

İneklerde subklinik mastitis olgularından izole edilen Streptokokların sero gruplandırılması ve çeşitli biyokimyasal özellikleri üzerine araştırmalar*

İsmail Hakkı EKİN¹

Kemal GÜRTÜRK¹

Özet

Bu çalışmada, Van ve yöresindeki süt ineklerinde subklinik mastitis olgularından izole edilen 92 adet streptokok sero gruplandırıldı ve çeşitli biyokimyasal özellikleri incelendi. İncelenen streptokokların 26 (%28.2)'si β -, 37 (%40.2)'si α - ve 29 (%31.5)'u da γ - hemolitik (non hemolitik) olarak tanımlandı. Serolojik incelemede, streptokokların 35 (%38)'i lateks aglutinasyon testi ile sero gruplandırılabilir. Yapılan sero gruplandırmada, streptokokların 15 (%16.3)'i sero grup B, 17 (%18.5)'i sero grup C, 1 (%1.1)'i sero grup D ve 2 (%2.2)'si sero grup F olarak tanımlandı.

İncelenen sero grup B streptokokların 3 (%20)'ü eskulin, 10 (%66.6)'u Na-hippurat ve 15 (%100)'ü arginini hidrolize ederken, sero grup C streptokokların 4 (%23.5)'ü eskulin, 1 (%5.8)'i Na-hippurat ve 16 (%94.1)'i da arginin pozitif bulundu. Sero grup D streptokok, sadece Na-hippuratı ve 2 adet F grubu streptokokun ikisi eskulini, bir (%50)'i de arginini hidrolize etti. Sero gruplandırılmayan 57 adet streptokokun 20 (%35.08)'si eskulini, 19 (%33.3)'ü Na-hippuratı ve 15 (%26.3)'i de arginini hidrolize etti. Sero grup C, D ve F streptokokların tümü CAMP testinde negatif bulunurken, sero grup B streptokokların 11 (%73.3)'i ve sero gruplandırılmayan streptokokların da 7 (%12.3)'si CAMP testinde pozitif bulundu.

İncelenen streptokokların eskulin hidrolizi ve CAMP testi ile sero grup özellikleri karşılaştırıldığında, 15 adet sero grup B streptokokun 9 (%60)'u ve sero gruplandırılmayan 57 adet streptokokun 20 (%35.1)'si CAMP pozitif – eskulin negatif bulundu. Sadece sero grup B streptokoktan 2 (%13.3)'si CAMP pozitif – eskulin pozitif reaksiyon verdi. Sero grup B streptokoklardan 1 (%6.6)'i CAMP negatif – eskulin pozitif bulunurken, sero grup C streptokokların 4 (%23.5)'ü, sero grup F streptokokların her ikisi ve sero gruplandırılmayan streptokokların 7 (%12.3)'si benzer reaksiyon verdi. Sero grup C streptokokların 13 (%76.5)'ü CAMP negatif – eskulin negatif bulunurken sero grup B streptokokların 3 (%20)'ü, sero gruplandırılmayan streptokokların da 30 (%52.6)'ü benzer reaksiyon verdi.

Anahtar kelimeler: Streptococcus, Sero gruplandırma, subklinik mastitis, inek

Summary

Studies on The Serogrouping and Biochemical Properties of Streptococci Isolated From Cows With Subclinical Mastitis

In this study, 92 streptococci isolated from dairy herds with subclinical mastitis in and around Van were serogrouped and examined for various biochemical properties. In respect of haemolytic properties of streptococci, 26 (28.2%) were identified as β -, 37 (40.2%) as α - and 29 (31.5%) as γ -haemolytic. Of the examined streptococci, 35 (38%) could be serogrouped by Latex agglutination test. Among the 35 isolates, 15 (16.3%) were serogrouped in group B, 17 (18.5%) in group C, 1 (1.1%) in group D and 2 (2.2%) in group F respectively.

In respect of esculin, Na-hippurate and arginin hydrolysis, of the examined sero group B streptococci 3 (20%) were positive for esculin, 10 (66.6%) for Na-hippurate and 16 (94.1%) for arginin respectively. Of the sero group C streptococci 4 (23.5%) were found positive for esculin, 1 (5.8%) for Na-hippurate and 16 (94.1%) for arginin. One sero group D streptococci hydrolyzed only Na-hippurate. Of the 2 sero group F streptococci, all were found to be positive for esculin and 1 (50%) for arginin. Of the 57 non serogrouped streptococci 20 (35.08%) were found positive for esculin hydrolysis, 19 (33.3%) for Na-hippurate and 15 (26.3%) for arginin. All sero group C, D and F streptococci were negative with CAMP test, whereas 11 (73.3%) of the sero group B and 7 (12.3%) of the non serogrouped streptococci were found to be CAMP positive.

When the biochemical properties of streptococci in respect of esculin hydrolysis and CAMP reaction were compared to serogrouping, 9 (60%) sero group B streptococci and 20 (35.1%) non serogrouped streptococci were found to be CAMP positive-esculin negative. Only 2 (13.3%) group B streptococci were CAMP positive-esculin positive. One (6.6%) of sero group B, 4 (23.5%) of sero group C, 2 (100%) of group F and 7 (12.3%) of non serogrouped streptococci were found to be CAMP negative-esculin positive. Whereas 13 (76.5%) of sero group C streptococci were found to be CAMP negative-esculin negative, 3 (20%) of group B and 30 (52.6%) non serogrouped streptococci gave the same reaction.

Key Words: Streptococcus, Serogrouping, Subclinical mastitis, Cow

Giriş

Kültür ırkı süt sığırcılığı, son zamanlarda önemli bir gelişim göstermekte ve bu gelişim ile birlikte

*Bu araştırma, Y.Y.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiş (97 VF 034) aynı isimli Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiştir.

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı-Van.

gün geçtikçe çeşitli problemler de gündeme gelmektedir. Bu problemlerin başında, mastitis gelmektedir.

Mastitis, meme dokusunun süt yapan bezleri (alveoller ve meme parankimi) ile sinus ve kanallarında meydana gelen enfeksiyon olarak tanımlanmaktadır (1). Kompleks bir hastalık olduğu bilinen mastitisin patogenezinin henüz tam olarak açıklanmadığı bildirilmiştir (2).

Mastitiste enfeksiyonun şiddetine göre, klinik (perakut, akut, subakut ve kronik) ve subklinik olmak üzere iki form görülmektedir. Süt inekleri üzerinde yapılan çalışmalarda, mastitis olgularının % 93-98'ini subklinik mastitislerin oluşturduğu tespit edilmiştir (3,4).

Subklinik mastitisinin kesin teşhisi, etken izolasyonu ve identifikasyonu ile mümkün olmaktadır (1,2). Bunun yanında, subklinik mastitis olgularında sütte değişen derecelerde meydana gelen yangısal değişikliklerin kimyasal yöntemlerle tespiti de hastalığın teşhisinde önemli bir yer tutmaktadır. California mastitis test (CMT), Wisconsin mastitis testi, Whiteside testi ve somatik hücre sayımı, bu amaç için en fazla yararlanılan testlerdir (5). Bunun yanı sıra son yıllarda subklinik mastitis teşhisinde laktat dehidrojenaz (LDH), aspartat transferaz, alkalın fosfataz (ALP) aktivitesinin tespitine dayalı diğer testlerden de yararlanılmaktadır (3).

Mastitise neden olan mikrobiyel etkenler çok çeşitli (koliform bakteriler, *Corynebacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma spp.*, bazı mantar ve mayalar) olmalarına rağmen, yapılan çalışmalarda hastalığın genellikle Streptokok ve Stafilokoklardan ileri geldiği tespit edilmiştir (6,7). Streptokoklar, ineklerde akut veya kronik seyreden mastitislere neden olmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda (4,8), subklinik mastitis olgularının %13-34'ünden *Streptococcus* cinsine bağlı bakteriler izole edilmektedir. Bunlar arasında özellikle *Str. agalactiae* (Serogrup B streptokok) önemli bir yer tutmakta ve ineklerin kuru dönemi gibi sağım yapılmayan dönemlerinde, sütte hızla çoğalarak klinik mastitise ve bunun sonucu olarak memenin körelmesine sebep olmaktadır (7,8). *Str. uberis*'in, subklinik ve akut klinik mastitise sebep olduğu ancak kısa süre içinde iyileşme görüldüğü, *Str. dysgalactiae*'nin ise meme kanalına adhese olarak, akut ve şiddetli seyreden mastitisler ile uzun süreli subklinik mastitise yol açtığı tespit edilmiştir (5,7). Ayrıca *Str. pyogenes*, Serogrup G ve L streptokok, ve *Str. zooepidemicus* ile daha az oranda da *Str. viridans* ve *Str. pneumoniae* gibi streptokoklar da subklinik mastitis olgularından izole edilmektedir (4,7).

Streptokokların identifikasyonunda genellikle eskulin, Na-hippurat ve arginin'in hidrolizi ile trehaloz, sorbitol, mannitol, inulin ve salisin gibi karbonhidratların fermentasyonuna dayalı biyokimyasal testler ile serogrup spesifik C-polisakkarid antijeninin belirlenmesine yönelik serolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır (7,9,10). Bunun yanında özellikle serogrup B streptokokların identifikasyonunda CAMP reaksiyonundan da yararlanılmaktadır (11). Biyokimyasal yöntemler zaman alıcı olduğundan, streptokokların lateks aglutinasyon, ko-aglutinasyon ve immunodiffüzyon gibi serolojik testler yardımıyla serogruplandırılarak identifikasyonunun önemi gün geçtikçe artmaktadır (12,13).

Ülkemizde, ineklerde mastitis olgularından izole edilen streptokokların identifikasyonuna yönelik araştırmaların çoğunda (14,15,16) biyokimyasal yöntemler kullanılmakta, serolojik yöntemlerin kullanıldığı araştırmalara (13,17) ender rastlanmaktadır. Bu çalışmada, ineklerde subklinik mastitis olgularından izole edilen streptokoklar, lateks aglutinasyon yöntemi ile serogruplandırıldı ve çeşitli biyokimyasal özellikleri karşılaştırıldı.

Materyal ve Metot

Araştırmada, Van il'i ve çevresinde 3'ü devlet ve 35'i özel sektöre ait olan toplam 38 farklı işletmeden alınan 4.400 süt örneği, California Mastitis Test (CMT) ile subklinik mastitis yönünden incelendi ve subklinik mastitis olgusu tespit edilen 200 süt örneğinin 74 (%37)'ünden izole edilen 92 adet streptokok suşu, araştırmanın materyalini oluşturdu.

İneklerde subklinik mastitis teşhisi:

Alınan süt örneklerinin subklinik mastitis yönünden incelenmesi amacıyla CMT testinden yararlanıldı. Test, Schalm ve ark. (18)'nin bildirdiği şekilde uygulandı.

Numune alınması:

Numuneler, CMT'de pozitif sonuç veren ve klinik mastitis bulguları saptanmayan meme loplardan usulüne uygun olarak alındı. Bunun için önce meme başları %70 alkollü pamukla silindi ve süt örnekleri, numaralandırılmış plastik kapaklı steril tüplere 8-10 ml miktarında alınarak kısa sürede ve uygun

koşullarda laboratuvara getirildi.

İzolasyon ve identifikasyon:

Streptokokların izolasyonu için süt örneklerinden %8-10 defibrine koyun kanı katılmış Blood Agar Base (MERCK®) ve %5-7 defibrine koyun kanı katılmış Edwards Medium (OXOID®)'a ekim yapıldı. Üreyen kolonilerden, Gram pozitif, ikili veya zincir şeklinde kok (yuvarlak veya oval) görünümlü olan bakteriler arasında katalaz testinde negatif sonuç verenler, *Streptococcus spp.* olarak identifiye edildi (19).

Serogruplandırma:

İzole edilen streptokokların serogruplandırılmasında, A, B, C, D, F, G grup spesifik antikorları ile kaplanmış lateks partiküllerinin hazır kitleri (PROLEX™ STREPTOCOCCAL GROUPING LATEX KIT PL.050, U.K.) kullanıldı ve test, prospektüsünde önerildiği gibi uygulandı.

Biyokimyasal testler:

Hemoliz testi:

İzole edilen streptokokların %8-10 defibrine koyun kanı katılmış kanlı agara ekimi yapıldı ve 37°C'de 18-24 saat inkübasyon sonunda oluşturdukları hemoliz tipine göre α -, β - veya γ - (hemolitik olmayan) hemolitik olarak ayırt edildi (12).

Eskulin hidrolizi:

Bunun için, %5-7 defibrine koyun kanı ilave edilmiş Edward besi yerine streptokokların ekimi yapıldı. Koloni etrafında koyu kahverengi bir zon oluşumu pozitif, renk değişikliğinin görülmemesi ise negatif olarak değerlendirildi (19).

Hippurat hidrolizi:

Bunun için %1 Na-hippurat içeren ortama 24 saatlik bakteri kültüründen inokulasyon yapıldı ve 35°C'de 2-3 saat inkübe edildi. Sonra 0.2 ml ninhidrin ayırıcı ilave edilerek iyice karıştırıldı ve 35°C'de 10 dakika içinde oluşan reaksiyon değerlendirildi. Karışımın koyu mavi veya lacivert rengini aldığı olgular pozitif, renk değişikliğinin olmadığı veya açık mavi rengin görüldüğü olgular ise negatif olarak değerlendirildi (9,12).

Arginin hidrolizi:

Test için, 24 saatlik bakteri kültüründen argininli besi yerine inokulasyonlar yapıldı ve 35-37°C'de 2-7 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüpler karıştırılarak her birine 0.1 ml Nessler ayırıcı damlatıldı. Gözlenen reaksiyonda portakal sarısından kahverengiye kadar değişen olgular pozitif, renk değişiminin görülmediği olgular ise negatif olarak değerlendirildi (20).

CAMP (Christie, Atkins and Munch-Peterson) testi:

Bu test, Christie ve ark. (21)'nin bildirildiği şekilde uygulandı.

Bulgular

Subklinik mastitis yönünden incelenen 4.400 süt örneğinin 200 (%4.54)'ü CMT ile pozitif bulundu. Subklinik mastitisli bulunan süt örneklerinin 74 (%37)'ünden 92 adet *Streptococcus spp.* izole ve identifiye edildi.

Lateks aglutinasyon testi ile incelenen 92 adet streptokokun 35 (%38)'i serogruplandırılabilirdi. Serogruplandırılabilen streptokokların 15 (%16.3)'i B, 17 (%18.5)'si C, 1 (%1.1)'i D ve 2 (%2.2)'si F serogrup spesifik antiserumlar ile ayrı ayrı pozitif reaksiyon verdi. Tüm streptokok suşları, A ve G serogrup spesifik antiserumlar ile negatif bulundu. Serogrup B olarak identifiye edilen bir streptokok, aynı zamanda serogrup C spesifik antiserumu ile pozitif reaksiyon verdi (Tablo 1).

İncelenen streptokokların 26 (%28.2)'si β -, 37 (%40.2)'si α - ve 29 (%31.5)'unun da γ - hemolitik olduğu tespit edildi. Bunlar arasında β - hemolitik streptokokların %6.5'i serogrup B, %7.6'sı serogrup C, %1.1'i serogrup F ve %13'ünün ise serogruplandırılmayan streptokok olduğu; α - hemolitik streptokokların %1.1'i serogrup B, %3.3'ü serogrup C, %1.1'i serogrup D, %1.1'i serogrup F ve %33.7'sinin serogruplandırılmayan streptokok; γ - hemolitik olanların da, %8.7'si serogrup B, %7.6'sı serogrup C ve %15.2'sinin ise serogruplandırılmayan streptokok oldukları tespit edildi (Tablo 2).

Tablo 3'te, incelenen streptokokların çeşitli biyokimyasal özellikleri gösterildi. İncelenen 15 adet serogrup B streptokokun 3 (%20)'ü eskulin, 10 (%66.6)'u Na-hippurat ve 15 (%100)'i arginini hidrolize ederken, 11 (%73.3)'i de CAMP testinde pozitif bulundu. İncelenen 17 adet serogrup C streptokokun 4

(%23.5)'ü eskulin, 1 (%5.8)'i Na-hippurat ve 16 (%94.1)'sı da arginini hidrolize ederken, CAMP testinde hepsi negatif bulundu. Bir adet serogrup D streptokok, sadece Na-hippuratı, 2 adet serogrup F streptokokun 2 (%100)'si eskulini, 1 (%50)'i de arginini hidrolize etti. İncelenen 57 adet serogruplandırılmayan streptokokun 20 (%35.1)'si eskulini, 19 (%33.3)'ü Na-hippuratı ve 15 (%26.3)'i de arginini hidrolize ederken, 7 (%12.3)'si CAMP testinde pozitif bulundu.

İncelenen streptokokların 29 (%31.5)'u CAMP pozitif-eskulin negatif, 2 (%2.2)'si CAMP pozitif-eskulin pozitif, 14 (%15.2)'ü CAMP negatif-eskulin pozitif ve 47 (%51.1)'si CAMP negatif-eskulin negatif bulundu (Tablo 4). Eskulin hidrolizi ve CAMP testi ile serogruplandırmadan elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında (Tablo 4); serogrup B streptokokların 9 (%60)'u CAMP pozitif-eskulin negatif bulunurken, serogruplandırılmayan streptokokların 20 (%35.1)'si benzer reaksiyon verdi. Sadece 2 (%13.3) adet serogrup B streptokok CAMP pozitif – eskulin pozitif bulundu. Serogrup B streptokokların 1 (%6.6)'i CAMP negatif – eskulin pozitif bulunurken, serogrup C streptokokların 4 (%23.5)'ü, serogrup F streptokokların tamamı ve serogruplandırılmayan streptokokların 7 (%12.3)'si benzer reaksiyon verdi. Serogrup B streptokokların 3 (%20)'ü, serogrup C streptokokların 13 (%76.5)'ü ve serogrup D streptokok ile serogruplandırılmayan streptokokların 30 (%52.6)'u ise CAMP negatif – eskulin negatif bulundu.

Tablo 1. İncelenen Streptokokların Lateks aglutinasyon testinde A, B, C, D, F ve G serogrup spesifik antiserumlarla yapılan serogruplandırılmasında elde edilen sonuçlar

N	Pozitif reaksiyon (%)						Serogruplandırılmayan
	A	B	C	D	F	G	
92	0	15* (16.3)	17 (18.5)	1 (1.1)	2 (2.2)	0	57 (62)

n: İncelenen streptokok sayısı

*: Bir streptokok, aynı zamanda grup C spesifik antiserumu ile kros reaksiyon verdi

Tablo 2: İncelenen Streptokok suşlarının hemolitik özelliklerinin dağılımı

Streptokok	Hemoliz						Toplam	
	β		α		γ			
	n	%	n	%	n	%	n	%
Serogrup								
B	6	6.5	1	1.1	8	8.7	15	16.3
C	7	7.6	3	3.3	7	7.6	17	18.5
D	0	-	1	1.1	0	-	1	1.1
F	1	1.1	1	1.1	0	-	2	2.2
Serogruplandırılmayan	12	13	31	33.7	14	15.2	57	62
Toplam	26	28.2	37	40.2	29	31.5	92	100

n: Pozitif streptokok sayısı

Tablo 3. İncelenen streptokokların bazı biyokimyasal özelliklerine ilişkin sonuçlar

Streptokok	n	Test* (%)			
		Eskulin	Na Hippurat	Arginin	CAMP Testi
Serogrup					
B	15	3 (20)	10 (66.6)	15 (100)	11 (73.3)
C	17	4 (23.5)	1 (5.8)	16 (94.1)	0
D	1	0	1 (100)	0	0
F	2	2 (100)	0	1 (50)	0
Serogruplandırılmayan	57	20 (35.1)	19 (33.3)	15 (26.3)	7 (12.3)

*: Pozitif streptokok sayısı, n: İncelenen streptokok sayısı

Tablo 4. İncelenen streptokokların serogrup, eskulin hidrolizi ve CAMP testinden elde edilen sonuçların karşılaştırılması

Streptokok Serogrup	N	Test (%)			
		CAMP + Eskulin -	CAMP + Eskulin +	CAMP - Eskulin +	CAMP - Eskulin -
B	15	9* (60)	2 (13.3)	1 (6.6)	3 (20)
C	17	-	-	4 (23.5)	13 (76.5)
D	1	-	-	-	1 (100)
F	2	-	-	2 (100)	-
Serogruplandırılmayan	57	20 (35.1)	-	7 (12.3)	30 (52.6)
Toplam (%)	92	29 (31.5)	2 (2.2)	14 (15.2)	47 (51.1)

*: Bir streptokok aynı zamanda grup C antiserumu ile kros reaksiyon verdi

n: İncelenen Streptokok sayısı

+: Pozitif

-: Negatif

Tartışma ve Sonuç

Süt inekleri üzerinde yapılan araştırmalarda, subklinik mastitise neden olan etkenlerin çok çeşitli olmasına rağmen, enfeksiyonun çoğunlukla Gram pozitif koklardan (Streptokok, Stafilokok) ileri geldiği bildirilmektedir (6,11). Yapılan çalışmalarda subklinik mastitis olgularının % 13-34'ünden *Streptococcus spp.* izole edildiği, *Str. agalactiae*, *Str. uberis* ve *Str. dysgalactiae*'nın mastitise neden olan en önemli streptokok türleri olduğu bildirilmektedir (4,7,8,22,23). *Str. agalactiae* serogrup B, *Str. dysgalactiae*, serogrup C streptokok olarak identifiye edilmektedir. *Str. uberis*'in ise bazı suşları serogrup E spesifik antiserumlarla reaksiyon verirken çoğu suş serogruplandırılmamaktadır (7,10,11).

Bu araştırmada CMT ile subklinik mastitis tespit edilen 200 süt örneğinin 74 (%37)'ünden izole edilen 92 adet streptokok suşu serogruplandırıldı ve çeşitli biyokimyasal özellikleri ile karşılaştırıldı.

Akay ve ark. (13), mastitisli sütlerden izole ettikleri 295 streptokok suşunun %11.5'ni serogrup A, %36.27'sini serogrup B, %20.67'sini serogrup C, %14.23'ünü serogrup D ve %5.8'ini serogrup E streptokok olarak serogruplandırılabilirdiğini ve %12.20'sinin ise serogruplandırılmadığını bildirmektedir. Rund (22) ise incelediği 160 streptokok suşunun %19.37'sini serogrup B, %21.87'sini serogrup C, %6.25'ini serogrup D, %16.87'sini serogrup E, %3.75'inin de serogrup L olarak identifiye ettiğini, %31.8'inin de serogruplandırılmadığını rapor etmektedir. Kunter (23) de, süt numunelerinden izole ettiği 12358 streptokok suşunun %0.05'ini serogrup A, %35'ini serogrup B, %17.1'ini serogrup C, %5.8'ini serogrup D, %7.7'sini serogrup E, %1.1'ini serogrup G, %5.8'ini serogrup L, %1.6'sını serogrup N, %1.2'sini serogrup P ve %0.7'sini serogrup U olarak serogruplandırırken, %21.6'sının serogruplandırılmadığını bildirmektedir.

Bu araştırmada, incelenen 92 streptokok suşunun %16.3'ü serogrup B, %18.5'i serogrup C, %1.1'i serogrup D, %2.2'si serogrup F spesifik antiserumlarla reaksiyon verirken %62'si serogruplandırılmadı. Araştırmada A, B, C, D, F ve G serogrup spesifik antiserumlar kullanıldı fakat serogrup A ve G streptokok tespit edilemedi. Subklinik mastitis olgularından sıklıkla serogrup B, C, D, E streptokokların izole edildiği diğer araştırmacılar (4,7,24) tarafından da bildirilmektedir. Fakat bu araştırmada serogruplandırılabilen streptokokların oranı diğer araştırmacılara (6,13,22,23) göre düşük bulundu. Araştırmada sadece A, B, C, D, F, G gibi subklinik mastitis olgularından sıklıkla izole edilen streptokok serogruplarına karşı antiserumların kullanılmasından dolayı diğer serogrup streptokokların tespit edilememesi, serogruplandırılmayan streptokok sayısının fazla bulunmasında etkili olduğu söylenebilir.

Serogruplandırmanın yanında CAMP reaksiyonu, eskulin ve Na-hippurat hidrolizi, mastitise neden olan streptokokların ayırıcı teşhisinde en sık kullanılan biyokimyasal testlerdir (9). Önemli mastitis etkenlerinden birisi olan *Str. agalactiae* suşlarının %79-100'ü CAMP testinde pozitif bulunmaktadır (2,21,22,23,25). *Str. uberis* ve serogrup G streptokok (*Str. canis*)' ların da CAMP benzeri reaksiyon

gösterdiği bilinmektedir (26).

Rund (22), serogrup B streptokokların %87'sini CAMP pozitif-eskulin negatif bulurken serogrup E streptokokların %18.5'inin benzer reaksiyon verdiğini bildirmektedir. Aynı araştırmacı serogrup C streptokokların %97.14'ünü CAMP negatif-eskulin negatif bulurken serogrup B streptokokların %9.67'sinin, serogrup E streptokokların %11.11'inin ve serogruplandırılmayan streptokokların da %35.29'unun benzer reaksiyon verdiğini bildirmektedir. Kunter (23) de serogrup B streptokokların %85.6'sının CAMP pozitif-eskulin negatif bulurken serogrup E streptokokların %5.3'ünün ve serogrup U streptokokların %6.3'ünün de benzer reaksiyon verdiğini bildirmektedir. Aynı araştırmacı serogrup C streptokokların %98.8'inin CAMP negatif-eskulin negatif reaksiyon verdiğini, serogrup B streptokokların %13.4'ünün, serogrup G streptokokların %59.7'sinin, serogrup L streptokokların %97'sinin, serogrup K streptokokların %19.4'ünün ve serogruplandırılmayan streptokokların ise %26.1'inin benzer reaksiyon verdiğini bildirmektedir.

Bu araştırmada, serogrup B streptokokların %60'ı CAMP pozitif-eskulin negatif bulunurken, serogruplandırılmayan streptokokların %35.1'i benzer reaksiyon verdi. Ayrıca serogrup C streptokokların %76.5'i CAMP negatif-eskulin negatif bulunurken, serogrup B streptokokların %20'si ve serogruplandırılmayan streptokokların %52.6'sı benzer reaksiyon verdi. Araştırmada, CAMP pozitif-eskulin negatif reaksiyon veren 29 streptokoktan sadece 9 (%31)'u serogrup B streptokok olarak tanımlandı. Diğer taraftan serogruplandırılmayan streptokoklardan 20 (%69)'ünün benzer reaksiyon vermesi, sadece biyokimyasal testlerle yapılacak identifikasyonlarda serogruplandırılmayan streptokokların *Str. agalactiae* olarak yanlış teşhis riskini arttırabileceğini göstermektedir. Fakat araştırmada CAMP pozitif-eskulin negatif streptokokların çoğunun serogrup B spesifik antiserumla reaksiyon vermemesi testin duyarlılığı ile de ilgili olabilir. Bazı araştırmacılar (27,28), streptokokların serogruplandırılmasında lateks aglutinasyon testinin duyarlılığının %90'ın üzerinde olduğunu bildirmektedirler. Bunun yanı sıra serogrup B streptokokların %20'sinin CAMP negatif-eskulin negatif bulunması, serogrup C ve B streptokoklar arasında daha önce bildirilen (10,12) kros reaksiyonlardan dolayı bu serogrup streptokokların identifikasyonunda problem teşkil edebilir. Araştırmada serogrup C ve B spesifik antiserumlarla kros reaksiyon veren bir suş, CAMP pozitif-eskulin negatif bulundu ve serogrup B olarak tanımlandı.

Bu araştırmada elde edilen sonuçlar, subklinik mastitis olgularından sıklıkla izole edilen *Str. agalactiae* (serogrup B) ve serogrup C streptokokların identifikasyonunda biyokimyasal testlerin (CAMP reaksiyonu, eskulin hidrolizi) yeterli olmadığını göstermektedir. Ayrıca kullanılan test Kit'inin prospektüsünde, Kit'in özellikle β -hemolitik streptokokların serogruplandırılmasında kullanılması önerilmektedir. Fakat bu araştırmada β -hemolitik streptokok oranı, diğer araştırmacılar (14,22,23) göre daha düşük bulundu. Araştırmada serogruplandırılabilen streptokokların sadece %15.2'si β -hemolitik gösterirken, %6.6'sının α -hemolitik ve %16.3'ünün de γ -hemolitik olduğu tespit edildi. Rund (22), incelediği 160 streptokok suşunun %61.2'sinin β -hemolitik, %34.37'sinin α -hemolitik ve %4.37'sinin γ -hemolitik olduğunu, Kunter (23) ise süt numunelerinden izole ettiği streptokokların %34'ünün β -hemolitik, %51.37'sinin α -hemolitik ve %14.26'sının da γ -hemolitik olduğunu bildirmektedir.

Sonuç olarak, subklinik mastitis olgularından izole edilen streptokokların identifikasyonunda biyokimyasal testlerin yanında serolojik testlerin de kullanılmasının, *Str. agalactiae* (serogrup B) ve *Str. dysgalactiae* (serogrup C) gibi önemli mastitis etkenlerinin teşhisi için gerekli olduğu ve elde edilen bulguların konu ile ilgili yapılacak müteakip araştırmalarla daha iyi değerlendirilebileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Deveci, H., Apaydın, A.M., Kalkan, C. ve Öcal, H. Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. F.Ü. Basımevi, Elazığ (1994).
2. Maisi, P., Mattila, T. And Sandholm, M. Mastitis whey - a good medium for bacteria? Acta Vet. Scand. 25, 297-308 (1984).
3. National Mastitis Council of USA. Current concepts of Bovine Mastitis Isr. J. Vet. Med. 42,4,405-415 (1978).
4. Säxena, R.K., Dutta, G.N., Borah, P. And Buragohain, J. Incidence and etiology of bovine subclinical mastitis. Indian Vet. J. 70:11,1079-1080 (1993).
5. Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Kahraman, M., Akay, Ö., Ilgaz, A., İzgür, M. ve Diker, K.S. Özel Mikrobiyoloji, Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik Hastalıklar. Medisan Yayın Serisi No:26. 4.Baskı, Ankara, (1997).
6. Watts, J.L. Characterization and identification of Streptococci isolated from bovine mammary glands. J. Dairy. Sci., 71: 1616-164 (1988).
7. Blobel, H. und Schiesser, T. Handbuch der Bakteriellen Infektionen bei Tieren. Band II. VEB Gustav Fisher Verlag., (1982).
8. Malinowski, E., Klossowska, A. and Szalbierz, M. Pathogenicity to the mammary gland of microorganisms isolated from clinical and subclinical mastitis. Medycyna Weterynaryjna. 48 (10) 467-469 (1992).
9. Carter, G.R. Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. Fourth edition. Springfield. Illinois. U.S.A. (1984).

10. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. vol.2. Baltimore. U.S.A. (1986).
11. Hahn, G., Ergebnisse aus der Streptokokken-zentrale in Kiel von 1965 bis 1978 – mastitis-Streptokokken. Zbl. Bakt. Hyg., I.Abt. Orig. A 249, 323-340 (1981).
12. Facklam, R.R. Manual of Clinical Microbiology. Fourth edition. Washington. U.S.A. (1985).
13. Akay, Ö., İzgür, M., Esenal, Ö. ve Çetin, C. İnek sütlerinden izole edilen streptokok suşlarının sero gruplandırılması. TÜBİTAK Vet. Hay. Arş. Grubu. Proje No: VHAG-760 (1993).
14. Kahraman, M. Sığır mastitisi üzerine araştırmalar 2. Streptokoklara bağlı mastitis. Uludağ Üniversitesi Vet. Fak. Der. 1-2-3: 4,5 (1985).
15. Arda, M. ve İstanbulluoğlu, İ. Mastitislere sebep olan aerobik-mikroaerofilik, anaerobik bakterilerin izolasyon ve identifikasyonları üzerinde çalışmalar. T.B.T.A.K. VHAG- 304 (1980).
16. Ulusoy, E., İzgür, M., Akay, Ö., Diker, K.S., Aydın, N. ve Arda, M. Mastitisli inek sütlerinden izole edilen mikroorganizmaların identifikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine bir araştırma. A.Ü.Vet.Fak.Dergisi. 32(2):358-370 (1985).
17. Aydın, N., Girgin, H., Canbazoğlu, M. ve Aksak, E. İnsan ve hayvan orijinli beta hemolitik Streptokokların serolojik gruplandırılması. Doğa Tr. J. of Vet. and Anim. Sci. 14, 228-238 (1990).
18. Schalm, O.W., Carrol, F.J. and Jain, N.C. Bovine Mastitis. Lea-Febiger, Philadelphia, USA. (1971).
19. Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R., Janda, W.M. Sommers, H.M. and Winn, W.C. Color atlas and text book of diagnostic microbiology third edition. Lippincott comp. Philadelphia. USA (1988).
20. Harrigan, W.F. and McCance, M.E. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Revised ed. Academic press. London (1976).
21. Christie, R., Atkins, N.E. and Munch-Peterson, E. A note on a lytic phenomenon shown by group B streptococci. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 22, 197-200 (1944).
22. Rund, J. Zur bakteriologischen untersuchung von milchproben auf Streptococcus agalactiae. Arch. Exper. Vet. Med., Leipzig 40, Juli, 4, S. 587-590 (1986).
23. Kunter, E. Zur bakteriologischen diagnostik des Streptococcus agalactiae in milchproben: CAMP-test, hydrolyse von askulin, hamolysearten. Arch. Exper. Vet. Med. Leipzig 42: 71-82 (1988).
24. Havelka, B. and Skarkova, S. Isolation of streptococci of various serological groups from animals. Vet. Med. 34 (12). 743-749 (1989).
25. Banzhaf, K. and Walsler, K. Identification of Streptococcus agalactiae with latex agglutination test and CAMP test. Tierärztliche-Umschau., 43: 444, 447-449 (1988).
26. Lammler, Ch., Gürtürk, K. and Blobel, H. CAMP-like reactions of group G streptococci from dogs. Med. Sci. Res. 15, 217-218 (1987).
27. Hogan, J.S. Smith, K.L., Todhunter, D.A. and Schoenberger, P.S. sensitivity and specificity of latex agglutination tests used to identify Streptococcus agalactiae and Staphylococcus aureus isolated from bulk tank milk. Am. J. Vet. Res. 49:9, 1537-1539 (1988).
28. Inzana, T.J. and Iritani, B. Rapid detection of group C streptococci from animals by latex agglutination. J. of Clin. Microbiol. 27: 2, 309-312 (1989).