

İnsan ve Sığır Orijinli *Staphylococcus aureus* Suşlarının Çeşitli Biyokimyasal Özellikleri İle Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Karşılaştırılması*

Timur GÜLHAN¹ Banur BOYNUKARA¹

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

*Bu araştırma, Y.Y.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiş olup (97 VF 035), aynı isimli Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiştir.

Özet : Bu çalışmada, subklinik mastitisli sığırların sütlerinden izole ve tanımlanmış 50, insan boğaz kültürlerinden izole ve tanımlanmış 50 adet *Staphylococcus aureus* suşunun patojeniteyi direkt ya da dolaylı olarak belirleyen çeşitli biyokimyasal özellikleri ile antibiyotik duyarlılıkları karşılaştırıldı. Bu araştırmanın sonucunda, subklinik mastitisli sığırların sütlerinden ve insanların boğaz kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının glikoz ve manitol'un aerop ve anaerop fermentasyonu, clumping factor, β -hemolizin, tüp koagülaz, DNase ve stafilokinaz testi gibi biyokimyasal özellikleri bakımından benzer ($p>0.05$), sarı ve beyaz pigment, α -toksin oluşturma, proteim-A, lesitinaz ve kazeinaz testi gibi biyokimyasal özellikler bakımından ise farklı ($p<0.05$) olduğu saptandı. Sığır ve insan orijinli suşların değişik antibiyotiklere duyarlılıkları karşılaştırıldığında ise, vankomisin, basitrasin, penisilin-G, metisilin, siprofloksasin ve setaperozon+sulbaktam'a duyarlılıklarının benzer ($p>0.05$), novobiosin, eritromisin, ampisilin+sulbaktam'a duyarlılıklarının farklı ($p<0.05$) olduğu ortaya konuldu.

Anahtar kelimeler : *Staphylococcus aureus*, boğaz kültürü, subklinik mastitis, antibiyotik duyarlılık testi, bazı biyokimyasal özellikler.

A Comparison of Chemical Properties and Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Strains of Human and Bovine Origin

Summary : In this study, various biochemical characteristics and antibiotic sensitivities of *Staphylococcus aureus* strains affecting the pathogenity directly or indirectly, isolated and identified 50 from the milks of bovine with subclincic mastitis and 50 from human throat cultures, were compared. At the end of this study, various biochemical characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine with subclincic mastitis and from human throat cultures were compared. It was shown that in respect of biochemical properties determined by aerobic and anaerobic fermentation of glucose and mannitol, clumping factor, β -haemolysine, tube coagulase, DNase and staphylokinase tests they were similar ($p>0.05$), while yellow and white pigment, α -toxin formation, proteim-A, lesitinase and caseinase tests showed difference ($p<0.05$) with regard to biochemical properties. As to the comparison of sensitivities of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine with subclincic mastitis and from human throat cultures to antibiotics, vancomycine, basitracine, penicilline-G, methicilline, ciprofloxacine, and cefaperasone + sulbactam sensitivities were alike ($p>0.05$) while novobiocine, erithromisine, ampisilline + sulbactam sensitivities were different.

Key words : *Staphylococcus aureus*, throat culture, subclincic mastitis, antibiotic sensitivity test, some biochemical characteristics.

Giriş

Stafilokoklar, insan ve hayvanların başlıca burun mukozası, nazofarinks, deri ve daha az olmak üzere barsak ve diğer mukozalarının normal florasında bulunan bakterilerdir (4). Atlarda yara enfeksiyonları, koyunlarda periorbital dermatitis, kuzularda kene piyemisi (enzootik piyemi), domuzlarda eksudatif dermatitis, kanatlılarda septik artrit, sinovitis ve spondilitis, kedi ve köpeklerde dermatitis gibi enfeksiyonlar oluştururlar (4). Hayvanlarda görülen en önemli stafilokok enfeksiyonu mastitistir (3, 5) ve *Staphylococcus aureus* mastitislerde en çok izole edilen mikroorganizmadır. Stafilokoklar, insanlarda ise önemli boğaz enfeksiyonlarına yol

açabilirler. İnsan boğaz kültürlerinin değerlendirilmesi üzerine yapılan çalışmalarda *Staphylococcus aureus* % 3.57 ile % 31 arasında izole ve tanımlanmıştır (12, 34, 40).

Stafilokok cinsinde bulunan patojenik *Staphylococcus aureus* ile diğer stafilokok türlerinin birbirinden ayırımı için koagülaz, DNase, α -toksin, β -hemolizin, stafilokinaz, lesitinaz, kazeinaz sentezleme, pigment oluşturma, glikoz ve manitol'un aerop ve anaerop fermentasyonu gibi testlerden yararlanılmaktadır (43, 48). Koagülaz enzimi, stafilokoklarda serbest (ekstrasellüler) ya da bağlı (clumping factor) olarak bulunabilir. Serbest koagülazın tespitinde en sık kullanılan test tüp koagülazdır (1, 47). Tüp koagülaz testi

septik artritis, sinovitis ve spondilitis, kedi ve köpeklerde dermatitis gibi enfeksiyonlar oluştururlar (4). Hayvanlarda görülen en önemli stafilocok enfeksiyonu mastitistir (3, 5) ve *Staphylococcus aureus* mastitislerde en çok izole edilen mikroorganizmadır. Stafilocoklar, insanlarda ise önemli boğaz enfeksiyonlarına yol açabilirler. İnsan boğaz kültürlerinin değerlendirilmesi üzerine yapılan çalışmalarda *Staphylococcus aureus* % 3.57 ile % 31 arasında izole ve identifiye edildi (12, 34, 40).

Stafilocok cinsinde bulunan patojenik *Staphylococcus aureus* ile diğer stafilocok türlerinin birbirinden ayırımı için koagulaz, DNase, α -toksin, β -hemolizin, stafilokinaz, lesitinaz, kazeinaz sentezleme, pigment oluşturma, glikoz ve mannitol'ün aerop ve anaerop fermentasyonu gibi testlerden yararlanılmaktadır (43, 48). Koagulaz enzimi, stafilocoklarda serbest (ekstrasellüler) ya da bağlı (clumping factor) olarak bulunabilir Serbest koagulazın tespitinde en sık kullanılan test tüp koagulazdır (1, 47). Tüp koagulaz testi ile stafilokoagulazın tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda, sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında Varshney ve ark. (47), % 97.95, Akay (1), % 99.3, insan orijinli suşlarda, Rota ve İzgür (41), ve İzgür ve ark. (23), % 100, oranlarında pozitiflik tespit ettiler.

Staphylococcus aureus'un identifikasyonunda clumping factor ya da bağlı koagulazın teşhisinde lam koagulaz testi (CFT) rutin olarak kullanılmaktadır (6, 31). Bu amaçla yapılan çalışmalarda, Matsunaga ve ark. (31), sığır orijinli suşlarda % 70.7, Baker ve ark. (6), insan orijinli suşlarda % 87.9 oranında clumping factor belirlediler.

DNase enzimi, koagulaz'dan sonra patojeniteyi belirleyen en önemli özelliktir. Stafilocoklarda DNase enziminin tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda, sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında Boyrukara ve ark. (10), ve Smith ve ark. (42), % 100, insan orijinli suşlarda ise Hote ve Kare (21), % 97, Rota ve İzgür (41), % 96.3, oranlarında pozitiflik tespit ettiklerini bildirdiler.

Staphylococcus aureus glikoz ve mannitol'ü anaerop olarak fermente etmesi ile diğer türlerden ayrılır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında, Quinones ve ark. (37), % 96.5, Centurbi ve ark. (13), % 97.08, insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında, Roberson ve ark. (39), % 99, Prasad ve ark. (36), % 100 oranlarında pozitif sonuç aldıklarını belirttiler.

Stafilocoklarda pigment oluşturma, koagulaz pozitif diğer türler (*Staphylococcus hyicus* ve *Staphylococcus*

intermedius) ile *Staphylococcus aureus*'un ayrılmasında önemli bir kriterdir. Stafilocok suşlarında pigment oluşumunun tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda, sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında, Varshney ve ark. (47), % 30.7 sarı, % 69.3 beyaz pigment oluşumu, insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında ise Prasad ve ark. (36), % 51.3 sarı, % 48.7 beyaz pigment oluşumu saptadıklarını bildirdiler.

Staphylococcus aureus suşlarında, protein-A'nın tanımlanması amacı ile son yıllarda kullanılan birçok lateks aglutinasyon test kiti kullanılmaktadır (2, 6, 16). *Staphylococcus aureus* suşlarında protein-A'nın lateks aglutinasyon testi ile ortaya konulması amacıyla yapılan çalışmalarda sığır orijinli suşlarda, Baker ve ark. (6), Staphyloslide testi ile % 100, SeroSTAT Staph testi ile % 99.6 ve Hemastaph testi ile % 98.7, Berke ve Tilton (8), Staph-Aurex ve Veri-Staph testleri ile % 99.2, Staphyloslide testi ile % 97.9, Hemastaph ile % 92.8, Sero-STAT Staph ile % 91.1, Bacto Staph testi ile % 90.2, insan orijinli suşlarda ise Akay ve ark. (2), Staphlatex ile % 100, Essers ve Radebold (16), lateks partiküllerini insan plazması ile birleştirerek oluşturdukları lateks reagenti ile yaptıkları lam aglutinasyon testinde, % 100 lateks aglutinasyon pozitif sonuç aldıklarını belirttiler.

Patojen *Staphylococcus aureus* suşları tarafından oluşturulan α -toksin ve β -hemolizin eritrosit, lökosit, hepatosit, trombosit, insan diploid fibroblastları, HeLa hücreleri ve Ehrlich asid karsinoma hücreleri gibi birçok hücre için sitotoksik etkiye sahiptir (26). Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda sırasıyla, sığır orijinli suşlarda, Otsuka ve Umeki (33), % 47.4, % 63.1, Varshney ve ark. (47), % 51.02, % 93.87, insan orijinli suşlarda, Prasad ve ark. (36), % 52.6, % 61.8, Kaymakçı ve Özbal (24), % 65.9, % 57 oranlarında α -toksin ve β -hemolizin oluşumu gözlediklerini bildirdiler.

Stafilocokal stafilokinaz, lesitinaz ve kazeinaz aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalarda, stafilokinaz aktiviteleri sığır orijinli suşlarda, Otsuka ve ark. (33), % 50, insan orijinli suşlarda ise Live (29), % 60.3, lesitinaz aktiviteleri, sığır orijinli suşlarda Matsunaga ve ark. (31), % 25.9, insan orijinli suşlarda Prasad ve ark. (36), % 67.1, kazeinaz aktiviteleri ise, sığır orijinli suşlarda, Otsuka ve ark. (33), % 31.5, insan orijinli suşlarda Prasad ve ark. (36), % 65.7 oranlarında pozitiflik tespit ettiler.

Stafilocoklar β -laktam, makrolidler, tetrasiklinler, novobiosin ve kloroform gibi antibiyotiklere genellikle duyarlı, polimiksin ve polienes gibi antibiyotiklere

penisilin-G'ye % 96 oranında dirençli, vankomisin'e % 100 duyarlı, Ulusoy ve ark. (45), vankomisin'e % 2, siprofloksasin'e % 6.08, ampisilin+sulbaktam ve eritromisin'e % 12.83, metisilin'e % 31.75 dirençli suş tespit ettiklerini bildirdiler.

Bu çalışma ile, subklinik mastitisli sığırların sütlerinden ve insan boğaz kültürlerinden izole ve identifiye edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının patojeniteyi belirleyen çeşitli biyokimyasal özellikleri ve farklı gruptan antibiyotiklere duyarlılıkları arasında benzerlik ya da farklılığın olup olmadığının karşılaştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot

Suşlar :

a. Test suşları : Araştırmanın materyal suşlarını, Van Merkez ve köylerindeki çeşitli çaplı süt işletmelerinde subklinik mastitis şüpheli ineklerden alınan süt numunesinden izole ve identifiye edilen 50 adet *Staphylococcus aureus* suşları insanlardan alınan boğaz sürütüsünden izole ve identifiye edilen 50 adet *Staphylococcus aureus* suşu oluşturdu.

b. Standart suşlar : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Cowan-I ve *Staphylococcus epidermidis*-33 referens suşları, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından sağlandı.

Besi yerleri : Çalışmada, patojenik materyalden etken izolasyonu ve bu izole edilen suşların çeşitli biyokimyasal ve biyolojik karakterleri ile antibiyogram duyarlılıklarının belirlenmesinde; Blood Agar Base (Difco), Mannitol Salt Agar (Difco), Nutrient Agar (Difco), Nutrient Broth (Difco), O / F Basal Medium (Difco), Mueller-Hinton Agar (Oxoid), Transport Medium Stuart (Difco), DNase Agar (Oxoid), Milk Agar (Oxoid), Fibrinolizin ortamı (Oxoid), Lesitinaz ortamı (Oxoid), Tryptic Soy Broth (Difco), gibi ortamlardan yararlanıldı. Bu besi ortamları prespektüslerine uygun olarak hazırlandı.

Antibiyotik diskleri : *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarının tespit edilmesi amacıyla Difco ve Oxoid firmalarından sağlanan penisilin-G, basitrasin, eritromisin, metisilin, novobiosin, vankomisin, ampisilin+sulbaktam, siprofloksasin ve sefaperozon+sulbaktam standart antibiyotik diskleri kullanıldı.

Morfolojik ve kültürel özellikleri : Bu amaçla, izole edilen suşların sıvı ve katı ortamda üreme özellikleri, koloni yapıları, mikroskopik morfolojileri incelendi (23, 46).

Katalaz testi : Stafilocok şüpheli suşların katalaz aktiviteleri Koneman ve ark. (26), 'nın bildirdikleri yöntemle yapıldı.

Pigment oluşumu : Stafilocok suşlarının pigment oluşumu, Oxoid Milk Agar'da Quinones ve Raspanti (37), 'nin bildirdikleri metoda göre saptandı.

Alfa toksin oluşumu : Stafilocokal alfa toksin oluşumu, % 3 tavşan eritrositi katılan Tryptic Soy Agar besi yerinde Bernheimer ve ark. (9), 'nın bildirdikleri yöntemle göre yapıldı.

Karbohidrat fermentasyon testleri : Test edilecek stafilocok suşlarının glikoz ve mannitol yönünden fermentasyon testleri O / F Basal Medium'da, Mac Faddin (30), 'in bildirdiği yöntemle göre uygulandı ve sonuçların değerlendirilmesi 14 günlük bir inkübasyon süresi sonunda indikatörün renk değişimine göre yapıldı.

Clumping factor testi : Suşların clumping factor aktivitesi, Koneman ve ark. (26), 'nın bildirdikleri yöntemle göre lam üzerinde yapıldı.

Protein-A testi : Suşların protein-A aktivitelerinin tanımlanması amacıyla ticari Staphlect Plus lateks aglutinasyon test seti (Oxoid-DR850M) kullanıldı (44).

Test seti + 4 °C'den alınarak oda ısısında 15 dakika bekletildi. Lateks reagentleri vortex ile homojenize edilerek reaksiyon kartı üzerine test reagenti ve kontrol reagentinden birer damla damlatıldı. İdentifiye edilecek stafilocok suşlarının TSA'daki 24 saatlik kolonilerinden 3-5 koloni alınarak reagentlerle karıştırılıp dairesel hareketlerle reaksiyon gözlemlendi. 20 saniye içinde oluşan aglutinasyon pozitif, 20 saniyeden daha fazla sürede oluşan aglutinasyon negatif olarak değerlendirildi.

Beta hemolizin (β-lizin) testi : İzole ve identifiye edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında β-hemolizin testi, % 5-7 koyun kanı katılarak hazırlanan Blood Agar Base besi yerinde Bramley ve ark. (11), 'nin bildirdiği yöntemle göre yapıldı.

Tüp koagülaz testi : Suşların koagülaz aktivitesi Roberson ve ark. (39), 'nin bildirdiği yöntemle göre belirlendi.

DNase testi : Suşların DNase aktivitesi, Smith ve ark. (42), 'nin bildirdiği metoda göre Oxoid DNase Agar'da yapıldı.

Stafilokinaz testi : Suşların stafilokinaz aktivitesi, Oxoid Fibrinolizin besi yeri kullanılarak Live (29), 'in bildirdiği metoda göre saptandı.

Lesitinaz testi : Suşların lesitinaz aktivitesi, Oxoid Lesitinaz (Yumurta Sarılı Agarda) besi yerinde Mac Faddin (30), 'in bildirdiği metoda göre yapıldı.

Kazeinaz testi : Suşların kazeinaz aktivitesi, Koneman ve ark. (26),'nın bildirdikleri yöntemle göre; içerisinde % 2 oranında yağsız süt bulunan Nutrient Agar'da belirlendi.

Antibiyogram duyarlılık testi : İzole ve tanımlanmış *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer tarafından önerilen disk difüzyon metoduna göre yapıldı (26). Disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek, çizelge değerleri ile karşılaştırılıp dirençli ya da duyarlı oldukları belirlendi.

İstatistiksel analizler : Sığır ve insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının patojeniteyi belirleyen önemli biyokimyasal ve antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının karşılaştırılması Sigma Plot Version 5.0 'a göre t- testi ile yapıldı.

Bulgular

Morfolojik ve kültürel özellikleri : Kanlı agar besi yerine ekilen suşların 24 – 48 saat içinde 0.5 – 1.0 mm çapında hemolitik koloniler meydana getirdikleri, ayrıca, bu kolonilerden sıvı besi yerine (NB ve TSB) ekim yapıldığında ve bir gecelik inkübasyonu takiben bu ortamlarda homojen bulanıklık meydana getirerek üredikleri ve Gram boyama yöntemi ile mikroskopik bakıda stafilokokların tipik görünüşleri belirlendi.

İzole ve tanımlanmış sığır ve insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının biyokimyasal test sonuçları : İzole edilen sığır ve insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının patojeniteyi direkt ya da dolaylı olarak etkileyen biyokimyasal test sonuçları, karşılaştırılmalı olarak Tablo 1'de gösterildi.

Antibiyotik duyarlılık test sonuçları : Dokuz farklı antibiyotik diski kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle yapılan teste; sığır orijinli suşların % 38'i novobiosin'e, % 98'i vankomisin ve basitrasin'e, % 74'ü eritromisin'e, % 96'sı metisilin ve ampisilin+sulbaktam'a, % 100'ü siprofloksasin ve sefaperozon+sulbaktam'a duyarlı, % 2'si basitrasin ve vankomisin'e, % 4'ü metisilin ve ampisilin+sulbaktam'a, % 13'ü eritromisin'e, % 62'si novobiosin'e ve % 100'ü penisilin-G'ye dirençli, insan orijinli suşların % 78'i novobiosin'e, % 80'i ampisilin+sulbaktama, % 96'sı eritromisin'e, % 98'i vankomisin'e, % 100'ü basitrasin, metisilin, siprofloksasin ve sefaperozon+sulbaktam'a duyarlı, % 2'si vankomisin'e, % 4'ü eritromisin'e, % 20'si ampisilin+sulbaktam'a % 22'si novobiosin'e ve % 100'ü penisilin-G'ye dirençli olarak tespit edildi. Ayrıca suşların antibiyotik duyarlılık test sonuçları, karşılaştırılmalı olarak Tablo 2'de ve grafik halinde Grafik 1 ile Grafik 2'de gösterildi.

Tablo 1. İzole ve tanımlanmış sığır ve insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının biyokimyasal test sonuçları

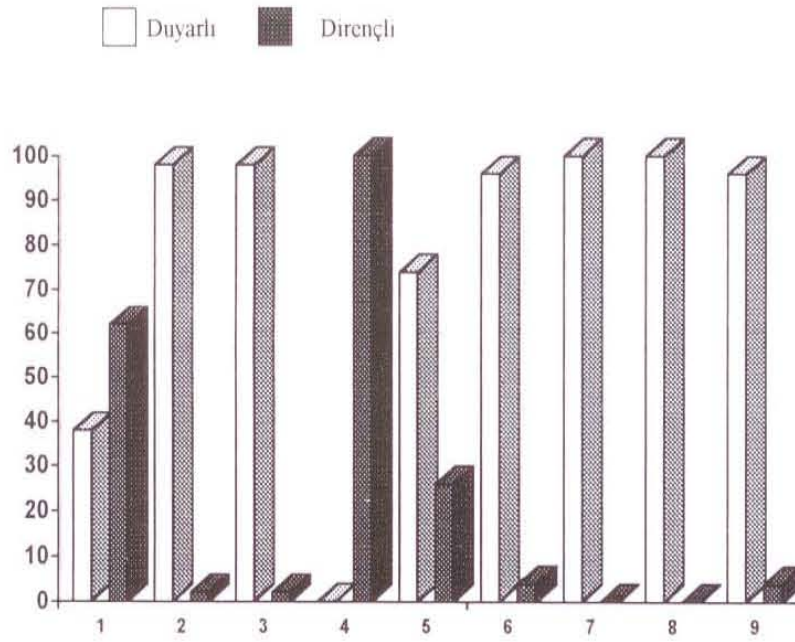
Biyokimyasal özellikler	Sığır (n=50)		Negatif		İnsan (n=50)		Negatif	
	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)
Katalaz testi	50	100	-	0	50	100	-	0
Pigment oluşturma	50	100	-	0	50	100	-	0
Sarı pigment*	15	30	-	0	25	50	-	0
Beyaz pigment*	35	70	-	0	25	50	-	0
α -toksin oluşturma*	26	52	24	48	33	66	17	34
Glukoz (Aerop / Anaerop)	50	100	-	0	50	100	-	0
Mannitol (Aerop / Anaerop)	50	100	-	0	50	100	-	0
Clumping factor testi	45	90	5	10	46	92	4	8
Protein-A testi*	30	60	20	40	46	92	4	8
β - hemolizin testi	34	68	16	32	40	80	10	20
Tüp koagülaz testi	50	100	-	0	50	100	-	0
Dnase testi	49	98	1	2	48	96	2	4
Stafilokinaz testi	24	48	26	52	29	58	21	42
Lesitinaz testi*	13	26	37	74	33	66	17	34
Kazeinaz testi*	15	30	35	70	33	66	17	34

*. p<0.05 seviyesine göre, sığır ve insan suşlarının biyokimyasal test sonuçları arasındaki fark önemlidir.

Tablo 2. İzole ve identifiye edilen sığır ve insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık test sonuçları

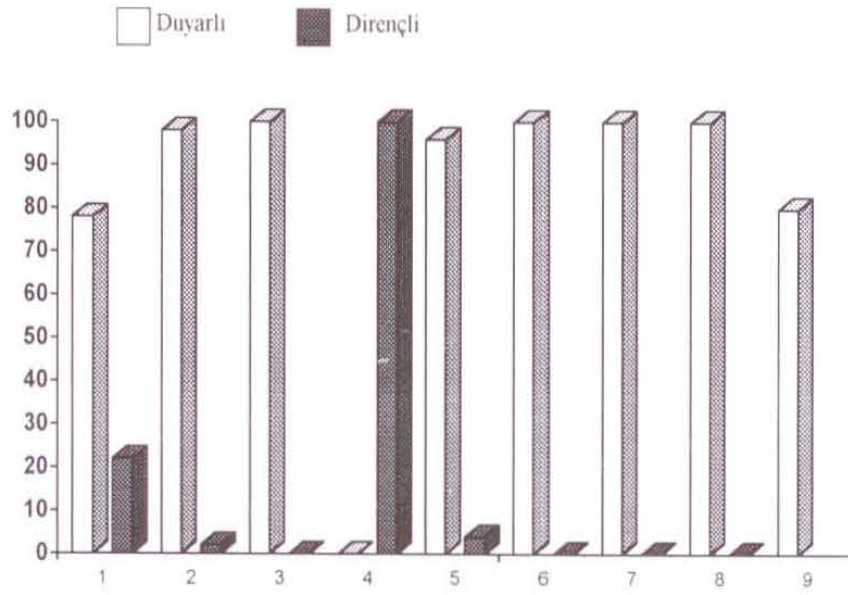
Antibiyotikler	Sığır (n=50) Duyarlı Suşlar		İnsan (n=50) Duyarlı Suşlar	
	Sayı	Oran (%)	Sayı	Oran (%)
Novobiosin*	19	38	39	78
Vankomisin	49	98	49	98
Basitrasin	49	98	50	100
Penisilin-G	-	0	-	0
Eritromisin*	37	74	48	96
Metisilin	48	96	50	100
Siprofloksasin	50	100	50	100
Sefaperozon+Sulbaktam	50	100	50	100
Ampisilin+Sulbaktam*	48	96	40	80

* $p < 0.05$ seviyesine göre, sığır ve insan suşlarının antibiyotik duyarlılıkları arasındaki fark önemlidir



1. Novobiosin, 2. Vankomisin, 3. Basitrasin, 4. Penisilin-G, 5. Eritromisin, 6. Metisilin, 7. Siprofloksasin, 8. Sefaperozon + Sulbaktam, 9. Ampisilin + Sulbaktam,

Grafik 1. Sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları



1. Novobiosin, 2. Vankomisin, 3. Basitrasin, 4. Penisilin-G, 5. Eritromisin, 6. Metisilin, 7. Siproflaksasin, 8. Sefaporozon + Sulbaktam, 9. Ampisilin + Sulbaktam,

Grafik 2. İnsan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları

Tartışma ve Sonuç

Bu araştırmayla, Türkiye'de ilk defa subklinik mastitisi sığırların sütlerinden izole ve tanımlanmış *Staphylococcus aureus* suşları ile insanların boğaz kültürlerinden izole ve tanımlanmış *Staphylococcus aureus* suşlarının patojeniteyi belirleyen önemli biyokimyasal özellikleri ve değişik guruplardan antibiyotiklere duyarlılıklarının karşılaştırılması aynı çalışmada ele alındı.

Tüp koagülaz testi, stafilokokal koagülaz enzimini belirlemek için en çok kullanılan testtir (1, 23, 38, 47). Tüp koagülaz testi ile stafilokoagülazın tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda, sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında Varshney ve ark. (47), % 97.95, Akay (1), % 99.3, insan orijinli suşlarda, Rota ve İzgür (41), ve İzgür ve ark. (23), % 100, oranlarında pozitiflik belirlediklerini bildirdiler. Bu çalışmada, sığır ve insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının tamamının (%100) tüp koagülaz testinde pozitif olduğu tespit edildi. Bu çalışmada, elde edilen değerler literatür verileri (1, 23, 41, 47) ile paralellik gösterdi.

Bağlı koagülaz olarak bilinen "clumping factor", *Staphylococcus aureus* suşlarında, hücre yüzeyinde meydana gelir ve serbest bırakılmaz. *Staphylococcus*

aureus'un identifikasyonunda clumping factor ya da bağlı koagülazın teşhisinde lam koagülaz testi (CFT) rutin olarak kullanılmaktadır (6, 31). Bu amaçla yapılan çalışmalarda, Matsunaga ve ark. (31), sığır orijinli suşlarda % 70.7, Baker ve ark. (6), insan orijinli suşlarda % 87.9 oranında clumping factor tespit ettiler. Lam koagülaz testini kullanarak yapılan bu çalışmada, sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının % 90'ı, insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının % 92'si lam koagülaz testinde clumping factor pozitif olarak tespit edildi. Bulgular diğer çalışmalar (6, 31) ile uyumlu bulundu.

Stafilokoklarda DNase üretimi koagülazdan sonra patojeniteyi belirleyen en önemli özelliktir. Ayırt edici bazı özellikler ile (α -toksin oluşturma, stafilokinaz ve hyaluronidaz sentezleme, *Staphylococcus aureus* fajları ile erime v.b.) *Staphylococcus aureus* oldukları anlaşılan stafilokokların ender de olsa bazı suşları, koagülaz negatif bulunabileceğinden (19) bunların DNase testi ile de pozitif sonuç vermeleri, patojen *Staphylococcus aureus* olduklarını ispat eder. Stafilokoklarda DNase enziminin tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda; sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında Boymukara ve ark. (10), ve Smith ve ark. (42), % 100, insan orijinli

suşlarda ise Hoic ve Kare (21), % 97, Rota ve İzgür (41), % 96.3, oranlarında pozitiflik tespit ettiklerini bildirdiler. Bu çalışmada suşların DNase aktiviteleri araştırıldığında, sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında % 96, insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında ise % 98 oranında DNase pozitiflik tespit edildi. Çalışma sonuçları literatür verileri (10, 21, 41, 42) ile uyumlu bulundu.

Staphylococcus aureus glikoz ve mannitol'ü anaerop olarak fermente etmesi ile diğer türlerden ayrılır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında, Quinones ve ark. (37), % 96.5, Centurbi ve ark. (13), % 97.08, insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında, Roberson ve ark. (39), % 99, Prasad ve ark. (36), % 100 oranlarında pozitif sonuç aldıklarını bildirdiler. Bu çalışmada sığır ve insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarının tamamının (% 100) glikoz ve mannitol'ü hem aerop hem de anaerop olarak fermente ettiği tespit edildi. Çalışma sonuçları, literatür verileri (13, 36, 37, 39) ile uyumlu bulundu.

Stafilokoklarda pigment oluşturma, koagülaz pozitif diğer türler (*Staphylococcus hyicus* ve *Staphylococcus intermedius*) ile *Staphylococcus aureus*'un ayrılmasında önemli bir kriterdir. Stafilocok suşlarında pigment oluşumunun tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda, sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında, Varshney ve ark. (47), % 30.7 sarı, % 69.3 beyaz pigment oluşumu, insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında ise Prasad ve ark. (36), % 51.3 sarı, % 48.7 beyaz pigment oluşumu belirlediler. Bu çalışmada, sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında % 30 sarı, % 70 beyaz, insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında % 50 sarı, % 50 beyaz pigment oluşumu tespit edildi. Bu çalışmada belirlenen değerler literatür (36, 47) verileri ile paralellik gösterdi.

Staphylococcus aureus suşlarında, protein-A'nın tanımlanması amacı ile son yıllarda geliştirilen çeşitli lateks aglutinasyon test kitleri kullanılmaktadır (2, 6, 16). *Staphylococcus aureus* suşlarında protein-A'nın lateks aglutinasyon testi ile tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda sığır orijinli suşlarda, Baker ve ark. (6), Staphyloslide testi ile % 100, SeroSTAT Staph testi ile % 99.6 ve Hemastaph testi ile % 98.7, Berke ve Tilton (8), Staph-Aurex ve Veri-Staph testleri ile % 99.2, Staphyloslide testi ile % 97.9, Hemastaph ile % 92.8, Sero-STAT Staph ile % 91.1, Bacto Staph testi ile % 90.2, insan orijinli suşlarda ise Akay ve ark. (2), Staphlatex ile % 100, Essers ve Radebold (16), lateks partiküllerini insan plazması ile birleştirerek oluşturdukları lateks reagenti ile yaptıkları lam aglutinasyon testinde, % 100 lateks aglutinasyon pozitif sonuç aldıklarını belirttiler. Staphylect plus lateks testi kitini kullanarak yapılan bu

çalışmada, sığır orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında % 60, insan orijinli suşlarında ise % 92 oranında lateks aglutinasyon testinde protein-A tespit edildi. Bu çalışmada sığır ve insan orijinli *Staphylococcus aureus* suşlarında lateks aglutinasyon testi ile tespit edilen protein-A değerleri literatür (2, 6, 16) değerlerinden daha düşük yüzdelerde bulundu. Bu durum, araştırmada diğer araştırmacıların kullandıklarından farklı bir lateks aglutinasyon kitinin kullanılmasına bağlandı.

Patojen *Staphylococcus aureus* suşları tarafından oluşturulan α -toksin ve β -hemolizin eritrosit, lökosit, hepatosit, trombosit, insan diploid fibroblastları, HeLa hücreleri ve Ehrlich asid karsinoma hücreleri gibi birçok hücre için sitotoksik etkiye sahiptir (26). Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda sırasıyla, sığır orijinli suşlarda, Otsuka ve Umeki (33), % 47.4, % 63.1, Varshney ve ark. (47), % 51.02, % 93.87, insan orijinli suşlarda, Prasad ve ark. (36), % 52.6, % 61.8, Kaymakçı ve Özbal (24), % 65.9, % 57 oranlarında α -toksin ve β -hemolizin oluşumu gözlediklerini bildirdiler. Bu çalışmada, *Staphylococcus aureus* suşlarının α -toksin ve β -hemolizin sentezleme özellikleri araştırıldığında, bu değerler sırasıyla, sığır orijinli suşlarda % 52, % 62, insan orijinli suşlarda % 66, % 80 olarak belirlendi. Bu çalışmada belirlenen α -toksin ve β -hemolizin oluşturma yüzdeleri, literatür verileri (24, 33, 36, 47) ile paralellik gösterdi.

Stafilokokal stafilokinaz, lesitinaz ve kazeinaz aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalarda, sığır orijinli suşlarda stafilokinaz aktiviteleri, Otsuka ve ark. (33), % 50, insan orijinli suşlarda ise Live (29), % 60.3, lesitinaz aktiviteleri, sığır orijinli suşlarda Matsunaga ve ark. (31), % 25.9, insan orijinli suşlarda Prasad ve ark. (36), % 67.1, kazeinaz aktiviteleri ise, sığır orijinli suşlarda, Otsuka ve ark. (33), % 31.5, insan orijinli suşlarda Prasad ve ark. (36), % 65.7 oranlarında pozitiflik tespit ettiklerini açıkladılar. Bu çalışmada, suşların stafilokinaz, lesitinaz ve kazeinaz aktiviteleri araştırıldığında, bu değerler sırasıyla, sığır orijinli suşlarda % 48, % 26, % 30, insan orijinli suşlarda ise % 58, % 66, % 66 olarak belirlendi. Bu çalışmada belirlenen stafilokinaz, lesitinaz ve kazeinaz sentezleme değerleri literatür verileri (29, 31, 33, 36) ile paralellik göstermektedir.

Staphylococcus aureus suşlarının farklı antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalarda, sığır orijinli suşlarda, Boynukara ve ark. (10), eritromisin'e % 25, penisilin-G'ye % 81.2 oranında dirençli, Francis ve ark. (20), penisilin-G'ye % 42.5 dirençli, eritromisin, metisilin ve novobiosin'e % 100 oranında duyarlı, insan orijinli suşlarda, Öztürk ve ark.

(34). metisilin'e % 33, ampisilin+sulbaktam'a % 42, eritromisin'e % 50, penisilin-G'ye % 96 oranında dirençli, vankomisin'e % 100 duyarlı, Ulusoy ve ark. (45), vankomisin'e % 2, siprofloksasin'e % 6.08, ampisilin+sulbaktam ve eritromisin'e % 12.83, metisilin'e % 31.75 dirençli suş tespit ettiklerini bildirdiler. Bu çalışmada, izole ve identifiye edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları araştırıldığında, sığır orijinli suşların % 2'si basitrasin ve vankomisin'e, % 4'ü metisilin ve ampisilin+sulbaktam'a, % 13'ü eritromisin'e, % 62'si novobiosin'e ve tamamı (% 100) penisilin-G'ye dirençli, insan orijinli suşların % 2'si vankomisin'e, % 4'ü eritromisin'e, % 20'si ampisilin+sulbaktam'a % 22'si novobiosin'e ve tamamı (% 100) penisilin-G'ye dirençli olarak tespit edildi. Bu çalışmada tespit edilen antibiyotik duyarlılık test sonuçları, birçok çalışma (10, 34, 45) sonucu ile paralellik gösterdiği halde Francis ve ark. (20)'nin belirledikleri antibiyotik duyarlılık sonuçları ile uyum göstermedi. Bu uyumsuzluğun muhtemel nedeni, farklı metot kullanılması olarak yorumlandı.

Sonuç olarak; subklinik mastitisli sığırların sütlerinden ve insanların boğaz kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının çeşitli biyokimyasal özellikleri karşılaştırıldığında; glikoz ve mannitol'un aerop ve anaerop fermentasyonu, clumping factor, β -hemolizin, tüp koagülaz, DNase ve stafilokinaz testi ile ortaya konulan biyokimyasal özellikler bakımından benzer ($p>0.05$) oldukları, sarı ve beyaz pigment, α -toksin oluşturma, protein-A, lesitinaz ve kazeinaz testi ile tespit edilen biyokimyasal özellikler bakımından ise farklı ($p<0.05$) oldukları saptandı. Suşların değişik antibiyotiklere duyarlılıkları karşılaştırıldığında ise; vankomisin, basitrasin, penisilin-G, metisilin, siprofloksasin ve sefaperozon+sulbaktam'a duyarlılıklarının benzer ($p>0.05$) olduğu, novobiosin, eritromisin, ampisilin+sulbaktam'a duyarlılıklarının farklı ($p<0.05$) olduğu ortaya kondu. Bu araştırma ile, elde edilen veriler karşılaştırıldığında, subklinik mastitisli sığırların sütlerinden izole ve identifiye edilen *Staphylococcus aureus* suşları ile insan boğaz kültürlerinden izole ve identifiye edilen *Staphylococcus aureus* suşları arasında biyokimyasal ve antibiyotik duyarlılığı bakımından benzerlik olduğu kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Akay, Ö., (1985): Çeşitli kaynaklardan izole edilen stafilokok suşlarının koagülaz ve DNase aktiviteleri üzerinde bir araştırma. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 32 (3): 429-437.

2. Akay, Ö., İzgür, M., Uslanoğlu, B., Esenal, M. Ö., (1987): İnsan ve sığır orijinli stafilokok suşlarının latex aglutinasyon testi ile çabuk identifikasyonları üzerinde bir araştırma, A.Ü. Vet. Fak. Derg., 34(2): 251-267.

3. Akyürek, S., (1992): Bursa yöresinde mezbahada kesilen ineklerde rastlanan mastitis lezyonlarının makro ve mikroskopik incelenmesi, U.Ü. Vet. Fak. Derg., Sayı:3 Cilt:11, 51-58.

4. Anderson, J. C., (1986): Pathogenesis of Bacterial Infections in Animal, First Ed. 14-20, Iowa State University Press /Ames.

5. Ateş, M., Erganiş, O., Çorlu, M., (1991): Konya yöresindeki mastitisli ineklerden elde edilen süt örneklerinin mikrobiyal florası, Doğa-Türk J. Veterinary and Animal Sci., 16, 19-29.

6. Baker, J. S., Bormann, M. A., and Baudreau, D. H., (1985): Evaluation of various rapid agglutination methods for the identification of *Staphylococcus aureus*, J. Clin. Microbiol., Vol.21, No.5, 726-729.

7. Bergmann, V. A., Jacobsen, J., Rosenkranz, S., Lange, M., und Rosenkranz, F., (1990): Erfahrungen beim nachweis des clumping factor auf dem objektträger als schnelltest zur erkennung von *Staphylococcus aureus*, Mh. Vet.- Med., 45, 390-393.

8. Berke, A., and Tilton, R. C., (1986): Evaluation of rapid coagulase methods for the identification of *Staphylococcus aureus*, J. Clin. Microbiol., Vol.23, No.5, 916-919.

9. Bernheimer, A. W., Avigad, L. S., Grushof, P., (1968): Lytic effects of staphylococcal α -toxin and γ -hemolysin, J. Bacteriol., Vol. 96, No.2 487-491.

10. Boyrukara, B., Timurkan, H., Kuyucuoğlu, Y., (1991): İnek sütlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları üzerinde bir araştırma. Veterinarium, Cilt 2, Sayı 3-4, Sayfa 13-16.

11. Bramley, A. J., Patel, A. H., Reilly, M., Foster, R., and Foster, T. J., (1989): Roles of α -toxin and β -toxin in virulence of *Staphylococcus aureus* for the mouse mammary gland, Infection and Immunity, Vol.37, No.8, 2489-2494.

12. Cengiz, A. T., Kıyan, M., Çiftçiöğlü, N., (1989): Aydınlıkve Körler Yatılı İlköğretim Bölge Okulu boğaz ve burun kültürlerinde üretilen bakteriyolojik etkenler ve serumda Aso-Crp-Rheuma factor (rf)'ün araştırılması, Türk Mikrobiol. Cem. Derg., 19 (1) 72-82.

13. Centurbi, O. N. P., Cuadrada, A. M. A., Alcaraz, L. E., Laciari, A. L., Milan, M. C., (1992): Prevalance of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in the dairies of San Luis city, Revista Argentina de Microbiol., 24 2, 73-80.

14. Craven, N., Anderson, J. C., (1983) : Penisilin (cloxacilin)- tolerant *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis - identification and lack of correlation between tolerance in vitro and response to therapy in vivo, Res. Vet. Sci., 34, 266-271.

15. Emektaş, G., Kocabeoğlu, Ö., Sonuvar, S., (1991): Stafilokokların kemoterapötik duyarlılıkları, ANKEM Derg., 5 (No 1) 8-16.

16. Essers, L., and Radebold, K., (1980): Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by latex agglutination test, J. Clin. Microbiol., Vol. 12, No.5, 641-643.
17. Forsgren, A., (1970): Significance of protein-A production by staphylococci. Infection and Immunity, Vol.2, No.5:67-678
18. Forsgren, A., and Sjoquist I. J., (1966): Protein-A from *Staphylococcus aureus* I-pseudo-immune reaction with human γ -Globulin, J. Immunol., Vol. 97, No. 6, 822-827.
19. Fox, L. K., Besser, T. E., Jackson, S. M., (1996) : Evaluation of a coagulase-negative variant of *Staphylococcus aureus* as a cause of intramammary infections in a herd of dairy cattle, Javma, Vol.209, No.6, 1143-1146.
20. Francis, P. G., Carroll, P. J., (1986): Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical bovine mastitis, Vet. Rec., 118, 361-363
21. Hoi, S., and Kare, F., (1989): Antibodies to staphylococcal DNase in sera from different animal species, including humans, J. Clin. Microbiol., Vol. 27, No 11, 2444-2447
22. İnanç, D., (1990): Stafilokokların mikrobiyolojik tan özellikleri, Enfeksiyon Derg., 4 (4) : 685-691.
23. İzgür, M., Akay, Ö., Uslanoğlu, B., Esendal, Ö., Aydın, F., (1988): Mikrotiter plate'leri kullanarak insanlardan izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının protein-A ve koagülaz aktivitelerinin tanımlanması, Enfeksiyon Derg., 2 (3): 397-407.
24. Kaymakçı, G., Özbal, Y., (1997): Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokokların biyokimyasal özelliklerine göre tiplendirilmesi, Enfeksiyon Derg., 11(2):107-111
25. Kocabiyyık, S., (1988): Aminoglikozid grubu antibiyotiklere direnç mekanizmaları, ANKEM Derg., 2, 3, 203-206
26. Koneman, E. W., Allen, S. D., Dowel, W. R., and Sommers, H. M., (1988): Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Third Edition. Lippincott Company, USA. Pp. 89-156.
27. Kronvall, G., Holmberg, O., and Ripa, T., (1972): Protein-A in *Staphylococcus aureus* strains of human and bovine origin, Acta. Pathol. Microbiol., Scand. Section B, 80, 24, 72, 735-742.
28. Lind, I., (1972): Correlation between the occurrence of protein-A and some other properties in *Staphylococcus aureus*, Acta Pathol. Microbiol., Scand. Section B, 80, 702-708.
29. Live, I., (1972): Differentiation of *Staphylococcus aureus* of human and of canine origins: Coagulation of human and of canine plasma, fibrinolysin activity, and serologic reaction, Am. J. Vet. Res., Vol. 33, No.2.
30. Mac Faddin, J. F., (1980): Biological Tests for Identification of Medical Bacteria. 2 th Ed. Williams and Wilkins. Baltimore / London.
31. Matsunaga, J., Kamata, S., Kakuchi, N., Uchida, K., (1993): Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from peracute, acute and chronic bovine mastitis, J. Vet. Med. Sci., 55 (2) : 297-300.
32. Myrich, B. A., and Ellner, P. D., (1982): Evaluation of the latex agglutination tests for identification of *Staphylococcus aureus*, J. Clin. Microbiol., Vol.15, No.2, 275-277.
33. Otsuka, G., Umeki, F., Seki, M., Yoshida, M., and Tekeishi, M., (1992): Evaluation of biological character and pathogenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine quarter milk, Milchwissenschaft, 47 (7), 423-426.
34. Öztürk, R., Midilli, K., Ergin, S., Aygün, G., (1996): Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde yatan hastalardan izole edilen stafilokokların antimikrobik maddelere duyarlılığı, ANKEM Derg., 10 (No.1) : 48-51.
35. Poutrel, B., and Duclez, M., (1979): Evaluation of three rapid tests for identification of *Staphylococcus aureus* isolated in bovine milk, Ann. Rech. Vet., 10 (1), 125-129.
36. Prasad, J., Kapur, M. P., Sharma, A., and Sharma, R. D., (1988): Studies on protein-A production and other biochemical characteristics of *Staphylococcus aureus* of human and non-human origin, Indian Vet. J., 65, 9,761-767
37. Quinones, J., Raspanti, C., (1987): Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from milk of cows with subclinical mastitis, Veterinaria-Argentina, 4: 38, 706-708, 710-711
38. Raus, J., and Love, D. N., (1991): Comparison of the affinities to bovine and human prothrombin of the staphylocoagulases from *Staphylococcus intermedius* and *Staphylococcus aureus* of animal origin, J. Clin. Microbiol., Vol.29, No.3,570-572.
39. Roberson, J. R., Fox, L. K., Hancock, D. D., Besser, T. E., (1992): Evaluation of methods for differentiation of coagulase-positive staphylococci, J.Clin. Microbiol., 30: 12, 3217-3219.
40. Rota, S., Bilge, A., (1988): Okul öncesi çocuklarda boğaz kültürü değerlendirilmesi, Türk Mikrobiol. Cem. Derg., 18 (1-2) : 42-46.
41. Rota, S., İzgür, M., (1988): Stafilokok suşlarında Hemaglutinasyon tekniği ile protein-A saptanması, Türk Mikrobiol. Cem. Derg., 18 (1-2) : 36-41.
42. Smith, P. B., Hancock, G. A., Rhoden, D. L., (1969): Improved medium for detecting Deoxyribonuclease-producing bacteria, App. Microbiol.,Dec., Vol.18, No.6, 991-993.
43. Sneath P. H. A., Mair N. S, Sharpe M. E., and Holt, J. G., (1986): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 2. Williams and Wilkins Co. Baltimore U. S. A
44. The Oxoid Manual, (1971): Culture media, ingredients and other laboratory services., 3rd ed., Oxoid Ltd., London,
45. Ulusoy, S., Çetin, B., Arda, B., Özkan, F., Tünger, A., Tokbaş, A., (1995): Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* kökenlerinin antibiyotik direnci, Enfeksiyon Derg., 9(1-2): 7-10.
46. Umeda, A., Ikebuchi, T., and Amako, K., (1980): Localization of bacteriophage receptor, clumping factor, and protein-A on the cell surface of *Staphylococcus aureus*, J. Bacteriol., 141, 2, 838-844.
47. Varshney, J. P., Kapur, M. P., Sharma, A., (1993), Studies on some biochemical characteristics of *Staphylococcus*

aureus of bovine mammary origin. *Comp. Immunol., Microbiol. and Infect. Dis.*, 16: 4, 317-321.

48. **Vesterberg, O., Wadström, T., Vesterberg, K., Svensson, H.**, (1967), Studies on extracellular proteins from *Staphylococcus aureus* : I. Separation and characterization of

enzymes and toxins by isoelectric focusing. *Biochimica et Biophysica Acta*, 133, 435-445.

49. **Wadström, T.**, (1968), Studies on extracellular proteins from *Staphylococcus aureus* IV Separation of α -toxin by isoelectric focusing. *Biochimica et Biophysica Acta*, 168, 228-242.