

**ÇEŞİTLİ AĞIZ LEZYONU BULUNAN ŞEKER HASTALARINDAN VE
NORMAL ŞAHISLARIN BOĞAZ SALGILARINDAN İZOLE EDİLEN
LİZOSİM YAPAN SUŞLAR HAKKINDA**

Doç. Dr. Ömer Kasımoğlu (*)
Doç. Dr. Suphi Konukman (**)
Prof. Dr. Perihan Hallaç (***)
Doç. Dr. Ercüment Konukman (****)

Lizozim organizmada ağız, burun salgısı, göz yaşı sıvısı ve monosit, lenfosit gibi kan hücrelerinde bulunur. Çeşitli bakterilerin hücre çeperini eriten lizozim küçük molekülü mükopolisakkaridaz yapısında bir enzimdir. Lizozim hayvan ve bitki dokularında da vardır (1, 3, 5, 10, 12). Yumurta akında çok yüksek konsantrasyonda bulunan bu enzimin 1/50.000 oranında sulandırılmış solüsyonlarının belirli bir bakteriyolitik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (1, 2).

Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda *Micrococcus lysodeikticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Brucella abortus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* ve *Bacillus cereus* gibi mikroorganizmaların lizozime duyarlı oldukları bildirilmiştir (1, 5, 6, 12, 13, 15).

-
- (*) İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji, Tropikal Hastalıklar ve Parazitoloji Kürsüsü, Üniversite, İstanbul.
(**) İstanbul Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi Cerrahi Kürsüsü, Çapa, İstanbul.
(***) İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Fiziopatoloji Kürsüsü, Üniversite, İstanbul.
(****) İstanbul Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi, Ağız Hastalıkları Kürsüsü, Çapa, İstanbul.

Bu konuda yapılan çalışmalar sürdürülürken *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus haemolyticus*, Beta hemolitik streptococcus suşları ve *aktinomyces* suşları ile *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* gibi sporlu bakterilerin spor ekstralarında mukopolisakkaridaz yapısında enzimler tespit edilmiştir. (1, 6, 11, 14).

Çalışmamızda ağız lezyonu bulunan şeker hastaları ile normal şahısların ağız-boğaz salgularından izole edilen bakterilerin lizozim teşkil etme yetenekleri araştırılmıştır. Ayrıca stafilokok suşlarının ayırımında kullanılan patojenlik özellikleri ile lizozim yapma yetenekleri arasındaki ilişkiler incelenmiştir.

Materyel ve Metod

Çeşitli ağız hastalığı lezyonu bulunan hastalardan ve normal şahısların boğazlarından eküvyonla alınan muayene maddeleri tüpteki glikozlu buyyon besiyerine, Löffler serumuna, azaltma metodu ile Petri kutularındaki % 5 kanlı jeloz, Sabouraud besiyerine ekilmiştir. Kanlı jeloz, buyyon besiyerleri 37°C de 24 saat, Sabouraud besiyerleri 22°C de 48 saat bekletildikten sonra oda derecesinde muhafaza edilmiştir. Kanlı jeloz ve Sabouraud besiyerlerinde üreyen değişik kolonilerden saf kültür için eğri Levinthal besiyerine ekim yapılarak biyokimyasal özellikleri araştırılmıştır.

İzole edilen suşların lizozim yapma yeteneklerini incelemek için Difco firmasından temin ettiğimiz ölü *Micrococcus lysodeikticus*'tan hazırlanmış Bacto-Lysozyme substratını kullandık. Besiyerini hazırlamak için 1000 ml damıtık suya 35 gr agar ve 1 mgr/ml lizozim substrat ilâve edilmiştir. Homojen bir karışım elde etmek için iyice çalkalanmış ve 15 ml tüplere taksim ederek 120°C de 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Buz dolabında saklanan besiyerleri deney sırasında eritilerek Petri kutularına dökülmüş ve lizozim yapma yeteneği denenecek suşlar dıştan merkeze doğru çizgi halinde ekilerek 37°C de 24-48 saat bekletilerek sonuçlar makroskopik olarak gözle incelenmiştir. Üreme alanının çevresinde şeffaf bir erime bölgesi görülenlerde suşun lizozim teşkil ettiği kabul edilmiştir. Kontrol olarak Petri kutusuna yumurta akından elde edilerek 1/100 oranında sulandırılmış lizozim solusyonundan belirli yere çizgi halinde ekim yapılmıştır.

Stafilokok suşlarının patojenlik yeteneklerinin incelenmesi için elde edilen saf kültürler kanlı jeloza çizgi şeklinde, plâzmaya, mannitli peptonlu besiyerine, jelâtinli besiyerine ve yumurta sarılı besiyerine ekilmiştir.

Bulgular

Çalışmamızda çeşitli ağız lezyonu bulunan 85 şeker hastası ile 40 normal şahsın boğaz salgısından izole edilen suşların sayısı tablo 1 ve tablo 2 de gösterilmiştir. Ağız lezyonu bulunan şeker hastalarının ağız - boğaz salgılarından hastalık etkeni kabul edilebilecek 37 Staphylococcus aureus, 41 Staphylococcus albus haemolyticus, 7 Beta hemolitik streptococcus, 5 Escherichia coli; normal şahısların boğaz salgılarından 11 Staphylococcus aureus, 19 Staphylococcus albus haemolyticus, 3 Escherichia coli suşu izole edilmiştir.

Ağız lezyonu bulunan 85 şeker hastasının ağız - boğaz salgılarından izole edilen 37 Staphylococcus aureus suşunun 29'unun, 41 Staphylococcus albus haemolyticus suşunun 20 sinin, 7 Beta hemolitik streptococcus suşunun 2 sinin, 5 Escherichia coli suşunun 3 ünün; 40 normal şahsın boğaz salgısından izole edilen 11 Staphylococcus aureus suşunun 2 sinin, 19 Staphylococcus albus haemolyticus suşunun 3 ünün, 3 Escherichia coli suşunun 1 inin lizozim yapma yeteneğinin bulunduğu tespit edilmiştir. Ağız lezyonu bulunan 85 şeker hastasından izole edilen 37 Staphylococcus aureus suşunun hepsinin tavşan kanlı jeloz besiyerinde hemoliz husule getirdiği, tavşan plâzmasını koagüle ettiği, 33 ünün mannitole etki göstererek asit teşkil ettiği, 21 inin jelâtinini hidrolize ettiği, 32 sinin yumurta sarılı besiyerinde opasite husule getirdiği ve 29 unun lizozim teşkil ettiği görülmüştür. 41 Staphylococcus albus haemolyticus suşunun 41 inin hemoliz teşkil ettiği, 2 sinin mannite etki gösterdiği, jelâtinini hidrolize ettiği, yumurta sarılı besiyerinde opasite husule getirdiği ve 20 sinin lizozim teşkil ettiği tespit edilmiştir, tablo 3. 40 normal şahsın boğaz salgısından izole edilen 11 Staphylococcus aureus suşunun hepsinin tavşan kanlı jeloz besiyerinde hemoliz husule getirdiği, plazmayı koagüle ettiği, 9 unun mannite etki göstererek asit teşkil ettiği, 5 inin jelâtinini hidrolize ettiği, 9 unun yumurta sarılı besiyerinde opasite husule getirdiği ve 2 sinin lizozim teşkil ettiği; 19 Staphylococcus albus haemolyticus suşunun 19 unun hemoliz teşkil ettiği, 1 inin yumurta sarılı besiyerinde opasite husule getirdiği, 3 ünün lizozim teşkil ettiği tespit edilmiştir, tablo 4.

Suş	Suş sayısı	Lizozim (+)	Lizozim (—)
S. aureus	37	29	8
S. albus haemolyticus	41	20	21
Beta hemolitik streptokok	7	2	5
E. coli	5	3	2

Tablo 1. Şeker hastalarının ağız lezyonlarından izole edilen suşların lizozim yapma yeteneği.

Suş	Suş sayısı	Lizozim (+)	Lizozim (—)
S. aureus	11	2	9
S. albus haemolyticus	19	3	16
Beta hemolitik streptokok	—	—	—
E. coli	3	1	2

Tablo 2. Normal şahısların boğaz salgılarından izole edilen suşların lizozim yapma yeteneği.

Suş	Suş sayısı	Lizozim (+)	Koagülaz (+)	Hemoliz (+)	Mannite etki	Jelatin hidrolizi	Yumurta sarılı besiyerinde opasite
S. aureus	37	29	37	37	33	21	32
S. albus haemolyticus	41	20	—	41	2	2	2

Tablo 3. Şeker hastalarının ağız lezyonlarından izole edilen stafilokok suşlarının çeşitli özelliklerinin mukayesesi.

Suş	Suş sayısı	Lizozim (+)	Koagülaz (+)	Hemoliz (+)	Mannite etki	Jelatin hidrolizi	Yumurta sarılı besiyerinde opasite
S. aureus	11	2	11	11	9	5	9
S. albus haemolyticus	19	3	—	19	—	—	1

Tablo 4. Normal şahısların boğaz salgılarından izole edilen stafilokok suşlarının çeşitli özelliklerinin mukayesesi.

TARTIŞMA

İnfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antibiyotikleri düzensiz kullananlarda, kan hastalıkları ve romatizmada kortikosteroidlerin fazla uygulanması halinde, osteomyelit gibi kronik seyirli hastalıklarda şeker

hastalarında organizmanın direncinin azaldığı ve ağız - boğaz boşluğunda potansiyel patojen olarak bulunan mikroorganizmaların daha sık hastalık husule getirmektedir (4, 8, 9). Stafilokok suşlarının patojenliklerine karar verebilmek için hemolizin, koagulaz teşkili, mannitten asit husule getirmeleri, yumurta sarılı besiyerinde opasite teşkil etmeleri gibi bazı özelliklerin bilinmesi gereklidir. Bu özelliklerle birlikte estafilokokların pigment teşkil etmeleri önceleri patojenlik ayırımında bir yer almışsa da bu özellik halen geçerli bir bulgu değildir (1, 7).

Stafilokokların lizozim teşkili üzerine yapılan bir çalışmada koagulaz pozitif olan 70 *S. aureus* suşunun hepsinin (% 100), koagulaz negatif 76 *S. aureus* suşundan 3 (% 39) ünün lizozim teşkil ettiği; koagulaz negatif 76 *S. aureus* suşundan 3 (% 39) ünün lizozim teşkil ettiği; koagulaz negatif 131 *S. albus* suşunun 2 (% 1,5) inin lizozim husule getirdiği bildirilmektedir (1). Çalışmamızda şeker hastalarından izole edilen koagulaz pozitif 37 *S. aureus* suşundan 29 (% 78,3) ünün; koagulaz negatif 41 *S. albus haemolyticus* suşundan 21 (% 48,7) inin lizozim teşkil ettiği tespit edilmiştir. Normal şahısların boğaz salgılarından izole edilen 11. *S. aureus* suşundan 2 sinin (% 18,1), 19 *S. albus haemolyticus* suşunun 3 (% 15,7) ünün lizozim teşkil ettiğini tespit ettik. Akman'ın yapmış olduğu çalışmada *S. aureus* ve *S. albus* suşlarında koagulaz ve lizozim husule getirme yeteneklerinin birbirine eşit olduğu dikkati çekmektedir (1). Son yıllarda patojen stafilokokların ayırımında öngörülen özelliklere bir de lizozim teşkil etme yetenekleri ilâve edilmektedir (1, 6, 14).

Biz şeker hastalarından izole ettiğimiz *S. aureus* suşlarında lizozim husule getirme yeteneğini (% 78,3), *S. albus haemolyticus* suşlarında (% 48,7); normal şahısların boğaz salgılarından izole ettiğimiz *S. aureus* suşlarının (% 18, 1), *S. albus haemolyticus* suşlarında ise (% 15, 7) oranında tespit ettik. Bu sonuçlar şeker hastalarından izole edilen stafilokok suşlarında normal şahısların boğaz salgılarından izole edilen suşlara nazaran daha yüksek oranda lizozim husule getirme yeteneklerinin bulunduğunu göstermektedir. Şeker hastalarında ağız salgısının azalması ile birlikte lizozimin de azaldığı ve normal vücut direnci kırılmış şahıslarda lizozim teşkil eden suşların arttığı ve kolaylıkla hastalık husule getirdikleri anlaşılmaktadır.

Akman'ın yapmış olduğu çalışmada havadan izole ettikleri 2 Beta hemolitik streptokok suşunun 2 sinin de lizozim teşkil ettiği bildirilmektedir (1). Biz şeker hastalarından izole ettiğimiz 7 Beta hemolitik streptokok suşundan 2 sinin lizozim husule getirdiğini tespit ettik. Akman çalışmasında izole ettikleri *E. coli* bakterilerinde lizozim husule getirme yeteneğinin bulunmadığını bildirmektedir (1). Biz çalışmamızda şeker

WOLFFENBÜTTEL
BIBLIOTHEK
FEBRUAR 1984

hastalarından izole edilen 5 E. coli suşundan 3 ünün, normal şahısların boğaz salgılarından izole edilen 3 E. coli suşunun 1 inin lizozim teşkil ettiğini tespit ettik. Normal şahısların boğaz salgılarında bulunan lizozim husule getiren potansiyel patojen suşların organizmanın direncinin azaldığı hallerde kolaylıkla hastalık yapabileceği kanısındayız.

Ö Z E T

Çalışmamızda 85 Şeker hastasının ağız lezyonunda izole ettiğimiz 37 Staphylococcus aureus suşunun 29 unun, 41 Staphylococcus albus haemolyticus suşunun 20 sinin, 7 Beta hemolytic streptococcus suşunun 2 sinin, 5 Escherichia coli suşunun 3 ünün ve 40 normal şahsın boğaz salgısından izole ettiğimiz 11 Staphylococcus aureus suşunun 2 sinin, 19 Staphylococcus albus haemolyticus suşunun 3 ünün, 3 Escherichia coli suşunun 1 inin lizozim yaptığı tesbit edilmiştir.

Ağız lezyonları bulunan şeker hastalarından izole edilen lizozim yapan suşların, sağlam şahısların boğaz salgılarından izole edilen suşlara oranla çok yüksek olduğu bulunmuştur.

S U M M A R Y

Of lysozyme producing strains isolated from the throat swabs of diabetics with various oral lesions as compared with those of normal individuals.

Our research bears on strains isolated from the oral lesions of 85 diabetics and 40 normal individuals, 29 out of 37 Staphylococcus aureus strains, 20 out of 41 Staphylococcus albus haemolyticus, 2 out of 7 Beta hemolytic Streptococcus strains, 3 out of 5 Escherichia coli strains diabetic patients, and in 40 normal individuals, 2 out of 11 S. aureus strains, and 3 out of 19. E. albus haemolyticus strains, 1 out of 3 Escherichia coli strains, isolated from the throat swabs proved to be lysozyme producing.

It was observed that the lysozyme producing strains isolated from diabetics with oral lesions were in a higher ratio as compared with those of normal individuals.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — AKMAN, M. : Stafilokokların lysozyme yapımı ve bu özelliğin diğer kriterler ile ilişkisi, Mikrobiol Bült 1 : 207 (1967).
- 2 — ALDERSON, G., WARD, W. H. and FEWOLD, H. L. : Isolation of lysozyme from egg-white, J. Biol Chem 157 : 43 (1945).
- 3 — CİCİOĞLU, R. : Monositik ve monomyelositik lösemilerde serum ve idrarda lysozim durumunun immunolojik metodla belirlenimi, Mikrobiol Bült 7 : 361 (1973).
- 4 — ÇETİN, E. T., ANĞ, Ö., TÖRECİ, K. and BERKİTEN, R. : Investigation on aerobic oral and nasal flora of University students, Path Microbiol 37 : 185 (1971).
- 5 — FLEMING, A. : On a remarkable bacterolytic element found in tissues and secretions, Proc. Roy Soc (London) 93 : 306 (1922).
- 6 — HOLT, R. J. : Lysozyme production staphylococci and micrococci, J Med. Microbiol 4 : 375 (1971).
- 7 — KASIMOĞLU, Ö. : Staphylococcus pyogenes aureus suşlarının yumurta sarılı besiyerlerinde opasite husule getirmeleri hakkında, Tıp Fak Mecm. 25 : 317 (1962).
- 8 — KASIMOĞLU, Ö., KONUKMAN, S., KONUKMAN, E., ADAM, E. : Psikoaktif ilaç tedavisi uygulanan hastaların ağız ve boğaz salgılarından izole edilen aerob mikroorganizmalar, Diş Hek. Fak. Mecm. 8 : 57 (1974).

- 9 — KONUKMAN, E. : Ağız Hastalıkları, Cilt II, Tan Ofset, İstanbul (1972).
- 10 — PERILLIE, P. E., KAPLAN, S.S., LEFKOWITZ, E., ROGAWAY, W. and FINCH, S. C. : Studies of muramidase (lysozyme) in leukemia, J Amer Med. Ass 203 : 317 (1968).
- 11 — RICHMOND, M. H. : Bacterial lysozyme, J Gen Microbiol 16 : 4 (1957).
- 12 — SENN, H. J., CHU, B., O'MALLEY, J. and HOLLAND, J. F. : Experimental and Clinical studies of muramidase (lysozyme), Acta Haemat 44 : 65 (1970).
- 13 — STRANGE, R. E. and DARK, F. A. : A cell - wall lytic enzyme associated with spores of Bacillus species, J Gen Microbiol 16 : 236 (1957).
- 14 — WELSCH, M. : «Lysozyme» des staphylocoques, Comp Rend Soc Biol 153 : 2080 (1959).
- 15 — WELSHIMER, H. J. : The action of lysozyme on the cell wall and capsule of Bacillus megaterium, J. Bacteriol 66 : 112 (1953).