

# KISRAKLARIN GENİTAL ORGANLARINDAN İZOLE EDİLEN $\beta$ -HEMOLİTİK STREPTOKOK'LARIN İDENTİFİKASYONU VE SEROGRUPLANDIRILMASI

Jale Erdeğer<sup>1</sup>  
Gülay Altay<sup>3</sup>

Mehmet Akan<sup>1</sup>  
Rıfat Vural<sup>4</sup>

Asiye Dakman<sup>2</sup>  
Mustafa Çelebi<sup>5</sup>

## *Identification and serological grouping of $\beta$ -haemolytic streptococci isolated from genital organs of mares*

**Summary:**  $\beta$ -haemolytic group C streptococci including *S. equi* subsp. *equi* (*S. equi*), *S. equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*), *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (*S. equisimilis*) of equine genital tract are opportunistic pathogens. These microorganisms locate generally in clitoral fossa, vestibulum and vagina and may cause acut endometritis in immunocompromised by infecting uterus during insemination and gynecological manipulation.

In this study, swap samples taken from the uterus and clitoris of normal and subfertile pure breed Arabian mares in two troughbred stud, were examined for streptococci and  $\beta$ -haemolytic streptococci were serogrouped with co-agglutination test.

In bacteriological examination, a total of 32 (69.6 %)  $\beta$ -haemolytic streptococcus strains were isolated from clitoris of 46 mares but no streptococcus strain was isolated from their uterus. Of 32  $\beta$ -haemolytic streptococcus strains, 30(93.8 %) were in C group and 2(6.2 %) in D group. Twenty-one (65.6 %) strains were identified as *S. equi* subsp. *zooepidemicus*, 7(21.8 %) as *S. equi* subsp. *equi* and 2 (6.3 %) as *E. faecalis*, by biochemical tests.

It was concluded that, identification of  $\beta$ -haemolytic streptococci which may effect fertility in mares and treatment of infected mares in the breeding season are important for decreasing embryonic deaths and infertility problems.

**Key words:** Mares, Genital Organ,  $\beta$ -Haemolytic Streptococcus, Co-agglutination, Identification.

**Özet:** Kısrakların genital florasında bulunan C grubu  $\beta$ -hemolitik streptokoklardan *S. equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*), *S. equi* subsp. *equi* (*S. equi*) ve *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (*S. equisimilis*) fırsatçı patojen

1. Doç.Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D. Ankara/Türkiye
2. Araş. Gör. , A.K.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D. Afyon/Türkiye
3. Veteriner Hekim
4. Doç.Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji A.B.D. Ankara/Türkiye
5. Dr., Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Ankara/ Türkiye

mikroorganizmalardır. Kısraklarda genellikle klitoral fossa, vestibulum ve vajinada bulunan bu mikroorganizmalar genital organ muayenelerinde, çiftleşme ve uterusun immun yetmezliğinde akut endometritislere neden olurlar.

Bu çalışmada safkan Arap kısrağı yetiştiriciliği yapılan 2 işletmede fertil ve fertilitte düşüklüğü sorunu bulunan kısrakların uterus ve klitorisinden alınan svab örneklerinden Streptokoklar yönünden bakteriyolojik muayeneler yapılmış ve izole edilen  $\beta$ -hemolitik streptokoklar ko-aglutinasyon testi ile sero gruplandırılmıştır.

Bakteriyolojik muayenelerde, 46 kısrağın klitorisinden toplam 32 (% 69.6)  $\beta$ -hemolitik streptokok suşu izole edilmiş, uterusundan ise izolasyon yapılamamıştır.  $\beta$ -hemolitik streptokok suşlarından 30'unun (% 93.8) C grubunda, 2'sinin (% 6.2) de D grubunda yer aldığı gözlenmiştir. Yapılan biyokimyasal testler ile 32 suştan 21'i (% 65.6) *S. equi subsp. zooepidemicus*, 7'si (% 21.8) *S. equi subsp. equi*, 2'si (% 6.3) *S. dysgalactiae subsp. equisimilis*, 2'si, (% 6.3) *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır.

Sonuç olarak, kısrakların döl verimini etkileyen mikroorganizmalardan  $\beta$ -hemolitik streptokokların tanımlanması, enfekte kısrakların çiftleşme mevsimi içinde belirlenerek tedavi edilmeleri, şekillenebilecek embriyonik ölümler ve infertilite sorunlarının en aza indirilmesi açısından önemlidir.

**Anahtar kelimeler:** Kısrağın, Genital organ,  $\beta$ - Hemolitik Streptokok, Koaglutinasyon, Tanımlama.

## Giriş

Atlarda infeksiyöz etkenlerin sebep olduğu endometritisler; abortus ve infertilite ile sonuçlanmaktadır. Buna bağlı döl verimi düşüklükleri at yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Kısrakların genital florasında bulunan C grubu  $\beta$ -hemolitik streptokoklardan, *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*), *S. equi subsp. equi* (*S. equi*), *S. dysgalactiae subsp. equisimilis* (*S. equisimilis*) fırsatçı patojen mikroorganizmalardır. Kısraklarda genellikle klitoral fossa, vestibulum ve vajinada bulunan bu mikroorganizmalar, uterusun anatomik yapı bozuklukları, genital organ muayeneleri ve çiftleşme sırasında uterusu geçer. Bu mikroorganizmalar, uterusun lokal immun yetmezliğinde akut endometritislere neden olurlar (21). Ayrıca uterusun savunma mekanizmasının bozulması da atların en-

dometritisinin patogenezisinde önemli bir faktör olarak düşünülmektedir (18,25,26,28). *S. equi subsp. equi* Strangles'in primer etiyolojik ajanıdır. Ayrıca atların genital infeksiyonları ve mastitislerine neden olmaktadır (19). *Enterococcus faecalis* (*S. faecalis*) içlerinde atların da bulunduğu pek çok hayvanın normal genital florasında bulunur ve zaman zaman çeşitli infeksiyonlara neden olabilir (5,13,20).

Merkel ve ark.(17) 1961- 1985 yılları arasında Almanya'da gebe kalmayan toplam 2118 kısrağın aldıkları klitoris ve serviks örneklerinin % 72'sinden  $\beta$ -hemolitik streptokok izole etmişlerdir. Araştırmacılar izole ettikleri mikroorganizmalara etkili antibiyotikleri saptayarak, kısrağın tedavisi yapıldıktan sonra yetiştirmede kullanıldığını ve bundan sonra döl verimi alındığını bildirmişlerdir. Langoni ve ark.(16), 810 svab örneğinden yapmış oldukları mikroflora çalışmasında % 24.9 *S. zooepidemicus*, % 6.1 *S. equisimilis*, % 5.6 *S. fa-*

ccalis, % 0.4 *S. equi* izole etmişlerdir. Ricketts (21), 1973 - 1979 yılları arasında safkan kısrakların servikal svab örneklerini değerlendirmiştir. Bu çalışmada izole edilen etkenlerin % 14'ü  $\beta$ -hemolitik streptokok, % 7'si nonhemolitik streptokok, % 3'ü a-hemolitik streptokok olarak belirlenmiştir. Amtsberg ve Krabisch (2); 1969 - 1973 yılları arasında inceledikleri 6028 serviks örneğinde en çok  $\beta$ -hemolitik streptokok ve diğer streptokok türlerini belirlemişler, Blobel ve ark. (7) da 57 kısrağın klitoris ve serviksinden aldıkları örneklerden aynı etkenleri izole etmişlerdir.

Yurdaydın ve ark. (29), safkan Arap kısrağı yetiştiriciliği yapılan bir işletmede infertilite sorunu bulunan 86 adet kısrağın serviks ve klitoral sinus örneklerinden yaptıkları incelemede diğer etkenler ile birlikte yüksek oranda *Streptococcus sp.* izole etmişlerdir. Kılıçarslan ve Tavukçuoğlu (14) klinik olarak endometritis teşhisi koydukları kısraklardan *S. aureus*, *E. coli*,  $\beta$ -hemolitik streptokok, *Klebsiella* ve *Enterobacter* izole etmişlerdir. Seyrek-İntaş ve ark. (22) yaptıkları çalışmada 24 kısrağa % 15 oranında *Streptococcus sp.* bulmuşlardır. Şentınver ve ark. (23) rektal ve vaginal muayene ve ultrasonografi ile endometritis teşhisi konulan 45 adet kısrağın % 7.5 *Streptococcus sp.*, % 5 *S. zooepidemicus* izole etmişlerdir.

Streptokoklara bağlı infeksiyonlar, özellikle de *S. equi subsp. equi*'nin neden olduğu infeksiyonlar oldukça yüksek düzeyde bulaşıcıdır. Teşhiste kullanılan izolasyon ve identifikasyon işlemlerinin 7 günden fazla zaman aldığı göz önünde bulundurulursa tedavinin istenilen sonucu verebilmesi ve hayvanların daha kısa zamanda normal aktivitelerine dönebilmeleri için hastalık etkeninin çabuk identifiye edilebileceği yöntemlerin kullanılması gerekmektedir(11). Ko-aglutinasyon testi ve diğer çabuk antijen arama esasına dayalı testler insan hekimliğinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (3,6,10). Bu testlerin yapılışı genellikle basittir ve birkaç dakika içinde sonuç alınabilmektedir. Aynı şekilde Veteriner Hekimlik alanında da bu tür testler çabuk identifikasyon amacı ile kullanılmaktadır ve ko-aglutinasyon testi de bunlardan biridir

(1,19,27). Burdash ve ark.(8), yapmış oldukları bir çalışmada, klinik örneklerden izole edilen 150  $\beta$ -hemolitik streptokokun serogruplandırmasında, bir ko-aglutinasyon ve iki lateks aglutinasyon kiti kullanmışlar ve bunları karşılaştırdıklarında lateks kitleri ile % 96.7 ve % 99.3, ko-aglutinasyon kiti ile de % 100 oranında doğru sonuçlar elde etmişlerdir. Poutrel (19) yapmış olduğu bir çalışmada mastitisli hayvanlardan izole edilen 144 Streptokok suşunu lateks ve ko-aglutinasyon reagentleri ile karşılaştırmalı olarak serogruplandırmış ve lateks aglutinasyon ile suşların % 98'ini, ko-aglutinasyon ile de % 100'ünü doğru olarak serogruplandırmıştır. Tebbut ve ark.(24) Counter immunoelktroforez(CIE) ile ko-aglutinasyon testini karşılaştırmışlar, CIE ile pozitif sonuç veren A grubu 128, B grubu 27, C grubu 46, D grubu 11 ve G grubu 33 suştan sırasıyla ko-aglutinasyon testinde 128, 27, 45, 11, ve 31'inin pozitif sonuç verdiğini saptamışlardır. İzgür ve ark.(12), insanlardan izole edilen 97 streptokok suşunun serogruplandırılmasında ticari olarak sağladıkları Streptococcal Grouping Kit ve laboratuvarında hazırlanan ko-aglutinasyon reagentlerini karşılaştırmışlar ve sadece 3 suşta farklı sonuçlar almışlardır. Araştırılan bu testin hazırlanması kolay, uygulanması basit ve alınan sonuçlar yönünden oldukça güvenilir olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı, kısraklarda fertilitte sorunu yaratan  $\beta$ -hemolitik streptokokların izolasyon ve identifikasyonu, ayrıca ko-aglutinasyon testi ile identifikasyonun teşhis ve sağaltımı çabuklaştırması açısından önemini ortaya koymaktır.

## Materyal ve Metot

### Örneklerin Toplanması

Safkan Arap kısrağı yetiştiriciliği yapılan iki işletmede fertil ve fertilitte düşüklüğü sorunu bulunan 46 kısrağın uterus ve klitorisinden bakteriyolojik muayene amacı ile özel hazırlanmış steril korumalı svablar kullanılarak alınan örnekler Vi-pak Transport Swab System ile Amies Transport Medium'da, +4°C'de laboratuvara ulaştırılmıştır.

### **Besi Yerleri**

**Kanlı agar:**  $\beta$ -hemolitik streptokokların izolasyonu amacıyla % 5 at kanı katılmış Blood Agar Base No 2 (Oxoid) kullanılmıştır.

**Edward's besi yeri:** İzole edilen  $\beta$ -hemolitik streptokokların eskülin hidroliz özelliklerini test etmek amacıyla % 5 at kanı katılmış Edward's Medium (Oxoid) kullanılmıştır.

**Trypticase Soy Buyyon (TSB):** Ko-aglutinasyon testinde grup reagentlerinin hazırlanmasında kullanılan *S. aureus* Cowan I suşunun üretilmesi amacıyla TSB (Oxoid) kullanılmıştır.

**Serumlu Buyyon:** Örneklerden izole edilen  $\beta$ -hemolitik streptokokların sıvı kültürlerini hazırlamak amacıyla kullanılmıştır. Bu amaçla hazırlanan Nutrient buyyon (Oxoid) içerisine % 10 steril at serumu katılmış ve 8 ml miktarlarında tüplere taksim edilmiştir.

**Todd - Hewitt Buyyon (THB):** Örneklerden izole edilen  $\beta$ -hemolitik streptokok suşlarını sero-gruplandırılmalarının yapılabilmesi için THB'den yararlanılmıştır.

### **Standart suşlar**

***S. aureus* Cowan I:** Tiplendirmede, grup spesifik antiserumları içeren ko-aglutinasyon reagentlerin hazırlanmasında ve CAMP testinde kullanılan *S. aureus* Cowan I suşu, A.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir.

**Streptokok grup suşları:** Örneklerden izole edilen streptokokların tiplendirilmesi ve yapılan diğer testlerin kontrolü amacı ile kullanılan streptokok grup standart suşları; Str- A(6/49), Str- B(8/66), Str- C(45/56), Str- D(8/63), Str- E(1/83), Str- G(22/58) ve Str- N(17/71), Çek Cumhuriyeti'nden (National Institut of Public Healty ,CEM- RL Strepto Srobarova 48 100 42 Praha 10 Czech Republic) sağlanmıştır.

### **Standart antiserumlar**

Sero-gruplandırmada kullanılan ko-aglutinasyon reagentlerinin hazırlanması için gerekli antistreptokokal grup spesifik A(2319),

B(2338), C(2287), D(2322), E(2314), G(2287) ve N(2207) antiserumları, Çek Cumhuriyeti'nden (National Institut of Public Healty ,CEM- RL Strepto Srobarova 48 100 42 Praha 10 Czech Republic) sağlanmıştır.

### **Solusyonlar**

Ko-aglutinasyon testinde kullanmak amacıyla, izole edilen streptokokların ekstraksiyonlarının hazırlanmasında Tris buffer (pH 8.0), Tripsin solusyonu(5 mg /ml) ve teste reagentlerin hazırlanmasında fosfat buffer solusyonu (PBS, pH 7.3) kullanılmıştır.

### **Streptokokların izolasyon ve identifikasyonu**

Alınan svab örneklerinden kanlı agara ekimler yapılmış ve aerobik olarak 37°C'de 48 saat inkubasyona bırakılmıştır. Kanlı agarda üreyen  $\beta$ -hemolitik kolonilerden Gram boyama yapılarak, Gram pozitif kok şeklinde görülen, katalaz negatif bakteri kolonileri streptokoklar yönünden identifiye edilmiştir. Identifikasyonda Streptokok olduğu düşünülen izolatlarla CAMP, Eskulin, Sodyum hippurat, Ba-sitrasin duyarlılık, % 6.5 sodyum klorürlü besi yerinde üreme, laktoz, trehaloz, sorbitol, maltoz, mannitol testleri yapılmıştır(15,20).

### **Ko-aglutinasyon Testi**

**Ko-aglutinasyon reagentlerinin hazırlanması:** İzole edilen streptokok suşlarının sero-gruplandırılmasında kullanılan ko-aglutinasyon reagentleri Christensen ve ark.'nın (9) bildirdikleri yöntemle hazırlanmıştır.*S. aureus* Cowan I suşu 500 ml TSB'ye ekilerek 37°C'de 24 saat inkubasyona bırakılmış, inkubasyon sonunda 3500 rpm de 30 dakika santrifüje edilip, bu işlemi takiben 2 kez PBS ile yıkanmıştır. % 0.5 formol içeren PBS içinde 3 saat tutulan *S. aureus* 15 ml PBS ile iki kez tekrar yıkanmış ve son yıkamadan sonra sedimentin PBS içinde % 10'luk süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu süspansiyon, 80°C'lik su banyosunda 4 dakika tutulduktan sonra çeşme suyunda hemen soğutulup, tekrar 15 ml PBS ile iki kez yıkanmıştır. Sediment,

içinde %01 sodyum azid bulunan PBS ile % 10'luk süspansiyon haline getirilerek, kullanılıncaya kadar +4°C'de saklanmıştır. Hazırlanan % 10'luk stafilokok süspansiyonu 2ml miktarlarında 7'ye bölünerek steril şişelere konulmuştur. Herbir süspansiyona 0.2 ml (0.1 ml/ml) streptokok antiserumlarından (A,B,C,D,E, G ve N ) ilave edilerek hazırlanan karışımlar 37°C'de 1.5 saat inkube edilmiş ve inkubasyon sırasında zaman zaman şişeler çalkalanmıştır. Bu süre sonunda karışımlar 2 kez PBS ile yıkanmış ve sedimentten tekrar sodyum azidli PBS içinde % 1'lik süspansiyonlar hazırlanarak testlerde kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır.

**Streptokok suşlarının hazırlanması:** Örneklerden izole edilen streptokok suşlarının gruplandırılmaları için ekstraksiyonları Christensen ve ark.'nın (9) bildirdikleri yöntemle hazırlanmıştır. Bu amaçla izole edilen suşlar 2 ml Todd-Hewitt buyyonu içinde bir gece üretilerek 3000 rpm'de 15 dak. santrifüje edilmiştir. Santrifüj sonunda üst sıvı atılarak, sedimente 0.5 ml 0.2 M tris ve 0.1 ml tripsin (5 mg/ml) ilave edilmiş ve karışım 37°C'de 1 saat tutulduktan sonra testlerde kullanılmıştır.

**Testin yapılışı:** Örneklerden izole edilen  $\beta$ -hemolitik streptokokların serogruplandırılması için bir lam üzerine grup spesifik (A,B,C,D,E,G ve N) reagentlerinden 1'er damla konularak, üzerine eşit miktarlarda tripsinle işlem görmüş streptokoklardan ilave edilmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra 2 dakika içinde aglutinasyonun varlığına göre sonuçlar değerlendirilmiştir. Kümeleşmenin görülmesi pozitif, homojen bulanıklık ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

### Bulgular

#### *Streptokok suşlarının izolasyon ve identifikasyonu*

Bakteriyolojik muayeneler sonucu 46 kısrağın klitorisinden toplam 32 (% 69.6)  $\beta$ -hemolitik streptokok suşu izole edilmiş, uterusundan ise izolasyon yapılamamıştır. Yapılan biyokimyasal testlerle 32 suştan 21'i (% 65.6) *S.equi* subsp. *zoepidemicus*, 7'si (% 21.8) *S.equi* subsp. *equi*, 2'si (% 6.3) *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, 2'si (% 6.3) *E. faecalis* olarak tanımlanmıştır. Çalışmada kısrağın klitoris ve uterusundan izole edilen  $\beta$ -hemolitik streptokok türleri, sayıları ve oranları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Kısrağın klitoris ve uterusundan izole edilen  $\beta$ -hemolitik streptokokların sayısı ve oranları.

Table 1. Number and ratio of  $\beta$ -haemolytic streptococci isolated from clitoris and uterus of mares

izole edilen $\beta$ -hemolitik streptokok türleri	izolasyon Sayısı			
	Klitoris		Uterus	
	Sayı	%	Sayı	%
<i>S. equi</i> subsp. <i>zoepidemicus</i>	21	65.6	-	-
<i>S. equi</i> subsp. <i>equi</i>	7	21.8	-	-
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	2	6.3	-	-
<i>E. faecalis</i>	2	6.3	-	-
Toplam	32	100	-	-

#### *Ko-aglutinasyon reagentlerinin kontrolü*

İzole edilen  $\beta$ -hemolitik streptokok suşlarının serogruplandırılmaları için standart streptokokal A,B,C,D,E,G,N grubu antiserumlarla hazırlanan reagentlerin kontrolü

amacıyla standart streptokok grup A,B,C,D,E,G,N suşları ile koaglutinasyon testi denenmiş ve reagentlerin kendi grubuna ait suşlarla aglutinasyon verdiği ve aralarında kros reaksiyon gerçekleşmediği gözlenmiştir.

### Ko-aglutinasyon test sonuçları

İki işletmeye ait 46 kısırağın klitoris ve uterusundan izole edilen 32 adet  $\beta$ -hemolitik streptokok suşunun ko-aglutinasyon testi ile se-

rogruplandırılmaları, A,B,C,D,E,G ve N grubu streptokokal antiserumlarını içeren reagentlerle lam üzerinde yapılmıştır. Suşların 30'unun (% 93.8) C grubunda, 2'sinin (% 6.2) de D grubunda yer aldığı gözlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Ko -aglutinasyon test sonuçları  
Table 2. Results of co-agglutination test

izole edilen $\beta$ -hemolitik streptokok		Serogruplar						
türü	sayısı	A	B	C	D	E	G	N
S. equi subsp. zooepidemicus	21	-	-	21	-	-	-	-
S. equi subsp. equi	7	-	-	7	-	-	-	-
S. dysgalactiae subsp. equisimilis	2	-	-	2	-	-	-	-
E. faecalis	2	-	-	-	2	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>32</b>	-	-	<b>30</b>	<b>2</b>	-	-	-

### Tartışma ve Sonuç

Kısırakların genital florasında bulunan C grubu  $\beta$ -hemolitik streptokoklar (S. equi subsp. zooepidemicus, S. equi subsp. equi, S. dysgalactiae subsp. equisimilis), kısırakların döl verimini etkileyen nonspesifik patojen mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmaların izole edilerek kısa zamanda identifikasyonlarının yapılması, infekte hayvanlarda şekillenebilecek embriyonik ölümler ve infertilite sorunlarının en aza indirilmesi açısından önemlidir.

Merck ve ark. (17) 1961 - 1985 yılları arasında gebe kalmayan kısırakların klitoris ve serviks örneklerinin % 72'sinden  $\beta$ -hemolitik streptokok izole etmişlerdir. Langoni ve ark. (16) ise yaptıkları araştırmada % 24.9 S. zooepidemicus ve % 6.1 S. equisimilis, % 5.6 E. faecalis, % 0.4 S. equi saptamışlardır. Seyrek-İntaş ve ark. (22) yaptıkları çalışmada 24 kısıraktan % 15 oranında Streptococcus sp izole etmişlerdir. Şenünver ve ark. (23) endometritis teşhisi konulan 45 adet kısıraktan % 7.5 Streptococcus sp, % 5 Streptococcus zooepidemicus saptamışlardır.

Bu çalışmada 46 kısırağın klitorisinden toplam 32 (% 69.6)  $\beta$ -hemolitik streptokok suşu izole edilmiştir. Uteruslarından ise izolasyon yapılamamıştır. Yapılan biyokimyasal testlerle 32 suştan 21'i (% 65.6) S. equi subsp. zooepidemicus, 7'si (% 21.8) S. equi subsp. equi, 2'si (% 6.3) S. dysgalactiae subsp. equisimilis, 2'si (% 6.3) E. faecalis olarak tanımlanmıştır.

Araştırmacıların izolasyon oranındaki verileri ile çalışma bulguları arasındaki farklılık, materyal alımındaki yöntemlerin ve bölgelerin değişikliğinden kaynaklanabilir.

Streptokokların tür düzeyindeki identifikasyonları biyokimyasal testlerle yapılabilmektedir. Ancak bu yöntemlerin zaman alıcı olmaları ve her koşulda uygun sonuç vermemeleri nedeniyle streptokokların teşhisinde antijenik analize yönelik, laboratuvarlarda hazırlanmaları oldukça basit olan reagentlerle yapılan ko-aglutinasyon testi önerilmektedir.

Christiensen ve ark. (9) 33 A, 55 B, 4 C, 37 D, 11 G grubuna ait referans streptokok suşlarını ko-aglutinasyon testi ile incelediklerinde

tüm gruplara ait suşların kendilerine karşı hazırlanan reagentlerle kuvvetli reaksiyon verdiklerini ve kros reaksiyona rastlamadıklarını ve bu testin güvenilir, kolay ve basit yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Burdash ve ark. (8) grup identifikasyonu için üç serogruplandırma kiti kullanmışlardır. Bunlar phadebact (koaglutinasyon), seroSTAT ve streptotex (latex aglutinasyon) kitleridir. Klinik örneklerden izole edilen 150  $\beta$ -hemolitik streptokok suşu, seroSTAT ve streptotex ile sırasıyla % 96.7 ve % 99.3 oranında doğruluk gösterirken, Phadebact, tüm  $\beta$ -hemolitik streptokok suşlarını doğru olarak identifiye etmiştir. Tebbut ve ark. (24), counter immunoelktroforez (CIE) ve koaglutinasyon testini karşılaştırmışlar; CIE pozitif sonuç veren A grubu 128, B grubu 27, C grubu 46, D grubu 11 ve G grubu 33 suştan sırasıyla ko-aglutinasyon testinde 128, 27, 45, 11 ve 31'inin pozitif sonuç verdiğini ve koaglutinasyon testinin diğerine göre kullanışlı olduğunu bildirmişlerdir. Ayhan ve Günalp (4) tarafından yapılan bir çalışmada kullanılan 100 streptokok suşundan presipitasyon testi ile % 64'ü A, % 19'u B, % 3'ü C, % 2'si D ve % 12'si G olarak gruplandırılmış, ko-aglutinasyon testi ile aynı sayıdaki suştan benzer sonuçlar alınmıştır ve testin güvenilir, gruplandırmaya uygun bir test olduğu ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada 46 kısırağın klitoris ve uterusundan izole edilen 32  $\beta$ -hemolitik streptokok suşunun koaglutinasyon testi ile serogruplandırılmaları yapılmış, suşların 30'unun (% 93.8) C grubunda, 2'sinin (% 6.2) D grubunda yer aldığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada  $\beta$ -hemolitik streptokoklar yüksek oranda izole edilmiş olup, bunların identifikasyonlarında bilinen biyokimyasal testlerle birlikte ko-aglutinasyon testinin de kullanımının identifikasyonu kolaylaştırdığı ve daha kısa zamanda sonuç elde edildiği gösterilmiştir. Ayrıca izole edilen  $\beta$ -hemolitik streptokokların çoğunun C grubunda yer aldıkları gözlenmiştir. Bu mikroorganizmaların atların dölverimini düşüren infeksiyöz etkenler sırasında yer aldığı bilinmektedir. Bu nedenle, etkenlerin en kısa zamanda saptanması ve kısırakların sağaltıma alınması at yetiştiriciliği açısından önem taşımaktadır.

## Kaynaklar

1. Akay, Ö., İzgür, M., Esendal, Ö., Çetin, C. (1993): İnek sütlerinden izole edilen streptokok suşlarının sero-gruplandırılması. Doğa Tr J Vet Anim Scie, **17**, 89-95.
2. Amtsberg, G., Krabisch, P. (1975): Ergebnisse der bakteriologischen zervix-topferuntersuchung von Varnblutsutan in den Jahren 1969-1973. Dtsch Tierarztl Wschr, **82**, 97-136.
3. Arvilommi, H. (1976): Gruping of  $\beta$ -haemolytic streptococci by using coagglutination, precipitation, or bacitracin sensitivity. Acta Pathol Microbiol Scand, **84**, 79-84.
4. Ayhan, Z., Günalp, A. (1984): Beta hemolitik streptokok gruplandırmasının önemi ve gruplandırmada kullanılan çeşitli testlerin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bült, **18**, 81-89.
5. Bannister, M. F., Benson, C. E., Sweeney, C. R. (1985): Rapid species identification of group C streptococci isolated from horses. J Clin Microbiol, **21**, 524-526.
6. Berkman, E., Ayhan, Z. (1986): Boğaz kültürlerinde üreyen  $\beta$ -hemolitik streptokokların gruplandırılmasında basitrasine duyarlılık ve ko-aglutinasyon yöntemlerinin birlikte kullanılışı. Türk Hij Der Biyol Derg, **43**, 85-90.
7. Blobel, H., Wlecklinski, C.G., Blobel, K. (1980): Zum nachweis b. Hamolysierender streptokokkein zervix und klitorisstufe propen von stuten. Tierarztl Umscham, **35**, 826-830.
8. Burdash, M.B., Marcio, F.W., Newell, R., Teiti, G. (1981): Group identification of streptococci: Evaluation of three rapid agglutination methods. Amer J Clin Pathol, **76**, 819-822.
9. Christensen, P., Kahlmeter, G., Jonsson, S., Kronvall, G. (1973): New method for the serological grouping of streptococci with specific antibodies adsorbed to protein A-containing staphylococci. Infect Immun, **6**, 881-885.
10. Hahn, G., Nyberg, I. (1976): Identification of Streptococcal groups A,B, and G by slide co-agglutination of antibody sensitized protein-A-containing staphylococci. J Clin Microbiol, **4**, 99-101.
11. Inzana, T.J., Iritani, B. (1988): Rapid detection of group C streptococci from animals by latex agglutination. J Clin Microbiol, **27**, 309-312.
12. İzgür, M., Akın, S., Akay, Ö., Arda, M., Ayhan, H., Esendal, Ö. (1991): İnsanlardan izole edilen streptokok suşlarının ko-aglutinasyon testi ile serogruplandırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg, **21**, 184-193.

13. Jorm, L. R., Love, G. D. (1994): *Genetic structure of populations of  $\beta$ -haemolytic Lancefield group C streptococci from horses and their association with disease*. Res Vet Sci. **57**, 292- 299
14. Kılıçarslan M.R., Tavukçuoğlu F. (1994): *Kısırlıklarda endometritisin teşhis ve tedavisi*. Türk Vet Hek Derg. **6**, 52-56.
15. Koneman, E.W., Janda, W.M., Schereckenberger, P.C., Wim, W.L. (1992): *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fourth Edition, J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
16. Langoni, H., Alvarenga, M. A., Papa, F.O., Sakamoto, C., Simon, J.J., Listoni, F.J.P., Carreria, E.L.C. (1994): *Estudo microbiológico e citológico do trato genital de éguas*. Arg Bras Med Vet Zootec. **46**, 623-636.
17. Merkt, H., Wockener, A., Heilkenbrinker, T., Zemhe, M., Wittenbrink, M.M., Bisping, W. (1987): *Mikrobielle untersuchung in der Stutengynakologie*. Der Praktische Tierarztl. **3**, 5-12.
18. Phillips T. (1995): *Improving fertility: Managing mares with chronic uterine inflammation*. Large Anim Vet **50**, 16-20.
19. Poutrel, B. (1983): *Coporative evulation of commerial latex agglutination and co-agglutination reagents for groups B, C, and D matitis streptococci*. Amer J Vet Res. **44**, 490-492.
20. Quinn P.J., Carter, M.E., Mankey, B.K. and Carter, G.R. (1994): *The Streptococci and Related Cocci*. Clinical Veterinary Microbiology, Wolfe Publishing. London. p. 127-135.
21. Ricketts, S.W. (1981): *Bacteriological examinations of the mare's cervix: Techniques and interpretation of result.*, Vet Rec. **108**, 46-51.
22. Seyrek-İntaş, K., Ülgen, M., Mısırhoğlu, D. (1997): *Bursa yöresinde kısırlıklarda klinik, bakteriyolojik ve sitolojik muayeneleri ile genital enfeksiyonların belirlenmesi*. Ankara Üniv Vet Fak Derg. **43**, 1-9.
23. Şenünver A., Kılıçarslan, M.G. ve Horoz, H., Ak, S., Hasöksüz, M., Ak, K., Pabuççuoğlu, S., Sönmez, C. (1996): *Kısırlıklarda enfeksiyöz infertilite*. Bultendif. **7**, 2-5.
24. Tebbut, G.M., Coleman, D.J. (1976): *Grouping of  $\beta$ -haemolytic streptococci with group specific antibodies adsorbed to staphylococcal protein A* J Clin Path. **29**, 1085-1087
25. Varner, D.D., Blanchard, T.L. (1990): *An update on uterine Defense Mechanisms in the mare*. Equine Vet Sci. **10**, 169-175.
26. Watson, E. D. (1988): *Uterus defence mechanisms in mares resistant and susceptible to persistent endometritis: A review*. Equine Vet J. **20**, 397-400.
27. Watts, J. L., Owans, W.F. (1988): *Evaluation of the rapid mastitis test for identification of Staph. Aureus and Str. Agalactiae isolated from bovine mamary glands*. J Clin Microbiol, **26**, 672-674.
28. Wittenbrink, M.M., Hölzle, L., Bumeister, A. K. (1997): *Machanisms of bacterial pathogenesis in equine endometritis*. Pferdeheilkunde. **5**, 450-452.
29. Yurtaydın, N., Erdeğer, J. Tekin, N., Daşkın, A., Keskin, O., Klug, E. (1992): *Atlarda infertiliteye neden olan mikrofloranın saptanması*. Etlik Vet Mikrobiyol Derg, **7**, 93-107.