır. G grubunun antijenleri galaktoz, galaktozamin ve major antijenik determinant olan ramnozu içermektedir (39).

D grubu streptokok ve enterokoklarda gruba özgül antijen, glikoz ve D-alanin içeren gliserol teikoik asittir. *S. pneumoniae*'nin gruba özgül antijeni ise kolin içeren bir teikoik asittir. Ancak pnömokokların kapsülünde bulunan tipe özgül antijenler (specific soluble substance=SSS) kapsül presipitasyon reaksiyonu (Neufeld'in quelling testi) ile belirlenmektedir (37,49).

A, B, C, D, F, G grubu streptokoklar, enterokoklar ve pnömokokların ilk izolasyonlarının direk tanımlanmasında ticari olarak hazırlanan lateks partikül ve koagülünasyon test kitleri kullanılmaktadır (69,70,71). Flurescein isothiocyanate ile işaretlenmiş özgül streptokok antiserumu kullanılarak immunfloresan yöntemi ile de streptokokların ayırımı yapılmaktadır (37).

Patogenez ve klinik önemi

Streptokoklar; boğaz, nazofarinks, gastrointestinal kanal, vajen, deri ve dış kulak yolu gibi anatomik bölgelerin normal bakteri florasında bulunmasının yanında birçok infeksiyonun etyopatogenezinden de sorumlu tutulmaktadır (8,10). A grubu streptokoklar farinjit, kızıl, üst solunum yolu, pyodermi gibi, ve akut romatizmal ateş, post streptokoksik akut glomerulonefrit gibi sekeller bırakan infeksiyonlara neden olmaktadır (9,11,45,46). Üst solunum yolu infeksiyonlarında komşu dokulara yayılması sonucu, peritonsiller sellülit, peritonsiller abse, retrofarinjiyal abse, otitis media, sinüzit ve bazı hastalarda menenjit komplikasyonları gelişebilmektedir. Bu

bakteriler, impetigo, erizipel, sellülit, streptokoksik ekzema gibi yüzeysel infeksiyonlar ve derin doku infeksiyonlarında neden olmaktadır (37,46). Kalp, eklem, subkutaneoz doku ve santral sinir sisteminin inflamatuvar lezyonları ile karakterize olan akut romatizmal ateş ile M proteini ve geniş hyalüronik asit kapsülü içeren A grubu streptokoklar daha sık ilişkilidir. Post streptokoksik akut glomerulonefrit bir immun kompleks hastalığı olup nefritojenik A grubu streptokok suşları ile olan farinjit ve deri infeksiyonlarından sonra gelişmektedir (11,37). Çocuklarda A grubu streptokokların tanımlanması ve tedavisi gelişebilecek, romatizmal ateş ve post streptokoksik akut glomerulonefrit gibi ciddi komplikasyonların önlenmesi bakımından önemlidir (45,69,72).

B grubu streptokoklar hamilelerin genital /gastrointestinal yollarında kolonize olarak doğum eylemi sırasında yeni doğanların mukozalarına yerleşmesiyle erken veya geç başlangıçlı hastalıklara yol açmaktadır (28,44). Ayrıca vertikal geçişle intrauterin infeksiyonlarla, geç düşük, erken doğum, erken membran rüptürü, neonatal sepsis ve düşük doğum ağırlığına neden olmaktadır (7,16,44). Erişkinlerin pyelonefrit, endometrit, menenjit, septisemi, endokardit, pnömoni, artrit, osteomyelit, deri ve yumuşak doku infeksiyonlarından B grubu streptokoklar da sorumlu tutulmaktadır (1,52,67,68).

C grubu streptokokların oluşturduğu hastalıklar nadir görülmekte, insanlarda en sık *S. equisimilis*'in infeksiyonlarına rastlanılmaktadır (25). Bu grup mikroorganizmalar artrit, bakteriyemi, septisemi, osteomyelit, post operatif yara ve deri infeksiyonlarına neden olabilmektedirler (37,53,67).

G grubu streptokoklar, bakteriyemi, endokardit, menenjit, neonatal sepsis, puerperal sepsis, kemik ve eklem infeksiyonlarına yol açarlar. Predispozan faktörler G grubu streptokok infeksiyonlarına hazırlayıcı faktörlerdir (37,67). A grubunun yanında B, C ve G grubu streptokoklar da farinjite neden olmaktadır (66).

Ağız, üst solunum yolu, gastrointestinal ve vajinal kanalın normal bakteri florasının bir üyesi olan *S. anginosus* grubundan, *S. milleri* dental abselerden; *S. intermedius* akut ve kronik sinüzitlerden ve beyin abselerinden izole edilmektedir. *Bacteroides* ve diğer anaeroplara beraber bu bakteriler karaciğer abselerinde ve apandisitlerde bulunmaktadır (26).

S. pneumoniae bir major respiratuvar patojenidir. Bu mikroorganizmalar sağlıklı erişkinlerin ve çocukların üst solunum yollarında çoğunlukla bulunmaktadır. Çocuklarda en fazla toplum kaynaklı pnömonilere ve otitis mediaya ve ikinci sıklıkta menenjitte neden olmaktadır (77). Pnömonokoklar, pnömoni, bakteriyemi, menenjit, otitis media yanında pnömoninin komplikasyonu olarak ampiyem, septisemi, pankardit, ayrıca mastoidit, sinüzit, endokardit, artrit, peritonit ve genital infeksiyonlara yol açabilmektedir (14,33,55,76,77).

Viridans streptokoklar oral, gastrointestinal ve genital kanalın normal bakteri florasında bulunmaktadır (37). Endokarditlerin en sık nedeni olup, santral sinir sistemi, respiratuvar, intestinal, ürogenital, kas iskelet sistemi ve deri infeksiyonlarından izole edilebilirler (25,59,73).

S. bovis'e, özellikle gastrointestinal malignensisi olan hastaların bakteriyemilerinde rastlanılmaktadır (61).

Enterokoklar; endokardit, bakteriyemi, üriner infeksiyon, neonatal sepsis yanında intraabdominal ve pelvik infeksiyonlarda ve abselerde sık bulunurlar (47,50,60,64). Bakteriyel peritonit, post operatif infeksiyon, post partum endometrit, yumuşak doku infeksiyonlarından ve nadirde olsa menenjit ile nozokomiyal pnömonilerden izole edilirler (50).

Gram pozitif, katalaz negatif koklar içinde vankomisine karşı dirençli olan lökonostoklar, bakteriyemi ve menenjitelere neden olmaktadır (5,23,34). Pediokoklara bağlı septisemi olgusu da bildirilmiştir (27).

Aerokoklar nadir olarak endokardit, menenjit ve immunosupressif hastalarda nazokomiyal infeksiyonlara yol açmaktadırlar (12).

Epidemiyoloji

Streptokoksik infeksiyonlar çok yaygın olarak görülmekte ve bunların çoğundan A grubu streptokoklar sorumlu tutulmaktadır. A grubu streptokokların neden olduğu farinjitler, üst solunum yolu infeksiyonu yapan virüslardan sonra ikinci sıklıktadır.

Streptokoksik farinjitte okul çağı çocuklarda kış ve ilkbaharda sık rastlanmakta ve insandan insana damlacık yoluyla bulaşmaktadır (46,72,74). Ayrıca su ve besin kaynaklı epidemiler de bildirilmiştir (75). A grubu streptokoklara bağlı pyodermiler sıklıkla tropik ve subtropik iklimlerde, düşük ekonomik düzeydeki 2-6 yaş arası çocuklarda, yaz ve sonbahar başında görülmektedir. Akut romatizmal ateş ve post streptokoksik akut glomerulonefrit gibi A grubu infeksiyonlarının sekellerine de 5-15 yaş gruplarında daha sık rastlanılmaktadır (9,11).

B grubu streptokoklar, sağlıklı erişkin ve çocukların boğaz bakteri florasında %1.6-2.7 ve hamilelerin genital / aşağı gastrointestinal yollarında %2-40 oranında bulunmaktadır (7,13,16,28,29,44,72).

C ve G grubu streptokoklar, insan farinks, intestinal kanal, vajenlerinde kolonize olabilmektedirler (25). C grubu streptokokların faringeyal taşıyıcılığı %2.9-6.0 oranında ve erişkinlerde daha siktir. G grubunda ise bu sıklık %3.0-5.0 arasında değişmektedir (72).

S. pneumoniae en çok toplum kaynaklı pnömonilere neden olmaktadır. Çocuklarda bakteriyemi ve menenjitte 6, 14, 18, 19, 23 nolu serotipler; otitis media 13 ile 19 nolu serotipler ve erişkinlerde bakteriyemik hastalıklara 1, 3, 4, 7, 8, 9, 12 ve 14 nolu serotipler yol açmaktadır. Tip 14 ise her iki grupta da invaziv hastalıklara neden olan önemli bir serotiptir (37,49).

Enterokoklar, nozokomiyal ve toplum kaynaklı infeksiyonlara neden olmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde görülen nazokomiyal infeksiyonların etkenlerinin sıralanmasında ilk 3. sırada yer almaktadırlar. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının artmasıyla, enterokokların antibiyotiklere direnç kazanmaları sonucunda bu mikroorganizmaların infeksiyonlarında artış görülmektedir (47).

Antibiyotik duyarlılığı

A, B, C ve G streptokoklar penisiline karşı duyarlıdırlar ve beta laktamaz aktivite-leri yoktur (7,35). Ancak B grubu streptokoklar ile S. pneumoniae'nin penisiline karşı direnç durumları bildirilmektedir (43,55,76). Beta hemolitik streptokokların, basitrasin ve ko-trimoksazole duyarlılıkları farklı olmaları nedeniyle bu test ayırımlarında

kullanılmaktadır. Basitrasinin düşük seviyedeki konsantrasyonlarına karşı A grubu streptokoklar duyarlı, diğer beta hemolitik streptokoklar ise dirençlidirler. A, B grubu beta hemolitik streptokoklar ve enterokoklar koyun kanında bulunan timidini utilize ederek, folik asit sentezine koyabilmektedirler. Bu nedenle ko-trimoksazolün bu etkisine karşı direnç göstermektedirler. Diğer beta hemolitik streptokoklar, viridans streptokoklar ve *S. pneumoniae* yüksek konsantrasyonda timidin bulunsa bile kullanamaz ve ko-trimoksazol ile inhibe olurlar (31,41,42).

Enterokoklar dışında diğer streptokoklar genellikle penisiline karşı duyarlıdır (37). Enterokoklarda penisilin ve gentamisine karşı yüksek düzeyde direnç görülmektedir (56,64).

Streptokoklardan korunmada yalnız pnömokoklara karşı aşılar geliştirilmiş olup, orak hücreli anemi, splenektomili, yaşlı ve debil hastalarda ve özgül olarak pnömokok infeksiyon riski olan kronik hastalıklı 2 yaş ve üzeri çocuklarda uygulanmaktadır (37).

GEREÇ VE YÖNTEM

1. Streptokok üreyen kültürlerin toplanması

Erciyes Üniversitesi Nevşehir Nesibe Hastanesi, Merkez Laboratuvarına klinik ve polikliniklerden gönderilen klinik örneklerin bakteriyolojik kültürlerinde üreyen 366 Gram pozitif, katalaz negatif kok izolatı çalışmaya alındı. Klinik örneklerden 125'i balgam ve boğaz sürüntüsü, 78'i kan, 55'i idrar, 55'i deri, pü ve abse örneği, 15'i beyin omurilik sıvısı (BOS), 15'i kulak sürüntüsü, 8'i steril vücut boşluğu sıvısı (SBS) örneği, 7'si vajen sürüntüsü, 6'sı göbek sürüntüsü, 1'i konjonktiva sürüntüsü ve 1'i sperma örneği idi.

2. İdentifikasyon yöntemleri

Bakteriyolojik kültür sonucu streptokok ve enterokok ön tanısı koyulan izolatlardan % 5 defibrine koyun kanlı agara pasajları yapılarak 35°C'de bir gece enkübe edildi. Bu subkültürlerin makroskobik olarak koloni ve hemoliz özellikleri, mikroskobik olarak Gram boyama özellikleri incelendi. Bunlara ilaveten identifikasyonda katalaz, basitrasın ve ko-trimoksazole duyarlılık, CAMP, hippurat hidrolizi, sorbitol ve trehaloz fermantasyon, PYR, % 6.5 NaCl'de üreme, VP, optokine duyarlılık, safrada erime,

safra-eskülin hidrolizi, +10°C, +45°C'de üreme, glikozdan gaz oluşturma ve vankomisine duyarlılık gibi biyokimyasal testlerden yararlanıldı.

a.Katalaz testi

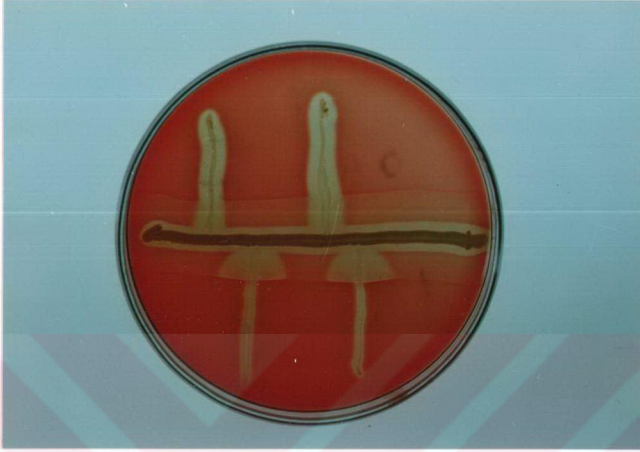
Hemoliz ve koloni özellikleri benzeyen diğer bakterilerden streptokokları ayırmak için katalaz testi uygulandı. Agar üzerinde üreyen koloniler temiz bir lam üzerinde serum fizyolojik içinde süspanse edildi. Üzerine % 3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatıldıktan sonra gaz kabarcıklarının görülmesi halinde test pozitif kabul edildi (32). Katalaz negatif olan Gram pozitif koklar çalışmaya esas teşkil edecek izolatlar olarak seçildi.

b.Basitrasin ve ko-trimoksazole duyarlılık testi

Beta hemolitik streptokok suşlarının % 5 defibrine koyun kanlı agara pasajları yapıldı. Üzerine 0.04 Ü (ünite) basitrasin ve 1.25 µg (mikrogram) trimetoprim-23.75 µg sulfametoksazol içeren diskler 3 cm aralıklarla konuldu. Bir gece 35°C'lik etüvde enkübe edildi. Disklerin etrafında üreme inhibisyon zonu oluşması halinde test duyarlı olarak değerlendirildi (32).

c. CAMP testi

Kültür Koleksiyonları Enstitüsü'nden (KÜKENS-İstanbul) temin edilen ATCC 25923 nolu Staphylococcus aureus kontrol suşundan % 5 defibrine koyun kanlı agara tek çizgi şeklinde ekimleri yapıldı. Bu ekim çizgisine dik olarak beta hemolitik streptokok, şüphelenilen durumlarda alfa hemolitik streptokok suşları ekildi. Bir gece 35°C'de enkübe edildi. Streptokok suşunun ekildiği çizginin S. aureus'a bakan ucunda ok başı hemolizin görülmesi durumunda test pozitif olarak değerlendirildi (32,78), (Şekil 1).



Şekil 1: B grubu Streptokokların Oluşturduğu Ok Başı Hemoliz

d.Hippurat hidrolizi test

Sodyum hippuratın (Merck) % 1'lik solüsyonu hazırlanarak 0.4 ml tüplere konuldu. Streptokokların bir günlük kültürlerinden birkaç öze dolusu koloni alınarak %1 sodyum hippurat içeren tüplere eklendi ve 35°C'de 2 saat enkübe edildi.Bu karışımın üzerine % 3.5'luk ninhydrine ayırıcı 0.2 ml ilave edilerek tekrar 15 dakika enkübe edildi. Koyu mor rengin oluşması durumunda test pozitif olarak değerlendirildi (22).

e.Sorbitol ve trehaloz fermantasyon test

Beta hemolitik streptokok izolatlarından % 1'lik sorbitol ve trehaloz içeren buyyonlara ekimleri yapıldı ve 35°C'de 7 gün enkübe edildi. Besiyerindeki bromkrezol moru indikatörünün renginin sarıya dönüştüğü görüldüğünde test pozitif olarak değerlendirildi (20,51).

f. Pyrrolidonyl arylamidase (PYR) testi

Bütün izolatların PYR agara ekimleri yapıldı ve 35°C'de enkübe edildi. Üreyen kolonilerin üzerine % 2'lik PYR ayırıcı damlatıldı. Kırmızı ve pembe renk oluştuğunda test pozitif,sarı ve turuncu renk oluştuğunda test negatif olarak değerlendirildi (21).

g. % 6.5 NaCl'de üreme testi

Bütün izolatlar % 6.5 NaCl içeren buyyonlara pasajları yapıldı ve 35°C'de ve 72 saat enkübe edildi. Bulanıklığın oluşması durumunda test pozitif olarak kabul edildi (51).

h. Voges-Proskauer (VP) testi

Beta hemolitik streptokokların identifikasyonunda VP testinin Coblantz modifikasyonu uygulandı (36). İzolatların tüplerdeki VP besiyerlerine ekimleri yapıldıktan sonra 6 saat 35°C'de enkübe edildi. Üzerine 5 damla A ayırıcı (etil alkolde % 5'lik alfa naftol), 5 damla B ayırıcı (distile suda % 40'lık sodyum hidroksit, % 3'lük kreatin) damlatıldı. Tüpler 30 dakika periyodik olarak elle çalkalandı ve 30 dakika içinde kiraz kırmızısı rengin oluşması durumunda test pozitif olarak değerlendirildi (21,51).

ı. Optokin duyarlılık testi

Alfa hemolitik streptokok suşların % 5 defibrine koyun kanlı agara pasajları yapılarak üzerine 5 µg optokin (ethylhydrocuprein hydrochloride) içeren 6 mm çapında diskler (Oxoid) konuldu ve 35°C'de bir gece enkübe edildi. Disk etrafında 14 mm veya daha fazla üreme inhibisyon zonunun görülmesi halinde suş optokine karşı duyarlı kabul edildi (32,51).

i. Safrada erime testi

Safrada erime deneyinde "çabuk agar koloni testi" yöntemi uygulandı (32). Koyun kanlı agarda 24 saatte üreyen alfa hemolitik kolonilerin üzerine sodyum deoksikolatın % 2'lik solüsyonu damlatıldı ve 30 dakika 35°C'de enkübe edildi. Büyüteç yardımıyla agar üzerindeki kolonilerin erimesi araştırıldı. Kolonilerin tümüyle erimesi durumunda test pozitif olarak değerlendirildi.

j.Safra-eskülin hidrolizi testi

Safra-eskülin hidroliz testinde bile-esculin agar (Difco) kullanıldı. Agar üzerine alfa ve non-hemolitik kokların birkaç kolonisi ekilerek 24-48 saat enkübe edildi. Besiyerinde üreme durumu ve siyah pigment oluşması incelendi (32).

k. +10°C,+45°C'de üreme

Alfa hemolitik suşlardan triptic soy broth'a (Difco) ayrı ayrı çift ekim yapılarak biri +10°C, diğeri +45°C'de 7 gün enkübe edildi. Bulanıklığın görülmesi halinde üreme pozitif olarak değerlendirildi (20)

l. Glikozdan gaz oluşturma testi

Durhaim tüpleri bulunan tüplere 10 ml MRS (Mann-Rogosa-Sharpe) basiyeri (Oxoid) konularak sterilize edildi. Bir gecelik streptokok kültürlerinden alınan koloniler MRS besiyerine ekilerek 35°C'de 7 gün enkübe edildi. Durhaim tüplerinde gaz oluşumunun görülmesiyle test pozitif olarak kabul edildi (20).

m.Vankomisine duyarlılık testi

Alfa hemolitik streptokok kültürlerinden 5-10 koloni alınarak triptic soy agar (Difco) üzerine yayıldı. Üzerine 30 µg vancomycin (BBL) içeren diskler konuldu. Bir gece 35°C'de % 5-10 CO₂ içeren kavanozda enkübe edildi. Disklerin etrafında üreme inhibisyon zonunun görülmesi durumunda test pozitif olarak değerlendirildi (20).

KULLANILAN BESİYERLERİ**PYR agar**

Todd-Hewitt broth	22 gr
L-pyrroglutamic acid B-naphtylamide(Sigma)	0.1 gr
Agar	7 gr
Distile su	1000 ml

Kimyasal maddeler ısıtılarak eritildi ve 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra 10 ml petrilere dağıtıldı.

% 6.5 NaCl'lu buyyon

Hearth infusion broth	25 gr
Sodyum klorid	60 gr
Glikoz	1 gr
Distile su	1000 ml

Karışımdan 2 ml tüplere dağıtıldı.

Voges-Proskauer besiyeri(VP)

Pepton	7 gr
Glikoz	5 gr
Dipotasyum fosfat	5 gr
Distile su	1000 ml

Besiyeri pH'ı 6.9'a ayarlandıktan sonra 2 ml tüplere dağıtıldı.

Karbonhidrat fermantasyon buyyonu

Hearth infusion broth	22.5 gr
Distile su	900 ml
Karbonhidrat (sorbitol,trehaloz)	10 gr
Distile su	200 ml
İndikatör (bromkrezol moru)	16 mg
Etanol	1 ml

Bütün maddeler ayrı ayrı eritildikten sonra karıştırıldı ve 3 ml olarak tüplere dağıtıldı.

Hazırlanan bu besiyerleri 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilip soğutulduktan sonra kullanılana kadar +4°C'de saklandı.

KULLANILAN AYIRAÇLAR**Ninhydrine ayıracı**

Ninhydrine (Merck)	3.5 gr
Aseton	50 ml
Butanol	50 ml

Ninhidrin aseton ve butanol içinde eritilerek oda sıcaklığında koyu renkli şişede saklandı.

PYR ayıracı

p-dimethyl aminocinramaldehyt (Sigma)	0.2 gm
Sodyum dodesil sülfat	2.5 ml
Glasiyal asetik asit	2.5 ml
2-metoksi etanol	5 ml
Distile su	90 ml

p-dimetil aminosin amaldehit diğer maddeler içinde eritilerek +4°C'de saklandı.

A ayıracı

Alfa-naftol	5 mg
Etil alkol (% 95)	100 ml

B ayıracı

Sodyum hidroksit	40 gr
Kreatin	300 mg
Distile su	100 ml

A ve B ayıracındaki maddeler ayrı ayrı hazırlanarak koyu renkli şişede saklandı (36).

BULGULAR

Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Hastanesi Merkez Laboratuvarına klinik ve polikliniklerden gönderilen klinik örneklerin bakteriyolojik kültürlerinde üretilen 366 Gram pozitif, katalaz negatif kokların bakteriyolojik ve biyokimyasal yöntemlerle ayırımı yapıldı. Katalaz negatif olması çalışmaya esas teşkil edeceğinden, bütün izolatlarda katalaz testi tekrarlandı ve hepsinde negatif bulundu. İzolatlar koyun kanlı agarda yaptıkları hemoliz durumlarına göre alfa, beta ve gama hemoliz olarak değerlendirildi. Bunlardan 186'sı (% 50.8) beta hemoliz, 180'i (% 49.2) alfa ve non-hemoliz yapan koklardı (Tablo V). Kesin tanımları yapılan Gram pozitif , katalaz negatif kokların cins ve türler arasında dağılımları tablo VI'de özetlendi. İzolatların 144'ü (% 39.3) A grubu, 16'sı (% 4.4) B grubu, 18'i (% 4.9) C grubu, 15'i (% 4.1) *S. pneumoniae*, 32'si (% 8.7) viridans streptokok, 9'u (% 2.5) *S. bovis*, 106'sı (% 29.0) enterokok, 7'si (% 1.9) aerokok ve 1'i (% 0.3) lökonostok cinsine ait koklardı. İzolatlardan 18'inin (% 4.9) tanımları bu testlerle yapılamadı.

Tablo V. Klinik örneklerden izole edilen beta hemolitik streptokok ve non-beta hemolitik Gram pozitif, katalaz negatif kokların dağılımı

Gram pozitif, katalaz negatif koklar	n	izolat %
Beta hemolitik streptokok	186	50.8
Non-beta hemolitik kok	180	49.2
Toplam	366	100.0

Beta hemolitik streptokok üretilen izolatlara uygulanan testlerde basitrasine duyarlı, ko-trimoksazole dirençli, CAMP, VP, hippurat hidrolizi testleri negatif ve PYR testi pozitif olanlar A grubu; basitrasine ve ko-trimoksazole dirençli, PYR, VP testleri negatif, CAMP ve hippurat hidrolizi testleri pozitif olanlar B grubu; basitrasine dirençli, ko-trimoksazole değişken dirençli, CAMP, PYR, VP ve hippurat hidrolizi negatif, trehaloz veya sorbitol fermantasyonu pozitif olanlar C grubu olarak tanımlandı. Bu özellikleri göstermeyen ve VP testi negatif olan 8 izolat ise gruplandırılmadı.

Alfa ve non-hemolitik Gram pozitif, katalaz negatif kokların ayırımı için kullanılan testlerde vankomisine duyarlı, PYR, safra-eskülin testi pozitif, % 6.5 NaCl ve +10°C, +45°C'de üreme gösteren, glikozdan gaz oluşturmeyen suşlar enterokok; vankomisine duyarlı, safra-eskülin testi negatif, glikozdan gaz oluşturmeyen, PYR testi pozitif, % 6.5 NaCl'de üreyen ve +10°C, +45°C'de üremeyen suşlar aerokok; Vankomisine dirençli, glikozdan gaz oluşturan, safra eskülin hidroliz testi pozitif, PYR testi negatif ve +10°C, % 6.5 NaCl'de üreyip +45°C'de üremeyen suşlar lökonostok; vankomisine, optokine duyarlı, safrada erime testi pozitif ve diğer uygulanan testler negatif olan suşlar *S. pneumoniae*; vankomisine duyarlı, safra-eskülin hidroliz testi pozitif ve diğer uygulanan testler negatif olan suşlar *S. bovis* olarak belirlendi. Bu testler uygulandığında vankomisine duyarlı, ko-trimoksazole çoğunlukla duyarlı ve uygulanan diğer testler negatif olan suşlar viridans streptokok olarak değerlendirildi. Safra-eskülin hidroliz testinde üreme olup siyah pigment oluştur-

mayan alfa hemolitik izolatlarda CAMP testi yapılarak pozitif olanlar *S. agalactia* olarak tanımlandı. Özellikleri tam olarak uymayan 10 alfa ve non-hemolitik izolat ise bu testler ile tanımlanamadı (Tablo VI).

İnfeksiyon odaklarına ve anatomik bölgelere göre yerleşimleri farklı olan Gram pozitif, katalaz negatif kokların infeksiyonlarında, alınan klinik örneklerin önemi vardır. Cins/tür ayırımı yapılan beta ve non-beta hemolitik Gram pozitif, katalaz negatif kokların klinik örneklere dağılımları incelendi, bulgular tablo VII ve VIII'de özetlendi.

Tablo VII. Gruplandırılan beta hemolitik streptokoların klinik örneklere dağılımı

Örnek	Grup									
	A		B		C		Gruplanamayan		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Boğaz, balgam	94	77.7	4	3.3	17	14.0	6	5.0	121	100.0
Deri, püy, abse	27	87.1	3	9.7	1	3.2	-	-	31	100.0
Kulak sürüntüsü	12	92.3	1	7.7	-	-	-	-	13	100.0
Vajen sürüntüsü	4	66.7	-	-	-	-	2	33.3	6	100.0
Kan	3	37.5	5	62.5	-	-	-	-	8	100.0
İdrar	2	50.0	2	50.0	-	-	-	-	4	100.0
BOS	1 ^a	-	-	-	-	-	-	-	1 ^a	-
SVS	1 ^a	-	1 ^{a,b}	-	-	-	-	-	2 ^a	-
Toplam	144	77.4	16	8.6	18	9.7	8	4.3	186	100.0

^aÖrnek sayısı azlığı nedeniyle % oranı alınmadı

^bMide suyu

Toplam 186 beta hemolitik streptokokdan A grubu olarak gruplandırılan 144 (% 77.4) izolatin 94'ü boğaz sürüntüsü ve balgamdan, 27'si deri, pü ve abseden, 12'si kulak sürüntüsünden, 4'ü vajen sürüntüsünden, 3'ü kandan, 2'si idrardan, 1'i BOS'dan ve 1'i SVS'dan izole edildi. B grubu olarak gruplandırılan 16 (% 8.6) izolatin 5'i kandan . 4'ü boğaz sürüntüsü ve balgamdan 3'ü deri, pü ve abseden, 2'si idrardan, 1'i kulak sürüntüsü ve 1'i mide suyundan soyutlandı. C grubu olarak gruplandırılan 18 (% 9.7) izolatin 17'si boğaz sürüntüsü ve balgamdan ve 1'i deri, pü ve abseden izole edildi. Klinik örneklerden 6 boğaz sürüntüsü ve balgam, 2 vajen sürüntüsü örneğinden izole edilen toplam 8 beta hemolitik streptokok izolatu gruplandırılmadı.

Non-beta hemolitik Gram pozitif, katalaz negatif 180 izolatdan 106'sı (% 58.9) enterokok olarak tanımlandı. Enterokokların 44'ü kan, 35'i idrar, 15'i deri pü abse. 5'i BOS ve beyin absesi, 3'ü kulak sürüntüsü, 3'ü SBS ve 1'i balgam örneklerinden soyutlandı. Viridans streptokok olarak tanımlanan 32 (% 17.8) izolatdan 9'u kan, 9'u idrar, 6'sı deri , pü , abse, 2'si SVS. 2'si balgam, 1'i göbek sürüntüsü, 1'i kulak sürüntüsü, 1'i BOS ve 1'i sperma; *S. pneumoniae* olarak tanımlanan 15 (%8.3) izolatdan 5'i kan, 4'ü BOS, 2'si idrar, 1'i kulak sürüntüsü, 1'i balgam, 1'i vajen sürüntüsü ve 1'i konjonktiva sürüntüsü; *S. bovis* olarak identifiye edilen 9 (%5.0) izolatdan 4'ü kan, 1'i idrar, 1'i göbek sürüntüsü, 1'i BOS ve 1'i SVS örneklerinden izole edilen non-beta hemolitik streptokoklardı. Aerokok olarak tanımlanan 7 (%3.8) izolatdan 4'ü kan, 2'si idrar ve 1'i deri ; lökonostok olarak belirlenen 1 (%0.6) izolat BOS örneklerinden izole edilen Gram pozitif, katalaz negatif koklardı.. Uygulanan testlerde kesin olarak tanımlanamayan 10 izolatdan 4'ü kan, 2'si idrar 2'si BOS , 1'i deri ve 1' göbek sürüntüsü örneklerindn izole edilen Gram pozitif katalaz negatif koklardı.

Tablo VIII. İdentifiye Edilen Non-beta Hemolitik Gram Pozitif, Katalaz Negatif Kokların Klinik Örneklerle Dağılımı

Klinik Örnek	Cins/Tür n/%										Toplam n/%
	Enterokok	Viridans streptokok	S.pneumoniae	S.bovis	Aerokok	Lökönostok	Tanımlanamayan				
Kan	44 62.9	9 12.9	5 7.1	4 5.7	4 5.7	-	4 5.7	4 5.7	4 5.7	70 100.0	
İdrar	35 68.6	9 17.7	2 3.9	1 2.0	2 3.9	-	2 3.9	2 3.9	2 3.9	51 100.0	
Deri-püly,abses	15 62.5	6 25.0	-	1 4.2	1 4.2	-	1 4.2	1 4.2	1 4.2	24 100.0	
BOS ^b ve beyin absesi	5 35.7	1 7.1	4 28.6	1 7.1	-	1 7.1	2 14.3	2 14.3	14 100.0		
Göbek sürüntüsü	3 ^a	1 ^a	-	1 ^a	-	-	1	1	6 ^a	-	
Kulak sürüntüsü	-	1 ^a	1 ^a	-	-	-	-	-	2 ^a	-	
SVSc	3 ^a	2 ^a	-	1 ^a	-	-	-	-	6 ^a	-	
Balgam	1 ^a	2 ^a	1 ^a	-	-	-	-	-	4 ^a	-	
Vajen sürüntüsü	-	-	1 ^a	-	-	-	-	-	1 ^a	-	
Konjonktiva sürüntüsü	-	-	1 ^a	-	-	-	-	-	1 ^a	-	
Sperma	-	1 ^a	-	-	-	-	-	-	1 ^a	-	
TOPLAM	106 58.9	32 17.8	15 8.3	9 5.0	7 3.8	1 0.6	10 5.6	180 100.0			

^aÖrnek sayısının azlığı nedeniyle % oranı alınmamıştır

^bBOS: Beyin omurilik sıvısı

^cSVS: Steril vücut boşluğu sıvısı

TARTIŞMA

Streptokoklar, insanların bazı anatomik bölgelerinin normal bakteri florasında bulunmasının yanında çeşitli pyojenik infeksiyonların etiyopatogenezinden sorumlu tutulmaktadır. Dünyanın her bölgesinde ve her türlü iklim şartlarında bu mikroorganizmaların infeksiyonlarına sıklıkla rastlanılmaktadır.

Değişik klinik örneklerde üreyen beta hemolitik streptokoklar içinde A grubu streptokoklar % 56-83.8 oranı ile ilk sırayı aldığı bildirilmektedir(4,43,70). Bu mikroorganizmalar üst solunum yolları infeksiyonlarında, virüslerden sonra ikinci sırayı almaktadır. Sağlıklı kişilerde yapılan boğaz kültürlerinde A grubu streptokok taşıyıcılığı % 0.8-11.3 (ortalama % 5) oranında bulunmaktadır. Taşıyıcılığın en sık çocuklarda olduğu, farinjitli kişilerde ise bu oranın % 19-75 arasında değiştiği bildirilmektedir (38,45,58,69,71,72.74). Farinjit veya herhangi bir bakteriyel infeksiyonu olan kişilerin boğaz kültürlerinden üretilen beta hemolitik streptokoklar içerisinde A grubu streptokokların oranlarını Ayhan ve Günalp (4) % 68.8; Hasçelik ve Berkman (35) % 90.4; Kiraz ve Akşit (40) % 83.1; Koçoğlu ve arkadaşları (43) % 87.2; Özenci ve arkadaşları (54) % 60.3 ve Söyletir ve Ener (70) % 71.5 oranında bulmuşlardır. Beta hemolitik streptokoklara bağlı septisemilerde A grubu % 25 oranında izole edilerek

ikinci sıklıkta yer aldığı ve mortalite oranının % 32 olduğu bildirilmiştir (67). A grubu streptokokların izole edildiği örneklerden boğaz sürüntüsü ve balgam ilk sırada ; deri ve pü örnekleri ikinci sırada yer almaktadır (4,43,70). Çalışmamızda beta hemolitik streptokok olarak tanımlanan 186 izolatdan 144'ü A grubu olarak gruplandırıldı ve bunlardan 94'ü boğaz sürüntüsü ve balgam, 27'si deri, pü ve abseden soyutlanan izolatları (Tablo VII). Boğaz sürüntüsü ve balgam kültürlerinde üreyen 121 beta hemolitik streptokokdan 94'ü (% 77.7) A grubu streptokok idi. A grubu streptokok üretilen klinik örneklerin içerisinde ilk sırada boğaz sürüntüsü ve balgam, ikinci sırada deri, pü ve abse ve üçüncü sırada kulak sürüntüsü örneklerinin yer aldığı belirlendi. Bu bulgular benzer şekilde yapılan çalışmalar ile paralellik göstermektedir (43).

Klinik örneklerden izole edilen beta hemolitik streptokoklar içerisinde B grubu izolasyonunu Ayhan ve Günalp (4) % 19; Koçoğlu ve arkadaşları (43) % 1.2 ve Söyletin ve Ener (70) % 7.7 oranında bulmuşlardır. B grubu streptokokların izole edildiği örneklerin başında idrar veya boğaz sürüntüsü örneklerinin yer aldığı görülmektedir (4,43,70). Bu streptokokların erişkinlerde oluşturduğu pyelonefrit, septisemi, endometrit ve pnömoni gibi ciddi infeksiyonların yanında, hamile kadınların vajenlerinde kolonize olmaları nedeniyle yenidoğan infeksiyonlarında önemli bir yeri vardır (6,17,28,44,52,67). Bayer ve arkadaşları (6) tarafından erişkinlerde en sık olarak B grubu streptokokların pyelonefrit, endometrit ve pnömoniye neden olduğu ve hastaların % 91.7 'sinde kan örneklerinden B grubu streptokok izolasyonu yapıldığı bildirilmektedir. Opal ve arkadaşları ise B grubunun neden olduğu neonatal septisemilerinde yenidoğan ile anneleri arasındaki ilişkinin anlamlı olduğunu göstermişlerdir (52). Erişkinlerde oluşturdukları septisemileri daha çok nozokomiyal orijinli olup, mortalite oranları % 8-70 oranında değişmektedir (6,24,52,67). Değişik araştırmalarda boğaz kültürlerinden izole edilen beta hemolitik streptokoklar içerisinde B grubu % 1.4-15.6 oranında bulunmuştur (4,35,70). Bu çalışmada gruplandırılan beta hemolitik streptokoklar içerisinde B grubu % 8.6 oranında bulundu (Tablo VII). Bu grup streptokokların 5'i kan, 4'ü boğaz sürüntüsü ve balgam, 3'ü deri, pü ve abse, 2'si idrar, 1'i kulak sürüntüsü ve 1'i mide suyundan izole edildi. Vajen sürüntüsünden izolasyon olmadı. Boğaz kültürlerinden izole edilen beta hemolitik streptokokların % 3.3'ü kandan izole edilen beta hemolitik streptokokların %62.5'i B grubu olarak gruplandırıldı. Diğer klinik örneklerde üreyen B grubu streptokokların sayısal azlığı nedeniyle benzer raporlarla karşılaştırılmadı. Ancak kan örneklerinden soyutlanan B grubu streptokokların oranı, diğer bazı araştırma bulgularına göre daha yüksek bulundu (67). Bu oranın yüksek bulunması,

çalışmamıza çocukluk yaş grubunun da dahil olmasından kaynaklanmaktadır.

C grubu streptokoklar insanlarda nadir olarak infeksiyonlara neden olmaktadır. Genel olarak infeksiyonları hayvan ürünlerinden kaynaklanmaktadır (25). İnsanların boğaz ve intestinal kanal normal bakteri florasında % 2.9-6.0 oranında bulunmaktadır (72). Boğaz kültürlerinden izole edilen beta hemolitik streptokoklar içerisinde C grubu streptokokların oranları A grubuna göre düşüktür (% 0.8-7.3) (4,35,43,70). Bu grup streptokoklar pnömoni, menenjit, endokardit, farinjit yanında post streptokoksik glomerulonefritlere neden olduğu ve hatta endokarditlerinde % 50 oranında mortalite bildirilmektedir (25,48,67). Gruplandırılan 186 beta hemolitik streptokokların % 9.7'si C grubu olarak tanımlandı (Tablo VII). Tanımlanan C grubu streptokokların 17'si boğaz sürüntüsü ve balgam örneklerinden soyutlanan izolatlardı. Boğaz sürüntüsü ve balgam kültürlerinden izole edilen 121 beta hemolitik streptokok içerisinde % 14'ünü C grubu streptokoklar oluşturmaktadır. Bu oranın diğer araştırmacıların bulgularına kıyasla yüksek bulunması araştırma grubunu oluşturan hastaların yöresel besin tüketimi alışkanlığına bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada 8 beta hemolitik streptokok gruplandırılmamış olup bunların F ve G grubu streptokok olması muhtemeldir. Bu konuda yapılan benzer çalışmalarda D grubu beta hemolitik streptokok bildirilmesine rağmen, bu çalışmada beta hemolitik streptokoklar içerisinde D grubu olarak tanımlanan herhangi bir izolat olmamıştır. D grubu beta hemolitik streptokoklar günümüzde enterokoklar içerisinde yer aldığı bilinmektedir. Enterokokların koyun kanlı agarda alfa hemoliz yapmaları nedeniyle gruplandırılan beta hemolitik streptokoklar içerisinde yer almamıştır.

Daha önce streptokok cinsi içerisinde D grubu enterokok olarak yer alan mikroorganizmalar, antibiyotiklere karşı gösterdikleri yüksek direnç ve % 6.5 NaCl varlığında üreyebilmeleri nedeniyle, onları ayrı bir cins altında toplama eğilimini doğurmuştur (47,62). Enterokoklar toplum ve hastane kaynaklı endokardit, bakteriyemi, üriner infeksiyon ve neonatal sepsislere neden olmaktadır (47,60). Polimikrobiyal bakteriyemilerden izole edilen Gram pozitif kokların başında enterokoklar gelmekte ve mortalite oranı % 30 oranında bildirilmektedir (47). Endokarditlerde ise viridans streptokoklar ve stafilokoklardan sonra 3. sıklıkta sorumludurlar (47). Enterokokların izole edildiği klinik örneklerin başında idrar, yara, vücut sıvıları ve kan gelmektedir ve bu örneklerden en sık E. faecalis izole edilmektedir (30,63,64). Ruoff ve arkadaşları (63) tanımladıkları enterokokların

%68.2'sini idrar, % 16.2'sini yara, % 8.3'ünü vücut sıvıları, % 3.3'ünü kan ve % 4'ünün diğer klinik örneklerden izole etmişlerdir. Bu çalışmada değişik klinik örneklerden izole edilen 180 alfa hemolitik Gram pozitif, katalaz negatif kokların % 58.9'u enterokok olarak tanımlandı (Tablo VIII). Tanımlanan enterokoklardan 44'ü kan, 35'i idrar, 15'i deri, püy abse ve 5'i BOS ve beyin absesi örneklerinden soyutlanan izolatlardı. Kan kültürlerinden izole edilen ve tanımı yapılan enterokokların sayısı, benzer çalışmalara göre yüksek oranda bulundu. Enterokoklara bağlı bakteriyemiler yeni doğanlarda immun komprime olmaları nedeniyle daha sık olarak rastlanıldığı bilinmektedir. Çalışmamızda kandan izole edilen ve enterokok olarak belirlenen Gram pozitif, katalaz negatif kokların oranının yüksek bulunması, çalışma kapsamına alınan gruplar içerisinde yenidoğan yaş grubunun bulunmasına bağlıdır.

Bir major respiratuvar patojeni olan *S. pneumoniae* en fazla toplum kaynaklı pnömoniler ve pnömonilere bağlı bakteriyemilere neden olmaktadır (2,77). Ayrıca çocuklarda otitis media, menenjit ve erişkinlerde bunlara ilaveten kadın genital organ infeksiyonlarından izole edilmektedirler (14,57,77). Alvarez ve arkadaşları (2) erişkinlerde pnömokoksik bakteriyemilerin % 41'ini nazokomiyal ve % 59'unu toplum kaynaklı bakteriyemi olarak ve bakteriyemilerin nedenleri arasında pnömonoyi en yüksek oranda bulmuşlardır. Prober ve arkadaşları (57) 2 ay 16 yaş arası ciddi infeksiyonu bulunan 15 bakteriyemili çocuktan 11'inde bakteriyemi nedenini *S. pneumoniae* menenjiti olarak bildirmişlerdir. West ve arkadaşları (77) *S.pneumoniae*'ye bağlı genital infeksiyonlu 36 hastalık serilerinde en fazla salpenjit ve puerperal infeksiyon bildirmişlerdir. Hastalarda predispozan faktör olarak post partum dönem ve intrauterin araç kullanma başta gelmektedir. Bu çalışmada identifikasyonu yapılan Gram pozitif, katalaz negatif kokların % 8.3'ü *S. pneumoniae* idi. *S. pneumoniae* olarak belirlenen 15 izolattan 5'i kan, 4'ü BOS, 2'si idrar, 1'i kulak sürüntüsü, 1'i balgam, 1'i vajen sürüntüsü ve 1'i konjonktiva sürüntüsü örneklerinden soyutlanan izolatlardı. Tanımı yapılan *S. pneumoniae* 'ların çoğunun kan ve BOS örneklerinden izole edildiği belirlendi (Tablo VIII).

Viridans streptokoklar en sık endokardit etkeni olarak bilinmektedirler (59). Ayrıca santral sinir, respiratuvar, ürogenital, kas-iskelet sistemi ve deri infeksiyonlarından izole edilmektedirler (25,37). Bu çalışmada, identifiye edilen Gram pozitif, katalaz negatif kokların % 17.8'ini viridans streptokoklar oluşturdu (Tablo VIII). Tanımlanan viridans streptokoklardan kan ve idrar örneklerinden soyutlanan izolatlar başta gelmekte idi.

S. bovis özellikle gastrointestinal malignansileri olan hastalarda bakteriyemilerden izole edilmektedir. Bu çalışmada, *S. bovis* olarak tanımlanan izolatların çoğunluğu kan örneklerinden soyutlandı (Tablo VIII).

Aerokoklar nadir olarak infeksiyonlara neden olan mikroorganizmalardır. Benzer streptokoklar içerisinde bunların ancak %3 oranında izole edildiği bildirilmektedir (12). Bu çalışmada da aerokok olarak tanımlanan izolatların oranı % 3.9 idi. Bu aerokokların 4'ü kan örneğinden soyutlanan izolatları (Tablo VIII).

Önceleri insan için patojen olmadıkları kabul edilen, vankomisine karşı dirençli olan pediokok ve lökonostok cinsleri günümüzde bazı piyozjenik infeksiyonlardan sorumlu tutulmaktadır (5,23,26). Klinik laboratuvarlarda uygulanan testlerin sınırlı olması, enterokoklar ile lökonostoklar ve laktokokların ayırımında karışıklıklara neden olmaktadır. Enterokok olarak belirlenen izolatlardan bazıları lökonostok ve laktokok olabilmektedir. Facklam ve Collins (19) tarafından yapılan bir çalışmada daha önce klinik örneklerden enterokok olarak belirlenen 206 izolatın yeni ayırım testleri uygulanması ile yapılan sonraki identifikasyonunda 6 lökonostok ve 3 laktokok bulunmuştur. Bu çalışmada da BOS'dan izole edilen ve enterokok olarak tanımlanan bir izolatın uygulanan testlerde lökonostok olduğu belirlendi (Tablo VIII).

Gemella cinsindeki kokların çok nadirde olsa infeksiyonlarına rastlanıldığı bildirilmektedir (20). Çalışmamızda tanımlanan Gram pozitif, katalaz negatif kokların içerisinde *Gemella* olarak tanımlanan izolat yoktu.

Non-beta hemolitik Gram pozitif, katalaz negatif kokların içerisinde 180 izolatdan 10'u tanımlanamadı. Bu grup bakteri cinslerindeki tür ve suşların farklı biyokimyasal özellikleri nedeniyle ayırımlarının yapılması oldukça zordur. Kesin ayırımda uygulanan testlere ilave olarak daha ileri tekniklerin kullanılması gerekmektedir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında kültürü yapılması istenilen örneklerden soyutlanan beta hemolitik streptokoklar içerisinde en sık olarak A ve daha az sıklıkta B ile C grubu streptokoklar; non-beta hemolitik Gram pozitif, katalaz negatif kokların içerisinde ise en sık olarak enterokoklar ve daha az sıklıkta viridans streptokoklar, *S. pneumoniae*, *S. bovis*, aerokoklar ve lökonostokların yer aldığı belirlendi.

Streptokokların, insanlarda değişik tip infeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir. A grubu beta hemolitik streptokoklar gibi bazı streptokoklar, infeksiyonlarıyla insan sağlığını tehdit edebilecek sekeller bırakabilen mikroorganizmalardır. Non-beta hemolitik Gram pozitif, katalaz negatif koklar içinde yer alan enterokoklar ise antibiyotiklere karşı olan dirençlerinin gittikçe artması, bu mikroorganizmalar tarafından oluşturulan infeksiyonların tedavisinin güçleşmesine neden olmakta ve tedavi sonucunu etkilemektedir. Bu mikroorganizmaların infeksiyonlarında, hastaların tedavilerinin ve hastanede kalış sürelerinin uzamasıyla ekonomik yükü artırmaktadır. Bu önemlidir. Streptokoksik infeksiyonlarda, streptokokların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri kesinlikle yapılmalı ve streptokokların cins ve türlerine etkin antibiyotikler önerilmelidir.



SONUÇ

Klinik örneklerden izole edilen Gram pozitif, katalaz negatif koklar basitrasın, ko-trimoksazol duyarlılık, CAMP, PYR, VP, hippurat hidrolizi, trehaloz ve sorbitol fermantasyon, vankomisin ve optokine duyarlılık, safrada erime, safra eskülin hidrolizi , % 6.5 NaCl, +10°C, +45°C'de üreme ve glikozdan gaz oluşturma testleri uygulanarak ayırımları yapıldı.

1.Klinik örneklerden izole edilen toplam 366 suşun 186'sı (% 50.8) beta hemolitik streptokok, 180'ni (% 49.2) non-beta hemolitik kok olarak belirlendi.

2.Belirlenen beta hemolitik streptokok suşlarının 144'ü (% 77.2) A grubu 16'sı (% 8.6)B grubu ve18'i (% 9.7)C grubu; non-beta hemolitik suşlarının 106'sı (%58.9) enterokok, 32'si (%17.8) viridans streptokok, 15'i (% 8.3) S. pneumoniae, 9'u (% 5.0) S. bovis, 7'si (% 3.8) aerokok ve 1'i (% 0.6) lökonostok olarak tanımlandı.

3.Tanımlanan beta hemolitik streptokoklar, en fazla boğaz sürüntüsü ve balgam (% 64.5); non-beta hemolitik koklar ise en fazla kan (% 38.8) ve idrar (% 30.5) örneklerinin kültürlerinden soyutlandı.

4.Streptokoksik infeksiyonlarda farklı tedavi uygulandığından tedavinin başarılı olması için, cins ve tür ayırımının yapılması gerekmektedir.

ÖZET

Erciyes Üniversitesi, Gevher Nesibe Hastanesi, klinik ve polikliniklerinden Kasım 1990 ile Aralık 1991 tarihleri arasında değişik şikayetlerle başvuran hastaların klinik örneklerinden üreyen 366 Gram pozitif, katalaz negatif koklar bakteriyolojik kültür ve biyokimyasal özellikleri ile identifikasyonları yapıldı. İzolatların koyun kanlı agarda oluşturdukları hemoliz tiplerine göre 186'sı (% 50.8) beta hemolitik streptokok ve 180'i (% 49.2) non-beta hemolitik Gram pozitif, katalaz negatif kok olarak belirlendi. Uygulanan biyokimyasal testlerle tanımı yapılan beta hemolitik streptokokların % 77.4'ü A grubu, %8.6'sı B grubu ve % 9.7'si C grubu idi. Beta hemolitik streptokoklardan A grubu olarak tanımlanan kokların % 65.3'ü boğaz sürüntüsü ve balgam B grubunun % 31.3'ü kan, % 25.0 boğaz sürüntüsü ve balgam, C grubunun % 94.4'ü boğaz sürüntüsü ve balgam örneklerinden soyutlanan izolatlardı. Ayırımı yapılan non-beta hemolitik koklardan % 58.9'u enterokok, % 17.8'i viridans streptokok, % 8.3'ü *S. pneumoniae*, % 5.0'i *S. bovis*, % 3.8'i aerokok ve % 0.6'sı lökonostok idi. Non-beta hemolitik koklardan enterokokların % 41.5'i kan ve % 33.0'ü idrar; viridans streptokokların % 38.1'i kan ve % 28.1'i idrar; *S. pneumoniae*'nin % 33.3'ü kan ve % 26.6'sı BOS; *S. bovis*'in % 44.5'i kan; aerokokların % 57.1'i kan ve 1 lökonostok BOS örneklerinden soyutlandı.

Beta hemolitik streptokoklardan 8, non-beta hemolitik koklardan 10 izolat uygulanan testlerle identifiye edilemedi. Bazı tür ve suşların kesin ayırımında ileri tekniklerin uygulanması gerekmektedir.

Streptokoksik infeksiyonlarda farklı tedavi uygulandığından, tedavinin başarılı olması için, cins ve tür ayırımının yapılması gerekmektedir.



SUMMARY

THE IDENTIFICATION OF GRAM POSITIVE, CATALASE NEGATIVE COCCI ISOLATED FROM CLINICAL SPECIMENS

A total of 366 Gram positive, catalase negative cocci were identified with their bacteriological and biochemical properties from different clinical specimens of the patient who applied to various clinics and polyclinics of Gevher Nesibe Hospital. Among these isolates 186 (50.8%) were defined as beta-hemolytic streptococci and 180 (49.2 %) were defined as non-beta-hemolytic cocci according to their ability of producing hemolysis on the sheep blood agar. The beta-hemolytic streptococci were identified as group A in 77.4 %; group B in 8.6 %; group C in 9.7 % by using of biochemical tests. Group A streptococci were isolated in 65.3 % from throat swab and sputum; group B in 31.3 % from blood and in 25.0 % from throat swab and sputum; group C in 94.4 % from throat swab and sputum specimens. The non-beta-hemolytic Gram positive, catalase negative cocci were identified as enterococci in 58.9 %; viridans streptococci in 17.8 %; *S. pneumoniae* in 8.3 %; *S. bovis* in 5.0 %; aerococci in 3.8 % and *Lauconostoc* in 0.6 %. Enterococci were isolated in 41.5 % from blood and in 33.0 % from urine; viridans streptococci in 28.1% both from blood and urine; *S.pneumoniae* in 33.3 % from blood and in 26.6

% from CSF; *S. bovis* in 44.5 % from blood; aerococci in 75.1 % from blood specimens. A *Leuconostoc* strain was isolated from CSF.

Eight strains of the beta-hemolytic streptococci and 10 strains of non-beta-hemolytic cocci could not be identified by using of these tests. It is needed that further technics for the distinctive identification.

The identification of streptococcal isolates to genus and species is needed for the successful therapy of streptococcal infections.



KAYNAKLAR

1. Akan Ö, Hasçelik G, Karten V, Barışta I, Baykal M, Akalın E: B grubu Streptokokal endokardit. Mikrobiyoloji Bülteni 24:357-360,1990.
2. Alvarez S, Gvarderas J, Shell CG, Berk H, Berk SL: Nosocomial pneumococcal Bacteremia. Arch Inter Med 146:1509-1512,1986.
3. Ayhan Z, Günalp A: Beta hemolitik streptokok gruplandırmasının önemi ve gruplamada kullanılan çeşitli testlerin karşılaştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni 18:81-89,1984.
4. Ayhan Z, Günalp A: Beta hemolitik streptokok gruplarının klinik örnek ve yaş gruplarına göre dağılımı. Mikrobiyoloji Bülteni 19:15-22,1985.
5. Barreau C, Wagener G: Characterization of *Leuconostoc lactis* Strains from Human Sources. J Clin Microbiol 28:1728-1733,1990.
6. Bayer AS, Chow, Antony BF, Guze LB: Serious Infectious In Adults Due To Group B Streptococci. Am J Med 61:496-503,1976.
7. Berkowitz K, Regan JA, Greenberg E: Antibiotic Resistance of Group B Streptococci in Pregnant Women. J Clin Microbiol 28:5-7,1990.
8. Bilgehan H: Streptococcus. Klinik Mikrobiyoloji, Doğruluk Matbaası, İzmir 1990, ss 210-240.
9. Bisno AL: *Streptococcus pyogenes*. In Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds): Principles and practice of infectious disease. Churchill Livingstone, New York 1990, pp 1519-1528.
10. Bisno AL: Classification of Streptococci. In Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds): Principles and practice of infectious disease. Churchill Livingstone, New York 1990, pp 1518-1519.
11. Bisno AL: Non-suppurative poststreptococcal sequelae. Rheumatic fever and glomerulonephritis. In Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds): Principles and practice of infectious disease. Churchill Livingstone, New York 1990, pp 1528-1539.

12. Buu-Hoi A, Le Bouguenec C, Houraud T: Genetic basis of antibiotic resistance in *Aerococcus viridans*. *Antimicrob Agents Chemother* 1:101-106,1989.
13. Christensen K, Christensen P: A Screening test (GBS-Test) for Urogenital carriage of group B streptococci. *Am J Obstet Gynecol* 157:341-342,1987.
14. Christopher GW, Hucker JA, White DW, Carter BL: Pneumococcal Infections of the Female Genital Tract. *Rev Infect Dis* 12:1203-1204,1990.
15. Colman C: *Streptococcus and Lactobacillus*. In Parker MT, Collier LH: *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and immunity*. Vol 2 Edward Arnold, London 1990, pp 120-152.
16. Daugard HO, Thomsen AC, Hennigues U, Ostergaard A: Group B streptococci in the lower urogenital tract and late abortions. *Am J Obstet Gynecol* 158:28-31,1988.
17. Edwards MS, Baker CJ: *Streptococcus agalactiae* (Group B Streptococcus). In Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds): *Principles and practice of infectious disease*. Churchill Livingstone, New York 1990, pp 1554-1563.
18. Facklam RR, Hollis D, Colling MD: Identification of Gram positive Coccal and Coccobacillary Vancomycin-Resistant Bacteria. *J Clin Microbiol* 27:724-730,1989.
19. Facklam RR, Collins MD: Identification of Enterococcus Species Isolated from Human Infections by a Conventional Test Scheme. *J Clin Microbiol* 27:731-734,1989.
20. Facklam RR, Washington II JA: Streptococcus related catalase-negative, Gram positive Cocci. In Balows A, Hausler JW, et al (eds): *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington DC 1991, pp 238-257.
21. Fertally S, Facklam RR: Comparison of Physiologic Tests Used To Identify Non-Beta Hemolytic Aerococci, Enterococci and Streptococci. *J Clin Microbiol* 25:1845-1850,1987.
22. Finegold SM, Baron EJ: Streptococci, Including Enterococci and Pneumococci and Aerococcus. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. The CV Mosby Company, St Louis, Toronto, Princeton 1986, pp 366-387.
23. Friedland IR, Snipelisky M, Khoosal M: Meningitis in a Neonate Caused by *Leuconostoc* spp. *J Clin Microbiol* 28:2125-2126,1990.
24. Gallacher PG, Vatanakunakorn C: Group B Streptococcal Bacteremia in a Immunity Teaching Hospital. *Am J Med* 78:795-800,1985.
25. Gallis HA: Viridans and Beta Hemolytic (non-group A,B and D) Streptococci. In Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds): *Principles and practice of infectious disease*. Churchill Livingstone, New York 1990, pp 1563-1572.
26. Gallis HA: *Streptococcus intermedius* group (*Streptococcus anginosus-milleri* group). In Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds): *Principles and practice of infectious disease*. Churchill Livingstone, New York 1990, pp 1572-1574.
27. Gollledge CL, Stingemore N, Aravane M, Joske D: Septicemia Caused by Vancomycin-Resistant *Pediococcus acidilactici* *J Clin Microbiol* 28:1678-1679,1990.
28. Gordon JS, Sbarra AJ: Incidence, technique of isolation, and treatment of group B Streptococci in obstetrics patients. *Am J Obstet Gynecol* 126:1023-1026,1976.
29. Gökalp A, Oğuz A, Bakıcı Z, Gültekin A, Toksoy H, Gürel M, Kanra G: Neonatal grup B Streptokok kolonizasyonunun annelerdeki Ürogenital ve anorektal sistem taşıyıcılığı ile ilişkisi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 20:248-255,1986.
30. Gray JW, Stewart D, Pedler SJ: Species identification and Antibiotic Susceptibility Enterococci Isolated from Hospitalized patient. *Antimicrob Agents Chemother* 35:1943-1945,1991.
31. Gunn BA: SXT and Tapo A disks for presumptive identification of group A and B streptococci from throat cultures. *J Clin Microbiol* 4:192-195,1976.

32. Gunn BA, Keiser JF, Almazon RD: Culture Media, Test and Reagents in Bacterology. In Howard BJ, Klass J, et al (eds): Clinical and Pathogenetic Microbiology. The CV Mosby Company, St.Louis 1987, pp 849-905.
33. Güvenç H, Ökten A, Kocabay K, Bektaş S: Streptococcus pneumoniae'nin neden olduğu neonatal plevral ampiyem ve sepsisemi. *İnfeksiyon Dergisi* 3:497-500,1989.
34. Hardwerger S, Horowitz H, Coburn K, Kolokathis A, Wormser GP: Infection Due To Leuconostoc Species: Six Cases and Review. *Rev Infect Dis* 12:602-610,1990.
35. Haşçelik G, Berkman E: Boğaz kültürlerinde basitracine dirençli beta-hemolitik streptokok görülme sıklığı ve in vitro antibiyotik duyarlılıkları. *Mikrobiyoloji Bülteni* 23:312-317,1989.
36. Hendrickson DA, Krenz MM: Reagents and Stains. In Balouls A, Hausler JW, et al (eds): Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. Washington DC 1991, pp 1289-1314.
37. Howard BJ, and Ducate MJ: Streptococci. In Howard BJ, Klass J, et al (eds): Clinical and Pathogenetic Microbiology. The CV Mosby Company. St.Louis 1987, pp 243-263.
38. Huck W, Reed BD, French T, Mitchell RS: Comparison of the Directigen 1-2-3 Group A Strep Test with Culture for Detection of Group A Beta-Hemolytic Streptococci. *J Clin Microbiol* 27:1715-1718,1989.
39. Joklik WK, Willet HP, Amos DB: Streptococcus. Zinsser Microbiology, 9th ed. Appleton-Century Crofts Norwalk 1989, pp 357-377.
40. Kiraz N, Akşit F: 142 Beta hemolitik streptokokun tanımlanmasında kullanılan Lateks aglütinasyon ile basitrasın SXT sonuçlarının karşılaştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 25:326-329, 1991.
41. Kellogg JA: Suitability of Throat Culture Procedures for Detection of Group A Streptococci and as Reference Standards for Evaluation of Streptococcal Antigen Detection Kits. *J Clin Microbiol* 28: 165-169,1990.
42. Koch AE, Burchall JJ: Reversal of the antimicrobial activity of trimethoprim by thymidine in commercially prepared media. *Appl Microbiol* 22:812-817,1971.
43. Koçoğlu T, Kiraz N, Özgüneş I, Akşit F, Akgün Y: Çeşitli klinik örneklerden elde edilen beta hemolitik streptokokların gruplandırılması ve penisilin G'ye duyarlılıklarının araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* 25:219-226,1991.
44. Kontrick CM,Edberg SC:Direct Detection of Group B Streptococci from Vaginal Specimens Compared with Quantative Culture. *J Clin Microbiol* 28:336-339,1990.
45. Krober MS,Michels GN:Streptococcal pharyngitis. *JAMA* 253:1271-1274,1986.
46. Krugman S, Katz SL, Gershon AA, Wilfert CM: Streptococcal infections Group A, including Scarlet fever. Infectious disease of Children. The CV Mosby Company, St.Louis 1985, pp 367-380.
47. Lewis CM, Zervos MJ: Clinical Manifestations of Enterococcal Infection. *Eur J Microbiol Infect Dis* 9:111-117,1990.
48. Mohr DN, Feist DJ, Washington JA, Hermans PE: Infections Due to Group C Streptococci in Man. *Am J Med* 66:450-456,1979.
49. Mufson MA: Streptococcus pneumoniae. In Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds): Principles and practice of infectious disease. Churchill Livingstone, New York 1990, pp 1539-1550.
50. Musher DM: Enterococcus Species and Group D Streptococci. In mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds): Principles and Practice of infectious disease. Churchill Livingstone, New York 1990. pp 1550-1554.

51. Mash P, Krenz MM: Culture Media. In Balows A, Hausler WJ, et al (eds): Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology Washington DC 1991, pp 238-257.
52. Opal M, Cross A, Palmer M, Almazan R: Group B Streptococcal Sepsis in Adults and Infants. Arch Intern Med 148:641-645,1988.
53. Ortel TL, Kallionas J, Gallis HA: Group C Streptococcal Arthritis: Case Report and Review. Rev Infect Dis 12:829-837,1990.
54. Özenci H, Tan G, Özsan M, Yavuzdemir Ş: Boğaz-burun kültürlerinden izole edilen beta hemolitik streptokoklar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Mikrobiyoloji Bülteni 23:336-341,1989.
55. Paton JH, Reeves DS: First multiresistant pneumococcus in Britain. Br Med J 295:810-811,1987.
56. Patterson JE, Zervos MJ: High-Level Gentamisin Resistance in Enterococcus: Microbiology Genetic Basis and Epidemiology. Rev Infect Dis 12:644-652,1990.
57. Prober CG, Frayha H, Klenin M, Schiffman G: Immunologic Responses of Children to Serious Infections with Streptococcus pneumoniae. J Infect Dis 148:427-435,1983.
58. Randolph MF, Gerber MA, De Meo KK, Wright L: Effect of antibiotic therapy on the clinical course of streptococcal pharyngitis. J Pediatr 106:870-875,1985.
59. Reyn CFV, Levy BS, Arbeit RD, Friedland G, Crumpacker CS: Infective Endocarditis: An Analysis Based on Strict Case Definitions. Ann Intern Med 94:505-518,1981.
60. Rice LB, Calderwood BB, Eliopoulos GM, Farber BF, Karchmer AW: Enterococcal Endocarditis: A Comparison of Prosthetic and Native Valve Disease. Rev Infect Dis 13:1-7,1991.
61. Ruoff KL, Miller SI, Garner CV, Ferraro MJ, Calderwood SB: Bacterimia with Streptococcus bovis and Streptococcus salivarius: Clinical Correlates of More Accurate Identification of Isolates. J Clin Microbiol 27:305-308,1989.
62. Ruoff KL: Recent Taxonomic Changes in the Genus Enterococcus. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 9:75-79,1990.
63. Ruoff KL, Maza L, Murtagh M, Spango JD, Ferraro MJ: Species Identities of Enterococci Isolated from Clinical Specimens. J Clin Microbiol 28:435-437,1990.
64. Sapico FL, Canawati HN, Ginunas VJ, Gilmore DS, Montgomerie JZ, Tuddenham WJ, Facklam RR: Enterococci Highly Resistant to Penicillin and Ampicillin: an Emerging Clinical Problem? J Clin Microbiol 27:2091-2095,1989.
65. Schleifer KH, Kilpper-Balz: Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci, and lactococci: a review. Syst Appl Microbiol 10:1-19,1987.
66. Schwartz RH, Shulman ST: Group C and Group G Streptococci. Clin Pediatr 25:496-501,1986.
67. Skogberg K, Simonen H, Renkonen OV, Valtonen VV: Beta-haemolytic Group A,B,C and G Streptococcal Septicemia: A Clinical Study. Scand J Infect Dis 20:119-125,1988.
68. Small CB, Slater LN, Lowy FD, Small R, Salvati EA, Casey UJ: Group B Streptococcal Arthritis in Adults. Am J Med 76:367-375,1984.
69. Söyletir G, Ener B, Başaran M, Çakan N, Pamukcu A, Göral M: A grubu Streptokok farenjitlerinde direkt antijen saptanması: Boğaz kültürlerinin direkt antijen testi ile karşılaştırılması. Mikrobiyoloji Bülteni 22:310-317,1988.
70. Söyletir G, Ener B: Beta hemolitik streptokokların serolojik gruplandırılması ve klinik örneklere göre dağılımı. Mikrobiyoloji Bülteni 23:190-196,1989.

71. Strömberg A, Schwan A: A Comparison between a commercial Coagglutination Test and Conventional Throat Culture for the Detection of Group A Streptococci in Throat Swabs. *Scand J Infect Dis* 18:85-86,1986.
72. Strömberg A, Schwan A, Cars O: Throat Carrier Rates of Beta-hemolytic Streptococci among Healthy Adults and Children. *Scand J Infect Dis* 20:411-417,1988.
73. Sussman JI, Baron EJ, Tenenbaum MJ, Kaplan MH, Greenspan J, Facklam RR, Tyburski MB, Goldman MA, Kanzer BF, Pizzarello RA: Viridans Streptococcal Endocarditis: Clinical, Microbiological and Echocardiographic correlations. *J Infect Dis* 154:597-603,1986.
74. Tuncer AM, Kunak B, Kırsaç N, Yeğinaltay T, Katiloğlu G, Can R, Güngör A, Nalça M: Akut farenjitte A grubu hemolitik Streptokok sıklığı, penisilin tedavisi ile başarısız olgularda Sefadroksil, klavulonik asitle kombine amoksisilin ve eritromisinle alınan sonuçlar. *Mikrobiyoloji Bülteni* 21:171-177,1989.
75. Ulutan F, Kurtar K, Şenol E, Sultan N: Bir kamu kuruluşunda görülen besin kaynaklı A grubu streptokok farenjiti epidemisi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 23:302-311,1989.
76. Weingarten RD, Markiewicz Z, Gilbert DN: Meningitis Due to Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* in Adults. *Rev Infect Dis* 12:118-124,1990.
77. Westh H, Skibsted L, Kerner B: *Streptococcus pneumoniae* Infections of the Female Genital Tract in the Newborn Child. *Rev Infect Dis* 12:416-421,1990.
78. Wilkinson HW: CAMP-disk test for presumptive identification of group B Streptococci. *J Clin Microbiol* 6:42,1977.

JÜRİ BAŞKANI

UYGUNDUR

JÜRİ ÜYESİ

UYGUNDUR

JÜRİ ÜYESİ

UYGUNDUR

JÜRİ ÜYESİ

UYGUNDUR

JÜRİ ÜYESİ

UYGUNDUR

Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi