

The Effect of Aerobic Condition and The Incubation Period On the Isolation of Group a Beta Haemolytic Streptococci

Ilknur Karalezli

Selcuk University, Vocational School of Health Services, Department of Medicinal Laboratory,
Konya, Turkey, E-mail: ikaralezli@hotmail.com

Mustafa Onur Aladag (Corresponding author)

Selcuk University, Vocational School of Health Services, Department of Medicinal Laboratory,
Konya, Turkey, E-mail: moaladag@selcuk.edu.tr, moaladag72@gmail.com

Mustafa Kul

Selcuk University, Vocational School of Health Services, Department of Medicinal Laboratory,
Konya, Turkey, E-mail: mustafakul@hotmail.com

Abstract

The effect aerobic, anaerobic condition and the incubation period on the isolation of group A beta haemolytic streptococci investigated. Totally 237 throat culture investigated, 165 (69.6%) consist kinder garden and orphanage and 72 (30.4%) taken from pediatric polyclinic. Culture made on 5% defibrinated sheep blood agar. Cultivation made in two media one of them incubated at 35°C for 24 and 48 hours. The next put at anaerobic Gas Pack system and incubated for 48 hours. Grouping of the isolates made on subcultures of the isolates by susceptibility of bacitracin and co-trimoxazole.

After 24 hours an aerobic incubation observed group A 24 (10.1%) and after 48 hours this number increased to 37 (15.6%). The isolation rate at anaerobic incubation was 82 (34.6%).

The effect of the anaerobic condition on the isolation of group A beta haemolytic streptococci statistically was significant ($p<0.001$). Also the incubation period of aerobic conditions found more effective in 48 hours ($p<0.001$).

Keywords: Throat culture, A group streptococci, anaerobic incubation.

Boğaz Kültürlerinden A Grubu Beta Hemolitik Streptokok İzolasyonunda Anaerob İnkübasyon ve Aerob İnkübasyon Süresinin Önemi

Özet

Boğaz kültürlerinden A grubu beta hemolitik streptokok izolasyonunda anaerob inkübasyon ile aerob inkübasyon süresinin etkisi araştırıldı. Çalışma 165'i kreş ve yetiştirme yurdu 72'si pediatri polikliniğine başvuran çocuklardan çocuklardan alınan toplam 237 boğaz sürüntüsü ile yapıldı. Kültürler %5 defibrine koyun kanlı agara çift ekim yapılarak biri 24 ve 48 saat aerob ortamda, diğeri 48 saat anaerob ortamda inkübe edildi. Gruplandırma subkültürlerden basitrasinin ve ko-trimaksazol duyarlılığı ile yapıldı.

24 saatlik aerob inkübasyonda 24(%10.1), 48 saatlik aerob inkübasyonda 37(%15.6), 48 saatlik anaerob inkübasyonda 82(%34.6) A grubu beta hemolitik streptokok izole edildi.

İnkübasyon ortamının etkisi incelendiğinde anaerobik inkübasyonun 24 ve 48 saatlik aerob inkübasyona göre A grubu beta hemolitik streptokok izolasyonundaki artışı istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). Ayrıca sürenin etkisi incelendiğinde 48 saatlik aerob inkübasyonun da 24 saatlik aerob

inkübasyona göre inkübasyon artışı anlamlıydı ($p < 0.001$)

Anahtar kelimeler: A grubu beta hemolitik streptokok, anaerob inkübasyon, boğaz kültürü

1. Giriş

A grubu beta hemolitik streptokoklar (AGBHS) taşıyıcılarının, içinde buldukları topluma, patojen suşları bulaştırabildikleri çeşitli araştırmalarda bildirilmiştir (Stollerman, 1996). AGBHS'lar 5-15 yaş çocuklarında farenjit etyolojisinde primer etken olmasının yanısıra orta kulak iltihabı, tonsillofarenjit, yumuşak doku enfeksiyonları, akut eklem romatizması (AER) ve akut glomerulonefritin fizyopatolojisinde başlıca rolü oynamaktadırlar (Altındış ve ark., 2003)

Tonsillofarenjit arka farenks lenf dokusu ve yan farengeal bandları içeren arka ağız kavitesinin inflamatuvar enfeksiyonudur. Bu bölge birçok mikroorganizmanın yerleşmesi içinde uygundur ve bunların birçoğu da tonsillofarenjite neden olabilir. Bakteriler ve virüsler en sık karşılaşılan etkenlerdir. Virüsler içinde en sık Rhinovirüs, Coronavirüs ve Adenovirüs etkindir. Bakteriler içinde AGBHS da en sık rastlanılanıdır (Leblebicioğlu ve ark., 2002). Bulaşma damlacık enfeksiyonu şeklinde yakın temasla oluşur. Aile içi bulaşma ile birlikte özellikle kışla, kreş gibi toplu alanlarda bulaşma daha yaygındır (Meşe ve ark., 2005).

A grubu beta hemolitik streptokok enfeksiyonlarının tanısının hızlı ve doğru olarak konulması bu enfeksiyonların zamanında tedavi edilerek komplikasyonlarının önlenmesi bakımından önemlidir (Krober ve ark., 1985, Tunçkanat ve ark., 1988). Kültür yapılmadan streptokoksik enfeksiyonların tanısını doğru olarak koymak % 43-75 oranında mümkündür. Bu nedenle kültür yapılarak tanı oranlarının artırılması önemlidir. Bazı araştırmacılar boğaz kültürlerinde AGBHS izolasyonunda anaerob inkübasyon ve inkübasyon süresinin uzatılmasının artırıcı etkisi olduğu görüşünü savunmaktadırlar (Beerman ve Goldblatt, 1982, Kellogg, 1990). Ancak bazı araştırmacılar ise bu görüşe katılmamaktadırlar (Stollerman, 1996).

Sosyo- ekonomik şartlara ve eğitime bağlı olarak hijyen kurallarına uyulması konusundaki bilinç açısından bu tarz enfeksiyonlar toplum sağlığını yakından ilgilendirmektedir. Yaş faktöründe önemli olduğunu düşündüğümüz çalışmamızda boğaz kültürlerinden A grubu beta hemolitik streptokok izolasyonunda anaerob ortamda inkübasyonun etkisini ve aerob inkübasyon süresinin etkisini araştırdık.

2. Materyal ve Metot

Çalışmada 165'i kreş ve yetiştirme yurdu, 72'si pediatri polikliniğine başvuran çocuklardan alınan toplam 237 boğaz sürüntüsü örneği ile yapıldı. Çalışmaya alınan gruplarda farinjit olması özelliği aranmadı. Alınan numunelerin % 5 defibrine koyun kanlı ağara tek koloni yöntemi ile çift ekimleri yapılarak biri aerob ortamda 24 ve 48 saat diğeri anaerob ortamda 48 saat 35°C'de inkübe edildi. Anaerob ortamdaki kültür 24 saat sonra değerlendirilip tekrar inkübe edildi. Anaerob inkübasyon için Gas Pak anaerobik kavanoz yöntemi kullanıldı.

Kültürlerde üreyen hemoliz ve koloni morfolojisi uygun Gram pozitif, katalaz negatif kokların saf kültürleri elde edildi. %5 defibrine koyun kanlı ağara yayılarak üzerine 0.04Ü basitrasin (Difco) ve 1.25/23.75 µg trimetoprim-sulfametoksazol (Oxoid) diskleri kondu. Bir gece 35°C'de anaerob ortamda inkübe edildi. Disklerin etrafında oluşan herhangi bir inhibisyon zonunun görülmesi ile duyarlı kabul edildi (Gun ve ark., 1987, Özenci ve ark., 1988).

İstatistiksel değerlendirmelerde Ki-Kare testi kullanıldı (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 1990).

3. Araştırma ve Bulgular

Çalışmaya aldığımız 237 boğaz sürüntüsü kültüründe 24 saat aerob inkübasyonda 29 beta hemolitik streptokok suşu üredi. Bunlardan 24 (%10.1)'u basitrasine duyarlı trimetoprim-sulfametoksazole dirençli bulunarak A grubu olarak değerlendirildi. İnkübasyon süresi 48 saate uzatıldığında bu sayı 42'ye yükseldi. Bunların 37 (%15.6)'sı A grubu idi. 48 saat anaerob inkübasyondan 95 beta hemolitik streptokok suşu üredi ve 82 (%34.6)'sı A grubu özelliğini gösterdi (Tablo 1).

Tablo1: Beta hemolitik streptokokların inkübasyon ortamı ve sürelerine göre dağılımları

	24 saatlik aerobik inkübasyon	48 saatlik aerobik inkübasyon	48 saatlik anaerobik inkübasyon
<i>Beta Hemolitik Streptokok</i>	29	42	95
<i>A grubu Beta hem. Streptokok</i>	24	37	82

Çalışmaya alınan gruplar ayrı ayrı değerlendirildiğinde pediatri poliklinik grubunda 24 saat aerob inkübasyonda 5 (%6.9) 48 saatte 8 (%11.1); 48 saat anaerob inkübasyonda 20 (%27.7) A grubu streptokok izole edildi. Kreş ve yetiştirme yurdu grubunda ise 24 saat aerob inkübasyonda 19 (%11.5) 48 saatte 29 (%17.6); 48 saat anaerob inkübasyonda 62 (%38.0) A grubu streptokok izole edildi (Tablo 2).

Tablo 2: Beta hemolitik streptokokların izole edildiği çalışma grubuna göre inkübasyon ortamı ve süre dağılımları

	Pediatri Polikliniği	Kreş ve Çocuk Yetiştirme Yurdu
24 saatlik aerobik inkübasyon	5	19
48 saatlik aerobik inkübasyon	8	29
48 saatlik anaerobik inkübasyon	20	62

4. Tartışma

AGBHS'lar farinjit, kızıl ve başka enfeksiyonlara ve romatizmal ateş, post streptokoksik akut glomerulonefrit gibi sekellere neden olması bakımından boğaz kültürlerinde tanımlanması ve erken tedavisi önemlidir (Bisno, 1990, Krober ve ark., 1985). Streptokoksik farinjit özellikle okul çağı çocuklarda ve ilkbaharda sık görülür (Horward ve ark., 1987).

Üst solunum yolu enfeksiyonu geçiren çocuklardaki boğaz kültürlerinin sonuçlarının incelendiği çalışmalarda Öztop ve ark. (2000) BHS (Beta Hemolitik Streptokok) oranını %31 olarak bildirmiş ve suşların %78'ini AGBHS, %22'sini A grubu dışı BHS'lar olarak belirlemişlerdir. Cavit ve ark. (1997) tarafından yapılan bir çalışmada BHS oranı %20.8 olarak saptanmış ve bunların yine %50.6'sı A grubu geri kalanları da diğer gruplardan tespit edilmiştir. Meşe ve ark (2005) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise %22 olarak saptanan BHS'ların %89'u A, %11'i A grubu olmayan BHS olarak tespit edilmiştir.

Aşırı kalabalık, kötü beslenme ve havalandırmanın yetersiz olduğu ortamlarda tonsillit salgınlarının arttığı bilinmektedir. Portörlük prevalansını da Ingvarsson ve ark (1982) sağlıklı çocuklarda yaptıkları kültürlerin %5.0'inde AGBHS üreterek göstermişlerdir.

Boğaz kültürlerinden AGBHS izolasyonunu artıran değişik yöntemler bildirilmiştir (Beerman ve Goldblatt, 1982, Kellogg, 1990). Kellogg (1990) bu konuyu incelediği bir derlemesinde, semptomatik hastaların boğaz kültürlerinden A grubu izolasyonunu %90-95 sağlayabilecek dört ayrı yöntem bildirmiştir. Bunlar:

- Koyun kanlı agarda (KKA) 48 saat anaerob inkübasyon,
- KKA'da oksijen basıncını düşürmek için primer inokulum sahasının üzerine bir cam parçası konularak 48 saat aerob inkübasyon,
- Ko-trimoksazol içeren KKA'da 48 saat aerob inkübasyon,
- Ko-trimoksazol içeren KKA'da 48 saat anaerob inkübasyondur.

Aerob ve CO₂ ilaveli ortamda inkübasyonun rölaf olarak düşük AGBHS izolasyonu ile sonuçlandığı görülmektedir. Inkübasyon süresinin 24 saatten 48 saate uzatılması ile A grubu streptokok izolasyonundaki artışın aerob inkübasyondan % 5-46, anaerob inkübasyonda %2-31 oranında olduğu belirtilmektedir.

Ülkemizde bu konuda yapılan çalışmalarda ise Tunçkanat ve ark. (1988) A grubu streptokok

izolasyonunda 24 saat anaerob inkübasyonun aerob inkübasyona göre önemli derecede artırıcı olmadığı görüşündedirler.

Boğaz kültürlerinde üreyen BHS'ların tanımlanmasında değişik ve çabuk yöntemler bulunmakla beraber bir çok laboratuvar basitrasın duyarlılığından yararlanmaktadır (Koçoğlu ve ark., 1991, Lyerly ve ark., 1980, Murray ve ark., 1976, Özneci ve ark., 1988). Çalışmamızda izole ettiğimiz 95 BHS suşunun 82'si basitrasine duyarlı, trimetoprim-sulfametoksazole dirençli bulundu.

AGBHS izolasyonunda 48 saat anaerob inkübasyon 24 saat aerob inkübasyona göre %24.5, 48 saatlik aerob inkübasyona göre ise %19.0 oranında bir artışı sağlamıştır. Bu artışlar istatistiksel olarak incelendiğinde anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$, $p = 3.841$). Gruplar karşılaştırıldığında 48 saat anaerob inkübasyondaki artış 24 saat aerob inkübasyona göre pediatri poliklinik grubunda %20.8, kreş ve yetiştirme yurdunda %26.5 olmuştur. Bu değerler de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). 48 saat aerob inkübasyonun 24 saate göre artışı sırası ile %4.2 ve %6.1 olmuştur. Pediatri poliklinik grubundaki artış anlamlı olmayıp ($p > 0.005$) kreş ve yetiştirme yurdunda anlamlı idi ($p < 0.01$).

Kreş ve yetiştirme yurdu grubunda, pediatri poliklinik grubuna göre rölatif bir artış bulunmuştur. Buna toplu yaşamdan dolayı benzer özellik gösteren mikroorganizmalar ile kolonizasyonun neden olabileceği düşünülmüştür. Araştırmanın çocuk yaş grubunda ve sonbahar, kış mevsiminde yapılmış olması AGBHS'ların yüksek sayıda izolasyonuna neden olabilecek faktörlerdir.

Sonuç olarak çok önemli hastalıklara neden olan AGBHS'ların izolasyonunu yüksek oranda yapabilmek ve tanı oranını arttırmak için boğaz kültürlerinin anaerob olarak 48 saat inkübe edilmesinin yararlı olacağı kanısındayız.

Kaynaklar

- Altındış, M., Dereköy, F.S., Çeri, A. (2003). İlkokul öğrencilerinde A grubu Beta Hemolitik Streptokok Portörlüğü ve Suşların Eritromisine Duyarlılıkları. *Türk Mikrobiol Cem Derg.* 33:104-108.
- Beerman, C.A., Goldblatt, A. (1982). Screening for group A streptococcus by means of anaerobic primary plate technique. *J Pediatr.* 101:70-72.
- Bisno, A.L. (1990). Streptococcus pyogenes. In Mandell GL, Douglas RG et al (eds): Principles and practise of infectious disease. Churchill Livingstone, New York, pp 1519-1528.
- Cavit, Ö., Toksoy, H.B., Bakıcı, M.Z. ve ark. (1997). Çocukluk çağı farenjitinde beta hemolitik streptokok farenjitlerinin tedavisinde penisilin G ile sefuroksim aksetilin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bült,* 31:237.
- Gun, B.A., Keiser, J.F., Almazon, R.D. (1987). Culture media, Tests and Reagents in Bacteriology . In Howard BJ, Klaas J et al (eds): Clinical and Pathogenetic Microbiology. The C.V. Mosby Company , St Louis, pp 849-905.
- Horward, B.J. and Ducate, M.J. (1987). Streptococci. In Horward BJ, Klaas J et al (eds). Clinical and Pathogenetic Microbiology. The C.V. Mosby Company, St Louis, pp 243-263.
- Ingvarsson, L., Lundgren, K., Irving, J. (1982). The bacterial flora in nasopharynx in healthy children. *Acta otolaryngol (suppl)* 386: 94.
- Kellogg, J.A. (1990). Suitability of Throat Culture Procedures for Detection of Group A Streptococci and as Reference Standarts for Evaluation of Streptococcal Antigent Detection Kits. *J Clin Microbiol.* 28:165-169.
- Koçoğlu, T., Kiraz, N., Özgüneş, İ., ve ark. (1991). Çeşitli klinik örneklerden beta hemolitik streptokokların gruplandırılması ve penisilin G'ye duyarlılıkların araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni.* 25: 219-226.

- Krober, M.S., Bass, J.W., Michels, G.N. (1985). Streptococcal Pharyngitis. *JAMA* 253: 1271-1274.
- Leblebicioğlu, H., Aktaş, F., Alp, D. ve ark. (2002). Solunum Yolu Enfeksiyonları. Nobel Matbaacılık. 469-477.
- Lyerly, W.H., Bass, J.W., Harden, L.B., Cardin, M.J. (1980). Identification of group A streptococci with bacitracin disc on the primary throat culture plate. *J Pediatr.* 96:431-433.
- Meşe, S., Temiz, H., Özbek, E., Gül, K. (2005). A Grubu Beta Hemolitik Streptokokların Penisiline İn vitro Duyarlılığı. *Dicle Tıp Derg*; 32 (3): 113-116.
- Murray, P.R., Wold, A.D., Hall, M.M. (1976). Bacitracin differentiation for presumptive identification of group A beta haemolytic streptococci. Comparison of primary and purified plate testing. *J Pediatr.* 89:576-579.
- Özenci, H., Tan, G., Özsan, M., Yavuzdemir, Ş. (1988). Boğaz-burn kültürlerinden izole edilen beta hemolitik streptokoklar ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Mikrobiyol Bül.* 22:336-341.
- Öztop, A.Y., Şanlıdağ, T., Erandaç, M. (2000). Üst solunum yolu enfeksiyonlu çocuklarda izole edilen beta hemolitik streptokokların gruplandırılması ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması. *Türk Mikrob. Cem. Derg.* 30: 73.
- Stollerman, G.H. (1996). The nature of rheumatogenic streptococci. *Mt Sinai J Med*; 653:144.
- Sümbüloğlu, K., Sümbüloğlu, V. (1990). Biyoistatistik. Hatipoğlu yayınevi. No 53.
- Tunçkanat, F., Özalp, M., Berkman, E. (1988). A grubu streptokok farenjitlerinde direkt antijen saptanması: Boğaz kültürlerinin direkt antijen testi ile karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bül.* 22:310-317.

Teşekkür

Bu çalışma İlknur İLGÜN KARALEZLİ'nin Yüksek Lisans Tezinin bir kısmından üretilmiştir.