

## TAVUK ORİJİNLİ STAFİLOKOK SUŞLARININ PROTEİN-A SENTEZLEME ÖZELLİKLERİ VE PROTEİN-A SENTEZİ ÜZERİNDE İKİ FARKLI BESİYERİNİN ÖNEMİ

Hatice AYHAN (\*)

Nejat AYDIN (\*\*)

### G İ R İ Ő

Bazı stafilokok suşlarının hücre duvarında antijenik spesifiteye sahip protein karakterinde, protein-A olarak adlandırılan bir yapı yer alır. Hücre duvarında peptidoglikana kovalent bağlarla bağlı olan protein-A, bir stafilolitik enzim olan lizostafin aktivitesiyle serbest protein-A haline dönüşür ve üreme ortamına salınır (18). Protein-A'nın ortaya konulması taksonomik olarak önem taşır ve kural olarak koagülaz negatif stafilokok'larda bulunmaz (1, 7, 18).

İnsan ve değişik hayvan orijinli stafilokok suşlarının protein-A oluşturmaları üzerine çalışmalar yapılmış, bu amaçla lamda ve mikropate'lerde İHA (1, 2, 7, 14, 16), HA (3, 13), agar jel presipitasyon (6, 13, 15), single-tube mixed aglutinasyon test (11), ELISA (17), FAT (10) testleri uygulanmıştır. Bunun yanısıra bu antijenik komponentin oluşturulması üzerine besiyerlerinin önemli olduğu üzerinde de durulmuş ve araştırmalarda colombia agar, nutrient agar No: 2, BHIB (2), TSA, %5 NaCl içeren TSA ve Gox agar (4, 7), MH agar (7), CCY agar, CYT agar (8), insan kanlı peptonlu ve peptonsuz agar, isovital X'li hematin agar, chapman agar, tween 80 agar, water blue agar ve buyyon pepton agar gibi katı, tripsin buyyon, % 7.5 NaCl'li tripsinli buyyon, % 4 NZ amin NAK buyyon (10) kullanılmıştır.

(\*) Bio. A.Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı, Ankara

(\*\*) Prof. Dr., A. Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı, Ankara

## MATERYAL VE METOT

**Stafilokok suşları :** S.aureus Cowan suşu pozitif, S.epidermidis suş 33 negatif kontrol olarak kullanıldı. Standart suşlar A.Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalı kültür koleksiyonundan sağlandı.

**Besi Yerleri :** Stafilokok suşlarının protein-A lam aglutinasyonu için TSA (Difco) ve Gox (4) besiyerlerinden yararlanıldı.

**Protein-A ayırıcı :** Poutrel ve Lefort'un (16) yöntemine göre hazırlandı.

**Stafilokok'ların identifikasyonu :** Denemelerde kullanılan 244 stafilokok suşunun identifikasyonu kanlı agar da hemoliz, clumping factor ve tüp koagulaz (tavşan plazması), latex aglutinasyon, DNase, glikoz ve mannitolün aerobik ve anaerobik fermentasyonu (O/F) testleriyle yapıldı.

**Protein-A lam testi :** Stafilokok suşlarının protein-A sentezleme özellikleri Poutrel ve Lefort'un (16) bildirdikleri yöntemine göre lamda yapıldı. Test için stafilokok'ların TSA besiyerlerinden TSA besiyerine ve TSA besiyerinden Gox besiyerine pasajı ile hazırlanan 37°C'deki 24 saatlik subkültürleri kullanıldı.

## B U L G U L A R

**Identifikasyon sonuçları :** Tavuk orijinli stafilokok suşlarının 66'sı S.aureus, 117'si S.epidermidis olarak identifiye edildi. Ayrıca, İ.Ü. Veteriner Fakültesi Bakteriyoloji Bilim Dalından sağlanan tavuk orijinli 60 adet S.aureus ve 1 adet S.epidermidis suşu da denemelere alındı.

**Protein-A lam aglutinasyon sonuçları :** Tavuklardan izole ve identifiye edilen toplam 126 S.aureus suşunun TSA besiyerinden TSA besiyerine yapılan subkültürlerinden 16 (%12.7)'si, 118 S.epidermidis suşunun ise 2 (% 1.7)'si; TSA besiyerinden Gox besiyerine yapılan subkültürlerde S.aureus ve S.epidermidis suşları ile sırasıyla, 45 (% 35.7), 6 (% 5)'lik sonuçlar elde edildi.

**TABLO 1 : Stafilokok suşlarının farklı besiyerlerinde protein-A sentezleme özellikleri (sayı ve % olarak)**

Besiyerleri	S.aureus		S.epidermidis	
	Sayı	%	Sayı	%
TSA	16	12.7	2	1.7
Gox	45	35.7	6	5

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, tavuk orijinli stafilokok suşlarının protein-A sentezleme özellikleri ile Gox agar ve TSA besiyerlerinin protein-A sentezleme üzerine etkileri araştırıldı.

Kural olarak, patolojik stafilokok'larda bulunan, hücre duvarına bağlı ve serbest olarak salgılanan protein-A'nın varlığını belirlemek amacıyla, değişik hayvan türleri ve insanlardan izole edilen S.aureus ve S.epidermidis suşları incelenmiştir (1, 5, 8, 9, 12, 17, 18). Forsgren (5), insan orijinli 700 koagülaz pozitif suşdan 629'sinin ve 100 koagülaz negatif suştan 2'sinin ekstraselüler protein-A oluşturduğunu; Kronvall ve ark. (8) ise, kronik vak'alarından ayırdıkları S.aureus'ların %59.8'inin, 77 S.epidermidis'den bir tanesinin protein-A sentezlediğini bildirmişlerdir. Windbold ve Ericson (18), insanlardan izole ettikleri 341 izolatın 301 adetinin tüpte yapılan HA testinde pozitif saptadıklarını belirtmişlerdir. Lachica ve ark. (9), 127 S.epidermidis'den 123'ünü ve 34 S.hycus'tan tümünü protein-A yönünden negatif bulduklarını; buna karşın Müller ve ark. (12), domuz orijinli 47 S.hycus'un 44'ünün protein-A yönünden pozitif olduğunu ortaya koymuşlardır. Weiss ve ark. (17), çeşitli hayvan türlerinden ayırdıkları stafilokok'ların 29'unun hücreye bağlı, 88'inin ekstraselüler protein-A'ya sahip olduklarını; Akay ve ark. (1) ise, insan orijinli 189, sığır orijinli 97 S.aureus suşunun sırasıyla, 119 ve 44'ünün pozitif, 248 insan ve 43 sığır orijinli S.epidermidis suşunu negatif bulduklarını bildirmişlerdir.

Araştırmacılar (4, 7, 10, 18), protein-A tanısında metot, inkübasyon koşulları yanısıra besiyerlerinin bileşiminin de önem taşıdığına değinmişler. et ekstraktları ile zenginleştirilmiş besiyerlerinin protein-A sentezi için en iyi ortamlar olduğunu belirtmişlerdir (4, 10). Windbold ve Ericson (18), insan kanlı peptonlu ve peptonsuz agar, isovital X'li hematin agar, chapman agar, tween 80 agar, water blue agar kullanmışlar; insan kanlı peptonsuz agarda üretilen suşlarda protein-A yapımının meydana geldiğini, diğer besiyerlerinde ise sonuçların değişiklik göstermediğini bildirmişlerdir. Lind (10), stafilokok'ların protein-A sentezleme özellikleri üzerine besiyerlerinin etkisini incelemek amacıyla çeşitli sıvı ve katı besiyerlerini kullanmış, protein-A'nın en yüksek oranda % 4 NZ amin NAK agarında, en düşük oranda protein-A sentezinin ise % 7.5 NaCl içeren besiyerinde saptandığını; Flandrois ve ark (4), HA ve agar jel presipitasyon testlerini kullandıkları çalışmalarında en iyi sonuçları Gox besiyerinde aldıklarını bildirirken, bir başka araştırmacı grubu da (7), benzer sonuçlar elde ederek Gox besiyerini önermişlerdir. Bu çalışmada, tavuk orijinli 126 S.aureus suşunun TSA'da 16 (% 12.7)'si, Gox agarda 45 (% 35.7)'i, S.epidermidis suşlarının TSA ve Gox besiyerlerinde sırasıyla 2 (% 1.7)'si ve 6 (% 5)'si pozitif olarak bulunmuştur.

Lamda HA testiyle elde edilen sonuçlar, insan ve sığır orijinli stafilokok suşlarına oranla protein-A sentezleme özelliklerinin düşük olduğunu göstermektedir. Bunun yanısıra araştırmacıların bildirdiği gibi S.aureus suşlarında protein-A sentezleme oranı, S.epidermidis suşlarına oranla çok daha yüksektir. Ayrıca, stafilokok'ların protein-A sentezleme yeteneklerinin belirlenmesinde Gox besiyerinin TSA besiyerine göre çok daha uygun olduğu araştırmacıların bulgularıyla paralellik göstermekte ve desteklenmektedir.

## Ö Z E T

İdentifiye edilen tavuk orijinli 126 S.aureus ve 118 S.epidermidis suşu TSA ve Gox agar besiyerlerinde protein-A sentezlemeleri yönünden test edildi. Duyarlı eritrositlerin kullanıldığı lam aglutinasyon testinde, TSA besiyerinden TSA besiyerine yapılan subkültürlerde S. aureus'ların 16 (% 12.7'si, S.epidermidis suşlarının 2 (% 1.7)'si; TSA besiyerinden Gox besiyerine yapılan subkültürlerde ise S.aureus ve S.epidermidis suşlarının sırasıyla, 45 (% 35.7)'i, 6 (% 5)'i pozitif bulundu. Protein-A sentezleme üzerine en uygun besiyerinin Gox agar olduğu belirlendi.

## S U M M A R Y

The properties of protein-A production by Staphylococci isolated from poultry and the importance of two different media on the production of protein-A.

In this study, 126 S.aureus and 118 S.epidermidis isolates recovered from poultry were tested by passive haemagglutination test using sensitized sheep red blood cells on slide. In the passages of isolates from TSA to TSA media 16 (12.7 %) of S.aureus, 2 (1.7 %) of S.epidermidis were determined as positive. In subcultures made from TSA to Gox media 45 (35.7%) and 6 (5%) strains representing S.aureus and S.epidermidis were found positive for the protein-A, respectively. These results showed that Gox agar, was the most suitable medium for the production of protein-A by staphylococci.

## K A Y N A K L A R

- 1 — AKAY, Ö., OCAK, İ., İZGÜR, M., ARDA, M., AYDIN, N., SULTAN, N. ve AYDIN, N. (1985) : İnsan ve çeşitli kaynaklı stafilokok suşlarının protein-A oluşturmaları üzerinde bir araştırma. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 32: 401-402.
- 2 — CARRET, G., FLANDROIS, J.P. and FLOUQUERAT, J. (1981) : Detection of Staph.aureus protein-A by passive haemagglutination test using microtiter plate. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A., 249: 32-38.
- 3 — ESSERS, L. and RADEBOLD, K. (1980) : Protein-A haemagglutination test a reliable method for rapid identification of Staph.aureus. Hyg. Abt. I. Orig. Reihe A., 247: 170-176.
- 4 — FLANDROIS, J.P., FLERETTE, J. et EYRAUD, F. (1976) : Detection de la protein-A de Staph.aureus par hemagglutination conditionnée. Ann. Biol. Clin., 33: 365-368.
- 5 — FORSGREN, A. (1970) : Significance of protein-A production by Staphylococci. Infect. Immun., 2: 672-673.
- 6 — FORSGREN, A. and SJÖQUIST, J. (1967) : Protein-A from Staph.aureus. III. Reaction with rabbit gamma globulin. J. Immun., 99: 19-24.
- 7 — İZGÜR, M., AKAY, Ö. ve USLANOĞLU, B. (1987) : İnsan ve hayvanlardan izole ve tanıya edilen S.aureus suşlarının protein-A oluşturmaları üzerine çeşitli besiyerlerinin etkisi. TÜBİTAK Proje No: VHAG-686.

- 8 — KRONVALL, G., HOLMBERG, O. and RIPA, T. (1972) : Protein-A in Staph. aureus strains of human and bovine origin. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B., 80: 735-742.
- 9 — LACHICA, V.F., GENIGERGIS, C.A. and HOEPRICH, P.D. (1979) : Occurrence of protein-A in S.aureus and closely related Staphylococcus species. J. Clin. Microbiol., 10: 752-753.
- 10 — LIND, I. (1974) : Protein-A production in different strains of Staph.aureus under varied growth conditions. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 82: 821-828.
- 11 — MAXIME, P.E., MATHEWS, H.L. and MENGOLL, H.F. (1976) : Single tube mixed agglutination test for the detection of staphylococcal protein-A. J. Clin. Microbiol., 4: 418-422.
- 12 — MULLER, H.P., SCHAEGL, W. and BLOBEL, H. (1981) : Protein-A aktivitat von S.hyicus im vergleich zu protein A von S.aureus. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A., 249: 443-451.
- 13 — MULLER, E.E., BRUCKLER, J., SCHAEGL, W. and BLOBEL. (1973) : Production of protein-A by cultures of Staph.aureus isolated from cattle and its purification. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, Serie Veterinaria., 8: 115-119.
- 14 — NETER, E. and GORZYNSKI, E.A. (1959) : Studies on indirect Staphylococcal hemagglutination. Z. Immun. Forsch., 118-288.
- 15 — OEDING, P. and HAUKENES, G. (1963) : Identification of Staph.aureus antigens and antibodies by means of the gel precipitation technique. Acta Pathol. Microbiol. Scand. 57: 438-450.
- 16 — POUTREL, B. et LEFORT, B. (1980) : Mise au point et utilisation d'un reactif sensible et stable pour la detection de la proteine-A de Staph.aureus. Med. Maladies Infect., 10: 38-41.
- 17 — WEISS, R., SCHMEER, N., AMEND, A., SCHAEGL, W. and BEKHEAT, I. (1984) : Detection of protein-A formation by Staphylococci by means of ELISA. Zbl. Vet. Med. B., 31: 424-434.
- 18 — WINBLAD, S. and ERICSON, C. (1973) : Sensitized sheep red cells a reactant for Staph.aureus protein-A. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B., 81: 150-156.