

**T.C.**  
**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ**  
**İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**İSTANBUL'DA 2007-2009 DÖNEMİNDE**  
**ÇOCUK HASTALARIN BOĞAZ KÜLTÜRLERİNDE İZOLE EDİLEN**  
**A GRUBU BETA HEMOLİTİK STREPTOKOKLARIN**  
**M PROTEİNİ (*emm*) GEN TİPLENDİRİLMESİ**

**Dr. Ayça ERKİN ÇAKMAK**  
**(UZMANLIK TEZİ)**  
**(Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emin ÜNÜVAR)**

**İSTANBUL 2009**

Bu tez İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No:3037).

**T.C.**  
**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ**  
**İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**İSTANBUL'DA 2007-2009 DÖNEMİNDE**  
**ÇOCUK HASTALARIN BOĞAZ KÜLTÜRLERİNDE İZOLE EDİLEN**  
**A GRUBU BETA HEMOLİTİK STREPTOKOKLARIN**  
**M PROTEİNİ (emm) GEN TİPLENDİRİLMESİ**

**Dr. Ayça ERKİN ÇAKMAK**  
**(UZMANLIK TEZİ)**  
**(Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emin ÜNÜVAR)**

**İSTANBUL 2009**

Bu tez İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No:3037).

‘İSTANBUL’DA 2007-2009 DÖNEMİNDE ÇOCUK HASTALARIN BOĞAZ KÜLTÜRLERİNDE İZOLE EDİLEN A GRUBU BETA HEMOLİTİK STREPTOKOKLARIN M PROTEİNİ (*emm*) GEN TİPLENDİRİLMESİ’ isimli tez çalışmamı (Proje No:3037) destekleyen *İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu*’na teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyiminden yararlandığım, destek ve yardımını gördüğüm başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın *Prof. Dr. Ömer DEVECİOĞLU* olmak üzere, *tüm değerleri öğretim üyelerine,*

Desteğini her zaman hissettiğim, tezimin her aşamasında bana yol gösteren, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Pediatri Bilim Dalı Başkanı, saygıdeğer tez danışmanın *Prof. Dr. Emin ÜNÜVAR*'a,

Boğaz sürüntü örneği kültürlerinde suşların izole edilip çoğaltılması, saklanması ve örneklerin çalışılması aşamalarında büyük bir titizlik ve sabırla emek veren *Uzm. Dr. Hasan Nazik*'e, boğaz sürüntü örneklerinin toplanması aşamasında benden yardımlarını ve güleryüzlerini esirgemeyen *Çocuk Kliniği Mikrobiyoloji laboratuvarı çalışanlarına,*

Birlikte çalışmaktan her zaman keyif duyduğum, tezimin hazırlanması sürecinde de yanımda olan sevgili *asistan arkadaşlarıma* ve *uzmanlarıma,*

Uzmanlık eğitimin süresince birlikte keyifle çalıştığım tüm *Çocuk Kliniği çalışanlarına,*

Tezime katılan tüm *çocuklara,*

Tüm eğitimim ve asistanlığım süresince olduğu gibi tezimin hazırlanması sırasında da her zaman beni destekleyen, bütün zorlukların üstesinden gelmemi sağlayan, beni sevgi ile büyütüp yetiştiren sevgili annem *Meral*, babam *Metin* ve kardeşim *Zeynep ERKİN*'e,

Uzakta olsa da, desteği ve sevgisi ile her zaman yanımda olduğunu hissettiren ve daima yanımda olmasını istediğim, sevgili hayat arkadaşım *Dr. Hakan ÇAKMAK*'a

sonsuz teşekkürlerimle...

Dr. Ayça ERKİN ÇAKMAK

Haziran 2009, İstanbul

## İÇİNDEKİLER

|                                                                |            |
|----------------------------------------------------------------|------------|
| <b>ÖNSÖZ</b>                                                   | <b>I</b>   |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>                                             | <b>II</b>  |
| <b>TABLO LİSTESİ</b>                                           | <b>VI</b>  |
| <b>KISALTMALAR</b>                                             | <b>X</b>   |
| <b>ÖZET</b>                                                    | <b>XI</b>  |
| <b>SUMMARY</b>                                                 | <b>XII</b> |
| <b>1. GİRİŞ</b>                                                | <b>1</b>   |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>                                       | <b>3</b>   |
| <b>2.1. Streptokokların Tarihçesi</b>                          | <b>3</b>   |
| <b>2.2. Streptokokların Genel Özellikleri</b>                  | <b>4</b>   |
| <b>2.2.1. Üreme Özellikleri</b>                                | <b>4</b>   |
| <b>2.2.2. Morfolojik Özellikleri</b>                           | <b>5</b>   |
| <b>2.2.3. Sınıflandırılması</b>                                | <b>5</b>   |
| <b>2.2.3.1. Hemolitik Özelliklerine Göre Sınıflandırılması</b> | <b>5</b>   |
| <b>2.2.3.1.1. Beta Hemolitik Streptokoklar</b>                 | <b>5</b>   |
| <b>2.2.3.1.2. Alfa Hemolitik Streptokoklar</b>                 | <b>5</b>   |
| <b>2.2.3.1.3. Gama Hemolitik Streptokoklar</b>                 | <b>6</b>   |
| <b>2.2.3.2. Antijenik Yapılarına Göre Sınıflandırılması</b>    | <b>6</b>   |
| <b>2.2.3.2.1. A Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar</b>         | <b>6</b>   |
| <b>2.2.3.2.2. B Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar</b>         | <b>6</b>   |
| <b>2.2.3.2.3. C Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar</b>         | <b>7</b>   |
| <b>2.2.3.2.4. D Grubu Streptokoklar</b>                        | <b>7</b>   |
| <b>2.2.3.2.5. G Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar</b>         | <b>7</b>   |
| <b>2.2.3.3. Sherman Sınıflandırması</b>                        | <b>8</b>   |
| <b>2.2.3.4. Genişletilmiş (Jones) Sınıflandırılması</b>        | <b>9</b>   |
| <b>2.2.3.4.1. Piyojenik Streptokoklar</b>                      | <b>9</b>   |
| <b>2.2.3.4.2. Oral Streptokoklar</b>                           | <b>9</b>   |
| <b>2.2.3.4.3. Enterokoklar</b>                                 | <b>9</b>   |
| <b>2.2.3.4.4. Laktik Streptokoklar</b>                         | <b>9</b>   |
| <b>2.2.3.4.5. Anaerop Streptokoklar</b>                        | <b>9</b>   |
| <b>2.2.3.4.6. Diğer Streptokoklar</b>                          | <b>9</b>   |
| <b>2.3. A Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar</b>               | <b>9</b>   |

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.1. Tanım                                                                           | 9  |
| 2.3.2. Yapısı                                                                          | 10 |
| 2.3.3. Virülans Faktörleri                                                             | 12 |
| 2.3.4. Epidemiyoloji                                                                   | 16 |
| 2.3.4.1.1. Farenjit                                                                    | 16 |
| 2.3.4.1.2. İmpetigo                                                                    | 16 |
| 2.3.4.1.3. Yara Enfeksiyonları ve Puerperal Enfeksiyonlar                              | 16 |
| 2.3.4.1.4. Streptokoksik Toksik Şok Sendromu                                           | 16 |
| 2.3.4.1.5. Post-streptokoksik Süpüratif Olmayan Komplikasyonlar                        | 17 |
| 2.3.5. Patogenez                                                                       | 18 |
| 2.3.6. Bağışıklık                                                                      | 21 |
| 2.3.7. A Grubu Beta Hemolitik Streptokok Enfeksiyonlarının Klinik Bulguları            | 21 |
| 2.3.7.1.1. Streptokoksik Farenjit                                                      | 22 |
| 2.3.7.1.2. İmpetigo                                                                    | 22 |
| 2.3.7.1.3. Erizipel                                                                    | 23 |
| 2.3.7.1.4. Puerperal Enfeksiyonlar                                                     | 23 |
| 2.3.7.1.5. Kızıl                                                                       | 23 |
| 2.3.7.1.6. Streptokoksik Toksik Şok Sendromu                                           | 23 |
| 2.3.7.1.7. Akut Romatizmal Ateş                                                        | 24 |
| 2.3.7.1.8. Akut Glomerülonefrit                                                        | 25 |
| 2.3.7.1.9. Streptokoksik Enfeksiyonlarla İlişkili Otoimmün Nöropsikiyatrik Hastalıklar | 25 |
| 2.3.7.1.10. Post-streptokoksik Reaktif Artrit                                          | 26 |
| 2.3.8. Tanı                                                                            | 27 |
| 2.3.9. Tedavi                                                                          | 29 |
| 2.3.10. Korunma                                                                        | 32 |
| 2.4. M Proteininin Klinik Önemi                                                        | 34 |
| 2.4.1. M protein Sınıf I                                                               | 34 |
| 2.4.2. M protein Sınıf II                                                              | 35 |
| 2.5. M Proteini Gen ( <i>emm gen</i> ) Tiplendirilmesi                                 | 36 |
| 2.5.1. <i>emm</i> Dizi Veri Tabanı                                                     | 37 |
| 2.5.2. <i>emm</i> Alt Tipleri                                                          | 37 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM                                                                     | 39 |

|                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3.1. Bakterilerin İzolasyonu ve Tanımlanması Sırasında Kullanılan Gereçler</b> | <b>40</b> |
| <b>3.1.1. Kullanılan Besiyerleri</b>                                              | <b>40</b> |
| 3.1.1.1. Taşıma Besiyeri                                                          | 40        |
| 3.1.1.2. %3 Koyun Kanlı Agar                                                      | 41        |
| 3.1.1.3. Saklama Besiyeri                                                         | 41        |
| <b>3.1.2. Kullanılan Boyalar</b>                                                  | <b>42</b> |
| 3.1.2.1. Kristal Viyoleto Solüsyonu                                               | 42        |
| 3.1.2.2. Lügol Solüsyonu                                                          | 42        |
| 3.1.2.3. Etil Alkol %96'lık                                                       | 42        |
| 3.1.2.4. Safranin Solüsyonu                                                       | 43        |
| 3.1.2.5. Hidrojen Peroksit Eriyiği %3'lük                                         | 43        |
| 3.1.3. Mc Farland 0.5 No'lu Standart Bulanıklık Tüpünün Hazırlanması              | 43        |
| 3.1.4. İdentifikasyonda Kullanılan Antibiyotik Diskleri                           | 43        |
| 3.1.5. Pirolidonil Arilamidaz (PYR) Test Kiti                                     | 44        |
| 3.1.6. Lam Aglütinasyon Test Kiti                                                 | 44        |
| <b>3.2. Bakterilerin İzolasyonu ve Tanımlanması</b>                               | <b>44</b> |
| 3.2.1. Koloni Morfolojisinin Değerlendirilmesi                                    | 45        |
| 3.2.2. Hemoliz Testi                                                              | 45        |
| 3.2.3. Gram Boyama                                                                | 46        |
| 3.2.4. Katalaz Testi                                                              | 47        |
| 3.2.5. Basitrasin ve Trimetoprim-Sülfametaksazol Duyarlılığı                      | 48        |
| 3.2.6. Pirolidonil Arilamidaz Testi                                               | 49        |
| 3.2.7. Lam Aglütinasyon Testi                                                     | 50        |
| <b>3.3. İzole edilen A Grubu Beta Hemolitik Streptokok Suşlarının <i>emm</i></b>  |           |
| <b>Genlerinin Çoğaltılması Sırasında Kullanılan Gereçler</b>                      | <b>51</b> |
| <b>3.4. İzole edilen A Grubu Beta Hemolitik Streptokok Suşlarının <i>emm</i></b>  |           |
| <b>Genlerinin Çoğaltılması</b>                                                    | <b>53</b> |
| 3.4.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu                                                  | 53        |
| 3.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Amplifikasyon)                                | 53        |
| 3.4.3. Amplifikasyon Programı                                                     | 53        |
| 3.4.4. Elektroforez                                                               | 54        |
| 3.4.5. Görüntüleme                                                                | 54        |
| <b>3.5. Amplifikasyon Ürünlerinin Saflaştırılması</b>                             | <b>54</b> |
| <b>3.6. Amplifikasyon Ürünlerinin Dizi Analizlerinin Yapılması</b>                | <b>55</b> |

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| 3.7. Elde Edilen Dizi Analizlerinin Değerlendirilmesi | 55 |
| 4. BULGULAR                                           | 57 |
| 4.1. Demografik Bulgular                              | 57 |
| 4.2. Klinik Bulgular                                  | 61 |
| 4.3. Laboratuvar Bulguları                            | 63 |
| 4.4. <i>emm</i> Gen Tiplendirmesi                     | 64 |
| 5. TARTIŞMA                                           | 74 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER                                  | 80 |
| 7. KAYNAKLAR                                          | 82 |
| 8. EKLER                                              | 93 |
| 9. ÖZGEÇMİŞ                                           | 99 |



## TABLO ve ŞEKİL LİSTESİ

### TABLolar

|                  |                                                                                             |           |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tablo 2.1</b> | <i>S. pyogenes</i> 'in Virölans Faktörleri                                                  | <b>17</b> |
| <b>Tablo 2.2</b> | A Grubu Beta Hemolitik Streptokok Farenjiti Tanısında Klinik ve Epidemiyolojik Bulgular     | <b>24</b> |
| <b>Tablo 2.3</b> | Akut Romatizmal Ateş Tanısında Jones Kriterleri                                             | <b>30</b> |
| <b>Tablo 2.4</b> | Streptokokkal Farenjit Tedavisi                                                             | <b>30</b> |
| <b>Tablo 2.5</b> | Penisilin Alerjisi Tanımlanan Bireylerde Streptokokkal Farenjit Tedavisi                    | <b>31</b> |
| <b>Tablo 2.6</b> | Romatizmal Ateş Profilaksisi ve Süresi                                                      | <b>33</b> |
| <b>Tablo 3.1</b> | Boğaz Sürüntü Örneği Kültürü Yapılan Hastaların Dağılımı                                    | <b>39</b> |
| <b>Tablo 4.1</b> | Boğaz Sürüntü Örneklerinde Saptanan Üremelerin Dağılımı                                     | <b>57</b> |
| <b>Tablo 4.2</b> | Hasta Gruplarının Demografik Dağılımı                                                       | <b>59</b> |
| <b>Tablo 4.3</b> | GABHS İzole Edilen Hastaların Yaşa Göre Dağılımı                                            | <b>60</b> |
| <b>Tablo4.4</b>  | GABHS İzole Edilen Hastaların Yaşa Göre Dağılım Grafiği                                     | <b>60</b> |
| <b>Tablo 4.5</b> | GABHS Üremesi Saptanan Hastaların Semptomları ve Fizik Muayene Bulguları                    | <b>62</b> |
| <b>Tablo 4.6</b> | GABHS Üremesi Saptanan Hastaların Semptomları ve Fizik Muayene Bulgularının Dağılım Grafiği | <b>62</b> |
| <b>Tablo 4.7</b> | GABHS Üremesi Saptanan Hastalarda İzlemde Eşlik Eden Klinik Durumlar                        | <b>63</b> |

|                   |                                                                                                                                       |           |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tablo 4.8</b>  | Boğaz Sürüntü Örneğinde GABHS Üremesi ve Eş Zamanlı Hızlı Streptokok Antijen Testi Uygulaması                                         | <b>64</b> |
| <b>Tablo 4.9</b>  | Tanımlanan <i>emm</i> Tipleri ve Dağılımı                                                                                             | <b>67</b> |
| <b>Tablo 4.10</b> | Tanımlanan <i>emm</i> Tiplerinin Dağılımı                                                                                             | <b>68</b> |
| <b>Tablo 4.11</b> | Tiplendirilmesi Yapılabilen Suşların <i>emm</i> Tipleri, İzole Edildikleri Hastaların Cinsiyetleri ve Yaş Gruplarına Göre Dağılımları | <b>69</b> |
| <b>Tablo 4.12</b> | <i>emm</i> Tiplerinin Yaşlara Göre Dağılımı                                                                                           | <b>70</b> |
| <b>Tablo 4.13</b> | <i>emm</i> Tipleri, <i>S. pyogenes</i> Suşlarının İzole Edildiği Hastaların Başvuru Yakınmaları ve Fizik Muayene Bulguları            | <b>71</b> |
| <b>Tablo 4.14</b> | Yüksek Oranda Belirlenen <i>emm</i> Tiplerine Göre Hastaların Başvuru Yakınmaları ve Fizik Muayene Bulguları                          | <b>72</b> |
| <b>Tablo 4.15</b> | GABHS Enfeksiyonlarına Eşlik Eden Klinik Tabloların <i>emm</i> Tiplerine Göre Dağılımı                                                | <b>72</b> |
| <b>Tablo 4.16</b> | Boğaz Sürüntü Örneği Kontrol Kültüründe <i>S. pyogenes</i> Üremesi Saptanan Hastaların <i>emm</i> Tiplerine Göre Dağılımı             | <b>73</b> |

**ŞEKİLLER**

|                  |                                                                                                                                                         |           |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Şekil 2.1</b> | Streptokokkal M proteini                                                                                                                                | <b>35</b> |
| <b>Şekil 4.1</b> | Boğaz Sürüntü Örneklerinde Saptanan Üremelerin Dağılım Grafiği                                                                                          | <b>58</b> |
| <b>Şekil 4.2</b> | GABHS Üremesinin Mevsimsel Dağılımı                                                                                                                     | <b>61</b> |
| <b>Şekil 4.3</b> | Isı Döngüsü İle Çoğaltılan DNA Ürünlerinden Birinin Dizi Analizi<br>Sonucunda Kapiller Jel Elektroföresi Yapılarak Elde Edilen<br>Kromotogram Görüntüsü | <b>66</b> |

**RESİMLER**

|                  |                                                                                                                                      |           |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Resim 3.1</b> | Kanlı Agarda GABHS Görünümü                                                                                                          | <b>45</b> |
| <b>Resim 3.2</b> | Kanlı Agarda A Grubu Beta Hemolitik Streptokok Kolonileri<br>Tarafından Oluşturulan Beta Hemoliz                                     | <b>46</b> |
| <b>Resim 3.3</b> | Gram Boyada, Gram Pozitif Kok                                                                                                        | <b>47</b> |
| <b>Resim 3.4</b> | Katalaz Reaksiyonu ( Solda katalaz negatif streptokok kolonileri,<br>sağda katalaz pozitif stafilokok kolonileri)                    | <b>48</b> |
| <b>Resim 3.5</b> | Besiyerinde Antibiyotik Diskleri Etrafında Üreme Zonları                                                                             | <b>49</b> |
| <b>Resim 4.1</b> | <i>emm</i> Primer 1 ve <i>emm</i> Primer 2 Kullanılarak Elde Edilen<br>Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroze Jel Üzerinde Görüntülenmesi | <b>64</b> |

**KISALTMALAR**  
**(Alfabetik Sıraya Göre )**

|               |   |                                                                                             |
|---------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>GABHS</b>  | : | A Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar                                                        |
| <b>AGN</b>    | : | Akut Glomerülonefrit                                                                        |
| <b>ARA</b>    | : | Akut Romatizmal Ateş                                                                        |
| <b>FDA</b>    | : | Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi                                            |
| <b>CDC</b>    | : | Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Önleme ve Koruma<br>Merkezi, Center of Disease Control |
| <b>CD</b>     | : | Farklılaşma Kümesi, Cluster of Differentiation                                              |
| <b>C5a</b>    | : | Kompleman 5a                                                                                |
| <b>LAP</b>    | : | Lenfadenopati                                                                               |
| <b>PCR</b>    | : | Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Amplifikasyon                                                  |
| <b>PSRA</b>   | : | Post-streptokoksik Reaktif Artrit                                                           |
| <b>PANDAS</b> | : | Streptokoksik Enfeksiyonla İlişkili Pediatrik Otoimmün<br>Nöropsikiyatrik Hastalıklar       |
| <b>APSGN</b>  | : | Streptokoksik Enfeksiyon Sonrasında Gelişen Akut Glomerülonefrit                            |
| <b>SPE</b>    | : | Streptokoksik Pirojenik Ekzotoksin                                                          |

## ÖZET

**Amaç:** *S. pyogenes* (GABHS) çocukluk çağı tonsillofarenjitlerinin en önemli bakteriyel etkenidir. GABHS sahip olduğu çok sayıda virülans faktörünün yardımıyla geniş bir hastalık yelpazesine sahiptir. Virülans faktörleri arasında önemli rol oynayan M proteini, *emm* geni tarafından kodlanmaktadır. M proteini bakterinin hastalık yapma potansiyelini belirlerken, bakterinin tiplendirilmesini de sağlamaktadır. Bu çalışmada akut tonsillofarenjit bulgularıyla başvuran hastalardan izole edilen GABHS suşlarının *emm* dizi analizi yöntemiyle tiplendirmesi yapılması amaçlandı.

**Method:** İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Pediatri Bilim Dalı poliklinikleri'nde Aralık 2007-Ocak 2009 tarihleri arasında, akut tonsillofarenjit bulguları ile başvuran 2-17 yaş grubu çocukların boğaz sürüntü örneklerinden izole edilen 335 GABHS suşu arasından 112'sinin (%33,5) *emm* geni CDC'nin önerileri doğrultusunda primerler kullanılarak çoğaltıldı. Elde edilen genetik materyalin sekanslama yöntemi ile *emm* gen dizi analizi yapıldı. Elde edilen dizi analizleri CDC'ye ait GENBANK veritabanı ile karşılaştırılarak 61 (%54,5) suşun *emm* gen tiplendirilmesi yapıldı.

**Bulgular:** En yüksek oranda *emm* 1 (%22,9), *emm* 3 (%11,5), *emm* 4 (%10) ve *emm* 5 (%8,2) olmak üzere 19 farklı tip belirlendi. Daha az sıklıkla görülen tipler *emm* 2, 12, 14, 19, 22, 26, 28, 44, 63, 76, 77, 87, 89, 98, 118'dir. Belirlenen 19 *emm* tipinden 12'si (%63), dizi analizi yapılan hastaların %77'si GABHS suşlarına yönelik olarak geliştirilen faz 3 aşamasındaki 26 değerlikli aşı kapsamındadır.

**Sonuç:** Kliniğimizde tonsillofarenjit vakalarında izole edilen *S. pyogenes* suşlarının M protein gen tipleri en sık *emm* 1 ve *emm* 3'dür.

**Anahtar Kelimeler:** *S. pyogenes*, M proteini, *emm* geni, tonsillofarenjit

## **M Protein (*emm*) Gene Typing of Group A Beta-Hemolytic Streptococci Isolated From Pharyngeal Cultures of Children With Acute Tonsillopharyngitis in Istanbul Between 2007 and 2009**

**Aim:** *S. pyogenes* (Group A beta-hemolytic streptococci, GABHS) is the most common bacterial species in childhood tonsillopharyngitis. GABHS infection has broad spectrum clinical presentations due to its multiple different virulence factors. M protein, which is coded by *emm* gene, is one the most important virulence factors and determines the virulence potential of GABHS. On the other hand, it is also used for subtyping of GABHS. The aim of this study was to perform M protein (*emm*) gene typing of Group A beta-hemolytic streptococci isolated from pharyngeal cultures of children presented with acute tonsillopharyngitis.

**Methods:** GABHS was isolated in pharyngeal cultures from 335 children, who presented with acute tonsillopharyngitis between age of 2 and 17 to General Pediatrics Outpatient Clinics in the Department of Pediatrics at Istanbul University School of Medicine. The *emm* gene of 112 (33.5%) GABHS samples were replicated by using primers recommended by CDC. Afterwards, *emm* gene sequencing was performed from the obtained genetic material. Finally, *emm* gene typing of 61 samples (54.5%) was determined by matching the gene sequences to CDC's GENBANK database.

**Results:** Nineteen different *emm* gene types were found. The most common *emm* types were *emm* 1 (22.9%), *emm* 3 (11.5%), *emm* 4 (10%) and *emm* 5 (8.2%). On the other hand, less common types were *emm* 2, 12, 14, 19, 22, 26, 28, 44, 63, 76, 77, 87, 89, 98 and 118. Twelve (63%) of the determined 19 *emm* types and 77% of the patients that had *emm* gene sequencing are covered by 26-valent GABHS vaccine undergoing phase 3 trial.

**Conclusions:** The most common M protein gene types of *S. pyogenes* isolated from tonsillopharyngitis cases in our clinic were *emm* 1 ve *emm* 3.

**Key Words:** *S. pyogenes*, M protein, *emm* gene, tonsillopharyngitis

## 1. GİRİŞ

Normal flora bakterisi olarak, insan vücudunda yaygın olarak bulunan streptokoklar çok sayıda enfeksiyon hastalığında patojen mikroorganizma olarak da karşımıza çıkmaktadır (1,2,3). Lancefield sınıflandırmasına göre A grubu beta hemotilitik streptokoklar (GABHS) arasında yer alan *Streptococcus pyogenes*, streptokok ailesinde insana özgü en önemli patojenlerinden biridir (3).

*S. pyogenes*'in etken olduğu akut hastalıklar esas olarak solunum yollarında, sistemik dolaşımda ve ciltte gelişir. Akut *S. pyogenes* enfeksiyonları farenjit, kızıl, impetigo ya da selülit iken, invazif, toksijenik enfeksiyonlar nekrotizan fasiit, miyozit ve streptokoksik toksik şok sendromu'dur. Kızıl ve streptokoksik toksik şok sendromu kan dolaşımındaki bakteriyel toksinlerin neden olduğu hastalık tablolarıdır. Erizipel (ateş, sistemik toksisite ve selülit) günümüzde daha az sıklıkla görülen derin yerleşimli cilt enfeksiyonudur. Tüm dünyada penisilin direnci ciddi bir sorun olmamasına rağmen, streptokok enfeksiyonları halen önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olarak gösterilmektedir. Günümüzde *S. pyogenes*'in önemi, klinikte neden olduğu enfeksiyonların yanı sıra %1-3 oranında tedavi edilmeyen ya da yetersiz tedavi edilmiş enfeksiyonlardan sonra, immünojenik mekanizmalar ile gelişen akut romatizmal ateş (ARA) ve akut glomerulonefrit (AGN) gibi süpüratif olmayan komplikasyonlarının, toplum sağlığı üzerindeki etkilerinden ileri gelmektedir (2,3,4,5,6,7,8,9).

Zamanında doğru tanı konularak başlanan ve uygun süre devam edilen penisilin tedavisiyle akut streptokoksik tonsillofarenjit, streptokoksik cilt enfeksiyonlarının ve süpüratif olmayan post-streptokoksik komplikasyonların gelişmekte olan ülkelere ciddi bir sağlık sorunu olmaktan çıkması beklenirken, 1980'li yıllarda Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'daki bazı gelişmiş ülkelere akut romatizmal ateş salgınları bildirilmiştir (10,11,12,13). Bu salgınların, mikroorganizmanın geliştirdiği penisilin direncinden değil, mikroorganizmanın virülans faktörlerinde gelişen değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

GABHS enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek olarak penisilin önerilmektedir. Penisilin alerjisi tanımlanan olgularda ya da penisilin direnci tanımlanmışlarla gelişen



enfeksiyonların tedavi seçeneği olarak da eritromisin kullanılması önerilmektedir (5). Ülkemizde GABHS'lar için penisillin direnci önemli bir sorun oluşturmazken eritromisin direnci %5 olarak bildirilmektedir (14). *S. pyogenes* suşlarında penisilin direnci gelişmiş ülkelerde de bildirilmemektedir.

Her GABHS tonsillofarenjitinden ya da cilt infeksiyonundan sonra bazı hastalarda süpüratif olmayan komplikasyonlar gelişebilir Son yıllarda araştırmacılar GABHS enfeksiyonlarında klinik bulguların ve komplikasyonların, mikroorganizmanın virülans faktörleri ile olan ilişkili olduğunu öne sürmektedir. Bu konuda Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, bazı Avrupa ülkeleri ve Japonya'da, özellikle M proteini üzerinde çok sayıda çalışma yürütülmektedir (15,16,17,18,19).

M proteini, GABHS'ların yüzeyinde yer alan, en önemli virülans faktörüdür. Streptokok enfeksiyonlarının gelişmesinde ve konak organizmanın geçirilen streptokok enfeksiyonuna karşı bağışıklık geliştirmesinde esas rol oynamaktadır (20,21,22,23).

M proteini aynı zamanda GABHS suşlarının serotiplendirmesinde de kullanılmaktadır. *S.pyogenes*'in, M proteini esas alınarak 80'den fazla serotipi tanımlanmıştır (3,20,21,22,23). Ülkemizde bu konuda yapılan çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. M proteini serotiplerinin anti-serumlarının ticari olarak elde edilmesindeki zorluklar, anti-serumların maliyetinin yüksek olması, Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Center of Disease Control, (CDC)) tarafından önerilen ve güvenilir bir yöntem olan M protein geni (*emm* gen) dizi analizinin esas alındığı tanımlamanın zorluğu ve maliyetinin yüksekliği, ülkemizde bu konuda çalışma yapılmasını sınırlayan nedenler arasında sayılabilir (24).

Çalışmamızda kullanılan *emm* gen dizi analizi, CDC tarafından önerilen güvenilir bir tanımla methodudur (25). Bu çalışma ile İstanbul Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Genel Pediatri polikliniğine başvuran akut tonsillofarenjit tanısı almış olgularda A grubu beta hemolitik streptokok izole edilme oranı ve izole edilen suşların *emm* gen dizi analizi ile M protein tiplendirmeleri yapıldı. Hastanemizde izole edilen GABHS suşlarının, *emm* gen dizi analizi yöntemi ile M protein tiplendirilmesinin yapılması ülkemizdeki *S. pyogenes* suşlarının serotip dağılımı hakkında fikir verecek ve halen yeterli sayıda çalışma bulunmayan bu alanda bilgi üretilmiş olacaktır. Bu bilgi ileride aşı araştırmalarına da ışık tutabilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Streptokokların Tarihçesi

Streptokoklar ilk defa Billroth tarafından 1874 yılında erizipel ve yara enfeksiyonu olgularında gösterilmiştir. Daha sonra 1879 yılında puerperal sepsisli bir olgunun hemokültüründen ilk defa Pasteur izole etmiştir. Erlich ise aynı mikroorganizmayı 1877 yılında göstermiştir. Fehleisen 1883'de erizipelden zincir yapan koklar üretmiştir. Saf kültürde ürettiği bu mikroorganizmayı gönüllülere inoküle ederek erizipel hastalığını oluşturmuştur (1,20).

İlk olarak yara yeri enfeksiyonu, erizipel ve puerperal sepsis etkeni olarak gösterilen bu mikroorganizmanın *Streptococcus pyogenes* olarak isimlendirilmesi 1884 yılında Rosenbach tarafından yapılmıştır (26).

Schötmuller 1903'de hemoliz yapan kokları, hemolitik olmayanlardan ayırmıştır. J.H. Brown 1919'da streptokokların kanlı agardaki hemolitik aktivitelerini alfa, beta ve gamma hemoliz olarak tarif etmiştir. Presipitasyon ve Griffith aglütinasyon yöntemleri ile streptokokların immunolojisini inceleyen Lancefield 1933'de patojen streptokokların hücre duvarında bulunan karbonhidrat antijenlerine göre serolojik gruplarını saptamıştır (1,20).

Lancefield, grup antijeni olarak A karbonhidratını taşıyan streptokokların M protein antijenlerine göre de serotiplerinin tanımlanabileceğini göstermiştir. Griffith de streptokokların T protein serotiplerini aglütinasyon yöntemi ile serotiplerini tanımlamıştır (27).

Sherman 1937'de streptokokları kanlı agarda yaptıkları hemoliz tipine, üremenin gerçekleştiği ortam ısisına, bazı biyokimyasal özellikleri ve antijenik yapılarına göre, dört gruba ayırmıştır (28).

Yirminci yüzyılın ikinci yarısında *S. pyogenes* suşları ile kızıl, akut romatizmal ateş ve akut post-streptokokkal glomerülonefrit gibi klinik tablolar arasında yakın ilişki

bulunduğu gösterilmiş ve tedavi edilmeyen ya da uygun tedavi verilmeyen GABHS tonsillofarenjitli olguların %3-5'inde akut romatizmal ateş geliştiği bildirilmiştir (29,30).

1950'li yıllarda nekrotizan fasiitli (streptokoksik gangren) yanıklı hastalar ve ikinci dünya savaşı sırasında yaralı askerlerdeki mortalitenin önemli bir sebebi olarak bildirilmiştir.

Kanada, Ontario'da, *S. pyogenes*'in neden olduğu invazif nekrotizan fasiit salgını gerçekleşmiş ve streptokoklar 'yamyam bakteri' (et yiyen bakteri) adıyla tekrar gündeme gelmiştir (31).

## 2.2. Streptokokların Genel Özellikleri

Streptokoklar gram pozitif boyanma özelliği gösteren yuvarlak veya oval yapılı (kok şeklinde) iki mikrometreden daha küçük bakterilerdir. Spor oluşturmazlar ve hareketsizdirler. Katalaz negatif olmaları ile stafilokoklardan ayırt edilirler. Sıvı besiyerlerinde üretildiklerinde zincir oluşturmuş gibi peşpeşe dizilen, fakültatif anaerob, glikozu heksozdikosfat yolu ile fermente ederek laktik asit oluşturan mikroorganizmalardır (4,20,28).

Streptokoklar besi yerlerinde tek bir planda bölünerek çoğaldıkları ve bölünme sonrası hücreler birbirine yapışık olarak çoğalmaya devam ettikleri için besi yerinde zincir görünümü oluştururlar. Besi yerinde oluşan bu zincir görünümünü 30 hücre oluşturabileceği gibi çift halinde bulunan iki hücre de oluşturabilir. Zincir uzunluğu besi yerindeki mikroorganizmanın türüne ve büyüme şartlarına göre değişir (5).

### 2.2.1. Üreme Özellikleri

Streptokoklar en iyi 37°C'de ve pH 7,4 düzeyinde üremeyi severler. Zenginleştirilmiş besi yerlerinde aerob ya da anaerob şartlarda üreyebilirler. Bu özelliklerinden dolayı fakültatif anaerob bakteriler olarak tanımlanırlar (4,5). Ortamda karbondioksit bulunması üreme ve hemolizin oluşturma üzerine olumlu etki yapar. Glikoz, pepton ve kan ilave edilerek zenginleştirilmiş besiyerlerini tercih ederler. Özellikle A grubu streptokoklarda bulunan hiyalüronik asitten oluşan kapsül,

mikroorganizma organizmadan yeni ayrıldığında ve zengin besiyerlerinde bulunduğu anda açığa çıkar. Üretilme sırasında besiyerinde kapsül görülmez, hiyalüronik asit maddesi besi yerinde dağılmış olarak bulunur. Glikozun fermentasyonu sonucu laktik asit oluştururlar (2,5,20,32).

### **2.2.2. Morfolojik Özellikleri**

Streptokokların elektron mikroskopik incelemesinde; kapsül, hücre duvarı, hücre duvarından uzanan fimbriyalar, sitoplazmik zar, sitoplazma, ribozomlar, çekirdek ve sitoplazmik granüller görülür.

### **2.2.3. Sınıflandırılması**

Streptokoklar kanlı agarda oluşturdukları hemoliz tipi, antijenik özellikleri vb. gibi özelliklerine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılırlar.

#### **2.2.3.1. Hemolitik Özelliklerine Göre Sınıflandırılması**

Brown tarafından 1919'da yapılan bu sınıflandırma, streptokokların kanlı agarda oluşturdukları hemoliz tipi esas alınmaktadır (28).

##### **2.2.3.1.1. Beta Hemolitik Streptokoklar**

Streptokoklar kanlı agar plaklarında üretildikleri zaman kolonilerinin etrafında eritrositlerin tam eritilmesine (tam hemoliz – beta hemoliz) bağlı olarak şeffaf zonlar oluşur. Beta hemoliz, streptolizin-O ve streptolizin-S adı ile tanımlanan hemolizinler aracılığı ile gerçekleşir. Örnek: *Streptococcus pyogenes* beta hemoliz oluşturur (4,6,28,33).

##### **2.2.3.1.2. Alfa Hemolitik Streptokoklar**

Kanlı agar plaklarında üretilen streptokok kolonilerinin etrafında tam olmayan hemoliz nedeniyle yeşil renkli bir zon oluşmaktadır. Bu tarz hemoliz alfa hemoliz olarak tanımlanmaktadır. Hemoliz zonuna yeşil rengi, lizise uğramamış eritrosit ve hemoglobinin redüksiyonu sonucu oluşan metabolit vermektedir. Örnek: *Viridans Streptokoklar. S. pneumoniae* suşlarının büyük

bir kısmı alfa hemolitik olmakla birlikte anaerob inkubasyon yapıldığında beta hemoliz de oluşturabilirler (1,4,33).

#### **2.2.3.1.3. Gamma Hemolitik Streptokoklar**

Kanlı agar plaklarında üretildiklerinde kolonilerin etrafında hemoliz oluşturmeyen (hemolitik olmayan) streptokoklardır (6,28,33)

#### **2.2.3.2. Antijenik Yapılarına Göre Sınıflandırılması**

Hücre duvarı, tekrarlayan N-asetilglukozamin ve N-asetil muramik asit ünitelerinden oluşan peptidoglikan tarafından oluşturulmaktadır. Streptokokların kesin sınıflandırılması hücre duvarındaki polisakkarit antijenlerin oluşturdukları serolojik yanıtlar esas alınarak Rebecca Lancefield tarafından 1920'de yapılan sınıflandırmadır. Streptokoklar A,B,C,D....V arasında sero gruplara ayrılmaktadır. İnsanlarda sıklıkla A, B, C, D ve G grupları gösterilmiştir. Lancefield gruplandırmasında onsekiz grup spesifik antijen bulunmaktadır. Grup A polisakkarid N-asetilglukozamin ve ramnoz polimerlerinden oluşmaktadır. Ayrıca *S. pyogenes* yapısında bulunan ve antijenik özellik gösteren M, T ve R yüzey antijenlerine göre de serotiplendirilmiştir (4,5,28,33).

##### **2.2.3.2.1. A Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar**

*S. pyogenes* en önemli insan patojenleri arasında bulunmaktadır. Bakteriyel tonsillofarenjitlerin bakteriyel en sık etkenidir. Sıklıkla boğaz ve deri enfeksiyonlarına neden olurlar. Erizipel, kızıl, sepsis, impetigo gibi klinik sendromların yanı sıra akut romatizmal ateş ve akut glomerülonefrit gibi post-enfeksiyöz süpüratif olmayan komplikasyonları nedeniyle de klinik önem taşımaktadır (1,28,34).

##### **2.2.3.2.2. B Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar**

*S. agalactiae* sıklıkla farenks, gastrointestinal sistem ve vajen florasında bulunmaktadır. Özellikle yenidoğan sepsisi ve menenjitinde etken olması nedeniyle gebelik sırasında vajen kolonizasyonu önem taşımaktadır. Bakteri bebeğin doğum sırasında bulaşarak hastalık oluşumuna sebep olmaktadır. Aynı

zamanda B grubu beta hemolitik streptokoklar *E. coli*'den sonra gebelik sırasında görülen asemptomatik bakteriürinin ikinci en sık nedenidir. Sağlıklı bireylerde nadiren enfeksiyona neden olan bu bakteri bağışıklık sistemini zayıflatacak ya da kronik hastalığı (diabetes mellitus, karaciğer yetersizliği, alkolizm, malignite vs...) olan bireylerde ciddi enfeksiyonlara (endokardit, artrit, pnömoni, osteomyelit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları vb...) sebep olabilmektedir (1,28).

#### **2.2.3.2.3. C Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar**

*S. equi*, *S. dysgalactiae*, *S. equisimilis*, *S. zooepidemicus*, *S. pyogenes humanus* genellikle hayvanlarda patojen olmakla birlikte insanda nazofarenks, deri ve genital sistemin normal florasında bulunabilirler. A grubu beta hemolitik streptokoklar gibi tonsillofarenjit veya altta yatan ciddi hastalığı olanlarda deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, pnömoni, osteomyelit ve artrit gibi enfeksiyonlara neden olabilirler (1,28).

#### **2.2.3.2.4. D Grubu Streptokoklar**

Enterokokkal ( *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* ) ve Enterekokal olmayan ( *S. bovis*, *S. equinus* ) D grubu beta hemolitik streptokoklar olmak üzere iki grupta incelenirler. Kanlı agarda alfa ve gamma hemoliz oluştururlar. Enterokoklar sıklıkla yaşlı erkeklerde endokardit, sağlıklı genç kadınlarda üriner sistem enfeksiyonu, yoğun bakım ünitelerinde izlenen hastalarda nazokomiyal üriner sistem enfeksiyonu ve bakteriyemi, batın içi, pelvik yara enfeksiyonuna yol açmaktadır. Birçok antibiyotiğe intrensik olarak dirençli oldukları için enterekokal enfeksiyonların tedavisinde aminoglikozitler ve penisilinler birlikte tercih edilmektedir (1,28).

#### **2.2.3.2.5. G Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar**

Farenks, gastrointestinal kanal, vajen ve deride asemptomatik olarak bulunabilen bu grup mikroorganizma malignite ya da diabetes mellitus gibi altta yatan kronik hastalığı olan bireylerde enfeksiyon etkeni olabilirler (1,28).

Patojen streptokoklardan iki tanesi Lancefield antijeni taşımamakta ve bu nedenle de Lancefield sınıflandırılmasında yer almamaktadır. Bu patojen bakterilerden birincisi *S. pneumoniae*, diğeri ise *S. viridans* grubudur (8).

*S. pneumoniae*, kanlı agarda alfa hemoliz oluşturur. Erişkin dönemde bakteriyel pnömoni ve menenjit etkeni iken, çocukluk çağında otitis medianın en sık rastlanan etkenlerindendir. Başlıca virülans faktörleri polisakkarit yapısındaki kapsüldür (8).

*S. viridans* grubu içerisinde *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. mitis*, *S. intermedius*, *S. anginosus*, *S. milleri*, *S. constellatus* yer almaktadır. Pnömonokoklar gibi bu grupta yer alan bakteriler de kanlı agarda alfa hemoliz oluşturmaktadırlar. İnsanlarda özellikle gastrointestinal sistem ve nazofarenks normal florasında yer alırlar (8).

Viridans streptokoklardan özellikle *S. mutans* glikozu fermente ederek asit oluşumuna yol açarak diş çürüklerine neden olmaktadır. Nazofarenks ve dişlerde kolonize oldukları için, diş çekimi ya da tonsillektomi gibi girişimler sırasında kan dolaşımına geçerek tüm vücuda yayılmakta, akut romatizmal ateş ya da konjenital kalp hastalığı nedeniyle daha önceden lezyon gelişmiş endokardiyal dokuya tutunarak, subakut bakteriyel endokardit etkeni olabilmektedirler. Gastrointestinal kanalın normal florasında yer alan, mikroaerofilik *S. intermedius* grubu viridans streptokoklar, başta beyin olmak üzere iç organlarda apse oluşumuna neden olmaktadır (1,8).

### 2.2.3.3. Sherman Sınıflandırılması

Streptokoklar biyokimyasal yapılarına, üreme özelliklerine, antijenik yapılarına ve hemoliz tiplerine göre piyogen, viridans, laktik ve enterokoklar olmak üzere sınıflandırılırlar (28).

#### 2.2.3.4. Genişletilmiş (Jones) Sınıflandırılması

##### 2.2.3.4.1. Piyojenik Streptokoklar

*S. pyogenes* (A), *S. agalactiae* (B), *S. spp.* Grup C, *S. spp.* Grup G, *S. spp.* Grup L, N, P, U, V, *S. iniae*, *S. pneumoniae*

##### 2.2.3.4.2. Oral Streptokoklar

*S. salivarius* (K,-), *S. sangius* (H), *S. milleri* (C, F, G) (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*), *S. mutans*

##### 2.2.3.4.3. Enterokoklar (D)

*S. faecalis* (*E. faecalis*) (D), *S. faecium* (D), *S. avium* (*E. avium*), *S. gallinarum* (*E. gallinarum*)

##### 2.2.3.4.4. Laktik Streptokoklar

*S. lactis*, *S. raffinolactis*

##### 2.2.3.4.5. Anaerob Streptokoklar

*S. morbillorum*, *S. hansenii*, *S. pleomorphus*, *S. parvulus*

##### 2.2.3.4.6. Diğer Streptokoklar

*S. uberis*, *S. bovis* (D), *S. equinus* (D), *S. thermophilus*

### 2.3. A Grubu Beta Hemolitik Streptokoklar

#### 2.3.1. Tanım

Gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmeyan bakterilerdir. Tipik olarak pürülan lezyonlarda ve besiyerlerinde kısa-orta uzunlukta (4-10 hücre) zincir oluşturan küre ya da ovoid şekilli mikroorganizmalardır. Katı besiyerlerindeki kolonilerinden hazırlanan preparatlarda diplokok veya kısa zincirli koklar halinde görülürler. Üreme sırasında tek bir planda bölünmeleri zincir oluşumuna neden olmaktadır. Patojen streptokoklar, normal florada yer alan streptokoklara göre daha uzun zincirler oluşturmaktadır. Besi



yerini oluşturan maddelerin düzensizliği, ortamın ısısı ve besi yerine eklenen antibiyotikler gibi çevresel faktörler de zincir oluşumunu etkilemektedir (1,4,5,26).

*S. pyogenes* fermentatif bir bakteridir. Katalaz negatif olan bakteri fakültatif anaerobdur. Optimal üreme ısısı 35-37°C, pH'sı ise 7,4-7,6 arasındadır. Kan, serum, glikoz ve beyin gibi maddelerle zenginleştirilmiş besi yerlerini tercih eder. %5-7 koyun kanlı agarda tipik olarak hiyalüronik asit kapsül ve beta (tam) hemoliz oluşturur. Kolonilerin etrafında 2-3 mm kalınlığında beta hemoliz zonu görülmektedir. Hemoliz zonu genellikle koloni büyüklüğünün 2-4 katı genişliktedir. Anaerobik ortamda inkübasyon (%10 CO<sub>2</sub>'li ortam) beta hemoliz özelliğinin çok daha belirgin olmasını sağlar. Beta hemoliz, Streptolizin S ya da O tarafından oluşturulur. Streptolizin S üretemeyen koloniler, Streptolizin O oksijen varlığında aktif olmadığı için sadece anaerobik ortamlarda beta hemolitik özellik gösterebilmektedir (1,4,5,26).

Koyun kanlı agarda genellikle koloniler kompakt ve küçüktür. Gri, hafif bulanık görünümde pürüklü koloniler oluştururlar. İnkübasyon şartlarına ve besi yerinde oluşan hiyalüronik asit yapısındaki kapsülün miktarına bağlı olarak, koloniler değişik büyüklüklerde ve yüzey yapısında olabilirler. Hiyalüronik asit yapısındaki kapsülün fazla miktarda oluşması koloniye parlak, su damlası görünümünü vermektedir (1,2,4,5,26).

### 2.3.2. Yapısı

Hücre duvarı, peptidoglikan matriks üzerinde bulunmaktadır. Bu nedenle sağlam bir yapıya sahiptir. Peptidoglikan matriks içerisinde A grubu streptokokların sınıflandırılmasında kullanılan grup karbonhidrat antijeni yer almaktadır. M proteini ve lipoteikoik asit hücre duvarına bağlı bulunmakta ancak hücre duvarından dışarı pili şeklinde uzanım göstermektedir. Hücre duvarı aynı zamanda T ve R proteinlerini de içermektedir. Bazı suşların antijenik özellik göstermeyen hiyalüronik asit yapısında kapsülü bulunmaktadır (1,5).

Hücre duvarından çeşitli yöntemlerle izole edilen C karbonhidratı, 1933 yılında Rebeca Lancefield tarafından tanımlanan gruba özel antijendir. Viridans streptokoklar

dışında bütün streptokokların C karbonhidratı vardır. A grubu beta hemolitik streptokok grubuna özel C polisakkarit antijeni, L-ramnoz ve N-asetil-D-glukozamin ‘den oluşan bir polimerdir (1,2). Molekülün N-terminali antijenik belirleyiciliğe sahiptir. C karbonhidratı, sulandırılmış hidroklorik asit, nitrik asit veya formamid gibi kimyasal maddeler, pepsin veya tripsin gibi proteolitik enzimler yardımı ile hücre duvarından izole edilebilmektedir (27).

T proteini, asit ve ısıya duyarlı, pepsin ve tripsin gibi proteolitik enzimlere dayanıklıdır. Alkolde erimez. Virülans artırıcı etkisi olmayan bir antijenik proteindir. T proteini yardımı ile de tiplendirme yapılabilmektedir (1). *S. pyogenes* suşları 20 farklı kombinasyonda T protein çeşidine sahiptir. Streptokokların, T protein serotiplendirmesi, ticari olarak temin edilen, T proteinine karşı geliştirilen anti-serumların kullanıldığı aglütinasyon yöntemi ile yapılır.

R proteini tripsin dayanıklı, pepsin duyarlıdır. Tipe özel olmayan bu antijen de virülans faktörü olarak rol oynamamaktadır. R proteini tiplendirme amacıyla kullanılamaz (1).

Serum opasite faktörü de GABHS’ların hücre duvarında bulunan protein yapısındaki antijenlerden biridir. Lipoproteinaz yapısındadır. At serumu içeren besi yerlerinde opaklaşmaya neden olduğu için bu şekilde isimlendirilmiştir (26,35). Serum opasite faktörüne karşı oluşan antikör de tipe özgüdür. GABHS’ların en önemli fibronektin bağlayıcı proteinidir. GABHS suşlarının inhibisyon yöntemi ile serum opasite faktör tipinin belirlenmesi ile M serotipleri de belirlenebilmektedir (36).

Bakterinin en dışında bulunan yapı, kapsül, N-asetil glukozamin ve D-glukuronik asit moleküllerinin oluşturduğu, yüksek molekül ağırlıklı hiyaluronik asit polimerlerinden oluşmaktadır. Kapsül genç kolonilerde ve üremenin erken döneminde görülür. Kanlı agar besi yerinde yoğun mukoid görünüme sahip kolonilerin kapsül üretimi fazladır. Sıvı besi yerlerinde ise üremenin erken logaritmik fazında kolonilerin fazla miktarda kapsül ürettiği gözlenmektedir (27,37,38).

### 2.3.3. Virölans Faktörleri

A grubu beta hemolitik streptokokların bağışıklık sisteminden kaçmasını sağlayan ya da bağışıklık sistemini ortadan kaldırmasını sağlayan çok sayıda virölans faktörü bulunmaktadır. Bu virölans faktörleri mikroorganizmanın kolonizasyonunda, fagositozun ve konak tarafından bağışıklık cevabının oluşturulmasının önlenmesinde rol oynamaktadır. *S. pyogenes*'in hücre yüzeyinde bulunan antijenik bileşenler, kapsüler poliksakkarit, hücre duvarında yer alan peptidoglikan, lipoteikoik asit ve M proteini, fimbria proteinleri, fibronektin bağlayıcı protein gibi yüzey proteinleri ve hücre bağımlı streptokinaz'dır (22).

*S. pyogenes*'in hücre zarında yer alan bazı antijenlerin insan kalp, iskelet, düz kas dokusu, kalp kapak fibroblastları ve nöronal dokular ile moleküler benzerlik göstermesi konak organizmada immun toleransa ya da baskılanmış immun cevabın oluşmasına neden olmaktadır (5,22). Bazı duyarlı bireylerde ise patojen mikroorganizmaya ait antijenlerin konak dokuları ile moleküler benzerlik göstermesi, mikroorganizmaya karşı oluşturulan antikorların otoimmun mekanizmalarla akut romatizmal ateş, akut post-streptokoksik glomerülonefrit ya da streptokoksik enfeksiyonlarla ilişkili otoimmun nöropsikiyatrik hastalıklar gibi klinik tablolara yol açmasını sağlamaktadır (3,5,22).

A grubu beta hemolitik streptokokların en önemli ve en iyi tanımlanmış yüzey antijeni M proteini, mikroorganizmanın bağışıklık sisteminden kaçmasını sağlamaktadır (23). M protein antijeni, asit ve ısıya dirençli, tripsine duyarlıdır. Alkolde erir (1,2,26). M proteini, bakteri yüzeyine Gram pozitif hücre duvarına bağlantı parçası ile bağlanır. M proteini yay şeklini, tekrarlayan yedili hidrofobik parçaları ve sekonder alfa helikal yapısı nedeniyle almaktadır (39,40). A grubu beta hemolitik streptokokların serolojik tiplendirmesini ve tipe özgül antikor oluşumuna sağlayan M proteinin yüksek değişkenlik gösteren N-terminalidir (3,41).

M proteinin esas işlevi fagositoza karşı direnç sağlamaktır. Bazı M protein serotiplerinin konak hücreye yapışmada da rol oynadığı gösterilmiştir (41). M protein ve M protein benzeri proteinlerin antifagositik mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. M proteini C-terminali ile konak proteinlerine bağlanarak ya da konak proteinlerinin mikroorganizmaya bağlanmasını engelleyerek (faktör H, C4b-

bağlayıcı protein, immunglobulinler (spesifik olmayan bağlanma), mikroorganizmanın kompleman proteinlerinden opsonizasyonda esas rol oynayan kopleman 3b ile işaretlenmesini önlemektedir. Bu şekilde mikroorganizmanın fagositer hücreler tarafından tanınmasını ve fagosit edilmesini sağlayan kompleman sistemini durdurmaktadır (22).

M proteininin yüksek değişkenlik gösteren N-terminaline karşı oluşan antikorlar mikroorganizmanın ortadan kaldırılması için opsonizasyon sağlayacak yapıda olmasına rağmen mikroorganizma Ig G karakterindeki antikorları hidrolize edecek bir proteaz da salgılamaktadır (22).

A grubu beta hemolitik streptokokların bazıları *emm* gen komşuluğundaki *emm* benzeri gen lokuslarından M protein benzeri proteinler kodlamaktadır. M protein benzeri bu proteinler de antifagositer özellik göstermekle birlikte esas görevleri bakteri yüzeyine bağlanarak mikroorganizmanın konak bağışıklık sistemi tarafından ortadan kaldırılmasını sağlayan proteinlerin etkisiz hale getirilmesidir (22).

A grubu beta hemolitik streptokoklar ayrıca kompleman proteinlerini hidrolize ederek etkisiz hale getiren proteinler de kodlarlar. Bu grupta yer alan proteinlerden en iyi tanımlanmış olanı kompleman 5a peptidaz (Scp A, C5a), serin proteaz'dır (42). Kemotaktik kompleman proteini olarak görev yapan C5a'nın parçalanarak etkisiz hale getirilmesi, fagositer hücrelerin enfeksiyon bölgesine toplanmasını yavaşlatmaktadır (4,5,22).

*S. pyogenes*'in hiyaluronik asit yapısındaki kapsülü antijenik özellik göstermemektedir. Kapsülün konak organizmanın bağ dokusu ile benzerlik göstermesi mikroorganizmanın kendi antijenlerini konak bağışık sisteminden saklamasını sağlamakta ve antijenik olarak bağışık sistemi tarafından tanınmasını engellemektedir. Kapsül aynı zamanda nötrofiller ve makrofajlar tarafından mikroorganizmanın fagosit edilmesini de engellemektedir. İnvazif enfeksiyon kapasitesi olan suşların besi yerinde mukoid tarzda koloniler oluşturdıklarının gözlenmesi, kapsül yapısının virülans faktörü olarak kabul edilmesi fikrini desteklemektedir (4,38).

Temel savunma mekanizmalarının etkili çalışmaması (normal flora ya da diğer spesifik olmayan savunma mekanizmaları) *S. pyogenes*'in dokularda (üst solunum

yolu epiteli ya da cilt) kolonizasyonuna neden olarak burada çoğalmasına ve enfeksiyon oluşturmaya neden olur. *S. pyogenes*, farklı özelliklere sahip çok sayıda adhesin molekülüne sahiptir. Bu adhesin molekülleri arasında lipoteikoik asit, M proteini ve fibronektin bağlayıcı protein yer almaktadır. Lipoteikoik asit bakteri yüzeyindeki proteinlere bağlı olarak bulunmaktadır. Hem lipoteikoik asit hem de M proteini hücre duvarında fimbria adlı moleküller ile desteklenmekte ve mikroorganizmanın konak epitel hücrelerine bağlanmasında rol oynamaktadır. Fibronektin bağlayıcı protein, protein F, mikroorganizmanın mukozal yüzeylerde bulunan fibronektin molekülünün amino terminaline yapışmasında rol oynamaktadır (4,22).

A grubu beta hemolitik streptokoklar, streptolizin-S, oksijen-dayanıklı lökositin ve streptolizin-O, oksijen-duyarlı lökositin olmak üzere hücre dışı ortama iki çeşit hemolizin salgılamaktadır. Mikroorganizma, bu sitotoksinler aracılığı ile lökosit, trombosit ve doku hücrelerinde lizis oluşturabilmektedir. Lökositinler, direkt olarak konak organizmanın hücre zarına bağlanarak, stafilokoksik alfa toksin ve kompleman proteinleri gibi hücre erimesine neden olan transmembran kanallar oluşturmaktadır (5).

Streptolizin-S, kanlı agardaki yüzeyel hemolizden sorumlu oksijen dayanıklı küçük bir polipeptittir. Hemolitik aktivitesi, serum lipoproteinleri ve fosfolipidler tarafından engellenir. Fagositozu engelleyen bu protein antijenik değildir. Nötralize edici antikor tanımlanmamıştır. Ancak Dale ve arkadaşları 2002 yılında streptolizin-S molekülü ile benzer amino asit dizinine sahip toksinleri nötralize eden ve antikorlara benzeyen sentetik polipeptidlerin, hemolitik aktiviteyi kısmen nötralize edebildiğini bildirmişlerdir (1, 43).

Streptolizin-O, ısı ve asitlere dirençli, oksijene duyarlıdır. Besi yerindeki derin hemolizden sorumludur. Bu hemoliz yapıcı etkisi, ortamda oksijen varlığında geri dönüşümlü, kolesterol varlığında ise geri dönüşümsüz olarak ortadan kalkar. Ultrasontrifügasyon, dondurma-eritme ve liyofilizasyon etkinliğini azaltmaktadır. Lökosit ve trombositler için toksik olan bu proteinin kardiyotoksik özellik göstermesi klinik önem taşımaktadır. Antijenik özelliğe sahip olan streptolizin-O'ya karşı konak tarafından oluşturulan antikorlar serolojik tanı için de kullanılmaktadır (Antistreptolizin-O antikorları – ASO) (1,2,5).

A grubu beta hemolitik streptokoklar hücre dışı ortama çok sayıda proteaz işlevine sahip protein yapısında madde salgılamaktadır. Hiyalüronidaz, hiyalüronik asit yapısındaki konak bağ dokusunu ve mikroorganizmanın kapsülünü sindirerek mikroorganizmanın çevre dokulara yayılmasını sağlamaktadır (4).

Streptokinazlar (Fibrinolizin), konak organizmanın plazmasında aktif olmayan formda bulunan plazminojen molekülünü aktif form olan plazmin'e dönüştürerek fibrin moleküllerinin eritilmesinden sorumludur. Plazminin fibrinolitik etki göstererek fibrin moleküllerini hidrolize etmesi, mikroorganizmanın çevresinde oluşan fibrin bariyerini aşarak çevre dokulara yayılmasına yardım etmektedir. Plazminojen-streptokinaz kompleksi aynı zamanda kompleman proteinlerini alternatif yoldan aktive etmektedir (5,26).

Streptodornazlar (DNaz), irinin koyuluğuna neden olan deoksiribonükleik asidi depolimerize ederek enfeksiyon ortamının akıcılığını sağlarlar. İmmunolojik ve elektroforetik olarak dört farklı tipe ayrılırlar. Streptodornaz A ve C sadece deoksiribonükleaz, Streptodornaz B ve D ise ribonükleaz aktivitesi göstermektedir (2,4).

Streptokinaz klinik olarak fibrinöz eksudaların, koroner arter ve venöz trombüslerin, pulmoner embolinin eritilmesinde tedavi edici ajan olarak kullanılmaktadır. Streptodornaz ise streptokinaz ile birlikte özellikle seröz boşluklarda gelişen iltihaplanmalar sonucu oluşan yapışıklıkların ayrılması ve koyu irinin akışkan hale getirilerek boşaltılmasının sağlanmasında kullanılmaktadır (1,4).

Proteaz aktivitesi, yumuşak doku nekrozu ve toksik şok sendromuna neden olan *S. aureus* suşları ile benzer özellik göstermektedir (4).

A grubu beta hemolitik streptokoklar'ın kızıl gibi toksinlerle oluşturdukları klinik tablolardan sorumlu eritrojenik toksin olarak da bilinen protein yapısında toksinleri bulunmaktadır. Tip A, B ve C olmak üzere üç tip olarak da bilinen streptokokkal pirojenik ekzotoksinler (SPE) süperantijen olarak davranmakta ve antijen sunucu hücreler tarafından işlenmesine gerek olmadan direkt ve spesifik olmayan yollarla MHC sınıf II moleküllerine bağlanarak T hücrelerini uyarmaktadırlar. SPE A ve C lizojenik fajlar tarafından kodlanırken, toksin B ise

bakteri kromozomu üzerinden kodlanmaktadır (4,5,44,45). SPE B, ekstraselüler sistein proteaz aktivitesine sahip olup, fibronektin ve vitronektin de dahil olmak üzere ekstraselüler matriksi oluşturan proteinlerin enzimatik olarak parçalanmasını sağlamaktadır (46).

#### **2.3.4. Epidemiyoloji**

##### **2.2.4.1 Farenjit**

A grubu beta hemolitik streptokoklar 5-15 yaş grubu okul çocuklarında bakteriyel farenjit tablosunun en sık nedenidir. Enfekte bireyin öksürmesi, burun temizliği ve konuşması sırasında solunum damlacıkları ile çevredeki sağlıklı bireylere bulaşır. Askeri birlikler ve okullar gibi kalabalık kapalı ortamlarda kolaylıkla sağlıklı bireylere bulaş söz konusudur. Streptokoksik farenjit sıklığı mevsimsel dağılım göstermektedir. En sık sonbahar ve kış aylarından saptanmaktadır. Asemptomatik olguların da (%1<), burun ve farenks mukozasında kolonize olan mikroorganizmaların duyarlı bireylere bulaşmasında rol oynadıkları ön görülmektedir (5,7,9,34).

##### **2.2.4.2 İmpetigo**

Cilt dokusunun geçici olarak A grubu beta hemolitik streptokoklar ile kolonize olduğu dönemlerde oluşan küçük püstüler lezyonlar, böcek ısırıklarının neden olduğu kaşıntı ile sağlıklı çevre dokulara da yayılır. Daha sık yaz aylarında görülmektedir (5,7, 34).

##### **2.2.4.3 Yara Enfeksiyonları ve Puerperal Enfeksiyonlar**

A grubu beta hemolitik streptokoklar son yıllarda sıklığı azalmakla birlikte ameliyat sonrası yara ve puerperal enfeksiyonlara da neden olmaktadır (5).

##### **2.2.4.4 Streptokoksik Toksik Şok Sendromu**

1980'li yılların sonlarında A grubu beta hemolitik streptokokların neden olduğu ağır, invazif yumuşak doku enfeksiyonlarının sıklığı Amerika'da ve diğer ülkelerde artmıştır. Mortalitesi yüksek olan bu enfeksiyon sırasında gelişen çoklu organ yetersizliği tablosu, patogeneizde toksinlerin ve kan dolaşımı

aracılığı ile uzak organlara mikroorganizmanın direkt inokülasyonun rol oynadığını desteklemektedir (5).

**Tablo 2.1: *S. pyogenes*'in Virülans Faktörleri**

|                                                                                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Kolonizasyon Yüzey Makromolekülleri</b>                                                                                                                                    |
| M-protein                                                                                                                                                                     |
| Lipoteikoik asit                                                                                                                                                              |
| Protein F ve fibronektin bağlayıcı proteinler                                                                                                                                 |
| <b>Dokuya Dağılımı Kolaylaştırıcı Faktörler</b>                                                                                                                               |
| Hiyaluronidaz : Kapsül ve konak bağ dokusu üzerine etkili                                                                                                                     |
| Proteazlar                                                                                                                                                                    |
| Streptokinaz : Fibrin yıkıcı                                                                                                                                                  |
| Streptodornazlar                                                                                                                                                              |
| <b>Fagositozdan Koruyucu Faktörler</b>                                                                                                                                        |
| Kapsül : Hiyalüronik asit yapısında                                                                                                                                           |
| C5a peptidaz: Serin proteza, kemotaksisi önler                                                                                                                                |
| M proteini                                                                                                                                                                    |
| Lökosidinler: Streptolizin S, Streptolizin O                                                                                                                                  |
| <b>Toksinler</b>                                                                                                                                                              |
| Streptokoksik pirojenik ekzotoksin A, B, C                                                                                                                                    |
| <b>Kan Dolaşımındaki Antikorlar</b>                                                                                                                                           |
| Bazı konak dokuları ile benzerlik gösteren mikroorganizma antijenlerine karşı konağın oluşturduğu antikorlar, bu benzerlik nedeniyle konak dokularında hasar oluşturmaktadır. |

#### **2.2.4.5 Post-streptokoksik Süpüratif Olmayan Komplikasyonlar**

A grubu beta hemolitik streptokok enfeksiyonlarından sonra bazı bireylerde immunolojik mekanizmlarla geliştiği bilinen iki tablo tanımlanmıştır.

Akut romatizmal ateş, ‘romatojenik’ A grubu beta hemolitik streptokok suşları ile gelişen enfeksiyonlardan sonra görülmektedir. Cilt ve solunum yolu



enfeksiyonları dışındaki enfeksiyonlardan sonra görülmez (5). Son yıllarda yapılan çalışmalarla akut romatizmal ateşe neden olan suşlar M1, 3, 5, 6, 14, 18, 19 ve 24 olarak belirlenmiştir (34,47,48,49,50,51).

Tekrarlayan ARA tabloları sonucunda kardiyak dokularda kalıcı hasarlar gelişir ve oluşan tablo romatizmal kalp hastalığı adını alır (5). İkinci dünya savaşı yıllarında ve sonrasında Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Avrupa'da yaygın olarak görülen akut romatizmal ateş insidansı, 1960-1980 yılları arasında, streptokoksik farenjit ve tonsillit olgularının tanınması ve penisilin ile uygun tedavisinin verilmesi yanında yaşam şartlarının iyileşmesi ile birlikte azalmıştır (48,52,53).

Streptokoksik enfeksiyon sonrasında gelişen akut glomerülonefrit (APSGN), 'nefritojenik' A grubu beta hemolitik streptokok suşları ile gelişen yüzeysel cilt enfeksiyonları ve solunum solunum yolu enfeksiyonlarından sonra görülür. Tablonun oluşması için gereken süre cilt enfeksiyonlarından sonra ortalama üç hafta, solunum yolu enfeksiyonlarından sonra ise ortalama on gündür. Ilıman iklimlerde daha sık görülmektedir (5). Son yıllarda yapılan çalışmalarla GABHS suşlarından M2, 4, 12, 49, 55, 57, 59, 60 ve 61 nefritojenik suşlar olarak saptanmıştır. Yayınlarda en sık, %23 oranında, tip 49 ile gelişen cilt enfeksiyonlarından ve tip 12 ile gelişen farenjit enfeksiyonlarından sonra nefrit geliştiği bildirilmektedir (34,48,50,51,54,55).

### **2.3.5. Patogenez**

Mikroorganizmanın mukozal yüzeylere tutunması akut streptokoksik enfeksiyonlarının gelişmesinde kritik basamak olarak rol oynamaktadır. Streptokokların nazofarenks mukozal hücrelerine ya da cilt epitel hücrelerine tutunmasını sağlayan adhesin olarak tanımlanmış çok sayıda bağlayıcı molekülü bulunmaktadır. Bu moleküllerin en önemlileri M protein, lipoteikoik asit ve protein F'dir. Bu üç molekül de, epitel hücrelerinin üzerini kaplayan glikoprotein yapısındaki fibronektin molekülünün yağ asidi bağlanma bölgesine tutunarak, nazofarenks mukozasına tutunmada rol almaktadır. M proteini bu bağlanmada esas rolü oynamamakta ancak lipoteikoik asit'in bağlantı bölgesine ulaşması için iskelet oluşturmaktadır (5).

M proteini keratinositlere bağlanma özelliği nedeniyle cilt enfeksiyonlarının oluşumunda mikroorganizmanın konak dokuya tutunmasında esas rolü oynamaktadır. M proteini farklılaşma kümesi (CD) 46 molekülüne bağlanan parçası aracılığı ile keratinositlere tutunabilmektedir. Protein F ise cilt dokusunda bulunan antijen sunucu hücrelere, Langerhans hücrelerine bağlanmadan sorumludur. M proteini ve protein F'in mikroorganizma tarafından salgılanması çevresel faktörler tarafından da kontrol edilmektedir. Deneysel çalışmalarda yüksek oksijen konsantrasyonlarına sahip besiyerlerinde protein F ekspresyonunda artış ve mikroorganizmanın Langerhans hücrelerine bağlandığı, yüksek karbondioksit konsantrasyonlarına sahip besi yerlerinde ise M protein ekspresyonunda artış ve mikroorganizmanın keratinositlere bağlandığı saptanmıştır (3,5).

Derin streptokok enfeksiyonlarında; M proteini, protein F ve diğer fibronektin bağlayıcı proteinler fagositer hücrelerin engellenmesini sağlamakta ve integrin reseptörleri aracılığıyla mikroorganizma derin dokulara ulaşmaktadır. Konak dokularına tutunma ve derin dokulara invazyon gerçekleştikten sonra M proteini, immunoglobulin bağlayıcı proteinler ve C5a proteaz, streptokok enfeksiyonunun devamlılığını sağlamaktadır (5).

M proteini, fibrinojen ve serum faktör H proteinine bağlanan parçası aracılığıyla fagositozdan korunmada esas rol oynamaktadır. Tip spesifik anti-M-protein antikorlarının varlığında opsonofagositoz klasik yoldan tamamlanır ve streptokoklar hızlıca ortadan kaldırılır. İkinci bir antifagositik mekanizma ise C5a peptidazdır. Serin proteaz yapısındaki bu proteinin görevi fagositik hücrelerin kemotaksisi için uyarıcı görevi olan C5a proteinini parçalamaktadır. Hiyalüronik asit yapısındaki kapsül de fagositozu engelleyici özellik göstermektedir. Ancak mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır (5).

A grubu beta hemolitik streptokoklar tarafından salgılanan streptokinaz, DNaz ve hiyalürinidaz gibi enzimler, oluşan lokal enfeksiyonun konak organizma tarafından sınırlandırılmasını önleyerek enfeksiyonların patogenezinde rol almaktadır. Streptolizinler ise doku hasarını artırır ve fagositik hücreler üzerine toksik etki gösterirler (5).

Streptokoksik toksik şok sendromunun (STSS) klinik bulguları arasında yer alan şok ve çoğul organ yetersizliği SPE'lerin süperantijen gibi davranarak konak organizmada masif sitokin salınımı sonucunda ortaya çıkmaktadır. T hücrelerinin uyarılması ile birlikte kan dolaşımına çok miktarda zarar verici sitokin (tümör nekrozis faktör  $\alpha$ , interlökin 1  $\beta$  ve interlökin 2 ) ve interferon  $\gamma$  gibi T hücre mediyatörleri salınmaktadır. Bu çok sayıda sitokin salınımının kompleman sistemini aktive etmesi, koagülasyon ve fibrinolitik yolları harekete geçirerek hipotansiyon ve çoğul organ yetersizliği ile karakterize STSS tablosunun gelişmesine neden olur. SPE B mikroorganizmanın invazif enfeksiyon oluşturmaya ile ilişkilendirilmektedir. SPE A ve C şok tablosundan sorumlu tutulmakta ve bakteriofaj aracılığı ile SPE genlerinin horizontal transferinin streptokokkal toksin A ve C üreten suşlara invazif enfeksiyon oluşturabilme potansiyelinin aktarılabileceği deneysel olarak gösterilmiştir (5,6,33).

Streptokoksik farenjit enfeksiyonu sonrasında otoimmün mekanizmalar ile ARA gelişen olgularda, gelişmeyen olgulara göre daha yüksek düzeylerde anti-streptokokkal antikor, otoreaktif antikor ve T hücreleri saptanmıştır. Yüksek düzeylerdeki bu antikorlar ve otoreaktif hücreler, mikroorganizma ve konak organizma arasındaki benzerlikler nedeniyle bağ dokusu ve kalp kası ile de reaksiyona girmektedir. Antikor oluşumunu uyaran M proteini ile kalp kasının yapısında yer alan miyozin proteini benzerlik göstermektedir (5). İmmunolojik değerlendirmeler ile M proteinin kalp kası ile benzerlik gösteren parçaları tanımlanmış ve bu bölgelerin faktör H ve fibrinojen bağlayan bölgelerden farklı olduğu gösterilmiştir. Grup A karbonhidrat (N-asetil glukozamin) molekülünün baskın epitopuna karşı oluşan antikorlar kalp kapakçığı endotelinde kalıcı hasara neden olurken, M proteini tarafından uyarılan T hücreleri de fibröz yapıdaki kapak dokusunda hasar oluşturmaktadır. ARA gelişen olgular, streptokoksik antijenlere karşı abartılmış hücresel bağışıklık yanıtına sahiptir. M proteini tarafından uyarılan sitotoksik T hücreleri konak organizmanın kan dolaşımında da bulunmaktadır. Romatizmal kardit'in karakteristik bulgusu olarak kabul edilen Aschoff cisimleri, kalp kapağı üzerindeki fibrin birikimlerinin kan dolaşımındaki sitotoksik T hücreleri ve makrofajlar tarafından sınırlandırılması ile oluşmaktadır (3,5,26,32).

Akut post-streptokoksik glomerülonefrit, antikor-antijen kompleksinin glomerüllerde birikmesi ve kompleman proteinlerinin aktivasyonu sonucu gelişen

inflamasyonun sonucudur. Nefritojenik suşların M proteinleri glomerül ile antijenik benzerlik göstermektedir. Bu nedenle hastalığın ortaya çıkmasında akut romatizmal ateş tablosundaki gibi otoimmün mekanizmalar rol oynamaktadır. Ayrıca patogeneizde moleküler benzerlik ve plazminojen aktivasyon kapasitesi nedeniyle streptokinazlar da rol almaktadır (5) .

### 2.3.6. Bağışıklık

M proteinine karşı konak organizmanın oluşturduğu antikorlar tekrarlayan streptokok enfeksiyonlarına karşı koruyucu rol oynamaktadır. Koruyuculuk ancak aynı M proteinine sahip suşlar için sağlanabildiği için ‘tip spesifik immünite’ olarak da tanımlanmaktadır. Ig G karakterindeki koruyucu antikorlar M proteinin yüksek değişkenlik gösteren amino terminali ile etkileşmekte ve M proteininin fagositoz engelleyici özelliğini ortadan kaldırmaktadır. Tip spesifik antikor tarafından işaretlenen streptokoklar, klasik yol aktivasyonu ile kompleman proteinlerinden C3b ile bağlanmakta ve fagositer hücreler tarafından tanınmaktadırlar. Humoral bağışık sisteminin parçalarından olan Ig G mikroorganizmanın invazyonuna engel olurken, mukozal yüzeylerde salgılanan salgısal Ig A da mikroorganizmanın mukozal yüzeylere tutunması önlemektedir. Bütün bu mekanizmalar aracılığı ile konak kendini mikroorganizmaya karşı savunmaktadır. Geçirilmiş enfeksiyonlardan sonra kazanılan bağışıklık, tip spesifik olduğundan ve 80’in üzerinde M protein tipi bulunduğundan, aynı M protein tipine sahip suşlarla tekrarlayan enfeksiyonlar görülmezken, farklı M proteinine sahip suşların enfeksiyonları görülmektedir (5).

*S. pyogenes* insanda sık olarak enfeksiyon etkeni olarak rastlanan mikroorganizmalar arasında yer almaktadır. İnsanların %5-15’inde enfeksiyona neden olmadan özellikle solunum yolu epitelinde kolonize olduğu düşünülmektedir. Normal flora olarak kabul edilen bu grup da konak bağışıklık sisteminin zayıfladığı durumlarda enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Mikroorganizma duyarlı dokulara bulaştığı zaman çeşitli süpüratif enfeksiyonlara neden olmaktadır (5).

### 2.3.7. A Grubu Beta Hemolitik Streptokok Enfeksiyonlarının Klinik Bulguları

*S. pyogenes* yaşamı tehdit edici bir enfeksiyon olan puerperal sepsis gibi süpüratif enfeksiyonların yanı sıra streptokoksik toksinler ile gelişen kızıl gibi

enfeksiyonlardan da sorumludur. *S. pyogenes* 'in etken olduğu akut hastalıklar esas olarak solunum yollarında, sistemik dolaşımda ve ciltte gelişir. Akut *S. pyogenes* enfeksiyonları farenjit, kızıl, impetigo ya da selülit iken, invazif, toksijenik enfeksiyonlar nekrotizan fasiit, miyozit ve streptokoksik toksik şok sendromu'dur. Kızıl ve streptokoksik toksik şok sendromu kan dolaşımındaki bakteriyel toksinlerin neden olduğu tablolardır. Erizipel (ateş, sistemik toksisite ve selülit) günümüzde daha az sıklıkla görülmektedir. Günümüzde *S. pyogenes*'in önemi, klinikte neden olduğu enfeksiyonların yanı sıra %1-3 oranında tedavi edilmeyen ya da yetersiz tedavi edilmiş enfeksiyonlardan sonra immünojenik mekanizmalar ile gelişen akut romatizmal ateş ve akut glomerulonefrit gibi süpüratif olmayan komplikasyonların toplum sağlığı üzerindeki etkilerinden ileri gelmektedir (4,5,6,7).

#### **2.2.7.1 Streptokoksik Farenjit**

Çocukluk çağında her yaş grubunda görülmekle beraber, en sık 5-15 yaş grubu okul çocuklarında saptanmaktadır. Enfeksiyon, akut başlayan boğaz ağrısı, halsizlik, ateş ve baş ağrısı ile karakterize olmaktadır. Fizik muayenede tonsiller çevresindeki pililer, uvula ve yumuşak damak kızarıklık, ödemli ve sarı-beyaz renkli eksüda ile kaplanmıştır. Bu bölgenin lenfatik drenajını sağlayan servikal lenf bezlerinde şişlik ve hassasiyet sıklıkla saptanmaktadır. Enfeksiyon kendi kendini sınırlar. Ateş 3-5. günlerde gerilerken, diğer klinik bulgular bir hafta içerisinde kendiliğinden gerileyerek kaybolur. Bazen, enfeksiyon bölgesel olarak yayılarak peritonsiller ya da retrofarenjial apse, orta kulak iltihabı, akut sinüzit veya süpüratif servikal lenfadenit tablolarının gelişmesine neden olmaktadır. Nadiren kan dolaşımı aracılığıyla, uzak dokularda da menenjit, pnömoni ya da bakteriyemi gibi enfeksiyonların gelişmesine sebep olmaktadır. Tedavi seçeneği olarak antibiyotiklerin kullanılmadığı dönemlerde bu süpüratif komplikasyonlar akut streptokoksik farenjite bağlı mortalitenin %1-3'ünden sorumlu tutulmaktaydı (5,7,9,20,56).

#### **2.2.7.2 İmpetigo**

İlk lezyon eritem ile çevrili, çapı bir santimetreden küçük, yuvarlak bir veziküldür. Enfeksiyonun seyrinde vezikül büyür, püstül oluşur ve lezyon kabuklanır. Lezyonlar en sık 2-5 yaş grubu çocuklarda, yüz ve alt

ekstremitelerde görülmektedir. Lezyonlar birleşerek derin ülserlerin oluşumuna neden olabilmektedir (5,7).

### **2.2.7.3 Erizipel**

Streptokoklar tarafından oluşturulan cilt ve cilt altı dokuları etkileyen, özellikle dermis tabakasında gelişen bir enfeksiyondur. Dokuda yaygın eritem ve ödem tablosu ile başlar ve kısa sürede iyi sınırlandırılmış, ağrılı, ateş ve lenfadenopati gibi sistemik bulguların da eşlik ettiği lokal enfeksiyon tablosu oluşur. Lezyon sıklıkla yüz bölgesinde gelişmekte ve öncesinde streptokoksik boğaz enfeksiyonu hikayesi bulunmaktadır (5).

### **2.2.7.4 Puerperal Enfeksiyonlar**

Doğum sırasında ya da doğumdan kısa süre önce endometriumun A grubu beta hemolitik streptokoklarla enfekte olması yaşamı tehdit eden, ciddi bir tablodur. 19. yüzyılda sık olarak görülen bu tablo, günümüzde hijyen koşullarının iyileşmesi ile birlikte daha nadir olarak saptanmaktadır (5).

### **2.2.7.5 Kızıl**

Streptokoksik pirojenik ekzotoksinler salgılayan bir suş ile gelişen streptokoksik farenjit olgularında görülmektedir. Fizik muayenede yanak mukozası, şakaklar ve yanaklar eritemli, ağız çevresi ve burun soluk görünümündedir. Sert ve yumuşak damakta noktasal tarzda kanama odakları saptanmaktadır. Dil önce sarı-beyaz renkli eksüda ile kaplanarak beyaz, daha sonra papillardaki mukozal hiperemi nedeniyle kırmızı renk alır (çilek dili görünümü). İkinci gün tüm vücutta yaygın olarak zımpara kağıdı görünümünde bir döküntü gelişir. Antikorların kan dolaşımındaki toksinleri nötralize etmesi ile birlikte tablo geriler (5,9).

### **2.2.7.6 Streptokokoksik Toksik Şok Sendromu**

Streptokokların neden olduğu herhangi bir enfeksiyondan sonra gelişebilir. Sistemik hastalık bulguları halsizlik, titreme ve lokal enfeksiyon bölgesinde aşırı ağrı ile başlar. Sıkla nekrotizan fasiit ve miyonekroz ile komplike olan cilt ve

yumuşak doku enfeksiyonlarından sonra görülmektedir. Bulantı, kusma, ishal, hipotansiyon, şok ve çoğul organ yetersizliği tablosu hızlıca gelişmektedir. Mortalite ve morbidite oranı yüksektir (5,57,58).

**Tablo 2.2 A Grubu Beta Hemolitik Streptokok Faranjiti Tanısında Klinik ve Epidemiyolojik Bulgular**

| <b>Patojen mikroorganizmanın GABHS olduğunu destekleyen bulgular</b> |
|----------------------------------------------------------------------|
| Ani başlangıçlı boğaz ağrısı                                         |
| Yutkunma sırasında ağrı ya da yutkunma güçlüğü                       |
| Ateş                                                                 |
| Kızıl benzeri döküntü                                                |
| Baş ağrısı                                                           |
| Bulantı, kusma, karın ağrısı                                         |
| Tonsillofaringeal eritem                                             |
| Tonsillofarengeal eksüdasyon                                         |
| Eritemli, ödemli uvula                                               |
| Hassas ön servikal lenf nodları (Lenfadenopati – LAP)                |
| Kış ya da erken sonbahar döneminde görülmesi                         |
| GABHS tonsillofarenjitli birey ile temas                             |
| <b>Viral etkenleri destekleyen bulgular</b>                          |
| Konjunktivit                                                         |
| Koriza                                                               |
| Ses kısıklığı                                                        |
| Öksürük                                                              |
| İshal                                                                |
| Karakteristik ekzantem                                               |
| Karakteristik enantem                                                |

#### 2.2.7.7 Akut Romatizmal Ateş

Ateş, kardit, cilt altı nodüller, kore ve gezici poliartrit ile karakterize süpüratif olmayan bir tablodur. Bulgular GABHS farenjitinden ortalama olarak

üç hafta sonra ortaya çıkmaktadır. İnflamasyonu önleyici tedavi uygulanmadığı zaman atak 2-3 ay sürmektedir. İlk atak sıklıkla 5-15 yaş arasında geçirilmektedir. A grubu beta hemolitik streptokokları eradike etmek için konak tarafından salgılanan antikorlar, kalp dokusu ile çapraz reaksiyona girerek kalp dokusunda immunolojik mekanizma ile miyokardit gelişmesine neden olurlar. Hastalarda göğüs ağrısı, aritmi, kalp yetersizliği gelişebilir. GABHS farenjiti sonrasında atakların tekrarlama riski erişkin döneme kadar devam etmekte ve daha sonra azalmaktadır. Tekrarlayan ataklar endokard ve kalp kapaklarında ilerleyici hasara ve fibröz doku gelişimi sonucu kapak yetersizlikleri ve ya kapak darlıklarına neden olmaktadır. Kapte en sık hasar gören kapaklar arasında mitral ve aort kapak yer almaktadır. Tekrarlayan ataklar sonucu kalp dokusunda kalıcı hasar gelişmesi ile ortaya çıkan tablo ‘romatizmal kalp hastalığı’ olarak adlandırılmaktadır (5,7,8,9,51,55).

#### **2.2.7.8 Akut Glomerülonefrit**

GABHS farenjit enfeksiyonlarından 1-4 hafta sonra, cilt enfeksiyonlarından ise 3-6 hafta sonra otoimmün mekanizmalar ile gelişen çocukluk çağı hastalığıdır. Klinik olarak ödem, hipertansiyon, hematüri, proteinüri ve serum kompleman proteinlerinde azalma ile karakterizedir. Nefritojenik özellik gösteren GABHS’ların bazı antijenleri ve bu antijenlere karşı konak organizma tarafından oluşturulan antikorlar, kan dolaşımında antijen-antikor kompleksi oluşturarak glomerül bazal membranında birikir ve kompleman protein sistemini aktif hale getirirler. Etkilen bireylerin glomerülleri incelendiğinde patolojik olarak glomerüllerde yaygın proliferatif lezyonlar görülmektedir. Klinik seyir sıklıkla iyi huyludur. Destek tedavileri ile kendinden gerilemektedir. Daha az oranda (%5) ise akut böbrek yetersizliği ve ölüme neden olmaktadır (2,5,6,7,8,55).

#### **2.2.7.9 Streptokoksik Enfeksiyonlarla İlişkili Otoimmün Nöropsikiyatrik Hastalıklar**

1998 yılında ilk defa çocukluk çağı obsesif-kompulsif hastalık ve tik bozukluklarının, streptokoksik enfeksiyonlardan sonra otoimmün mekanizmalar ile gelişebileceği hipotezi öne sürülmüş ve bu grup hastalıklar ‘Streptokoksik



Enfeksiyonlarla İlişkili Otoimmün Nöropsikiyatrik Hastalık (PANDAS)' olarak isimlendirilmiştir (59). GABHS enfeksiyonu sonrasında, Sydenham koresi gelişmesine neden olan otoimmün cevaba benzer mekanizmalarla beyin dokusunda, özellikle de basal ganglionlarda gelişen değişiklikler sonucu obsesif-kompulsif bozukluk veya tik bozukluklarının geliştiği bildirilmektedir. Otoimmün mekanizmalarla ortaya çıktığı öne sürülen bu tablonun tedavisinde plazma değişimi ve ya intravenöz gama globülin kullanımının etkin olabileceği öngörülmektedir. Psikoterapi ve serotonin geri alımını önleyici ilaçlarla tedavi edilebilen bu grup hastalığın tekrarlayan GABHS enfeksiyonları ile ARA gibi tekrarlayan ataklarla karşımıza çıkabileceği öngörülmekte, ARA profilaksisine benzer bir profilaksi uygulanması hakkında da çeşitli görüşler bildirilmektedir. Bu konuda araştırmacılar henüz tam bir fikir birliğine varamadığı için PANDAS henüz tam kanıtlanmamış bir hipotez olarak kabul edilmektedir (56,60,61,62,63).

#### **2.2.7.10 Post-streptokoksik Reaktif Artrit**

Post-streptokoksik reaktif artrit (PSRA), ilk defa 1959 yılında GABHS farengjiti sonrasında artrit gelişen ancak akut romatizmal ateş tanı kriterlerini tamamlamayan olgular için kullanılmıştır (64). PSRA ve ARA olgularında, artrit GABHS farengjiti sonrasında semptomsuz bir dönemin ardından ortaya çıkmaktadır. ARA komponenti olarak gelişen artrit, GABHS farengjitinden 14-21 gün sonra gelişmekte ve asetil salisilik asit tedavisine yanıt vermekte iken PSRA, GABHS farengjitinden ortalama 10 gün sonra görülmekte ve asetilsalisilik asit tedavisine yanıt vermemektedir. ARA olgularında artrit gezici tarzda olup, büyük eklemleri etkilemektedir. PSRA ise büyük veya küçük eklemleri ya da aksiyal iskeleti oluşturan eklemleri kalıcı olarak etkilemektedir (56).

PSRA olgularının tamamında serolojik olarak geçirilmiş GABHS enfeksiyonunu göstermek mümkün olmaktadır. Olguların yarısından daha azında ise boğaz kültüründe GABHS üretilmektedir. Bazı yayınlarda PSRA olgularının çok küçük bir bölümünde kalp kapak hastalığı geliştiği bildirildiği için bu olguların kardit açısından dikkatli izlemi önerilmektedir. Literatürde PSRA olgularına bir yıl süreyle ikincil profilaksi öneren yayınlarda bulunmaktadır. Ancak bu olgularda ikincil profilaksinin etkinliği net olarak bilinmemektedir (56,64,65).

### 2.3.8. Tanı

Streptokoksik farenjitin klinik bulguları tipik olmakla birlikte özellik çocukluk çağında pek çok viral etken de benzer bulgulara neden olabilmektedir. Bu nedenle kesin tanı için farenks arka duvarı ve tonsiller üzerinden alınan boğaz sürüntü örneği kültürü ile mikroorganizmanın gösterilmesi halen streptokoksik farenjit tanısı için en güvenilir yöntemdir (66). Bu nedenle GABHS tonsillitini destekleyici bulguları olan 2 yaş ve üzerindeki okul çağı çocuklarında boğaz kültürü endikasyonu bulunmaktadır (67). Normal flora bakterisi olarak nasofarenkste yer alan diğer Gram pozitif mikroorganizmaların varlığı nedeniyle, farenks arka duvarı ve tonsiller üzerinden alınan örneklerin direkt Gram boyası ile boyanması yöntemi ile streptokoksik farenjit tanısı konulamamaktadır. Alınan örneklerin kanlı agara ekilerek anaerobik ortamda inkübe edilmesi beta hemolizin görülmesini kolaylaştırdığından, mikroorganizmanın kolay tanınmasını sağlamaktadır (1,2,5,7).

Daha basit laboratuvar şartlarında GABHS'ların basitrasin duyarlılığı ve diğer streptokok suşlarının göreceli olarak basitrasin direncinden yararlanarak da mikroorganizma tanımlanabilmektedir. GABHS'lar basitrasine duyarlı, trimetoprim sulfametaksazole ise dirençlidir. Bu nedenle 0.04 ünitelik basitrasin diski ve 1.25 mg trimetoprim 23.75 mg sulfametaksazol diski kullanarak besi yerinde üreyen kolonilerin basitrasin ve trimetoprim sulfametaksazol duyarlılıklar değerlendirilebilir (5,26).

Amerikan Pediatri Akademisi ve Amerikan Enfeksiyon Hastalıkları Birliği güncel önerisi, streptokokkal farenjit klinik bulguları ile başvuran tüm çocuklarda uygulanabilen hızlı streptokokkal antijen testi yapılması; test sonucu pozitif olan çocukların antibiyotik kullanılarak tedavi edilmeleri, test negatif olanlardan ise önce boğaz kültürünün alınması ve eğer kültürde pozitif sonuç elde edilirse o zaman antibiyotik tedavisine başlanmasıdır (68). Düşük gelirli, ekonomik olarak gelişmekte olan veya geri kalmış ülkeler gibi kaynakların kısıtlı olduğu ortamlarda, hızlı antijen testi yapılması veya kültür alınması gerek sosyal gerek ekonomik nedenlerden dolayı mümkün olmayabilmektedir. Bu nedenle, uygulanan laboratuvar test sayısını azaltmak ve uygun olmayan tedavi verilmesini önlemek için seçilmiş klinik bulgu ve semptomların kullanıldığı öngörü kurallarının geliştirilmesi için girişimde bulunulmuştur. 1998'de McIsaac ve ark. McIsaac skoru olarak bilinen tanı kriterlerini

tanımlamıştır. Bu kriterler vücut ısı  $>38^{\circ}\text{C}$ , öksürük yokluğu, hassas ön servikal lenfadenopati, tonsillalar üzerinde eksudasyon ve  $>15$  yaş'dır. McIsaac skoru 2 ve üzerinde olan hastalar yüksek olasılıkla GABHS tonsillofaranjiti tanısı almaktadır. (69,70). Kültür ve hızlı antijen testlerinin duyarlılıkları karşılaştırıldığında, hızlı antijen testlerinin streptokoksik faranjit olgularının %5'ine tanı koymakta yetersiz kaldığı görülmektedir. Uygun antibiotik tedavisinin akut romatizmal ateşi önlemedeki önemi göz önüne alındığında hızlı testler ile tanı konulamayan % 5 olgunun tolere edilmesi mümkün değildir. Bu nedenle hızlı streptokok antijen testleri negatif sonuçlanan hastalarda planlanan antibiyotik tedavisin tamamlanmasına karar verilmeden önce etken mikroorganizmanın A grubu beta hemolitik streptokoklar olmadığı boğaz kültürü ile desteklenmelidir (5,56,71).

Hasta başında grup A antijeninin hızlı testlerle saptanmasını sağlayan kitler tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu testler hızlı ve antijen spesifik olmakla birlikte kültür ile karşılaştırıldığında duyarlılığı %90-95 arasında değişmektedir. Beta hemolitik streptokoklar arasında sadece *S. pyogenes*, piyrolidonil arilamidaz üretir. Piyrolidonil arilamidaz (PYR) testi basitrasın testinden daha spesifik olup, antijen saptamaya yönelik testlerden ise daha ekonomiktir (1,2,5,26).

Serolojik yöntemler ile streptokoklara karşı oluşan anti-streptolizin-O, anti-DNaz B gibi antikorlar da saptanabilmektedir. Bu antikorların gösterilmesi akut enfeksiyon sırasında enfeksiyonun tanınmasında ziyade geçirilmiş enfeksiyonların tanınmasında ya da akut romatizmal ateş ya da post-streptokoksik glomerülonefrit gibi süpüratif olmayan post-enfeksiyöz sekellerin tanısını desteklemekte rol almaktadır. Anti-streptolizin-O titresi akut enfeksiyondan bir hafta sonra yükselir ve 3-6. haftalarda en yüksek düzeye ulaşır. Anti-deoksiribonükleaz-B titresi ise akut enfeksiyondan sonra 1-2. haftalarda yükselmeye başlar ve 6-8. haftalarda en yüksek seviyeye ulaşır. Anti-streptolizin-O titresinin bakılması farenjit, tonsillit gibi GABHS enfeksiyonlarının tanısında önem taşır, ancak streptokokkal cilt enfeksiyonlarının tanısında yeri yoktur. Çünkü deride bulunan kolesterol molekülü streptolizin-O molekülünün immunolojik ve hemolitik aktivitesini inhibe eder. GABHS'ların salgıladığı DNaz'lara karşı ise hem solunum yolu enfeksiyonları hem de cilt enfeksiyonları sırasında konak tarafından antikor oluşturulmaktadır (1,2,5,6,26,56).

Cilt döküntüsü ile başvuran olgularda döküntünün kızıl döküntüsü olup olmadığını ayırt edebilmek için Schultz-Charlton sönme reaksiyonundan yararlanılabilir. Kızıl hastalarında cilt içerisine, homolog anti-toksin enjekte edildiği zaman, enjeksiyonun yapıldığı bölgedeki eritemin solduğu ve cilt renginin açıldığı gözlenir. Bu olay Schultz-Charlton sönme reaksiyonu olarak tanımlanmakta ve toksinin deride nötralizasyonu ile açıklanmaktadır (1,2,26).

Bireylerin kızıla neden olan eritrojenik toksine karşı duyarlılıkları ise Dick testi ile araştırılabilir. Bu test için kan dolaşımında antikor bulunmayan bireylere cilt içerisine toksin enjekte edilerek, 24 saat içerisinde enjeksiyon bölgesinde lokal eritem gelişmesi beklenir. Testin pozitif bulunması kişinin kan dolaşımında antikor bulunmadığını ve eritrojenik toksine duyarlı olduğunu göstermektedir (1,2,26).

ARA ilk atak tanısı için 1992 yılında güncellenen Jones kriterleri kullanılmaktadır (Tablo 2.3). Tanı için en az iki majör veya bir majör, iki minör bulgu ile bunların yanında streptokok infeksiyonunun varlığını gösteren destekleyici bulgular gerekmektedir (9,72,73,74).

### 2.3.9. Tedavi

Streptokoksik tonsillofarenjitli olgularda antimikrobiyal tedavi ile bakteriyel eradikasyon, klinik iyileşmenin sağlanması, akut romatizmal ateş ve süpüratif komplikasyonların gelişiminin önlenmesi, mikrobiyolojik başarısızlığın azaltılması ve rekürrenslerin önlenmesi amaçlanmaktadır (7).

GABHS suşlarının tamamı penisilin G'ye duyarlıdır. Penisilin G'nin bakterisidal etki gösterebilmesi için gereken minimal inhibitör yoğunlaşma 0.01 µl/ml'dir. Tekrarlanmış geniş klinik çalışmalarla penisilin G dışında tedavide sefalosporin, tetrasiklin ve makrolid grubu antibiyotiklerin de etkin olduğu gösterilmiştir. Ancak bu grup antibiyotiklerin etki spektrumu ve maliyeti göz önüne alındığında tedavi de ilk seçenek olarak tercih edilmemektedir (5,7,56,73,74,75,76,77).

Klasik bilgi olarak akut streptokoksik farenjit tedavisinde oral penisilin V (250 mg, 3 doz olarak, 10 gün süre ile) veya intramusküler benzatin penisilin ( 27 kilogram ve altına 600 000 IU, 27 kilogram üzerine 1 200 000 IU) kabul edilen esas tedavi seçeneğidir (Tablo 2.4). Penisillin alerjisi tanımlanan olgularda ise tedavide

eritromisin tercih edilmelidir (30-40 mg/kg/gün, 10 gün süre ile oral yoldan) (Tablo 2.5) (5,7,51,56,75,76,77).

**Tablo 2.3 Akut Romatizmal Ateş Tanısında Jones Kriterleri (72,78,79)**

| Major Kriterler                                                                                                                                                          | Minör Kriterler                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Kardit                                                                                                                                                                   | Ateş                                            |
| Poliartrit, gezici                                                                                                                                                       | Artralji                                        |
| Kore                                                                                                                                                                     | Yükselmiş akut faz göstergeleri                 |
| Eritema marjinalum                                                                                                                                                       | C-reaktif protein, eritrosit sedimentasyon hızı |
| Subkutan nodüller                                                                                                                                                        | EKG’de PR uzaması                               |
| <b>Destekleyici Bulgular</b>                                                                                                                                             |                                                 |
| Geçirilmiş A grubu Beta hemolitik streptokok infeksiyonu (boğaz kültürü, ASO, diğer streptokok antikor titrasyonlarında artma ya da hızlı antijen testlerinde pozitiflik |                                                 |

**Tablo 2.4: Streptokokkal Farenjit Tedavisi (56)**

| Antibiyotik          | Kullanılan Doz                                                 | Uygulama Yolu | Uygulama Süresi |
|----------------------|----------------------------------------------------------------|---------------|-----------------|
| Penisilin V          | 250 mg <sup>*</sup> , 3 doz, < 27 kg<br>500 mg, 3 doz, ≥ 27 kg | Ağız yolu ile | 10 gün          |
| Benzatin Penisilin G | 600 000 IU, ≤ 27 kg<br>1 200 000 IU, > 27 kg                   | Kas içersine  | Tek doz         |
| Amoksisilin          | 50 mg/kg/gün<br>maksimum 1 g/gün                               | Ağız yolu ile | 10 gün          |

\* 250 mg = 400 000 IU

**Tablo 2.5 Penisilin Allerjisi Tanımlanan Bireylerde Streptokokkal Farenjit Tedavisi (56)**

| <b>Antibiyotik</b>             | <b>Kullanılan Doz</b>                        | <b>Uygulama Yolu</b> | <b>Uygulama Süresi</b> |
|--------------------------------|----------------------------------------------|----------------------|------------------------|
| Dar spektrumlu sefalosporinler | Değişken dozlarda                            | Ağız yolu ile        | 10 gün                 |
| Klindamisin                    | 20 mg/kg/gün, 3 dozda, maksimum 1.8 g/gün    | Ağız yolu ile        | 10 gün                 |
| Azitromisin                    | 12 mg/kg/gün, tek dozda, maksimum 500 mg/gün | Ağız yolu ile        | 5 gün                  |
| Klaritromisin                  | 15 mg/kg/gün, iki dozda, maksimum 500 mg/gün | Ağız yolu ile        | 10 gün                 |

Streptokok farenjitinin enfeksiyon başlangıcından sonra 10 gün içerisinde yeterli olarak tedavi edilmesi, antijenik uyarıyı ortadan kaldırdığı için ARA gelişimini önlemektedir. Uygulanan antibiyoterapinin esas hastalığın seyri ve süresi üzerindeki etkileri, hastalığın kendi kendini sınırlayan ve kısa doğal seyri nedeniyle tam olarak bilinmemektedir. Tonsillofarenjit tedavisi APSGN gelişimini önlememektedir (5,7).

On gün süre ile oral ya da tek doz intramusküler depo penisilin tedavisi uygulanan olgularda %5-10 oranında tedavide başarısızlık bildirilmektedir. GABHS tonsillofarenjitlerinde penisilin tedavisinin başarısızlığı veya nüksler, beta laktamaz oluşturan oral flora, yakın temasla bakterinin yeniden bulaşması, taşıyıcılık, uygun olmayan doz veya tedavi süresi ile açıklanmaktadır (7,74,80,81).

Kış ve erken sonbahar döneminde okul çocuklarının %15'i asemptomatik GABHS taşıyıcısı olabilirler (56). Taşıyıcılık durumunda streptokoka bağlı aktif enfeksiyon bulguları mevcut değildir. Anti-streptolizin O yüksekliği, süpüratif ya da süpüratif olmayan komplikasyonlar beklenmez. Taşıyıcıların tedavi endikasyonu ancak özel durumlar için bulunmaktadır. Taşıyıcının içinde bulunduğu toplumda romatizmal ateş veya post-streptokoksik glomerulonefrit salgını varsa, kapalı bir çevrede (kreş, okul...) GABHS salgını varsa, aile içerisinde belli bir sürede ardışık

veya tekrarlayan semptomatik GABHS akut tonsillofarenjit vakaları varsa, ailede akut romatizmal ateş profilaksisi alan bir başka olgunun varlığında, olgunun akut romatizmal ateş profilaksisi aldığı durumlarda taşıyıcıların tedavi edilmesi gerekmektedir. Taşıyıcıların tedavi edilmesi amacıyla klindamisin (20 mg/kg/gün, 10 gün, ağız yolu ile), amoksisilin klavulanik asit (50-90 mg/kg/gün, 10 gün, ağız yolu ile), azitromisin (12 mg/kg/gün, 5 gün, ağız yolu ile) veya kombinasyon tedavisi verilebilir (7,67). Kombinasyon tedavisi için penisilin V veya G rutin dozlarına ek olarak tedavinin son dört gününde oral rifampisin (20 mg/kg/gün, 2 doza bölünerek, ağız yolu ile) eklenebilir. Bu tedavilerle eradike edilen olgularda daha sonra uzun süreli izlemde tekrar GABHS kolonizasyonu gelişebilir (67).

İmpetigo tedavisinde, mevcut lezyondan yüksek olasılıkla, *S. pyogenes* ile birlikte üretilen *S. aureus* suşlarına yönelik olarak penisilin yerine eritromisin tercih edilmektedir (5,58).

### 2.3.10. Korunma

A grubu beta hemolitik streptokok tonsillofarenjiti geçiren olguların toplumdan izolasyonu gerekmemektedir. Ancak kalabalık yaşam alanlarında damlacık yolu ile bulaşı azaltmak amacıyla iyi havalandırma sağlanmalıdır. Tek doz, uygun antibiyotik kullanımından yirmidört saat sonra enfekte kişinin bulaştırmacılığı söz konusu değildir (82). Streptokoksik cilt enfeksiyonlarında ise özellikle impetigodan korunmak için kişisel hijyene ve genel hijyen kurallarına dikkat etmek gerekmektedir (26).

Kardit komponenti bulunan ARA olgularında tekrarlayan ARA ataklarını önlemek için 21 yaşına kadar depo penisilin profilaksisi önerilmektedir (Tablo 2.6) (56). Romatizmal ateş ya da romatizmal kalp hastalığı hikayesi bulunan olgular, cerrahi girişimler ya da diş çekimi öncesinde işlem sırasında gelişebilecek geçici bakteriyemi riski nedeniyle profilaktik anti-mikrobiyal tedavi almaktadırlar (5,9,72).

ARA'nın tüm dünyada, özellikle de gelişmekte olan ülkelerde halen ciddi bir sağlık problemi olması, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa ülkelerinde invazif streptokok enfeksiyonlarının son yıllarda sıklığının artması, moleküler biyoloji alanındaki gelişmelerin de katkısıyla araştırmacıların toplumları GABHS enfeksiyonlarından korumak amacıyla aşı çalışmalarına yönelmesine neden olmuştur.

**Tablo 2.6 Romatizmal Ateş Profilaksisi ve Süresi (56)**

| <b>Kategori</b>                                                                              | <b>Süre</b>                                |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Kardit (+) Romatizmal Ateş ve Residüel Kalp Hastalığı (Kalıcı Kapak Hastalığı <sup>*</sup> ) | 10 yıl ya da 40 yaşına kadar <sup>**</sup> |
| Kardit (+) Romatizmal Ateş, Residüel Kalp Hastalığı Yok (Kapak Hastalığı Yok <sup>*</sup> )  | 10 yıl ya da 21 yaşına kadar <sup>**</sup> |
| Kardit (-) Romatizmal Kalp Hastalığı                                                         | 5 yıl ya da 21 yaşına kadar <sup>**</sup>  |

\* Klinik ya da ekokardiyografik olarak kanıtlanmış

\*\* Süre olarak uzun olan seçenek tercih edilmelidir.

Tüm GABHS suşları tarafından üretildiği ve konak organizmada koruyucu bağışıklık oluşturabildiği için M proteini aşı çalışmalarında kullanılacak uygun bir molekül olarak değerlendirilmiş ancak bazı araştırmacılar tarafından da farklı suşların ürettiği farklı M proteinlerinin birbirleri ile arasındaki antijenik çeşitliliğin, M proteininin aşı çalışmaları için uygun molekül olmadığını savunmasına neden olmuştur. M proteinin, konak organizma ile benzer antijenik özellikler taşıması nedeniyle, aşı ile elde edilen ve konağı enfeksiyonlardan koruması hedeflenen antikorların çapraz reaksiyona yol açarak konak organizmaya zarar verme olasılığı da aşı çalışmaları sırasında araştırmacıları kaygılandıran nedenlerden biridir.

Günümüzde M protein epitoplarına yönelik olarak aşı geliştirme çalışmaları yürütülmektedir. Geliştirilen bu aşı ile konak organizma bağışıklık sistemi tarafından otoantikor gelişimine neden olmadan enfeksiyonlara karşı koruyucu antikor yapımının sağlanması hedeflenmektedir (5).

Amerika Birleşik Devletleri'nde rekombinat teknoloji kullanılarak, patojen mikroorganizma ve konak organizma arasında istenmeyen çapraz reaksiyonlara yol açmayacak çok değerlikli bir aşı geliştirme çalışması yürütülmektedir. Söz konusu aşı, 26 değerlikli olup sıklıkla streptokoksik farenjit ve invazif enfeksiyonlara neden olan



M 1, 1.2, 2, 3, 5, 6, 11, 12, 13, 14, 18, 19, 22, 24, 28, 29, 33, 43, 59, 75, 76, 77, 89, 92, 101, 114 serotiplerini kapsamaktadır. Çok değerlikli bu aşının tavşanlar üzerinde güçlü bağışık yanıt oluşturduğu Hu ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (83).

#### **2.4. M Proteininin Klinik Önemi**

GABHS'ların en önemli ve en iyi tanımlanmış yüzey antijenidir (23). İki polipeptid zincirinin oluşturduğu alfa helikal sarmal yapıdadır. M proteini yay şeklini, tekrarlayan yedili hidrofobik parçaları ve sekonder alfa helikal yapısı nedeniyle almaktadır {Manjula B.N, 1991 #14}. Filamentöz bir maromolekül olan M proteini, hücre zarına tutunur ve fibröz proteinler gibi hücre duvarını geçerek dışarıya doğru uzanır (84).

M proteininin N-terminalinde (amino) serotipler arasında çeşitliliğe neden olan yüksek değişken tipe özgül epitoplar, karboksi terminalinde ise pek çok M serotipinde ortak olarak bulunan epitoplar yer almaktadır. Amino terminali elektriksel olarak negatif yüklüdür ve helikal yapıda değildir (39,85). A grubu beta hemolitik streptokokların serolojik tiplendirmesini ve tipe özgül antikor oluşumuna sağlayan M proteinin yüksek değişkenlik gösteren N-terminalidir (3,41).

M proteini karboksi ucundaki küçük farklılıklar nedeniyle iki sınıfta değerlendirilmektedir (86,87).

##### **2.4.1. M Proteini Sınıf I**

Molekül ağırlıkları yüksektir. GABHS suşlarının hepsinin yüzeyinde sunularak, C tekrar ünitesine karşı gelişen antikorlara bağlanma özelliği gösteren epitopa sahiptirler. Serum opasite faktörleri negatiftir (86,87).

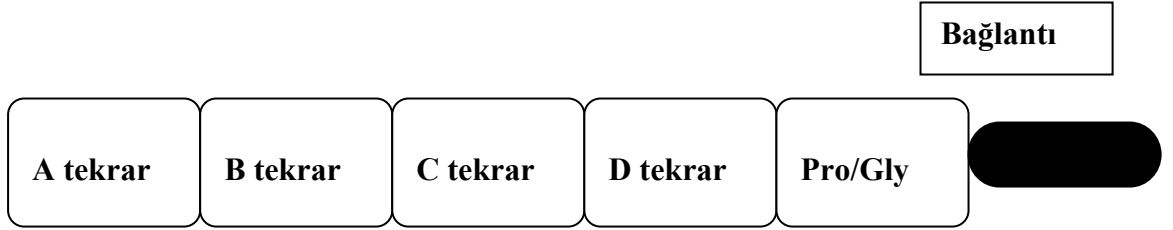
Bessen ve arkadaşları çalışmalarında 130 GABHS suşu incelemiş ve ARA oluşumuna neden olduğu bilinen serotiplerle M protein sınıf I epitopu arasındaki güçlü ilişki bildirilmiştir (86,87).

M protein sınıf I epitopu, yapısal ve immunolojik açıdan insan kasındaki sarkolemma, miyozin ve diğer  $\alpha$ -helikal sarmal yapıdaki  $\alpha$ -tropomiyozin, laminin ve vimentin gibi proteinlere benzerlik göstermektedir. Bu nedenle de konak ile

mikroorganizma arasında çapraz reaksiyonlara neden olabilmektedirler. Aynı zamanda tip 1 keratin ile de benzer aminoasit dizinleri saptanmıştır (88,89).

#### 2.4.2. M Proteini Sınıf II

GABHS suşlarının hepsinin yüzeyinde sunularak, C tekrar ünitesine karşı gelişen antikorlara bağlanma özelliği gösteren M proteini sınıf I epitopuna sahip değildir. Serum opasite faktörleri pozitifdir. Cilt enfeksiyonlarından sorumludur. Daha düşük molekül ağırlıklı tiptir (86,87).



#### Şekil 2.1 Streptokokkal M proteini (90)

A tekrar ünitesi, serotipler arasında değişkenlik gösterir. M proteininin N-terminalinde yer alan yüksek değişkenlik gösteren serotip spesifik aminoasit sekansını bulundurur.

B tekrar ünitesi, serotipler arasında değişkenlik gösterir.

C tekrar ünitesi, bütün serotiplerde bulunan ortak aminoasit sekansını bulundurur. Bağlantı bölgesi, gram pozitif ücre zarına tutunmayı sağlar.

M proteinini yüksek değişkenlik gösteren N-terminaline göre en az 124 farklı serotipe ayrılmıştır (91). Kalia ve arkadaşları ise 150'den fazla serotip olduğunu bildirmiştir (92).

A grubu beta hemolitik streptokoklara ait *emm*-benzeri genler toplu olarak genetik materyalin *vir* lokusunda bulunmaktadır. 5' ve 3' bölgelerindeki farklılıklara ve lokus içerisindeki yerleşimlerinin birbirlerine göre durumuna dayanılarak *emm*, *enn* ve *mrp* olmak üzere üç farklı gen grubuna ayrılmaktadırlar (93).

M proteinindeki antijenik değişikliklere, M proteinini kodlayan *emm* gen bölgesinde, genler arası ve gen içi rekombinasyonlar, nokta mutasyonlar ve kısa nükleotid girişleri neden olmaktadır (94). En sık görülen *emm* tipleri *emm* 1, 6, 18, 48, 49, 75, 95 ve 103'tür (91).

GABHS'ların M serotipleri ile yapılan çalışmalarda bazı serotipler ile hastalıklar arasında yakın ilişki gösterilmiştir. Romatojenik suşlar olarak bilinen, streptokoksik farenjit ve ARA ile ilişkilendirilen M serotipleri, M1, 3, 5, 6, 14, 18, 19, 24, 27 ve 29; cilt enfeksiyonlarından piyoderma ve APSGN ile ilişkilendirilen M serotipleri de M2, 49, 52, 57, 59, 60 ve 61 olarak bildirilmiştir (51,92).

APSGN ile ilişkili olan M2, 49, 55, 57, 59, 60 ve 61 serotiplerinin cilt enfeksiyonlarından sonra, M1, 4, 12 ve 25 serotiplerinin ise streptokoksik farenjit enfeksiyonlarından sonra söz konusu süperatif olmayan komplikasyona yol açtığı bildirilmiştir (95).

M1 ve 3 serotipleri en sık olmak üzere, M11, 12 ve 28 serotipleri de invazif ve toksik streptokokkal enfeksiyonlardan sorumlu suşlar olarak bildirilmiştir (95,96).

## 2.5. M Proteini Gen (*emm* gen) Tiplendirilmesi

Günümüzde halen yaygın olarak epidemiyolojik çalışmalar sırasında ya da kliniklerden temin edilen örneklerden izole edilen A grubu beta hemolitik streptokokların identifikasyonu için, ticari olarak poliklonal serumu bulunan M proteinlerinin serolojik yöntemlerle tiplendirilmesi yapılmaktadır. Ticari serumların kolay elde edilememesi, grup A streptokokların bir bölümünün M protein tiplendirilemeyen suşlardan oluşması ve M proteinlerinin tamamına karşı ticari poliklonal serumların bulunmaması bu yöntemin zayıf yönleri olarak bilinmektedir (24).

M proteinin antijenik değişkenlik göstermesi nedeniyle A grubu beta hemolitik streptokokları en az 80 farklı M serotipine ayırdığı çalışmalarla gösterilmiştir (66). M

proteinine immunolojik olarak spesifiklik kazandıran M protein geninin (*emm* geni) 5'parçası, bilinen bütün M serotipleri için sekanslanmıştır (21,89,97). Sekanslanarak belirlenen *emm* tipleri CDC ve/veya GeneBank genetik veritabanları tarafından depolanmaktadır (25,98).

Hücre yüzeyinde yer alan, virülans faktörü olduğu kabul edilen M proteini, primer 1 ve 2 ile çoğaltılarak elde edilebilen *Streptococcus pyogenes* geni tarafından kodlanmaktadır. M proteini farklılıkları esasına dayanılarak günümüzde 100'den fazla farklı *S. pyogenes* serotiplendirilmesi yapılmaktadır. M proteininin serotiplendirilmesi sırasında karşılaşılan sorunlar, M protein tiplendirme serumunun elde edilebilirliği, yeni karşılaşılan M protein tipleri ve analiz sonuçlarının yorumlanmasındaki zorluklar olarak özetlenebilir. M proteininin serospesifik kısmını kodlayan *emm* gen parçasının sekans analizi esasına dayandırılan bir sistemin yardımıyla, yapılan değerlendirmeler ile bu tip sorunlar önlenmektedir. Bu sistem, *emm* dizi analizi olarak isimlendirilmekte ve iki tane yüksek korumalı primer aracılığı ile *emm* geninin büyük bir parçasını çoğaltmak prensibine dayanmaktadır. M protein serospesifitesini kodlayan yüksek değişken dizinin, gen çoğaltma işlemi sırasında kullanılan primer dizinin komşuluğunda yer alması, bu bölgenin direkt olarak sekanslanmasını mümkün kılmaktadır (25).

### 2.5.1. *emm* Dizi Veritabanı

*emm* gen dizi analizi sırasında CDC'nin veritabanı referans merkezi olarak kullanılmaktadır. Bu veritabanında yer alan *emm* dizileri doğruluğu merkez tarafından kontrol edilmiş dizilerden oluşmaktadır. Veritabanı, suşların Lancefield serotiplerinin detaylandırılması ile elde edilen diziler ile oluşturulmuştur. CDC kliniklerinde izole edilen veya başka merkezlerdeki araştırmacılar tarafından saptanan yeni *emm* gen dizi tipleri ya da alt tipleri veritabanına eklenerek sistem güncellenmektedir. Her *emm* dizisi yaklaşık olarak 15-23 membran eksport sinyal dizi kalıntısı ve 60-250 aminoasitten oluşan, olgun M proteininin N terminalini kodlayan 5' parçası bulundurmaktadır (25).

### 2.5.2. *emm* Alt Tipleri

*emm* dizisinin 5' terminalinde ufak değişkenlik gösteren bazı suşlar, *emm*/M protein serotiplendirmesi yapılan referans suşa göre göreceli olarak farklı bir serotip

tanımlamaktadır. Yine benzer şekilde oluşan küçük dizi değişiklikleri, M proteinine karşı konak organizma tarafından oluşturulan opsonik karakterdeki tip spesifik antikorlara duyarlılığın derecesinde farklılıklara neden olmaktadır. Bu nedenle referans suşa göre öngörülen 50 N-terminal M proteini kalıntılarını kodlayan 150 bazlık aminoasit dizisi içerisinde görülen herhangi büyüklükte bir farklılık gösteren dizileri *emm* gen alt tipleri olarak veritabanına eklenmektedir (25).

İncelenen suşların T serotiplerinin bilinmesi, suşların *emm* gen tiplendirilmesinin daha kolay yapılmasına yardımcı olacaktır. Çünkü bazı M protein ve *emm* gen tipleri ile T protein serotipleri arasında uyumluluk vardır. GABHS'ların büyük bir kısmının (>%95) T protein serotipleri bilinmektedir; bilinen T protein serotiplerinin bazıları ile M protein ve *emm* gen tipleri arasında birebir eşleşme söz konusudur. M protein geni (*emm* geni) sekans analizi ile birlikte, T serotiplendirilmesinin kullanılması araştırmacıya incelenen suşlar içerisindeki çeşitliliği belirleme imkanı vermektedir (89,99). T proteinine karşı oluşmuş bağışık anti-serumların elde edilmesi M proteinlerinden daha kolaydır. Ancak T protein anti-serumlarının özgülüğü daha düşüktür.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırmaya İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Genel Pediatri Bilim Dalı Polikliniği'ne 1 Aralık 2007 – 31 Ocak 2009 tarihleri arasında yürütüldü. Bu dönemde, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Pediatri Bilim Dalı Polikliniği'ne toplam 57 640 çocuk hasta başvurdu. Bunlardan 5743'ü (%10) akut tonsillofarenjit tanısı aldı. Çalışmaya akut tonsillofarenjit bulguları ile başvuran 2-17 yaş arası 3321 çocuktan boğaz kültür çubuğu ile alınan örneklerde A grubu beta hemolitik streptokok (*Streptococcus pyogenes*) üremesi saptanan 335 çocuk alındı (Tablo3.1).

**Tablo 3.1 Boğaz Sürüntü Örneği Kültürü Yapılan Hastaların Dağılımı (n:3321)**

|                 |                          | Boğaz Kültürü n (%) | GABHS n (%) |
|-----------------|--------------------------|---------------------|-------------|
| <b>Cinsiyet</b> |                          |                     |             |
|                 | Kız                      | 1409 (42,4)         | 152 (45,4)  |
|                 | Erkek                    | 1912 (57,6)         | 183 (54,6)  |
| <b>Yaş</b>      |                          |                     |             |
|                 | 24 - 59 ay               | 1020 (30,7)         | 45 (13,4)   |
|                 | 60 - 83 ay               | 648 (19,5)          | 86 (25,7)   |
|                 | 84 - 119 ay              | 724 (21,8)          | 113 (33,7)  |
|                 | 120 - 143 ay             | 322 (9,7)           | 56 (16,7)   |
|                 | 144 - 179 ay             | 252 (7,6)           | 26 (7,8)    |
|                 | > 180 ay                 | 142 (4,3)           | 5 (1,5)     |
|                 | Yaş bilgisine ulaşamayan | 213 (6,4)           | 4 (1,2)     |
|                 | Toplam                   | 3321                | 335         |

Akut tonsillofarenjit bulguları olarak ateş, boğaz ağrısı, yutkunma güçlüğü, halsizlik, iştahsızlık, fizik muayenede tonsiller üzerinde eksüstasyon ve servikal lenfadenopati kabul edildi (69).

İki yaş altı çocuklar, bu yaş grubunda tonsillofarenjit etkeni olarak ön planda viral etkenler söz konusu olduğu için streptokoksik farenjit düşünülmeyle boğaz sürüntü örneği alınarak değerlendirilmedi.

Boğaz salgısı örneklerinde A grubu beta hemolitik streptokok üremesi saptanan çocuklardan, tanı konulmuş, bilinen kronik bir hastalık bulunanlar çalışmaya alınmadı.

Boğaz kültürü ile alınan örneklerden rutin kültürlerden izole edilen GABHS saklama besiyeri içine alınarak -70 derecede saklandı.

Boğaz salgısı kültürü ile A grubu beta hemolitik streptokok üremesi saptanan çocuklara 10 gün süre ile ağızdan uygun antibiyotik tedavisi verildi. Antibiyotik tedavisi tamamlandıktan üç gün sonra ve tedavi başlangıcından bir ay sonra hastalar kontrol boğaz kültürü ile değerlendirildi.

Çalışmaya alınma kriterleri;

- 1- 24 ay – 17 yaş arasında olmak,
- 2- Akut tonsillofarenjit bulgularına sahip olmak (ateş  $> 37.7^{\circ} \text{C}$ , boğaz ağrısı ya da yutkunma güçlüğü, tonsillofarengeal bölgede hiperemi ve eksudasyon, ağrılı ön servikal lenfadenopati)
- 3- Hızlı streptokok antijen testi pozitif olmak ya da, boğaz sürüntü örneği kültüründe GABHS üremesi olmak

Çalışmaya alınmama kriterleri;

- 1- Aile ya da çocuğun gönüllü onam vermemesi
- 2- Bilinen kronik bir hastalığı olanlar
- 3- Boğaz kültüründe GABHS dışı mikroorganizma üremesi olanlar

### **3.1. Bakterilerin İzolasyonu ve Tanımlanması Sırasında Kullanılan Gereçler**

#### **3.1.1. Kullanılan Besiyerleri**

##### **3.1.1.1. Taşıma Besiyeri**

Ticari olarak satın alınmıştır. (Gemini swabs & labware, Amerika)

### 3.1.1.2. %3 Koyun Kanlı Agar

|                               |        |
|-------------------------------|--------|
| Kullanılan Malzemeler: Pepton | 10g    |
| Et özeti                      | 10g    |
| NaCl                          | 5g     |
| Agar                          | 15g    |
| Distile su                    | 1000ml |

Belirtilen malzemeler erlen mayer içerisinde karıştırıldıktan sonra karışımın pH'sı  $7,3 \pm 0,2$  olacak şekilde ayarlanır. Hazırlanan karışım otoklavda steril edildikten sonra oda ısısında  $56^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulur. Karışım soğuduktan sonra içerisine 30ml %3 koyun kanı ilave edilerek karıştırılır. Elde edilen karışım 20ml'lik hacimler halinde petri kaplarına boşaltılır (100).

### 3.1.1.3. Saklama Besiyeri

|                                                |      |
|------------------------------------------------|------|
| Kullanılan Malzemeler: Brucella Broth besiyeri | 2.8g |
| Gliserol                                       | 15ml |
| Distile Su                                     | 85ml |

Brucella Broth besiyeri, 28g içerisinde;

|                                                     |      |
|-----------------------------------------------------|------|
| Pankreatik enzimlerle muamele edilmiş kazein        | 10g  |
| Peptik enzimlerle muamele edilmiş hayvansal dokular | 10g  |
| Dekstroz                                            | 1g   |
| Maya özü                                            | 2g   |
| NaCl                                                | 5g   |
| NaBisülfıt                                          | 0.1g |

Brucella Broth besiyeri tamponundan 2,8 gram alınarak, 85ml distile su içerisinde çözülür. Karışımın içerisine gliserol eklendikten sonra karışımın pH'sı 7,4 olarak ayarlanır. Karışım otoklavda  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika steril edilir. Oda ısısında soğutulan karışım ağzı burgu kapaklı, steril, plastik derin dondurucu tüplerine yaklaşık 1,5ml'lik miktarlarda güvenlik kabini içerisinde dağıtılır (100).



### 3.1.2. Kullanılan Boyalar

#### 3.1.2.1. Kristal Viyolet Solüsyonu

|                                        |       |
|----------------------------------------|-------|
| Kullanılan Malzemeler: Kristal Viyolet | 10g   |
| Etil Alkol %96                         | 100ml |
| Amonyum Okzalat                        | 10g   |
| Distile Su                             | 100ml |

Cam havanda ezilen kristal viyolet boyasının üzerine etil alkol eklenerek, boyanın çözünmesi sağlanmıştır. Boya alkol karışımı yirmidört saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra süzülerek içerisindeki partiküller ayrıştırılmış ve ışıktan korumak amacıyla renkli cam şişe içerisinde saklanmıştır.

Amonyum okzalat ayrı bir şişe içerisinde distile su ile eritilmiştir.

Hazırlanan her iki solüsyonda da eşit miktarlarda alınarak ayrı bir renkli şişe içerisinde karıştırılmış ve kristal viyolet solüsyonu elde edilmiştir (100).

#### 3.1.2.2. Lügol Solüsyonu

|                             |       |
|-----------------------------|-------|
| Kullanılan Malzemeler: İyot | 1g    |
| Potasyum İyodür             | 2g    |
| Distile Su                  | 300ml |

İyot ve potasyum iyodür kristalleri cam bir havanda ezilerek karıştırıldıktan sonra üzerine distile su eklenerek kristaller eritilmiştir. Hazırlanan solüsyon ışıktan korunması amacıyla renkli cam şişe içerisinde oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir (100).

#### 3.1.2.3. Etil Alkol %96'lık

Ticari olarak satın alınmıştır.

#### 3.1.2.4. Safranin Solüsyonu

|                                 |       |
|---------------------------------|-------|
| Kullanılan Malzemeler: Safranin | 0.25g |
| Etil Alkol %96'lık              | 10ml  |
| Distile Su                      | 100ml |

Cam havanda ezilen safranin kristalleri üzerine %96'lık etil alkol eklenerek boya kristalleri eritilmiştir. Elde edilen karışımın üzerine distile su eklenerek yirmi dört saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra karışım içerisindeki partiküller süzülerek ayrıştırılmıştır. Daha sonra solüsyon ışıktan korumak amacıyla renkli cam şişe içerisinde muhafaza edilmiştir (101).

#### 3.1.2.5. Hidrojen Peroksit Eriyiği %3'lük

|                                                                         |      |
|-------------------------------------------------------------------------|------|
| Kullanılan Malzemeler: %30 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> stok çözeltisi | 10ml |
| Distile su                                                              | 90ml |

Belirtilen miktarlarda distile su ve %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stok çözeltisi ışıktan korunması koyu renkli cam bir şişe içerisinde karıştırılarak %3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonu elde edilir. Hazırlanan bu solüsyon +4°C'de koyu renkli bir şişe içerisinde bir hafta saklanabilir.

#### 3.1.3. Mc Farland 0.5 No'lu Standart Bulanıklık Tüpünün Hazırlanması

|                                                              |       |
|--------------------------------------------------------------|-------|
| Kullanılan Malzemeler: H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> %1'lik | 9.9ml |
| BaCl <sub>2</sub> %1'lik                                     | 0.1ml |
| Distile Su                                                   | 10ml  |

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> %1'lik 9,9ml ve BaCl<sub>2</sub> %1'lik 0,1ml bir tüp içerisinde karıştırılarak öncelikle Mc Farland 1 No'lu bulanıklık tüpü hazırlanmıştır. Mc Farland 1 No'lu bulanıklık tüpünün içeriğinin aynı miktarda distile su ile bire bir oranında sulandırılması ile de Mc Farland 0,5 No'lu bulanık tüpü elde edilmiştir (100).

#### 3.1.4. İdentifikasyonda Kullanılan Antibiyotik Diskleri

Basitrasin 0.04 U

Trimetoprim-Sülfametaksazol 1.25µg trimetoprim+23.75 µg sülfametaksazol

Ticari form olarak hazır satın alınmıştır. (OXOID)

### **3.1.5. Pirolidonil Arilamidaz (PYR) Test Kiti**

Ticari form olarak satın alınmıştır. Oxoid Biochemical Identific Sistem. ID580M  
Oxoid Lim., Wade Rood, Baninstoke, Hampshire,England. Lot:718740

Kit İçerisindeki Malzemeler: 1- Tampon solüsyonu (ayırıcı)

2- Renk geliştirici solüsyon

3- PYR içeren şerit

Kit +2-8°C'de saklanır. Kullanmadan önce oda ısısına getirilmelidir.

### **3.1.6. Lam Aglütinasyon Test Kiti**

Ticari form olarak satın alınmıştır. BIO-RAD, Pastorex® STREP 3m2088

Kit İçerisindeki Malzemeler: 1x1ml Latex Anti-strep Grup A  
1x1ml Latex Anti-strep Grup B  
1x1ml Latex Anti-strep Grup C  
1x1ml Latex Anti-strep Grup D  
1x1ml Latex Anti-strep Grup F  
1x1ml Latex Anti-strep Grup G

2xqs 10ml Ekstraksiyon enzimi

1x1.5ml pozitif kontrol

Kit +2-8°C'de saklanabilir. Lot:61721

## **3.2. Bakterilerin İzolasyonu ve Tanımlanması**

Akut tonsillofarenjit bulguları ile başvuran çocuklardan ışık kaynağı altında eküvyon ile Waldeyer halkası üzerinden ve posterior farinks duvarından sekresyon örnekleri taşıma besiyerine alındı. Alınan bu örnekler koyun kanlı agara ekildi. İzole edilen suşlar konvansiyonel yöntemler ile tanımlandı. Suşların identifikasyonu için beta

hemoliz oluşturma özellikleri, katalaz testi, basitrasin duyarlılık testi, pirolidonil arilamidaz (PYR) testi ve lam aglütinasyon testi kullanıldı.

### 3.2.1. Koloni Morfolojisinin Değerlendirilmesi

Suşların ilk olarak koloni morfolojileri değerlendirilmiştir. Koyun kanlı agarda k, grimsi, kabarık ve hafif bulanık görünümde kolonilerin saptanması besi yerinde elde edilen suşların A grubu beta hemolitik streptokok olduğunu desteklemiştir (Resim 3.1) (2,100).

**Resim 3.1 Kanlı Agarda GABHS Görünümü**



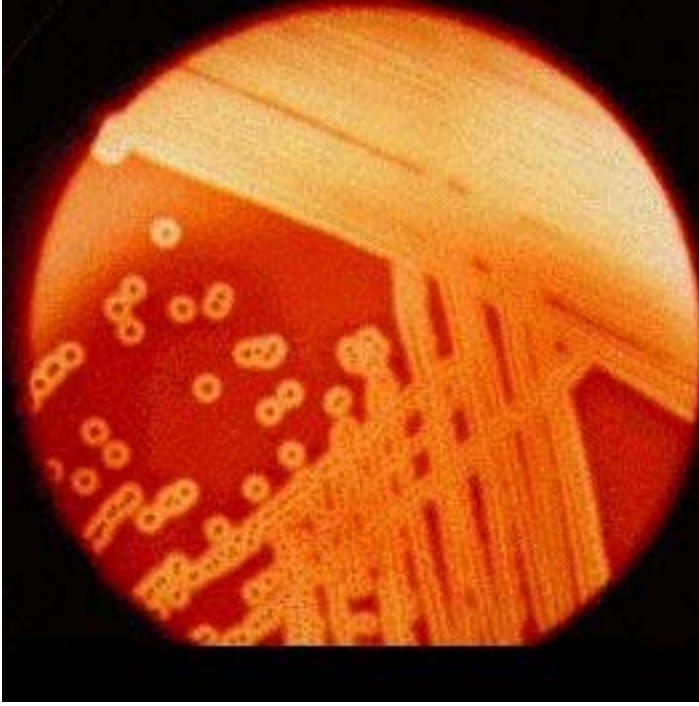
### 3.2.2. Hemoliz Testi

Yirmidört saatlik bakteri kültürlerinden, % 5 koyun kanı içeren besi yerlerine steril şartlarda çizgi ekim yapıldı. Ekim yapılan bütün petriler 37°C’de yirmidört saat

inkübe edildi. Yirmidördüncü saatin sonunda besi yerinde ekim yapılan çizgi boyunca üremenin etrafında şeffaf zon oluşumu beta hemoliz olarak değerlendirildi (Resim 3.2) (2,100).

Besi yerinde beta hemoliz oluşumu ekim yapılan suşun A grubu beta hemolitik streptokok olduğunu desteklemiştir.

**Resim 3.2 Kanlı Agarda A Grubu Beta Hemolitik Streptokok Kolonileri Tarafından Oluşturulan Beta Hemoliz**



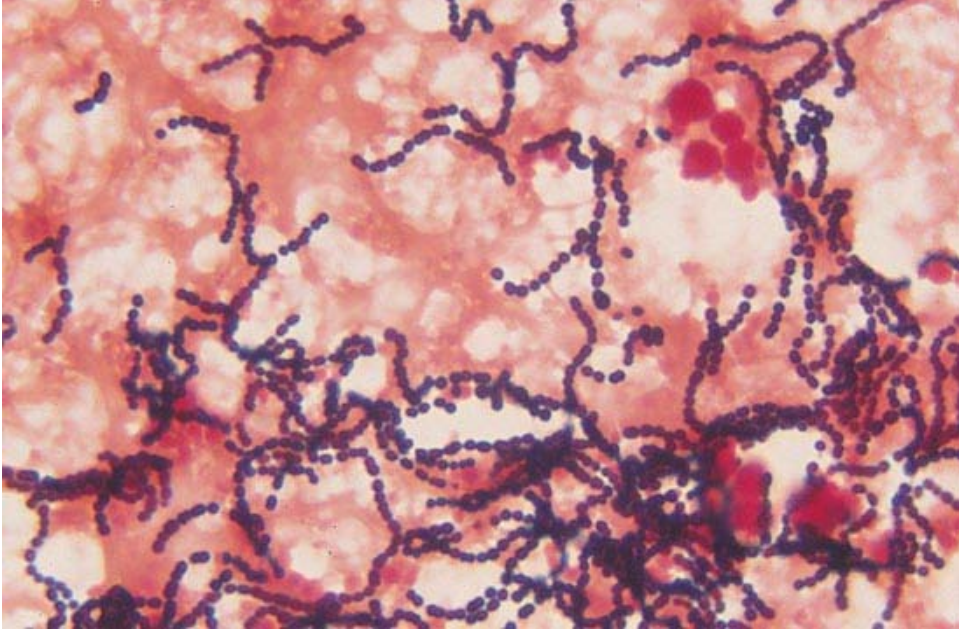
### 3.2.3. Gram Boyama

Öze alevde alazlanarak steril edildikten sonra, %5 koyun kanı içeren besi yerinde ekili olan yirmidört saatlik bakteri kültürlerinden birkaç koloni alınarak, temizlenmiş lamin üzerine daha önce damlattığımız bir damla steril distile su içerisinde yayılmıştır. Hazırlanan bakteriyel film önce havada kurutulmuş, daha sonra da lamin bakteriyel film bulunan yüzeyi yukarıda kalacak şekilde, lam 2-3 defa alevden geçirilerek tesbit edilmiştir. Hazırlanan preparat üzerine önce kristal viyolete dökülmüş ve üç dakika

beklenmiştir. Üç dakikanın sonunda lamın üzerindeki fazla boya akıtıldıktan sonra preparatın üzerine lügol çözeltisi dökülmüş ve iki dakika beklenmiştir. İki dakikanın sonunda lamın üzerindeki fazla lügol akıtıldıktan sonra, preparat altı saniye alkol ile muamele edilmiştir. Distile su ile preparatın üzerindeki alkol uzaklaştırılmış ve son olarak preparatın üzerine safranin dökülerek bir dakika beklenmiştir. Bir dakikanın sonunda preparatın üzerindeki fazla boya akıtılıp, distile su ile yıkandıktan sonra preparat oda havasında iyice kurulmuştur. Hazırlanan preparat immersiyon yağı kullanılarak 100'lük objektif altında ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir (2,100).

A grubu beta hemolitik streptokoklar, Gram pozitif boyanma özellikleri nedeniyle hazırlanan preparatta kristal viyole ile boyanarak mor renkte görülmüştür (Resim 3.3).

**Resim 3.3 Gram Boyada, Gram Pozitif Kok**



#### **3.2.4. Katalaz Testi**

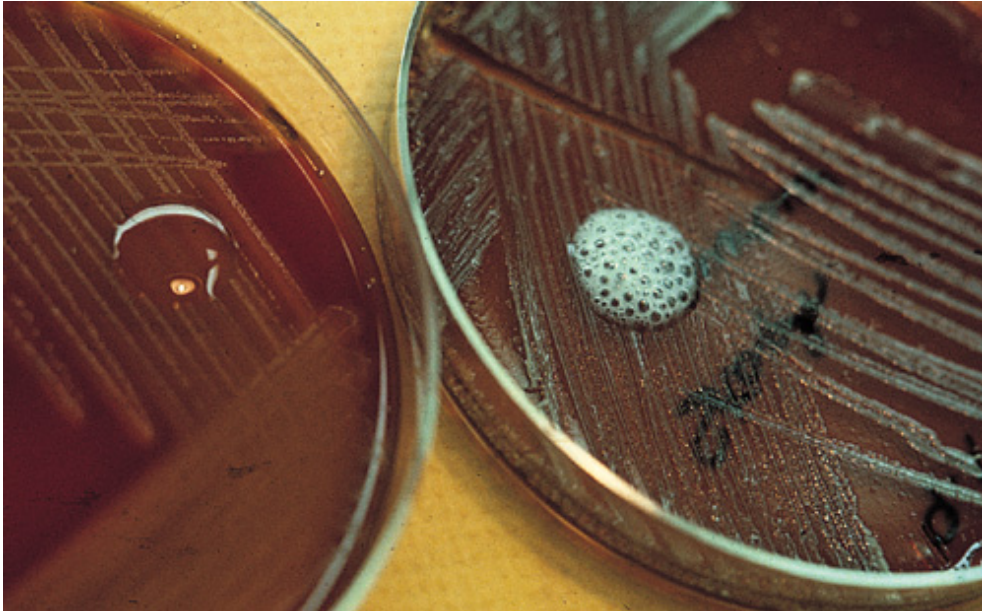
Öze alevde alazlanarak steril edildikten sonra %5 koyun kanlı besi yerinde ekili olan yirmidört saatlik bakteri kültüründen birkaç koloni alınarak lamın üzerine



yerleştirilmiştir. Lama yerleştirilen kolonilerin üzerine bir-iki damla %3'lük hidrojenperoksit damlatılarak steril bir kürdan yardımı ile karıştırılmıştır (2,100).

A grubu beta hemolitik streptokoklar katalaz negatif oldukları için besi yerinden alınarak lam üzerinde hidrojenperoksit ile karıştırılan kolonileden gaz çıkışı gözlenmemiştir (Resim 3.4).

**Resim 3.4 Katalaz Reaksiyonu (Solda katalaz negatif streptokok kolonileri, sağda katalaz pozitif stafilokok kolonileri)**



### 3.2.5. Basitrasin ve Trimetoprim-Sülfometaksazol Duyarlılığı

%5 koyun kanı içeren besi yerindeki streptokok kolonilerinden tek koloni alınarak 2 ml MHB içeren tüplere ekim yapılarak, 37°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda bakteri süspansiyonları, steril distile su kullanılarak Mc Farland 0,5 No'lu Standart Bulanıklık Tüpü'ne eş değer olarak hazırlanmıştır. Mc Farland 0,5 No'lu Standart Bulanıklık Tüpü'ne eş değer olarak hazırlanan bakteri süspansiyonlarından 1'er ml. Alınarak %5 koyun kanı içeren besi yerlerine homojen olarak yayılmıştır. Besiyerlerinin yüzeyleri kuruduktan sonra hayali bir çizgi ile petri kabı ortadan ikiye bölünmüş ve bir yarının tam ortasına basitrasin

disk, diğ er yarının ortasına ise trimetoprim-sülfametaksazol disk i yerleş tirilmiştir. 37°C’de 18-24 saat inkübe edildikten sonra her bir antibiyotik disk i etrafında oluş an üreme zonları kaydedilmiştir (102).

A grubu beta hemolitik streptokok suş ları basitrasine duyarlı, trimetoprim-sülfometaksazole dirençli olduğ u için basitrasin disk i etrafında üreme görülmezken, trimetoprim-sülfometaksazol disk i etrafında üreme saptanmıştır (Resim 3.5).

**Resim 3.5 Besiyerinde Antibiyotik Diskleri Etrafında Üreme Zonları (Disk A: 0.02 U basitrasin içermektedir)**



### 3.2.6. Pirolidonil Arilamidaz (PYR) Testi

A grubu beta hemolitik streptokokların identifiye edilmesi için kullanılan basitrasin duyarlılık testinden daha spesifiktir.



A grubu beta hemolitik streptokoklarda bulunan pirolidonil peptidaz (PYRaz), L-pirolidonil (PYR)'in beta-naftilamid'e hidrolizini katalize eder.

L-pirolidonil → pirolidonil peptidaz → L-pirolidon karboksilik asit + beta naftilamin

Reaksiyon spesifik renk indikatörü, N,N-dimetil aminosin namaldehit ilavesi ile tepkime belirlenir.

PYR testi önce dört saatlik bant tüp testi olarak uygulanmıştır. Bugün ticari formları mevcuttur.

PYR içeren şerit üzerindeki beyaz bölgeye 3-4 damla tampon solüsyonu (ayraç) damlatılır. Daha sonra aynı bölgeye katalaz negatif, gram morfolojisi uygun şüpheli koloniden steril öze yardımı ile alınan 3-5 koloni sürülür. Hazırlanan şerit on dakika oda ısısında bekletilir. Şerit üzerindeki beyaz bölgeye iki damla renk geliştirici solüsyon eklenir. 10 saniye içerisinde şerit üzerinde peöbe-kırmızı renk oluşumu testin pozitif olduğunu gösterir. Şüpheli koloninin A grubu beta hemolitik streptokok kolonisi olduğunu destekler (100).

### 3.2.7. Lam Aglütinasyon Testi

Streptokokların grup sfesifik hücre duvar polisakkarit antijenlerine karşı antikorlarla kaplanmış lateks küreler içeren kit ticari olarak temin edilmiştir. Temin edilen kitin kullanım prosedürüne uygun olarak test uygulanmıştır. Katalaz testi ve gram morfolojisi uygun olan, saf halde izole edilmiş beta hemolitik streptokok kolonisi ekstraksiyon enzimi içerisinde süspansiyon haline getirilerek 15 dakika 37°C'de etüvde bekletilmiştir. Her bir grup polisakkarit antijenine karşı antikorla kaplı lateks küreler içeren belirteç birer damla test kartlarına damlatıldıktan sonra kart üzerine 15 dakika bekletilerek ekstrakte edilmiş süspansiyondan damlatılarak çubuklarla karıştırılmıştır. Kolonilerin hangi grup spesifik antikor içeren belirteçlerle aglütinasyon verdiği saptanmıştır (1,103).

### 3.3. İzole Edilen A Grubu Beta Hemolitik Streptokok Suşlarının *emm* Genlerinin Çoğaltılması Sırasında Kullanılan Gereçler

İzole edilen suşların *emm* genlerinin çoğaltılması sırasında gerçekleştirilen kimyasal reaksiyonlarda kullanılan malzemeler ve solüsyonların hazırlanışı şu şekildedir:

Primerlerin Hazırlanışı: Primer seçimi CDC (Centers for Disease Control)'nin önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Ticari olarak satın alınan, liyofilize halde bulunan primerler protokölüne uygun olarak sulandırılıp 70 pmol/µl konsantrasyonun elde edilmiş ve uygun miktarlarda kullanılmıştır. Primer dizileri olarak *emm* 1 (5'-TATT(C/G)GCTTAGAAAATTAA-3') ve *emm* 2 (5'-GCAAGTTCTTCAGCTTGTTT-3') dizinleri kullanılmıştır.

Taq Polimeraz: Taq polimeraz olarak konsantrasyonu 5 U/µl ( BioBasic) olan enzim kullanılmıştır.

dNTP Karışımı: dNTP karışımı hazır çözelti olarak satın alınmıştır. Hazır çözeltinin her biri 100 mM konsantrasyonda olup dATP, dCTP, dTTP, dGTP (BioBasic) içermektedir. Her çözeltiden 10 µl alınarak bir ependorfa konuldu ve 60 µl steril distile su eklenerek son konsantrasyonun 10 Mm olması sağlanmıştır.

Magnezyum Sülfat Solüsyonu: Hazır olarak elde edilen 20 mM konsantrasyonundaki magnezyum sülfat (BioBasic) solüsyonu sulandırım yapılmadan uygun miktarda reaksiyon karışımına eklenmiştir.

DNA Marker: DNA marker olarak ΦX174-Hae III digest marker (1353,1078, 872, 603, 310-bp, TaKaRa) kullanıldı.

0.5 M EDTA (Ph 8.0): Bir litre su içerisine ana çözelti 0,5 M olacak şekilde 186,1 g disodyum etilen daimin tetrasetat dihidrat (EDTA) (BioBasic) ve 20 g NaOH eklenerek hem disodyum etilen diamin tetrasetat dihidrat'ın çözünmesi, hem de çözelti pH'sının 8'e ulaşması sağlanmıştır.

2 M Tris Solüsyonu (pH 7.5): Tris base (Sigma) 242,2 g tartıldıktan sonra 800 ml steril distile su içinde çözülüp, 42 ml konsantre hidroklorik asit ilave edilerek çözeltinin

pH'sının 7,5 olması sağlanmıştır. Ardından karışım 1000 ml'ye tamamlanarak otoklavda steril edilmiş ve 2 M Tris solüsyonu hazırlanmıştır.

% 20'lik SDS (Sodyum dodesil sülfat): 20g Sodyum dodesil sülfat (SDS) tartıldıktan sonra üzerine 90 ml steril distile su eklenmiştir. Solüsyon 68°C'ye kadar ısıtılarak çözüldükten sonra birkaç damla konsantre hidroklorik asit damlatılarak çözelti pH 'sı 7,2 olacak şekilde ayarlanmıştır. Ardından solüsyon 100 ml'ye tamamlanmıştır.

5 M NaCl Solüsyonu: 292,2 g NaCl (BioBasic) 800 ml distile su içerisinde çözüldükten sonra solüsyon 1000 ml'ye tamamlanmış ve otoklavda steril edilmiştir.

10X TAE Tampon Solüsyonu: Tri Base (Sigma) 48,4 g, glacial asetik asit 11,42 ml, 0,5 M EDTA (pH:8) 20 ml karıştırıldıktan sonra solüsyon steril distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmış ve otoklavda steril edilmiştir. 1xTAE tampon solüsyonu için distile su ile sulandırılarak kullanılmıştır.

Etidyum Bromür: Etidyum bromür (Sigma) 10mg/l olarak hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcı yardımıyla distile su içerisinde çözündürülmüş ve oda ısısında, ışıktan korunarak saklanmıştır.

Yükleme Tamponu: 0,25 bromfenol mavisi (Sigma) ve 30 ml gliserol, 70 ml distile su içerisinde çözündürülmüş ve hazırlanan yükleme tamponu +4°C'de saklanmıştır.

% 1'lik Agaroz Jelin Hazırlanması: Kullanılacak jel kasetinin büyüklüğüne göre tartılan agaroz 1xTAE tampon içerisinde kaynatılarak çözündürülmüştür. 200 ml olarak hazırlanan jel, sıcaklığı 50-55°C'ye ayarlanmış su banyosunda 10-15 dakika bekletildikten sonra içerisine 10 mg/ml konsantrasyonundaki etidyum bromür solüsyonundan 20 µl ilave edilmiştir. Jel, kenarları kapatılmış kaset üzerine dökülmüş ve cepleri oluşturacak tarak yerleştirilerek donması beklenmiştir. Jel donduktan sonra tarak dikkatlice çıkarılmış ve jel kaseti elektroforez tankına yerleştirilmiştir.

### 3.4. İzole Edilen A Grubu Beta Hemolitik Streptokok Suşların *emm* Genlerinin Çoğaltılması

#### 3.4.1. Genomik DNA Ekstraksiyonu

İzole edilen suşlar %3 koyun kanlı agara ekilerek taze pasajları elde edilmiştir. Bir öze alınan bakteri kolonileri 1 ml TE tamponu (pH:8) içerisinde süspanse edilmiştir. Süspansiyon 96°C 'de 15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 13 000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant yeni bir ependorfa aktarılmıştır (94).

#### 3.4.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Amplifikasyon, PCR)

Amplifikasyon karışımı toplam hacmi 50 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Stok solüsyonun hazırlanması için kullanılan malzemeler:

|                                |        |
|--------------------------------|--------|
| 1- Distile su                  | 72 µl  |
| 2- Tampon 10X                  | 10 µl  |
| 3- dNTP mix 10 mM              | 2 µl   |
| 4- MgSO4 20 mM                 | 10 µl  |
| 5- Primer 1 (70 mM)            | 2 µl   |
| 6- Primer 2 (70 mM)            | 2 µl   |
| 7- Taq DNA polimeraz (5 U/ µl) | 0,4 µl |

Hazırlanan stok solüsyonundan 19,5 µl alınmış ve üzerine 0,5 µl DNA ekstraksiyonu eklenmiştir. Daha sonra ependorflar önceden 94°C'ye ısıtılmış termal cycler'a konularak amplifikasyon programı uygulanmıştır.

#### 3.4.3. Amplifikasyon Programı

İlk başlangıçta 94°C'de bir dakika tek döngü tamamlanmıştır.

İkinci basamakta; 10 defa, 94°C'de 15 saniye denatürasyon,

46,5°C'de 30 saniye primer bağlanması,

72°C'de 75 saniye primer uzaması olacak şekilde döngüler tamamlanmıştır.

Üçüncü basamakta; 20 döngü, 94°C’de 15 saniye denatürasyon,

46.5°C’de 30 saniye primer bağlanması,

primer uzaması için 72°C’de 75 saniye ve takip eden her döngüde 10 saniye süre artışı olacak şekilde tamamlanmıştır.

Son olarak 72°C’de 10 dakikalık tek döngü tamamlanmıştır.

Amplifikasyon sonucu elde edilen örnekler direkt pürüfikasyon için kullanılmış ya da –20°C’de saklanmıştır (104).

#### **3.4.4. Elektroforez**

10 µl amplifikasyon ürünü yaklaşık 2 µl yükleme tamponu ile karıştırılmış ve 1X TAE tamponu içerisinde, etidyum bromür ile boyanmış %1’lik agaroz jel üzerinde 90 V’da kırkbeş dakika yürütülmüştür.

#### **3.4.5. Görüntüleme**

Elektroforez işlemi sonrasında jel, transilluminatör üzerine alınarak UV ışığı (304 nm) altında görüntülenmiştir. Sonuçlar çıplak göz ile dikkatli bir şekilde karşılaştırılmıştır.

### **3.5. Amplifikasyon Ürünlerinin Saflaştırılması**

Polimeraz zincir reaksiyonu ile elde edilen ürünlerin saflaştırması için hazır ticari saflaştırma kiti (Roche®) kullanılmıştır. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda 20 µl’lik polimeraz zincir reaksiyon ürününün üzerine 250 µl bağlayıcı tampon eklenerek karıştırıldıktan sonra elde edilen karışım toplama tüpünün içerisine yerleştirilen filtrali tüp içerisine aktarıldı. 12 500 devir/dakikada bir buçuk dakika santrifüj edildi. Filtreli tüpün altına geçen sıvı kısım atıldı. Karışımın üzerine 500 µl yıkama tamponu eklendikten sonra 12 500 devir/dakikada bir buçuk dakika tekrar santrifüj edildi. İşlem sonunda elde edilen atık kısım boşaltıldıktan sonra tüp içerisine tekrar 200 µl yıkama tamponu eklendi ve aynı hız ve sürede tekrar santrifüj edildi. İşlem sonunda toplama tüpü atılırken, filtreli tüp içerisindeki örnek 1,5 ml’lik temiz bir tüpe aktarılarak üzerine 30 µl elüsyon tamponu eklendi ve 12 500 devir/dakika da bir buçuk dakika santrifüj edildi. İşlem sonunda filtreli

tüplerden elde edilen saflaştırma ürünleri sekanslama işleminde DNA kalıbı olarak kullanılmak üzere saklandı.

### 3.6. Amplifikasyon Ürünlerinin Dizi Analizinin Yapılması

PCR ürünlerinin dizileri Applied Biosystems sekanslama cihazı (İontek, ABI PRISM 310 Genetic Analyzer; Applied Biosystems, Foster City, California, USA) ile elde edilmiştir. Sekanslama için *emmseq* 2: (TATTCGCTTAGAAAATTAAAAACAGC) primeri kullanılmıştır.

### 3.7. Elde Edilen Dizi Analizlerinin Değerlendirilmesi

Polimeraz zincir reaksiyonu ile elde edilen dizi analizleri ABI Prism 310 Data Collection Software yardımı ile toplanarak işlenmiş ve kromotogram dosyaları olarak düzenlenmiştir. Kromotogram dosyaları FinchTV v1.3.1 yazılımı (GeoSpiza Inc., ABD) kullanılarak görsel olarak düzenlenerek nükleotid dizilimi güvenilir olarak okunabilen kısımları, ileri değerlendirmeler için FASTA formatına uygun olarak dosyalanmıştır.

*emm* genotiplerinin belirlenebilmesi için elde edilen gen dizileri CDC'nin A grubu beta hemolitik Streptokok sekans veritabanı ile karşılaştırılmıştır (98). Tiplendirme için kullanılacak referans DNA dizileri [ftp://ftp.cdc.gov/pub/infectious\\_diseases/biotech/tsemm](ftp://ftp.cdc.gov/pub/infectious_diseases/biotech/tsemm) adresinden elde edilmiştir. Dizi analizi yapılan örneklerin günümüze kadar CDC tarafından veri tabanına belirli referans numaraları ile kaydedilmiş *emm* tipleri ile karşılaştırılmasını yapmak için Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) programı kullanılmıştır.

İstatiksel analiz için SPSS 10.0 bilgisayar yazılımı kullanıldı. Hasta gruplarının demografik dağılımının normal dağılıma uyduğu Kolmogorov-Smirnov testi ile ortaya kondu, ve normal dağılıma uyan bu değerler t testi ile karşılaştırıldı. Bunun yanında, oransal değerler ise ki-kare testi ile değerlendirildi.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Araştırma 1 Aralık 2007 ile 31 Ocak 2009 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmamıza katılan çocukların ailelerinden yazılı aydınlatılmış onam alındı. Araştırma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından Ocak 2008'de onaylandı (Etik

kurul dosya no 2008/50) ve İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklendi (Proje no 3037).

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Bulgular

1 Aralık 2007 ile 31 Ocak 2009 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Genel Pediatri Bilim Dalı polikliniklerine akut tonsillofarenjit bulguları ile başvuran 3321 çocuk hastadan alınan boğaz sürüntü örneklerinden 335'inde *S. pyogenes* suşu izole edilmiştir. Bu dönemde kliniğimizde GABHS izole edilme oranı %10'dur.

Aralık 2007 - Ocak 2009 tarihleri arasında alınan 3321 boğaz sürüntü örneğinde saptanan üremeler tablo 4.1 ve şekil 4.1 'de verilmiştir.

**Tablo 4.1 Boğaz Sürüntü Örneklerinde Saptanan Üremelerin Dağılımı (n:3321)**

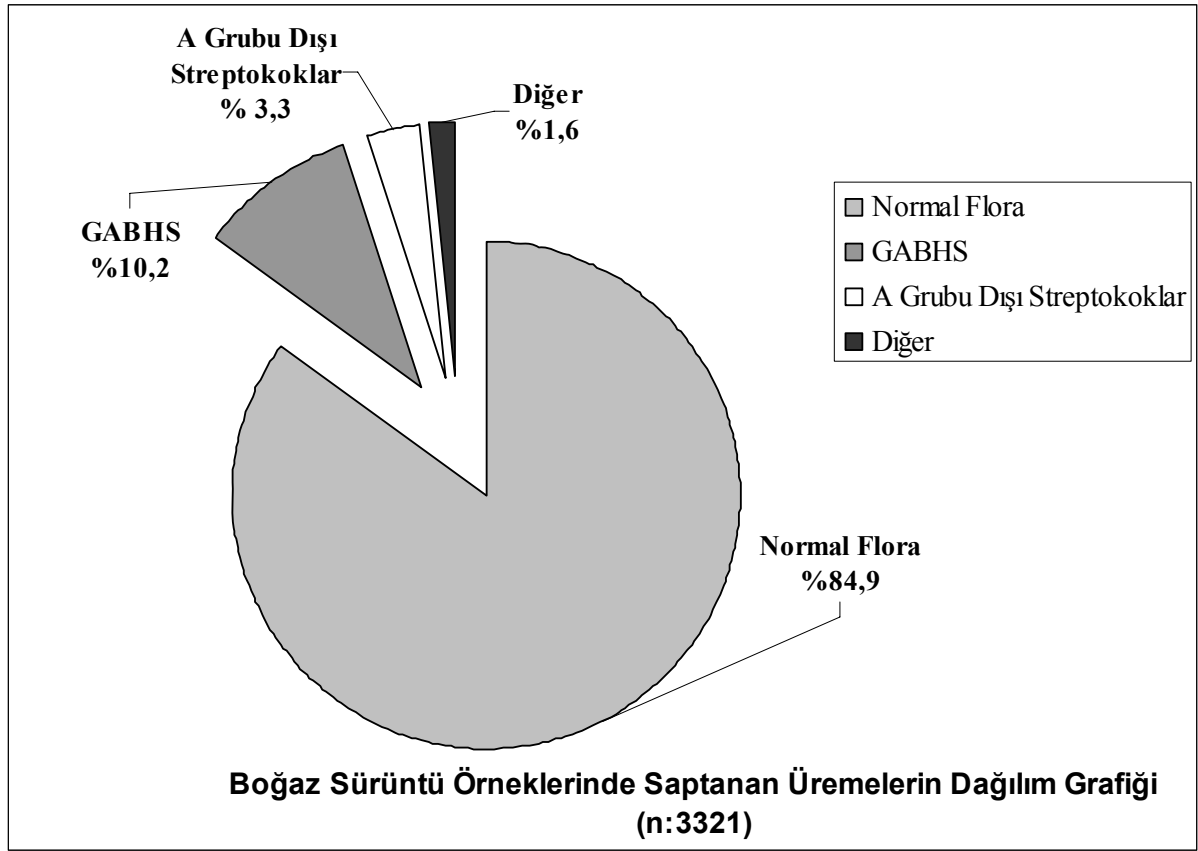
| Üreme                             | n (%)       |
|-----------------------------------|-------------|
| Normal Flora Bakterisi            | 2821 (84,9) |
| A Grubu Beta Hemolitik Streptokok | 335 (10,1)  |
| A Grubu Dışı Streptokok           | 113 (3,4)   |
| Diğer:                            | 52 (1,6)    |
| ** Gram Negatif Bakteriler        | 24 (0,7)    |
| ** Gram Pozitif Bakteriler        | 8 (0,3)     |
| ** Mantarlar                      | 3 (0,1)     |
| ** Üreme Olmayan Hastalar         | 15 (0,5)    |
| Toplam Hasta Sayısı               | 3321 (100)  |

Boğaz sürüntü örneği ile 1912 (%57,6) erkek, 1409 (%42,4) kız toplam 3321 hasta değerlendirilmiştir. Boğaz sürüntü örneği ile değerlendirilen hastaların yaş ortalaması  $81,9 \pm 0,9$  aydır (Tablo 4.2).

Boğaz sürüntü örnekleri ile değerlendirilen 183 (%54,6) erkek, 152 (%45,4) kız toplam 335 hastada *S. pyogenes* üremesi saptandı. Boğaz sürüntü örneği kültürlerinde *S. pyogenes* üremesi ile cinsiyet arasında anlamlı ilişki bulunmadı. GABHS izole edilen hastaların yaş ortalaması  $94,5 \pm 2,6$  aydır (Tablo 4.2).



**Şekil 4.1 Boğaz Sürüntü Örneklerinde Saptanan Üremelerin Dağılım Grafiği (n:3321)**



GABHS üremesi en yüksek oranda (%88,7) okul çocuklarında saptandı. GABHS üremesinin yaş gruplarına göre dağılımı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.01$ ) (Tablo 4.2).

GAHBS izole edilen hastaların yaş gruplarına göre dağılımı tablo 4.3 ve tablo 4.4' de verilmiştir.

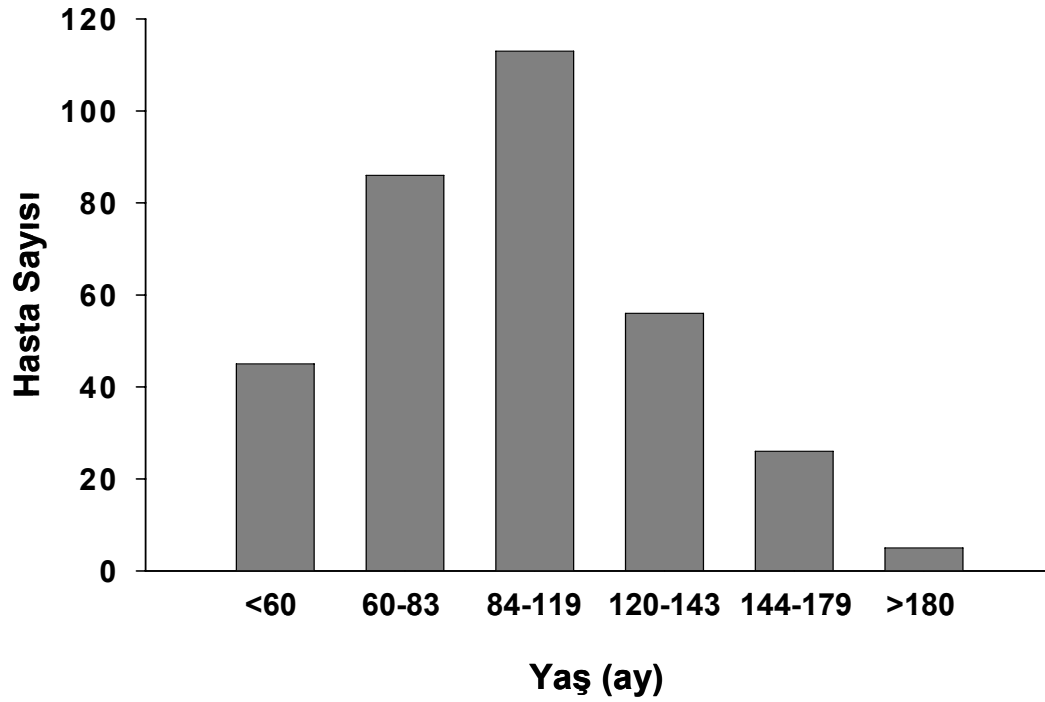
Boğaz sürüntü örneklerinde saptanan *S. pyogenes* üremesinin mevsimlere göre dağılımı incelendiğinde, GABHS üremesinin en sık kış (%48,4) ve sonbahar (%25,7) aylarında olduğu görüldü (Şekil 4.2). Kış aylarında yaz aylarına göre daha yüksek oranda GABHS üremesi istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.01$ ).

**Tablo 4.2 Hasta Gruplarının Demografik Dağılımı (n:3321)**

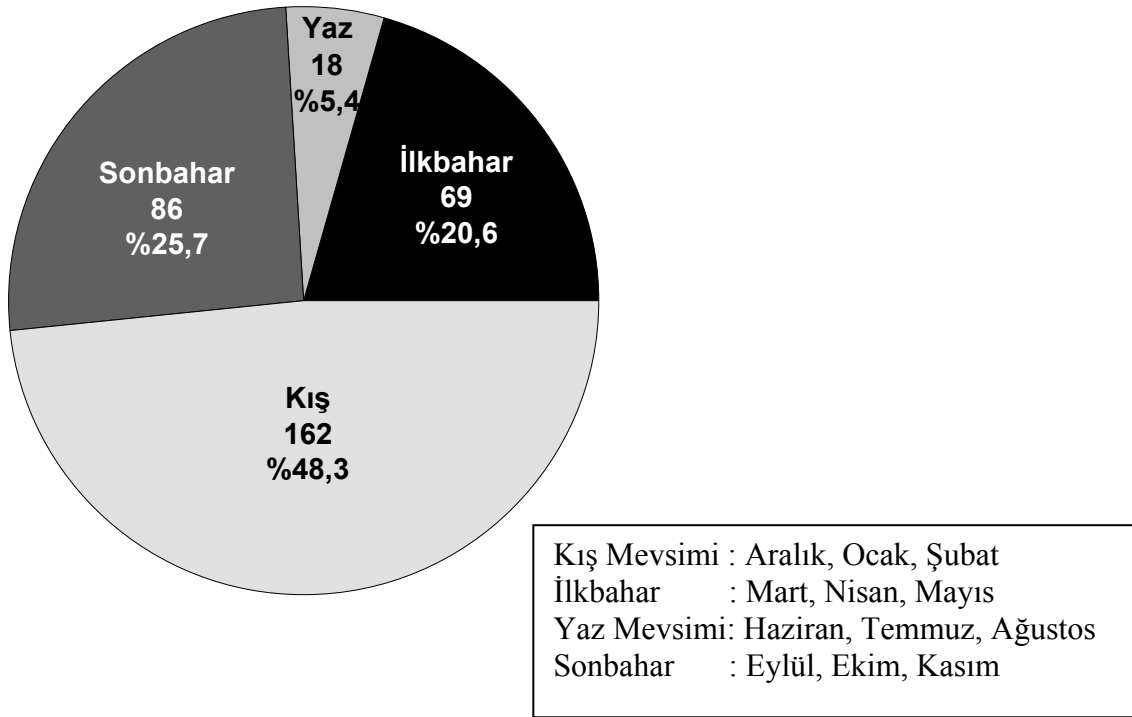
|          |                               | Boğaz<br>Kültürü<br>(n= 3321) | GABHS<br>(n=335) | $\chi^2$ | p değeri |
|----------|-------------------------------|-------------------------------|------------------|----------|----------|
| Cinsiyet |                               |                               |                  |          |          |
|          | Erkek                         | 1912<br>(% 57,6)              | 183<br>(% 54,6)  | -        | 0.33     |
|          | Kız                           | 1409<br>(% 42,4)              | 152<br>(% 45,4)  |          |          |
| Yaş      |                               | 81,9 ± 0,9 ay                 | 94,5 ± 2,6 ay    |          | <0.01    |
|          | 2-12 yaş                      | 2514<br>(% 81,7)              | 300<br>(% 89,6)  | 23.8     | <0.01    |
|          | >12 yaş                       | 394<br>(% 11,9)               | 31<br>(% 9,2)    |          |          |
|          | Yaş bilgisine<br>Ulaşılamayan | 213<br>(% 6,4)                | 4<br>(% 1,2)     |          |          |

**Tablo 4.3 GABHS İzole Edilen Hastaların Yaşa Göre Dağılımı (n:335)**

| YAŞ (ay)                   | n (%)      |
|----------------------------|------------|
| <60 ay                     | 45 (13,4)  |
| 60 - 83 ay                 | 86 (25,6)  |
| 84 - 119 ay                | 113 (33,7) |
| 120 - 143 ay               | 56 (16,7)  |
| 144 - 179 ay               | 26 (7,8)   |
| ≥180 ay                    | 5 (1,5)    |
| Yaş bilgisine ulaşılamayan | 4 (1,2)    |
| Toplam                     | 335 (100)  |

**Tablo 4.4 GABHS İzole Edilen Hastaların Yaşa Göre Dağılım Grafiği (n:335)**

**Şekil 4.2 GABHS Üremesinin Mevsimsel Dağılımı (n:335)**



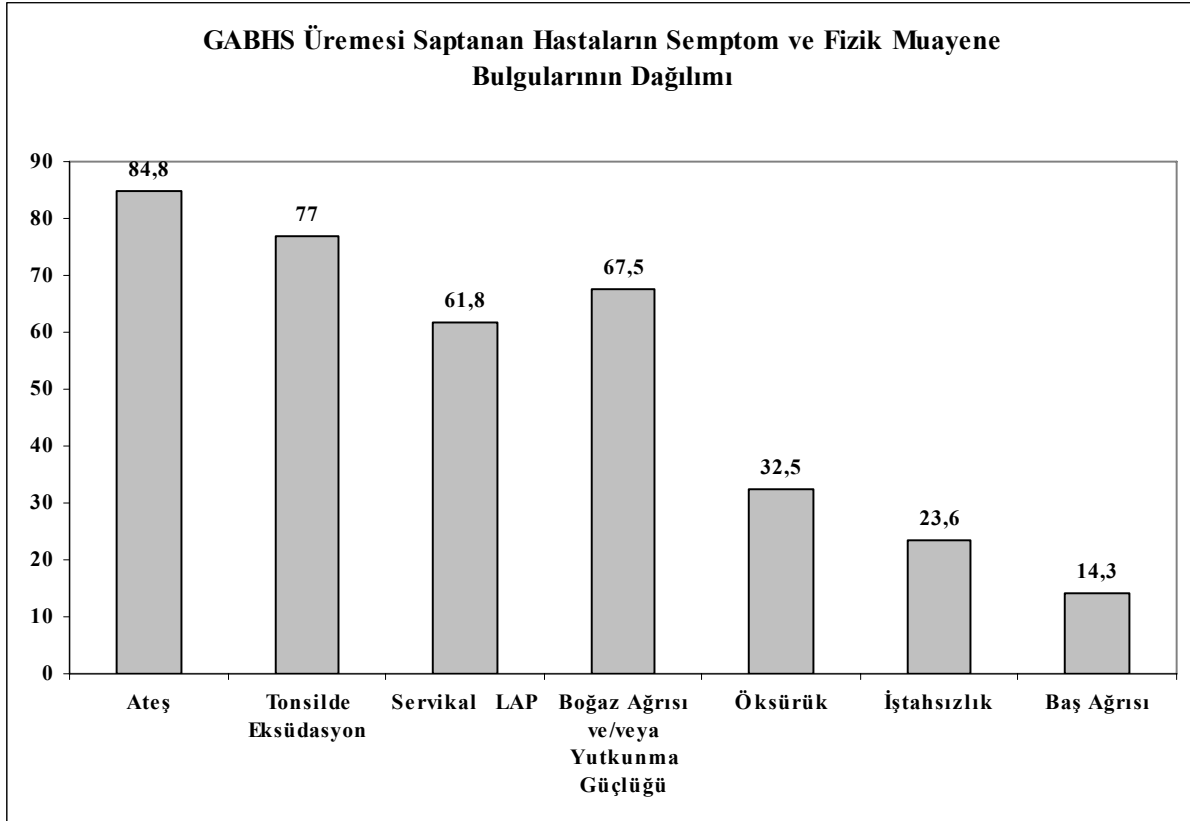
#### 4.2. Klinik Bulgular

Boğaz sürüntü örneklerinde GABHS üremesi saptanan hastaların başvuru yakınmaları ve fizik muayene bulguları incelendi (Tablo 4.5 ve 4.6). Hastaların en sık başvuru yakınması ateş (%84,8) ve boğaz ağrısı ve/veya yutkunma güçlüğü (%67,5) idi. Tonsilde eksudasyon (%77) ve servikal lenfadenopati (%61,8) ise en sık karşılaşılan fizik muayene bulgusu idi.

**Tablo 4.5 GABHS Üremesi Saptanan Hastaların Semptomları ve Fizik Muayene Bulguları**

| Semptom/Bulgu                         | Hasta Sayısı n (%) |
|---------------------------------------|--------------------|
| Ateş                                  | 284 (84,8)         |
| Tonsilde Eksudasyon                   | 258 (77,0)         |
| Servikal Lenfadenopati                | 207 (61,8)         |
| Boğaz Ağrısı ve/veya Yutkunma Güçlüğü | 226 (67,5)         |
| Öksürük                               | 109 (32,5)         |
| İştahsızlık                           | 79 (23,6)          |
| Baş Ağrısı                            | 48 (14,3)          |

**Tablo 4.6 GABHS Üremesi Saptanan Hastaların Semptomları ve Fizik Muayene Bulgularının Dağılım Grafiği (n:335)**



Boğaz sürüntü örneklerinde GABHS üremesi saptanan hastalarda izlemde eşlik eden klinik durumlar akut otitis media, seröz otit, sinuzit ve Henöch- Schönlein purpurası olarak belirlenmiştir (Tablo 4.7).

**Tablo 4.7 GABHS Üremesi Saptanan Hastalarda İzlemde Eşlik Eden Klinik Durumlar**

| <b>Eşlik Eden Klinik Durumlar</b> | <b>Hasta Sayısı<br/>n (%)</b> |
|-----------------------------------|-------------------------------|
| Sinuzit                           | 6 (1,8)                       |
| Akut Otitis Media                 | 5 (1,5 )                      |
| Seröz Otitis Media                | 1 (0,3)                       |
| Henöch-Schönlein Purpurası        | 1 (0,3)                       |
| Toplam                            | 13 (3,9)                      |

GABHS üremesi nedeniyle uygun antibiyotik tedavisi verilen ve 3 ay süre ile izlenen 335 hastanın hiçbirinde akut romatizmal ateş, akut post-streptokoksik glomerülofrit ya da streptokoksik enfeksiyonlarla ilişkili otoimmün nöropsikiyatrik hastalıklar gibi post-streptokoksik süpüratif olmayan komplikasyonlar görülmedi.

#### **4.3. Laboratuvar Bulguları**

Çalışmamız sırasında GABHS üremesi saptanan 335 hastadan 265'i uygun antibiyoterapi (Penisilin – Benzatin penisilin veya penisilin V -, amoksisilin klavulanik asit, ikinci kuşak oral sefalosporin – sefuroksim aksetil veya sefaklor -, makolid) sonrasında kontrol boğaz sürüntü kültürü ile değerlendirilmiştir. Bu hastaların %13'ünde ikinci kültürde de GABHS üremesi saptanmıştır.

Boğaz kültürü ile değerlendirilen 710 hastada eş zamanlı olarak hızlı streptokok antijen testi uygulandı. Hızlı streptokok antijen testinin sensitivitesi %84,2, spesifitesi %88,7 bulundu. Çalışmamızda hızlı streptokok antijen testinin pozitif prediktif değeri %63,3, negatif

prediktif değeri %96,1, yanlış pozitiflik değeri % 36,7 yanlış negatiflik değeri %3,9 olarak hesaplandı ( Tablo 4.7).

**Tablo 4.8 Boğaz Sürüntü Örneğinde GABHS Üremesi ve Eş Zamanlı Hızlı Streptokok Antijen Testi Uygulaması (n:710)**

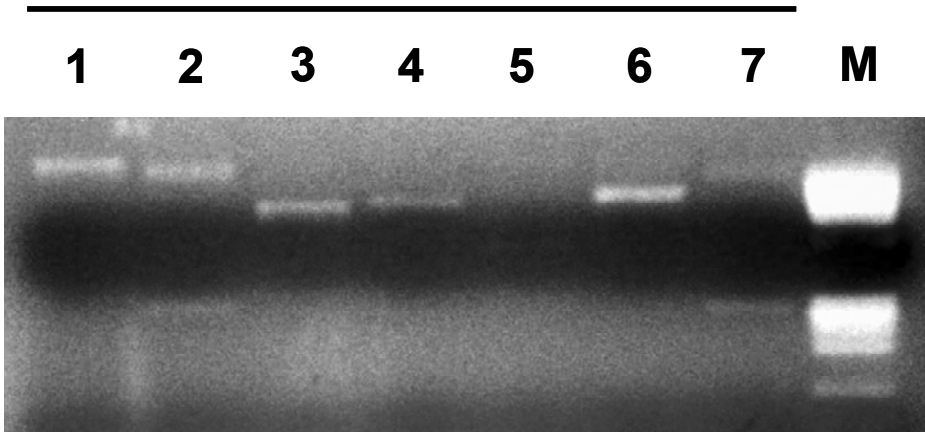
| AGBHS<br>Hızlı Strep Test | Pozitif<br>n (%) | Negatif<br>n (%) | Toplam<br>n (%) |
|---------------------------|------------------|------------------|-----------------|
| Pozitif                   | 112 (15,7)       | 65 (9,2)         | 177 (24,9)      |
| Negatif                   | 21 (3)           | 512 (72,1)       | 533 (74,1)      |
| Toplam                    | 133 (18,7)       | 577 (81,3)       | 710 (100)       |

#### 4.4. *emm* Gen Tiplendirmesi

DNA dizi analizi için incelenen 112 örnekten, *emm* primer 1 ve primer 2 primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile ‘*emm* gen’ amplifikasyon ürünü elde edilmiştir (Resim 4.1).

**Resim 4.1 *emm* Primer 1 ve *emm* Primer 2 Kullanılarak Elde Edilen Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Üzerinde Görüntülenmesi (Örnek 1, 2, 3,4 ve 6’nın *emm* dizi analizi yapıldı, örnek 5 ve 7’nin dizi analizi yapılamadı. M: referans)**

### Örnekler



Polimeraz zincir reaksiyonu ile dizi analizi için yeterli miktarda DNA ürünü elde edilen 75 örneğin 14'ünde (%18,7) ise döngüsel dizileme sonucunda elde edilen DNA ürünü, tiplendirme için kullanılan veri tabanı ile karşılaştırılmak için yeterli saflıkta bulunmadı.

Polimeraz zincir reaksiyonu ile dizi analizi için yeterli miktarda DNA ürünü elde edilen ve döngüsel dizileme sonucunda elde edilen DNA ürünü, tiplendirme için kullanılan veri tabanı ile karşılaştırılmak için yeterli saflıkta bulunan 61 (% 81,3) *S. pyogenes* suşunun emm gen tiplendirmesi yapıldı (Şekil 4.3).

Hastalık Önleme ve Koruma Merkezi'ne ait veri tabanında bulunan referans suşlar ile dizi analizi ile elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak çalışmada yer alan suşların *emm* tipleri tanımlandı.

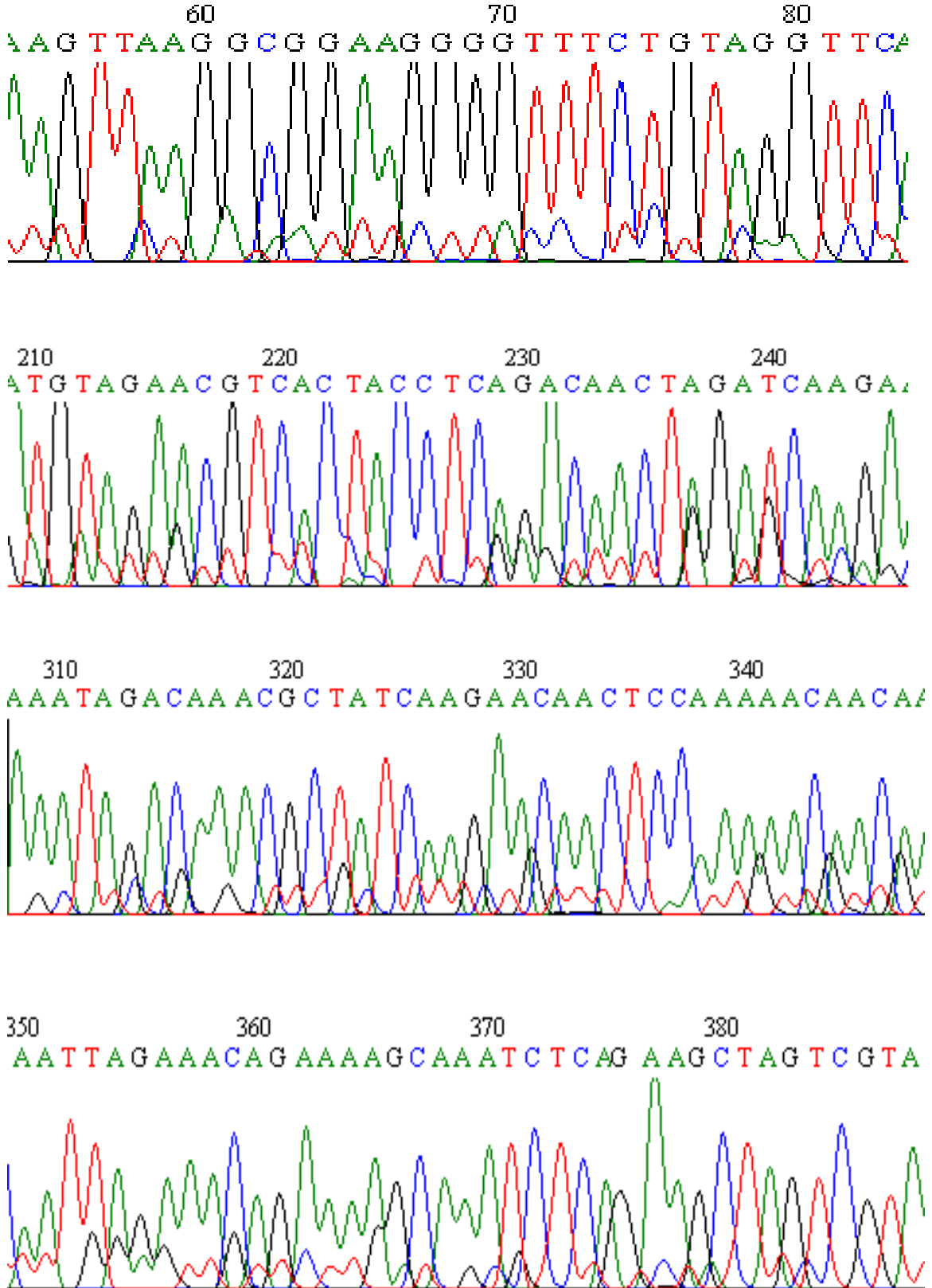
İncelenen suşların emm tipleri 1, 2, 3, 4, 5, 12, 14, 19, 22, 26, 28, 44, 63, 76, 77, 87, 89, 98 ve 188 olarak belirlenmiştir. Belirlen 19 emm tipi arasında en yüksek oranda emm 1, 3, 4 ve 5 tipleri tanımlandı (Tablo 4.9 ve Tablo 4.10).

Çalışmamızda incelenen ve tiplendirilmesi yapılabilen suşların *emm* tipleri, izole edildikleri hastaların cinsiyetleri ve yaş gruplarına göre dağılımları tablo 4.11' de verilmiştir.

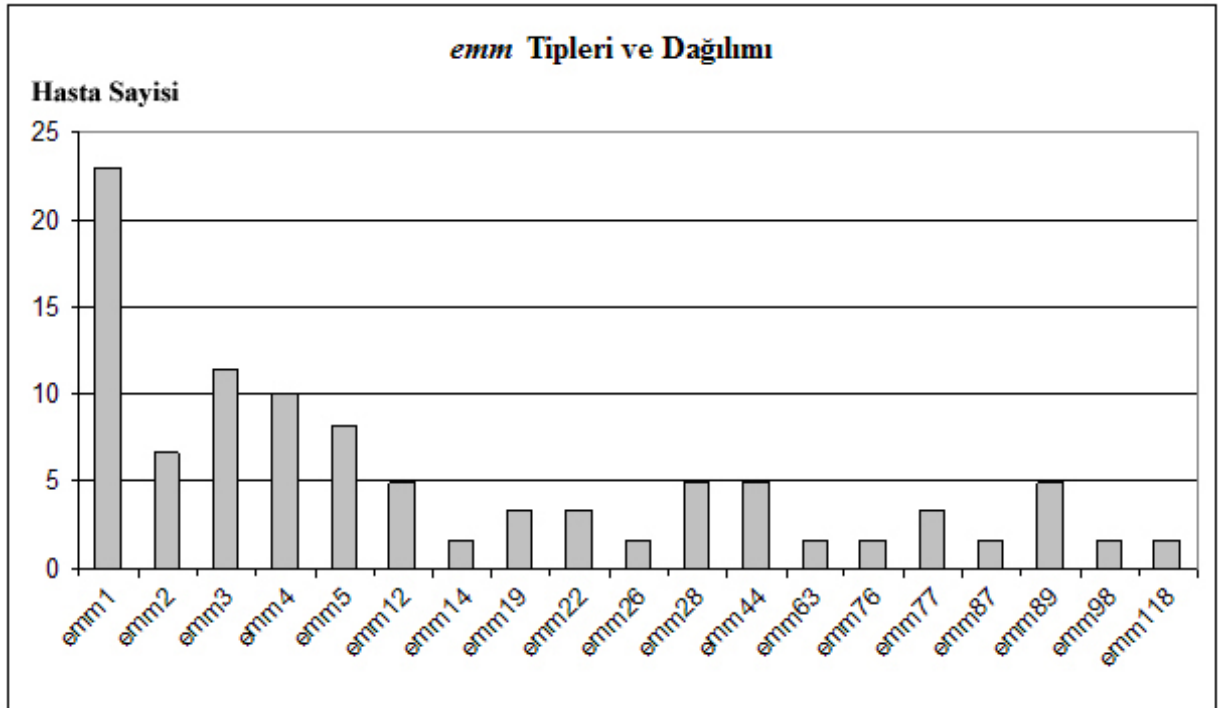
Tiplendirme yapılan suşların izole edildiği çocukların cinsiyetleri ve yaş grupları ile belirlenen emm tipleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. ( $p>0.05$ ).



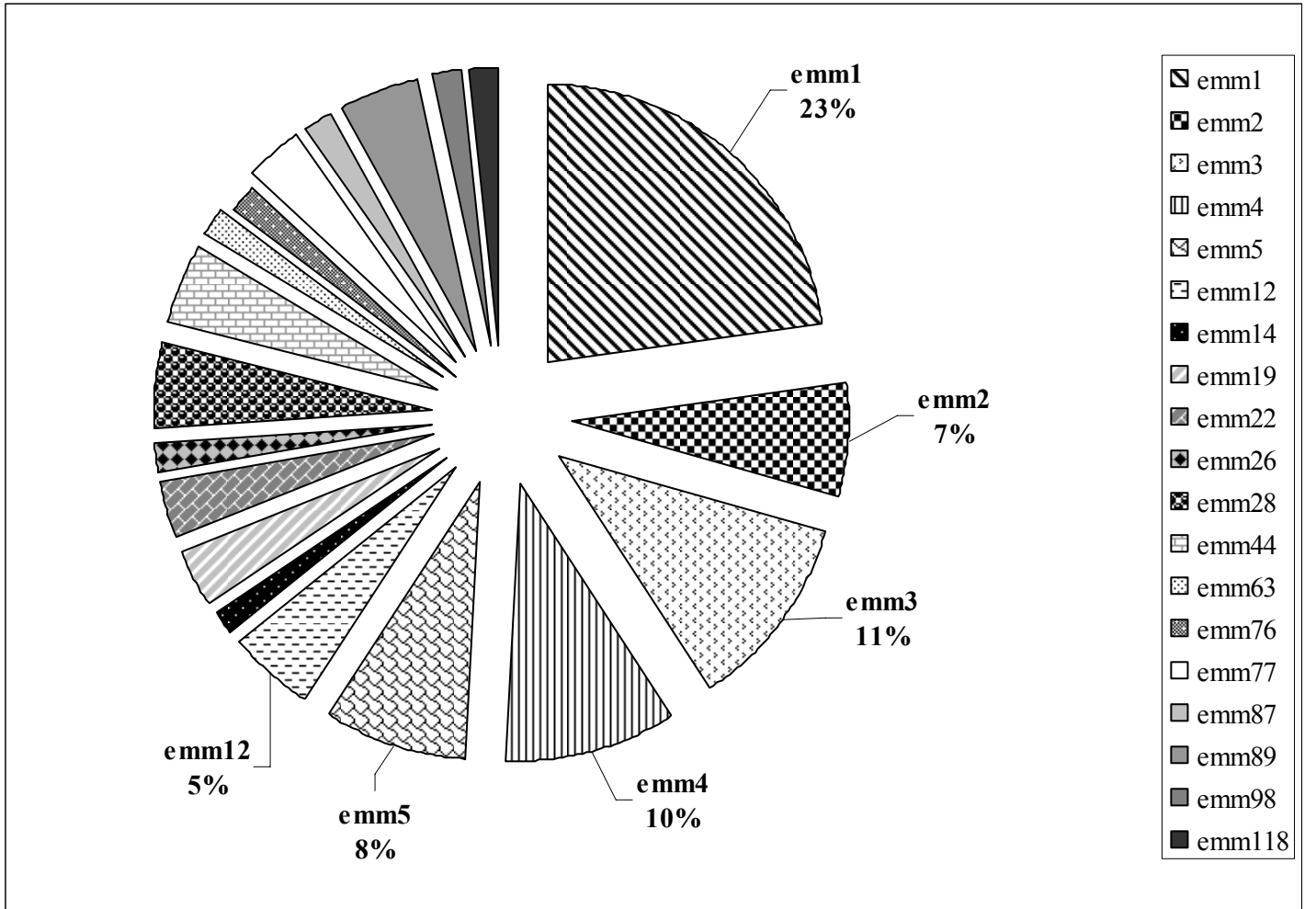
**Şekil 4.3 Isı Döngüsü İle Çoğaltılan DNA Ürünlerinden Birinin Dizi Analizi Sonucunda Kapiller Jel Elektroforezi Yapılarak Elde Edilen Kromotogram Görüntüsü**



**Tablo 4.9 Tanımlanan *emm* Tipleri ve Dağılımı (n:61)**

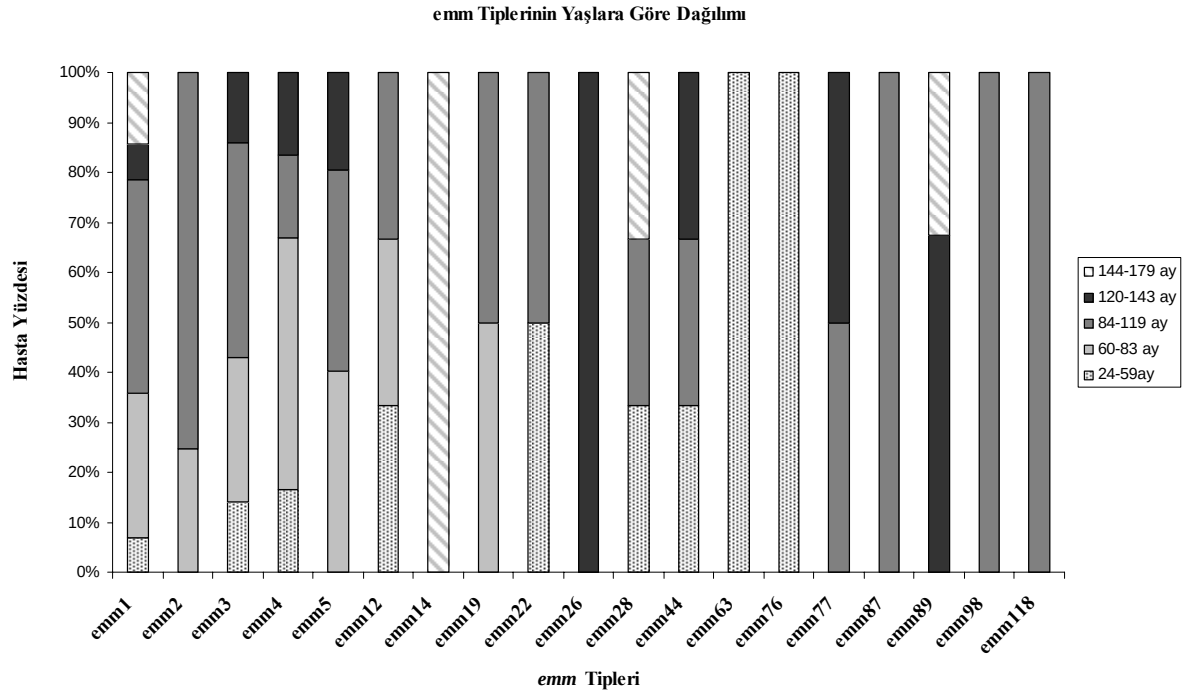


**Tablo 4.10 Tanımlanan *emm* Tiplerinin Dağılımı (n:61)**



**Tablo 4.11 Tiplendirilmesi Yapılabilen Suşların *emm* Tipleri, İzole Edildikleri Hastaların Cinsiyetleri ve Yaş Gruplarına Göre Dağılımları (n:61)**

| <b><i>emm</i> Tipi</b> | <b>Hasta Sayısı<br/>n (%)</b> | <b>Erkek<br/>n (%)</b> | <b>Kız<br/>n (%)</b> | <b>2-12 yaş<br/>n (%)</b> | <b>&gt;12 yaş<br/>n (%)</b> |
|------------------------|-------------------------------|------------------------|----------------------|---------------------------|-----------------------------|
| <b><i>emm</i> 1</b>    | 14 (22,9)                     | 7 (11,4)               | 7 (11,4)             | 12 (19,7)                 | 2 (3,4)                     |
| <b><i>emm</i> 2</b>    | 4 (6,6)                       | 0 (0)                  | 4 (6,7)              | 4 (6,7)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 3</b>    | 7 (11,5)                      | 1(1,6)                 | 6 (9,8)              | 7 (11,4)                  | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 4</b>    | 6 (10)                        | 2 (3,4)                | 4 (6,7)              | 6 (9,8)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 5</b>    | 5 (8,2)                       | 3 (5,0)                | 2 (3,4)              | 5 (8)                     | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 12</b>   | 3 (4,9)                       | 2 (3,4)                | 1 (1,6)              | 3 (5,0)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 14</b>   | 1 (1,6)                       | 1 (1,6)                | 0 (0)                | 0 (0)                     | 1 (1,6)                     |
| <b><i>emm</i> 19</b>   | 2 (3,3)                       | 0 (0)                  | 2 (3,4)              | 2 (3,4)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 22</b>   | 2 (3,3)                       | 1 (1,6)                | 1 (1,6)              | 2 (3,4)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 26</b>   | 1 (1,6)                       | 0 (0)                  | 1 (1,6)              | 1 (1,6)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 28</b>   | 3 (4,9)                       | 2 (3,4)                | 1 (1,6)              | 2 (3,4)                   | 1 (1,6)                     |
| <b><i>emm</i> 44</b>   | 3 (4,9)                       | 3 (5,0)                | 0 (0)                | 3 (5,0)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 63</b>   | 1 (1,6)                       | 0 (0)                  | 1 (1,6)              | 1 (1,6)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 76</b>   | 1 (1,6)                       | 1 (1,6)                | 0 (0)                | 1 (1,6)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 77</b>   | 2 (3,3)                       | 1 (1,6)                | 1 (1,6)              | 2 (3,4)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 87</b>   | 1 (1,6)                       | 1 (1,6)                | 0 (0)                | 1 (1,6)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 89</b>   | 3 (4,9)                       | 2 (3,4)                | 1 (1,6)              | 2 (3,4)                   | 1 (1,6)                     |
| <b><i>emm</i> 98</b>   | 1 (1,6)                       | 0 (0)                  | 1 (1,6)              | 1 (1,6)                   | 0 (0)                       |
| <b><i>emm</i> 118</b>  | 1 (1,6)                       | 1 (1,6)                | 0 (0)                | 1 (1,6)                   | 0 (0)                       |
| <b>Toplam</b>          | <b>61 (100)</b>               | <b>28 (45,9)</b>       | <b>33 (54,1)</b>     | <b>56 (91,8)</b>          | <b>5 (8,2)</b>              |

Tablo 4.12 *emm* Tiplerinin Yaşlara Göre Dağılımı (n:61)

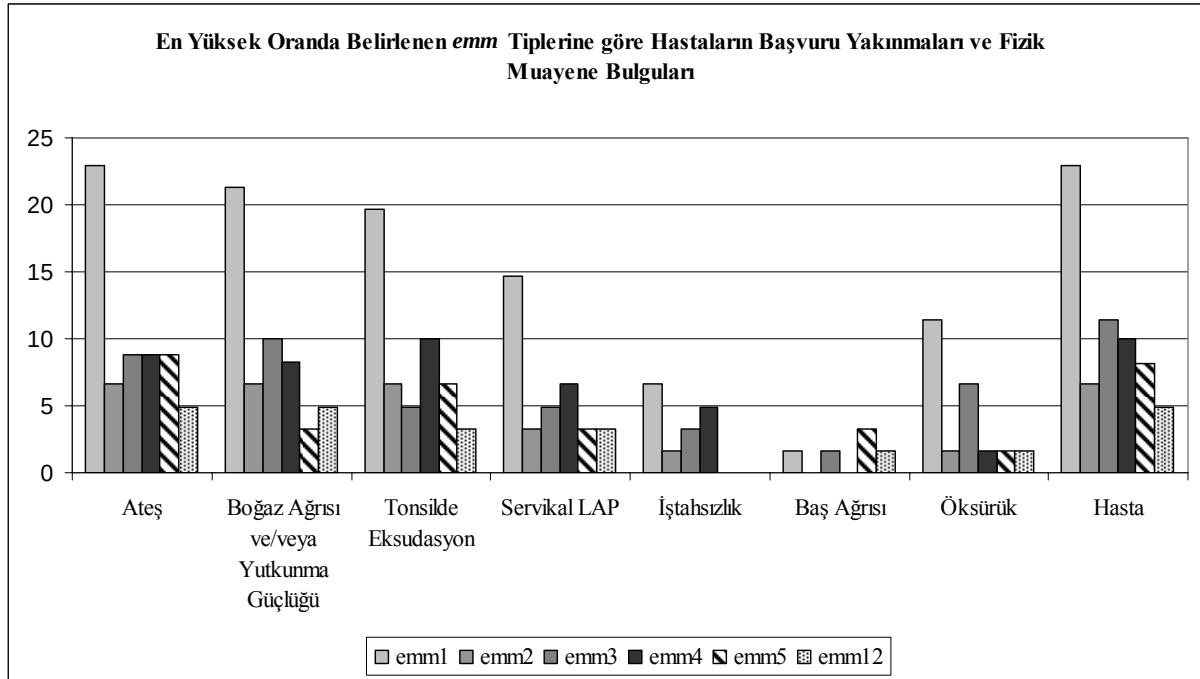
*emm* tiplendirilmesi yapılan 61 hastanın *emm* tiplerine göre başvuru yakınmaları ve fizik muayene bulguları tablo 4.13’de, en sık belirlenen *emm* tiplerine göre hastaların başvuru yakınmaları ve fizik muayene bulguları grafiği tablo 4.14’de verilmiştir.

GABHS izole edilen hastalara eşlik eden hastalıkların *emm* tiplerine göre dağılımı tablo 4.15’de verilmiştir. Tanımlanan *emm* tipleri ile eşlik eden hastalıklar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.13 S. pyogenes Suşlarının İzole Edildiği Hastaların Başvuru Yakınmaları, Fizik Muayene Bulguları ve emm Tipleri (n:61)**

|               | <b>Hasta<br/>n (%)</b> | <b>Ateş<br/>n (%)</b> | <b>Boğaz Ağrısı ve/veya<br/>Yutkunma Güçlüğü<br/>n (%)</b> | <b>Tonsilde<br/>Eksudasyon<br/>n (%)</b> | <b>Servikal<br/>LAP<br/>n (%)</b> | <b>İştahsızlık<br/>n (%)</b> | <b>Baş<br/>Ağrısı<br/>n (%)</b> | <b>Öksürük<br/>n (%)</b> |
|---------------|------------------------|-----------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| <b>emm1</b>   | 14 (22,9)              | 14 (22,9)             | 13 (21,3)                                                  | 12 (19,67)                               | 9 (14,7)                          | 4 (6,6)                      | 1 (1,63)                        | 7 (11,45)                |
| <b>emm2</b>   | 4 (6,6)                | 4 (6,6)               | 4 (6,6)                                                    | 4 (6,6)                                  | 2 (3,27)                          | 1 (1,63)                     | 0 (0)                           | 1 (1,63)                 |
| <b>emm3</b>   | 7 (11,45)              | 5 (8,77)              | 6 (10)                                                     | 3 (4,91)                                 | 3 (4,91)                          | 2 (3,27)                     | 1 (1,63)                        | 4 (6,6)                  |
| <b>emm4</b>   | 6 (10)                 | 5 (8,77)              | 5 (8,23)                                                   | 6 (10)                                   | 4 (6,6)                           | 3 (4,91)                     | 0 (0)                           | 1 (1,63)                 |
| <b>emm5</b>   | 5 (8,19)               | 5 (8,77)              | 2 (3,27)                                                   | 4 (6,6)                                  | 2 (3,27)                          | 0 (0)                        | 2 (3,27)                        | 1 (1,63)                 |
| <b>emm12</b>  | 3 (4,91)               | 3 (4,91)              | 3 (4,91)                                                   | 2 (3,27)                                 | 2 (3,27)                          | 0 (0)                        | 1 (1,63)                        | 1 (1,63)                 |
| <b>emm14</b>  | 1 (1,63)               | 1 (1,63)              | 1 (1,63)                                                   | 1 (1,63)                                 | 1 (1,63)                          | 0 (0)                        | 1 (1,63)                        | 0 (0)                    |
| <b>emm19</b>  | 2 (3,27)               | 2 (3,27)              | 1 (1,63)                                                   | 2 (3,27)                                 | 2 (3,27)                          | 1 (1,63)                     | 0 (0)                           | 1 (1,63)                 |
| <b>emm22</b>  | 2 (3,27)               | 2 (3,27)              | 2 (3,27)                                                   | 2 (3,27)                                 | 0 (0)                             | 1 (1,63)                     | 0 (0)                           | 1 (1,63)                 |
| <b>emm26</b>  | 1 (1,63)               | 1 (1,63)              | 2 (3,27)                                                   | 1 (1,63)                                 | 1 (1,63)                          | 1 (1,63)                     | 0 (0)                           | 0 (0)                    |
| <b>emm28</b>  | 3 (4,91)               | 3 (4,91)              | 2 (3,27)                                                   | 3 (4,91)                                 | 0 (0)                             | 2 (3,27)                     | 1 (1,63)                        | 1 (1,63)                 |
| <b>emm44</b>  | 3 (4,91)               | 3 (4,91)              | 1 (1,63)                                                   | 1 (1,63)                                 | 0 (0)                             | 1 (1,63)                     | 0 (0)                           | 1 (1,63)                 |
| <b>emm63</b>  | 1 (1,63)               | 1 (1,63)              | 0 (0)                                                      | 0 (0)                                    | 0 (0)                             | 0 (0)                        | 0 (0)                           | 0 (0)                    |
| <b>emm76</b>  | 1 (1,63)               | 1 (1,63)              | 0 (0)                                                      | 0 (0)                                    | 0 (0)                             | 0 (0)                        | 0 (0)                           | 0 (0)                    |
| <b>emm77</b>  | 2 (3,27)               | 2 (3,27)              | 2 (3,27)                                                   | 1 (1,63)                                 | 2 (3,27)                          | 0 (0)                        | 0 (0)                           | 1 (1,63)                 |
| <b>emm87</b>  | 1 (1,63)               | 0 (0)                 | 1 (1,63)                                                   | 0 (0)                                    | 1 (1,63)                          | 0 (0)                        | 1 (1,63)                        | 0 (0)                    |
| <b>emm89</b>  | 3 (4,91)               | 3 (3,27)              | 1 (1,63)                                                   | 3 (4,91)                                 | 2 (3,27)                          | 1 (1,63)                     | 1 (1,63)                        | 1 (1,63)                 |
| <b>emm98</b>  | 1 (1,63)               | 1 (1,63)              | 2 (3,27)                                                   | 0 (0)                                    | 0 (0)                             | 0 (0)                        | 0 (0)                           | 1 (1,63)                 |
| <b>emm118</b> | 1 (1,63)               | 1 (1,63)              | 0 (0)                                                      | 1 (1,63)                                 | 1 (1,63)                          | 0 (0)                        | 0 (0)                           | 1 (1,63)                 |
| <b>Toplam</b> | <b>61 (100)</b>        | <b>57 (93,4)</b>      | <b>48 (78,7)</b>                                           | <b>46 (75,4)</b>                         | <b>32 (52,5)</b>                  | <b>17 (27,9)</b>             | <b>9 (14,8)</b>                 | <b>23 (37,7)</b>         |

**Tablo 4.14 En Yüksek Oranda Belirlenen *emm* Tiplerine Göre Hastaların Başvuru Yakınmaları ve Fizik Muayene Bulguları**



**Tablo 4.15 GABHS Enfeksiyonlarına Eşlik Eden Klinik Tabloların *emm* Tiplerine Göre Dağılımı**

| GABHS Enfeksiyonlarına Eşlik Eden Klinik Tablolar | <i>emm</i> Tipi     |
|---------------------------------------------------|---------------------|
| Sinuzit                                           | <i>emm5, emm87</i>  |
| Akut Otitis Media                                 | <i>emm28, emm77</i> |
| Seröz Otitis Media                                | <i>emm14</i>        |
| Henoch-Schönlein Purpurası                        | Belirlenemedi       |

Boğaz sürüntü örneklerinde *S. pyogenes* üremesi saptanan hastalara uygun antibiyotik (penisilin – benzatin penisilin ve penilislin V - amoksisilin klavulanik asit, ikinci kuşak sefalosporin -sefuroksim aksetil ve sefaklor -, makrolid) tedavisi verildikten sonra kontrol boğaz sürüntü örneği kültürleri ile değerlendirildi.

*emm* gen tiplendirmesi yapılan 61 hastadan 49'u (%80) boğaz sürüntü örneği kontrol kültürü ile değerlendirildi. Boğaz sürüntü örneği kontrol kültüründe 7 (%11.8) hastada üreme saptandı. Boğaz sürüntü örneği kontrol kültüründe *S. pyogenes* üremesi saptanan *emm* tipleri *emm1*, *emm3*, *emm4*, *emm5*, *emm44* ve *emm63*'dür (Tablo 4.16).

**Tablo 4.16 Boğaz Sürüntü Örneği Kontrol Kültüründe *S. pyogenes* Üremesi Olan Hastaların *emm* Tiplerine Göre Dağılımı (n:7/36)**

| <i>emm</i> Tipi | Kontrol Kültürde Üreme Saptanan Hasta Sayısı /<br>Toplam Hasta Sayısı (n) |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------|
| <i>emm 1</i>    | 2/14                                                                      |
| <i>emm 3</i>    | 1/7                                                                       |
| <i>emm 4</i>    | 1/6                                                                       |
| <i>emm 5</i>    | 1/5                                                                       |
| <i>emm 44</i>   | 1/3                                                                       |
| <i>emm 63</i>   | 1/1                                                                       |
| <b>Toplam</b>   | 7/36                                                                      |

Çalışma sırasında izole edilen *S. pyogenes* suşlarının 19 farklı *emm* tipinde olduğu saptanmıştır. Belirlen 19 farklı *emm* tipinden *emm1*, 2, 3, 5, 12, 14, 19, 22, 28, 76, 77 ve 89 'un, *S. pyogenes* suşlarına karşı geliştirilen, faz 3 çalışmaları devam eden 26 değerlikli aşının içerdiği *emm* gen ürünü proteinler arasında olduğu belirlendi. Çalışma sırasında belirlenen toplam 19 farklı *emm* tipinden, 26 değerlikli aşı tarafından içerilen 12 *emm* tipi, tiplendirme yapılan 61 hastanın 47'sinden izole edildi. İncelenen örneklerin %77'si araştırmaları yapılmakta olan 26 değerlikli aşı tarafından kapsanmaktadır.



## 5. TARTIŞMA

Çocukluk çağında sıklıkla farenjit etkeni mikroorganizma viruslar (Adeno virus, Rino virus, Korona virus, Parainfluenza, İnfluenza ve Ebstein-Barr virus) olmakla birlikte, %15 olguda etken GABHS'tur (105). İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Pediatri poliklinikleri'ne akut tonsillofarenjit bulguları ile başvuran çocuklarda yaptığımız çalışmamızda da boğaz sürüntü örneği ile değerlendirilen 3321 hastanın %10'unda GABHS üremesi saptandı. Çalışmamızın çocuk yaş grubunda yapılması, hastaların özellikle de 2-17 yaş grubundan seçilmiş olması, değerlendirilen boğaz sürüntü örneklerinde %10 GABHS üremesi gösterilmesine neden oldu Çalışmanın GABHS üremesinin mevsimsel dağılımı ile uyumlu olarak, kış mevsimlerinde yürütülmesi boğaz sürüntü örneği kültürlerinde GABHS üretme oranımızı olumlu yönde etkiledi.

Çalışmaya alınan hasta popülasyonunun sadece İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Pediatri poliklinikleri'ne akut tonsillofarenjit bulguları ile başvuran çocuklar arasından seçilmesi, çalışmamızın kısıtlı bir bölgede yürütülmesine ve değerlendirilen hasta sayısını azaltarak boğaz sürüntü örneği kültürlerinde GABHS üreme sayısını azalttı.

Boğaz sürüntü örneklerinin farklı kişiler tarafından alınması, örnek alma yönteminin standardizasyonunda yapılmış olabilecek bireysel hatalar veya örneklerin laboratuvar çalışması sırasında yaşanabilecek olumsuzluklar nedeniyle, çalışmamızda elde ettiğimiz GABHS sıklığı literatürde belirtilen %15 oranının altında kaldı.

Tanz ve arkadaşları Kasım 2004 - Mayıs 2005 tarihleri arasında akut farenjit tablosu ile başvuran 3-18 yaş arası 1848 hastada yürüttüğü 6 merkezli çalışmada hızlı streptokok antijen testinin sensitivitesi %70, spesifisitesi %98 olarak bildirilmiştir (106). Bizim çalışmamızda belirlenen hızlı streptokok antijen testi sensitivitesi literatürde bildirilenden yüksek, spesifitesi literatür ile uyumlu bulundu. Tez çalışması kapsamında boğaz sürüntü örneklerinin titizlikle alınması ve hızlı streptokok antijen testinin laboratuvarda daha dikkatli çalışılması, çalışmamızda hızlı streptokok testi sensitivitesinin daha yüksek bulunmasına neden oldu.

Uygun tedavi sonrasında alınan kontrol boğaz kültürlerinde GABHS üremesinin devam etmesi beklenen bir durum değildir. Bu durum taşıyıcılığa bağlı olabilir. Çalışmamıza alınan

hastaların %13'ünde ikinci kültürde de GABHS üremesi saptanmıştır. Kontrol boğaz sürüntü örneği kültürlerinde saptanan üremeler yetersiz antibiyoterapi ile açıklanabileceği gibi, bu hastalarda GABHS taşıyıcılığı ile de açıklanabilir. Çalışmamızın amacı *S. pyogenes* suşlarının *emm* gen tiplendirilmesinin yapılmasıdır. Bu nedenle boğaz sürüntü örneği kültüründe GABHS üremesi saptanan olguların taşıyıcı olması hipotezimiz açısından bir sorun oluşturmamaktadır.

M proteini, GABHS'ların hücre yüzeyinde yer alan, en önemli virülans faktörüdür. Streptokok enfeksiyonlarının gelişmesinde ve konak organizmanın geçirilen streptokok enfeksiyonuna karşı bağışıklık geliştirmesinde esas rol oynamakta ve GABHS suşlarının serotiplendirmesinde de kullanılmaktadır. *S.pyogenes*'in, M proteini esas alınarak 80'den fazla serotipi tanımlanmıştır (2,3,21,22,23). Moleküler tekniklerdeki ilerlemeler, M proteini serotiplerinin anti-serumlarının ticari olarak elde edilmesindeki zorluklar, anti-serumların maliyetinin yüksek olması araştırmacıları M proteininin serolojik tiplendirmesi yerine M proteinini kodlayan *emm* geninin nükleotid dizi analizini yapmaya yönlendirmiştir. *S. pyogenes* suşlarının *emm* tiplendirilmesinin yapılması, GABHS'larla ilgili yürütülen epidemiyolojik çalışmaların doğruluğunu ve etkinliğini arttırmıştır. *emm* gen dizi analizi ile moleküler düzeydeki küçük farklılıklar belirlenebilmekte ve sayede serolojik yöntemlerle aynı mikroorganizma olarak tanımlanan suşlar, farklı alt gruplar halinde tanımlanabilmektedir. *emm* dizi analizi yöntemi ile tanımlanan suşlar dünya çapında bir veritabanında, CDC, toplanmakta ve tüm araştırmacılara yeni suşların tanımlanması için yol gösterici olmaktadır (24,99). Günümüzde CDC veritabanında 160'ın üzerinde farklı *emm* genotipi tanımlanmıştır (21).

Bilinen serotiplerle, PCR tekniği ile elde edilen *emm* gen sekansları arasında iyi derecede korelasyon sağlanmaktadır (3).

PCR tekniği ile dizi analizi, suşlar arasında gelişen rekombinasyonlar nedeniyle, yeni *emm* genlerinin yada hibrid M protein moleküllerinin tanımlanması açısından hibridizasyon tekniği'ne üstün durumdadır (107).

Son yıllarda, *emm* spesifik oligonükleotid problemlerin kullanıldığı hızlı hibridizasyon tekniklerinin de M protein serotiplerinin tanımlanmasında kullanılabileceği araştırmalarda bildirilmektedir (108).

Beall ve arkadaşları çalışmalarında 95 bilinen M serotipinin ve 77 klinik örnekten 74'ünün, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizi yöntemi ile *emm* gen tiplerini belirlemiştir. Beall B. ve arkadaşları çalışmalarında *emm* allelinin çoğaltılması ve tanımlanması için nükleotid primer çiftlerini kullanmışlardır. Referans suşların 95 tanesinden, 81'i GenBank veritabanında yer alan sekanslarla ileri derecede benzerlik göstermiştir. Geri kalan 5 tanesi ise yeni gen sekansları olarak GenBank veritabanına eklenmiştir. PCR analizi ile elde edilen sekansları GenBank veritabanı ile eşleştirilemeyen 6 suş için ileri incelemeler yapılması planlanmıştır (21).

Brandt ve arkadaşları Almanya'nın Aachen bölgesinde yürüttükleri çalışmada, boğaz enfeksiyonları sırasında izole edilen 210 *S. pyogenes* suşunun tamamının *emm* gen dizi analizi ile *emm* tiplendirmesini yapmışlar ve Aachen bölgesinde en sık görülen *emm* tiplerini *emm* 1 (%18,5), *emm* 12 (%15,7), *emm* 3 (%14,4) ve *emm* 28 (%13,9) olarak bildirmişlerdir (109).

Meksika'da Espinosa ve arkadaşları yürüttükleri çalışmada, farenjit kliniği ile başvuran 282 çocuk hastada izole ettikleri *S. pyogenes* suşlarının *emm* gen dizi analizini yapmış ve 27 *emm* tipi belirlemişlerdir. Belirledikleri *emm* tiplerini *emm* 1 (%17,4), *emm* 12 (%17,4), *emm* 3 (%7,8), *emm* 75 (%7,8), *emm* 4 (%6,4), *emm* 6 (%6,2), *emm* 2 (%6), *emm* 77 (%6), *emm* 22 (%5,7), *emm* 18 (%3,3), *emm* 9 (%3,2), *emm* 89 (%2,1), *emm* 5 (%2,8), *emm* 28 (%1,8), *emm* 66 (%1,4), *emm* 92 (%1,4), *emm* 41 (%0,7), *emm* 78, 48, 49, 76, 82, 33, 58, 87, 102 (%0,4) olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada belirlenen 27 *emm* tipinden 15'inin Amerika Birleşik Devletleri'nde geliştirilmekte olan 26 değerlikli aşı tarafından kapsandığı gösterilmiştir (91).

Shulman ve arkadaşları 2000-2002 yılları arasında kuzey Amerika eyaletlerinde ve Kanadada yürüttükleri araştırmada farenjit kliniği ile başvuran 3-18 yaş grubu çocuk hastalardan izole edilen GABHS suşlarının *emm* tiplendirilmesini yaptılar. Birinci yıl *emm* 12 (%20,6), *emm* 1 (%15,5), *emm* 28 (%13,1), *emm* 4 (%8,3), *emm* 3 (%7,7); ikinci yıl *emm* 1 (%22,3), *emm* 12 (%16,3), *emm* 4 (%8,4), *emm* 28 (%8,1), *emm* 3 (%7,9) oranında izole ettiklerini bildirmişlerdir. Ardışık iki yıl süresince izole edilen suşların aynı *emm* tiplerine sahip olduklarını ancak izole edilme sıklıklarının değiştiğini göstermişlerdir (110).

Ülkemizde bu konuda daha önce yürütülen ve ülkemizde bu konuda yapılan ilk çalışma özelliğini taşıyan Akça ve arkadaşlarının çalışmasında ise Ankara bölgesinde belirlenen *emm* tipleri, *emm* 12 (%16,5), *emm* 3 (%15,4), *emm* 1 (%12,1), *emm* 75, 29 (%5,5) ve *emm* 6 (%4,3) olarak bildirilmiştir (94).

İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Kliniği'ne akut tonsillofarenjit bulguları ile başvuran çocuk yaş grubu hastalarda yaptığımız çalışmamızda ise en yüksek oranda *emm* 1 (%22,9), *emm* 3 (%11,4), *emm* 4 (%9,8), *emm* 5 (%8,1) ve *emm* 2 (%6,5) tipleri belirlendi. Çalışmamızda izole edilen *emm* tiplerinin Brandt, Espinosa, Shulman, Akça ve arkadaşlarının çalışmalarında belirlenen *emm* tipleri ile uyumlu görülmektedir. Farklı bölgelerde yürütülmüş olmasına rağmen Brandt, Espinosa, Shulman ve arkadaşlarının ikinci yıl sonuçlarında en yüksek oranda (sırasıyla %18,5, %17,4 ve %22,3); Akça, Shulman ve arkadaşlarının birinci yıl sonuçlarında ise yüksek oranda (sırasıyla %12,1 ve %15,5) izole edilen *emm* 1 tipi bizim çalışmamızda da %22,9 ile en yüksek oranda izole edilen *emm* tipi olmuştur. Mevcut verilere bakarak ülkemizde izole edilen *S. pyogenes* suşlarının *emm* tipinin genotipik olarak Avrupa ve Kuzey Amerika suşlarının *emm* tipleri ile benzerlik gösterdiği yorumu yapılabilir.

Çalışmamızda izole edilen *S. pyogenes* suşlarının dizi analizi yapıldıktan sonra varolan bilgisayar programları yardımıyla CDC'nin GenBank veri tabanında bildirilmiş olan referans tiplerin dizi analizleri ile benzerlikleri esasına dayanılarak tiplendirmeler yapılmıştır. Bu şekilde İstanbul örnekleminde ülkemizde görülen *emm* tipleri hakkında bilgi sahibi olundu. Çalışmamız sırasında veri tabanında yer almayan bir *emm* tipine ait dizi analizi elde edilmedi.

Avusturalya'nın tropikal kuzey kesiminde yaşayan yerli halktan izole ettikleri *S. pyogenes* suşlarını Hartas ve arkadaşları tiplendirmiş ve endemik olarak *S. pyogenes* enfeksiyonu sonrasında görülen ciddi akut glomerulonefrit vakalarından izole ettikleri *emm* 1 ve *emm* 12 tiplerini nefritojenik suşlar olarak tanımlamışlardır. Yine bu çalışmada *emm* 5 ve *emm* 55 sık rastlanan diğer *emm* tipleri olarak bildirilmiştir (95). İnvazif ve toksik streptokokkal enfeksiyonlar ile ilgili yapılan klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda, en sık *emm* 1 ve 3 olmak üzere, *emm* 11, 12 ve 28 serotipleri sıklıkla etken mikroorganizma olarak bildirilmektedir. Çalışmamızda invazif Streptokokkal enfeksiyonlardan sorumlu olduğu bildirilen *emm* 1, *emm* 3, *emm* 12 ve *emm* 28 tipleri izole edilmekle birlikte, akut enfeksiyon sırasında ya da çalışmaya katılan hastaların 3 aylık izlemi süresince süpüratif ve post-infeksiyöz süpüratif olmayan komplikasyonlar görülmedi.

Kaur ve arkadaşları akut romatizmal ateş indansının tüm dünyada 0,55-11/1 000 arasında değiştiğini bildirmişlerdir (111). Ganguly ve arkadaşlarının 1998'de Kuzen Hindistanda yürüttükleri çalışmada 5-15 yaş grubu okul çocuklarında romatizmal kalp hastalığı oranı 210/100 000 olarak bildirilmiştir (111).

1987 yılında Majeed ve arkadaşlarının Kuveyt'te yürüttükleri çalışmada akut romatizmal ateş ve post-streptokoksik akut glomerülonefrit yıllık insidansı çocuk yaş grubunda 19,6 ve 17,8/ 100 000, tüm yaş gruplarında ise 7,3 ve 6,7 /100 000 (sırasıyla) olarak bildirilmiştir (112).

Murphy ve Pichichero 2002 yılında, yürüttükleri 3 yıllık prospektif çalışma süresince takip ettikleri 4000 GABHS faranjit olgusundan 12'sinin PANDAS bulgularını gösterdiğini yayınlamışlardır (113).

2006 yılında Abalı ve arkadaşlarının Türkiye'de yürüttükleri çalışmada GABHS faranjiti tanılı 31 hasta ile 28 olgudan oluşan kontrol grubunu PANDAS açısından karşılaştırmış ve her iki gruba da uyguladıkları The Children's Yale-Brown Obsessive-Compulsive Scale sonucunda GABHS faranjiti olan olguların skorlarının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (63).

Çalışmamızda boğaz sürüntü örneği kültüründe GABHS üremesi saptanarak üç aylık süre ile takip edilen hastalarda otoimmün mekanizmalarla gelişen süpüratif olmayan komplikasyonların görülmemesi, komplikasyonların görülme sıklığı göz önüne alındığında, çalışmaya alınan hasta popülasyonunun küçük olması ile açıklanabilir. Çalışmamıza alınan 335 hasta özel bir psikiyatrik değerlendirmeye alınmamış, ancak aileleri davranış değişiklikleri ve boğaz enfeksiyonu sırasında edinilen yeni alışkanlıklar, uyku bozuklukları açısından sorgulanmıştır. Hastaların PANDAS tanısına yönelik olarak özel psikiyatrik testlerle değerlendirilmemiş olması, çalışmaya alınan hasta popülasyonunun küçük, izlem süresinin kısa olması ile PANDAS olguların tanınmama olasılığını arttırmaktadır.

Boğaz sürüntü örneği alma işlemi sırasında gelişebilecek bireysel hatalar ya da örneklerin laboratuarda çalışılması sırasında yapılabilecek hatalardan kaynaklanan yanlış negatif kültür sonuçları elde edilmesi söz konusudur. Çalışmamız süresince yalnızca boğaz sürüntü örneği kültüründe GABHS üremesi saptanan hastaların takip edilmesi, yanlış negatif kültür sonuçlarına sahip olan hastaların takip edilmemesine neden olmuştur. Takip edilmeyen hastalarda akut romatizmal ateş, post-streptokoksik akut glomerülonefrit ve PANDAS açısından şüpheli semptom ve/veya bulguların gelişip gelişmediğine dair bilğimiz maalesef bulunmamaktadır.

*S. pyogenes* neden olduğu tonsillofarenjit enfeksiyonundan ziyade, uygun antibiyotik tedavisi almayan vakalarda post-infeksiyöz dönemde otoimmün mekanizmalarla gelişen akut romatizmal ateş, akut post-streptokokkal glomerülofrit ve PANDAS gibi süpüratif olmayan komplikasyonlar nedeniyle halk sağlığı açısından önem taşımaktadır. Süpüratif olmayan komplikasyonlar günümüzde sadece ülkemiz ya da gelişmekte olan ülkeler için değil, gelişmiş ülkelerde de ciddi bir sorun olarak önemini korumaktadır (11,12,49,52,54,55,56,61). Bu nedenle *S. pyogenes* enfeksiyonlarından korunmak amacıyla aşı çalışmaları yürütülmektedir (114).

Amerika Birleşik Devletleri'nde geliştirilen M proteinine dayalı 26 değerlikli aşının tavşanlarda konak organizma ile reaksiyona girmeyen ve yeterli titrelerle ulaşan antikor cevabı oluşturduğu gösterilmiştir (83). McNeil ve arkadaşlarının 2005 yılında sağlıklı gönüllü erişkinler üzerinde yürüttükleri çalışmada, 26 değerlikli aşının uygulandığı bireylerde antikor titresinde 4 kat yükselme saptanmış, gönüllü bireylerin hiç birinde akut romatizmal ateş ya da akut glomerülofrit ve benzeri klinik tablolar gelişmediği bildirilmiştir (115). Yirmialtı değerlikli bu aşı *emm* 24, 5, 6, 19, 29, 14, 1, 12, 28, 3, 1.2, 18, 2, 43, 13, 22, 11, 59, 33, 89, 101, 77, 114, 75, 76 ve 92 tiplerine ait proteinler içermektedir. Çalışmamızda belirlenen 19 *emm* tipinden 12'si (*emm* 1, 2, 3, 5, 12, 14, 19, 22, 28, 76, 77 ve 89) geliştirilen aşı tarafından içermektedir. Dizi analizi ile *emm* tipleri belirlen *S. pyogenes* suşlarının izole edildiği hastaların %77'si geliştirilen aşının hedef popülasyonu içinde yer almaktadır. Hedef kitlesi olan çocuk yaş grubunda, daha fazla klinik çalışma gerekliliği taşıyan mevcut 26 değerlikli aşının, Akça ve arkadaşlarının ve çalışmamızın sonuçları göz önüne alındığında, klinik kullanımına izin verilmesi durumunda ülkemiz için etkin olabileceği görülmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Bu çalışmada Aralık 2007 – Ocak 2009 tarihleri arasında, İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AnaBilim Dalı Genel Pediatri poliklinikleri'nde yürütüldü. Akut tonsillofarenjit bulguları ile başvuran çocuk hastaların boğaz sürüntü örneklerinden izole edilen 335 *S. pyogenes* suşu arasından, mevsim ve örnek saklanma tarihi esas alınarak 112 örnek emm gen dizi analizi ile emm tiplendirilmesi yapılmak üzere çalışıldı.
- Dizi analizi için çalışılan 112 suştan 61 tanesinin *emm* tipi belirlendi. Belirlenen *emm* tipleri sıklık sırasına göre *emm* 1, *emm* 3, *emm* 4, *emm* 5, *emm* 2, *emm* 12, *emm* 28, *emm* 44, *emm* 89, *emm* 19, *emm* 22, *emm* 77, *emm* 14, *emm* 26, *emm* 63, *emm* 76, *emm* 87, *emm* 98 ve *emm* 118'dir. En yüksek oranda *emm* 1 ve *emm* 3 izole edildi.
- İnvazif enfeksiyonlara ve streptokok enfeksiyonlarından sonra gelişen süpüratif ve süpüratif olmayan komplikasyonlarla ilişkili olduğu bildirilen *emm* 1, *emm* 3 ve *emm* 12 tipleri bu çalışmada da izole edildi (sırasıyla %22,9, %11,4 ve %4,9).
- Bu çalışmada izole edilen 19 *emm* tipinden 12 tanesi, Amerika Birleşik Devletleri'nde geliştirilmekte olan 26 değerlikli aşı içeriğinde yer almaktadır. 26 değerlikli aşı tarafından içerilen *emm* tipleri *emm* 1, *emm* 2, *emm* 3, *emm* 5, *emm* 12, *emm* 14, *emm* 19, *emm* 22, *emm* 28, *emm* 76, *emm* 77, *emm* 89'dur.
- Bu çalışmada boğaz sürüntü örneği kültürlerinde GABHS izole edilen 335 hastanın 265'i uygun antibiyotik tedavisi sonrasında boğaz sürüntü örneği kontrol kültürü ile değerlendirildi ve 35 tanesinde tekrar GABHS üremesi saptandı. GABHS üremesi saptanan hastaların *emm* tiplerine göre dağılımı *emm* 1 (2 hasta), *emm* 3 (1 hasta), *emm* 4 (1 hasta), *emm* 5 (1 hasta), *emm* 44 (1 hasta), *emm* 65 (1 hasta) şeklindedir.

- Bu çalışmada boğaz sürüntü örneği kültürlerinde GABHS izole edilen 335 hastanın hiçbirinde 3 aylık izlem süresince süpüratif ya da süpüratif olmayan post-streptokoksik komplikasyon görülmedi.
- Amerika Birleşik Devletleri'nde geliştirilmekte olan ve günümüz için elimizdeki verilerle Türkiye'de de etkin olacağı öngörülen 26 değerlikli aşının ülkemizdeki etkinliği hakkında daha çok fikir sahibi olabilmek için daha büyük grupların *emm* gen tiplendirilmesi yapılmalıdır.
- Çok merkezli ve büyük grupların katıldığı çalışmalarla ülkemizde izole edilen ve CDC veri tabanında bulunmayan yeni *emm* tipleri açısından *S. pyogenes* suşları incelenmelidir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Cengiz T. Streptococcus. Ustaçelebi Ş. (ed.) *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 349-363
2. Bilgehan H. Streptococcus. Bilgehan H. (ed): *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. 5.baskı, Bornova, İzmir: Barış Yayınları, 1992: 249-283
3. Cunningham MW. Pathogenesis of group A streptococcal infections. *Clin Microbiol Rev* 2000; 15:470-511
4. Todar's Online Text Book of Bacteriology,  
www.textbookofbacteriology.net/streptococcus, (erişim tarihi 19.02.2009)
5. Ryan KJ. Streptococcus and Enterococci. In: Ryan KJ, Ray CG, (eds): *Sherrig Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases*, 4<sup>th</sup> edition, New York: McGray-Hill, 2003: 273-286
6. Levinson W, Jawetz E. Chapter 15 Gram-pozitive cocci. In: Levinson W, Jawetz E, (eds). *Examination and Board Review Medical Microbiology and Immunology*, 5<sup>th</sup> edition, Stamford, Connecticut: Appleton & Lange, 1998: 78-85
7. Binatlı Akçakaya N. Çocukluk çağında tekrarlayan streptokok enfeksiyonları. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Solunum Yolu Enfeksiyonları Sempozyumu*, İstanbul: özet kitabı, 2000: 37-42
8. Gladvin M, Trattler B. *Clinical Microbiology*. Türkçe çeviri: Mehmet Türker, And Yayıncılık, 2000: 23-32
9. Gerber MA. Chapter 182 Group A streptococcus. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF (eds), *Nelson Text Book of Pediatrics*, 18<sup>th</sup> edition, Philadelphia, PA: Saunders, Elviesier Inc., 2007: 1135-1145
10. Prescott LM, Harley JP, Klein DA. *Microbiology*, 4<sup>th</sup> edition, New York: McGray-Hill, 1999: 770-773
11. Ayoub EM. Resurgence of rheumatic fever in the United States. *Postgrad Med* 1992; 92:133-142
12. Veasy LG, Wiedmeier SE, Orsmond GS. Resurgence of acute rheumatic fever in the intermountain area of the United States. *New Eng J Med* 1987; 316:421-427

13. Kaplan EL. The resurgence of group A streptococcal infections and their sequele. *Eur J Clin Microbiol Infec Dis* 1991; 10:55-57
14. Altındış M, Dereköy S. İşitme engelli çocuklarda boğaz florası ve saptanan grup A beta hemolitik streptokokların bazı antibiyotiklere duyarlılıkları. *Aknem Derg* 2000; 14:131
15. Darenberg J, Luca-Harari B, Jasir A, Sandgren A, Pettersson H, Schalen C, Norgren M, Romanus V, Norrby-Teglund A, Normark BH. Molecular and clinical characteristics of invasive group A streptococcal infection in Sweeden. *Clin Infect Dis* 2007; 45:450-458
16. Rogers S, Commons R, Danchin MH, Selveraj G. Strain prevelance, rather than innate virulance potential, is the major factor responsible for an increase in serios group A streptococcus infections. *J Infect Dis* 2000; 195:1625-1633
17. Creti R, Imperi M, Baldassarri L, Pataracchia M, Recchia S, Alfarone G, Orefici G. *emm* types, virulance factors, and antibiotic resistance of invasive *Streptococcus pyogenes* isolates from Italy: what has changed in 11 years? *J Clin Microbiol* 2007; 45:2249-2256
18. Tanaka D, Gyobu Y, Kodama H, Isobe H, Hosorogi S, Hiramoto Y, Karasawa T, Nakamura S. *emm* typing of group A Streprococcus clinical isolates: identification of dominant types for throat and skin isolates. *Microbiol Immunol* 2002; 46:419-423
19. Neal S, Beall B, Ekelund K, Henriques-N B, Jasir A, Johnson D, Kaplan E, Lovgren M, Reinert RR, Members of the strep-EURO study group and international *Streptococcus* reference laboratories, Efstratiou A. International quality assurance study for characterization of *Streptococcus pyogenes*. *J Clin Microbiol* 2007; 45:1175-1179
20. Bisno AL. Classification of streptococci. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE, (eds). *Principles and Practise of Infectious Disease*, 3<sup>rd</sup> edition, New York, Edinburg, London, Melbourne: Churchill Livingstone. Inc., 1990: 1559-1173
21. Beall B, Facklam R, Thompson T. Sequencing *emm*-specific PCR products for routine and accurate typing of group A streptococci. *J Clin Microbiol* 1996; 34:953-958
22. Hakenbeck R, Chhatwal S. Virulance factors and their regulation in group A streptococcus. In: Hakenbeck R, Chhatwal S, (eds). *Molecular Biology of Streptococci*, Portland: Horizon Biosciences, 2007: 307-325
23. Fischetti VA. Streptococcal M protein. *Sci Am* 1991: 264:58-65

24. Maxted WR. Disease association and geographical distribution of the M types of group A streptococcus. In: Parker MT, (eds). *Streptococcal Diseases and The Immune Response*, New York:Academic Pres Inc., 1980: 763-777
25. 35 M-protein gene (emm gene) typing  
[http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/M-ProteinGene\\_typing.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/M-ProteinGene_typing.htm), (erişim tarihi 06.03.2009)
26. Söyletir G, Över U. Beta hemolitik streptokoklar. Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, (ed). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, ikinci baskı, Ankara: Nobel Kitabevi, 2002: 1478-1487
27. Mutlu G, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö. Bakteriyoloji. Ustaçelebi Ş, (ed). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 349
28. Streptokoklar, [www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/943101210.pdf](http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/943101210.pdf), (erişim tarihi 20.01.2009)
29. Teixeira LM, Barros RR, Castro ACD, Peralta JM, Carvalho MGS, Talkington DF, Vivoni AM, Facklam RR, Beall B. Genetic and phenotypic features of *Streptococcus pyogenes* strains isolated in Brazil that harbor new emm Sequences. *J Clin Microbiol* 2001; 39:3290-3295
30. Wannamaker LW. The chains that link the throat to the heart. *Circ* 1973; 48:9-18
31. Demers B, Simor AE, Vellend H, Schlievert PM, Byrne S, Jamieson F, Walmsley S, Low DE. Severe invasive group A streptococcal infections in Ontario, Canada: 1987-1991. *Clin Infect Dis* 1993; 16:792-800
32. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. The Streptococci. In: Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, (eds). *Review of Medical Microbiology*, 17<sup>th</sup> edition, Stamford, Connecticut: Appleton & Lange, 1987: 223-232
33. Patterson MJ. Streptococcus. In: Baron S (eds). *Medical Microbiology*, 4<sup>th</sup> edition, The University of Texas Medical Branch of Galveston,  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/bv.fcgi?rid=mmed.chapter.800>, (erişim tarihi 25.02.2009)
34. Bisno AL. *Streptococcus pyogenes*. In: Mandell GL, Bennet RG, Dolin R. *Principles and practise of infectious diseaes*, volume 2, New York: Churchill Livingstone, 1995: 1786-1799

35. Johnson DR, Kaplan EL. A review of the correlation of T-agglutination patterns and M-protein typing and opacity factor production in the identification of group A streptococci. *J Med Microbiol* 1993; 38:311-315
36. Widdowson JP, Maxted W, Grant DY. The production of opacity in serum by group A streptococci and its relationship with the presence of M antigen. *J Gen Microbiol* 1970; 61:343-353
37. Whitnack E, Bisno AL, Beachey EH. Hyaluronate capsule prevents attachment of group A streptococci to mouse peritoneal macrophages. *Infect Immun* 1981; 31:985-991
38. Bisno AL, Brito MO, Collins CM. Molecular basis of group A streptococcal virulence. *The Lancet Infect Dis* 2003; 3:191-200
39. Manjula BN, Khandke KM, Fairwell T, Relf WA, Sriprakash KS. Heptad motifs within the distal subdomain of the coiled-coil rod region of M-protein from rheumatic fever and nephritis associated serotypes of group A streptococci are distinct from each other: nucleotide sequence of M57 gene and relation of the deduced amino acid sequence to other M proteins. *J Protein Chem* 1991; 10:369-384
40. Fischetti VA, Pancholi V, Schneewind O. Conservation of a Hexapeptide Sequence in the Anchor Region of the Surface Proteins of Gram Positive Cocci. *Mol Microbiol* 1990; 1603-1605
41. Eyal O, Jadoun J, Skutelski E, Sela S. Role of M3 protein in the adherence and internalization of an invasive *Streptococcus pyogenes* strain by epithelial cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003; 38:205-213
42. Chen CC, Clearly PP. Complete nucleotide sequence of the streptococcal C5a peptidase gene of *Streptococcus pyogenes*. *J Biol Chem* 1990; 265:3161-3167
43. Dale JB, Chiang EY, Hasty DL, Courtney HS. Antibodies against a synthetic peptide of Sag A neutralize the cytolytic activity of streptolysin A from group A streptococci. *Infect Immun* 2002; 70:2166-2170
44. Bohach GA, Fast DJ, Nelson RD, Schlievert PM. Staphylococcal and streptococcal pyrogenic toxins involved in toxic shock syndrome and related illnesses. *Crit Rev Microbiol* 1990; 17:251-272
45. Weeks CR, Feretti JJ. The gene for type A streptococcal exotoxin (erythrogenic toxin) is located in the bacteriophage T12. *Infect Immun* 1984; 46:531-536

46. Kapur V, Topouzis S, Majesky MW, Li LL, Hamrick MR, Hamill RJ, Patti JM, Musser JM. Conserved *Streptococcus pyogenes* extracellular cysteine protease cleaves human fibronectin and degrades vitronectin. *Microb Pathog* 1993; 15:327-346
47. El-Daher NT, Hijazi SS. Immediate vs, delayed treatment of group A beta hemolytic streptococcal pharyngitis with penicillin-V. *J Pediatr Infect Dis* 1991; 10:126-130
48. Kaplan EL, Krugman S. Streptococcal infections, group A. In: Krugman S, Katz SL, Gershon AA, et al. (eds). *Infectious Diseases of Children*, 9<sup>th</sup> edition, St. Louis, Baltimore, Boston, Chicago, London, Philadelphia, Sydney, Toronto: Mosby Company, 1992: 474-486
49. Kaplan EL. Return of rheumatic fever: Consequences, implications and needs. *J Pediatr* 1987; 111:244-246
50. Stollerman GH. Rheumatic fever and streptococcal infection. In: Stollerman GH, (eds). *Clinical Cardiology Monographs*, New York: Grune and Stratton, 1975: 1-303
51. Stollerman GH. Rheumatic fever. *Lancet*. 1997; 349:935-942
52. Dajani AS. Current status of non-suppurative complications of group A streptococci. *J. Pediatr Infect Dis* 1991; 10:525-527
53. Quie PG. Development of effective programs for control of epidemic streptococcal infections. *J Pediatr Infect Dis* 1991; 10:7-10
54. Davis ID, Anver ED. Chapter 511 Glomerulonephritis associated with infections, acute post-streptococcal glomerulonephritis. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF, (eds). *Nelson TextBook of Pediatrics*, 18<sup>th</sup> edition, Philadelphia, PA: Saunders, Elsevier Inc, 2007; 2173-2175
55. Bisno AL. Non-suppurative posts-treptococcal sequelae: Rheumatic fever and glomerulonephritis. In: Mandell GL, Dolin R, Bennet JE, (eds). *Principles and Practise of Infectious Disease*, volume 2, New York: Churchill Livingstone. Inc, 1995: 1799-1810

56. Gerber AM, Baltimore RS, Eaton BC, Gewitz M, Rowley AH, Shulman ST, Taubert KA. Prevention of rheumatic fever and diagnosis and treatment of acute streptococcal pharyngitis: A scientific statement from the American Heart Association rheumatic fever, endocarditis, and Kawasaki disease committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young, the Interdisciplinary Council on Functional Genomics and Translational Biology, and the Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes Research: Endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circ* 2009; 119:1541-1551
57. Cone LD, Woodard DR, Schlievert PM, Tomory GS. Clinical and bacteriological observations of a toxic shock like syndrome due to *Streptococcus pyogenes*. *New Eng J Med* 1987; 317:146-149
58. Bisno AL, Stenens DL. Streptococcal infections of skin and soft tissues. *New Eng J Med* 1996; 334:240-245
59. Swedo SE, Leonard HL, Garvey M, Mittleman B, Allen AJ, Perlmutter S, Lougee L, Dow S, Zamkoff J, Dubbert BK. Pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections: clinical description of the first 50 cases. *Am J Psych* 1998; 155:264-271
60. Perrin EM, Murphy ML, Casey JR, Pichichero ME et al. Does group A beta hemolytic streptococcal infection increase risk for behavioral and neuropsychiatric symptoms in children? *Arch Pediatr Adol Med* 2004; 848-856
61. Kurlan R, Johnson D, Kaplan EL. The pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections (PANDAS) etiology for tics and obsessive-compulsive symptoms: hypothesis or entity? Practical considerations for the clinician. *Pediatr* 2004; 113:883-886
62. Kurlan R, Johnson D, Kaplan EL. Tourette syndrome study group: streptococcal infection and exacerbations of childhood tics and obsessive-compulsive symptoms: a prospective blinded cohort study. *Pediatr* 2008; 121:1188-1197
63. Abalı O, Nazik H, Gürkan K, Unuvar E, Sıdal M, Ongen B, Oguz F, Tuzun U. Group A beta hemolytic streptococcal infections and obsessive-compulsive symptoms in Turkish pediatric population. *Psych Clin Neurosci* 2006; 60:103-105
64. Crea MA, Mortimer EAJr. The nature of scarlatinal arthritis. *Pediatr* 1959; 23:879-884

65. Ahmed S, Ayoub EM, Scornik JC, Wang CY, She JX. Poststreptococcal reactive arthritis: clinical charecteristics and association with HLA-DR alleles. *Arthr Rheum* 1998; 41:1096-1102
66. Facklam RR. Screening for streptococcal pharyngitis: Current technology. *Infect Med* 1997; 14:891-898
67. Hacımustafaoğlu M. Boğaz kültürü, sorular. *Çocuk İnfek Derg* 2007; 1:45-46
68. Shulman ST. Streptococcal pharyngitis: diagnostic considerations. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13:567-571
69. McIsaac WJ, White D, Tannenbaum D, Low DE. A clinical score to reduce unnecessary antibiotic use in patients with sore throat. *CMAJ* 1998; 158:75-83
70. Ebell MH, Smith MA, Barry HC, Ives K, Carey M. The rational clinical examination: does this patient have strep throat? *JAMA* 2000; 284:2912-2918
71. Bisno AL, Gerber MA, Gwaltney JMJr, Kaplan EL, Schwartz RH. Infectious diseases society of America. Practice guidelines for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis. *Clin Infect Dis* 2002; 35:113-125
72. Ertuğrul T. Akut romatizmal ateş. Neyzi O, Ertuğrul T, (ed). *Pediatrici*, 3. baskı, cilt 2, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2002: 974-978
73. Yıldırım İ, Ceyhan M, Gür D, Kaymakoglu İ. Comparison of the effect of benzathine penicilin G, clarithromycin, cefprozil and amoxicillin/clavulanate on the bacteriological response and throat flora in group A beta hemolytic streptococcal tonsillopharyngitis. *Turk J Pediatr* 2008; 50:120-125
74. Brook I, Hirokawa R. Treatment of patients with a history of reccurent tonsillitis due to group A-beta hemolytic streptococci. *Clin Pediatr* 1985; 24:331-336
75. Pichichero ME, Casey JR. Meta-analysis of cephalosporin versus penicilin treatment of group A streptococcal tonsillopharyngitis in children. *Pediatr* 2004; 113:866-882
76. Milatovic D, Adam D, Hamilton H, Materman E. Cefprozil versus penicilin V in treatment of streptococcal tonsillopharyngitis. *Antimic Agen Chemother* 1993; 37:1620-1623

77. Portier H, Filipecki J, Weber P, Goldfarb G, Lethuaire D, Chauvin JP. Five day clarithromycin modified release versus ten day penicilin V for group A streptococcal pharyngitis: a multi-centre, open-label, randomized study. *J Antimic Chemother* 2002; 49:337-344
78. Ferrieri P, for the Jones Criteria Working Group. Proceeding of the Jones Criteria Workshop. *Circ* 2002; 106:2521-2523
79. Dajani AS, Ayoub E, Bierman FZ et all. Guidelines for the diagnosis of rheumatic fever:Jones criteria, updated 1992. *Circ* 1993; 87:302-307
80. Kiraz N, Kaya D. Farenjitli hastalardan izole edilen A grubu beta hemolitik streptokoklarda penisilin G toleransının araştırılması. *Aknem Derg* 1995; 9:26
81. Brook I. Role of beta lactamase-producing bacteria in the failure of penicilin to eradicate Group A streptococci. *Pediatr Infect Dis* 1985; 4:491-495
82. Snellman LW, Stang HJ, Johnson DR, Kaplan EL Duration of positive throat cultures for group A streptococci after initiation of antibiotic therapy. *Pediatr* 1993; 91:1166-1170
83. Hu MC, Walls MA, Stroop SD, Reddish MA, Beall B, Dale JB. Immunogenicity of a 26-valent group A streptococcal vaccine. *Infect Immun* 2002; 70:2171-2177
84. Philips GN, Flicker PF, Cohen C. et all. Streptococcal M protein: alfa helical coiled-coil structure and arrangements on the cell surface. *Proc Natl Acad Sci* 1981; 78:4698
85. Fischetti VA, Parry DA, Trus BL, Hollingshead SK, Scott JR, Manjula BN. Conformational characteristics of the complete sequence of group A streptococcal M6 protein. *Proteins* 1988; 3:60-69
86. Bessen D, Jones KF, Fischetti VA. Evidence for two distinct classes of streptococcal M protein and their relationship to rheumatic fever. *J Exp Med* 1989; 169:269-283
87. Bessen D, Fischetti VA. Differentiation between two biologically distinct classes of group A streptococci by limited substitutions of amino acids within the shared region of M protein-like molecules. *J Exp Med* 1990; 172:1757-1764
88. Barnet LA, Cunningham MW. A new haert-cross-reactive antigen in *Streptococcus pyogenes* is not M protein. *J Infect Dis* 1990; 162:875-882



89. Beall B, Facklam R, Eliot JA, Franklin AR, Hoenes T, Jackson D, Laclaire L, Thompson T, Viswanathan R. Streptococcal emm types associated with T-agglutination types and the use of conserved emm gene restriction fragment patterns for subtyping group A streptococci. *J Med Microbiol* 1998; 47:893-898
90. Cunningham MW. Streptococci and rheumatic fever. In: Rose NR, Friedman H, (eds). *Microorganisms and Autoimmune Disease*, New York: Plenum Publishing Corp, 1996: 13-66
91. Espinosa LE, Zhongya L, Demostenes GB, Jamies EC, Rodriguez RS, Sakota V, Facklam RR, Beall B. M protein gene type distribution among group A streptococcal clinical isolates recovered in Mexico City, Mexico, from 1991 to 2000, and Durango, Mexico, from 1998 to 1999: overlap with type distribution within the United States *J Clin Microbiol* 2003; 41:373-378
92. Kalia A, Spratt BG, Enright MC, Bessen DE. Influence of recombination and niche separation on the population genetic structure of the pathogen *Streptococcus pyogenes*. *Infect Immun* 2002; 70:1971-83
93. Kehoe MA. Cell wall associated proteins in gram positive bacteria. In: Ghuysen JM, Hakenbeck R, (eds). *Bacterial Cell Wall*, Amsterdam: Elsevier Science, 1994: 217-261
94. Akça G. Boğaz enfeksiyonu nedeni olan A grubu beta hemolitik streptokokların M Protein tiplerinin 'emm' gen sekans analizi ile belirlenmesi, Doktora tezi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi, 2006
95. Hartas J, Sriprakash KS. *Streptococcus pyogenes* strains containing emm12 and emm55 possess a novel gene coding for distantly related SIC protein, *Microbiol Patholog* 1999; 26:25-33
96. Clearly PP, Kaplan EL, Handley JP, Wlazlo A, Kim MH, Huser AR, Schievert PM. Clonal basis for resurgence serious Streptococcal pyogenes disease in the 1980's. *Lancet* 1992; 339:518-521
97. Whatmore AM, Kapur V, Sullivan DJ, Musser JM, Kehoe MA. Non-concurrent relationships between variation in emm gene sequences and the population genetic structure of group A streptococci. *Mol Microbiol* 1994; 14: 619-631
98. emm types <http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/emmtypes.html>, (erişim tarihi 15.02.2008)

99. Beall B, Facklam R, Hoenes T, Schwartz B. Survey of emm gene sequences and T-antigen types from systemic *Streptococcus pyogenes* infections isolates collected in San Francisco, California; Atlanta, Georgia and Connecticut in 1994 and 1995. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1231-1235
100. Bilgehan H. Klinik mikrobiyolojik tanı, 3. baskı. Bilgehan H (ed), İzmir: Fakülteler Kitabevi, 2003
101. Çotuk A. Genel mikrobiyoloji laboratuvar yöntemleri. Çotuk A (ed), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2003: 1-131
102. Topkaya A, Selam E, Çıragıl P, Johansson C. Basitrasine duyarlılık deneyinin A grubu streptokokları tanımlamada değeri. *Türk Mikrobiyol Cem Der* 2003; 33:3-7
103. Ruoff KL, Whiley RA, Beighton D. *Streptococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover MC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, Washington: ASM Press, 2003: 405-421
104. emm typing protocol, [http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol\\_emm-type.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol_emm-type.htm), (erişim tarihi 14.02.2008)
105. Shulman ST, Gerber MA, Tanz RR, Markowitz M. Streptococcal pharyngitis: the case for penicillin therapy. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13:1-7
106. Tanz RR, Gerber MA, Kabat W, Rippe J, Seshadri R, Shulman ST. Performance of a rapid antigen-detection test and throat culture in community pediatric offices: implications for management of pharyngitis. *Pediatr* 2009; 123:437-444
107. Whatmore AM, Kehoe MA. Horizontal gene transfer in the evolution of group A streptococcal emm-like genes: gene mosaics and variation in vir regulons. *Mol Microbiol* 1994; 11:364-375
108. Kaufold A, Podbielski A, Blockpoel M, Schouls L. Rapid typing of group A streptococci by the use of DNA amplification and non-radioactive allele specific oligonucleotide probes. *FEMS Immunol Med Microbiol Lett* 1994; 119:19-26
109. Brandt CM, Haase G, Spellerberg B, Holland R, Lutticken R. Gene polymorphisms among emm12-type *Streptococcus pyogenes* isolates. *J Clin Microbiol* 2003; 41:1794-1797

- 110.** Shulman ST, Tanz RR, Kabat W, Kabat K, Cederlund E, Patel D, Li Z, Sakota V, Dale JB, Beall B, US Streptococcal Pharyngitis Surveillance Group. Group A streptococcal pharyngitis serotype surveillance in North America, 2000-2002., *Clin Infect Dis* 2004; 39:325-332
- 111.** Kaur S, Kumar D, Grover A, Khanduja KL, Kaplan EL, Gray ED, Ganguly NK. Ethnic differences in expression of susceptibility marker(s) in rheumatic fever/rheumatic heart disease patients. *Int J Cardiol* 1987; 64:9-14
- 112.** Majeed HA, Khuffash FA, Sharda DC, Farwana SS, El-Sherbiny AF, Ghafour SY. Children with acute rheumatic fever and acute poststreptococcal glomerulonephritis in a subtropical zone:a three-year prospective comparative epidemiological study. *Inter J Epidem* 1987; 16:561-568
- 113.** Murphy ML, Pichichero ME. Prospective identification and treatment of children with pediatric autoimmune neuropsychiatric disorder associated with group A streptococcal infection (PANDAS). *Arch Pediatr Adol Med* 2002; 156:356-361
- 114.** Bisno AL, Rubin FA, Clearly PP, Dale JB. Prospects for a group A streptococcal vaccine: rationale, feasibility, and obstacles-report of a National Institute of Allergy and Infectious Diseases workshop. *Clin Infect Dis* 2005; 41:1152-1156
- 115.** McNeil SA, Halperin SA, Langley JM, Smith B, Warren A, Sharratt GP, Baxendale DM, Reddish MA, Hu MC, Stroop SD, Linden J, Fries LF, Vink PE, Dale JB. Safety and immunogenicity of 26-valent group a streptococcus vaccine in healthy adult volunteers. *Clin Infect Dis* 2005; 41:1114-1122

## 8. EKLER

### EK 1 (Hasta Değerlendirme Formu)

#### ‘İstanbul’da 2007-2009 Döneminde Çocuk Hastaların Boğaz Kültürlerinden İzole Edilen A Grubu Beta Hemolitik Streptokokların *emm* Gen Tiplendirilmesi’ Çalışması Hasta Değerlendirme Formu

1. Hastanın Adı Soyadı:
2. Dosya No:
3. Protokol No:
4. Tel No:
5. Doğum Tarihi: Yaş:
6. Kardeş Sayısı: Bakım Şekli:
7. Cinsiyet: ☐Erkek ☐Kız
8. Başvuru Tarihi:
9. Başvuruda Mevcut Yakınmalar:

| YAKINMA             | VAR | YOK |
|---------------------|-----|-----|
| ATEŞ                |     |     |
| BOĞAZ AĞRISI        |     |     |
| YUTKUNMA GÜÇLÜĞÜ    |     |     |
| TONSİLLEREKSUDASYON |     |     |
| AĞRILI SERVİKAL LAP |     |     |
| İŞTAHSIZLIK         |     |     |
| BAŞ AĞRISI          |     |     |
| ÖKSÜRÜK             |     |     |

- 10.En Son Antibiyotik Kullandığı Tarih:
- 11.En Son Kullandığı Antibiyotik
- 12.Başvuruda Boğaz Kültür Sonucu, Hızlı Streptokok Testi ve Antibiyogramı
13. Kontrol Kültür Tarihi, Kültür No, Sonuç:
- 14.Davranış Bozukluğu:
  - Tekrarlayan Hareketler:
  - Uyku Bozuklukları:

## EK 2 (Gönüllü Bilgilendirme ve Onay Formu)

### ‘İstanbul’da 2007-2009 Döneminde Çocuk Hastaların Boğaz Kültürlerinden İzole Edilen A Grubu Beta Hemolitik Streptokokların *emm* Gen Tiplendirilmesi’ Çalışması İçin Gönüllü Bilgilendirme ve Onay Formu

**Hastanın,**

**Adı Soyadı** :

**Doğum Tarihi** :

**Adres** :

**Telefon Numarası** :

**Tarih** :

Sayın Anne/Baba,

Size İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı’nda yürütülmekte olan bir araştırma hakkında bilgi vermek üzere ulaşmış durumdayız.

A grubu beta hemolitik streptokoklar çocukluk çağında görülen tonsillofarenjitlerde en sık etkin olan mikroorganizmadır. Klinik bulguları yüksek ateş, boğaz ağrısı, tonsiller üzerinde eksudasyon ve ön sevikal zincirde ağrılı lenfadenopatidir. Bu mikroorganizmanın bazı tipleri ile gelişen boğaz enfeksiyonu eğer doğru ve yeterli tedavi edilmezse duyarlı olan çocuklarda romatizmal kalp hastalığına ve akut böbrek yetersizliğine neden olabilmektedir. Boğaz enfeksiyonuna neden olan mikroorganizma tedavi öncesinde boğaz kültürü ile kesin tanınabilmekte ve ileri inceleme yöntemleri ile tiplendirilmesi yapılabilmektedir.

Yapacağımız araştırmanın amacı akut tonsillofarenjit bulguları olan hastalarda boğaz sürüntü örneği kültürü ile etken mikroorganizmanın saptanması ve A grubu beta hemolitik streptokoklar ile enfekte olan olgularda hastalığa neden olan mikroorganizma tipinin belirlemesidir.

Kliniğimize akut tonsillofarenjit bulguları (ateş, boğaz ağrısı, öksürük vb...) ile başvuran hastalardan boğaz sürüntü örneği kültürlerinde A grubu beta hemolitik streptokok

üremesi saptanan çocuklar araştırmaya dahil edilecek ve üç ay süre ile takip edileceklerdir. Hastaların tümü için kültür antibiyogram sonucuna uygun olarak antibiyotik tedavisi 10 gün süre ile düzenlenecektir. Tedavi bitiminden sonraki 3. gün ve ilk boğaz sürüntü örneği kültüründe üreme saptandıktan sonraki 3. ay kontrol boğaz sürüntü örneği kültürü tekrarlanacaktır. Bu şekilde uygulanan tedavi ile çocuğunuzda akut tonsillofarenjit bulgularına neden olan mikroorganizmanın boğaz florasından etkin şekilde uzaklaştırılıp uzaklaştırılamadığı saptanacaktır. Kontrol boğaz sürüntü örneği kültürlerinde üreme saptanan hastalar yine kültür antibiyograma uygun olarak tedavi edilecektir. Boğaz sürüntü örneği kültürlerinde üretilen A grubu beta hemolitik streptokok suşları Mikrobiyoloji Laboratuvar'ımızda özel şartlarda saklanacak ve bir takım özel yöntemler ile hastalığa neden olan özel tip belirlenecektir. Bu işlemlerin çocuğunuz üzerinde herhangi bir etkisi olmayacaktır. Tedavi sırasında hastalığa ait ateş, öksürük, boğaz ağrısı gibi esas şikayetleriniz dışında uygun antibiyoterapinin her çocukta neden olabileceği çeşitli ilaç yan etkileri (ishal, gastrointestinal rahatsızlık, döküntü vb...) ile karşılaşabilirsiniz.

Araştırma nedeniyle çocuğunuza herhangi bir zarar verilmeyecek ve etken mikroorganizmaya yönelik antibiyotik tedavisi dışında herhangi bir ilaç ya da madde kullanılmayacaktır. Bu araştırmadaki bilgiler kesinlikle gizli tutulacaktır. Sizden araştırma esnasında ya da neticesinde herhangi bir ücret talep edilmeyecektir. Bu araştırmada yer almanız durumunda size ek bir ücret de verilmeyecektir. Bu araştırmaya katılmayı kabul etmeyebilir ya da daha sonradan katılmaktan vazgeçebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmanız dahi çocuğunuz her çocuk gibi tedavi ve bakım görecektir. Çalışmanın yürütücüleri tarafından uygun görülmeyen vakalar ailesinin onayına bakılmaksızın proje dışı bırakılabilirler. Muhtemel zarar durumunda tarafımızla temasa geçebilirsiniz.

**Ailenin ilişki kuracağı kişi (Araştırmacı) : Prof. Dr. Emin Ünüvar**

**İş Telefon Numarası : 0 212 414 20 00 / 31668**

Sayın Dr Ayça Erkin Çakmak tarafından İ.Ü. İ.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Pediatri Bilim Dalı poliklinik'lerinde tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı yoldan olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, **Dr. Ayça Erkin Çakmak'ı, 0 533 523 32 98 no lu telefon ve İ.Ü. İ.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D. iş adresinden** arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana da verilecektir.

**Gönüllü Onay Formu**

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün;

Adı Soyadı :

İmzası :

Adresi :

Telefon Numarası :

Velisinin;

Adı Soyadı :

İmzası :

Adresi :

Telefon Numarası :

Açıklamaları yapan araştırmacının;

Adı Soyadı :

İmzası :

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin;

Adı Soyadı :

İmzası :

Görevi :



**Ek 3: GABHS Üremesi Saptanan Hastaların Demografik Bulguları, Başvuru  
Şikayetleri ve Fizik Muayene Bulguları**

**9. YARDIMCI ARAŞTIRMACININ ÖZGEÇMİŞİ****AYÇA ERKİN ÇAKMAK****POZİSYON**

Tıpta Uzmanlık Öğrencisi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı  
İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi  
İstanbul Üniversitesi

**İŞ ADRESİ**

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı  
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi  
Çapa, Fatih,  
İstanbul, Türkiye  
Telefon: (+90 212) 414 20 00  
E-mail: draycaerkin@yahoo.com

**EV ADRESİ**

Karaman Çiftliği Yolu Eston Çamlıevler Sitesi  
A4 Blok No: 30 34752  
Kozyatağı, İstanbul, Türkiye

**KİŞİSEL BİLGİ**

Doğum Tarihi : 2 Kasım 1979  
Doğum Yeri : Ankara, Türkiye  
Yabancı Dil : İngilizce

**EĞİTİM**

1997-2003

Tıp Doktoru  
İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İngilizce  
İstanbul, Türkiye.

## MEZUNİYET SONRASI EĞİTİM

Haziran 2003 – günümüz    Tıpta Uzmanlık Öğrencisi  
                                          Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı  
                                          İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi  
                                          İstanbul Üniversitesi

## KLİNİK DENEYİM

Temmuz 2002                    Ziyaretçi Öğrenci  
                                          Department of General Surgery, Yamagata University Hospital  
                                          Yamagata University  
                                          Yamagata, Japan

Ağustos 2005                   Gözlemci  
                                          Department of Pediatrics, Yale-New Haven Hospital  
                                          Yale University  
                                          New Haven, CT, USA.

## MEZUNİYET SONRASI KATILDIĞI KURSLAR

|       |      |                                                                                                         |
|-------|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Eylül | 2005 | Neonatal Resüsitasyon Kursu                                                                             |
| Nisan | 2006 | Sosyal Pediatriye Multidisipliner Yaklaşımlar                                                           |
| Nisan | 2007 | Çocuk İlk Yardım ve İleri Yaşam Desteği Kursu                                                           |
| Nisan | 2008 | Çocukluk Çağında Nörolojik Değerlendirme Kursu                                                          |
| Mayıs | 2008 | Anne Sütü ile Beslenmede Danışmanlık Kursu                                                              |
| Kasım | 2008 | Pediyatrik Endokrin Aciller Sempozyumu                                                                  |
| Ocak  | 2009 | Merck Sereno Klinik Araştırma ve Kanıta Dayalı Tıp,<br>İstatistik Analiz Uygulamaları Eğitim Toplantısı |
| Nisan | 2009 | Boy Kısılığı ve Erken Ergenlik Vakalarına Yaklaşım                                                      |

## KONUŞMACI OLARAK KATILDIĞI TOPLANTILAR

Ocak 2009 İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi  
Mezuniyet Sonrası Eğitim Programı  
Döküntülü Çocuğa Yaklaşım Algoritması

## KATILDIĞI BİLİMSEL TOPLANTILAR:

1. 27. Pediatri Günleri, 4-7 Nisan, 2005
2. 4. Ulusal Çocuk İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 11-13 Mayıs, 2005
3. 3. Ulusal Çocuk Acil Tıp ve Yoğun Bakım Kongresi, 3-7 Nisan, 2006
4. 28. Pediatri Günleri, 18-21 Nisan, 2006
5. 4. Ulusal Çocuk Solunum Yolu Hastalıkları Kongresi, 3-5 Mayıs, 2006
6. 29. Pediatri Günleri, 10-13 Nisan, 2007
7. 5. Ulusal Çocuk İnfeksiyon Hastalıklar Kongresi, 5-7 Haziran, 2007
8. 9. Uluslararası Katılımlı Beslenme ve Metabolik Hastalıklar Kongresi, 22-25 Eylül, 2007
9. 30. Pediatri Günleri , 14-17 Nisan, 2008
10. 52. Türkiye Milli Pediatri Kongresi, 12-16 Kasım, 2008
11. 31. Pediatri Günleri, 14-17 Nisan, 2009
12. 20. Ulusal KIGS Toplantısı, 9-10 Mayıs, 2009

## POSTER SUNUMLARI

1. **Ayça Erkin**, Gülay Can, Fatma Narter, Zeynep İnce, Can Baykal, Asuman Çoban: Konjenital Lamellar İktiyozisli Bir Yenidoğanda Oral Asit-Retin Kullanımı. 14. Ulusal Neonatoloji Kongresi - UNEKO-14, 12-16 Nisan, 2006, Antalya, Türkiye.
2. Ozlem D. Suoglu, **Ayça Erkin**, Selim Gokce, Semra Sokucu: Growth After Liver Transplantation in Turkish Children. 4<sup>th</sup> Congress Of The International Pediatric Transplant Association, March 17-21, 2007, Cancun, Mexico.
3. **Erkin A**, Hatipoglu N, Somer A, Keser M, Akcay A, Yekeler E, Salman N, Ozturk G: Candida Meningitis In An Infant with Hereditary Spherocytosis. Presented at the 5<sup>th</sup> World Congress of the World Society For Pediatric Infectious Diseases – WSPID, November 15-18 2007, Bangkok, Thailand

4. **Ayça Erkin Çakmak**, Ayper Somer, Bahar Çalışkan, Ozan Uzunhan, Feryal Gün, Ensar Yekeler, Nuran Salman, Nezahat Gürler, Tansu Salman, Alaattin Çelik: Çocukluk Çağı Akciğer Abseleri: 32 Olgunun Restrospektif Değerlendirilmesi. 52. Türkiye Milli Pediatri Kongresi, 12-16 Kasım, 2008, Antalya, Türkiye
5. **Ayça Erkin Çakmak**, Ayper Somer, Bahar Çalışkan, Nuran Salman, Ozan Uzunhan, Ensar Yekeler, Nezahat Gürler: Çocuk Çağı Osteomyelitleri: 52 Olgunun Retrospektif Değerlendirmesi. 52. Türkiye Milli Pediatri Kongresi, 12-16 Kasım, 2008, Antalya, Türkiye
6. **Ayça Erkin Çakmak**, Ayper Somer, Bahar Çalışkan, Ozan Uzunhan, Ensar Yekeler, Nuran Salman, Nezahat Gürler: Çocukluk Çağı Septik Artritleri: 84 Olgunun Retrospektif Değerlendirmesi. 52. Türkiye Milli Pediatri Kongresi, 12-16 Kasım, 2008, Antalya, Türkiye

**Ek 3 GABHS Üremesi Saptanan Hastaların Demografik Bulguları, Başvuru Şikayetleri ve Fizik Muayene Bulguları**

|    | Sıra No | Adı Soyadı | Yaş (ay) | Cins | 1. Kültür Üreme | Hızlı Strep Sonuç | 2. Kültür Üreme | 3. Kültür Üreme | 4. Kültür Üreme | 5. Kültür Üreme | ATEŞ | BOĞAZ AĞRISI | YUTKUNMA GÜÇLÜĞÜ | TONSİLDE EKSUDASYON |
|----|---------|------------|----------|------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------|--------------|------------------|---------------------|
| 1  | 13      | OG         | 154      | E    | AGBHS           | P                 | NF              |                 |                 |                 | P    | P            | P                | P                   |
| 2  | 15      | RK         | 120      | K    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | P    | N            | N                | N                   |
| 3  | 42      | FKP        | 60       | E    | AGBHS           |                   | NF              | AGBHS           | NF              | NF              | P    | N            | P                | P                   |
| 4  | 47      | HÇ         | 60       | K    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | P    | P            | N                | P                   |
| 5  | 54      | ME         | 72       | K    | AGBHS           |                   | NF              | NF              |                 |                 | N    | N            | P                | P                   |
| 6  | 64      | UD         | 60       | E    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | P    | P            | P                | P                   |
| 7  | 65      | ZŞ         | 60       | K    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | P    | N            | N                | P                   |
| 8  | 79      | ŞB         | 72       | K    | AGBHS           | P                 | NF              |                 |                 |                 | P    | N            | N                | N                   |
| 9  | 95      | ZSG        | 84       | K    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | P    | P            | P                | P                   |
| 10 | 120     | HNA        | 72       | K    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | P    | P            | N                | P                   |
| 11 | 129     | ÖFE        | 84       | E    | AGBHS           |                   |                 |                 |                 |                 | N    | P            | P                | N                   |
| 12 | 130     | GA         | 141      | K    | AGBHS           |                   | NF              | NF              |                 |                 | P    | P            |                  | N                   |
| 13 | 143     | DNÖ        | 32       | K    | AGBHS           | N                 | NF              | AGBHS           |                 |                 | P    | N            | N                | N                   |
| 14 | 144     | EO         | 75       | K    | AGBHS           | N                 | NF              |                 |                 |                 | P    | P            | N                | N                   |
| 15 | 148     | TD         | 72       | K    | AGBHS           | P                 | NF              |                 |                 |                 | P    | P            | N                | P                   |
| 16 | 149     | İA         | 84       | K    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | P    | P            | P                | N                   |
| 17 | 151     | SNT        | 72       | K    | YOK             | P                 | NF              |                 |                 |                 | P    | N            | N                | P                   |
| 18 | 153     | CBK        | 103      | E    | AGBHS           | P                 | NF              | AGBHS           | NF              | NF              | P    | P            | N                | P                   |
| 19 | 154     | ZD         | 40       | K    | AGBHS           | P                 | NF              |                 |                 |                 | P    | N            | N                | P                   |
| 20 | 155     | SK         | 128      | E    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | P    | N            | N                | N                   |
| 21 | 170     | MÖ         | 120      | K    | AGBHS           | P                 | NF              |                 |                 |                 | N    | P            | N                | N                   |
| 22 | 174     | FRD        | 89       | K    | AGBHS           |                   |                 |                 |                 |                 | P    | P            | P                | N                   |
| 23 | 178     | ÖA         | 164      | K    | AGBHS           | P                 | NF              |                 |                 |                 | P    | P            | P                | P                   |
| 24 | 190     | NBS        | 82       | K    | AGBHS           |                   | NF              | NF              |                 |                 | P    | N            | N                | P                   |
| 25 | 198     | BY         | 108      | K    | AGBHS           |                   |                 |                 |                 |                 | P    | P            | N                | N                   |
| 26 | 204     | EÜ         | 72       | E    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | N    | P            | P                | P                   |
| 27 | 208     | SE         | 115      | E    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | P    | P            | N                | N                   |
| 28 | 212     | BB         |          | E    | AGBHS           | P                 |                 |                 |                 |                 |      |              |                  |                     |
| 29 | 213     | TBİ        | 57       | E    | AGBHS           | P                 | NF              |                 |                 |                 | P    | N            | N                | P                   |
| 30 | 219     | UA         | 65       | E    | AGBHS           |                   |                 |                 |                 |                 | P    | P            | P                | N                   |
| 31 | 220     | EC         | 156      | K    | AGBHS           |                   | NF              |                 |                 |                 | P    | N            | N                | P                   |

|    |     |     |     |   |       |   |       |       |    |  |   |   |   |   |
|----|-----|-----|-----|---|-------|---|-------|-------|----|--|---|---|---|---|
| 32 | 226 | GK  | 72  | K | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | N | P |
| 33 | 254 | EG  | 135 | K | AGBHS |   | NF    |       |    |  | P | P | N | P |
| 34 | 262 | UBG |     | E | AGBHS |   |       |       |    |  |   |   |   |   |
| 35 | 264 | YEI | 98  | E | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | N | N |
| 36 | 267 | AYA | 105 | E | AGBHS | N | NF    |       |    |  | P | N | N | P |
| 37 | 271 | DY  | 184 | K | AGBHS |   | NF    |       |    |  | N | P | N | P |
| 38 | 272 | BK  |     | E | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | N | N | P |
| 39 | 273 | EF  | 40  | K | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P |   | P |
| 40 | 275 | AHK | 111 | K | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P |   | P |
| 41 | 294 | HFÇ | 91  | E | AGBHS |   | NF    |       |    |  |   | P | N | N |
| 42 | 296 | AY  | 132 | E | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | N | P |
| 43 | 301 | BEK | 26  | E | AGBHS |   | NF    |       |    |  | P | N | N | N |
| 44 | 318 | TN  | 96  | E | AGBHS |   | NF    |       |    |  | P | P | P | P |
| 45 | 334 | DK  | 60  | K | AGBHS |   | NF    |       |    |  | N | P | N | N |
| 46 | 375 | BT  | 108 | E | AGBHS |   |       |       |    |  | N | P | P | P |
| 47 | 383 | MT  | 81  | K | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | N | P |
| 48 | 394 | MK  | 117 | E | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | N | N | N |
| 49 | 418 | RÖ  | 85  | K | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | N | P |
| 50 | 433 | EE  | 108 | K | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | N | P |
| 51 | 445 | SD  | 60  | K | AGBHS | P |       | AGBHS |    |  | P | N | N | P |
| 52 | 450 | YY  | 96  | E | AGBHS |   | NF    |       |    |  | P | N | P | P |
| 53 | 455 | GA  | 132 | E | AGBHS |   | NF    |       |    |  | P | P | P | P |
| 54 | 474 | TK  | 84  | E | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | N | P |
| 55 | 480 | AÇ  | 60  | E | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | P | P |
| 56 | 493 | NÖ  | 72  | K | AGBHS | P |       |       |    |  | P | N | N | N |
| 57 | 495 | SÇ  | 90  | K | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | N | P |
| 58 | 496 | ÇÖ  | 78  | K | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | P | P |
| 59 | 513 | BD  | 65  | E | AGBHS |   |       |       |    |  | P | N | N | P |
| 60 | 516 | FMD | 113 | E | AGBHS | P |       |       |    |  | P | P | N | N |
| 61 | 517 | BÇ  | 84  | E | AGBHS |   | NF    |       |    |  | P | N | N | N |
| 62 | 526 | YD  | 41  | E | AGBHS |   |       |       |    |  | P | N | N | N |
| 63 | 528 | BNY | 68  | E | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | N | P |
| 64 | 530 | ABP | 72  | K | AGBHS |   | NF    | NF    | NF |  | P | P | N | P |
| 65 | 540 | AA  | 144 | E | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | P | N | P |
| 66 | 572 | AA  | 93  | K | AGBHS |   |       |       |    |  | P | P | N | P |
| 67 | 577 | BÇ  | 55  | E | AGBHS |   | NF    |       |    |  | P | N | N | N |
| 68 | 579 | KK  | 93  | E | AGBHS |   | NF    | AGBHS | NF |  | P | P | N | P |
| 69 | 585 | BK  | 47  | K | AGBHS | P | NF    |       |    |  | P | N | N | N |
| 70 | 587 | BKM | 145 | E | AGBHS | P | NF    | AGBHS |    |  | P | N | N | P |
| 71 | 602 | YEK | 107 | E | AGBHS |   | AGBHS |       |    |  | P | P | P | P |
| 72 | 606 | CÖ  | 71  | K | AGBHS |   |       |       |    |  | N | P | N | P |

|     |      |     |     |   |       |   |       |    |  |  |   |   |   |   |
|-----|------|-----|-----|---|-------|---|-------|----|--|--|---|---|---|---|
| 73  | 625  | AT  | 118 | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | P | N | P |
| 74  | 626  | BA  | 102 | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 75  | 662  | AEB | 74  | E | AGBHS | N | NF    |    |  |  | P | P | P | P |
| 76  | 669  | VB  | 157 | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | P | P |
| 77  | 692  | ÖG  | 78  | K | AGBHS |   | AGBHS |    |  |  | P | N | N | N |
| 78  | 698  | OŞK | 40  | E | AGBHS | P |       |    |  |  | P | P | N | N |
| 79  | 710  | AT  | 89  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | P | N | P |
| 80  | 741  | RZ  | 95  | E | AGBHS | P |       |    |  |  | P | P | N | P |
| 81  | 752  | ŞÇ  | 59  | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 82  | 758  | RK  | 85  | E | AGBHS | N |       |    |  |  | N | N | N | P |
| 83  | 767  | SU  | 92  | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 84  | 771  | HTK | 127 | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 85  | 776  | EK  | 59  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | N |
| 86  | 778  | OY  | 145 | E | AGBHS | N | AGBHS |    |  |  | P |   | P | P |
| 87  | 780  | EF  | 143 | K | AGBHS | P | AGBHS | NF |  |  | P | P | N | P |
| 88  | 797  | BB  | 127 | K | AGBHS |   |       |    |  |  | P | N | P | P |
| 89  | 804  | Tİ  | 114 | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | P | N | P |
| 90  | 807  | AA  | 123 | K | AGBHS |   | AGBHS |    |  |  | P | N | N | P |
| 91  | 808  | İA  | 55  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | P | P | P |
| 92  | 810  | SÇ  | 89  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | P | N | P |
| 93  | 825  | OO  | 65  | E | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | P | N | P |
| 94  | 829  | DY  | 103 | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 95  | 830  | GŞ  | 120 | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | P | N | P |
| 96  | 838  | YS  | 59  | E | AGBHS | P |       |    |  |  | P | N | N | P |
| 97  | 867  | SEY |     | E | AGBHS | P |       |    |  |  | P | N | N | P |
| 98  | 869  | FŞ  | 84  | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | P | N | N |
| 99  | 896  | TA  | 84  | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 100 | 916  | AÖA | 72  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | P | P | P |
| 101 | 925  | AS  | 60  | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | P | P |
| 102 | 931  | BL  | 72  | K | AGBHS | P | AGBHS |    |  |  | P | N | N | P |
| 103 | 935  | MM  | 132 | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | P | P | P |
| 104 | 940  | RC  | 132 | E | AGBHS | P |       |    |  |  | P | N | N | P |
| 105 | 967  | AKK | 84  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | N | P | P | P |
| 106 | 969  | BD  | 72  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 107 | 977  | GK  | 132 | K | AGBHS |   |       |    |  |  | P | N | N | P |
| 108 | 991  | BD  | 48  | E | AGBHS | P |       |    |  |  | P | N | N | N |
| 109 | 1014 | ME  | 60  | E | AGBHS |   | AGBHS |    |  |  | P | N | N | P |
| 110 | 1022 | EK  | 120 | K | AGBHS | P |       |    |  |  | N | N | N | N |
| 111 | 1038 | AUB | 120 | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | N | N | N | N |
| 112 | 1041 | İK  | 108 | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | P | N | N |
| 113 | 1046 | DS  | 84  | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | N | N | N | P |



|     |      |     |     |   |       |   |       |       |       |  |   |   |   |   |
|-----|------|-----|-----|---|-------|---|-------|-------|-------|--|---|---|---|---|
| 114 | 1065 | BH  | 132 | K | AGBHS |   | NF    |       |       |  | N | N | N | N |
| 115 | 1072 | AK  | 60  | E | AGBHS |   |       |       |       |  | P | N | N | P |
| 116 | 1073 | İB  | 96  | K | AGBHS |   | NF    |       |       |  | N | P | N | N |
| 117 | 1074 | İK  | 132 | E | AGBHS | P | NF    |       |       |  | N | N | N | N |
| 118 | 1080 | ÖE  | 72  | K | AGBHS | N | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 119 | 1084 | TK  | 168 | K | AGBHS |   | NF    |       |       |  | N | P | N | N |
| 120 | 1100 | FK  | 120 | K | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | N | N | P |
| 121 | 1101 | EBA | 96  | K | AGBHS |   |       |       |       |  | P | P | N | N |
| 122 | 1120 | EHG | 36  | K | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | N | N | N |
| 123 | 1121 | FG  | 108 | E | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | P | N | N |
| 124 | 1126 | KA  | 72  | E | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | N | N | P |
| 125 | 1135 | DÖ  | 108 | E | AGBHS |   |       |       |       |  | P | N | N | P |
| 126 | 1141 | SK  | 96  | E | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 127 | 1142 | HİP | 132 | E | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | N | N | P |
| 128 | 1148 | BNK | 132 | K | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 129 | 1149 | NP  | 53  | K | AGBHS | P | NF    | NF    |       |  | N | P | N | P |
| 130 | 1171 | MD  | 84  | K | AGBHS |   |       |       |       |  | N | P | P | P |
| 131 | 1172 | FSY | 72  | E | AGBHS |   | AGBHS |       |       |  | P | N | P | P |
| 132 | 1179 | SYA | 108 | E | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | N | P | P |
| 133 | 1209 | FAM | 84  | E | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | N | N | P |
| 134 | 1232 | SK  | 96  | K | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 135 | 1239 | MT  | 96  | K | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 136 | 1270 | NT  | 99  | K | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 137 | 1279 | EÖ  | 168 | K | AGBHS | P |       |       |       |  | P | N | N | P |
| 138 | 1281 | MN  | 120 | E | AGBHS | P | AGBHS |       |       |  | P | N | N | P |
| 139 | 1284 | SY  | 156 | E | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 140 | 1297 | SB  | 72  | E | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 141 | 1298 | ÖFÇ | 72  | E | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 142 | 1319 | EBU | 72  | E | AGBHS |   |       |       |       |  | P | N | P | P |
| 143 | 1324 | DG  | 72  | K | AGBHS | P | NF    |       |       |  | N | N | N | P |
| 144 | 1326 | HCB | 72  | E | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | N | N | P |
| 145 | 1328 | HK  | 120 | E | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 146 | 1331 | SSK | 144 | E | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 147 | 1334 | OB  | 72  | E | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | P | N | N |
| 148 | 1350 | ED  | 72  | E | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | P | P | N |
| 149 | 1374 | EG  | 60  | E | AGBHS |   | NF    | AGBHS |       |  | P | P | N | P |
| 150 | 1394 | ÖÖ  | 96  | E | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | P | N | N |
| 151 | 1404 | YÇ  | 120 | E | AGBHS |   | NF    |       |       |  | P | N | N | P |
| 152 | 1419 | HŞ  | 180 | K | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | P | N | P |
| 153 | 1428 | HE  | 144 | E | AGBHS | P | NF    |       |       |  | P | P | P | P |
| 154 | 1431 | MG  | 132 | E | AGBHS | P | NF    | NF    | AGBHS |  | P | P | P |   |

|     |      |     |     |   |       |   |       |  |  |  |   |   |   |   |
|-----|------|-----|-----|---|-------|---|-------|--|--|--|---|---|---|---|
| 155 | 1431 | AHP | 96  | K | AGBHS | P | AGBHS |  |  |  | P | P | N | P |
| 156 | 1456 | SY  | 96  | K | AGBHS |   |       |  |  |  | P | P | P | N |
| 157 | 1463 | GÇ  | 67  | K | AGBHS | P | AGBHS |  |  |  | N | P | N | P |
| 158 | 1466 | MÇ  | 129 | E | AGBHS | P |       |  |  |  | P | P | N | P |
| 159 | 1467 | YM  | 24  | E | AGBHS | N | AGBHS |  |  |  | P | P | N | P |
| 160 | 1480 | OP  | 84  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | N |
| 161 | 1513 | İM  | 163 | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | N | N | N | P |
| 162 | 1533 | BL  | 81  | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | P |
| 163 | 1534 | SS  | 99  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | P |
| 164 | 1535 | YY  | 81  | E | AGBHS |   | AGBHS |  |  |  | P | P | N | P |
| 165 | 1536 | BUC | 40  | E | AGBHS |   |       |  |  |  | P | P | N | P |
| 166 | 1539 | EK  | 38  | E | AGBHS |   |       |  |  |  | P | P | N | N |
| 167 | 1547 | ÇY  | 96  | K | AGBHS | P | AGBHS |  |  |  | P | P | N | P |
| 168 | 1548 | AT  | 110 | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | P |
| 169 | 1551 | FŞ  | 84  | K | AGBHS | P | AGBHS |  |  |  | P | P | P | P |
| 170 | 1553 | YP  | 53  | E | AGBHS | P | NF    |  |  |  | N | P | N | P |
| 171 | 1554 | MT  | 84  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 172 | 1555 | ED  | 86  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 173 | 1577 | BS  | 59  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 174 | 1583 | EK  | 55  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 175 | 1586 | EÖ  | 74  | K | AGBHS |   |       |  |  |  | P | P | N | P |
| 176 | 1589 | ET  | 112 | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 177 | 1610 | EB  | 53  | E | AGBHS | P | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 178 | 1618 | ST  | 56  | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 179 | 1629 | EÖ  | 133 | K | AGBHS | N | NF    |  |  |  | P | P | P | P |
| 180 | 1630 | ÇUA | 44  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | N |
| 181 | 1635 | EB  | 155 | K | AGBHS | P | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 182 | 1636 | MZ  | 76  | K | AGBHS | P | NF    |  |  |  | P | P | N | N |
| 183 | 1641 | AEY | 103 | K | AGBHS | P | AGBHS |  |  |  | P | P | N | P |
| 184 | 1642 | BA  | 113 | K | AGBHS | P |       |  |  |  | P | N | N | P |
| 185 | 1645 | SB  | 95  | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 186 | 1649 | FÖ  | 81  | E | AGBHS | N | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 187 | 1651 | KHÇ | 120 | K | AGBHS | N | NF    |  |  |  | P | N | P | P |
| 188 | 1666 | FK  | 117 | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | P |
| 189 | 1667 | HGK | 55  | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | P |
| 190 | 1670 | İY  | 96  | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 191 | 1685 | SD  | 102 | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | N |
| 192 | 1699 | FEO | 50  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | N | P | N | P |
| 193 | 1700 | FND | 73  | K | AGBHS | N | NF    |  |  |  | P | P | N | P |
| 194 | 1705 | BD  | 56  | E | AGBHS | P | NF    |  |  |  | P | P | P | P |
| 195 | 1707 | BÇ  | 132 | E | AGBHS |   |       |  |  |  | P | P | N | P |

|     |      |     |     |   |       |   |              |       |    |    |   |   |   |   |
|-----|------|-----|-----|---|-------|---|--------------|-------|----|----|---|---|---|---|
| 196 | 1709 | Bİ  | 89  | E | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 197 | 1719 | SC  | 127 | K | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 198 | 1729 | RU  | 96  | K | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 199 | 1739 | YC  | 31  | K | AGBHS |   |              |       |    |    | P | P | N | P |
| 200 | 1740 | BS  | 98  | E | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 201 | 1747 | HK  | 96  | E | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 202 | 1749 | ÖTD | 64  | E | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 203 | 1750 | ÇF  | 165 | K | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 204 | 1755 | SD  | 107 | K | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 205 | 1758 | EG  | 120 | E | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 206 | 1761 | BK  | 73  | K | AGBHS | P | AGBHS        |       |    |    | N | P | N | P |
| 207 | 1762 | ÇG  | 143 | E | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 208 | 1766 | MAE | 123 | E | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 209 | 1769 | OA  | 123 | E | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 210 | 1781 | MT  | 87  | K | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | N | N | N |
| 211 | 1791 | GİV | 142 | K | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 212 | 1792 | IEA | 30  | K | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 213 | 1808 | ZY  | 41  | K | AGBHS | P | NF           | NF    |    |    | P | P | N | P |
| 214 | 1828 | AET | 38  | E | AGBHS |   |              | NF    |    |    | P | P | P | P |
| 215 | 1830 | YB  | 671 | E | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 216 | 1833 | SA  | 74  | E | AGBHS |   |              |       |    |    | N | P | N | P |
| 217 | 1836 | EY  | 71  | K | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 218 | 1846 | MD  | 55  | K | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 219 | 1847 | KB  | 95  | E | AGBHS | N | NF           |       |    |    | P | P | N | N |
| 220 | 1856 | AK  | 67  | E | AGBHS | P | ADIŞI<br>BHS |       |    |    | P | P | N | P |
| 221 | 1860 | YTB | 34  | E | AGBHS |   |              |       |    |    | P | P | N | P |
| 222 | 1861 | ED  | 157 | E | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 223 | 1872 | DNÖ | 79  | K | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 224 | 1886 | SV  | 65  | K | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | P | N | P |
| 225 | 1888 | ET  | 89  | E | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 226 | 1895 | FE  | 60  | E | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | P | P | N |
| 227 | 1905 | BU  | 64  | E | AGBHS |   | NF           | AGBHS | NF | NF | P | N | N | P |
| 228 | 1914 | ÇBT | 133 | K | AGBHS | P |              |       |    |    | P | N | P | P |
| 229 | 1924 | TSE | 94  | E | AGBHS | P |              |       |    |    | N | P | N | P |
| 230 | 1925 | EÇ  | 79  | E | AGBHS | N | ADIŞI<br>BHS |       |    |    | N | N | N | P |
| 231 | 1929 | İUK | 74  | E | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 232 | 1937 | AH  | 98  | K | AGBHS |   | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 233 | 1959 | BÜ  | 74  | E | AGBHS | N | NF           |       |    |    | P | N | N | P |
| 234 | 1978 | KK  | 123 | E | AGBHS | P | NF           |       |    |    | N | P | P | P |
| 235 | 1983 | EA  | 44  | E | AGBHS | P | NF           |       |    |    | P | N | N | N |

|     |      |     |     |   |       |   |       |    |  |  |   |   |   |   |
|-----|------|-----|-----|---|-------|---|-------|----|--|--|---|---|---|---|
| 236 | 1986 | OCÇ | 32  | E | AGBHS | N | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 237 | 1989 | MEA | 122 | E | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 238 | 1995 | EGA | 72  | K | AGBHS | N | NF    | NF |  |  | P | P | N | P |
| 239 | 2003 | BÖ  | 144 | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 240 | 2005 | SB  | 32  | E | AGBHS | N | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 241 | 2027 | SÖA | 144 | K | AGBHS | N |       |    |  |  | P | N | N | P |
| 242 | 2042 | MAD | 120 | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | P | N |
| 243 | 2054 | BK  | 120 | K | AGBHS | P | AGBHS |    |  |  | P | N | N | P |
| 244 | 2062 | EK  | 108 | E | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | N | N |
| 245 | 2080 | PT  | 96  | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | P | N | P |
| 246 | 2084 | BM  | 120 | E | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 247 | 2087 | İK  | 96  | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | N | N |
| 248 | 2088 | DC  | 48  | E | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | P | P |
| 249 | 2105 | TK  | 158 | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | P | N | P |
| 250 | 2107 | HK  | 166 | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 251 | 2109 | İK  | 96  | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | N | N | N | N |
| 252 | 2175 | AI  | 24  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | P | P |
| 253 | 2178 | BÇ  | 108 | E | AGBHS | P |       |    |  |  | N | P | N | N |
| 254 | 2182 | AE  | 72  | E | AGBHS | P |       |    |  |  | P | N | N | P |
| 255 | 2187 | SZ  | 204 | K | AGBHS |   |       |    |  |  | P | N | N | P |
| 256 | 2189 | MFU | 72  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 257 | 2194 | İS  | 60  | K | AGBHS | N | NF    |    |  |  | N | N | N | N |
| 258 | 2195 | İT  | 60  | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 259 | 2198 | AT  | 84  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | P | P |
| 260 | 2202 | BE  | 84  | K | AGBHS |   |       |    |  |  | P | N | P | P |
| 261 | 2205 | ED  | 120 | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | N | P | P | N |
| 262 | 2206 | SB  | 96  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 263 | 2238 | MÇ  | 87  | E | AGBHS |   |       |    |  |  | P | P | N | P |
| 264 | 2239 | MK  | 84  | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 265 | 2247 | DC  | 108 | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | N | N | N | N |
| 266 | 2254 | BYD | 96  | E | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | N |
| 267 | 2269 | SC  | 72  | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | N | N | N |
| 268 | 2295 | SE  | 84  | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | P | P | P | P |
| 269 | 2296 | AST | 84  | K | AGBHS | P | AGBHS |    |  |  | N | N | N | P |
| 270 | 2301 | EBD | 72  | E | AGBHS | N |       |    |  |  | P | N | N | P |
| 271 | 2313 | AC  | 72  | K | AGBHS | P |       |    |  |  | P | N | P | P |
| 272 | 2333 | AK  | 84  | E | AGBHS |   |       |    |  |  | P | N | N | P |
| 273 | 2334 | BÇ  | 96  | E | AGBHS | P | AGBHS |    |  |  | P | N | N | P |
| 274 | 2338 | EÜ  | 48  | K | AGBHS | P | NF    |    |  |  | N | N | N | N |
| 275 | 2349 | DG  | 60  | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | N | N | P |
| 276 | 2380 | MGD | 156 | K | AGBHS |   | NF    |    |  |  | P | P | N | P |

|     |      |     |     |   |       |  |              |  |       |  |   |   |   |   |
|-----|------|-----|-----|---|-------|--|--------------|--|-------|--|---|---|---|---|
| 277 | 2389 | CK  | 120 | K | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | P |
| 278 | 2404 | HŞB | 84  | E | AGBHS |  | ADIŞI<br>BHS |  |       |  | P | N | N | P |
| 279 | 2420 | BÇ  | 72  | E | AGBHS |  |              |  |       |  | P | N | N | N |
| 280 | 2451 | BŞ  | 132 | K | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | P |
| 281 | 2472 | MT  | 96  | K | AGBHS |  |              |  |       |  | P | N | P | P |
| 282 | 2474 | AŞ  | 108 | K | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | P | N | P |
| 283 | 2478 | ND  | 72  | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | P |
| 284 | 2497 | CB  | 96  | E | AGBHS |  | AGBHS        |  |       |  | P | N | N | P |
| 285 | 2509 | BEÇ | 72  | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | P | N | P |
| 286 | 2511 | YE  | 24  | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | N |
| 287 | 2521 | İŞK | 72  | K | AGBHS |  |              |  |       |  | P | N | P | P |
| 288 | 2531 | DD  | 108 | E | AGBHS |  | AGBHS        |  |       |  | P | N | P | P |
| 289 | 2562 | RA  | 156 | K | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | P | N | N |
| 290 | 2596 | EÖS | 84  | E | AGBHS |  |              |  |       |  | P | N | P | P |
| 291 | 2619 | BG  | 132 | K | AGBHS |  |              |  |       |  | P | N | N | P |
| 292 | 2628 | MAA | 197 | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | P |
| 293 | 2654 | ST  | 72  | K | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | P |
| 294 | 2655 | ARG | 120 | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | P |
| 295 | 2657 | SG  | 84  | K | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | P | N | P |
| 296 | 2708 | GK  | 120 | K | AGBHS |  |              |  |       |  | N | N | N | P |
| 297 | 2709 | ND  | 156 | K | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | P | N |
| 298 | 2793 | OS  | 84  | E | AGBHS |  |              |  |       |  | P | N | N | P |
| 299 | 2800 | KK  | 60  | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | N | N | N | N |
| 300 | 2836 | FN  | 60  | E | AGBHS |  |              |  |       |  | P | P | N | P |
| 301 | 2874 | MTG | 144 | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | P |
| 302 | 2891 | UA  | 108 | E | AGBHS |  | AGBHS        |  | AGBHS |  | P | N | N |   |
| 303 | 2913 | FÜ  | 132 | E | AGBHS |  |              |  |       |  | P | N | N | P |
| 304 | 2934 | MK  | 96  | E | AGBHS |  |              |  |       |  | N | N | P | N |
| 305 | 2945 | SBK | 48  | K | AGBHS |  | AGBHS        |  |       |  | N | P | N | P |
| 306 | 2949 | ETG | 108 | E | AGBHS |  |              |  |       |  | N | N | P | N |
| 307 | 2957 | AA  | 96  | K | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | P | N | P |
| 308 | 2967 | MB  | 120 | E | AGBHS |  |              |  |       |  | P | N | N | P |
| 309 | 2971 | BHE | 48  | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | P |
| 310 | 2982 | Hİ  | 96  | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | N | N | N | P |
| 311 | 2987 | OÇ  | 132 | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | P | P |
| 312 | 2997 | EB  | 72  | E | AGBHS |  | AGBHS        |  |       |  | P | N | N | N |
| 313 | 3023 | MM  | 120 | K | AGBHS |  | NF           |  |       |  | N | N | N | P |
| 314 | 3046 | MU  | 84  | E | AGBHS |  |              |  |       |  | P | P | P | P |
| 315 | 3051 | HSA | 132 | K | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | P |
| 316 | 3054 | SEK | 132 | E | AGBHS |  | NF           |  |       |  | P | N | N | P |

|     |      |     |     |   |       |   |       |  |  |  |   |   |   |   |
|-----|------|-----|-----|---|-------|---|-------|--|--|--|---|---|---|---|
| 317 | 3055 | KY  | 84  | E | AGBHS | P |       |  |  |  | P | N | P | P |
| 318 | 3058 | Eİ  | 60  | E | AGBHS |   |       |  |  |  | N | N | N | N |
| 319 | 3101 | AD  | 132 | K | AGBHS |   | AGBHS |  |  |  | P | P | P | P |
| 320 | 3128 | TK  | 168 | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | P |
| 321 | 3131 | AK  | 60  | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | P | N | N |
| 322 | 3171 | MY  | 96  | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | P | P |
| 323 | 3178 | ÖFK | 120 | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | P |
| 324 | 3181 | MEÖ | 60  | E | AGBHS |   |       |  |  |  | P | N | N | P |
| 325 | 3197 | ZS  | 84  | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | N | N | P | P |
| 326 | 3203 | AHG | 84  | E | AGBHS |   | AGBHS |  |  |  | N | P | N | P |
| 327 | 3207 | EG  | 108 | K | AGBHS |   | AGBHS |  |  |  | N | N | N | N |
| 328 | 3215 | KA  | 96  | K | AGBHS |   |       |  |  |  | P | N | N | P |
| 329 | 3216 | FA  | 144 | E | AGBHS |   |       |  |  |  | P | N | N | P |
| 330 | 3222 | SN  | 60  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | P | P |
| 331 | 3228 | AOC | 72  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | P | P |
| 332 | 3249 | OEÇ | 36  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | N | N | N | P |
| 333 | 3250 | MŞ  | 24  | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | P |
| 334 | 3262 | AÖ  | 84  | E | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | N |
| 335 | 3281 | DS  | 72  | K | AGBHS |   | NF    |  |  |  | P | N | N | P |

| SERVİKAL<br>LAP | İŞTAHSIZLIK | BAŞ<br>AĞRISI | ÖKSÜRÜK | KOMPLİKASYON | DAVRANIŞ<br>BOZUKLUĞU | emm Tip             |
|-----------------|-------------|---------------|---------|--------------|-----------------------|---------------------|
| N               | P           | N             | N       | YOK          | YOK                   | emm 1               |
| N               | N           | N             | N       | SİNÜZİT      | YOK                   | emm 5               |
| P               | N           | N             | P       | YOK          | YOK                   |                     |
| P               | P           | N             | N       | YOK          | YOK                   | emm 19              |
| P               | P           | N             | P       | YOK          | YOK                   | emm 4               |
| N               | N           | N             | P       | YOK          | YOK                   | PCR N ya da Zayıf P |
| P               | P           | N             | P       | YOK          | YOK                   | emm 1               |
| P               | P           | N             | N       | YOK          | YOK                   | PCR N ya da Zayıf P |
| P               | N           | P             | N       | SİNÜZİT      | YOK                   |                     |
| N               | P           | N             | N       | YOK          | YOK                   |                     |
| P               | P           | N             | N       | YOK          | YOK                   |                     |
| P               | P           | N             | N       | YOK          | YOK                   |                     |
| N               | N           | N             | N       | YOK          | YOK                   | emm 63              |
| P               |             | N             | N       | YOK          | YOK                   | emm 1               |
| N               | P           | N             | N       | YOK          | YOK                   | emm 2               |
| P               | N           |               | N       | SAĞ AOM      | YOK                   | emm 77              |
| P               | N           |               | N       | YOK          | YOK                   |                     |
| N               |             |               | N       | YOK          | YOK                   | emm 44              |
| N               | P           | N             | P       | YOK          | YOK                   | emm 22              |
| N               |             |               | N       | YOK          | YOK                   | emm 44              |
| N               | N           | P             | N       | YOK          | YOK                   |                     |
| P               | N           | N             | N       | YOK          | YOK                   |                     |
| P               | N           | N             | N       | YOK          | YOK                   |                     |
| N               |             |               |         | YOK          | YOK                   |                     |
| P               |             |               | N       | YOK          | YOK                   | emm 3               |
| N               | N           | N             | P       | YOK          | YOK                   |                     |
| N               | N           | N             |         | YOK          | YOK                   | emm 3               |
|                 |             |               |         |              | YOK                   |                     |
| P               | P           | N             | P       | YOK          | YOK                   | emm 1               |
| N               |             | P             |         | YOK          | YOK                   | PCR N ya da Zayıf P |
| P               | N           | P             |         | YOK          | YOK                   | PCR N ya da Zayıf P |

|   |   |   |   |         |     |                           |
|---|---|---|---|---------|-----|---------------------------|
| P | P | N | N | YOK     | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
|   |   |   |   |         |     |                           |
| N | N | N | P | SİNÜZİT | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | P |         | YOK | emm 118                   |
| N | N | P | N | HSP?    | YOK |                           |
| N | N | N | P |         | YOK |                           |
| N | P | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | P | P | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | P |   | SİNÜZİT | YOK | emm 87                    |
| N | N | P | N | YOK     | YOK |                           |
| P | P | N | P |         | YOK |                           |
| N | N | N | N |         | YOK | emm 22                    |
| N | N | N | P | YOK     | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | N | P |         | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | P | N | P | YOK     | YOK |                           |
| N | N | N | P |         | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | N |         | YOK | emm 2                     |
| P | N | N | N | YOK     | YOK | emm 1                     |
| P | P | N | N | YOK     | YOK | emm 4                     |
| P | P | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | N | P | N | SİNÜZİT | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | N | YOK     | YOK | emm 5                     |
| N | P | N | N | YOK     | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| N | P | N | P | YOK     | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | N | YOK     | YOK | emm 4                     |
| N | P | N | P | YOK     | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | P |         | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | N | P | YOK     | YOK | emm 1                     |
| P | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | P | N | P | YOK     | YOK | emm 44                    |
| N | N | N | P | YOK     | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | N | N | YOK     | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | P | N | SOM     | YOK | emm 14                    |
| P | N | N | N |         | YOK |                           |
| P | P | N | P | YOK     | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | N | N | YOK     | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| P | N | N | P | AOM     | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | P | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | P | N | P | YOK     | YOK |                           |



|   |   |   |   |     |     |                           |
|---|---|---|---|-----|-----|---------------------------|
| P | N | N | N | YOK | YOK |                           |
| P | P | N | P | YOK | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK | YOK | <i>emm 1</i>              |
| N | P | P | P | YOK | YOK | <i>emm 89</i>             |
| P | N | N | N | YOK | YOK |                           |
| N | P | N | N |     | YOK |                           |
| P | N | N | N |     | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| P | N | N | P | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | N | YOK | YOK |                           |
| N | N | P | N | YOK | YOK |                           |
| N | N | N | P | YOK | YOK |                           |
| P | N | N | P |     | YOK |                           |
| N | N | N | N | YOK | YOK |                           |
| P | P | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | N | YOK | YOK | <i>emm 4</i>              |
| N | N | N | N | YOK | YOK |                           |
| N | N | N | P | YOK | YOK | <i>emm 2</i>              |
| N | N | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | P | N | N | YOK | YOK |                           |
| N | P | N | N | YOK | YOK | <i>emm 4</i>              |
| P | N | N | P | YOK | YOK | <i>emm 19</i>             |
| N | N | N | P | YOK | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| N | N | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | N | N |     | YOK | <i>emm 28</i>             |
| N | N | N | P |     | YOK |                           |
| P | P | N | P | YOK | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| N | N | N | N |     | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| N | N | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | N | P | YOK | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| N | N | N | P | YOK | YOK | <i>emm 1</i>              |
| P | N | N | P | YOK | YOK | <i>emm 77</i>             |
| N | N | N | P | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | N | YOK | YOK | <i>emm 89</i>             |
| N | N | N | N | YOK | YOK | <i>emm 76</i>             |
| P | N | N | N | YOK | YOK | <i>emm 1</i>              |
| N | P | N | P | YOK | YOK | <i>emm 3</i>              |
| P | N | N | P |     | YOK |                           |
| N | N | N | N | YOK | YOK |                           |
| N | P | N | P | YOK | YOK |                           |

|   |   |   |   |         |     |                           |
|---|---|---|---|---------|-----|---------------------------|
| N | N | P | P | SİNÜZİT | YOK |                           |
| N | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | P | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | N | P | P | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| N | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | P | N | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | N |         | YOK |                           |
| P | P | N | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| N | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | P | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | P | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK     | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| N | P | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | P | N | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK     | YOK | emm 2                     |
| P | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| N | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | P | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | N | P | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| N | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| N | N | N | P | YOK     | YOK | emm 1                     |
| N | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | P | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | P | P | P | YOK     | YOK |                           |
| N | P | N | N | YOK     | YOK |                           |
| N | P | N | N | YOK     | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK     | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |

|   |   |   |   |     |     |                           |
|---|---|---|---|-----|-----|---------------------------|
| P | N | N | P | YOK | YOK |                           |
| N | N | N | P | YOK | YOK | <i>emm 98</i>             |
| P | N | N | P | YOK | YOK | <i>emm 3</i>              |
| P | N | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | P | YOK | YOK |                           |
| P | P | N | N | YOK | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| N | N | P | N | YOK | YOK |                           |
| N | N | P | N | YOK | YOK | <i>emm 5</i>              |
| N | N | P | N | YOK | YOK | <i>emm 5</i>              |
| P | N | N | P | YOK | YOK | <i>emm 5</i>              |
| N | N | N | N | YOK | YOK | <i>emm 4</i>              |
| P | N | N | N | YOK | YOK | <i>emm 12</i>             |
| P | P | N | N | YOK | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| P | N | N | P | YOK | YOK | <i>emm 1</i>              |
| P | N | N | N | YOK | YOK | <i>emm 1</i>              |
| P | N | N | N | YOK | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| N | N | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | N | P | YOK | YOK | <i>emm 12</i>             |
| N | N | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | N | P | N | YOK | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| P | N | P | N | YOK | YOK | <i>emm 12</i>             |
| P | N | N | P | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | P | N | N | YOK | YOK | <i>emm 28</i>             |
| N | N | N | N | YOK | YOK | <i>emm 3</i>              |
| P | P | N | N | YOK | YOK | <i>emm 26</i>             |
| P | P | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| N | P | P | P | YOK | YOK | <i>emm 28</i>             |
| N | P | N | P | YOK | YOK | <i>emm 3</i>              |
| N | N | P | P | YOK | YOK | Sekans Kötü Tanımlanamadı |
| P | N | N | P | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | N | YOK | YOK | PCR N ya da Zayıf P       |
| P | N | N | N | YOK | YOK |                           |
| P | N | N | P | YOK | YOK |                           |
| N | P | P | N | YOK | YOK | <i>emm 1</i>              |
| N | N | N | N | YOK | YOK | Sekans Kötü Tanınmıyor    |
| P | N | N | P | YOK | YOK | <i>emm 1</i>              |
| P | N | N | P | YOK | YOK |                           |
| P | N | N | P | YOK | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK | YOK |                           |
| P | N | N | N | YOK | YOK |                           |

[illegible]

|   |   |   |   |     |     |  |
|---|---|---|---|-----|-----|--|
| P | N | P | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| N | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | P | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | P | YOK | YOK |  |
| N | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | P | YOK | YOK |  |
| P | N | P | N | YOK | YOK |  |
| N | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| N | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | P | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| N | N | P | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | P | YOK | YOK |  |
| N | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | P | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| N | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | P | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| N | N | P | P | YOK | YOK |  |

|   |   |   |   |     |     |  |
|---|---|---|---|-----|-----|--|
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | P | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | P | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| N | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | P | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | P | N | YOK | YOK |  |
| N | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | P | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | P | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | P | N | YOK | YOK |  |
| N | N | N | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | P | N | YOK | YOK |  |
| P | N | P | P | YOK | YOK |  |
| N | N | P | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | P | YOK | YOK |  |
| N | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | P | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| N | N | P | N | YOK | YOK |  |
| N | N | N | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| N | N | N | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |

|   |   |   |   |     |     |  |
|---|---|---|---|-----|-----|--|
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| N | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | P | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| N | N | N | P | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | P | YOK | YOK |  |
| P | N | P | N | YOK | YOK |  |
| N | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | P | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | N | YOK | YOK |  |
| P | N | N | P | YOK | YOK |  |