

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Streptococcus pyogenes' İN TANISINDA KULLANILAN
TESTLERİN KARŞILAŞTIRILMASI, BAKTERİYOFAJ
İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

YAĞMUR CAHAN

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. ŞENGÜL ALPAY KARAOĞLU

II. DANIŞMAN

DR. ÖĞR. ÜYESİ İLKAY BAHÇECİ

TEZ JÜRİLERİ

PROF. DR. İLKNUR TOSUN

DOÇ. DR. CELAL KURTULUŞ BURUK

DR. ÖĞR. ÜYESİ YEŞİM AKTÜRK DİZMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2019

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Streptococcus pyogenes'* İN TANISINDA KULLANILAN TESTLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI, BAKTERİYOFAJ İZOLASYONU VE
KARAKTERİZASYONU**

Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU danışmanlığında Yağmur CAHAN tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 19/07/2019 tarihinde Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı Adı Soyadı
Başkan	: Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi İlkay BAHÇECİ
Üye	: Prof. Dr. İlknur TOSUN
Üye	: Doç. Dr. Celal Kurtuluş BURUK
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Yeşim AKTÜRK DİZMAN

İmzası

[Handwritten signatures of the jury members]


Doç. Dr. Ferhat KALAYCI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

Streptococcus pyogenes’ in Tanısında Kullanılan Testlerin Karşılaştırılması, Bakteriyofaj İzolasyonu ve Karakterizasyon’unun araştırıldığı bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmalarımın her anında daima yanımda olan, bir danışmandan çok yeri geldiğinde bir anne, kimi zaman bir abla gibi hayat tecrübelerinden faydalandığım çok değerli danışman hocalarım sayın Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU’ na ve Dr. Öğr. Üyesi İlkay BAHÇECİ’ e teşekkürlerin en büyüğünü borç bilirim.

Numune temininde Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ) Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına ve ayrıca bölgemizin duyarlı tüm sağlık çalışanlarına desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında, verdiğim kararlarda desteklerini her zaman arkamda hissettiğim maddi ve manevi olarak yanımda olan, bugünlere gelmemde en büyük paya sahip canım aileme sonsuz teşekkürler.

Yağmur CAHAN

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “*Streptococcus pyogenes*’ in Tanısında Kullanılan Testlerin Karşılaştırılması, Bakteriyofaj İzolasyonu ve Karakterizasyonu” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 21/06/2019



Yağmur CAHAN

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir

ÖZET

***Streptococcus pyogenes*' İN TANISINDA KULLANILAN TESTLERİN KARŞILAŞTIRILMASI, BAKTERİYOFAJ İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU**

Yağmur CAHAN

**Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU**

Streptococcus türü bakteriler doğada oldukça yaygın olarak bulunan, gram pozitif, zincir oluşurabilen kok morfolojisinde bakterilerdir. İnsanda normal flora elemanları olarak bulunabildikleri gibi, streptokoksal farenjit, bakteriyel endokardit, impetigo, idrar yolu enfeksiyonları, romatizmal kalp hastalığı, akut romatizmal ateş, ve akut glomerulonefritis gibi ciddi postinfeksiyöz sendromlara yol açan patojen türleri de bulunmaktadır. Çalışmamızda üst solunum yolu enfeksiyonun başında gelen *S. pyogenes*'in tanısında, öncelikle kültür yöntemi ve hızlı tanı testinin (TOYO-TSA01) birlikte karşılaştırılması hedeflendi. İzole ve identifiye edilen *S. pyogenes* suşlarının bakteriyofaj/bakteriyosin içeriğinin belirlenmesi, bakteriyofaj izolasyonu ve konak genişliğinin belirlenmesi ikincil hedef olarak belirlenmiştir. Bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ) Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen tüm boğaz sürüntüsü örnekleri olmakla birlikte, yara, abse, doku, idrar, kulak akıntısı, eklem ve plevral sıvı (sadece *S. pyogenes* üremiş olan) örnekleri inceleme materyali olarak alınmıştır. Çeşitli şikayetlerle poliklinik ve servis hastalarından gelen 174 erkek ve 94 kadın/çocuk olmak üzere toplam 252 hastadan boğaz kültür örnekleri, 9 yara sürüntü, 4 abse, 3 doku, 1 idrar, 1 kulak akıntısı sürüntüsü, 1 eklem sıvısı ve 1 plevral sıvı örnekleri hastalardan alındı ve çalışmada kullanıldı. Toplam 272 örnek incelenmiş, kültür ve kit (Strep A testi) yöntemiyle pozitif olarak bulunan 71 örnek belirlenmiştir. Kültür ve kit yöntemlerinin doğruluk oranı incelenmiş 7 örnekte kit negatif olmasına rağmen kültür pozitifliği gözlenmiş olup kültür yönteminin altın standart olduğu teyit edilmiştir. İzole ve identifiye edilen ve konak olarak kullanılan 68 *S. pyogenes* suşlarının 49'unda faj içeriğinin varlığı, geniş konak aralığı, bakteriyosin veya antimikrobiyal aktivite içerdiği belirlendi.

2019, 84 sayfa

Anahtar Kelimeler: *S. pyogenes*, Strep A testi, Bakteriyofaj.

ABSTRACT

COMPARISON OF TESTS USED' IN DIAGNOSIS OF S PYOGENES, ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIOPHAGE

Yağmur CAHAN

**Recep Tayyip Erdogan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Master Thesis
Supervisor: Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU**

Streptococcus bacteria are commonly found in nature, gram positive, chain forming bacteria in the coccus morphology. Human can be found as normal flora elements, as well as streptococcal pharyngitis, bacterial endocarditis, impetigo, urinary tract infections, rheumatic heart disease, acute rheumatic fever, and acute glomerulonephritis, such as pathogen species causing severe postinfectious syndromes. The aim of this study was to compare the culture method and the rapid diagnostic test (TOYO-TSA01) together in the diagnosis of *S. pyogenes*, the leading respiratory tract infection. Determination of bacteriophage / bacteriocin content, isolation of bacteriophage and determination of host width of *S. pyogenes* strains isolated and identified were determined as secondary targets. In this study, all throat swab specimens from Recep Tayyip Erdogan University (RTEU) Training and Research Hospital Microbiology Laboratory were examined. Samples of wound, abscess, tissue, urine, ear discharge, joint and pleural fluid (only *S. pyogenes*) were examined taken as. Throat culture specimens, 9 wound culture, 4 abscesses, 3 tissues, 1 urine, 1 ear discharge swabs, 1 joint fluid and 1 pleural fluid samples were collected from 252 patients, 174 male and 94 female children from polyclinic and ward patients with various complaints and used in the study. A total of 272 samples were examined and 71 samples were found positive by culture and kit (Strep A test) method. Accuracy of culture and kit methods was examined. Culture kit was negative in 7 samples although the kit was negative. The presence of phage content, wide host range, bacteriocin or antimicrobial activity were determined in 49 *S. Pyogenes* strains isolated and identified and used as hosts.

2019, 84 pages

Keywords: *S. pyogenes*, Strep A test, Bacteriophage.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Streptokokların Genel Özellikleri ve Tarihçesi	2
1.3. Streptokoklarda Sınıflandırma	6
1.4. Streptokoklarda Dirençlilik.....	8
1.5. Streptokoklarda Antijenik Yapılar.....	8
1.6. Streptokokların Toksin ve Enzimleri	10
1.7. Streptokokların Laboratuvarda Tanısı	11
1.8. Streptokok Türleri ve Yaptıkları Hastalıklar	13
1.8.1. A Grubu Streptokok, <i>Streptococcus Pyogenes</i>	13
1.8.2. B Grubu Streptokok (<i>Streptococcus agalactiae</i>)	14
1.8.3. C Grubu Streptokoklar	14
1.8.4. D Grubu Streptokoklar.....	14
1.8.5. Viridans Streptokoklar	15
1.8.6. Streptokokların Yaptığı Hastalıklar	15
1.9. Bağışıklık	18
1.10. <i>Streptococcus pyogenes</i> İçin Antibiyotik Kullanımı ve Tedavisi.....	19
1.11. Epidemiyoloji ve Korunma.....	19
1.12. Bakteriyofajlar	20
1.12.1. Bakteriyofajların Yaşam Döngüleri	24
1.12.2. Fajların Moleküler Biyolojisi ve Tıpta Kullanımı	26
1.13. Literatür Özeti.....	27

2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	33
2.1.	Materyal.....	33
2.1.1.	Kullanılan Malzemeler ve Kimyasallar.....	33
2.1.2.	Kullanılan Laboratuvar Gereçleri	33
2.1.3.	Çalışmada Kullanılan Suşlar	33
2.1.4.	Çalışmada Kullanılan Besiyerler	34
2.1.5.	Yapılan testler	35
2.1.6.	Gram Boyamada Kullanılan Solüsyon ve Ayıraçlar.....	37
2.2.	Metod	38
2.2.1.	Örneklerin Toplanması ve İzolasyonu	38
2.2.2.	Numunelerin Hazırlanması	38
2.2.3.	Kültür ve İzolasyon.....	40
2.2.4.	Katalaz, Oksidaz ve Pyr Testi :.....	42
2.2.5.	<i>S. pyogenes</i> İzolatlarının Stoklanması	44
2.2.6.	<i>Streptococcus Pyogenes</i> Türlerinde Bakteriyofaj İndüksiyonu	45
2.2.7.	Litik Faj Enfeksiyonunun Yapılması	46
2.2.8.	Fajların Çoğaltılması, Safaştırılması ve Stoklanması	47
3.	BULGULAR.....	49
4.	TARTIŞMA ve SONUÇLAR	64
5.	ÖNERİLER.....	74
	KAYNAKLAR.....	75
	ÖZGEÇMİŞ	84

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Streptokokların koyun kanlı agar besiyerinde hemoliz çeşitleri	5
Şekil 2.	<i>Streptococcus pyogenes</i> 'ingram boyalı preparatlarının 100X büyütmedeki görünümleri	5
Şekil 3.	Streptokokların sıvı besiyerinde üremesi	6
Şekil 4.	Yutak iltihaplanması	16
Şekil 5.	Bakteriyofajların litik ve lizojenik yaşam döngüleri	25
Şekil 6.	T4 bakteriyofajının morfolojik yapısı.....	25
Şekil 7.	Bir bakteriyi enfekte etmek üzere ona bağlanmakta olan bakteriyofajların elektronik mikroskoptaki görünümü.....	27
Şekil 8.	Gram boyamada (100X) streptokokların zincir yapmış görüntüsü	39
Şekil 9.	Strep A testinin pozitif ve negatif olarak kitte görünümü.....	40
Şekil 10.	Mueller Hinton % 5 koyun kanlı Agar besiyerine ekilen boğaz sürüntü örneği	41
Şekil 11.	Mueller Hinton % 5 koyun kanlı agar besiyerinde <i>S. pyogenes</i> 'in B ve SXT antibiyotik disklerinin varlığındaki görünümü	42
Şekil 12.	<i>Streptococcus pyogenes</i> 'in pyr testiyle pozitifleşip pembe renge dönüşmesi.....	44
Şekil 13.	<i>Streptococcus pyogenes</i> 'in sıvı besiyerinde üreme görünümleri.....	45
Şekil 14.	<i>Streptococcus pyogenes</i> 'in Mit-C indüklemesiyle sıvı besiyerinde berraklaşma ve dipte oluşturduğu görüntüleri	46
Şekil 15.	Droplama yöntemi sonucu oluşan bakteriyofaj görüntüleri	47
Şekil 16.	Kitlesel üretimde <i>S. pyogenes</i> suşlarının Mit-C indüksiyonu sonucu oluşan lizis görüntüleri.	53
Şekil 17.	Droplama yöntemi sonucu oluşan bakteriyofaj görüntüleri	60

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Streptokokların klinik semptomlarına göre tarihsel sınıflandırılmaları	7
Tablo 2.	İnsanda Enfeksiyon oluşturan streptokok serogrupları ve temel özellikleri.....	11
Tablo 4.	Hastanede hekim tarafından ön tanı sonucu alınan örneklerin türe göre dağılımı	34
Tablo 5.	Basitrasin (B) ve SXT disklerinin yapmış olduğu duyarlı veya direnç durumuna göre değerlendirilimi.....	41
Tablo 6.	Alınan örnekler ve pozitif olarak kullanılan örneklerin dağılımı	49
Tablo 7.	Kit ve kültür pozitifliği gözlenen erkek örneklerin klinik tanısı ve yaş dağılımları	50
Tablo 8.	Kit ve kültür pozitifliği gözlenen kadın örneklerin klinik tanısı ve yaş dağılımları	51
Tablo 9.	Alınan örneklerin yaş aralığına ve kadın/erkek hasta oranlarına göre dağılımı	52
Tablo 10.	Faj indüksiyonu yapılan <i>S. pyogenes</i> suşlarının erken logaritmik üreme hızı ve liz olma özelliklerine göre gruplandırılması	52
Tablo 11.	<i>S. pyogenes</i> 'ın hızlı liz olma (faj indüksiyonu) özelliklerine göre dağılımı.....	53
Tablo 12.	Bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite gözlen <i>S. pyogenes</i> suşları ve konakları	54
Tablo 13.	Bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite gözlen <i>S. pyogenes</i> suşları ve konakları	55
Tablo 14.	Bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite gözlen <i>S. pyogenes</i> suşları ve konakları	56
Tablo 15.	Bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite gözlen <i>S. pyogenes</i> suşları ve konakları	57
Tablo 16.	Bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite gözlen <i>S. pyogenes</i> suşları ve konakları	58
Tablo 17.	Bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite gözlen <i>S. pyogenes</i> suşları ve konakları	59
Tablo 18.	Faj lizatlarının konak aralıkları ve oluşturdukları zon çaplarına göre dağılımı	61
Tablo 19.	Faj lizatlarının konak aralıkları ve oluşturdukları zon çaplarına göre dağılımı	62

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

° C	Santigrat Derece
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
BHI	Brain Heart Infusion
cm	Santimetre
CO ₂	Karbondiyoksit
dH ₂ O	Distile Su
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
CaCl ₂	Kalsiyum Klorür
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
g	Gram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
pH	Hidrojen İyon Konsantrasyonu
RNA	Ribonükleik Asit
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
vd.	Ve diğerleri
vb	Ve benzeri
AER	Akut Eklem Romatizması
AGBHS	A grubu Beta hemolitik Streptokok
ASO	Anti-Streptolizin O
SO	Streptolizin O
SS	Streptolizin S
PYR	Pyrolidonyl-Beta Naphilamide
O	Optokin
ARF	Akut Romatizmal Ateş Kaynaklı Artritten
ARA	Romatizmal Ateş
AGN	Akut Glomerülonefrit
PSRA	Poststreptokokkal Reaktif Artrit
RTEÜ	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi

CAMP	Christie, Atkins, Munch-Peterson Faktörü
CRP	C-Reaktif Protein
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DNaz	Deoksiribonükleaz
DPNaz	Difosfopiridin Nükleotidaz
LTA	Lipoteikoik Asit
NADaz	Nikotinamid Adenin Dinükleotidaz
PCR	Polimerase Chain Reaction
RNaz	Ribonükleaz
SXT	Trimetoprim / Sulfametoksazol
B	Basitrasin
TSST	Toksik Şok Sendromu Toksin
AGBHS	A grubu Beta Hemolitik Streptokok
GAS	Grup A Streptokok
UV	Ultraviyole
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
BK	Boğaz Kültürü
MIK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NaCl	Sodyum Klorür

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Streptokoklar, doğada yaygın olarak bulunan gram pozitif (+), zincir oluşturan kok morfolojisindeki bakterilerdir. Streptokokların çeşitli grupları, türleri ve tipleri bulunmakta olup, bazı türleri insanlarda başta üst solunum yolu enfeksiyonları olmak üzere ciddi hastalık etkeni olabilen mikroorganizmalardır. Yaşamın en az bir evresinde özellikle de çocukların streptokoklar tarafından oluşturulan herhangi bir enfeksiyon geçirmeden on yaşına gelmesinin çok mümkün olmadığı bilinmektedir. Daha çok çocuklarda görülen enfeksiyonlar gerek akut devrede ortaya çıkan problemlerin sıklığı, gerekse sonradan oluşan akut glomerulonefrit, romatizmal ateş gibi poststreptokoksik komplikasyonların oluşumunda yer alan önemli bir mikroorganizma grubudur (Jaklik vd., 1984; Konneman vd., 2002).

İnsanda normal flora emanları olarak (ağız, burun, boğaz, deri, sindirim ve genital sistem) bulunan streptokok türlerin yanı sıra, streptokok farenjit, bakteriyel endokardit, impetigo, idrar yolu enfeksiyonları, akut romatoid ateş, romatoid kalp hastalığı ve akut glomerulonefritis gibi çok ciddi postenfeksiyöz sendromlara yol açan patojen türleri içermektedir (Ustaçelebi, 1999).

Streptokok grupları içinde en toksik komplikasyonlara neden olan A grubu beta hemolitik streptokok (AGBHS) olan *Streptococcus pyogenes*, başlıca deri, solunum yolu ve dolaşım sistemi enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Oppegaard vd., 2015).

Hastalıktan korunmada erken tanı, tedavi ve koruyucu önlemlerin alınması, AGBHS enfeksiyonlarının azalmasına, romatizmal ateş ve akut glomerulonefrit gibi poststreptokoksik hastalıkların önlenmesinde önemli olduğu bilinmektedir (Jaklik vd., 1984).

Bu çalışmada; Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi (RTEÜ) Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na rutin değerlendirme kapsamında gelen tonsillit, farenjit vb. hastalık etkeni olan boğaz sürüntü örnekleri, yara, abse,

doku, idrar, kulak akıntısı sürüntü örneği, eklem ve plevral sıvı (sadece *S. pyogenes* üremiş olan) örnekleri materyal olarak kullanıldı. Klinikte doğru tanı için altın standart olarak kabul edilen kültür ve hızlı antijen testi (Strep A) birlikte yapılarak A grubu beta hemolitik streptokokların (AGBHS) iki farklı metodun karşılaştırılması, metodlar arasındaki korelasyonun belirlenmesi ve izole edilen suşların stoklanması hedeflendi.

Çalışmanın ikinci hedefi ise izole edilen suşların bakteriyofaj içeriği ve konak genişliğinin belirlenmesidir. Bu amaçla A grubu beta hemolitik streptokokların bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite içeriği indüksiyon ve damlatma teknikleri kullanılarak bakteriyofaj içeriği ve konak genişliği belirlendi.

Tonsillofaranjitin başlıca etkeni olan *S. pyogenes* suşlarının bakteriyofaj taşıyıcılığının belirlenmesi faj tedavisi için alt yapı oluşturulması açısından önemlidir. Çalışma bu yönüyle A Grubu Beta Hemolitik Streptokokal hastalık etkeni bakteriler olan *S. pyogenes* suşlarında faj taraması açısından ülkemizde yapılan ilk çalışmadır.

Hızlı Strep A Testi ile boğaz kültürünün birlikte yapılması, tanının doğru konmasına, tedavinin etkin ve zamanında yapılmasına, doğru ilacın kullanılmasına öncülük edecektir. Ayrıca yanlış antibiyotik kullanımını engellemek buna bağlı olarak ilaç direnci gelişiminin önlenmesi sağlanmış olacaktır. Hastanın uygun ve zamanında tedavi edilmesiyle iş gücü kaybının önlenmesi, gereksiz ilaç sarfiyatının önüne geçilmesi, enfeksiyonun tedavisiyle daha ciddi enfeksiyonların gelişimi engellenmiş olacağı düşünülmektedir.

1.2. Streptokokların Genel Özellikleri ve Tarihçesi

Streptokoklar Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'e göre Deinococcaceae familyası içinde yer alan, familyada *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Sarcina*, *Leuconostoc*, *Deinococcus*, *Peptococcus*, *Gemella* *Ruminococcus*, ve *Peptostreptococcus* gibi diğer cinslerde yer almaktadır.

İnsan ve hayvanlarda lokal veya genel birçok hastalığın etkeni olan streptokoklar, onların mukoz membranlarında normal flora elemanı olarak yaşayabilen

bakteri grubudur (Procop vd., 2017). İlk kez 1874 yılında Billroth yara ve erizipel lezyonlarının pürülan eksudalarında zincir yaparak üreyen kokları tanımlamış ve *Streptococcus* olarak isimlendirmiştir. Pasteur tarafından aynı bakteri 1879 ‘da püerperal sepsisli bir hastanın kanından elde edilmiştir. 1881’de kızıl hastalığına yakalanmış olan bir hastanın boğaz kültüründen de benzer bakteri elde edilmiş ve Ogston tarafından cerahat etkeni olarak bildirilmiştir. Roch ise aynı yılda erizipel lezyonlarında *Streptococci* adı verilen bu bakterilerin daima bulunduğunu açıklamıştır. 1882-1883’de Fehleisen bu bakterilerin saf kültürünü elde ederek, gönüllülerde erizipel oluşturmuştur. 1884’de Rosenbach bu bakterileri “*Streptococcus pyogenes*” olarak isimlendirmiştir. 1919’da Brown, streptokokları kanlı agarda yapmış oldukları hemoliz aktivitelerine göre alfa (α), beta (β) ve gama (γ) hemolitik gruplara ayırmıştır. 1924 yılında Dick kızıl hastalığı etkeninin, hemolitik streptokok olduğunu bildirmiştir. Rebecca Lancefield presipitasyon, Griffith aglütinasyon yöntemleriyle streptokokların immünolojisini araştırmış ve 1933’de Lancefield patojen olan streptokokları, hücre duvarında bulunan karbonhidrat antijenlerine göre, çeşitli serolojik gruplara ayırmıştır (Ustaçelebi, 1999).

Streptokoklar, gram pozitif (+), katalaz ve oksidaz negatif (-), yuvarlak veya oval yapılı, 2 μm ’den daha küçük, sporsuz, hareketsiz, sıvı besiyerlerinde üretildiklerinde zincir oluşturmuş gibi peş peşe dizilen, pH 7,2-7,4 aralığında üremeyi seven, optimum üreme ısısı 35-37 °C (mezofilik) olan, hem aerobik hem de anaerobik (fakültatif anaerobik) koşullarda üreyebilen mikroorganizmalardır (Procop vd., 2017).

Normal atmosferik ortamda üreyebilmelerine rağmen, çoğu türün üremesi için % 5 CO₂ tarafından uyarılır. Şuşların büyük çoğunluğu aerop veya fakültatif anaerop iken bir kısmı (*peptostreptococcus*) zorunlu anaeroptur. Termofilik olan D grubu streptokoklar ise 15-45 °C ‘de ürerler. Enterekoklar % 6.5 NaCl ve % 0.1 metilen mavisi bulunan ortamlarda da çoğalırlar.

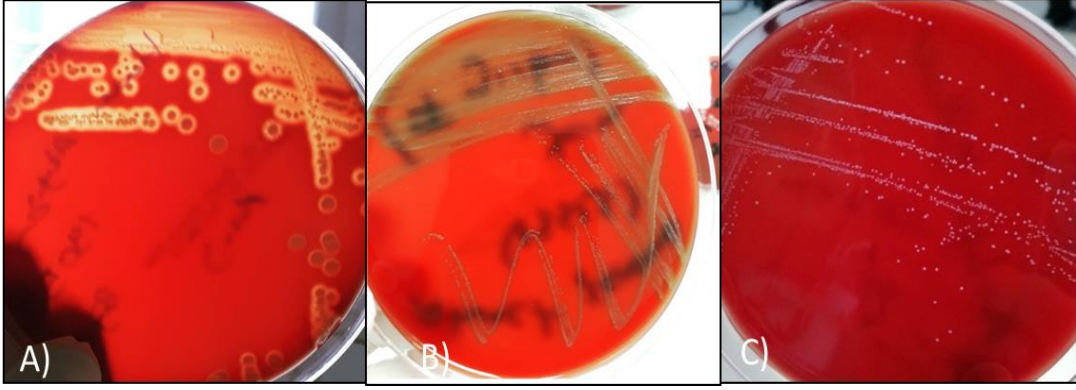
Streptokoklar daha belirgin hemolitik aktiviteyi % 10 CO₂’li ortamda inkübasyon sonucu gösterirler. Streptokoklar, *Streptococcus pneumoniae* gibi laktik asit bakterileri olup glukozu parçalayarak, laktik asit üretirler (URL-2; Ustaçelebi, 1999).

Streptokoklar rutin besiyerlerinde üreyebilmelerine rağmen kan, beyin veya kalp infüzyon, serum, plazma veya glukozla zenginleştirilmiş ortamlarda daha iyi ürerler. Genel olarak kültürlerde % 5-7 koyun ya da at kanlı agar kullanılmaktadır. Her iki besiyerinde de iyi hemoliz (alfa, beta ve gamma hemolitik) yaparlar. Katı besiyerinde yavaş gelişmekte olup bulundukları döneme göre değişik özellikte mukoid, mat veya parlak koloniler oluştururlar. Geniş kapsüllü streptokok kolonilerinin petride görünüşleri, sümüksü (M koloni) şeklinde olup, fazla miktarda bulunan hyalüronik asit koloniye parlak, su damlası gibi bir görünüm kazandırır. Bu safhadaki koloniler buyunu homojen olarak bulandırır. M ile S tipi koloniler arasında bir dönem olan mat koloni görünümü ise kolonilerinin kenarları çok ince granillü olur ve buyonda tanecikli üreme gösterir. Ayrıca bunlar düz ve daha kaba kolonilerdir. S kolonileri küçük, yarı saydam, konveks ve ortası tanecikli, parlak şebnem tanesine benzer kolonilerdir. Uzun zincirli polimor R kolonileri, buyyonda büyük yığınlar halinde ürerler (Ustaçelebi, 1999).

Streptokoklardan tıbbi önemi olan enterekok ve aerokoklar, homofermantatif özellik gösterirler (Procop vd., 2017). Genelde kapsülsüz olan streptokoklar, dokularda ve kan serumu ile zenginleştirilmiş besiyerlerinde üreyebildiklerinde belirgin bir kapsül oluşumu saptanabilmektedir. Kan veya serumla zenginleştirilmiş agarda kültürü edilen streptokokların çapları 1 mm' ye kadar ulaşabilen küçük, parlak, şeffaf, ve hemolitik (alfa, beta veya gamma hemolitik) koloniler oluştururlar (Şekil 1).

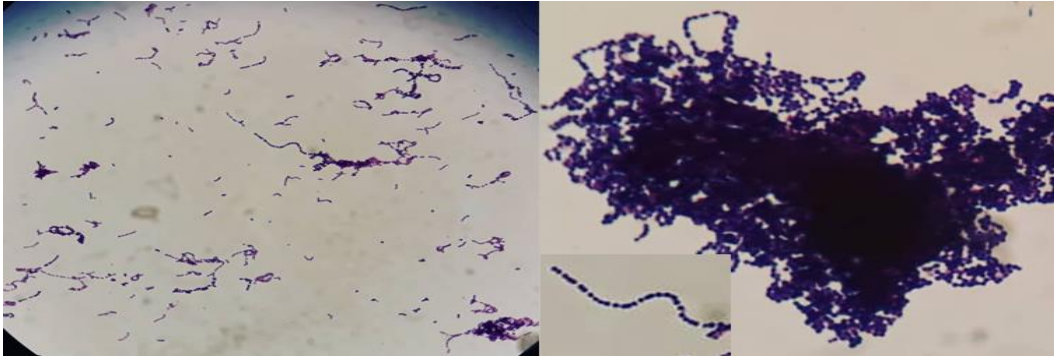
Tiyoglikolat sıvı besiyeri ortamında kültür edildikten sonra gram boyandığında zincir hücre dizilimi en iyi şekilde gözlenir. Streptokokların yüzey protein antijenleri, lipoproteinler, teikoik asit ve çeşitli karbonhidratların gömülü olduğu esas peptidoglikandan oluşan hücre duvarı kompozisyonu, diğer gram pozitif bakterilere benzerdir (Procop vd., 2017).

Streptococcus pyogenes (grup A), *Streptococcus agalactiae* (grup B) ve *Enterococcus* (grup D) gruplarının birbiriden ayrımları kanlı agarda hemoliz yapma özellikleri, koloni şekilleri, antijenik ve biyokimyasal özelliklerine göre yapılmaktadır. Diğer bir grubu olan *Streptococcus pneumoniae* ise kapsül polisakkaridi antijenik bileşimine göre serolojik olarak tiplendirilmektedir (Ustaçelebi, 1999).



Şekil 1. Streptokokların koyun kanlı agar besiyerinde hemoliz çeşitleri A; Beta hemoliz, B; Alfa hemoliz, C; Gama hemoliz.

Streptokoklar tek tek kokların veya yanyana gelen diplokokların, tek bir hat boyu bölündüklerinden ve bölünen koklar birbirlerinden ayrılmadıklarından, morfolojik olarak yapmış oldukları kısa veya uzun zincirler şeklinde gözlenirler (Şekil 2). Genellikle 2-12 veya daha fazla koktan oluşmuş zincirler yaparlar. Koklar yuvarlak, sferik, bazen oval (0.6- 1 mm) çapındadırlar (Ustaçelebi, 1999). Bakterilerin zincir uzunluğunu besiyeri bileşiminin düzensizliği, antibiyotik varlığı veya yokluğu, soğuk veya sıcak ortam gibi kültürel koşullar etkilemektedir. Özgül antikorlar zincir oluşumunu hızlandırmak için hücrelerin birbirlerinden ayrılmasını sağlayan enzimleri inhibe ederek uzun zincirler oluşturmaktadır (URL-2).

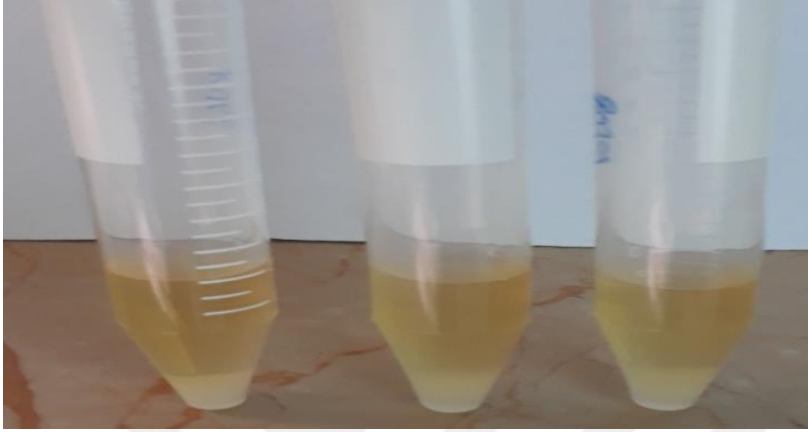


Şekil 2. *Streptococcus pyogenes*'ingram boyalı preparatlarının 100X büyütmedeki görünimleri.

Streptokoklar sıvı besiyerine ekildiklerinde zincirler dipte ekmek kırıntısı şeklinde tortu oluştururken üst sıvı kısım berraktır (Şekil 3).

S. faecium gibi bazı türler dışındaki streptokoklar hareketsizdir (URL-2; Ustaçelebi, 1999).

Hiyolüronik asitten oluşan ve özellikle A gurubu streptokoklarda bulunan kapsül, mikroorganizma, organizmadan yeni ayrıldığında ve zengin besiyerlerinde bulunduğu anda açığa çıkar. Üretilme sırasında kapsül görülmez ve besiyeri içerisinde hiyolüronik asit maddesi dağılmış halde bulunur (Procop vd., 2017).



Şekil 3. Streptokokların sıvı besiyerinde üremesi.

1.3. Streptokoklarda Sınıflandırma

Streptokoklar; Kanlı agar da hemoliz yapma özelliğine ve koloni morfolojisine (düzgün (S), pürüzlü yüzeyli (R) ve mukoid (M)), biyokimyasal özelliklerine, immünolojik özelliklerine ve ekolojik davranışlarına göre sınıflandırılabilir.

Lancefield (1933) Streptokokları, C polisakkarit antijeni yapısına göre yapılan sınıflandırmalar ile A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V serolojik gruplara ayırmıştır. İnsanda en sık rastlanan A, B, C ve G grupları beta hemoliz, D grubu nonhemoliz ya da gama hemoliz yapan streptokoklardır. Ayrıca *S. pyogenes*'de bulunan M, T ve R yüzey antijenlerine göre de streptokoklar serotiplere ayrılmıştır.

Brown streptokokları kanlı agar besiyerine yapmış olduğu hemoliz özelliğine göre alfa, beta veya gama streptokoklar şeklinde sınıflandırmıştır (Ustaçelebi, 1999; URL-2).

Beta Hemolitik Streptokoklar ; Kanlı agar da 37 °C'de 10-24 saat inkubasyon sonunda oluşan küçük koloniler etrafında dar, şeffaf ve tam olan bir hemoliz

meydana gelir. Mikroskop altında incelendiğinde bu alanda eritrositler görülmez. *S. pyogenes*, *S. equi* ve *S. agalactiae* bu grupta yer almaktadır.

Alfa hemoliz veya Viridans Streptokoklar ; Kanlı agarda 18-24 saatlik inkübasyon sonucunda kültürde üreyen koloniler etrafında, yeşilimsi renkli, kolayca gözlenebilen bir hemolizin varlığı gözlenir. Mikroskop altında incelendiğinde eritrositlerin bozulmadığı görülmektedir. *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *S. salivarius*, *S. bovis* ve *S. equinum* bu grupta yer almaktadır.

Gama Gama ve Hemolitik Olmayan Streptokoklar ; Kanlı agarda 18-24 saatlik inkübasyon sonunda kültürü edilen mikroorganizmaların koloni etrafında herhangi bir hemolizlik görülmez. *S. fecalis* ve *S. fecum* bu gruptadır (URL-2).

Sherman tarafından streptokoklar, biyokimyasal yapılarına, üreme özelliğine, hemoliz özelliğine, bulundukları yerlere ve antijenik yapılarına göre streptokokları Piyojenik, Viridans, Laktik ve Enterokoklar olarak sınıflandırmıştır (Tablo 1). Günümüzde *S. pyogenes*; A grubu, beta hemolitik ve piyojenik streptokok olarak adlandırılır.

Tablo 1. Streptokokların klinik semptomlarına göre tarihsel sınıflandırılmaları.

Sherman 1937	Jones 1978	Bridge ve Sneath 1983	Bergey's 1986	Schleifer ve KilpperBalz 1987
Piyojenik	Piyojenik Pneumococci	Piyojenik, Parapiyojenik Pneumococcal	Piyojenik	Piyojenik <i>S. oralis</i> grup (<i>S. miilleri</i> 'de dahil)
Viridans	Oral Diğer streptokoklar Anaerobik Strep.	Viridans, Paraviridans Termofilik	Oral Diğer türler ve Anaerobik strep.	<i>S. mutans</i> grup Diğer streptokoklar, Streptokok olmayanlar
Enterokoklar	Fekal	Enterokokal	Enterokok	Enterokok (ayrı bir grup)
Laktik	Laktik	Laktik	Laktik asit kokları	<i>Lactococcus</i> (ayrı bir grup)

1.4. Streptokoklarda Dirençlilik

Streptokoklar genellikle ısıya dayanıklı olmayıp 56 °C’de 30 dakikada ölürler. Antiseptik ve dezenfektanlara karşı duyarlı olup, özellikle cerahatlı ve proteini bol ortamlarda kurumuş halde uzun bir süre canlılıklarını koruyabilmektedirler.

Streptokoklarda suşlara göre direnç farklılıkları görülür. Patojen bakteriler arasında antibiyotiklere karşı en duyarlı olan mikroorganizmalar beta hemolitik streptokoklardır. Enterekoklar ise termofilik olup çok yüksek ısıya bile dayanırlar. Özellikle enterekoklar, H grubu streptokoklar ve *S. viridans* daha dirençlidir (Ustaçelebi, 1999).

1.5. Streptokoklarda Antijenik Yapılar

Streptokokların oldukça kompleks yapıda olan antijenik yapıları bulunmaktadır. Karbonhidrat ve protein yapısında olan antijenlerin yanında, bazı streptokoklarda hiyalüronik asit yapısında bulunan kapsül antijeni de vardır. Fagositozu önleyip, virulans artırıcı etki gösterebilen kapsül N-asetil-D glukozamin-D-glikuronik asit ünitelerinden meydana gelmiştir (URL-2; Ustaçelebi, 1999).

Streptokoklarda bulunan hücre duvarı M, T, R protein antijenlerini, gruba özgül karbonhidratları ve peptidoglikanı kapsamaktadır. Kapsülden lipoteikoik asit ve tip spesifik M proteini taşıyan pilin proteinleri (Fimbria) bulunmaktadır. Bunlar streptokokların epitel hücrelerine tutunmalarını kolaylaştırmaktadırlar. Hücre duvarından (sulandırılmış hidroklorik asit ve nitrik asit, formamide veya pepsin-tripsin gibi litik enzimlerle işleminden sonra otoklavda tutma gibi) çeşitli yöntemlerle ekstrakte edilebilen “C” karbonhidratı, 1933’de R. Lancefield tarafından bulunan gruba özel bir antijendir. C karbonhidratı viridans streptokokların dışında bütün streptokoklarda bulunur. Streptokoklarla bağışıklanmış tavşan serumlarıyla, presipitasyon tekniği kullanılarak, birbirinden farklı 20 kadar C karbonhidrat elde edilmiş ve C karbonhidratlardaki bu farklılıklara göre, streptokok grupları belirlenmiştir. Hücre duvarında bulunan karbonhidrat antijeni, mikroorganizmanın kuru ağırlığının % 10’unu ihtiva etmektedir.

A grubu, C Polisakkariti, L-ramnoz ve terminal N-asetil-glukosamin, B grubu ramnozglukosamin, C grubu ramnoz-N-asetil galaktosamin, D grubu gliserol teikotik asit, F grubu glukopiranosil-N-asetilgalaktosamin determinantların varlığı gözlenmiştir. Mol ağırlığı C karbonhidratının 8000-10000 dalton olup ramnoz/N-asetilglukosamin oranı, ortalama 2/1 kadardır.

Bu antijene karşı oluşan antikorlar, A grubu beta hemolitik streptokok enfeksiyonlarından hemen sonra saptanabilir ve uzun süre kalıcıdır (URL-2; Ustaçelebi, 1999)

Streptokokların hücre duvarında bulunan yüzey protein antijenleri M,T ve R proteinleri olup, bunlardan M proteini virulansla ilgili bir antijendir. Bu protein 3500 mol ağırlıklı, alkolde eriyen, tripsine duyarlı, ısı ve aside dayanıklı, fagositoza dirençli, izoelektrik noktası 5.3 olan bir protein olup, mat veya mükoid koloniler oluştururlar. Üst solunum yolu enfeksiyon etkeni olan A grubu streptokoklarda 80'in üzerinde tipi tanımlanmaktadır. M proteini Fimbria ile ilgilidir ve epitel hücrelerine aderansı sağlar. M proteini bulunmayan streptokokların fimriyası yoktur. Bunların M tiplendirimi ise tüpte presipitasyon ile tipe özgül antikorlar kullanılarak yapılabilmektedir.

T proteini ise proteolitik enzimlere (pepsin ve tripsin gibi) dayanıklı olup, asit ve ısıya duyarlı, alkolde erimeyen, virulans arttırıcı etkisi olmayan bir antijendir. T tiplendirimi lam aglütinasyonu ile yapılabilmektedir.

R proteini pepsinle harap edilebilmesine karşın tripsinle sindirilemezler. Tipe özel olmayan bu antijenin virulansla ilgisi olmayıp biyolojik önemleri anlaşılamamıştır.

Peptidoglikan: yan zincirleri L-alanin, D-glutamik asit, L-lisin, L-alanin ile bağlanmış olup, tekrarlayan, N-asetil-D-glukosamin ve N-Asetil-D-muramik asit ünitelerinden meydana gelmiştir. Bu yapı streptokoku çevreleyen rijid bir yapıdır ve farklı bir çok bakteri peptidoglikanına benzer olduğundan immünolojik kros reaksiyonlar için temel oluştururlar. Peptidoglikanların bakteriyofajlar için bir reseptör özelliği taşıdıkları ve mükopeptid oldukları bilinmektedir.

Gliserol teikoik asitler (lipoteik asit) : Streptokokların ağırlığının yaklaşık % 1'ini oluşturur. D ve N grubu streptokoklarda, gruba özel antijen görevi yaparlar. Mol ağırlığı 5000-10000 daltondur ve virulans faktörü olarak bilinmektedir.

Hücre membranı : Protein (% 72), lipid (% 25) ve glukoz (% 2) den ibarettir. Hücre membranı memeli miyokardium ve glomerul bazal membranı ile ortak antijenik determinantlara sahiptir. Romantizmal ateşli hastaların serumunda bulunan, kalp dokusu ile reaksiyon veren antikorlar, streptokok hücre membran antijeni ile absorbe edilebilmektedir (URL-2; Ustaçelebi, 1999).

1.6. Streptokokların Toksin ve Enzimleri

Streptokokların çok sayıda hemolizini (streptolizini), toksinleri ve enzimleri bulunmaktadır. A grupta yer alan streptokoklar O ve S olmak üzere iki farklı hemolizin üretirler. Streptolizin O (SO), lökositler, monositler ve eritrositler gibi bazı kan hücrelerine toksik etki olup kolesterol varlığında inhibe olur. Hemolizin O, oksijen varlığında inaktive olduğu için sadece anaerob ortamda üretilen bakterilerin hemolizini sorumludur. İnsanlar için immünojen olup anti-streptolizin antikorlarının (ASO) oluşumuna neden olur. İnsanda ASO titresinin yüksek bulunması yakın zamanda (3-4 hafta) geçirilmiş faringeal *S. pyogenes* enfeksiyonunun kanıtıdır.

Streptolizin S, oksijene dayanıklı olup, antijenik özelliği olmayan ve bir çok hücreye karşı toksik etki gösteren streptolizindir. Oksijene dayanıklı olduğundan, hem aerob hemde anaerob ortamda üreyen streptokokların yaptığı hemolizden sorumludur.

Enzimleri, fibrini ve trombüsü eriterek bakterinin vücutta hızla yayılmasına neden olan Streptokinaz, bağ dokusundaki hyalüronik asiti parçalayarak derin dokulara yayılımını sağlayan hyalürinidaz, ve apse içinde bulunan serbest DNA'yı depolimerize ederek absenin yapışkanlığının azalmasını ve streptokokların yayılmasını önleyen deoksiribonükleaz enzimleri en önemli olanlar arasında yer alır. Deoksiribonükleazın A, B, C ve D olmak üzere 4 tipi vardır. DNAaz B'ye karşı antikorların saptanması, ASO'nun saptanamadığı bazı deri enfeksiyonlarının tanısında yardımcı yöntemdir.

Bilinen en önemli streptokok toksini pirojenik ekzotoksindir (eritrojenik toksin) ve *S. pyogenes*'de 3 önemli tipi bulunur. Bunlardan en önemlisi ekzotoksin A'dır. Lizojenik bakteriofaj varlığına bağlı olarak bakteride toksin üretimi gözlenmektedir.

Pirojenik ekzotoksin A ; streptokoksik toksik şok sendromu ve kızıl döküntülerinden sorumlu olup, yüksek ateş oluşumuna neden olur. Bu toksin, aşırı T hücre yanıtını indükleyen bir süper antijendir. Toksine karşı güçlü bir antikor yanıtı gelişir. Bu durumda streptokoksik enfeksiyon geçirilmesine karşı kızıl tablosu oluşmaz. A grubunda bulunan diğer önemli enzimler ; Streptokinaz (fibrinolizin) ve DNaz (streptodornaz) dır (URL-2; Ustaçelebi, 1999).

1.7. Streptokokların Laboratuvarında Tanısı

Streptokok gruplarını ayırt edebilmek için geleneksel yöntemler ve hızlı tanı testleri kullanılmaktadır.

Geleneksel Yöntemler : Bu yöntemler biyokimyasal testlere dayalı olup grupların bu testlere göre ayrımı Tablo 2'de verilmiştir. A grubunu diğer streptokoklardan ayıran en önemli test basitrasin'e duyarlı ve SXT disklerine dirençliği olarak bildirilmektedir (URL-2).

Tablo 2. İnsanda Enfeksiyon oluşturan streptokok serogrupları ve temel özellikleri.

Özellikler	<i>S. pyogenes</i> A grup	<i>S. agalactiae</i> B grup	<i>Enterokok</i> (D)	Diğer D Grubu	<i>Viridans</i> Oral Str.	Pnömonokok	Diğer Hem. Srep.
Hemoliz	B	β	α, β, γ	α, γ	α, γ	α	β
B duyarlılığı	+	-	-	-	-	+/-	-
SXT duyarlılığı	-	-	-	+	+	-	+
O duyarlılığı	-	-	-	-	-	+	-
CAMP deneyi	-	+	-	-	-	-	-
Hipurat hidrolizi	-	+	-	-	-	-	-
PYR hidrolizi	+	-	+	-	-	-	-
Eskulin hidrolizi	-	-	+	+	-	-	-
Safrada (%40) üreme	-	-	+	+	-	-	-
% 6.5 NaCl de üreme	-	+	+	-	-	-	-
Safrada Erime	-	-	-	-	-	+	-

B; Basitrasin (0.04 U/Disk), SXT; Sulfametaksazol+Trimetoprim, PYR; Pyrrolidonyl Arylamidase

Hızlı Tanı Testleri : Hızlı tanı testi veya Strep-A Testi olarak bilinir. Bu test üst solunum yolu enfeksiyon etkeni olarak bilinen A grubu beta hemolitik streptokokların (*S. pyogenes*) varlığını veya yokluğunu teğit etmek için kullanılmaktadır. Yapılan boğaz kültürünün doğru ancak geç sonuç vermesi alternatif olarak hızlı tanı testlerinin kullanılmasına sebep olmuştur.

S. pyogenes boğazın arka duvarını enfekte ederek “streptokoksik boğaza” neden olurlar ve böylece bu bölgenin en sık inflamasyonuna ve ağrısına (farenjit) sebep olurlar. Yapılan hızlı tanı testleri çok kısa sürede (10-20 dakikada) sonuç vermektedir. Yapılan testin pozitif (+) olması, streptokoksik boğaz enfeksiyonunun etkeni olan *S. pyogenes* bakterilerinin varlığını göstermiş olup ileri bir teste gerek yoktur, ancak yapılan test sonucu negatif ise kültürün kesin sonuç vermesinden dolayı boğaz kültürü ekimi yapılarak sonucun teyit edilmesi gerekmektedir.

Hızlı strep A testi, kullanılan antibiyotikler veya bazı ağız yıkama solusyonları ile yapılan gargaralar tarafından etkilenmektedir. Kültür ve hızlı tanı testi için hastanın 10-14 gün öncesi antibiyotik kullanmaması gerekmektedir (URL-3).

S. pyogenes tanısında ilave testlerde kullanılmaktadır. Bunlardan biri olan Direkt Swab Test, bir kültür yöntemi olmayıp doğrudan boğaz sürüntüsünde AGBHS antijenlerinin immünolojik olarak tespit edilmesi işlemidir. Sonuçları kültür sonuçları ile % 60-90 uyum gösteren bir test yöntemi olup bir saat içinde tanı alınabilir.

Tanıda önemli bir yere sahip olan serolojik testlerde kullanılmaktadır. Bunlardan en önemlisi Anti-Streptolizin O (ASO) testidir. Anti-Streptolizin O, gerçek streptokoksik enfeksiyonların belirlenmesinde önemli bir test olup, antikorları, nefelometrik yöntemle ve kantitatif olarak çalışmaktadır. Ancak enfeksiyonu takiben antikorların yaklaşık bir hafta sonra oluşmaya başladığı için romatizmal hastalıkların tanısında önemli bir yeri bulunmaktadır (URL-5).

C-Reaktif Protein(CRP), non-spesifik bir test olup, bakteriyel enfeksiyonlarda protein değerlerinin artmasına bağlı olarak streptokoksik enfeksiyonların teşhisi için yardımcı bir veri sağlar.

Nefelometrik yöntemle ve kantitatif olarak ölçümleri yapılmaktadır (URL-5).

1.8. Streptokok Türleri ve Yaptıkları Hastalıklar

1.8.1. A Grubu Streptokok, *Streptococcus Pyogenes*

Grup A beta hemolitik streptokoklar veya diğer adıyla *Streptococcus pyogenes* insanlarda en sık görülebilen bakteri olup basit enfeksiyondan ölümcül enfeksiyona doğru değişebilen geniş bir yelpazede hastalıktan sorumlu patojen olan mikroorganizmalardır (Kara vd., 2011). İlk olarak yara enfeksiyonu, erizipel ve puerperal sepsis etkeni olarak gösterilen bakteri, 1884 yılında Rosenbach tarafından *S. pyogenes* olarak adlandırılmıştır (Roos vd., 2004).

Hücrel yapı maddelerinde lipoteikoik asit, kapsül polisakkaridi, M proteini, streptolizin, streptokinaz, hyalüronidaz, nukleazlar, eritrojenik toksinler en sıklıkla rastlanılan maddeler olup, ayrıca streptokoklar proteinaz, fosfataz, esteraz, amilaz, N-asetil glukoz-aminidaz, lipoproteinaz, ribonükleaz, nöraminidaz, nükleotidaz, difosfopiridin esteraz gibi enzim özellikli maddeler de yaparlar (URL-2).

S. pyogenes, rezervuarı genellikle insan olmakla birlikte, tonsillofarenjitin en yaygın bakteriyel etkeni olup, ayrıca impetigo, otitis media, bakteriyemi, nekrotizan fasiit, sepsis ve toksik şok benzeri sendromlarda neden olmaktadır (Roos vd., 2004). Özellikle bakteriyel farenjit ve tonsillitin çocuklarda görülen en yaygın yaş aralığı 5-15 yaş aralığıdır. İnsanların normal flora içeren vücut bölgelerinde de belirti vermeden bulunabilmektedirler.

Streptococcus pyogenes'de bulunan M-proteini ve pirojenik toksinler en önemli virülans faktörleri olup, bu faktörler akut romatizmal ateş ve kızıl hastalığının patofizyolojisinde önemli rol oynarlar (URL-2).

1.8.2. B Grubu Streptokok (*Streptococcus agalactiae*)

Streptokokların genel özelliklerini taşımaktadırlar. Kanlı besiyerinde kültürü edildiklerinde kolonileri A grubu beta hemolitik streptokoklardan daha büyük olup, morumsu renktedir ve koloniler etrafında dar bir hemoliz gözlenmekte olup ancak % 5-15’inde hemoliz görülmeyebilir. B grubu streptokoklar yeni doğanlarda, pnömoni, sepsisemi, artrit, osteomyelit, ve menenjitte neden olurken, yetişkinlerde ise daha çok endometrit, pnömoni, sellülit, endokardit, septik artrit, piyelonefrit, ve menenjitten sorumlu olabilir. Vajina florada B grubu streptokok bulunan kadınların eşlerinin % 50’sinde üretrada görülür ve üretrit oluşabilir (URL-2).

1.8.3. C Grubu Streptokoklar

S. equi, *S. zooepidemicus*, *S. equisimilis*, beta hemoliz yapan türler ve *S. dysgalactiae* gibi alfa hemolizli veya nonhemoliz türleri içermektedir. Daha çok faranjit, pnömoni, menenjit, sepsisemi, tonsillit, osteomyelit, artrit, endokardit gibi hastalıkların etkeni olarak görülebirlirler (URL-2).

1.8.4. D Grubu Streptokoklar

Mikroskopik olarak ikişerli diplokoklar veya kısa zincirler şeklinde olabilir. *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus durans* ve *Enterococcus faecium* penisiline dirençli olup, alfa, beta ve gama hemolitik özellik gösterirler. *Streptococcus bovis* ve *Streptococcus equinus* enterokok olmayan D grubu streptokok türleri içerisinde yer almaktadır. D grubu streptokoklar ve enterokoklar insan ve bazı hayvanların bağırsak, ağız ve bazen deride normal flora elemanları olarak bulunurlar ve insanlarda endokardit, idrar yolları enfeksiyonları, apse, kolesistit gibi çeşitli hastalıklara neden olabirlirler (URL-2).

1.8.5. Viridans Streptokoklar

İnsanların normal ağız florasının % 30-60' ını oluşturan viridans grubu (oral) streptokoklar genel olarak , diş yüzeyi, diş kökü kanalı, dil, damak, diş eti aralıkları, ve farinks mukozalarında bulunurlar. Enfeksiyon etkeni olabilmeleri için, bulundukları yerden ayrılmalrı ve organizmanın direncinin kırılması gerekir. Kanlı agarda alfa hemolitik özellik gösterirler. Diş kökü enfeksiyonları, kronik akciğer, subakut bakteriyel endokardit, üriner enfeksiyonları, genital bölge, kolanjit, peritonit ve çeşitli abselerin etkeni olarak izole edilebilirler (URL-2).

1.8.6. Streptokokların Yaptığı Hastalıklar

Boğaz Enfeksiyonu : Vücudumuzun diğer bölgelerinde olduğu gibi, boğazımızda da normal boğaz florası adı verilen mikroorganizmalar yaşamakta olup bunlar normal şartlarda boğazda herhangi bir enfeksiyona sebep olmazlar. Boğazdaki enfeksiyonlarının yaklaşık % 80-85'i virüsler , % 10-20' si bakteriyel kaynaklıdır. Virüsler kültürde tesbit edilemezken, bakteriler ise kültürde üretilip çoğaltılarak tanımlanabilmekte (URL-1). *Haemophilus influenzae*, *Corynebacterium diphtheria*, *Mycoplasma pneumoniae*, vb. birçok bakteri boğaz flora enfeksiyon etkeni olarak bulunmakla birlikte, en önemli enfeksiyon etkeni A Grubu Beta Hemolitik Streptokok olduğu bilinmekte olup pek çok hastalığın etyopatolojisini oluşturmaktadırlar.

Grup A streptokok (AGBHS) tonsilofarenjitin önemli sebeplerinden biri olup her yaşta ortaya çıkar ve en sık okul çocuklarında görülür (URL-4). Hastalıkda ani başlayan ve yutkunmayla artan boğaz ağrısı, ateş, çene altı ve boyunda oluşan ağrılı şişlikler görülen en sık belirtiler olup bazı çocuklarda hafif ölçüde olabilir. Etkin tedavi edilmemiş beta enfeksiyonu hassasiyeti yüksek olan bazı çocuklarda akut romatizmal ateşe yol açabilmektedir (URL-6).

Tablo 3. Streptokokların Serogruplarına Göre İnsanlarda Oluşturduğu Hastalıklar.

Serogrup	Hemoliz	Oluşturduğu hastalıklar
A (<i>S. pyogenes</i>)	Beta	Farenjit (yutak iltihabı), Otitis media Tonsillit (bademcik iltihabı), (orta kulak iltihabı), İmpetigo, Erizipel, Sinüzit (sinüslerin iltihabı), Endometrit (rahim iç tabakasının iltihabı), Kızıl, Septisemi (kan zehirlenmesi), Romatizmal Ateş ve Streptokok Enfeksiyonu Sonrası Gelişen Reaktif Artrit,
B (<i>S. agalactiae</i>)	Beta	Koryoamniyonit, Neonatal sepsis (yenidoğan sepsisi), Puerperal sepsis (lohusa ateşi), Menenjit (beyin zarı iltihabı), Bakteriyemi
C grubu streptokoklar	Beta	Üst solunum yolu enfeksiyonları
D grubu streptokoklar	nonhem	Bakteriyemi (kanda bakteri bulunması)
Enterokoklar	nonhem ,alfa	Endokardit (kalbin iç zarının enfeksiyonu), Yara yeri enfeksiyonları
G grubu streptokoklar	Beta	Üriner sistem enfeksiyonları, Üst solunum yolu enfeksiyonları, Apse, Sellulitis
<i>S. pneumoniae</i>	Alfa	Pnömoni (zatürre), Otitis media (orta kulak iltihabı), Menenjit (beyin zarı iltihabı)
Viridans streptokoklar	alfa, monhem	Endokardit, Diş çürükleri, Bakteriyem

Farenjit (Yutak İltihabı) : Burun-ağız boşluklarının karşısındaki duvarın iltihaplanması olup boğazdaki ağrının sebebidir. Hastalığın ilk belirtileri olarak boğaz ağrısı ve ateş olup, 1-2 gün içerisinde yutkunma güçlüğü ve beslenme bozukluğu ile devam etmektedir. Hastada boğaz ağrısı ile birlikte özellikle çocuklarda karın ağrısı, bulantı ve kusma görülebilir. Ağız içine bakılınca bademcik ve boğaz üzerinde beyaz lekelenmeler, şişlik ve kızarıklık bazı durumlarda da bademciğin üzerini kaplayan beyaz-gri bir zar tabakası görülebilir (Şeki 4). Bununla birlikte hastanın boynunda ve çene altında ele gelen büyümüş lenf bezeleri (lenfadenopati) hissedilebilir. Boğaz ağrılarının nedeni genellikle enfeksiyona bağlı olup, bunun dışında allerjik (aşırı duyarlılık reaksiyonu), travmatik (zedelenmeye bağlı), neoplazmik (urlara bağlı) v.b. nedenlerle de meydana gelebilir (URL-7)

**Şekil 4. Yutak iltihaplanması (URL-7).**

Sağlıklı çocuklarda AGBHS taşıyıcılığı % 5-15 arasındadır. Farenjit salgınlarında okullarda boğaz kültürü streptokok prevalansı % 15-30'dur (Akçakaya, 2000).

Romatizmal Ateş ve Streptokok Enfeksiyonu Sonrası Gelişen Reaktif

Artrit : Boğaz enfeksiyonunun neden olduğu bir hastalık olan romatizmal ateş, streptokoklardan sadece AGBHS'ların neden olduğu bir hastalıktır. Farenjit (boğaz enfeksiyonu) geçiren her çocukta romatizmal ateş gelişmez. Hastalık bazı çocuklarda kalpte iltihaplanmaya ve hasara yol açabilir ; öncelikle eklemlerde başlayan ağrı ve şişkinlik olarak kendini gösterir ve daha sonra kardit (kalpte iltihaplanma) veya beyinde iltihaplanma dolayısıyla gelişen kore denilen normal istem dışı hareket bozukluğuna neden olur. Buna ilave olarak deride döküntü ve nodüllerde görülebilir. Eklemleri etkilemesinden dolayı çocuk ve ergenlerin romatizmal hastalıkları arasında sayılmaktadır. Antibiyotiklerle tedavi edilmemiş streptokoka bağlı farenjit veya tonsilitin ardından gelişir.

Kalp iltihabı anlamına gelen kardit, hastalığın kendini gösterebileceği en ciddi halidir. Dinlenirken ya da uykuda kalp atımlarının hızlanması, romatizmal kardit şüphesini uyandırabilir. Kalp muayenesinde anormal bulgular ve üfürüm, kalbin etkilendiğine dair başlıca göstergedir. Şiddetli üfürüm, kalp kapaklarının iltihabına (endokardit) işaret edebilir. Kalbi çevreleyen zarda iltihap (perikardit) varsa, kalbin çevresinde sıvı birikir ancak bu durum genellikle yakınmaya neden olmaz ve kendi kendine düzelir. Miyokarditin en ciddi vakalarında, kalbin kasılması bozulur ve kalp güçsüzleşir. Öksürük, göğüs ağrısı, nabızda ve solunumda artış ile kendini belli eder. Romatizmal kalp kapak hastalığı, romatizmal ateşin ilk atağının sonucu olabilir ama genellikle tekrarlayan ateşlerin sonucudur ve erişkinliğin ilerleyen dönemlerinde sorun haline gelebilir, dolayısıyla önlenmesi gerekli bir enfeksiyondur.

Kore, beyinde hareketlerin koordinasyonunu kontrol eden kısımların iltihaplanmasından oluşur. Artrit ve karditten farkı, hastalığın ilerleyen evrelerinde, boğaz enfeksiyonundan 1 ile 6 ay sonra ortaya çıkar.

Erken belirtileri, istemsiz titreme yüzünden okul çağındaki hastaların el yazılarındaki bozulma, giyinme ve kendi ihtiyaçlarını karşılamada, hatta yürüme ve beslenmede problemler olarak sayılabilir.

Deri döküntüleri, romatizmal ateşin daha az yaygın bulguları arasındadır. "Eritema marjinalis", kırmızı halkalar olarak görünürken, "deri altı nodülleri" ise genellikle eklemler üzerindeki normal derinin altında ağrısız, hareketli tahıl tanesi büyüklüğünde sertliklerdir.

Çocuklarda ve genç yetişkinlerde streptokoka bağlı artrit vakaları tanımlanmıştır. Buna genelde "reaktif artrit" veya "streptokok enfeksiyonu sonrası gelişen reaktif artrit" (PSRA) adı verilir. Genellikle boğaz enfeksiyonundan 10 gün sonra gelişir. Başlıca büyük eklemleri etkileyen akut romatizmal ateş kaynaklı artrit (ARF) farklıdır. PSRA'da büyük ve küçük eklemler ile eksenel iskelet etkilenir. Genellikle ARF'den uzun sürer yaklaşık 2 ay, bazen daha uzun sürebilmektedir. Hafif ateş ve iltihabı gösteren anormal laboratuvar testi sonuçları (C-reaktif protein ve/veya eritrosit sedimentasyon hızı) bulunmaktadır. İltihap belirteçleri ARF'de olduğundan daha düşüktür. PSRA tanısı, yakın zamanda geçirilmiş streptokok enfeksiyona dair kanıt bulunan artrit; streptokok antikoru testlerinden alınan anormal sonuçlar (ASO, DNase B) ve "Jones kriterlerine" göre ARF'nin belirtilerinin yokluğuna dayanır. PSRA, ARF'den ayrı bir rahatsızlık olup kardit oluşumuna yol açmadığı bildirilmektedir (URL-2).

1.9. Bağışıklık

A grubu beta hemolitik streptokok enfeksiyonlarında sadece tipe karşı bir bağışıklık oluşur. Anti M antikorlarına dayanan bağışıklığın sonucunda hastalar enfekte oldukları A grubu streptokokun tipine karşı bağışık kazanırlar ancak, farklı tip bir streptokok ile tekrardan yeni bir enfeksiyon meydana gelebilir. Buna karşın kızıl hastalığında ; kızıl geçirildikten sonra eritrojenik toksine karşı oluşan antitoksinler hastalığı geçirenleri eritrojenik toksinin etkilerine karşı korur. Eritrojenik toksinli başka bir streptokok ile enfekte olsalar bile bu defa kızıl döküntüsü oluşamaz hastalık basit bir anjin şeklinde görülür (URL-2).

1.10. *Streptococcus pyogenes* İçin Antibiyotik Kullanımı ve Tedavisi

İnfeksiyonların tedavisinde genellikle ilk seçilen antibiyotik penisilindir. Penisiline allerjisi olan veya penisilin tedavisine cevap vermeyen hastalarda eritromisin veya diğerk makrolid türevleri kullanılır. Dünyada penisiline dirençli suş henüz saptanmamışken, eritromisine direnç coğrafi bölgelere göre farklı oranlarda bildirilmektedir. ilk dirençli suşlar 1959 yılında ingiltere’den bildirilmiş, daha sonra ülkemiz de dahil olmak üzere çeşitli yayınlar yapılmıştır (Lowbury ve Hurst, 1959).

Tedavide penisilin kullanılmasının sebebi ucuz ve güvenilir olmasıdır. Direnç artışı antibiyotiğın tüketim alışkanlığına paralel olarak gelişir, dolayısıyla çocuklarda en sık görülen farenjit tedavisinde makrolid (eritromisin) kullanılmasının önemli bir etkisi vardır (Green vd., 2004). *S. pyogenes*’de çeşitli eritromisin direnç fenotipleri ve bu fenotiplerin oluşmasına neden olan direnç genleri bildirilmektedir. Fenotip yaygınlığının bilinmesi epidemiyoloji ve tedavi açısından önemli olmaktadır.

1.11. Epidemiyoloji ve Korunma

Bakteriyel farenjit, tonsillit ve impetigonun en sık etkeni A grubu beta hemolitik streptokoklar olup, enfeksiyon genelde kış aylarında artmaktadır. Bulaş genelde solunum yolu ile olmaktadır. AGBHS’lara bağı nekrozitan fasiit ve toksik şok sendromu gibi ciddi enfeksiyonların 1980’lerden itibaren giderek arttığı bildirilmiştir. İnvaziv serotiplerin neden olduğu salgınlar da yine bu tarihlerden itibaren dünyanın tüm coğrafi bölgelerinden bildirilmiştir. AGBHS’ların neden olduğu romatizmal ateş (ARA), farenjit insidansının en yüksek olduğu 5-15 yaş arası çocuklarda görülür. Diğerk bir AGBHS enfeksiyonu olan akut glomerülo nefrit (AGN) ise sıklıkla deri enfeksiyonları sonrasında gelişir. Araştırmalar gösteriyor ki AGBHS’ların yayılma kaynağı insan olup özellikle üst solunum yolları hastaları ve belirti vermeden streptokokları bulunduran kişiler (taşıyıcılar) enfeksiyonun yayıcılarıdır. Koruyucu önlemlerin alınması, taşıyıcıların tedavi edilmesi, toplu yaşanan yerlerde taşıyıcılığın taranması, kişilerin belirlenmesi yada tedavi edilmesi, diğerklerinin gerekli hijyen koşullarına uymasının sağlanması gerekmektedir.

1.12. Bakteriyofajlar

Doğada en çok bulunabilen biyolojik topluluklardan birini temsil eden bakteriyofajlar, kendilerine özgü hedef bakteriyi enfekte edebilen bakteri virüsleri olarak tanımlanmaktadır (Ergin vd., 2017). Ökaryotları (hayvan, bitki ve mantarları) enfekte eden virüsler gibi bakteriyofajlarda da büyük bir yapısal ve işlevsel çeşitlilikleri vardır. Genel olarak proteinden oluşan bir kabuk ve içinde yer alan genetik materyalden oluşurlar. Genetik materyal DNA veya RNA olabilir, ama genelde 5-500 kilo baz çifti uzunluğunda çift sarmallı DNA'dan oluşurlar. Bakteriyofajlar 20-200 nm arası büyüklüğünde olan partiküllerden oluşur (URL-8). Bakteriyofajlar genellikle protein ve nükleik asitden oluştukları için toksik değildir. Bakterilerin oluşturduğu antibiyotiğe direnç mekanizması bakteriyofajların söz konusu bakteriye etki etmesini engelleyememektedir. Patojen bakterilere karşı etkili bakteriyofajın bulunması kolaydır (Harper vd., 2015; Ergin vd., 2017).

Kimyasal antibiyotiklerle kıyaslandığında patojenlere karşı bakteriyofaj uygulamasının birçok avantajı bulunmaktadır. Bakteriyofajlar yalnızca kendilerine özgü hedef bakteriyi enfekte edebilmekte ve antibiyotiklerin aksine doğal mikrobiyotayı oluşturan diğer organizmalara zarar vermemektedir. Antibiyotiklerin etkisi kullanıldıktan sonra azalmakta ancak bakteriyofajlar ortamdaki konakçı bakteriler ölene kadar çoğalmakta ve bakteriler öldüğünde inaktif hale gelerek kendi üremelerini (oto dozaj) kontrol etmektedir. Gıdalarda patojen bakterilerin kontrolünde antibakteriyel kimyasal ajanlar yerine bakteriyofaj kullanımı günümüzde önemle üzerinde durulan bir konudur (Harper vd., 2015; Pulit vd., 2015).

Bakteriyofajlar, 20. yüzyılın başlarında bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılmış ancak, penisilinin keşfi ve antibiyotik endüstrisinin gelişmesi, bakteriyofajların antibakteriyel ajan olarak kullanımının göz ardı edilmesine sebep olmuştur (Ergin vd., 2017). Hastane kökenli olan patojenler başta olmak üzere, mikroorganizmalarda görülen çoklu antibiyotik direnci insan sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Bilim insanları, artan antibiyotik direnci gelişimine radikal bir çözüm bulamazken, uygun klinik durumlarda tedavi alternatifleri arayışı hızla devam etmektedir. Bakteriyofaj (faj) terapisi 1920-1950 yılları arasında oldukça popüler

olmasına rağmen, çeşitli nedenlerle dünyanın büyük bir kısmında terk edilen ve bugün çoklu antibiyotik direncinin artmasıyla tekrar hatırlanan bir yöntem olarak alternatif terapilerin başında yer almaktadır (Gündoğdu ve Ulu-Kılıç, 2018).

Bugün, ESKAPE patojenler (*Enterococcus faecium*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter spp.*) başta olmak üzere, çoklu dirençli mikroorganizmalar için antibiyotik seçeneklerinin kısıtlı olması ve bu kısıtlı seçeneklere dahi hızla direnç gelişmesi faj terapisinin tekrar gündeme gelmesine neden olmuştur (Kutateladze ve Adamia, 2010).

Bakteriyofaj terapisi, en basit ifadeyle enfeksiyondan sorumlu bakteriye karşı tedavi amaçlı fajın uygulanmasıdır. Belirli dozdaki saflaştırılmış fajın hastaya verilmesinden sonra, fajın enfeksiyon etkeniyle antagonistik rekabete girmesi ve patojeni kısa sürede eradike etmesi, bakteriyofaj terapisinin temel prensibini oluşturmaktadır (Gündoğdu ve Ulu-Kılıç, 2018).

Fajlar doğada bakterilerle simbiyotik bir ilişki içerisinde yaygın olarak bulunurlar. Biyosferde yaklaşık olarak 1030–1032 faj partikülü bulunduğu, saniyede yaklaşık 1023 faj enfeksiyonu gerçekleştiği ve her 48 saatte dünyadaki bakterilerin yaklaşık yarısının fajlar tarafından yok edildiği öngörülmektedir (Kutateladze ve Adamia, 2010).

Fajların etkinliği çeşitli mikrobiyologlar tarafından farklı zamanlarda gözlemlenmiş olsa da, bunun bir fenomen olarak bildirilip hakkında ilk hipotezlerin ortaya atılması 20. yüzyılın başlarına denk gelmektedir. İngiliz bakteriyolog Ernest Hankin (1865-1939), ilk olarak 1896 yılında Hindistan'daki Ganj ve Yamuna nehirlerinin sularında *Vibrio cholerae*'ye karşı antibakteriyel etkinlik tespit etmiş ve buna porselen filtrelerden geçebilen henüz tanımlanamamış küçük yapıların sebep olduğunu, hatta bu fenomenin bölgedeki kolera salgınlarını önemli ölçüde engellediğini bildirmiştir (Hankin, 1896).

Benzer sonuçları farklı araştırmacılar da gözlemlemekle birlikte, İngiliz bakteriyolog Frederick Twort (1877-1950)'tan önce hiçbir bilim insanı bu fenomeni açıklayan bir görüş ortaya atmamıştır. Twort 1915 yılında antibakteriyel etkinliğin başka seçeneklerle birlikte virus kaynaklı olabileceğini iddia etmiştir (Twort, 1915).

Öte yandan aynı yıllarda Paris'te Pasteur Enstitüsü'nde benzer bulgular üzerinde çalışan Fransız Kanadalı bakteriyolog Felix d'Herelle (1873-1949) bu çalışmaları daha da ileri götürerek bakterileri infekte eden virüslara "bakteriyofaj" ismini vermiştir. Felix d'Herelle'in çalışmasının sonuçlarını 1917 yılında yayımlamasıyla bilim dünyasında yıllar sürecekt olan bir tartışma süreci başlamıştır. Bakteriyofajların infeksiyon hastalıkları tedavisinde kullanılması fikri ve bu konudaki ilk çalışmalar yine d'Herelle'e aittir. Bakteri-bakteriyofaj ilişkisini gözlemlemiş olan d'Herelle, infeksiyon etkeninin hastaya verilen zenginleştirilmiş faj solüsyonlarıyla eradike edilebileceğini göstermiş ve fajların tedavide kullanılmasını sağlamıştır.

Fransa'da dizanteri vakaları üzerinde yapılan denemelerde tek faj uygulamasıyla ağır hastalardaki semptomların birkaç gün içerisinde hatta bazı vakalarda 24 saat içerisinde ortadan kalktığı bildirilmiştir (Summers ve d'Herelle, 1999).

Streptokoksik pyodermiler gibi enfeksiyonlarda da benzer başarılı sonuçların alınmasıyla faj terapisinin altın dönemi başlamıştır. d'Herelle Hindistan'da kolera ve bubonik veba gibi büyük salgınların önlenmesinde ve tedavisinde faj temelli geniş çaplı çalışmalar yürütmüştür. O dönemlerde bakteriyofajların hem kişisel dozajlı tedavi amaçlı kullanımı hem de yerel su kaynaklarına profilaktik olarak uygulanması birçok yerleşim biriminde salgınların 48 saat içerisinde kontrol altına alınmasını sağlamıştır (Fruciano ve Bourne, 2007).

Bu çalışmaların ardından dünyanın pek çok bölgesinde farklı araştırmacılar tarafından faj çalışmaları terapi uygulamaları başlamıştır. Brezilya'da dizanteri tedavisinde, Afrika ülkelerinde (Senegal ve Mısır gibi) yine dizanteri ve veba tedavisinde, İngiltere, İtalya ve Yunanistan'da tifo ve paratifo tedavisinde faj kullanımı erken dönemdeki önemli terapi çalışmaları olarak öne çıkmaktadır.

Erken dönemde elde edilen bu başarılı sonuçların etkisiyle faj terapisi ticari bir boyut kazanmış ve endüstriyel boyutta bakteriyofaj üretimi başlamıştır. Başta d'Herelle'in Paris'te bulunan ticari laboratuvarı olmak üzere yine d'Herelle'in desteğiyle 1923'te kurulan Gürcistan'daki Eliava Enstitüsü ve daha sonra 1952 yılında Polonya'da faaliyete başlayan Hirszfild Enstitüsü faj kokteylleri üreten başlıca merkezler olmuştur. Bu kurumlar içerisinde halen etkin olarak çalışmalarını sürdüren Eliava Enstitüsü'nün en aktif olduğu dönemlerde günde tonlarca ağırlıkta faj üretimi yaptığı ve dönemin Sovyetler Birliği ordusunun düzenli olarak profilaktik amaçlı faj kullandığı belirtilmektedir (Sulakvelidze vd., 2001).

Eliava Enstitüsü'nün aktif ve başarılı bir şekilde faj üretmesi İkinci Dünya Savaşı sırasında (hem Sovyetler Birliği hem de Almanya'nın tedavide faj kullanması sebebiyle) Nazi Almanya'sının Gürcistan'ı işgal etme sebepleri arasında sayılmaktadır.

Yine aynı dönemde Amerika Birleşik Devletleri'nde Stanford Üniversitesi ve Michigan Halk Sağlığı Laboratuvarı, faj preparasyonları hazırlayarak sağlık merkezlerine dağıtımını gerçekleştirmiştir (Summers, 2001).

Penisilinin keşfedilip tedavide kullanılmaya başlandığı Londra St. Mary Hastanesi'ndeki ilk penisilin çalışmaları da penisiline dirençli bakterilerin oluşmaması amacıyla faj destekli olarak yürütülmüştür (Himmelweit, 1945).

Özetle, 1920-1950 yılları arasında bakteriyofaj terapisi mikrobiyolojik paradigmaya dönüşmüş ve infeksiyon hastalıklarının tedavisinde genel kabul gören bir yöntem haline gelmiştir. Fakat bütün bu olumlu gelişmelere rağmen antibiyotiklerin keşfi, faj biyolojisi/faj üretim tekniklerinin iyi anlaşılamaması sebebiyle çelişkili sonuçların yayımlanması, "bakteriyofaj fenomeninin" tam olarak açıklanamaması ve terapinin etkinliğini ortaya koyacak kontrollü klinik çalışma tasarımlarının bulunmaması gibi nedenlerle faj terapisine olan ilgi zamanla azalmış ve unutulmuş bir şekilde tarihe geçmiştir (Gündoğdu ve Ulu-Kılıç, 2018).

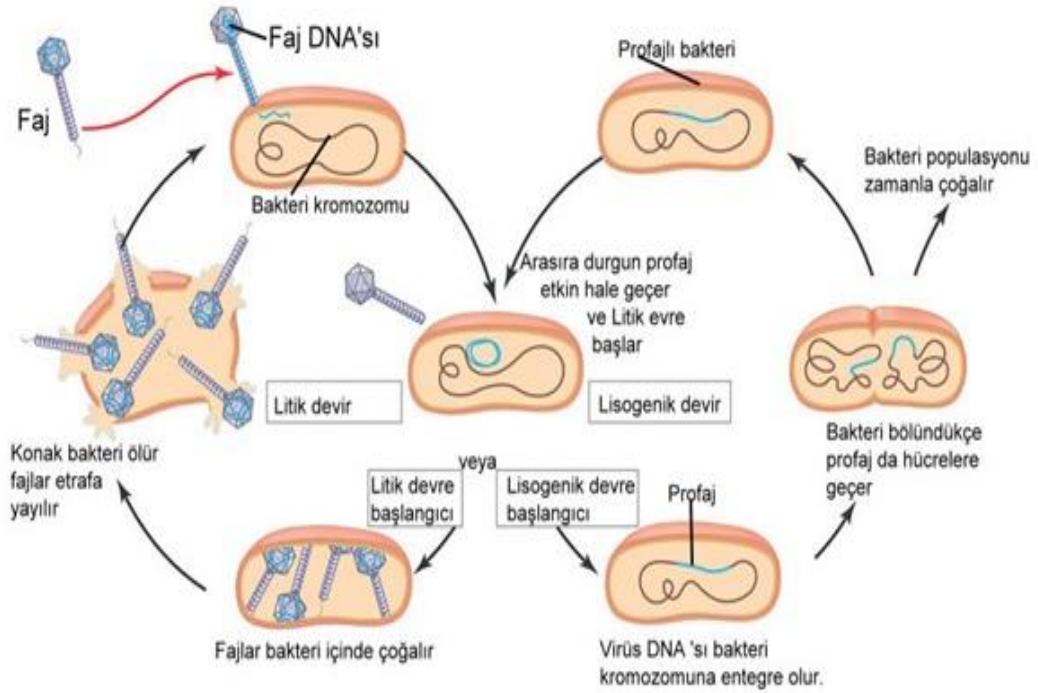
1.12.1. Bakteriyofajların Yaşam Döngüleri

Bakteriyofajların litik ve lizojenik (ılıman) olmak üzere iki yaşam döngüsü bulunmaktadır (Ergin vd., 2017).

Lizojenik Faj Enfeksiyonu ; Bazı faj enfeksiyonlarında hücre içine giren faj genomu hücre içinde replike olmaz, doğrudan hücre kromozomuna entegre olur ve onun bir parçası haline gelir, konak hücrenin parçalanmasına neden olmaz. Lizojenik olabilen bu fajlara ılımlı fajlar (temperate phage) denir. Viral genom konak genoma dahil olur ve oldukça zararsız bir şekilde onunla beraber eşlenir. Konak hücrenin sağlığı yerinde olduğu sürece virüs sessiz bir şekilde varlığını sürdürür, ama konağın şartları bozulursa, örneğin besin kaynaklarının tükenmesi durumunda, endojen fajlar (profaj olarak adlandırılırlar) etkinleşirler. Bir çoğalma süreci (litik döngü) başlar, sonucunda konak hücre parçalanır (Ergin vd., 2017; URL-11).

Litik Faj ; Enfekte ettikleri konak bakteride replike olduktan sonra yeni fajların oluşması ile hücreyi eriterek ortama yayılan faj yaşam döngüsüdür. Litik faj döngüsünde fajın konağa tutunması ve adsorbsiyon, nükleik asit enjeksiyonu ve kılıftan ayrılma, biyosentez, faj ünitelerinin bir araya toplanması ve tüm faj partikülünün oluşması, bakteri hücre duvarının parçalanması ve yeni oluşan (progeni) bakteriyofajların salınımı aşamalarını içermektedir (Ergin vd., 2017; URL-11).

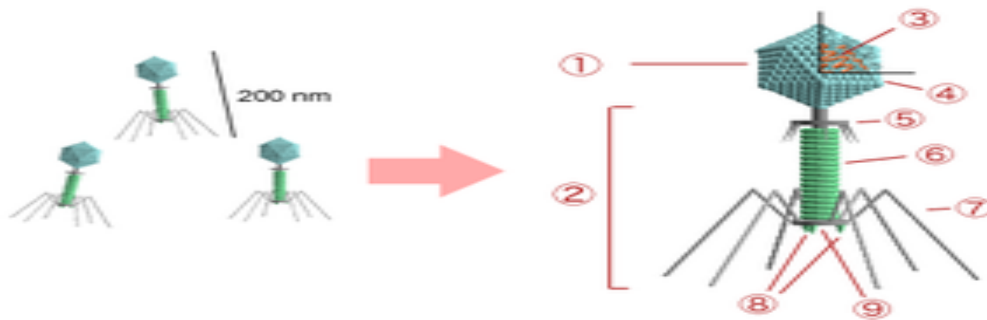
Konak hücreye girmek için bakteriyofajlar bakterinin yüzeyindeki özgül reseptörlere bağlanırlar, bunlar arasında lipopolisakkaritler, teikoik asitler, proteinler sayılabilir. Bu nedenle bir bakteriyofaj ancak bağlanabileceği reseptörler taşıyan bakterileri enfekte edebilirler. Faj virionları kendi kendilerine hareket etmedikleri için kendi reseptörleriyle solüsyondayken rastlantısal olarak buluşup bağlanır. Kuyruklu fajlarda (T4 fajı gibi) uygun reseptörle temas kurduktan sonra kuyruk lifleri taban plakasını hücre yüzeyine yaklaştırırlar, iyice bağlandıktan sonra, kuyruk büzülür, bu da genetik malzemenin kapsit dışına itilmesine neden olur. Bazı fajlar nükleik asiti hücre zarından içeri iter, bazıları hücre yüzeyine bırakır. Başka yöntemlerle genetik malzemelerini içeri sokan bakterifajlar da vardır (Şekil 5) (Ergin vd., 2017; URL-11).



Şekil 5. Bakteriyofajların litik ve lizojenik yaşam döngüleri (URL-9).

Bazen profajlar inaktif oldukları dönemde bakteri genomuna yeni işlevler kazandırarak konak bakteriye bazı önemli faydalar sağlayabilir, bu duruma lizojenik dönüşüm (*lysogenic conversion*) denir. Bunun iyi bilinen bir örneği *Vibrio cholera'* nın zararsız bir suşunun bir faj tarafından enfekte edilerek kolera hastalığı etmenine dönüşümü verilebilir (URL-11).

Profajın, UV, mitomisin C, mutajenik maddeler ve inkübasyon sıcaklığındaki değişim gibi çevresel olumsuz etkilerden etkilenecek (indüklenme) lizojenik yaşam döngüsünden litik yaşam döngüsüne dönüşebilmekte olup buna faj indüksiyonu denir.



Şekil 6. T4 bakteriyofajının morfolojik yapısı.

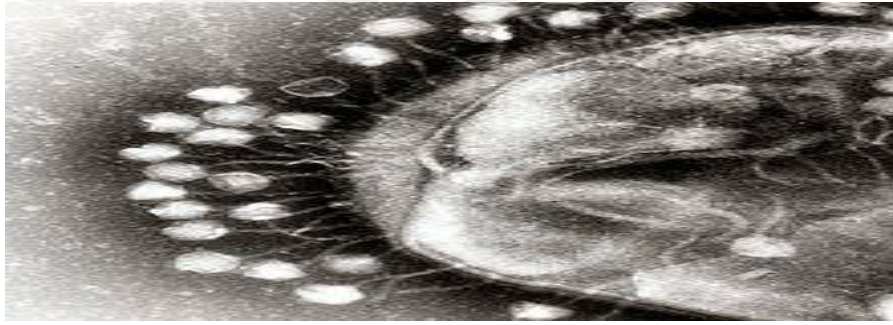
1. Baş, 2. Kuyruk, 3. Nükleik asit, 4. Kapsit, 5. Yaka, 6. Kın, 7. Kuyruk lifleri, 8. Ekserler, 9. Taban plakası (URL_8).

Litik döngü, lizojenik döngüden ‘Latent Dönem’ olarak adlandırılan periyodun başlaması ile ayrılır. Çünkü faj DNA’sının hücre içine alınmasıyla, konakçı RNA polimeraz enzimi devreye girer ve erken genlerin transkripsiyonu başlar. Bu gen ürünleri, faj genomunu konakçı tarafından sentezlenen endonükleazlara karşı korumakta ve fajın ihtiyacına göre konakçıda tekrar yapılanmayı sağlayabilmektedir. Ayrıca, konakçı proteazlarını ve diğer bazı proteinleri inaktive edebilmektedir. Daha sonra, orta (middle) genlerin transkripsiyonu ile yeni faj DNA’sının sentezi gerçekleşmektedir. Son olarak, geç genlerin kodlanması ile faj partikülünün kapsid, kuyruk, kuyruk fibrilleri gibi parçalarının üretimi, dolayısıyla faja özgül şekil oluşumu (morphogenesis) başlamaktadır (Hendrix, 2002b). Prokapsid olarak adlandırılan tam yapılanmamış ikosahedral protein kılıf içerisinde, faj DNA’sı paketlenmekte ve kuyruk ile kapsid birleştirilmektedir (Klug ve Cummings, 2000). Litik döngünün son aşaması, konakçı hücrenin lizize uğratılmasıdır. Kuyruklu fajlar, lizinin gerçekleşmesi için iki bileşen kullanmaktadır. Bunlardan, ‘lizin’ enzimi peptidoglikan matriks içerisinde kesim yaparken; ‘holin’ adlı ikinci enzim de, iç membranda porlar açarak lizin enziminin peptidoglikan tabakaya ulaşmasını ve hücre lizisinin gerçekleştirilmesini sağlamaktadır (Guttman vd., 2005).

1.12.2. Fajların Moleküler Biyolojisi ve Tıpta Kullanımı

Bakteriyofajların biyoteknoloji, araştırma ve tedavi amaçlı kullanım alanları mevcuttur. Son yıllarda fajların modern biyoteknoloji alanında daha verimli çalışmalara kaynak sağladığı ortaya konmuştur. Fajlar doğal olarak endolizin enzimine sahipler ve çoklu antibiyotik dirençli bakterilere karşı bu enzimin tedavi amaçlı kullanılması gelecek vaad etmektedir. Endolizin enzimi özellikle gram pozitif bakterilerde hücre duvarındaki peptidoglikanları hedef alarak düşük dozda güçlü bir bakteriyolitik özelliğe sahiptir ve antibiyotiklerle karşılaştırıldığında daha az yan etki gösterdikleri belirtilmiştir. Fajlar bakterilere spesifik oldukları için bakteri identifikasyonunda da kullanılırlar. Bu yöntem, faj tiplendirme olarak bilinir. Böylece patojen bakteri suşların tanımı daha kolay ve daha hızlı gerçekleştirilir. Ayrıca fajlar DNA ve protein aşılı için taşıyıcı olarak ve birçok protein ve antikor üretiminde de kullanılmaktadır (Haq vd., 2012)

Faj terapisinde litik döngüye sahip olan fajlar kullanılmaktadır. Faj bakteriyi enfekte eder ve bakteriyi parçalayarak hem bakteri ölümüne neden olur hem de enfeksiyon bölgesinde çoğalarak diğer bakterileri enfekte ederek enfeksiyon kaynağı olan konağı yok eder. Fajlar konaklarına özgüdür ve sadece konak spektrumundaki türleri enfekte ederler. Bu sayede etki spektrumu dışındaki bakterilere karşı zararsız olduğundan antibiyotiklerde görülen normal flora üzerine olumsuz etkiler bu tedavi yönteminde görülmez. Ayrıca, antibiyotik kullanımına bağlı gelişen sekonder enfeksiyon gelişimi de önlenmiş olur. Fajlar enfeksiyon bölgesinde yani bakterilerin bulunduğu bölgede çoğalır ve enfeksiyona neden olan bakteriler ile eş zamanlı üreyerek döngüsüne devam ederler. Böylece sistemik yan etki görülme olasılığı çok düşük olup konak bakterileri mevcut olduğunda kendiliğinden yayılırlar (Nilsson, 2014; Viertel vd., 2014)



Şekil 7. Bir bakteriyi enfekte etmek üzere ona bağlanmakta olan bakteriyofajların elektronik mikroskoptaki görünümü (Nilsson, 2014; Viertel vd., 2014).

Fajlar enfeksiyonla doğrudan temas durumunda etki gösterirler, onun için açık bir yaraya uygulanmaları en iyi sonuç doğurur. Sistemik enfeksiyonlarda bu pratik olarak mümkün değildir. Bu nedenle faj terapisi çalışmalarında daha çok lokal solüsyon şeklinde uygulamalar daha başarılı olduğu bildirilmektedir. (Nilsson, 2014; Viertel vd., 2014).

1.13. Literatür Özeti

Streptococcus pyogenes'in neden olduğu bulaşıcı hastalıklar yaşamı şiddetle tehdit ediyor. İstilacı *S. pyogenes* enfeksiyonları nadir olmakla birlikte (Amerika Birleşik Devletleri, Birleşik Krallık ve Avustralya'da yılda her 100.000 kişiden 3'ünde ölüm) vaka ölüm nedeni, oranı diğer birçok enfeksiyona göre yüksek olduğu

bildirilmektedir (O'Loughlin vd., 2007; O'Grady vd., 2007; Tyrrell vd., 2005).

Suudi Arabistan'ın Makah ilçesindeki okul öncesi çocuklarda yapılan bir çalışmada, Makah'taki yedi farklı bölgeden gelen 19 anaokulun dört ile altı yaşlarında olan 2370 Suudi ve Suudi olmayan çocuklardan A Grubu streptokokların bulaşma prevalansını araştırılmıştır. Örneklem Şubat-Mayıs 2014 arasında gerçekleştirilmiş olup 2370 asemptomatik çocuğun 36'sından (% 1.5) AGBHS izole edilmiştir. *S. pyogenes*'in en yüksek kolonizasyonu, 5 yaş grubunda 17 (% 1.6) olduğu, AGBHS izolatlarının tamamının penisiline (% 100) ve % 33'ünün trimetoprima duyarlı olduğu bildirilmektedir (Ashgar vd., 2016).

Afyonkarahisar ilinde *Streptococcus pyogenes* taşıyıcılığının araştırıldığı bir çalışmada ilköğretim çağı çocuklarının nazofaringealinden alınan 1129 öğrencinin 73 (% 6,5)'ünde taşıyıcılık saptanmış olup bunların 4 (% 5,5)'ünde bir yıl içerisinde tonsillofaranjit gelişimi gözlenmiştir. Sonuç olarak okul çocuklarında % 6.5 *S. pyogenes* taşıyıcılığının varlığı bildirilmiştir (Toprak vd., 2008).

Ünlü vd. (2017)'de 2009-2012 yılları arasında yaptıkları bir çalışmada 103'ü (% 64) yatan ve 58'i (% 36) polikliniğe başvuran hastalar olmak üzere üreyen toplam 161 örnekte streptokok suşu ve hastaların özellikleri retrospektif olarak incelenmiş olup, çalışmaya dahil edilen toplam 161 suşun 9'unda (% 5,6) A grubu, 64'ü (% 39,7) B grubu, 2'sinde (% 1,2) C grubu, 3'ünde (% 1,8) D grubu, 2'sinde (% 1,2) G grubu, 57'si (% 35,4) viridans streptokok ve 24'ü (% 14,9) pnömokok olarak tiplendirmişlerdir. Penisiline direnç *Streptococcus pyogenes* suşlarında görülmezken, penisilin (% 13) ve makrolid (% 36,3) direnci en yüksek oranda pnömokoklarda saptanmış, 8 hastada mortalite görülmüştür (Ünlü vd., 2017).

Davies vd. (1996) yapmış oldukları bir çalışmada toplam 44 hastane kaynaklı olan A grubu beta hemolitik streptokokların etken olduğu enfeksiyon saptanmıştır. Sağlık çalışanlarında da taşıyıcılığa bağlı cerrahi alan enfeksiyon salgınlarında bildirilmektedir (Viglione vd., 1991; Stamm vd., 1978).

Penisilin A grubu beta hemolitik streptokok enfeksiyonlarının tedavisinde halen ilk seçenek olmasına rağmen dünyada ve Türkiye’de penisiline tolerans bildirilirken dirençli suşa rastlanmamıştır (Capoor vd., 2006; Macris vd., 1998).

Kara vd. (2011) tarafından, ülke genelinde makrolid duyarlılığının araştırıldığı bir çalışmada, tonsillofarenjit etkeni olan A grubu beta hemolitik streptokok izolatu Türkiye genelindeki 8 merkezden toplanarak grup A streptokok makrolid duyarlılığı ile ilgili genel bir bilgi edinilmesi ve makrolid direnç prevalansının belirlenmesi hedeflenmiştir. Toplamda 287 adet A grubu beta hemolitik streptokok çalışılmış olup suşların orta derecede direncin, eritromisine % 2, klindamisine % 1.1, azitromisine % 1.8 ve klaritromisine % 1.8 olduğu bildirilmiştir.

Tayman vd. (2011) yaptıkları bir çalışmada toplam 821 hastadan alınan boğaz kültürü örneklerinin 216’sında (% 26,3) AGBHS suşları izole edilmiş olup bunların antibiyotik direnci araştırılmıştır. Amoksisilin-klavulanatın (% 99,5) en duyarlı antibiyotik olduğu, daha sonra amoksisiline (% 95,8), penisiline (% 95,3) ve azitromisine (% 78,7) hassas olduğu bildirilmiştir ($P<0.05$). Ancak suşların azitromisine % 21,3 oranında dirençli olduğu gözlenmiştir. Bakterilerin zamanla artan antibiyotik direnci enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde zorluklar oluşturmaktadır. Makrolit direnci daha önceleri *Streptococcus pyogenes*’lerin daha az olmasına rağmen son zamanlarda birçok ülkede direncin arttığı bildirilmektedir (Schwartz vd., 1998; Granizo vd., 2000; Seppälä vd., 1997).

2005’ten itibaren küresel AGBHS enfeksiyonunun neden olduğu hastalık vakalarından bir derleme yapılmış, 616 milyon farenjit vakası, 111 milyon piroderma vakası ve ağır invaziv hastalıklar ve sekeller sebebiyle en az 517.000 ölüm vakasının gerçekleştiği ortaya konmuştur. Bu veriler, bakteriyel patojenler arasında AGBHS’in en önemli yeri olduğunu ortaya koymak olup bu durum küresel mortalite ve morbidite üzerindeki AGBHS etkisinin etkileyici bir dokümanını vermektedir (Bisno vd., 2005; Carapetis vd., 2005; Ralph ve Carapetis, 2013).

Streptococcus pyogenes'in makrolit direnci ile ilgili yapılan çalışmalarda bakterilerin zamanla artan antibiyotik direncinin makrolitlerin kullanımının artmasına paralel olarak yıllar içinde arttığı gözlenmiştir (Cizman vd., 2001).

Bakteriyofajların terapötik kullanımı, muhtemelen antibiyotiklerle kombinasyon halinde, değerli bir yaklaşım olabilir. Bununla birlikte, faj tedavisinin güvenli ve kontrollü kullanımının, hem in vitro hem de özellikle in vivo olarak spesifik faj-bakteri sistemlerinin özellikleri ve davranışları hakkında ayrıntılı bilgi gerektireceği açıktır. Bakteriyel patojenlerin bakteriyofajlara karşı in vivo duyarlılığı hala büyük ölçüde anlaşılamamıştır ve başarılı faj tedavileri için gereklilikleri ortaya çıkarmak için daha fazla faj-bakteri sistemi üzerinde yapılacak araştırmalara ihtiyaç vardır (Skurnik ve Strauchb, 2006).

Bakteriyofaj veya basitçe faj terapisi potansiyel bir tedavi metodudur. “Faj Terapi”, virüslerin veya fajların terapötik kullanımıdır. Belirli bir konukçu aralığına sahip olan bakteriyofajın, faydalı veya zararsız bakterilerin hayatta kalmasını sağlayan, konak türleri ise litik döngüyle parçalayan bir yaşam şeklidir. Liktik faj, bakteriyel hücrelere girer, çoğalır ve bakteri hücre duvarını parçalayarak (liziz) konakçı hücrelerini öldürür. Buna karşın, lizojenik faj bakteri hücrelerinde durgun halde bulunur, ancak belirli koşullar altında bir litik döngüye girmek üzere aktive olabilir.

Ilıman bakteriyofaj, bakteriler arasında toksin kodlayan genleri aktarabilir ve çoğu zaman patojeniteye neden olabilir. Bununla birlikte, ökaryotik konakçının faj-patojen etkileşimi üzerindeki etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir. *Streptococcus pyogenes*'i bir model olarak kullanarak, hem in vitro hem de in vivo olarak, ökaryotun toksin-kodlayan ılıman fajın etkili indüksiyonuna ve sonuçta Tox'un dönüşmesine aracılık ettiğini gösterilmiştir. Ayrıca, konakçıya faj aktarımının ikincil konakçıda toksijenik dönüşüme yol açabileceği için, hem faj indüksiyonu hem de müteakip dönüşümün aynı memeli konakçıda gerçekleşmemesi gerektiğini göstermişlerdir. Sonuç olarak, ökaryotik konakçının mikrobiyal popülasyondaki virülans fajların, bakteri evrimde önemli bir bileşen olduğu gösterilmiştir (Broudy ve Fischetti, 2003).

Gram pozitif (+) ve gram negatif (-) bakteriler, ılıman bakteriyofajlar, esansiyel viral proteinlerine ilave olarak toksinleri ve virölans faktörlerini de kodlamaktadırlar (Dobrindt ve Reidl, 2000). Lizojen, her iki türe de evrimsel avantajlar sağlar, çünkü fajla beslenen virölans, patojenin, ökaryotta ve konakçı kromozomunda dikey geçiş yoluyla korunacak olan profajın, daha başarılı bir şekilde çoğalması sağlanmış olur. *Streptococcus pyogenes*, fajı toplam genomun % 10'unu oluşturan ve geniş bir pirojenik ekzotoksin sınıfı da dahil olmak üzere çok çeşitli varsayılan ve yerleşik virölans faktörlerini kodlayan, çoğul bir lizogenize organizmadır (Ferretti vd., 2001; Weeks vd., 1984). Son zamanlardaki karşılaştırmalı genomik çalışmalar, streptokokal bakteriyofajın *S. pyogenes* suşları (Beres vd., 2002) arasındaki ana varyasyonu (% 71'e kadar) temsil ettiğini ve potansiyel olarak benzer suşlarla ilişkili farklı hastalık patolojilerini açıkladığını göstermiştir. Patojenik bakterilerin ortak bir türü içinde bulunan organizmaların virölansını modüle etmenin yanı sıra, bu tür patojenlerin ürettiği toksini kodlayan fajın, hem çevresel hem de komensal bakterileri toksin olarak dönüştürerek patojenik Tox mikropları oluşturduğu gösterilmiştir (Beutin vd., 1999; Schmidt vd., 1999). Dolayısıyla bakteriyofaj bakteriyel virölansın yayılması için anahtar vektörleri ve bakterilerin non patojenikten patojenik suşa dönüşmesini temsil eder. Faj reseptörünün kaybolması veya bakterilerinin mutasyona uğratması, bakteriyi söz konusu fajlara karşı dirençli hale getirir. Bu her zaman kötü olmayabilir (Levin ve Bull, 2004) çünkü direnç bakterilerin etkisini azaltabilir ya da faj tarafından kullanılan reseptör bir virölans belirleyicisi ise, reseptör kaybı bakterinin ölümcül olmasını önemli ölçüde azaltır.

Bakteri lizogeni ile de fajlara dirençli olabilir, bu sayede bakteri faja ve yakın akrabalarına karşı bağışık hale gelir veya enjekte edilen faj nükleik asitini bozan bir retriksiyon-modifikasyon sistemi elde edebilir. İlave olarak faj replikasyonu yada bir assembl aşaması için gerekli olan bir proteindeki mutasyondan dolayı da direnç kazanabilir (Skurnik ve Strauchb, 2006).

S. pyogenes suşlarının ürettiği birçok virölans faktörünün, bakteriyofaj tarafından kodlandığı artık bilinmektedir. Bu faktörler arasında pirojenik eksotoksinler A ve C (Bohach vd., 1990; Weeks ve Ferretti, 1984), DNase (Broudy vd., 2002) ve hyaluronidase (Hynes ve Ferretti, 1989) yer almaktadır.

Bir bakterinin, indüklenmedikçe orijinal konağın kendi lizojenik fajına karşı bağışık olması muhtemel olduğundan, litik çevresel fajın en geniş konukçu aralıklarına sahip olması faj terapisi için önemlidir. Bununla birlikte, konakçı aralığı, bakteriyel reseptörler tarafından etkilenebilir (Lindberg, 1973). Bu nedenle konukçu aralığı, ille de ilişkinin bir göstergesi değildir, ancak olası faj tedavisi için etkili fajın belirlenmesinde yararlıdır. Ayrıca, plak morfolojisi fajı ayırır ve izolasyonu sağlar, ama lizojeni ile ilişkili değildir. Farklı litik bakteriyofajların kombine edilmesi, laboratuvar koşullarında patojenin enfekte olduğu larvaların hayatta kalmasını artırmakta, sahadaki hastalığın hafifletilmesine yardımcı olacağı kanısı uyanmaktadır. Bu nedenle önemli bakteriyel hastalıkların tedavisinde ve hastalık belirtilerinin azaltılmasında faj çalışmaları hala tüm dünyada büyük önem taşımaktadır.

Bakteriyofajlar ya da lizojenik fajlar genetik olarak benzerse, var olan bir lizojen içeren konağa giremez ve süper enfeksiyon yapamaz (Alatossava vd., 1995). Süper enfeksiyon bir faj taşıyan konağın ikinci bir faj ile enfekte olma durumudur. Süper enfeksiyon bağışıklığına dahil olan represör genler karakterize edilmiş ve profajda erken lizis için gerekli “lizise bağlı genleri” susturduğu bildirilmiştir (Emond ve Moineau, 2007). Bu sistem, her zaman litik veya ılımlı fajlar olan, ancak profajı baskılayıcı genlerine duyarlı olmayan fajlara karşı çalışmaz.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Malzemeler ve Kimyasallar

2.1.2. Kullanılan Laboratuvar Gereçleri

Çalışmada klinikte önem arz eden ve üst solunum yolu enfeksiyon etkeni olan *Streptococcus pyogenes* mikroorganizmasının incelenmesi için kullanılan laboratuvar gereçleri; Agar, Mueller Hilton Agar, Mueller Hilton Broth, Brain Heart İnfüzyon besiyeri, Otoklav, vorteks, inkübatör, pastör fırını, hassas terazi, ışık mikroskopları (koloni mikroskobu ve olimpus Bx51 araştırma mikroskobu (görüntü analiz sistemli), mikrosantrifüj, santrifüj, buzdolabı, -20 ve -80 °C'lik derin dondurucular, sınıf II biyogüvenlik kabini, etüv, anaerobik kavanozlar, cam ve plastik petri kutuları, cam malzemeler (cam baget, cam fanus, cam pipetler, cam erlen, pastör pipeti, vida kapaklı steril tüpler, mavi kapaklı şişeler, mezür, erlenmayer, lamel, lam), eppendorf tüpleri, eküvyon çubukları, otomatik pipetler, cam pipetler, otomatik mikro ve makro pipet uçları, yuvarlak uçlu öze, distile su, filtre kağıdı, su banyosu vb. alet ve edevatları kullanıldı.

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Suşlar

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezinin çalışma için RTEÜ Tıp Fakültesi Girişimsel olmayan Klinik araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı tarafından 40465587-050.01.04-81 nolu ve 29.04.2019 tarihli etik kurul kararı alınmıştır.

Çalışmada 2017-2019 yılları arasında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen, hastalardan hekim ön tanısı sonucunda hekim tarafından alınan örneklerden izole edilmiş olup, *Streptococcus* sp. olarak tanımlanmış türler çalışmada kullanıldı. İzole ve identifiye edilen örnekler bir sonraki çalışmalar için -20 ve -80 °C'de saklandı (Tablo 4). Örnekler örnek türünün baş harfleri kullanılarak kodlandı.

Tablo 4. Hastanede hekim tarafından ön tanı sonucu alınan örneklerin türe göre dağılımı.

Alınan Örnek Türleri	Toplam Örnek Sayısı
Boğaz Kültürü(BO)	252
Yara Kültürü (YA)	9
Abse Kültürü(AB)	4
Doku Kültürü(DO)	3
Eklem Sıvısı Kültürü (E)	1
Plevral Sıvı Kültürü (PS)	1
İdrar Kültürü (İD)	1
Kulak Akıntısı Kültürü(KU)	1
TOPLAM	272

2.1.4. Çalışmada Kullanılan Besiyerler

Koyun Kanlı Agar (Mueller Hinton % 5 koyun kanlı Agar)

Koyun kanlı agar besiyeri ticari olarak hazır temin edilip, kullanılacağı süreye kadar +4 °C de saklandı. Besiyeri örneklerin ilk izolasyon ve kültürleri için kullanıldı. Besiyerinin içeriği koyun kanı ile zenginleştirilmiş olup, üremesi zor olan mikroorganizmaların hemolitik aktivitelerinin, dış faktörlerden etkilenmeden en iyi şekilde üremesi ve gözlenmesi için hazırlanmıştır.

Mueller Hinton Agar ve Sıvı Besiyerinin Hazırlanması

Ticari (Merck) olarak hazır temin edilen besiyerinden 27 g hassas terazide tartılıp 1000 ml distile suda homojen olarak çözdürüldü ve 121°C’de 1,1 atm basınçta 20 dk otoklavda steril edildi. Steril edilen besiyeri, 25 ml olacak şekilde steril petri kaplarına dökülüp donması beklendi. Petriler donduktan sonra buzdolabında +4 °C’de kapalı bir kap içinde muhafaza edilip (Bilgehan, 2004), genel üretim besiyeri olarak kullanıldı.

Brain Heart Infusion Broth

Sığır kalp infüzyon	5 g
Dana beyin infüzyon	12,5g

Disodyumhidrojen fosfat	2,5g
D-glukoz	2 g
Pepton	10 g
Sodyum Klorür	5 g (pH; 7,4 ± 0,2)

Yukarıda verilen maddeleri ihtiva eden Brain Heart Infusion Broth, ticari olarak temin edilen hazır besiyeri firmanın önerisi doğrultusunda 37 g tartılarak 1000 ml distile su içerisinde homojen olarak çözündürüldü. Steril edilmesi için 121 °C’de, 1,1 atm basıçta 20 dakika otoklav edildi. Kullanılacak süreye kadar buzdolabında +4 °C’de bekletildi. Hazırlanan besiyeri *S. pyogenes* suşlarının saklanması için kullanıldı.

2.1.5. Yapılan testler

Oksidaz Testi

Bu test, aerobik ve fakültatif anaerobik bakterileri ayırt etmek için kullanıldı. Bunun için; 1,4-fenilendiamonyum diklorür 0,1 g tartılıp 10 ml distile su içerisinde çözündürüldü ve 1 ml olacak şekilde ependorf tüplere dağıtıldı. Aliminyum folyaya sarılı bir şekilde kullanılacağı süreye kadar -20 °C’de bekletildi (Koneman vd., 1997; Bilgehan 2009).

Katalaz Testi

Katalaz enzimi üreten bakteriler hidrojen peroksiti su ve oksijene ayırıştırılar. Bakterilerin katalaz enzimi üretilip üretilmediğinin belirlenmesinde bu test kullanılmaktadır (Koneman vd., 1997). % 3’lük hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanılarak test edilir. Streptokok türlerinin katalaz testi negatif (-) dir. Çalışmamızda da izole edilen streptokokların katalaz pozitif (+) veya negatifliği (-) teyid edildi (Koneman vd., 1997; Bilgehan, 2009).

PYR (Pyrrolidonyl Arylamidase) Testi

Test ticari olarak temin edildi ve kullanılacağı süreye kadar +4 °C de saklandı. Pyr (pyrrolidonyl arylamidase) *Streptococcus pyogenes*’de bulunan bir enzim olup bu test sayesinde diğer streptokoklardan (*S.anginosus* ve diğer B-hemolitik streptokoklardan) hızlı bir şekilde ayrılmaktadır. *Streptococcus pyogenes* pyr testi pozitif (+) dir. Çalışmamızda da izole edilen Streptokokların pyr testi pozitif (+) veya negatifliği (-) şeklinde teyid edildi.

Basitrasin (B) Duyarlılık ve SXT Dirençlilik Testi

Laboratuvarlarda genel olarak *Streptococcus pyogenes*’in tanısında basitrasin (B) ve SXT testleri kullanılmaktadır. *Streptococcus pyogenes*’in en belirgin özelliği bacitracin’e duyarlı ve SXT’ye dirençli olması nedeniyle diğer streptokok türlerinden ayrılmaktadır. Çalışmamızda izole edilen Streptokok suşları % 5 Mueller Hinton koyun kanlı Agara ekilen kültürlerin üzerine ticari olarak hazır temin edilen basitrasin ve SXT diskleri kullanıldı ve diğer streptokolardan ayrımı yapıldı.

Basitrasin’e duyarlı, SXT dirençli: *Streptococcus pyogenes*

Basitrasin’e dirençli, SXT dirençli: *Streptococcus agalactiae*

Basitrasin’e dirençli, SXT duyarlı: Diğer streptokok türleri

Strep A Testi (Hızlı Tanı Testi)

Grup A streptokokların tanısında Strep A antijeninin kalitatif tespiti için kullanılan hızlı, immünokromatografik bir testtir. Çalışmamızda da izole edilen Streptokok suşlarının Strep A testi (TOYO-TSA01) uygulanılarak diğer streptokolardan ayrımı yapıldı. Test solüsyonları ticari olarak temin edilmiş olup kullanıldığı süre içinde +4 °C de bekletildi.

2.1.6. Gram Boyamada Kullanılan Solüsyon ve Ayıraçlar

Çalışmada kültür için gelen örneklerin gram pozitif (+) zincir yapan kokların varlığını belirlemek için kullanıldı. Kullanılan solüsyonlar ve içerikleri;

A) Kristal viyole stok solüsyonu (%90-95 boya içeren) hazırlamak için ;

Kristal viyoleden 40 g tartıldı ve 400 ml etanol (% 95) ile bir cam şişede çözdürülüp oda ısısında saklandı.

Amonyum okzalat solüsyonu (% 1'lik) hazırlamak için; 16 g amonyum okzalat tartıldı (analitik saflıkta) ve ışık geçirmez cam şişede 1600 ml distile su ile karıştırılıp oda sıcaklığında saklandı.

Raf ömrü her iki solüsyonunda 1 yıldır. Kristal viyole stok solüsyonunun 40 ml'si amonyum okzalat solüsyonunun 160 ml'si birlikte karıştırılarak kullanıldı.

B) Lügol solüsyonu ; 1 g iyot ve 2 g potasyum iyodür havanda birlikte ezilip 300 ml distile su ile homojenize edildikten sonra kullanıldı. Karanlık şişeye alındıktan sonra bir gece tam çözünmesi için bekletildi (Bilgehan, 2004).

C) Alkol (% 96'lık etil alkol) ; kristal viyole ile boyanmış, lügol solüsyonu ile mordalanmış preparatlarda renk giderilmesi için kullanıldı.

D) Safranin solüsyonu ; Porselen krozede 2,5 g safranin 10 ml alkol (%95) ile çözdürülüp ışık geçirmeyen vida kapaklı şişeye aktarıldı. Üzerine 100 ml distile su ilave edilerek tamamlandı. Bir gün bekletildikten sonra zıt boya olarak alkolden sonra 30 saniye preparatlar bekletilerek boyandı ve suda yıkanarak incelendi (Koneman vd., 1997).

2.2. Metod

Bu çalışma 2017-2019 yılları arasında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü ile Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi. Hastanede ilgili hekim tarafından tanısı konmuş hastalardan rutin değerlendirme kapsamında gelen tüm boğaz sürüntü örneklerinden, yara, abse, doku, idrar, kulak akıntısı sürüntü örneği, eklem ve plevral sıvı (sadece *S. pyogenes* üremiş olan) vb. örnekleri inceleme materyali olarak kullanıldı. İzole edilen *Streptococcus sp.* türleri ile yapılmıştır.

2.2.1. Örneklerin Toplanması ve İzolasyonu

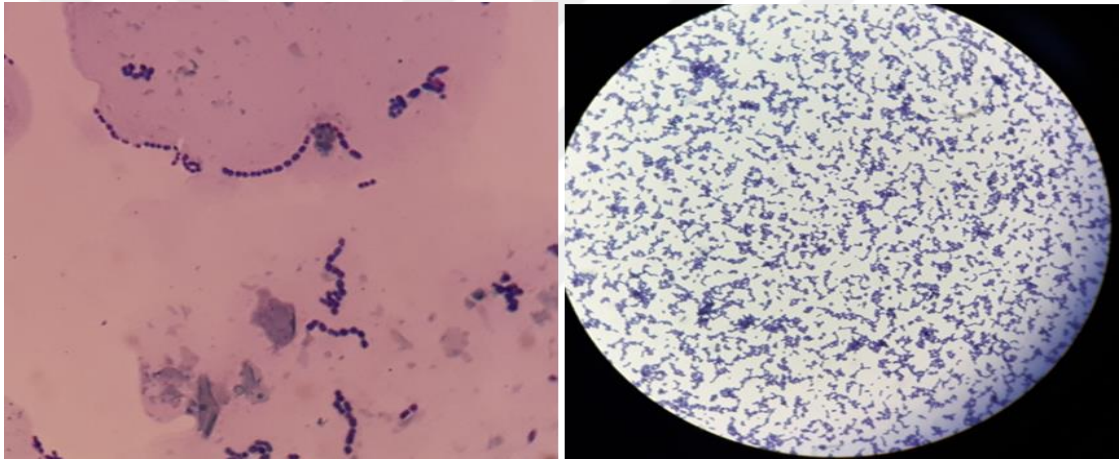
Laboratuvara gönderilen toplam 272 streptokok şüpheli boğaz sürüntüsü, yara, abse, doku, idrar, kulak akıntısı sürüntü örneği, eklem ve plevral sıvı örnekleri izolasyon ve tanı testi için kullanıldı. Çalışmada ilgili birimde uzman hekimler tarafından tanısı konulan hastalardan enfeksiyon yerine göre uygun metotlarla örnekleme yapıldı. Boğaz ve kulak sürüntü örnekleri steril eküvyon çubukları yardımı ile alındı. Yara, abse, doku, idrar, eklem ve plevral sıvı örnekleri steril enjektör veya steril kaplara alınarak laboratuvara ulaştırıldı. Tüm örnekler laboratuvara en kısa sürede (30 dakika) ulaştırıldı ve ekimleri yapıldı.

2.2.2. Numunelerin Hazırlanması

Boğaz kültürünün alınmasında özel olarak hazırlanmış, yüksek sıcaklık ve basınç altında steril edilmiş eküvyon çubukları kullanıldı. Klinikte hekim tarafından hastanın boğazından boğaz iyice aydınlatılıp, dil bastırıldıktan sonra yanak ve dile dokunulmadan steril eküvyon çubuğunun tonsillerin ve uvulanın üzerine kuvvetlice sürülmesi ile 2 adet boğaz sürüntüsü örneği alındı. Alınan sürüntü örnekleri bu kapların içine konulup en kısa sürede laboratuvara ulaştırıldı. Örneklerinin 1 tanesi hızlı antijen testi için, diğeri ise boğaz kültürü testi için kullanıldı. Bununla beraber laboratuvara gelen ve sadece *S. pyogenes* üremiş olan yara, abse, doku, idrar, kulak akıntısı sürüntü örneği, eklem ve plevral sıvı örnekleride inceleme kapsamına alındı. Örnekler öncelikle hızlı tanı testi, sonrasında gram boyama yapılarak gram pozitif (+)

streptokokların varlığı araştırıldı. Hızlı antijen testi ile pozitif (+) ve negatif (-) bulunan tüm örnekler % 5'lik Mueller Hinton koyun kanlı agar besiyerine tek koloni düşürme yöntemiyle ekildi ve etüvde üremesi için 24 saat 36.5 °C'de inkübe edildikten sonra mikroorganizmaların üremesi çıplak gözle ve koloni mikroskobu yardımıyla incelendi.

Gram Boyama : Laboratuvara gönderilen Streptokok şüpheli örneklerden preparat hazırlanıp metanol ile testpit edildikten sonra gram boyama yapıldı (Koneman vd., 1997; Bilgehan, 2004). Boyalı preparatlarda gram pozitif zincir yapan kok morfolojisi gözlenmesi (Şekil 8) diğer testleri desteklemek adına önemli bulundu (Koneman vd., 1997; Bilgehan, 2004).



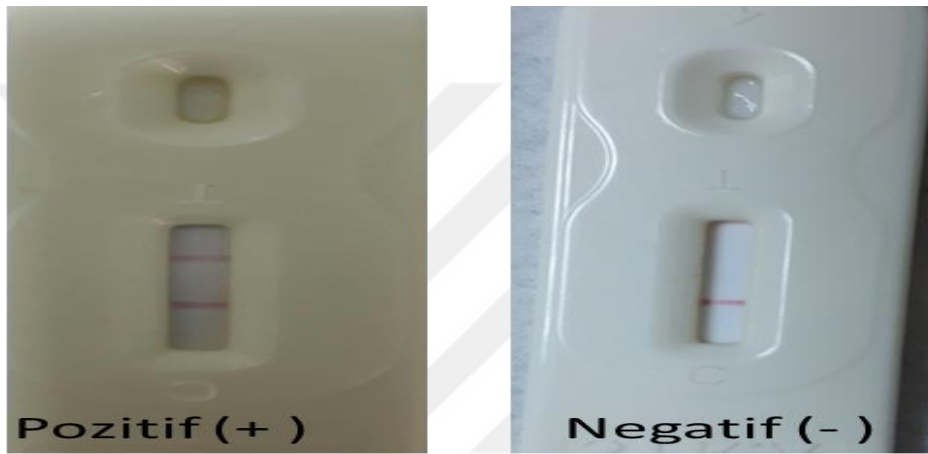
Şekil 8. Gram boyamada (100X) streptokokların zincir yapmış görüntüsü.

Strep-A Testinin Yapılması : Ticari olarak temin edilen hızlı antijen testi kullanıldı. Alınan sürüntü örneğinin biri hızlı antijen testi için kullanıldı.

Ticari olarak firmadan temin edilen (Toyo-TSA01) test kitleri firmanın önerileri doğrultusunda kullanıldı. Test tüpünün içine reaktif 1 (kırmızı renkli) şişesinden 4 damla (yaklaşık 240 mikrolitre) damlatıldı. Daha sonra reaktif 1 damlattığımız test tüpünün içine reaktif 2 (renksiz) şişesinden de 4 damla (yaklaşık 160 mikrolitre) damlatıldı ve hafifçe çalkalanarak karıştırıldı. Tüpe eklenen reaktif 2. çözeltisinin renginin kırmızıdan sarıya değişimi gözlemlendi. Daha sonra steril alınan boğaz kültürü çubukları tüp içine koyularak iyice çalkalandı ve 1 dakika beklendi. Sonra test kiti poşetinden çıkarılıp düz bir zemine yerleştirildi. Örnek çözeltiyi, test ile verilen

damlalığa çekip kasetin örnek gözüne 3 damla (100 mikrolitre) damlatıldı. Örnek içerisindeki Strep A antijenlerinin yoğunluğuna bağlı olarak sonuçlar 5 dakika içinde okundu ve 10 dakika sonra oluşacak sonuçlar geçersiz olarak yorumlandı.

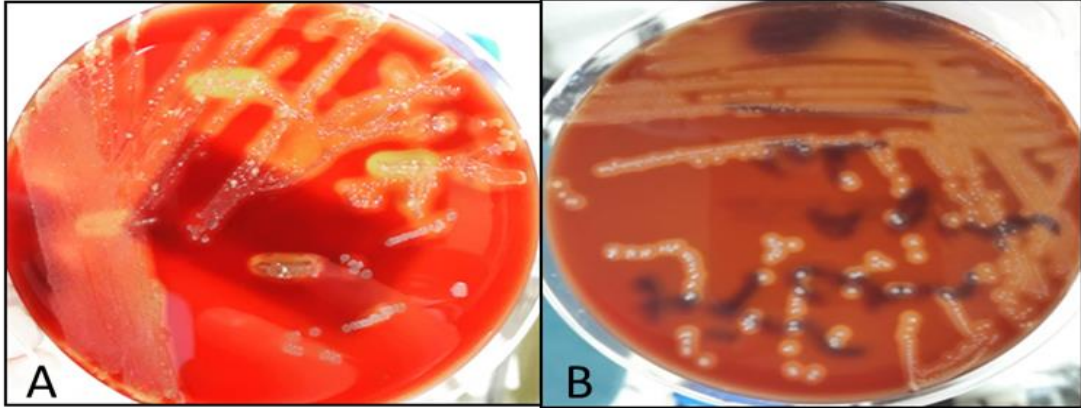
Sonuçların yorumlanmasında, kitte 1 tane çizginin görülmesi Strep A antijenlerinin var olmadığını yani sonuç negatif (-), iki tane çizginin görülmesi Strep A antijenlerinin var olduğunu yani sonuç pozitif (+), hiçbir renkli çizgi görünmüyorsa geçersiz olarak yorumlandı (Şekil 9).



Şekil 9. Strep A testinin pozitif ve negatif olarak kitte görünümü.

2.2.3. Kültür ve İzolasyon

Örnekler laboratuvara gelir gelmez yarım saat içinde önce hızlı tanı testi, sonra gram boyma yapıp, Mueller Hinton % 5 koyun kanlı agar besiyerine steril öze ile tek koloni düşürme yöntemiyle ekim yapıldı. Streptokokların hemoliz aktiviteleri anaerob koşullarda daha iyi oluşmasından dolayı ekim alanının ilk bölgesine ekim yapıldıktan sonra agarın kalınlığının 2/3'ü derinliğinde kesiler yapıldı (Şekil 10). Plaklar sonra mumlu kavanoza yerleştirilerek (anaerobik ortam sağlamak için) kapatılıp 24 saat 36.5 °C'de etüvde inkübe olmaya bırakıldı.



Şekil 10. Mueller Hinton % 5 koyun kanlı Agar besiyerine ekilen boğaz sürüntü örneği A; direk kültürde üremesi B; direk kültürden pasaj yöntemiyle alınan saf kültür.

İnkübasyondan bir gün sonra B hemoliz yapmış R yada S tipi kolonilerin varlığı gözle yada koloni mikroskopunda incelendi. üreme olmamış veya B hemoliz gözlenmeyen kültürlerin sonucu negatif (-) olarak değerlendirildi ve “Boğaz kültüründe üreme olmadı” diye rapor edildi. Kültürde B hemoliz varlığı gözlenen kolonilerden 3-4 tanesi steril öze yardımıyla alınarak saf kültür için pasaj yapıldı ve gram boyandı. Saf üreyen koloniden yeni bir Mueller Hinton koyun kanlı agar besiyerine homojen bir şekilde pasajları yapılarak Basitrasin (B) ve Trimetoprim-Sulfametaksazol (SXT) diskleri aseptik olarak ve en az 2 cm aralık olacak şekilde yerleştirildi ve tekrar aynı şartlarda inkübe edildi. Kültür sonucunda plaklar aşağıdaki gibi değerlendirildi (Tablo 5 ve Şekil 11).

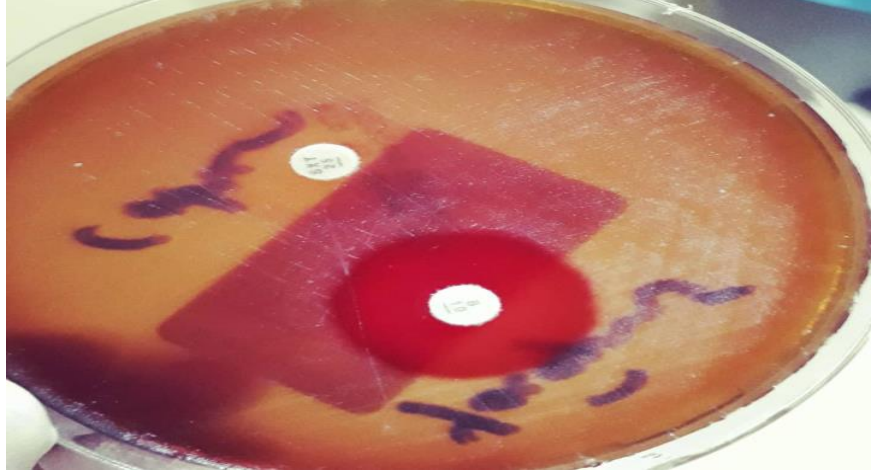
Basitrasin (B) ve SXT testinin Değerlendirilmesi ;

1. Duyarlı (S) : Disklerin çevresinde herhangi bir zon olması

2. Dirençli (R) : Disklerin kenarına kadar üreme olması

Tablo 5. Basitrasin(B) ve SXT disklerinin yapmış olduğu duyarlı veya direnç durumuna göre değerlendirilimi.

Basitrasin	SXT	Tanımlama
S	R	Olasılıkla grup A
R	R	Olasılıkla grup B
S/R	S	A veya B grubu değil



Şekil 11. Mueller Hinton % 5 koyun kanlı agar besiyerinde *S.pyogenes*'in B ve SXT antibiyotik disklerinin varlığındaki görünümü.

Kültür sonucunda Basitrasin antibiyotiğine duyarlı (S) ve Trimetoprim-Sulfametaksazol (SXT) antibiyotiğine dirençli (R), beta hemolizli kolonilerin varlığı, *S. pyogenes* olarak değerlendirildi. Böylece kültürde *S. pyogenes* varlığı ya da yokluğu şeklinde teyit edildi.

Bununla birlikte A Grubu Beta-hemolitik kolonilerden grup çalışması yapıldı. Ayrıca saf üretilen *S. pyogenes* izolatları -20 ve -80 °C'de % 20 gliserol içeren Mueller Hinton sıvı besiyerinde stoklandı.

2.2.4. Katalaz, Oksidaz ve Pyr Testi : Streptokoklar çoğu zaman stafilokoklarla karışabildiklerinden dolayı bu testler uygulanarak ayrımları yapılmaktadır. Doğrulamak için oksidaz, pyr ve katalaz aktivitelerine bakıldı.

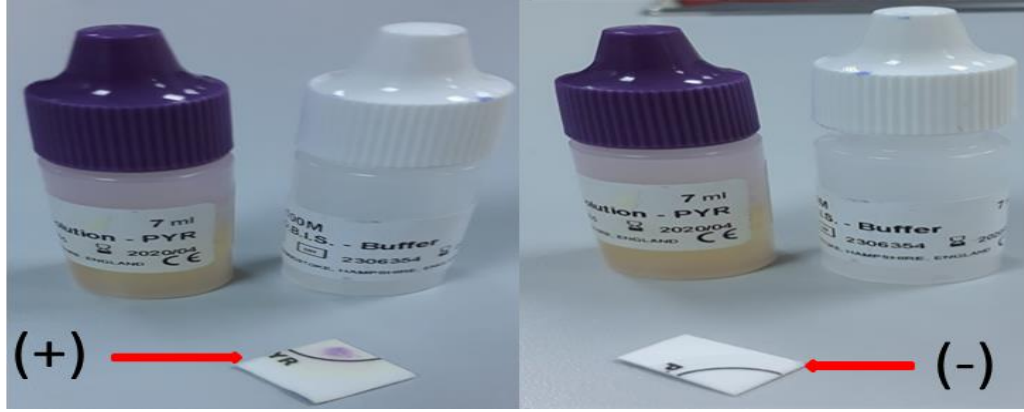
Katalaz Testi : Bazı mikroorganizmalarca sentezlenen katalaz enzimini (hidrojenperoksit oksidoredüktaz) saptamak amacıyla yapıldı ve identifikasyonda kullanıldı. Bu enzim ekseri sitokrom ihtiva eden aerobik bakterilerde ve bazı fakültatiflerde bulunur. Lam üzerine bir damla % 3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatıldı ve Mueller Hinton % 5 koyun kanlı agar besiyerine ekilmiş olan *S. pyogenes* bakterisinden saf olarak bir öze dolusu alınarak hidrojen peroksitle karışımı sağlandı. Çoğu aerobik bakteriler katalaz enzimi aracılığıyla, hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalayarak köpük oluşumuna neden olur.

Katalaz deneyinde gaz kabarcıklarının görülmesi pozitif (+), görülmemesi ise negatif (-) olarak değerlendirilir (Koneman vd., 1997; Bilgehan, 2004). Çalışmada gaz kabarcıkları oluşumu gözlenmemiş olan izolatların katalaz testi negatif (-) olduğu şeklinde belirlendi. *S. pyogenes* katalaz testi negatif olarak değerlendirildi. Kontrol olarak *S. aureus* (pozitif) kullanıldı.

Oksidaz Testi : Bu test, mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve intrasellüler olan oksidaz enziminin varlığını ortaya koymada kullanılır. Oksidaz reaksiyonu, bakterilerde (aerobik olanlarda) sitokrom oksidaz sisteminin bulunduğunu ifade eder. Hazırlanan çözeltiden lam üzerine bir miktar damlatıldı ve üzerine Mueller Hinton % 5 koyun kanlı agar besiyerine *S. pyogenes* bakterisinden saf olarak ekilmiş olan kültürden öze yardımı ile bakteriler alındı ve kurutma kağıdı üzerine oksidaz test solüsyonu ile muamele edildi ve kurutma kâğıdında 5-30 sn içerisinde mavi-mor renk oluşumu testin pozitif (+), herhangi bir renk değişimi gözlemlenmemesi ise testin negatif (-) olarak değerlendirildi (Koneman vd., 1997; Bilgehan, 2004). Çalışmada herhangi bir renk oluşumu gözlenmeyen izolatlar oksidaz testi negatif olarak değerlendirildi ve *S. pyogenes* olarak düşünüldü. Pozitif kontrol olarak *Morexella catarrhalis* kullanıldı.

Pyrrolidonyl Arylamidase (PYR) Testi : *Streptococcus pyogenes* pyr enzimin bulunmasıyla, *S. anginosus* ve diğer B-hemolitik streptokoklardan hızlı bir şekilde ayrımı yapıldı.

Ticari olarak firmadan temin edilen PYR Test Kit'i firmanın önerileri doğrultusunda kullanıldı. Steril plastik bir çubuk yardımıyla (yeterli görünür bir leke yapmak için) test alanına kültürde saf üremiş olan *S. pyogenes* bakteri kolonisi (0.5 mm veya daha büyük) alınıp uygulandı. Test alanına 1 damla tampon (IDO100M) dökülerek nemlendirilmesi sağlandı. Aşılınmış test kartı 5 dakika boyunca oda sıcaklığında (15-30 °C) inkübe edildi. Test alanına 1 damla geliştirme çözeltisi (IDO200M) damlatıldı ve 20 saniye içinde koloniler üzerinde ve çevresinde canlı bir mor rengin gözlenmesi veya gözlenmemesine bakıldı (Şekil 12).



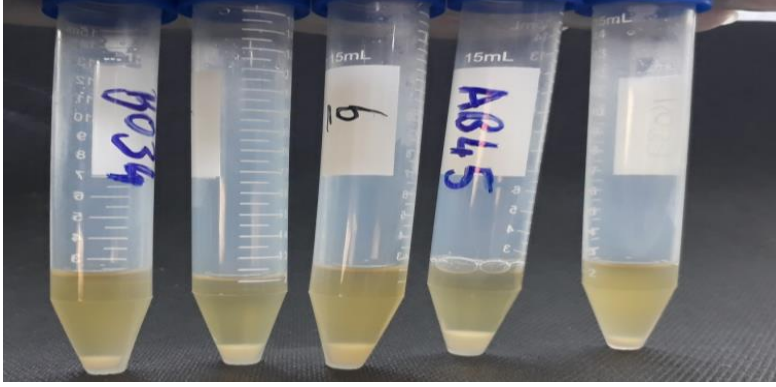
Şekil 12. *Streptococcus pyogenes*'in pyr testiyle pozitifleşip pembe renge dönüşmesi.

Sonuçların okunması ve yorumlanması ; 20 saniye içerisinde test alanının aşıl原因 kısmında canlı bir mor rengin gözlenmesi pirase aktivitesinin pozitif (+), renk gelişiminin olmayışı negatif (-) olduğunu göstermektedir.

Yaptığımız bu testte *Streptococcus pyogenes* pyr testi pozitif (+) olarak değerlendirildi.

2.2.5. *S. pyogenes* İzolatlarının Stoklanması

Çalışmada yapılan tüm kültür, gram boyama ve test sonucuna göre *S. pyogenes* olarak belirlenmiş izolatlardan saf kültürleri (Şekil 13). Mueller Hinton % 5 koyun kanlı agar besiyerinde çoğaltıldı. Saf olarak üreyen besiyerden 6-7 öze dolusu bakteri alınarak 800 µL Mueller Hinton sıvı besiyerine ekimi yapıldı ve 18-24 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra saf olarak izole edilen kültürler steril ependor tüplere (800 µL Mueller Hinton sıvı besiyerinde saf olarak üreyen bakteri ve 200 µL gliserol) alınarak % 20 gliserol içeren stok solüsyonları ikişer adet hazırlandı, etiketlendi ve bir adedi -20 °C bir adedi -80 °C de stok olarak saklandı.



Şekil 13. *Streptococcus pyogenes* 'in sıvı besiyerinde üreme görünüşleri.

2.2.6. *Streptococcus Pyogenes* Türlerinde Bakteriyofaj İndüksiyonu

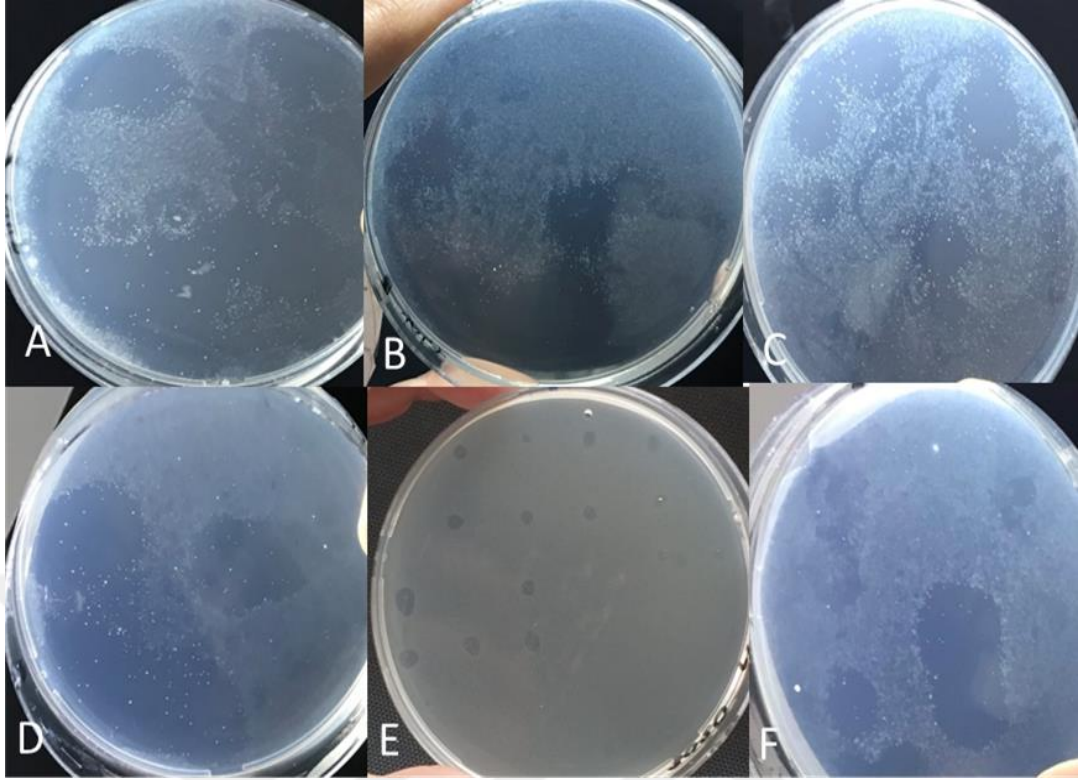
Streptococcus pyogenes suşlarının bakteriyofaj içeriklerinin varlığının belirlenmesi için mitomisin C ile indüklenerek test edildi (Bradley, 1967; Kılıç vd.,1996). Kültürlerin üretilmesi için MH sıvı ve MHI sıvı besiyerleri kullanıldı. İndüklemeyi ve fajın hücreden salınımı kolaylaştırmak için besiyeri içine 1 mM CaCl_2 ve 1 mM MgCl_2 taze olarak ilave edildi. Besiyeri 5 ml olarak steril vida kapaklı cam tüplere dağıtılarak kullanıldı. Bu amaçla suşların 24 saatlik kültüründen sub-kültür yapıldı. Bir gecelik taze kültürleri elde edildi. Taze kültürden (1 mM CaCl_2 ve 1 mM MgCl_2) MHB besiyeri içine 1/100 oranında inoküle edildi. İnkübasyondan yaklaşık 2-4 saat ($\text{OD}_{600\text{nm}}=0,2$) sonra mid – log ($\text{OD}_{600\text{nm}}= 0,5$) safhasına gelen kültür içerisinde son konsantrasyon 0,2 $\mu\text{g/ml}$ olacak şekilde iken Mit-C ilave edildi. Yaklaşık 24-48 saat 120 rpm de çalkalamalı inkübatörde 37 °C’de inkübe edildi. Mit-C ile indüklenmiş kültürler inkübasyon süresince gözlemlenerek bulanık kültürlerin profaj indüksiyonu ve *Streptococcus pyogenes* lizis olması sonucu berraklaşması veya toz gibi tüplerin dibine çökmesiyle belirlendi (Şekil 14). Lizis gözlenen veya gözlenmeyen tüm kültürlerden falkon tüplerine alınarak 13 000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi ve 0.45 μm steril tek kullanımlık filtreler vasıtasıyla kültürler süzüldü. Lizat başka bir ependorf tüplerine aktarılarak bir damla kloroform ilave edildi. Bu şekilde elde edilen lizat kullanılacağı süreye kadar 4 °C’de saklandı (Kılıç vd., 1996, Trevors vd., 1983). Lizatlar bakteriyofaj ve bakteriyosinlerin belirlenmesi için damla (drop assay) yöntemi kullanıldı.



Şekil 14. *Streptococcus pyogenes*'in Mit-C indüklemesiyle sıvı besiyerinde berraklaşma ve dipte oluşturduğu görüntüleri

2.2.7. Litik Faj Enfeksiyonunun Yapılması

Streptococcus pyogenes sıvı kültürde logaritmik fazın başında olan konak bakterilerden ($OD_{600} = 0.4$) 100 μ L alındı ve (1 mM $CaCl_2$ ve 1 mM $MgCl_2$) içeren 48-50 °C'ye soğutulmuş 3 ml yumuşak Mueller Hinton agara (% 0,7) ilave edildi. Hızlıca karıştırıldıktan sonra Mueller Hinton agar plakların yüzeyine yayıldı (Dingman ve Stahly, 1983). Besiyeri donduktan sonra yüzeyine önceden hazırlanan indüklenmiş lizatların 5 μ L'si agar yüzeyine damlatıldı ve kuruması beklendi. Kültürler 36.5 °C'de 24-48 saat % 5 CO_2 'li ortamda inkübasyona bırakıldı. Lizat damlatılan alanlarda indikatör bakterinin üremediği bir inhibisyon zonunun oluşması bakteriyofaj/bakteriyosin veya antibakteriyel aktivite varlığı olarak değerlendirildi (Trevors vd., 1983). Damlatmayapılan bölgede bulanık, berrak, diffüz, halka veya yüzük şeklinde inhibisyon zonları oluşturan lizatlar kaydedilerek bakteriyofaj veya bakteriyosin içeriği yönünden araştırma amacıyla diğer testlere tabi tutuldu (Şekil 15).



Şekil 15. Droplama yöntemi sonucu oluşan bakteriyofaj görüntüleri, A; YA8 Konak B; BO23 Konak C; BO32 Konak D; BO63 Konak E; Yumuşak agar besiyerine plazma ilave edilmiş BO20 konak F; DO41 Konak.

2.2.8. Fajların Çoğaltılması, Saflaştırılması ve Stoklanması

Bakteriyofaj zenginleştirilmesi, Hurst ve Reynolds (2002) tarafından tarif edildiği gibi standart teknikler kullanılarak yapıldı. Fajı zenginleştirmek için elde edilen faj lizatları içerisinde *S. pyogenes* konakları bulunan Müller Hinton Agar besiyerine yoğun miktarda damlatıldı. Her konak için tek bir plak kullanıldı. Kültürler 36.5 °C'de 24-48 saat % 5 CO₂'li ortamda inkübasyona bırakıldı. Yüzeyinde faj plakları gözlenen besiyeri üzerine 3 mL SM buffer (SM buffer; 100 mM NaCl, 8 mM MgSO₄·7H₂O, 50 mM Tris-HCl (1M, pH 7.5), % 0.002 jelatin) ilave edilerek orbital çalkalayıcıda 120 rpm'de 2 saat çalkalanarak fajların yumuşak agardan ayrılmalari sağlandı. Agar yüzeyi steril bir drigalski spatülü ile kazınarak 50 mL'lik falkon tüplere aktarıldı. Tüpler 10 000 rpm'de 15 dakika santrifüjlendikten sonra supernatant kısmı önce 0.45 µm'lik sonra 0.22 µm'lik filtreden geçirildi. Saflaştırılan fajlar ileri tetkiklerde kullanılmak üzere 4 °C ve -20 °C 'de saklandı.

Saflaştırılan faj lizatları % 50 gliserol ile karıştırılacak ve her birinden ikişer t p hazırlanarak -80 C’de stoklandı (Kılıç vd., 1996, Alpay, 1999)



3. BULGULAR

Bu çalışma 2017-2019 yılları arasında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarlarında yapılmıştır. Poliklinik ve servislerden klinik muayene sonucu ön tanıları konmuş toplam 272 hastadan alınan çeşitli örnekler materyal olarak kullanıldı. Çalışmanın ana konusunu boğaz kültürü örnekleri oluşturmakta olup toplam 252 (% 92) örnek hem kültür hem de kit yönünden incelemeye alındı.. Örneklerin 51'inde (% 20,2) kit (Strep A) ve kültür pozitifliği tespit edildi (Tablo 6).

Laboratuvar sonuçlarına göre streptokok izole edilen toplam 20 farklı örnek (yara, abse, doku, idrar, kulak akıntısı sürüntü örneği, eklem ve plevral sıvı) faj içeriği açısından değerlendirmek amacıyla çalışma kapsamına alındı. Bu örnekler ise sadece kültür pozitif olan örnekler olduğundan dolayı kit/kültür sonucu % 100 olarak pozitifdir ve değerlendirmeye faj varlığının incelemesi açısından alınmıştır.

Tablo 6. Alınan örnekler ve pozitif olarak kullanılan örneklerin dağılımı.

Alınan Örnek Türleri	Toplam Örnek Sayısı		Kit / Kültür Pozitifliği	
	Sayı (N)	Yüzde (%)	Sayı (N)	Yüzde (%)
Boğaz Kültürü(BO)	252	92	51	20,2
Yara Kültürü (YA)	9	0,3	9	100
Abse Kültürü(AB)	4	0,01	4	100
Doku Kültürü(DO)	3	0,01	3	100
Eklem Sıvısı Kültürü (E)	1	0,003	1	100
Plevral Sıvı Kültürü (PS)	1	0,003	1	100
İdrar Kültürü (İD)	1	0,003	1	100
Kulak Akıntısı Kültürü(KU)	1	0,003	1	100
TOPLAM	272		71	26,4

Çalışmada kültür sonucuna göre toplam 71 A grubu Beta Hemolitik streptokok izole edilmiş, hastaların 46'sı erkek ve 21'i kadın olup klinik tanıları ile yaş dağılımları tablo 7 ve 8 de verilmiştir. Tabloda görüldüğü üzere çeşitli klinik bulgu ve şikayetleri olan ve farklı yaş gruplarına sahip hastalardan *S. pyogenes* izolasyonu yapılmıştır.

Tablo 7. Kit ve kültür pozitifliği gözlenen erkek örneklerin klinik tanısı ve yaş dağılımları.

Sayı	örnek Türleri	Klinik Tanı	Kit/Kültür Pozitiflik	Yaş	Basitrasi n (B)	SXT
1	BO1	Akut Faranjit	+ / +	21	S	R
2	BO2	Demir Eksikliği	+ / +	12	S	R
3	BO3	Mevsimsel Allerji	+ / +	40	S	R
4	BO4-BO5	Gastroenteri, Kolit, Akut Faranjit	+ / +	32	S	R
5	E1	Eklem iltihabı ve Ateş	+ / +	71	S	R
6	YA8	Piyoderma	+ / +	52	S	R
7	BO9	Rutin Tarama	- / +	28	S	R
8	BO10	Rutin Tarama	- / +	30	S	R
9	BO11	Rutin Tarama	- / +	25	S	R
10	BO12	Rutin Tarama	± / +	40	S	R
11	BO13	Rutin Tarama	- / +	24	S	R
12	BO14	Akut Tonsillit	- / +	28	S	R
13	BO18	Üst Solunum Yolu Hast.	- / +	33	S	R
14	BO19	Rutin Tarama	- / +	25	S	R
15	BO20	Akut Tonsillit	+ / +	24	S	R
16	BO22	Rutin Tarama	+ / +	32	S	R
17	BO24	Akut Faranjit	+ / +	36	S	R
18	BO26	Rutin Tarama	+ / +	41	S	R
19	BO27	Dispne, Bakteriyel Pnömoni	+ / +	59	S	R
20	BO28	Akut Sinüzit	+ / +	52	S	R
21	BO29	Mevsimsel Alerjik	+ / +	48	S	R
22	AB30	Deri, Abse, Fronkül, Karbonkülü	+ / +	3	S	R
23	AB31	Boğaz Ağrısı	+ / +	8	S	R
24	BO32	Akut Tonsillit	+ / +	6	S	R
25	BO34	Kronik Tosillit, Üst Sol. Yolu Enf.	+ / +	33	S	R
26	AB35	Patello Femoral Bozukluklar	+ / +	15	S	R
27	BO39	Boğaz Ağrısı	+ / +	30	S	R
28	DO40-DO41	Yumuşak Doku Bozukluğu	+ / +	69	S	R
29	BO42	Kronik Tonsillit	+ / +	43	S	R
30	AB45	Peritonsiller	+ / +	49	S	R
31	YA46	Piyoderma, Tinea Unguim	+ / +	57	S	R
32	YA48	Deri, Abse, Fronkül, Karbonkülü	+ / +	30	S	R
33	KU49	Baş Dönmesi (Vertigo), Otitis	+ / +	74	S	R
34	BO51	Akut Üst Solu Yolu Enfeksiyonu	+ / +	5	S	R
35	YA52	Yumuşak Doku Bozukluğu	+ / +	17	S	R
36	BO54	Üst Solu Yolu Enfeksiyonu	+ / +	4	S	R
37	BO55	Üst Solu Yolu Enfeksiyonu	+ / +	8	S	R
38	BO56	Üst Solu Yolu Enfeksiyonu	+ / +	5	S	R
39	BO59	Üst Solu Yolu Enfeksiyonu	+ / +	6	S	R
40	BO60	Bulantı ve Kusma	+ / +	6	S	R
41	BO62	Akut Tonsillit	+ / +	8	S	R
42	BO64	Akut Tonsillit	+ / +	7	S	R
43	BO65	Boğaz Ağrısı	+ / +	55	S	R
44	BO70	Üst Solu Yolu Enfeksiyonu	+ / +	7	S	R
45	BO71	Tonsil Hipertrofisi	+ / +	7	S	R
46	PS72	Pnömoni	+ / +	2	S	R

Tablo 8. Kit ve kültür pozitifliği gözlenen kadın örneklerin klinik tanısı ve yaş dağılımları.

Sayı	örnek Türleri	Klinik Tanı	Kit/Kültür Pozitiflik	Yaş	Basitrasın (B)	SXT
1	BO6	Akut Tonsillit	+ / +	33	S	R
2	BO23	Akut Tonsillit	+ / +	33	S	R
3	BO25	Mevsimsel Allerjik	+ / +	35	S	R
4	YA33	Eritema İntertrigo	+ / +	56	S	R
5	BO36	Boğaz Ağrısı	+ / +	59	S	R
6	BO37	Akut Tonsillit	- / +	39	S	R
7	BO38	Üst Solunum Yolu Hast.	+ / +	7	S	R
8	BO43	Boğaz Ağrısı	+ / +	8	S	R
9	DO44	Yumuşak Doku Bozukluğu	+ / +	43	S	R
10	YA47	Yumuşak Doku Bozukluğu	+ / +	41	S	R
11	BO50	Akut Üst Solu Yolu Enfeksiyonu	+ / +	7	S	R
12	BO53	Boğaz Ağrısı	+ / +	78	S	R
13	BO57	Boğaz Ağrısı	+ / +	59	S	R
14	BO58	Boğaz Ağrısı	+ / +	35	S	R
15	BO61	Akut Faranjit	+ / +	44	S	R
16	BO63	Akut Üst Solu Yolu Enfeksiyonu	+ / +	12	S	R
17	KU66	Otitis Eksterna	+ / +	2	S	R
18	BO68	Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu	+ / +	11	S	R
19	BO69	Akut Tonsillit	+ / +	7	S	R
20	İD73	Üriner Sistem Enfeksiyonu	+ / +	38	S	R
21	BO74	Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu	+ / +	11	S	R

S. pyogenes izole edilen en küçük hastanın her iki grupta 2 yaşında, en büyük hastanın ise kadınlarda 78, erkeklerde 74 olduğu gözlemlendi (Tablo 7 ve 8). Alınan örneklerin yaş ve cinsiyet durumuna göre dağılımı yapıldığında streptokok enfeksiyonu şikayeti ile gelen hastalarda erkek bireylerin daha çok olduğu gözlenmektedir. *Streptococcus pyogenes* şüpheli gelen çocuk yaştaki toplam 31 örneğin 21'inde (% 67,7), 12-18 yaş arası 10 örneğin 4 (% 25)'ünde pozitiflik belirlendi. İnceleme örneklerinin büyük kısmını oluşturan yetişkin grupta ise toplam 216 (65 kadın ve 151 erkek) örnekten 38'inde (% 17,6) pozitiflik belirlenmiştir (Tablo 9). En yüksek pozitiflik 0-11 ve ≥ 61 yaş aralıklarında gözlenmiştir.

Tablo 9. Alınan örneklerin yaş aralığına ve kadın/erkek hasta oranlarına göre dağılımı.

Yaş aralığı	Toplam örnek		S.pyogenes Pozitif sayı		Negatif	
	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
≤11 çocuk	17	14	7	14	10	-
12-18 adölesan	7	3	1	3	6	-
19-60 yetişkin	65	151	12	26	53	125
≥61 yaşlı	5	6	1	3	4	3
Toplam	94	174	21	46	73	128
Genel toplam	272		71		201	

Çalışmamızın ikinci hedefini oluşturan kısım ise izole edilen A grubu Beta Hemolitik streptokokların bakteriyofaj taşıyıcılıkları, taşıdıkları fajların konak genişliklerinin belirlenmesidir. Bu amaçla yapılan faj indüksiyonu ve konak genişliği belirleme çalışmaları tablo 10 ve tablo 11 de verilmiştir.

İzole ve identifiye edilen 67 örnekten toplam 48 A grubu Beta hemolitik streptokoklarda bakteriyofaj taşıyıcılığı ve konak genişliği belirlemek amacıyla indüksiyon ve damlatma yöntemleri kullanarak faj içeriği ve konak genişliği belirlendi.

Tablo 10. Faj indüksiyonu yapılan S. pyogenes suşlarının erken logaritmik üreme hızı ve liz olma özelliklerine göre gruplandırılması (N=48).

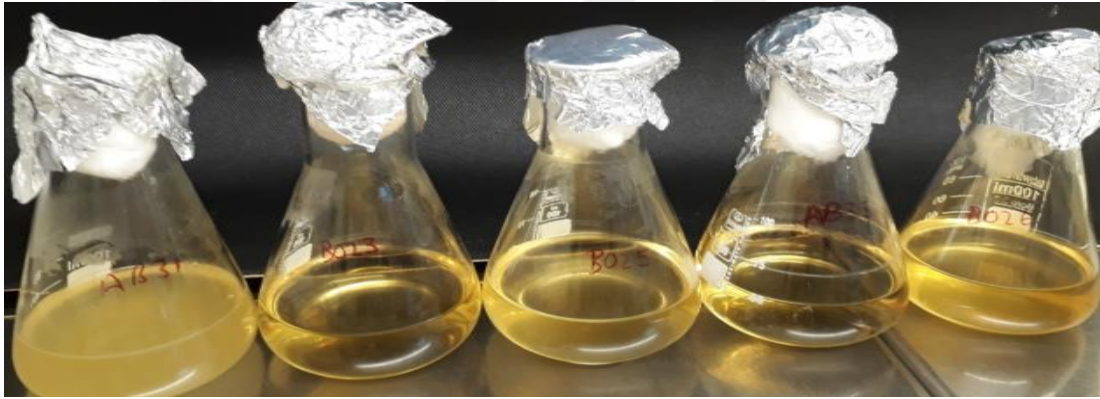
S. pyogenes Suş Numarası	Mid log süresi (dk)	Liz başlangıç Saati
AB35, BO34, BO6, AB45, BO50, BO26, DO41, BO36, BO54, BO25, BO64, BO38, YA8, BO5, BO28, BO60, KU49, YA33, BO58,	120	4
BO20, BO53, BO59, BO23, BO65, BO32, KU66, BO57, DO40, YA48, E1, BO37, YA52, BO55, DO44, YA47	120	15
BO62, BO4	171	4
BO42, BO51, DK67	171	15
BO24, BO39	180	3
BO63, AB30	180	12
BO56, BO61, BO29	120	*
YA46	171	*

*; Liz olmadı

Sıvı besiyerinde gözlenen faj indüksiyonunda, lizis gözlemi yapıldığında sıvı besiyerinde hiç konak kalmayan örnekler tam liz olma, bir miktar bakteri varlığı ve kültürün tam berrak olmaması durumudur. Lizis ve çok az berraklaşma gözlenen örnekleri ise az lizis diye gruplandırıldı (Tablo 11, Şekil 16). Buna göre indüklenen konakların 14'ü güçlü liz olduğu dolayısıyla bu konakların fajları güçlü endolizis aktivitesine sahip olduğu düşünülmektedir.

Tablo 11. *S. pyogenes*'ın hızlı liz olma (faj indüksiyonu) özelliklerine göre dağılımı.

Lizis olma derecesi	Lizat numarası	Sayı
Liz olanlar	BO53, BO42, KU66, DO40, BO57, YA47, BO23, BO59, AB32, BO20, KU69, BO54, BO55, BO50	14
Tam liz olanlar	BO65, BO38, E1, AB30, BO63, DK67	6
Az liz olanlar	DO44, YA52, BO37, YA48, BO51, BO34	6



Şekil 16. Kitlesel üretimde *S. pyogenes* suşlarının Mit-C indüksiyonu sonucu oluşan lizis görüntüleri.

Çalışmada elde edilen 48 lizatların 67 farklı konağa yapılan çapraz damlatma yöntemi sonucunda elde edilen faj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite varlığı ve konak genişliği damlatma yöntemi ile belirlendi (Şekil 17). Sonuçlar faj içeriği olan lizatlar bekledikçe zon çaplarının artması, düzensiz kenarlı olması, tam yada bulanık açılması şeklinde incelendi ve faj varlığı “Φ” işareti ile gösterildi. Zon çapları kesin ve oda ısısında bekletme ile değişmeyen tam açılma zonları bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite varlığı şeklinde değerlendirildi. Bakteriyosin şüpheli alanları içeren lizatlar “b” şeklinde, antimikrobiyal madde olduğu düşünülenler ise sadece (+) diye belirlenirken açılmanın veya bakteriyofaj/bakteriyosin varlığı miktarı artan + sayılarla belirtildi. Bulguların tümü Tablo 12, 13, 14, 15, 16 ve 17’de verildi.

Tablo 12. Bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite gözlen *S. pyogenes* suşları ve konakları.

Konak	Lizat numaraları ve lizis değeri (N=22)																					
Suş No	BO34	AB35	BO50	BO55	BO54	KU49	BO20	BO32	BO59	BO23	YA47	BO57	BO25	BO36	DO41	AB45	BO6	KU66	DO40	BO53	YA8	DK67
YA46	±	-	-	-	-	-	-	3+ ^t φ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+ ^b φ	-	-	-
YA48	-	-	-	-	-	-	-	-	2+ ^t φ	-	2+ ^t φ	-	-	?	?	2+ ^t φ	-	-	-	5+ ^t φ	2+ ^t φ	-
BO61	-	-	+ ^b φ	-	-	+ ^b φ	+ ^b φ	-	-	+	-	+ ^b φ	-	2+ ^t φ	±	2+ ^t φ	-	-	±	-	-	-
B050	-	-	-	3+ ^t φ	-	-	-	4+ ^t φ	-	-	-	±	±	+ ^b φ	-	+ ^t φ	±	±	-	-	4+ ^t φ	-
BO53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ ^t φ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4+ ^t φ	-
BO57	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
BO6	-	-	-	-	-	-	-	2+ ^t φ	-	-	-	-	-	3+ ^t φ	4+ ^t φ	2+ ^t φ	-	-	-	-	-	4+ ^t φ
DO41	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
BO39	+ ^b φ	2+ ^t φ	+ ^b φ	+ ^t φ	+ ^b φ	+ ^t φ	+ ^t φ	4+ ^t φ	2+ ^t φ	-	-	-	2+ ^t φ	2+ ^t φ	-	+ ^t φ	-	-	-	-	4+ ^t φ	-
BO20	4+ ^t φ	2+ ^b φ	-	2+ ^b φ	4+ ^b φ	-	-	5+ ^t φ	-	5+ ^t φ	-	-	-	3+ ^t φ	3+ ^t φ	-	-	-	-	-	-	4+ ^t φ
DK67	+ ^b φ		-	2+ ^t φ	+ ^t φ	-	-	+	+	2+ ^t φ	-	-	+ ^t φ	2+ ^t φ	-	-	-	-	-	-	5+ ^t φ	+ ^b φ
KU49	2+ ^t φ	2+ ^t φ	-	2+ ^t φ	4+ ^t φ	+ ^t φ	-	4+ ^t φ	2+ ^t φ	2+ ^t φ	-	-	2+ ^t φ	2+ ^t φ	2+ ^t φ	-	-	-	-	-	-	-
BO26	3+ ^t φ	3+ ^t φ	-	2+ ^b φ	4+ ^t φ	-	-	4+ ^t φ	2+ ^b φ	2+ ^b φ	-	-	-	+ ^b φ	-	-	-	-	-	-	-	4+ ^t φ
YA47	4+ ^t φ	4+ ^t φ	-	2+ ^b φ	5+ ^t φ	-	-	4+ ^t φ	2+ ^t φ	3+ ^t φ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ ^b φ	4+ ^t φ	±
DO44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
YA52	-	-	-	-	-	-	-	-	+ ^t φ	3+ ^t φ	*1 ^t φ	*3 ^t φ	2+ ^t φ	-	-	-	-	-	1faj	-	5+ ^t φ	1faj
BO58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+ ^b φ	-	-	±	3+ ^b φ	±	±	-	-	-	+ ^b φ	-	-

Tablo 13 (devam). Bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite gözlen *S. pyogenes* suşları ve konakları.

Konak	Lizat numaraları ve lizis sonucu																							
Suş No	BO34	AB35	BO50	BO55	BO54	KU49	BO32	BO59	BO23	BO63	AB30	BO64	BO25	BO36	DO41	AB45	BO6	BO4	D040	BO38	BO65	DK67	YA8	KU66
AB45	-	+ ^b φ	-	-	2+ ^t φ	-	4+ ^t φ	-	4+ ^t φ	-	-	-	-	-	-	-	-	+ ^b φ	-	-	-	-	-	-
DO41	-	2+ ^t φ	-	+ ^b φ	+ ^t φ	±	+ ^b φ	2+ ^t φ	+ ^t φ	±	+ ^t φ	-	-	+ ^t φ	-	*1 ^t φ	±	-	-	2+ ^t φ	-	-	2+ ^t φ	-
KU66	3+ ^t φ	3+ ^t φ	3+ ^t φ	3+ ^t φ	3+ ^t φ	3+ ^t φ	3+ ^t φ	4+ ^t φ	±	-	-	-	±	-	-	-	-	+ ^t φ	-	-	5+ ^t φ	5+ ^t φ	-	-
BO5	2+ ^t φ	2+ ^t φ	-	-	2+ ^t φ	-	±	+ ^t φ	+ ^t φ	-	-	2+ ^b φ	2+ ^b φ	-	-	2+ ^b φ	-	-	-	-	2+ ^b φ	-	3+ ^t φ	-
BO28	-	+ ^t φ	-	+ ^t φ	-	2+ ^b φ	3+ ^t φ	-	-	2+ ^t φ	-	-	±	±	+ ^t φ	+ ^t φ	+ ^t φ	-	2+ ^t φ	3+ ^t φ	-	-	4+ ^t φ	+ ^t φ
DO40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ ^b φ	2+ ^b φ	+ ^t φ	-	-	-	-	-	-	2+ ^t φ	+ ^t φ	-	-
E1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+ ^t φ	-	-	-	-	-	-	-	3+ ^t φ	-	-	3+ ^t φ	-

-; faj plağı /bakteriyosin yok, ±; Bulanık görüntü, +; 1≤3 mm faj plağı/bakteriyosin, 2+; 5≤10 mm faj plak/bakteriyosin, 3+; 11≤15 mm faj plak/bakteriyosin, 4+ ; 16≤20 mm faj plak/bakteriyosin, 5+ 20>35 mm faj plak/bakteriyosin, Φ; bakteriyofaj, b; bulanık zon, t; tam açılma zonu, *, tek nokta plak oluşumu

Tablo 15 (devam). Bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite gözlen *S. pyogenes* suşları ve konakları.

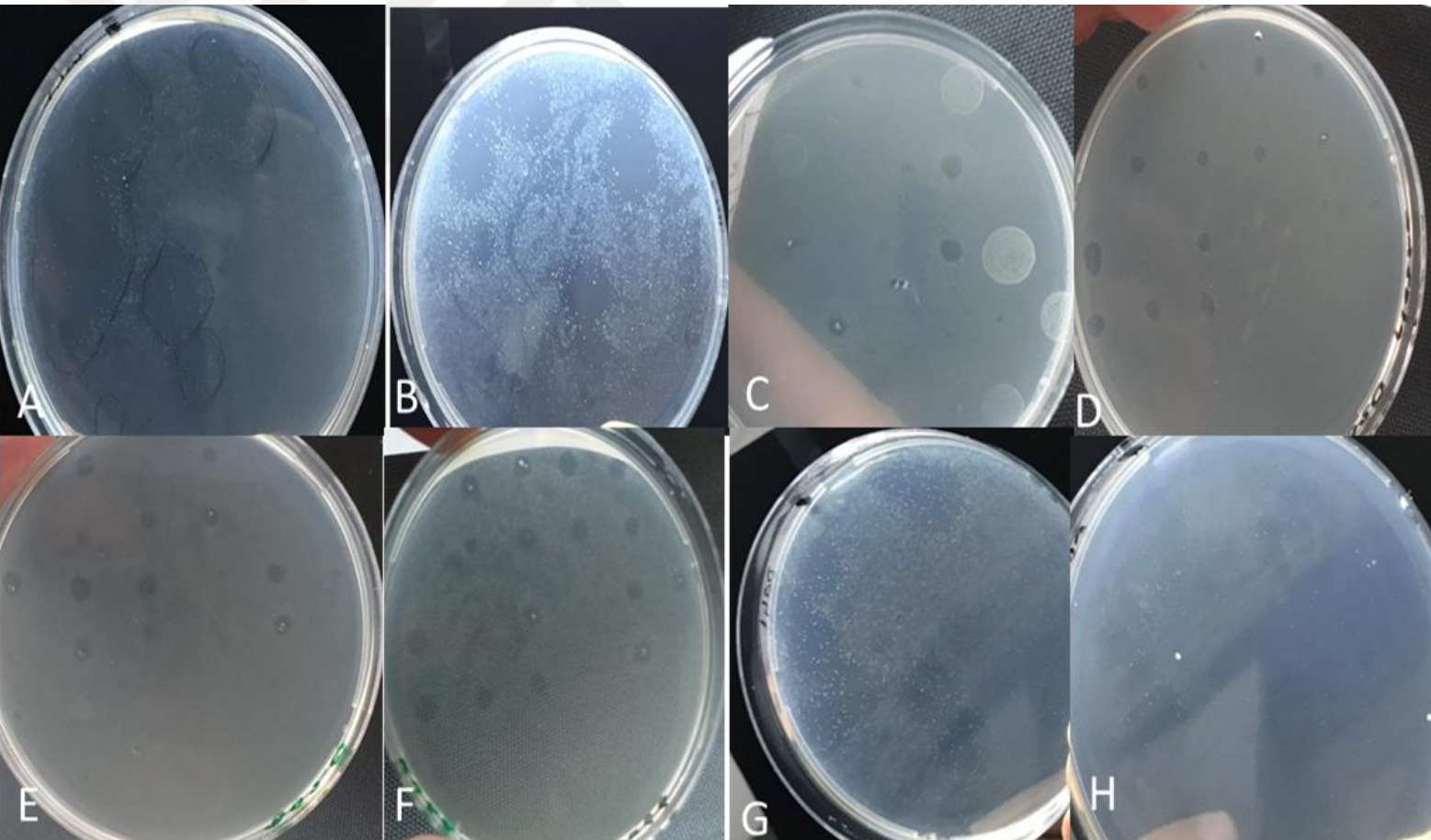
Konak									Konak												
Lizat numaraları ve lizis sonucu									Lizat numaraları ve lizis sonucu												
Suş No	YA52	BO56	BO58	BO60	BO61	BO62	YA33	DO44	Suş No	DO40	YA8	DK67	BO4	BO63	AB30	BO38	BO65	BO64	BO58	BO60	BO61
BO36	-	2+ ^t _φ	+	-	-	-	-	-	BO57	-	-	-	+ ^t _φ	+	+	-	-	-	+ ^t _φ	+	-
DO40	+ ^b _φ	+	+	-	+	+	-	-	BO56	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
BO6	+	-	-	2+ ^b _φ	-	-	-	-	BO28	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
BO58	-	-	-	2+ ^t _φ	2+ ^t _φ	2+ ^t _φ	-	-	BO20	-	+	+	-	-	-	+ ^t _φ	+	-	+	-	-
BO38	+ ^t _φ	?	?	?	?	?	-	-	BO62	-	-	-	-	-	-	+ ^t _φ	-	-	+	-	-
DO44	+	2+ ^t _φ	+	-	-	+ ^b _φ	+	+	PS72	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-
KU66	2+ ^t _φ	-	-	2+ ^t _φ	-	+ ^t _φ	-	-	BO39	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-
BO32	2+ ^t _φ	-	-	-	-	-	-	-	BO26	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
BO55	-	2+ ^b _φ	-	-	-	-	-	-	KU49	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+ ^t _φ	-	+
BO65	+ ^b _φ	-	-	+	±?	-	-	-	BO69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
YA46	±?	-	-	+ ^t _φ	+	-	-	-													
AB30	-	-	-	-	+	+	-	-													
BO29	+	-	-	-	-	-	-	-													

-; faj plağı /bakteriyosin yok, +/-; Bulanık lizis, +; 1≤3 mm faj plağı/bakteriyosin, 2+; 5≤10 mm faj plak/bakteriyosin, 3+; 11≤15 mm faj plak/bakteriyosin, 4+ ; 16≤20 mm faj plak/bakteriyosin, 5+ 20>35 mm faj plak/bakteriyosin, ^t_φ;

Tablo 17. Bakteriyofaj/bakteriyosin/antimikrobiyal aktivite gözlen *S. pyogenes* suşları ve konakları.

Konak	Lizat numaraları ve lizis sonucu																	
Suş No	BO34	AB35	BO50	BO55	BO54	KU49	BO20	BO32	BO59	BO23	YA47	BO57	BO64	BO25	BO36	DO41	AB45	BO6
BO63	±	2+ ^b φ	2+ ^b φ	±	-	2+ ^b φ	±	3+ ^t φ	+ ^t φ		2+ ^b φ	2+ ^b φ	+ ^t φ	-	+ ^b φ	±	+ ^t φ	+ ^t φ
B037	-	+	+	-	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	
BO34	-	-	-	-	-	-	2+ ^b φ	-	-	-	-	-	3+ ^t φ	3+ ^t φ	+ ^t φ	-	3+ ^t φ	2+ ^t φ
BO50	-	-	-	3+ ^t φ	-	-	-	4+ ^t φ	-	-	-	±	±	2+ ^t φ	-	-	-	2+ ^t φ
BO59	-	-	-	-	-	±	±	-	-	-	+ ^b φ	-	3+ ^t φ	+ ^t φ	±	+ ^b φ	+ ^b φ	3+ ^t φ
BO24	-	-	-	-	-	-	-	-	3+ ^t φ		-	-	-	-	-	-	-	-
BO57	2+ ^t φ	-	-	-	+ ^t φ	-	-	2+ ^t φ	2+ ^t φ	2+ ^t φ	-	-	-	4+ ^t φ	3+ ^b φ	-	-	-
BO60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3+ ^t φ	3+ ^t φ	-	4+ ^t φ	4+ ^t φ	2+ ^t φ
DO44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+ ^b φ	-	-	-	-
Konak	DO40	KU66	BO42	BO53	YA8	DK67	BO4	BO63	AB30	E1	BO38	BO65						
Suş No																		
BO63	-	-	+ ^t φ	-	+ ^t φ	+ ^t φ	+ ^t φ	-	-	+/-	+ ^b φ	+ ^t φ						
B037	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+						
BO34	-	-	-	-	-	-	4+ ^t φ	2+ ^t φ	-	-	-	-						
BO60	+/-	+ ^b φ	-	-	-	-	+ ^b φ	2+ ^t φ	-	-	-	2+ ^t φ						
DO44	-	-	-	-	2+ ^t φ	-	-	-	-	-	+ ^t φ	-						
BO50	±	±	-	-	5+ ^t φ	±	±	2+ ^t φ	-	-	2+ ^t φ	±						
BO59	-	+ ^b φ	-	-	-	2+ ^t φ	+ ^b φ	+ ^b φ	-	-	+ ^b φ	2 ^t φ						
BO57	-	-	-	-	5+ ^t φ	-	-	2+ ^t φ	+ ^t φ	-	-	2+ ^b φ						

-; faj plağı /bakteriyosin yok, +/-; Bulanık lizis, +; 1≤3 mm faj plağı/bakteriyosin, 2+; 5≤10 mm faj plak/bakteriyosin, 3+; 11≤15 mm faj plak/bakteriyosin, 4+ ; 16≥20 mm faj plak/bakteriyosin, 5+ 20>35 mm faj plak/bakteriyosin, φ;



Şekil 17. Droplama yöntemi sonucu oluşan bakteriyofaj görüntüleri, A; BO38 konak B; BO32 konak C; YA48konak D; BO29 konak E; Yumuşak agar besiyerine plazma ilave edilmiş BO20 konak F; Yumuşak agar besiyerine plazma ilave edilmiş KU66 konak G; DO44 konak H; BO36 konak.

Tablo 18. Faj lizatlarının konak aralıkları ve oluşturdıkları zon çaplarına göre dağılımı.

Faj içeren Lizatlar	Konakları		Konak sayısı
	1-2+ olanlar	≥3+ olanlar	
BO34	YA46, DO41, BO39, DK67, KU49, BO5, BO63, BO57	BO20, BO26, YA47, KU66	12
AB35	DO41, BO39, BO20, KU49, AB45, BO5	BO26, YA47, KU66	12
BO50	BO28, BO63, BO37 BO61, BO39, BO63, BO37	KU66	5
BO55	BO39, BO20, DK67, KU49, BO26, YA47, DO41, BO28, BO63	BO50, KU66	11
BO54	BO57, BO39, DK67, AB45, DO41, BO5, BO37	BO20, KU49, BO26, YA47, KU66	12
KU49	BO61, BO39, KU49, DO41, BO28, BO63, BO37, BO59	KU66	9
BO20	BO61, BO39, BO63, BO37, BO34, BO59		6
BO32	BO57, BO6, DO41, DK67, BO5, BO37	YA46, BO50, BO39, BO20, KU49, BO26, YA47, AB45, KU66, BO28, BO63, KU66, BO24	17
BO59	YA48, BO57, DO41, BO39, DK67, KU49, BO26, YA47, YA52, BO5, BO63		13
BO23	BO61, BO53, BO57, DO41, DK67, KU49, BO26, DO44, BO58, KU66, BO5, BO37, BO57	BO20, YA47, YA52, AB45	17
YA47	YA48, YA52, BO63, BO37, BO59		5
BO57	BO61, BO50, BO63, BO37	YA52	5
DO40	YA46, BO61, YA52, BO28, BO37, BO60, BO50, BO59, PS72		9
KU66	BO50, BO28, BO60, BO59		4
BO42	BO63, BO37		2
BO53	YA47, BO58, BO37	YA48	4
YA8	YA48, DO41, DO44, BO63, BO37, PS72, BO28, BO20	BO50, BO53, BO39, DK67, YA47, YA52, BO5, E1, BO28, BO57	19
DK67	DK67, YA47, YA52, DO40, BO63, BO37, BO50, BO59, PS72, BO39	BO6, BO20, BO26, KU66,	14
BO4	BO61, BO39, AB45, BO37, BO60, BO59, BO39	BO34	8
BO63	BO61, BO53, BO57, BO39, DK67, YA47, YA52, DO41, BO28, BO37, BO34, BO60, BO50, BO59,	BO50,	15
AB30	BO53, KU49, YA47, DO41, BO37, BO57, PS72		7
E1	BO57, BO20, KU49, BO63, BO37	BO6,	6
BO38	YA46, BO61, BO57, DO41, DK67, BO26, YA47, BO58, BO63, BO37, DO44, BO59, PS72	BO50, BO53, YA52, E1, BO28	18
BO65	BO61, BO50, BO39, DO40, BO5, BO63, BO37, BO60, BO59, BO57	BO6, BO20, YA52, KU66	14

Tablo 19 (devam). Faj lizatlarının konak aralıkları ve oluşturdıkları zon çaplarına göre dağılımı.

BO64	BO61, DK67, DO40, BO5, E1, BO63, BO37, BO50, BO28, PS72, BO39, BO26	BO39, YA52, BO34, BO60, BO59	17
BO25	BO50, BO39, DK67, KU49, DO44, YA52, BO58, DO40, KU66, BO5, BO28, BO37, BO59	BO34, BO60, BO57	16
BO36	BO61, BO50, DO41, BO39, DK67, KU49, BO26, DO40, BO28, BO63, BO37, BO34, BO59	BO6, BO20, BO58, BO57	17
DO41	BO61, KU49, BO58, BO28, BO63, BO37, BO59	BO6, BO20, BO60,	10
AB45	YA48, BO61, BO50, BO6, BO39, BO58, DO41, BO5, BO28, BO63, BO37, BO59	BO34, BO60	14
BO6	DO41, BO28, BO63, BO34, BO60, BO50	BO59	7
BO5	AB35, BO5, BO36, BO55, DO41, BO37,		6
BO24	BO4, İD73, BO58		3
BO26	BO4, DO40, BO6, BO38, KU66, BO37	AB35	7
BO28	BO59, BO51, BO5, YA48, KU66		5
BO29	BO25, YA8, BO5, BO36, DO40, BO6, BO38, BO37,		8
YA33	BO4, BO25, İD73, BO71, BO5, BO32, BO58, DO44	BO23	9
BO27	BO51, YA8, BO70, BO5, DO40, KU66, BO74,	BO36, BO32	9
BO39	BO25, BO70, YA48, BO32, BO58, YA47		6
DO44	AB35, BO74, BO51, YA8, BO5, YA48, BO36, BO58, BO55, BO37, AB30, DO44		12
YA46	DO44, BO25, İD73, BO32, DO41		5
YA48	AB35, BO59, BO51, BO25, İD73, BO34, YA8, BO36, AB30	BO23	10
BO51	BO23, AB35, BO51, BO34, YA8, BO70, BO5, YA48, BO6, KU66, YA46,		11
YA52	BO54, BO74, İD73, BO70, BO5, DO40, BO6, BO38, DO44, KU66, BO32, BO65, YA46, BO29,		14
BO56	BO34, YA8, BO5, BO32, BO36, DO40, DO44, BO55, YA48		9
BO58	BO4, BO34, BO59, BO36, DO40, DO44, BO57, BO20, BO62, KU49	BO23, YA8	12
BO60	BO23, BO4, BO71, BO70, BO6, BO58, KU66, BO65, YA46, BO57, YA48		11
BO61	AB35, BO34, YA8, BO70, BO59, DO40, BO58, BO65, YA46, AB30, BO69, KU49, BO32, BO57	BO25	15
BO62	DO40, BO58, DO44, KU66, AB30		5

Çalışmada yapılan çapraz enfeksiyon sonucunda çok sayıda konakta faj içeriğinin var olduğu belirlendi. Konak olarak kullanılan 48 *S. pyogens* suşunun tümünü enfekte eden en az bir fajın var olduğu, bununla birlikte 29 farklı konağı (BO37) kullanabilen bakteriyofajında var olduğu gözlemlendi. Özellikle sırasıyla KU66, BO50, KU49, BO39, BO28, BO63, DO41, BO59, BO5, BO58 16 ile 20 farklı lizatlar tarafından enfekte edilen geniş konak aralığına sahip oldukları gözlemlenmiştir. Ayrıca BO32, BO38, BO25, BO36, BO23, YA8 ve BO64 lizatları 16 ila 20 farklı konağı enfekte edebildikleri, dolayısıyla geniş konak aralığına sahip faj içerdikleri belirlendi (Tablo 17).

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

A grubu streptokoklara bağlı enfeksiyonlar genellikle üst solunum yolu enfeksiyonları, deri yumuşak doku enfeksiyonları olarak karşımıza çıkmakla birlikte zaman zaman viral enfeksiyonlarla karışmakta ve gereksiz antibiyotik kullanımına neden olmaktadır. Etken yada etkenlerin teşhisi daha rasyonel antibiyotik kullanımını sağlamaktadır. Etkenler arasında önemli yeri olan Grup A Streptokokların (AGBHS), hızlıca saptanıp hastanın tedavi edilmesi, ciddi hastalık sekellerinin önlenmesi açısından oldukça önemlidir. Hastalığın doğru tanısında altın standart olarak kabul edilen kültürün zaman alıcı (48 saat gibi) olması nedeniyle hızlı antijen testleri (15 dakika) geliştirilmiştir. Çalışmamızda ilk hedeflenen, boğaz kültürlerinde kit ve kültür yönteminin birlikte karşılaştırılarak *S. pyogenes* izolasyon/identifikasyonun kıyaslanmasıydı. Bu amaçla toplam 272 boğaz sürüntü örneği incelendi (Tablo 6). Boğaz kültürü örneklerinin 51'inde (% 20,2) kit-Strep A (BO9, BO10, BO11, BO12, BO13, BO14, BO18, BO19, BO37 örnekleri hariç) ve kültür pozitifliği tespit edildi. Çalışmaya farklı numunelerin kültürlerinden (toplam 20 örnek) izole edilen *S. pyogenes*'lerde hızlı tanı testi ile doğrulama yapıldı.

Milletli Sezgin ve Cingör (2017) yaptıkları bir çalışmada Mikrobiyoloji Laboratuvarına tonsillofarenjit tanısı ile gönderilen (148 adet) boğaz sürüntü örnekleri çalışmaya alınmış, örneklere ABON Biopharm (China) strep hızlı antijen testi ile birlikte kültür testi uygulanmış, 148 boğaz sürüntü örneğinin 33'ünde (% 22.3) A grubu beta hemolitik streptokok üremesi saptanmıştır. Kültür üremesi pozitif bu örneklerin 27'sinde (% 18.2) strep hızlı antijen testi pozitif iken 2 örnekte ise sadece strep hızlı test pozitif olduğu bildirilmiştir. Belirtilen çalışmada strep hızlı antijen testinin % 82 duyarlılığa, % 98 özgüllüğe sahip olduğu belirtilmektedir.

Alınan örneklerde kültür pozitifliği (+) ; Mueller Hinton % 5 koyun kanlı agar besiyerinde bakterinin üremesi, koloni morfolojisi ve hemoliz özelliklerinin gözlenmesi, basitrasine (B) duyarlılığı ve SXT dirençliliği belirlenmesi şeklinde incelendi. Basitrasine duyarlı olanlar "S" ve SXT dirençli olanlar "R" ile gösterildi. Yaptığımız çalışmada kültür negatif (-) kit pozitif (+) bir sonuç hiç gözlenmedi ancak kit ve kültür birlikte negatiflik, 201 (% 73,9) örnekte belirlendi ve bu örnekler *S.*

pyogenes açısından negatif olarak değerlendirildi (Tablo 6, 7 ve 8). İncelenen örneklerin 71'inde (% 26,1) kültür pozitifliği, 62'sinde (% 22,8) ise kit ve kültür birlikte pozitifliği belirlendi. Örneklerin 9'unda kültür pozitif olmasına rağmen kit pozitifliği belirlenemedi. Çalışmamızda sonuç olarak kültürün güvenilirliği % 100, kitin (Strep A) güvenilirliği % 86,5 olarak tespit edildi. Saygılı vd. (2017) yaptıkları çalışmada 861'i (% 44,5) kadın, 1073'ü (% 55,5) erkek olmak üzere 1934 hasta incelenmiş, olguların yaşları 1-75 arasında olup, ortalaması $8,7 \pm 6,7$ olarak bildirmişlerdir. Örneklerin 214'i (% 11) kültür pozitif, 180'i (% 9,3) antijen testi pozitif bulmuşlardır. Üreme yoğunluğu daha fazla olan olguların hızlı antijen testi sonuçları anlamlı olarak daha yüksek olduğu, antijen testinin kültüre göre duyarlılığı % 84,1 olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda sonuçlarımızla uyumlu olduğu gözlenmiştir. AGBHS farenjit tanısında yüksek duyarlılığa sahip hızlı antijen testlerinin tercih edilmesi, erken tanı ve uygun tedaviye katkı sağlayacağı gibi antibiyotiklerin uygun kullanımı ile direnç gelişiminin önlenmesine de katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Aynı zamanda, negatif antijen test sonuçlarının kültürle doğrulanması, eksik ve yanlış tanı ve de tedavinin önlenmesi açısından oldukça önem olduğu düşünülmektedir.

Çalışmada A grubu Beta Hemolitik streptokok izole edilen toplam 71 hastanın 46'sı erkek ve 21'i kadın olduğu belirlenmiştir (Tablo 7 ve 8). Erkek bireylerde izolasyonun daha fazla olması örneklerin içinde rutin taramadan (8) izole edilen suşların varlığının da etki etmiş olduğu düşünülmektedir. Ancak bu yeterli sebep olmadığı, başka sebeplerin de olabileceği, örneğin erkeklerde hijyene çok dikkat edilmemiş olması düşünülebilir. Zira sağlık bakanlığı verilerine göre yapılan istatistik bir çalışmada % 61,6'sı ellerini günde 10 kezden fazla, % 26,9'u 6-10 kez, % 10,4'ü 3-5 kez ve % 1,0'ı 1-2 kez yıkadıklarını belirtmişlerdir. Ellerini 10 kezden fazla yıkayanların sıklıkları erkeklerde % 47,9, kadınlarda % 69,5; kırsal alanda % 60,8, kentsel alanda % 62,1 olarak bildirilmektedir (URL-8). Kadınların daha dirençli olduğu ve hijyene önem verdiği, daha sık el yıkama alışkanlığı olduğu düşünülebilir. Lamagni, vd. (2008) 2003 ve 2004 yıllarında 11 ülkede toplam 5.522 vakada yaptıkları bir çalışmada genel olarak, erkeklerde kadınlardan daha şiddetli *S. pyogenes* enfeksiyonu (% 53) olduğunu bildirilmiş olup çoğu ülke erkeklerde kadınlardan biraz daha fazla sayıda *S. pyogenes*'in gözlemlendiği ancak budurumun ülkeler arasında

anlamlı bir farklılığın olmadığı bildirilmektedir.

Ülkemizde bir çalışmada, 0-18 yaş arası hastaların, AGBHS prevalansı % 25 olarak bildirilmiş, başka bir çalışmada ise benzer şekilde % 24.6 belirtilmiştir (Gözüküçük vd., 2011; Altundağ Altun., 2015). Çalışmamızda ise 0-18 yaş arası başvuran hasta sayısı az olup (toplam 41) bunların 25'inde pozitiflik belirlenmiş, % 61 gibi bir oran gözlenmekte olup bu değerin yüksekliği klinik bulgusu doğru tanı konan ve viral enfeksiyon olmayan hastalarda olmasına bağlıdır. Barış vd. (2017) yaptıkları bir çalışmada yaşları 0-94 arasında 376'sı (% 45.2) kadın, 457'si (% 54.8) erkek olmak üzere 833 hasta incelenmiş, olguların 125'i (% 15) kültür pozitifliği bildirmişlerdir. Kültür pozitiflik oranı en yüksek 5-15 yaş arasındaki olgularda (% 18.4) belirlenmişlerdir. Bu sonuç çalışmamızla da uyumlu olup en yüksek kültür pozitifliği 2-18 yaş aralığında elde edilmiştir.

Çalışmada 2 yaşın altındaki çocuklarda *S. pyogenes* izole edilmemiştir. Bunun nedeni erken süt çocukluğu döneminde fetüse geçen maternal immunoglobülinler (IgG) nedeniyle streptokok enfeksiyonları bu yaşın altındaki bebeklerde baskı altında tutulduğu ve dolayısı ile bu grupta hiç hasta başvurusu olmadığı gözlenmiştir. Oltu vd. (2015) yaptıkları çalışmada toplam 134 (% 20.05) öğrencinin boğaz kültüründen *S. pyogenes* izole edilmiş, 10 yaş ve üzeri öğrencilerin AGBHS taşıyıcılık oranı, 7-9 yaş grubu öğrencilerine göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, AGBHS taşıyıcılık oranlarının; yaşa, mevsime, ülkelerin ve bölgelerin sosyo-ekonomik gelişmişlik oranlarına göre değiştiği görülmektedir (Shaikh vd., 2015). Çalışmamızda farklı yaş gruplarında enfeksiyon gözlenmesi bir çok faktöre bağlı olduğu (yaş, mevsim, iklim koşulları vb.) düşünülmektedir.

Çalışmada pozitif olarak belirlenen 67 örneğin kadınlarda 5'inde, erkeklerde 12' si olmak üzere toplam 17'si boğaz sürüntüsü dışındaki örneklerden *S. pyogenes* izole edilmiştir (Tablo 8 ve Tablo 9). Kadınlar grubunda boğaz sürüntü örneği dışında izole edilen 5 örneğin 4'ü yetişkin grup olup eritema, yumuşak doku ve idrar yolu enfeksiyonundan izole edilmesi önemli bulunmuştur. Erkek hastalardan 71 yaşındaki bir hastadan alınan eklem sıvısından (E1) ve 2 yaşındaki bir çocuktan pnömoni etkeni olarak izole edilmesi önemli bulunmuştur.

Lamagni, vd. (2008) yaptıkları bir çalışmada deri lezyonları-yaraları, vakaların % 25'inde bildirilen en yaygın predispozan faktör olduğu, deri ve yumuşak doku en sık görülen enfeksiyon odakları olduğu ve hastaların % 32'sinde selülit ile % 8'inde nekrotizan fasiitin varlığı bildirilmiştir. Çalışmamızda toplam 9 tane yara kültüründen *S. pyogenes* izole edilmiştir. Gündem ve Çıkman (2012) yaptıkları bir çalışmada toplam 153 yara kültüründen 71'inde (% 46.4) üreme saptanmış, bunların 3'ünde *S. pyogenes*, 4'ünde *Streptococcus* sp. izole ettikleri bildirilmiştir. Bu sonuçlar yara enfeksiyonunda *S. pyogenes*'in etken olabileceğini teyit etmekte olup önemli bir veri olarak düşünülmektedir. Bu suşlarda daha ileri ve özellikle patojenitenlerinin genetik tabanı araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

Çalışmamızda bir kadında idrar yolu enfeksiyonu (İD73) etkeni olarak *S. pyogenes* izole edilmiştir. *S. pyogenes* üst solunum yolu enfeksiyon etkeni olarak bilinmesine rağmen nadiren idrar yolu gibi üriner sistemde de etken olabilmektedir. Kırca vd. (2014) yaptıkları bir vaka takdiminde ağrılı idrar yapma, genital bölgede akıntı ve kaşıntı şikâyetleriyle gelen beş yaşındaki bir kız çocuğunda *S. pyogenes* varlığını bildirmişlerdir. Çalışmamız da benzer şekilde idrar yolu enfeksiyon etkeni olarak *S. pyogenes* izole edilmiş ancak bu etkenin vajinal kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda da, nadir de olsa doğurganlık yaşındaki kadınlarda da vajiniteneden kaynaklı olan *S. pyogenes* bildirilmektedir (Verstraelen vd., 2011).

Lamagni, vd. (2008) tarafından 2003 ve 2004 yıllarında teşhis edilen şiddetli *S. Pyogenes* enfeksiyonunun potansiyel popülasyona dayalı surveyansı, Avrupa genelinde 11 ülkede (Kıbrıs, Çek Cumhuriyeti, Danimarka, Finlandiya, Fransa, Almanya, Yunanistan, İtalya, Romanya, İsveç ve Birleşik Krallık) gerçekleştirmişlerdir. Toplam 5.522 vaka tespit edilmiş, mevsimsel enfeksiyon paternleri ülkeler arasında dikkate değer bir uyum gösterdiği belirlenmiştir. Enfeksiyon riski yaşlılar arasında en yüksek olduğu ve daha az oranda, bebeklerin evrensel olarak en yüksek enfeksiyon riski taşıdıkları bildirilmiştir.

Çalışmamızda farklı (kültür ve kit) metod ile *S. pyogenes* tanısının yapılması ve, metodlar arasındaki korelasyonun belirlenmesi hedeflenmiş olup sonuçların istenilen hedeflere ulaştığı gözlenmiştir. Hızlı tanı testi ile pozitif çıkan sonuçların kültür ile teyit edilmesi gerekmediği, ancak hızlı tanı testi sonucu negatif çıkan hastaların altın standart sayılan kültür metodu ile doğruluğu kontrol edilmelidir. Çünkü hızlı tanı testi alınan numunenin uygunluğu, uygun koşullarda laboratuvara ulaştırılması ve zamanında testin yapılması vb. nedenler olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Aynı zamanda klinik bulgunun başlangıç aşamasında yeterli sayıda *S. pyogenes*'in bulunmaması da etkenler arasında yer alabilmektedir.

Hızlı antijen testlerinin doğruluk oranının yüksek olabilmesi için mutlaka kültür ve hızlı tanı testi için mutlaka es zamanlı örnek alımında iki ayrı sürüntü çubuğu kullanılmamıştır. Çalışmamızda da ikili çubuk yöntemi kullanılmıştır. Strep hızlı antijen testi gereksiz antibiyotik kullanımını azaltmak için rutinde kullanımının zorunlu olduğu, ancak negatif olan örneklerle es zamanlı kültür testi yapılarak komplikasyonların önlenmesinin önemli olacağı sonucuna varılmıştır. Çalışmada kültür negatif kit pozitif örneğin rastlanmamış olması, kültürün güvenilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir. Tam tersi durum (kit negatif, kültür pozitif) varlığı aynı zamanda kültürün altın standart olduğunu teyit etmektedir (Tablo 8 ve Tablo 9).

Brow ve Rybak (2004) yaptıkları çalışmada 2001-2002 döneminde toplam 4508 *S. pyogenes* izolatı (% 92.5'i boğaz kültürlerinden) alınmış ve tümünün penisiline karşı hassas olduğu bildirilmiştir. Ancak izolatların eritromisine % 5.7'inin MİK>1 mg/L değerine dirençli ve % 0.3'ünün ise MİK 0.5 mg/L konsantrasyona orta dereceli olduğu, aynı şekilde klaritromisin ve azitromisine de direnç ve orta dirençli oldukları bildirilmiştir. Uysal vd. (2014) yaptıkları çalışmada A grubu beta hemolitik streptokok suşlarında sırası ile tetrasikline % 14.5, ampisiline ve eritromisine % 13.5, klaritromisine % 10.4 oranında direnç görüldüğünü bildirmişlerdir. Lloyd vd. (2007), AGBHS'lar arasında tetrasikline (% 27.4) ve eritromisine (% 16.2) karşı direncin gözlemlendiğini ve bu direncin arttığını tespit etmişlerdir. Çalışmalarda gözlemlendiği üzere toplumda yoğun antibiyotik kullanımı, günlük diyetlerde bulunan yoğun gıda katkı maddeleri vb. nedenlerle bakterilerin direnç patentlerinde artan oranda değişimin söz konusu olduğu gözlenmektedir.

Bu nedenle tedavide alternatif yöntemlerin araştırılması gerekmektedir. Bu amaçla günümüzde farklı yöntemler önerilmekte veya geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu yöntemlerden biri bakteriyofajlarla tedavi işlemidir.

Bakteriyofajların tedavide kullanımı, son birkaç yıl içinde önemli ilgi odağı olmuştur. Bunun nedeni, antibiyotiğe dirençli bakteri suşlarının tedavisinde artan zorluklardan kaynaklanmaktadır. Çağdaş tıpta ciddi bir problem olan bakterilerin antibiyotiklere direnci, faj lizis mekanizmalarında dirence neden olmamasıdır. Lytic bakteriyofajları, faj enfeksiyon döngüsünün sonunda antibiyotiğe duyarlı ve dirençli tüm bakterileri öldürebilir. Bu nedenle, faj terapisinin geliştirilmesi potansiyel olarak bakteriyel enfeksiyonların tedavisini iyileştirmenin bir yoludur. Fajlara karşı immünolojik reaksiyonları, bakteri virüslerinin tipine bağlı olarak değişebilirlikler ve özellikle intravenöz tedavi düşünülüyorsa, her bir fajın immünolojik tepkisini test etmek çok önemlidir. Geçmiş yıllarda bu verilerin olmayışı yüzyıllarca süren faj terapi çalışmalarının terkinin nedenlerinden biri olmuştur. Son araştırmaların ümit verici sonuçları, daha büyük ölçekte uygulanabilen bir faj terapisinin geliştirilebilmesi beklentisini oluşturdu.

Hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterilerde, ılıman bakteriyofajlarda, temel viral proteinlerine ek olarak toksinlerin ve virülans faktörlerin gen bölgelerini kodladıkları bilinmektedir (Dobrindt ve Reidl, 2000). Lizojeni, her iki türe de (bakteri ve faja) evrimsel avantaj sağlar, çünkü faja sahip virülans, patojenin ökaryot ve profaj içinde konakçı kromozomu ile dikey iletim yoluyla daha başarılı bir şekilde çoğalmasını sağlar. *Streptococcus pyogenes*, fajları toplam genomun % 10'unu oluşturan ve geniş bir pirojenik ekzotoksin sınıfının da dahil olduğu çok çeşitli farazi ve yerleşik virülans faktörlerini kodladığı, çoğaltılmış bir liyojenize organizmadır (Ferretti vd., 2001; Weeks ve Ferretti, 1984).

Çalışmada 48 *S. pyogenes* suşlarının faj taşıyıcılığı, 67 farklı konakta konak genişliği, sıvı besiyerinde üreme hızları ve indüklendikten sonra liz olma süreleri araştırıldı (Tablo 10). Örneklerin 35'ü 120 dakikada erken logaritmik üreme fazına geçtikleri ve indüklendikten sonra 18 izolatta yaklaşık 4 saatte kültürün litik bakteriyofaj salınımı gözlemlendiği ve kültürün liz olduğu belirlendi. Diğer 16 kültürün ise ancak 24 saat sonra tamamen liz olduğu gözlemlendi. Örneklerin yalnızca 4'ünde lizis

gözlenmediği ve bunlarında litik bir bakteriyofaj içermediği yada Mitomisin-C ile indüklenemediği düşünülmektedir (Tablo 11, Şekil 16). Buna göre indüklenen konakların 14'ü güçlü liz olduğu dolayısıyla bu konakların fajları güçlü endolizis aktivitesine veya güçlü promotor bölgelerime sahip olduğu düşünülmektedir. Bu konuda daha detaylı çalışmaların yapılması ve en etkili fajın belirlenmesi gen bölgelerinin araştırılması gerekmektedir. Bu fajların güçlü lizisi ve kolay aktive olmaları, konak mikroorganizmaları kolay enfekte edip liz edebilecekleri varsayıldığında potansiyel mikrobiyal ajan olabileceği düşünülmektedir.

Bakteriyofajlar, konağı parçalayarak yeni viryonlarını serbest bırakmak için önemli bir mekanizma olarak konak bakteri hücre duvarını tahrip eder. Bu amaçla iki bileşenli lizis sistemlerini kullanır. Bazı litik bakteriyofajlar, peptidoglikanın sentezini inhibe etmek için tek protein grubunu (amurinler) kullanır (Woz'nica vd., 2015). Bununla birlikte, çoğu konukçu hücreyi öldürmek için iki protein grubu kullanmaktadır. İlk olanlar, holinler, lizise neden olmak için ikinci olanlar ile endolizinler ile sinerjize olur. Birlikte, holin-lisin sistemlerini oluştururlar (Drulis-Kawa vd., 2015; Loessner, 2005).

Holinler, konakçı hücre lizisini tetikleme işlemine katılır. Rollerini konakçı sitoplazmik zarı delmek ve böylece onlara bakteriyel peptidoglikana erişim sağlayarak endolizinler ile işbirliği yapmaktır. Bu nedenle, holinler bakteriyel lizis süresini belirler. Kesin bir zaman noktasında hareket ederek, faj endolizinleri için bakteriyel murein erişilebilirliğini kontrol ederler ve böylece holin lizin sisteminin aktivitesini faj replikasyon döngüsünün son faz olaylarıyla senkronize ederler (Dewey vd., 2010; Shi vd., 2012).

Faj endolisinler, hücre duvarı bozulmasından sorumlu enzimatik proteinlerdir (Wang vd., 2000). Bakteriyofajlar onları enfekte bakterilerin peptidoglikanını hidrolize etmek için kullanırlar (Schmelcher vd., 2012). Endolisinler, murein yıkımıyla bakteri hücrelerini öldürmek için endopeptidaz, amidaz, glikozidaz veya litik transglikosilaz aktivitelerini gerçekleştirir (Donovan vd., 2008; Linden vd., 2015; Nelson vd., 2012). Faj çoğaltma döngüsünün sonunda hareket eden endolysinler, yeni oluşan virionlarının salınımını teşvik eder. Gram-pozitif bakterileri hedef alan enzim, hücre duvarı bağlanma alanlarında hücre duvarına bağlanır ve böylece peptidoglikan yüzeyi

üzerinde immobilize kalır. CBD, endolizinin, enzimatik proteinin bir katalitik fonksiyonunu yerine getiren endolizinin enzimatik olarak aktif alanı ile sinerjize ederek hidrolitik etkilerine katkıda bulunur. Bu işlem sırasında endolizin, peptidoglikan yapısının bir bölgesine sıkıca bağlı kalır (Schmelcher vd., 2012).

Holin-lisin sistemi, belirli bir zaman diliminde faj enfeksiyonu döngüsünün sonlandırılmasından sorumludur. Endolysinlerin bakteri hücre duvarı üzerindeki etkisi, çift başlangıçlı model tarafından açıklanan mekanizma yoluyla hassas zamanlamaya tabi tutulur. Bu modelde, bakteriyel lizis zamanı, holin ve onun antagonisti antiholin arasındaki orana bağlıdır. Holin antiholin oranının yükselmesi, endolizinin periplazmaya ulaşmasına ve konakçı peptidoglikanı bozmaya başlamasına izin veren plazma zarı bütünlüğünün kaybı (Shi vd., 2012) ile takip edilir (To vd., 2014).

Çalışmada faj indüksiyonunda kullanılan sıvı besiyeri olan MHB, *S.pyogenes*'in kültürü için uygun olduğu bilinmektedir. Ancak CaCl₂ ve MgCl₂ ilavesinin faj indüksiyonunda önemli katkı sağladığı, bir çok çalışma ile uyumlu bir sonuç olduğu gözlenmektedir (Tablo 10). CaCl₂ ve MgCl₂ ilavesinin holin proteinlerinin açılmasına destek verdiği bilinmektedir. Çalışmalarımızda droplama yönteminde olduğu gibi yumuşak agar besiyeri kullanıldı. Droplama yönteminde bazı suşlarda konak olarak *S. pyogenes* bakterileri yeterli miktarda üreme gözlenmedi. Bu sebeple fajın varlığı veya yokluğu belirlenemedi. Bunun sebebinin yumuşak agar besiyerinin *S. pyogenes*'in üremesi için yeterli kültür ortamını sağlamadığı düşünülmektedir. Zira *S. pyogenes* bakterisinin üremesi için en uygun ortam zenginleştirilmiş besiyer olan Müeller Hinton % 5 koyun kanlı agar besiyeridir. Bu nedenle üremeyen bazı konaklarımızda yumusak agar besiyerini zenginleştirmek için serum veya plazma ilave ederek yumuşak agarda yeterli miktarda üremesi sağlanmış olup olumlu sonuçlar alınmıştır (Şekil 15 ve 17).

Çalışmada test edilen 48 lizatin 67 konak üzerine damlatma yöntemiyle yapılan çapraz enfeksiyonda çok sayıda fajın varlığı ve konak genişliği belirlenmiştir (Tablo 12, 13,14,15,16 ve 17, Şekil 17).

İzolatların aynı şartlarda ve miktarlarda pasajları yapılmasına rağmen farklı sürelerde erken midlog fazına gelmiş olmaları, suşların farklı biyotip özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. BO56, BO61 ve BO29 izolatları hızlı midlog fazına girmekle birlikte faj içermedikleri ya da litik faj taşımadıkları düşünülmektedir. BO62 ve BO4 ile BO24 ve BO39 daha yavaş midlog fazına ulaşırken daha hızlı faj indüksiyonu gözlenmektedir. Tüm bu sonuçlar farklı konaklardan izole edilen suşların benzer ve farklı özelliklere sahip biyotipler olduğunu göstermektedir.

Bakteriyofajlar, A grubu streptokok 'daki yaygın otonom göç eden mobil genetik elementlerdir ve genellikle toksinler, mitojenler ve enzimler dahil olmak üzere çeşitli virülans genlerinin taşınması ile ilişkili oldukları bildirilmektedir (Suvorov vd., 2009). Faj ve fajla ilişkili virülans genlerinin varlığı için, invaziv (22 suş) ve invaziv olmayan (16 suş) klinik vakadan izole edilen iki AGBHS tipi M49 suşu çalışılmıştır. İstilacı M49 suşlarının iki spesifik bütünleyici gen taşıdıklarını (int 5 ve int 7) ve toksin genlerini speA, speH ve speI içerdiklerini gösterilmiş. Bu gen profilinden yoksun olan diğer istilacı suşlar mut-mutS bölgesine entegre olan ve "mutatör" fenotipini indükleyen profajı taşıdığı bildirilmiştir. Bu spesifik fajla ilişkili virülans gen takımları, M49 GAS patojenitesini artıran önemli bir faktör olabileceği bildirilmektedir (Suvorov vd., 2009).

Çalışmamızda test edilen *S. pyogenes* suşlarının çoğunda faj indüksiyonu gözlenmesi suşları faj taşıyıcılığını belirtmektedir. Bakteriyofajlar gen aktarımında da önemli aracı moleküllerdir. Çalışmamızda belirlenen fajların konak genişliğinin çok olması aynı zamanda gen faj aktarımının muhtemel risklerini de ortaya koymaktadır. Özellikle toplu yaşam alanlarında farklı suşlar arasında çapraz enfeksiyon antibiyotik direncini de tetikleyebileceği dikkate alınmalıdır. Bu açıdan faj terapisi yapılması için kullanılacak fajların ful genom analizi ile direnç genleri içermediklerinin belirlenmesi de gerekmektedir. *S. pyogenes*'te transdüksiyon ilk olarak 1968'de transdüksiyon ile (üç litik ve iki lizojenik bakteriyofaj) streptomisin direncini nasıl ilettiğini ayrıntılı olarak açıklamıştır (Leonard vd., 1968). Bildirilen fajlardan A25 (faj 12204), en yüksek frekansta transdüksiyon ile antibiyotik direnci aktarabildiği bildirilmektedir.

Sonuçlara genel olarak bakıldığında konak genişliği açısından incelendiğinde tüm suşların farklı kaynaklı *S. pyogenes* suşu içerdiği gözlenmektedir. Bu sonuç ise konakların farklı olmasına rağmen faj içeriğinin benzer olabileceği dolayısıyla faj terapi yönteminin streptokok tedavisinde yüksek başarı sağlayabileceği düşünülmektedir. Çalışmanın daha ileri düzeye taşınması gerektiği her gruptan seçilecek lizatların incelenerek faj morfolojisinin belirlenmesi, DNA veya RNA fajı olup olmadıkları belirlenmesi ve bu suşların faj terapide kullanım yollarının araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

Uzun yıllardır enfeksiyon etkeni olarak karşılaşılan streptokok cinsi bakterilerin insan sağlığı için öneminin hiç azalmadığı hatta giderek daha fazla önem kazandığı görülmektedir. Toplumsal kaynaklı enfeksiyonların önemli etkenleri olmalarının yanında streptokoklar hastane enfeksiyonu etkeni olarak da akılda tutulması gereken mikroorganizmalar olarak karşımıza çıkmaktadırlar ve özellikle altta yatan hastalığı olan olgularda önemli morbidite ve mortalite oluşturan enfeksiyonlara yol açabilmektedirler.

Bu ciddi enfeksiyon hastalığı oluşturabilen *S. pyogenes* suşlarında yavaşça olsa görülmekte olan ve hızla artan oranda karşımıza çıkan antibiyotik direncinin önlenmesinde faj terapinin önemli olduğu bilinmektedir. Faj terapide konak spesifikliğı olduğundan dolayı her ülkenin kendi konak suşlarına özgü fajların belirlenmesi ve spesifik tedavi yada lokal suşlara yönelik terapi düşünülmesi gerekmektedir. Bu açıdan düşünüldüğünde çalışmanın ülkemizde bu alanda yapılan ilk çalışma olması açısından önemli olduğu, faj terapi çalışmalarına önemli bir bilgi ve kaynak oluşturduğu düşünülmektedir.

5. ÖNERİLER

Çalışmanın daha ileri düzeye taşınması gerektiği her gruptan seçilecek lizatların incelenerek faj morfolojisinin belirlenmesi, DNA veya RNA fajı olup olmadıkları belirlenmelidir. Bu suşların faj terapide kullanım yollarının araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

Uzun yıllardır enfeksiyon etkeni olarak karşılaşılan streptokok cinsi bakterilerin insan sağlığı için öneminin hiç azalmadığı hatta giderek daha fazla önem kazandığı görülmektedir.

Toplumsal kaynaklı enfeksiyonların önemli etkenleri olmalarının yanında streptokoklar hastane enfeksiyonu etkeni olarak da akılda tutulması gereken mikroorganizmalar olarak karşımıza çıkmaktadırlar ve özellikle altta yatan hastalığı olan olgularda önemli morbidite ve mortalite oluşturan enfeksiyonlara yol açabilmektedirler.

Sonuçlara genel olarak bakıldığında konak genişliği açısından incelendiğinde 4 gruba ayrıldığı gözlenmektedir. Her grup içinde farklı kaynaklı *S. pyogenes* suşu içerdiği gözlenmektedir. Bu sonuç ise konakların farklı olmasına rağmen faj içeriğinin benzer olabileceği dolayısıyla faj terapi yönteminin streptokok tedavisinde yüksek başarı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Çalışmanın daha ileri düzeye taşınması gerektiği her gruptan seçilecek lizatların incelenerek faj morfolojisinin belirlenmesi, DNA veya RNA fajı olup olmadıkları belirlenmelidir. Bu suşların faj terapide kullanım yollarının araştırılması gerektiği düşünülmektedir.

Boğaz kültürü yapılması, doğru ilacın kullanılmasını sağlamaktadır. Kültür yapılarak, yanlış antibiyotik kullanımı, bundan doğacak ekonomik kayıp ve en önemlisi, bakterilerin ilaçlara karşı direnç kazanması önlenmektedir. Uygun tedavi yapılmazsa, bu mikroorganizmalar bazen kalp, eklem ve böbrek hastalıklarına bile neden olabilmektedir (URL-1).

KAYNAKLAR

- Akçakaya, N.B., 2000.** Çocukluk çağlarında tekrarlayan Streptokok enfeksiyonları. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Solunum Yolu Enfeksiyonları Sempozyumu, İstanbul, 21 Ocak 2000, 37-42.
- Alatossava, T., Formsan, P. and Ritzenthaler., 1995.** Genome homology and superinfection immunity between temperate and virulent *Lactobacillus delbrueckii* bacteriophages. Archives of Virology, 140, 2261-2268.
- Alpay, Ş., 1999.** Vajinal Kaynaklı Laktobasillerde Bakteriyofaj ve Bakteriyosinlerin Araştırılması. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, Türkiye, 124, 11-20.
- Altundağ Altun, H., Meral, T. ve Türk Arıbaş, E., 2015.** The specificity and sensitivity results of the rapid antigen test used in the diagnosis of group a beta hemolytic *Streptococcal tonsillopharyngitis*. Acta Medica Mediterranea, 31, 287, 90.
- Ashgar, S.S., Abeer, B., Johargy, A., El-Said, H.M., Mukhtar, M.H. and Saat, A.A., 2016.** Prevalence of *Streptococcus pyogenes* among preschool children ages 4 to 6 in Makah city, Saudi Arabia. Medicine seceience and Healtchare Journal, 10, 6.
- Barış, A., Anlıaçık, N., Bulut, M.E., Deniz, R., Yücel, E. ve Aktaş, E., 2017.** A Grubu Beta Hemolitik Streptokok farenjiti tanısında Mascia Brunelli hızlı antijen testinin değerlendirilmesi. Mikrobiyoloji Bülteni, 51, 1, 73-78. DOI: 10.5578/mb.43448.
- Beres, S.B., Sylva, G.L., Barbian, K.D., Lei, B., Hoff, J.S., Mammarella, N.D., Liu, M., Smoot, J.C., Porcella, S.F., Parkins, L.D., Campbell, D.S., Smith, T.M., McCormick, J.K., Leung, D.Y., Schlievert, P.M. and Musser, J.M., 2002.** Genome sequence of a serotype M3 strain of group A Streptococcus phage encoded toxins, the high virulence phenotype, and clone emergence. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99, 10078-10083.
- Beutin, L., Strauch, E. and Fischer, I., 1999.** Isolation of *Shigella sonnei* lysogenic for a bacteriophage encoding gene for production of Shiga toxin. The Lancet, 353, 1498.
- Bilgehan, H., 2004.** Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları, 4. Baskı.
- Bisno, A.L. and Stevens, D.L., 2005.** Streptococcus pyogenes In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. principles and practice of infectious diseases. 6th ed. Philadelphia. Elsevier Churchill Livingstone, 2362.

- Bisno, A.L., Rubin, F.A., Cleary, P.P. and Dale, J.B. 2005.** Prospects for a group A streptococcal vaccine rationale, feasibility, and obstacles report of a National Institute of Allergy and Infectious Diseases workshop. *Clinical Infectious Diseases*, 41, 1150-1156. DOI: 10.1086/444505.
- Bohach, G.A., Fast, D.J., Nelson, R.D. and Schlievert, P.M., 1990.** *Staphylococcal* and *streptococcal* pyrogenic toxins involved in toxic shock syndrome and related illnesses. *Critical Reviews in Microbiology*, 17, 251-272.
- Broudy, T.B., Pancholi, V. and Fischetti, V.A., 2002.** The in vitro interaction of *Streptococcus pyogenes* with human pharyngeal cells induces a phage encoded extracellular DNase. *Infection and Immunity*, 70, 2805-2811.
- Broudy, T.B. and Fischetti, V.A., 2003.** In vivo lysogenic conversion of Tox S. *pyogenes* to Tox⁺ with lysogenic streptococci or free phage. *Infection and Immunity*, 71, 7, 3782-3786.
- Brown, S.D. and Rybak, M.J., 2004.** Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* and *Haemophilus influenzae* collected from patients across the USA, in 2001-2002, as part of the protekt US study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54. DOI: 10.1093/jac/dkh313.
- Capoor, M.R., Nair, D., Deb, M., Batra, K. and Aggarwal, P., 2006.** Resistance to erythromycin and rising penicillin MIC in *Streptococcus pyogenes* in India. *The Journal of Infectious Diseases*, 6, 334, 6.
- Carapetis, J.R., Steer, A.C., Mulholland, E.K. and Weber, M., 2005.** The global burden of group A streptococcal diseases. *The Lancet Infectious Diseases*, 11, 685-694. DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70267-X.
- Cizman, M., Pokorn, M. and Seme, K., 2001.** The relationship between trends in macrolide use and resistance to macrolides of common respiratory pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47, 7.
- Davies, H.D., McGeer, A., Schwartz, B., Green K., Cann, D., Simor, A.E. and Low, D.E., 1996.** Invasive group A streptococcal infections in Ontario, Canada. Ontario Group A Streptococcal Study Group. *New England Journal of Medicine*, 335, 547, 54.
- De, F. and Bourne, S., 2007.** Phage as an antimicrobial agent: d'Herelle's heretical theories and their role in the decline of phage prophylaxis in the West. *Canadian Journal of Infectious Diseases Medical Microbiology*, 18, 1, 19-26.
- Dewey, J.S., Savva, C.G., White, R.L., Vitha, S., Holzenburg, A. and Young, R., 2010.** Micron scale holes terminate the phage infection cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 2219-2223. DOI: 10.1111/mmi. 12439.

- Dobrindt, U. and Reidl, J., 2000.** Pathogenicity islands and phage conversion evolutionary aspects of bacterial pathogenesis. *International Journal of Medical Microbiology*, 290, 519-527.
- Donovan, D.M. and Foster-Frey, J., 2008.** Lambda Sa2 prophage endolysin requires Cpl-7-binding domains and amidase-5 domain for antimicrobial lysis of streptococci. *Federation of European Microbiological Societies Letters*, 287, 22-33. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01287.x.
- Drulis-Kawa, Z., Majkowska-Skrobek, G. and Maciejewska, B., 2015.** Bacteriophages and phage derived proteins application approaches. *Current Medicinal Chemistry*, 22, 1757-1773. DOI: 10.2174/0929867322666150209152851.
- Emond, E. and Moineau, S., 2007.** Bacteriophages and food fermentations, p. 93-124. *In* S. McGrath and D. van Sinderen (ed.), *Bacteriophage: genetics and molecular biology*. Horizon Scientific Press. Caister Academic Press, New York, NY.
- Ergin, F., Yıldız, G., Çomak Göçer, E.M. ve Küçükçetin, A., 2017.** Bakteriyofajların antibakteriyel ajan olarak kullanımı. *Akademik Gıda*, 15, 2, 172-181. DOI: 10.24323/akademik gida.333674.
- Ferretti, J.J., McShan, W.M., Ajdic, D., Savic, D.J., Savic, G., Lyon, K., Primeaux, C., Sezate, S., Suvorov, A.N., Kenton, S., Lai, H.S., Lin, S.P., Qian, Y., Jia, H.G., Najar, F.Z., Ren, Q., Zhu, H., Song, L., White, J., Yuan, X., Clifton, S.W., Roe, B.A. and McLaughlin, R., 2001.** Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98, 4658-4663.
- Gözüküçük, R., Göçmen, İ., Nas, Y., Yilmazer, F. ve Ünüvar, E., 2011.** Streptokoksik tonsillo farenjit tanısında strep A hızlı testinin etkinliği. *Çocuk Dergisi*, 11, 157, 9.
- Granizo, J.J., Aguilar, L., Casal, J., Dal-Ré, R. and Baguero, F., 2000.** *Streptococcus pyogenes* resistance to erythromycin in relation to macrolide consumption in Spain (1986-1997). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 46, 6, 959-964.
- Green, M., Martin, J.M., Barbadora, K.A., Beall, B. and Wald, E.R., 2004.** Reemergence of macrolide resistance in pharyngeal isolates of group A streptococci in southwestern Pennsylvania, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48, 2, 6.
- Guttman, B., R. Raya, and Kutter, E., 2005.** Basic phage biology, p. 29-66. *In*: E. Kutter and A. Sulakvelidze (eds.), *Bacteriophages. Biology and Application*. CRC Press, Boca Raton, FL.

- Gündem, N.S. ve Çıkman, A., 2012.** Yara kültürlerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, 26, 4, 165-170. DOI: 10.5222/ankem.2012.165.
- Gündoğdu, A. ve Ulu-Kılıç, A., 2018.** Bakteriyofaj Terapisi. Unutulmuş Bir Şifa Kaynağı. *Klinik Dergisi*, 31, 2, 78-87.
- Hankin, E.H., 1896.** L'action bactericide des eaux de la Jumna et du Gange sur le vibron du cholere. *Annales de l'Institut Pasteur*, 10, 511, 23.
- Haq, I.U., Chaudhry, W.N., Akhtar, M.N. and Andleeb, S., 2012.** Bacteriophages and their implications on future biotechnology a review. *Virology Journal*, 9, 1, 9.
- Harper, D.R., Mcconville, M., Anderson, F.J., Enright, M.J., 2015.** Molecular Medical Microbiology Second Edition Volume I Chapter 31. Ed. Tang Y., Sussman M., Liu D., Poxton I, Schwartzman Journal Academic Press, Elsevier, pp.567- 581.
- Hendrix, R.W. 2002b.** Bacteriophage λ and Its Relatives. 127-144 pp. In *Modern Microbial Genetics*, 2nd Eds Uldis N Streips and Ronald E. Yasbin. A John Wiley&Sons, Inc, Publication. New York. 655.
- Himmelweit, F., 1945.** Combined action of penicillin and bacteriophage on *Staphylococci*. *Lancet*, 246, 104, 5.
- Hynes, W.L. and Ferretti, J.J., 1989.** Sequence analysis and expression in *Escherichia coli* of the hyaluronidase gene of *Streptococcus pyogenes* bacteriophage H4489A. *Infection and Immunity*, 57, 2, 533-539.
- Jaklik, W.K., Willet, H.P., Amos, D.B., 1984.** Zimmers Microbiology, London.
- Kara, A., Özkaya Parlakay, A., Gür, D., Cengiz, A.B., Tezer, H., Çiftçi, E., Keser, M., Özen, M., Çultu Kantaroğlu, Ö., Tutanc, M., Salihoğlu, B., Yüksekaya, Ş., Çelikel, E., İnce, E., Arıca, V., Hatipoğlu, S., Odabaş, D., Altay, F., Karbuz, A. ve Ceyhan, M., 2011.** Grup A Beta Hemolitik Streptokok Türkiye makrolid direnç değerlendirmesi pilot çalışma sonuçları. *Journal of Pediatric Infection*, 5, 96, 9.
- Kırca, F., Özdem, B., Taş, E.E., Aşar, A.F. ve Açıkgöz, C., 2014.** A case report of prepubertal vaginitis caused by *Streptococcus pyogenes*. *Journal of Pediatric Infection*, 8, 121, 4.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C. and Winn, W.C., 1997.** Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th Edition. Lippincott Raven Publisher, 1296-1395.
- Kutateladze, M. and Adamia, R., 2010.** Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends in Biotechnology*, 28, 12, 5.

- Klug, W.S. and Cummings, M.R. 2000.** Concepts of Genetics. Prentice Hall, 6th Edition, 816 p, Öner, C. (Ç. Ed.).
- Lamagni, T.L., Darenberg, J., Luca-Harari, B., Siljander, T., Efstratiou, A., Henriques-Normark, B., Vuopio-Varkila, J., Bouvet, A., Creti, R., Ekelund, K., Koliou, M., René Reinert, R., Stathi, A., Strakova, L., Ungureanu, V., Schale'n, C., the Strep-EURO Study Group, and Jasir, A., 2008.** Epidemiology of severe *Streptococcus pyogenes* disease in Europe. Journal Of Clinical Microbiology, 2359-2367.
- Leonard, C.G., Colón, A.E. and Cole, R.M., 1968.** Transduction in group A streptococcus. Biochemical and Biophysical Research Communications, 30, 2, 130-135.
- Levin, B.R. and Bull, J.J., 2004.** Population and evolutionary dynamics of phage therapy. Nature Reviews Microbiology, 2, 166-173.
- Lindberg, A.A., 1973.** Bacteriophage receptors. Annual Reviews Microbiology, 27, 205-241.
- Linden, S.B., Zhang, H., Heselpoth, R.D., Shen, Y., Schmelcher, M., Eichenseher, F. and Nelson, D.C., 2015.** Biochemical and biophysical characterization of PlyGRCS, a bacteriophage endolysin active against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Applied Microbiology and Biotechnology, 99, 741-752. DOI: 10.1007/s00253-014- 5930-1.
- Lloyd, C.A., Jacob, S.E., Menon, T., 2012.** Antibiotic resistant beta hemolytic streptococci. Indian Journal of Pediatrics, 74, 1077-1080.
- Loessner, M.J., 2005.** Bacteriophage endolysins current state of research and applications. Currant Opinion in Microbiology, 8, 480-487. DOI: 10.1016/j.mib.2005.06.002.
- Lowbury, E.J. and Hurst, L., 1959.** The sensitivity of *Staphylococci* and other wound bacteria to erythromycin, oleandomycin and spiramycin, J. Clin. Pathol., 12(2), 163 Eh, Hankin L'action bactericide des eaux de la Jumna et du Gange sur le vibron du cholera. Annales de l'Institut Pasteur,, 896, 10, 511-23. Fw, Twort An investigation on the nature of ultramicroscopic viruses. Lancet, 186, 3.
- Macris, M.H., Hartman, N. and Murray, B., 1998.** Studies of the continuing susceptibility of group A streptococcal strains to penicillin during eight decades. The Pediatric Infectious Disease Journal, 17, 377, 81.
- Milletli Sezgin, F. ve Cingör, Z. 2017.** Tonsillofarenjit tanılı hastalarda hızlı strep antijen testi sonuçlarının değerlendirilmesi. 4. Uluslararası Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, 8-12 Kasım.

- Nelson, D.C., Schmelcher, M., Rodriguez-Rubio, L., Klumpp, J., Pritchard, D.G., Dong, S. and Donovan, D.M., 2012.** Endolysins as antimicrobials. *Advances in Virus. Research*, 83, 299-365. DOI: 10.1016/B978-0-12-394438-2.00007-4.
- Nilsson, A.S., 2014.** Phage therapy-constraints and possibilities. *The Journal of Mesopotamian Studies*, 119, 192-198.
- O’Grady, K., Kelpie, L., Andrews, R.M., Curtis, N., Nolan, T.M., Selvaraj, G., Passmore, J.W., Oppedisano, F., Carnie, J.A. and Carapetis, J.R., 2007.** The epidemiology of invasive group A streptococcal disease in Victoria. *The Medical journal of Australia*, 186, 565-569.
- O’Loughlin R.E., Roberson, A., Cieslak, P.R., Lynfield, R., Gershman, K. and Craig, A., 2007.** The epidemiology of invasive group A streptococcal infection and potential vaccine implications United States, 2000-2004. *Clinical Infectious Diseases*, 45, 853, 62. DOI: 10.1086/521264.
- Oppegaard, O., Mylvaganam, H. and Kittang, B.R., 2015.** Betahaemolytic group C, C and G streptococcal infections in Western Norway: a 15 year retrospective survey. *Clinical Microbiology and Infection*, 21, 171, 7.
- Otlu, B., Karakurt, C., Bayındır, Y., Kayabaş, Ü., Yakupoğulları, Y. ve Gözükkara Bağ, H., 2015.** İlkokul çocuklarında *Streptococcus pyogenes* taşıyıcılığı, M protein tipleri, pirojenik toksin genleri ve izolatlar arası klonal ilişkinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 49, 3, 301-3013.
- Pulit, A.C., Mitula, P., Sliwka, P., Laba, W., Skaradzinska, A., 2015.** Bacteriophage encapsulation: Trends and potential applications. *Trends in Food Science & Technology*, 45, 212-221.
- Procop, G., Church, D., Hall, G., Janda, W., Koneman, E. and Woods, G., 2017.** Koneman’s color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Hipokrat kitabevi, 7. Baskı, 733-831, Başustaoğlu, A. (Ç. Ed.).
- Ralph, A.P. and Carapetis, J.R., 2013.** Group A streptococcal diseases and their global burden. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 368, 1-27. DOI: 10.1007/82-2012-280.
- Roos, K.L., Tunkel, A.R. and Scheld, W.M., 2004.** Acute bacterial meningitis. In Scheld WM, Whitley RJ, Marra CM, eds. *Infections of the Central Nervous System*. 3rded. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins, 347-422.
- Roos., Kl, Ar, Tunkel and Wm., 2004.** Acute bacterial meningitis. In Scheld WM, Whitley RJ, Marra CM, eds. *Infections of the Central Nervous System*. 3rded. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2004, 347-422.

- Saygılı, N., Bulut, E., Deniz, R., Dalgıç, N. ve Aktaş, E., 2017.** Boğaz sürüntü örneklerinde A grubu beta hemolitik streptokokların belirlenmesinde bionexia strep A plus hızlı antijen testinin kullanımı. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 47, 3, 138-145. DOI: 10.5222/TMCD.2017.138.
- Schmelcher, M., Donovan, D.M. and Loessner, M.J., 2012.** Bacteriophage endolysins as novel antimicrobials. *Future Microbiology*, 7, 1147–1171. DOI: 10.2217/fmb.12.97.
- Schmidt, H., Bielaszewska, M. and Karch, H., 1999.** Transduction of enteric *Escherichia coli* isolates with a derivative of Shiga toxin 2 encoding bacteriophage ϕ 3538 isolated from *Escherichia coli* O157,H7. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3855-3861.
- Schwartz, B., Marcy, S.M. and Phillips, W.R., 1998.** Pharyngitis Principles of Judicious Use of Antimicrobial Agents *Pediatrics*, 101, 171, 4.
- Schwartz, R.H., 1997.** Evaluation of rapid streptococcal detection tests. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 16, 1099-1100.
- Seppälä, H., Klaukka, T., Vuopio-Varkila, J., Muotiala, A., Helenius, H., Lager, K. and Huovinen, P., 1997.** The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. *New England Journal Medicine*, 337, 7, 6.
- Shaikh, N., Leonard, E. and Martin, J.M., 2010.** Prevalence of streptococcal pharyngitis and streptococcal carriage in children. A meta analysis. *Pediatrics*, 126, 3, 64.
- Shi, Y., Yan, Y., Ji, W., Du, B., Meng, X., Wang, H. and Sun, J., 2012.** Characterization and determination of holin protein of *Streptococcus suis* bacteriophage SMP in heterologous host. *Virology Journal*, 9, 70. DOI: 10.1186/1743-422X-9-70.
- Skurnik, M. and Strauch, E., 2006.** Phage therapy Facts and fiction. *International Journal of Medical Microbiology*, 296, 5-14.
- Stamm, W.E., Feeley, J.C. and Facklam, R.R., 1978.** Wound infections due to group A *Streptococcus* traced to a vaginal carrier. *Journal of Infectious Diseases*, 138, 287-92.
- Sulakvelidze, A., Alavidze, Z. and Morris, J.G., 2001.** Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 45, 3, 649, 59.
- Summers, W. and d'Hérelle, C.F., 1999.** Origin of molecular biology. New Haven and London, Yale University.
- Summers, W.C., 2001.** Bacteriophage therapy. *Annual Review of Microbiology*, 55, 437-51.

- Suvorov, A.N., Polyakova, E.M., McShan, W.M. and Ferretti, J.J., 2009.** *Streptococcus pyogenes*'in M49 suşlarının bakteriyofaj içeriği. Federation of European Microbiological Societies Mikrobiyoloji Mektuplar, 294, 9-15. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2009.01538.x.
- Tayman, C., Tonbul, A., Soylu, G.G., Akça, H. ve Çatal, F., 2011.** Tonsillofaranjitli çocuklardan izole edilen A grubu beta hemolitik streptokokların sık kullanılan antibiyotiklere karşı direnci. Dicle Tıp Dergisi, 38, 3, 305-308.
- To, K.H. and Young, R., 2014.** Probing the structure of the S105 hole. Journal of Bacteriology, 196, 3683-3689. DOI: 10.1128/JB.01673-14.
- Toprak, D., Demirdal, T., Aşçı, Z., Orhan, S., Çetinkaya, Z. ve Demirtürk, N., 2008.** Sağlıklı okul çocuklarında nazofarinksde A Grubu Beta Hemolitik Streptokok taşıyıcılığı. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 2, 26-29.
- Twort, F.W., 1915.** An investigation on the nature of ultramicroscopic viruses. Lancet 186, 1241, 3.
- Tyrrell, G.J, Lovgren, M., Kress, B. and Grimsrud, K., 2005.** Invasive group A streptococcal disease in Alberta, Canada (2000 to 2002). Journal of Clinical Microbiology, 43, 1678, 83. DOI: 10.1128/JCM.43.4.1678-1683.2005.
- URL-1, 2018.** <http://www.hayatisaglik.com/laboratuvar/bogaz-kulturu.html> (23 Şubat 2018).
- URL-2, 2018.** <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAAF6AA849816B2EF32855A6FE3B7C2C1> (23 Şubat 2018).
- URL-3, 2018.** <https://labtestsonline.org.tr/tests/strep-testi> (14 Mart 2018).
- URL-4, 2018.** <https://www.doktorsitesi.com/article/bogaz-kulturu-nicin-ve-ne-zaman-yapilmalidir> (23 Şubat 2018).
- URL-5, 2018.** <https://www.duzen.com.tr/tr/art/5/bogaz-enfeksiyonlari> (23 Şubat 2018).
- URL-6, 2018.** <http://hthayat.haberturk.com/anne-ve-cocuk/saglik/haber/1000295-bogaz-kulturu> (23 Şubat 2018).
- URL-7, 2017.** <http://www.tkbbv.org.tr/menu/149/beta-enfeksiyonu-nedir-op-dr-mustafa-suphi-elbistanli> (15 Eylül 2017).
- URL-8, 2019.** <https://www.wikizero.com/tr/Bakteriyofaj> (1 Haziran 2019).
- URL-9, 2019.** <http://gyte.edu.tr/> (5 Haziran 2019).

- URL-10, 2019.** https://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/elyika_tr.pdf (1 Temmuz 2019).
- URL-11, 2019.** www.ozelyalovahastanesi.com.tr (6 Temmuz 2019).
- Ustaçelebi, Œ., 1999.** Temel Ve Klinik Mikrobiyoloji. GneŒ Tıp Kitabevleri, 1999 Baskısı. Sayfa 1399.
- Uysal, A., Durak, Y. ve Akın, D., 2014.** Boğaz kültürlerinden izole edilen beta hemolitik streptokokların identifikasyonu, tiplendirilmesi ve antibiyotik ve eritromisin direnç profillerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi (SUFEFD), 39, 10-20.
- nl, F., zgen, O., Arı, A., CoŒkuner, S.A. ve Avcı, M., 2017.** Boğaz dıŒı klinik örneklerden izole edilen streptokok suŒları ve oluŒturdukları enfeksiyonların zellikleri. Med Bull Haseki, 55, 292, 8. DOI: 10.4274/haseki.0810.
- Verstraelen, H., Verhelst, R. and Vaneechoutte, M., 2011.** Group A streptococcal vaginitis an unrecognized cause of vaginal symptoms in adult women. Archives of Gynecology and Obstetrics, 284, 95, 8.
- Viertel, T., Ritter, K. And Horz, H., 2014.** Viruses versus bacteria novel approaches to phage therapy as a tool against multidrug-resistant pathogens. Journal of Antimicrobi Chemotherapy, 2326-2336.
- Viglionese, A., Nottebart, V.F., Bodman, H.A. and Platt, R., 1991.** Recurrent group A streptococcal carriage in a health care worker associated with widely separated nosocomial outbreaks. New England Journal of Medicine, 91, 329, 33.
- Wang, I.N., Smith, D.L. and Young, R., 2000.** Holins: the protein clocks of bacteriophage infections. Annual Review of Microbiology, 54, 799-825. DOI: 10.1146/annurev.micro.54.1.799.
- Weeks, C.R. and Ferretti, J.J., 1984.** The gene for type A streptococcal exotoxin (erythrogenic toxin) is located in bacteriophage T12. Infection and Immunity, 46, 531-536.
- Woz'nica, W.M., Bigos, J. and Łobocka, M.B., 2015.** Lysis of bacterial cells in the process of bacteriophage release canonical and newly discovered mechanisms. Postepy Higieny Medycyny Doswiadczalnej, 69, 114-126.
- Ziyade, N., Kk, C., DaŒ, T., Yılmaz, S., PakaŒtıalı, N., Nazik, H. ve Koç, S., 2014.** *Streptococcus pyogenes'* e bağlı toksik Œok sendromu. Postmortem olgu sunumu. 6. Avrasya Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Sırbistan, 24-27 Eylül. DOI: 10.5336/forencis.2014-42633

ÖZGEÇMİŞ

Yağmur CAHAN, 16.02.1991 tarihinde Gebze’de doğdu. İlkokulu Kartal Emine ve Hasan Aytaçman İlkokulu’nda ve ortaokulu Bözüyük Çitosan Ortaokulu’nda , liseyi ise Bözüyük Şehit Zafer İpek Lisesi’nde tamamladı. 2009 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde eğitimine başladı ve 2013 yılında mezun oldu. 2016 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda başladığı Yüksek Lisans öğrenimini halen devam ettirmektedir. Aynı zamanda Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde biyolog olarak çalışmaktadır.