

Stafilokokkal Toksin ve Enzimler

Timur GÜLHAN¹

Banur BOYNUKARA¹

Özet

Bu makalede, Stafilokokkal toksin ve enzimlerin özellikleri ile insan ve hayvan sağlığına etkileri araştırıldı.

Stafilokoklar, doğada yaygın bir şekilde bulunurlar. Ayrıca insan ve hayvanların derileri üzerinde ve mukoz membranlarında doğal floranın oluşumuna katılırlar. Stafilokokların çoğu saprofitik karakterdedir, ancak, bazı türleri insan ve hayvanlarda çeşitli lokal ve generalize suppuratif enfeksiyonlara neden olurlar.

Stafilokoklarda patojeniteyi belirleyen önemli karakterler Tablo 1'de sunuldu.

Anahtar kelimeler: Stafilokok, Toksin, Enzim.

Summary

Toxins and Enzymes of Staphylococci

In this paper, the properties of Staphylococcal toxins and enzymes and adverse effects of them to human and animal health have been reviewed.

Staphylococci are present widespread in nature. In addition, most of the Staphylococci participate the formation of natural flora on skin and mucosal membranes of humans and animals. Most of them are saprophytic but some species cause to suppurative local and general infections in humans and animals. In Staphylococci the important characters which determine pathogenicity have been presented in Table 1

Key words : *Staphylococcus, Toxin, Enzyme.*

Giriş

Stafilokoklar, Gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, kapsülsüz (bazı suşları mikrokapsül içerir), aerob veya fakültatif anaerob, 0.5 ile 1.5 µm çapında, özellikle katı besi yerlerinden hazırlanan preparatlarda üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturan mikroorganizmalardır. Katı besi yerlerinde yuvarlak, düzgün ve beyazdan limon sarısına kadar değişen pigmentli koloniler oluştururlar. Pigment, en iyi 20°C'de oluşur. Anaerobik koşullarda ve sıvı besi yerlerinde pigment oluşmaz. Tüm stafilokoklar, katalaz pozitiflerdir(1). Stafilokoklar, 6.5 ile 45°C aralığında üreme yeteneğine sahiptirler. Ancak, optimum üreme sıcaklığı 30°C - 37°C arasındadır. Üreme ortam-larındaki optimum pH 7.0 - 7.5 olmasına rağmen pH'nın 4.3'e düşmesi durumunda bile üreme görülebilir. % 15'lik NaCl bulunan ortamlarda üreyebilmelerinden dolayı halofilik bakteriler grubunda yer alırlar. Patojen stafilokokların çoğu, sahip oldukları koagülaz enzimi ile plazmayı pıhtılaştırırlar(1,2). Kanlı agarda değişik hemoliz(α,

β, δ, γ, ε)'li koloniler oluştururlar. Hemoliz, kültürlerin CO₂'li ortamlarda inkübe edilmeleri halinde çok daha belirgindir (3,1). Sporsuz bakteriler içinde stafilokoklar, çevre şartlarına en dirençli olan bakterilerdir. 50 °C'lik ısıya 30 dakika dayanabilirler (4,5). Stafilokoklar, antibiyotiklere karşı genellikle duyarlıdır. Bazı patojen stafilokok türleri, ürettikleri penisilinaz enzimi sayesinde penisilinlere karşı direnç kazanabilirler. Ayrıca gelişigüzel antibiyotik kullanımları sonucunda streptomisin, auromisin, terramisin ve kloramfenikol'a karşı direnç kazandıkları saptanmıştır (2,6).

Stafilokoklar, *Micrococcaceae* familyasındadırlar. Bu familya ayrıca *Stomatococcus*, *Micrococcus* ve *Planococcus* cinsleri bulunmaktadır. Bu cinslerden planokoklar, genellikle insanlarda enfeksiyon yapmazlar. Stomatokoklar ise stafilokoklardan farklı olarak, katalaz negatiftirler. *Micrococcaceae* familyasındaki bu dört cinsin ayırt edici özellikleri Tablo 2'de gösterilmiştir (5,7).

Stafilokok suşları, oluşturdukları pigmente göre ; 1-*S.aureus* (altın sarısı), - 2-*S. albus* (beyaz), 3-*S.citreus* (limon sarısı) olmak üzere üç varyete gösterirler(2).

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

Tablo 1. Stafilokok Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri.

Özellikler	S.aureus	S.epidermidis	S.capitis	S.warneri	S.haemolyticus	S.hominis	S.auricularis	S.saprophyticus	S.hyicus subsp. hyicus	S.simulans	S.intermedius
Pigment	+/w	-	-	d	d	d	-	d	-	-	-
Aerop üreme	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anaerop üreme	+	+	(+)	+	(+)	-/w	-/w	(+)	+	+	(+)
%10 NaCl'de üreme	+	w	+	+	+	w	+	+	+	+	+
%15 NaCl'de üreme	w	-	-/w	w	d	-	w	d	-w	w	d
Asetoin oluşturma	+	+	d	+	d	d	d	+	-	w	-
Sukroz	+	+	(+)	+	+	(+)	d	+	+	+	+
Maltoz	+	+	-	(+)	+	+	(+)	+	-	w	w
D-Mannitol	+	-	+	d	d	-	-	d	-	+	d
D-mannoz	+	(+)	+	-	-	-	-	-	+	d	+
D-Trehaloz	+	-	-	+	+	d	(+)	+	+	d	+
α -Laktöz	+	d	-	d	d	d	-	d	+	+	d
Hyaluronidaz	+	d	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND
Üreaz	+/w	+	-	+	-	+	-	+	d	+	+
Koagulaz	+	-	-	-	-	-	-	-	d	-	+
Hemoliz	+	-/w	-/w	d	(+)	-/w	-	-	-	-/w	d
DN ase	+	-/w	w	d	d	-/w	-/w	-	+	w	+
Isiya dirençli nükleaz	+	-/w	-	-	-	-	-	-	+	-/w	+
Novobiocine -direnç	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
15° C'de Üreme	+	-w	-	d	-w	-w	-	+	+	+	+
45° C'de üreme	+	+	+	+	+	+	+	d	-w	+	+
L-Arabinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinoz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Galaktöz	+	d	-	d	d	d	-	-	+	-w	+
β -D-Fruktoz	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+
D-Riboz	+	d	-	d	d	-	-	-	+	ND	d
Nitrat Redüksiyon	+	+w	d	-w	d	d	d	-	+	w	+
Alkalin Fosfataz	+	+	-	-	-	-	-	-	+	w	+
Arjinin Dehidrolaz	+w	+w	d	d	+	d	d	-w	+	+	-
Clumping Faktör	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d
Fibrinolizin	d	d	ND	ND	ND	ND	ND	ND	d	ND	-

* (Bergey's Manual of, Systematic Bacteriology, 1986)'dan alınmıştır.

+ : %90 Pozitif

- : %90 Negatif

+w : Haftalık Reaksiyonda Pozitif

d : %11- 89 Pozitif

ND : Hakkında Bilgiler Net Değil

-w : Haftalık Reaksiyonda Negatif

w : Haftalık Reaksiyon,

Tablo 2. *Micrococcaceae* familyasındaki cinslerin ayırt edici özellikleri

Özellikler	<i>Micrococcus</i>	<i>Stomatococcus</i>	<i>Planococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
Kapsül	-	+	-	-
Hareket	-	-	+	-
Furazolidon Agarda Üreme	+	-	-	-
Glukoz Fermentasyonu	Oksidatif	Fermentatif	Oksidatif	Fermentatif
Oksidaz ve Benzidin Testi	+	-	a	b
Lizostafin'e Duyarlılık	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Duyarlı
Teikoik Asit	-	-	-	+
Basitrasin'e Duyarlılık	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Dirençli

+ : %90 pozitif- : %90 Negatif , a : Hakkında bilgiler net değil,

b : *S. sciuri* ve *S. caseolyticus*, bu iki test yönünden pozitifler.

*Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteriyel Enfeksiyonlar (Bilgehan,H. 1992)'den alınmıştır

Stafilokokların, çeşitli karakterler bakımından farklılık gösteren ve Veteriner Hekimliği yönünden önem taşıyan 5 türü bildirilmiştir. Bunlar :

Staphylococcus epidermidis : Daha çok insanlar ve sıcak kanlı hayvanların deri ve mukoza florasında bulunurlar. Bazen patojenik özellik kazanarak lokal apseler ve nadiren endokarditis gibi ağır enfeksiyonlara neden olabilirler(8).

Staphylococcus saprophyticus : Apatojen, koagulaz negatif, mannitole etkisiz, α - toksin oluşturamayan ve novobiosine dirençli olan stafilokoklar bu grupta yer alır(5).

Staphylococcus aureus :İnsan ve sıcak kanlı hayvanlarda geniş çapta piyojenik ve besin zehirlenmesi şeklinde enfeksiyonlara neden olan stafilokoklar, bu grup altında toplanmaktadır. Bu gruptaki stafilokoklar, ayrıca proteaz, lipaz, fosfolipaz, lipoprotein lipaz ve esteraz üretirler. Suşların çoğu, hemoglobin, fibrin, yumurta sarısı, kazein polipeptidleri ve jelatini hidrolize ederler(9).

S. aureus, α , β , δ ve γ hemolizin üretir. Ayrıca ürettiği epidermolitik toksin ile "haşlanmış deri sendromuna" neden olur. Diğer stafilokoklar ve belli bazı bakteriler üzerine bakteriyostatik etkili stafilotoksin sentezler(10,11).

Staphylococcus intermedius : *S. aureus* ve *S. epidermidis* ile bazı karakterler bakımından ortak özelliklere sahiptir. *S. intermedius*, *S. aureus*'ta olduğu gibi koagulaz enzimi sentezleyebilir(2). İnsan ve çoğu hayvan türünün normal burun mukozasında bulunur. Ayrıca etçillerde otitis eksterna, pyoderma, mastitis ve çeşitli yara enfeksiyonlarına neden olur(5).

Staphylococcus hyicus : Domuz, sığır ve kanatlı gibi hayvan türlerinin vücut yüzeyinde apatojen olarak bulunur. Bazı suşları,patojenite kazanarak eksudatif dermatitis ve septik poliartritis gibi oportunistik enfeksiyonlara neden olabilirler(2). *S. hyicus subsp. hyicus* ve *S. hyicus subsp. chromogenes* olmak üzere iki alt türü vardır. *S. hyicus subsp. hyicus*; *S. hyicus subsp. chromogenes*'ten farklı olarak hyaluronidaz enzimine sahiptir ve pigment oluşturmaz (7,8).

Stafilokokkal Toksin Enzim ve Metabolitler: A-Toksik Olmayan Metabolitler

a. Yüzey Yapıları

a.1-Kapsül : Stafilokokların katı besi yerinde üretildikleri zaman nadiren görülen, daha çok in vivo koşullarda oluşan polisakarit yapısında bir mikro-kapsülü vardır. Bu komponent, bakteri komplemanını çevre koşullarından, antikorların ve fagositik hücrelerin olumsuz etkilerinden korumakla birlikte immunolojik spesifiteye sahip olup haptin karakteri gösterir(2,5).

a.2- Hücre duvarı antijenleri

a.2.1- Protein -A: Protein -A, bazı *S. aureus* suşlarının protein karakterinde ve antijenik spesifiteye sahip bir komponentidir ve epidemiyolojik olarak da önem taşır(1,2). *S. aureus* suşlarının çoğunun yüzeyleri Protein-A (Sp-A) ile kaplıdır. Bu protein, kovalent bağlarla peptidoglikan tabakasına bağlıdır. İmmunoglobulinlerden IgG₁ ve IgG₄'ün Fc kısmı ile reaksiyon verdiği halde, Fab kısmı ile bağlantı yapmaz(5,8). Önceleri, insan ve tavşan serum globulinleri ile vermiş olduğu reaksiyon, bir antijen-antikor reaksiyonu olarak değerlendirilmiş, ancak Forsgren ve Sjöquist bunun pseudoimmun bir reaksiyon olduğunu açıklamışlardır(12,15).

S. aureus suşlarının hücre duvarı yüzeyi faj reseptörleri, clumping faktör ve Protein-A yönünden Scanning Electron Mikroskop (SEM) ile incelenmiş, faj reseptörlerinin ve clumping faktörün, üreme dönemi sonunda Protein-A'nın ise üreme döneminin başında sentezlendiği ve Protein-A'nın bütün bakteri yüzeyinde bulunduğu saptanmıştır(12). Saf bir Protein-A molekülü, iki molekül IgG'ye bağlanabilme yeteneğine sahiptir. *S. aureus*'taki Protein-A'nın, Grup-A streptokoklardaki Fc reaktif proteinin ve Grup-C ve -G streptokoklardaki, protein-G olarak tanımlanan Fc reaktif proteinin insan ve farklı hayvan türlerinin IgG alt sınıflarının Fc reseptörleri ile verdiği spesifik reaksiyonlar Tablo 3'de gösterildi (12).

Protein -A, stafilokok suşlarında hücre duvarına bağlı olduğu gibi, ekstrasellüler olarak da bulunabilir. Hücre duvarına bağlı olan Protein -A, lam, aglutinasyon testi ile, soluble yapıdaki ekstrasellüler Protein -A ise, tüp aglutinasyon, mikroplate testleri ya da ELISA ve FAT ile saptanabilir(8,15).

a.2.2- Teikoik asit : Hücre duvarının yüzeyine yerleşmiş olup yüzey antijenini meydana getirirler. Gram negatif bakterilerdeki lipopolisakaridin karşılığı olarak kabul edilir(2). Teikoik asit, gliserol fosfat ve ribitol fosfat molekülünü içeren membran polimerlerini de kapsar. Teikoik asitler, polisakaritler olarak da tanımlanır(5). İlk olarak Wieghard ve Julierelle (1939), virulent ve avirulent stafilokok hücre duvarındaki teikoik asitlerin antijenik özelliğini, bunlara bağlanan şeker, amino asit, kolin ve D-alanin tarafından belirlendiğini tespit etmişlerdir(2). Daha sonraki çalışmalar ile, *S.aureus* suşlarında N- Asetilglukozamin ve ribitol komponentlerinin immunolojik determinantlar olduğu ve

glukozamin atomlarının yerleşimine bağlı olarak spesifite gösterdiği ortaya konulmuştur(13). Hücrede buldukları yerlere göre, membran teikoik asitleri ve duvar teikoik asitleri diye iki büyük sınıf altında toplanırlar. Membran teikoik asitleri, duvar teikoik asitlerinin biyosentezinde "lipoteikoik asit taşıyıcısı" olarak görev yapar. Membranda lokalize olmuş teikoik asitler, hücre duvarındaki otolitik enzimler ile etkileşim halindedir ve eksternal litik enzimlere karşı bakteriyi korur. Duvar teikoik asitlerinde, temel yapı, poliribitol fosfat (*S. aureus*) ya da poligliserol fosfat (*S. epidermidis*)'tır (2,12).

Tablo 3. Fc Reaktif Faktöre sahip Gram (+) kokların İnsan ve çeşitli hayvan IgG ' lerinin Fc fragmentlerine bağlanma oranları

İmmünglobulin	Fc Reaktif Faktör Tipleri		
	Tip -I <i>S.aureus</i> (Protein -A)	Tip -II Grup -A Streptokoklar	Tip -III Grup -C ve -G Streptokoklar (Protein -G)
İnsan IgG ₁	++	++	++
İnsan IgG ₂	++	++	++
İnsan IgG ₃	-	++	++
İnsan IgG ₄	++	++	++
Fare IgG ₁	+	-	+
Fare IgG _{2a}	++	-	++
Fare IgG _{2b}	++	-	++
Fare IgG ₃	++	-	++
Rat IgG ₁	+	-	+
Rat IgG _{2a}	-	-	++
Rat IgG _{2b}	-	-	+
Rat IgG _{2c}	++	-	++
Tavşan IgG	++	+	++
Siğir IgG ₁	-	-	++
Siğir IgG ₂	++	-	++
Koyun IgG ₁	-	-	++
Koyun IgG ₂	++	-	++
Keçi IgG ₁	+	-	++
Keçi IgG ₂	++	-	++
At IgG _(ab)	+	-	++
At IgG _(c)	+	-	++
At IgG _(T)	-	+	+

*Björck,L.,Kronvall,G. Purification and some properties of streptococcal protein G, a novel IgG-binding reagent (1984)'den alınmıştır.

(+) :Zayıf reaksiyon, (++) :Kuvvetli reaksiyon, (-) : Reaksiyon yok

S. aureus'ün hücre duvarında bulunan teikoik asitlerin antijenik özelliklerini göstermek amacıyla, hücre duvarının aglutinasyonu, hemaglutinasyon ve agar jel difüzyon metodu kullanılır (12).

B. Stafilokokkal Enzimler :

1- Koagulaz : Koagulaz enzimi, termostabil ve filtrelerden geçebilme özelliğine sahiptir. Kanda fibrinojenden fibrin oluşturur. Patojen stafilokokların çoğu, okzalatl ve sitratlı insan ya da tavşan plazmasını koagule edebilme yeteneğine sahiptirler(2). Bu tip stafilokoklar, girdikleri organizmada sentezledikleri koagulaz enziminin etkisiyle bir fibrin tabakasıyla kaplanarak fagositozdan korundukları gibi normal

serumun bakterisid etkisini de engelleyerek patojenite kazanmış olurlar. Bu nedenle koagulaz pozitif suşlar, patojen olarak kabul edilirler(5). Koagulaz, plazmadaki antistafilotoksik faktörü de hidrolize edebilir(14). Koagulaz enzimi, stafilokoklardan başka *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ve *Bacillus subtilis* gibi bakteriler tarafından da oluşturulabilir (15).

Koagulaz testi, stafilokok türlerini birbirinden ayırt etmede de önemli bir kriterdir. Pigment, hemoliz ve mannitole etki gibi karakterlerin hiçbiri koagulaz testi kadar ayırt edici değildir(2). *S. aureus* suşları, bağlı ve serbest olmak üzere iki ayrı koagulaz oluştururlar. Bağlı koagulaz (clumping faktör), fibrinojeni doğrudan fibrin

haline dönüştürür. Serbest koagulaz ise aynı sonuca hemen her serumda bulunan Coagulase-Reacting Factor(CRF) yardımıyla ulaşabilir (14,15).

Koagulaz testi, tüpte ve lamda olmak üzere iki şekilde yapılır.

Tüpte koagulaz testi ile, besi yerinde üreyen stafilocokların oluşturdukları ve ortama saldıkları bağımsız koagulaz araştırılır. Bu enzim niteliğindeki madde, plazmada bulunan bir faktör (CRF = Coagulase Reacting Factor) ile ilişki kurar ve trombokinaza benzeyen bir etki ile fibrinojeni pıhtılaştırır. Bu işlem için Ca^{++} iyonlarına gerek yoktur(2,14).

S. aureus dışındaki bazı bakteriler (*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* ve özellikle *Strept. faecalis* gibi bazı enterokoklar), koagulaz aktiviteleriyle değil de sitratı metabolize etme yeteneklerinden dolayı, plazmayı pıhtılaştırıp yanlış pozitif sonuç alınmasına sebep olabilirler. Bu istenmeyen faktörün ortadan kaldırılması için plazmanın pıhtılaşmasını önleyici olarak, sitrat yerine EDTA (Ethylene Diamine Tetra Aceticacid = Versene) kullanılabilir(2,5).

Lam koagulaz testi (Clumping Factor) ile, bağlı koagulaz (kümeleşme faktörü / clumping factor) araştırılmaktadır(2). Bu faktör, hücreye bağlı olduğundan, kültür filtratına geçmez. Etkinliğinin ortaya çıkarılması için, plazmadaki CRF'e gereksinim yoktur(5). Bakteri yüzeyindeki bu faktör, plazmadaki fibrinojeni pıhtılaştırıp, stafilocokların kümeleştirmelerine neden olur (14,15).

Tüpte koagulaz testiyle lam koagulaz testi arasında sonuç olarak bir paralellik vardır. Tüp koagulaz, lam koagulaza göre daha güvenlidir. Özellikle metisiline dirençli suşlarda lam koagulaz, olumsuz sonuç verebilir. Lam koagulaz testinde genellikle tavşan plazmasıyla çalışılır. İnsan plazması ile yapılan testlerde bazı inhibitör maddelerin etkisiyle, yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Ancak, bu sonuçların yeniden incelenmesi şartıyla, insan plazması kullanılabilir. Lam koagulaz testi için kullanılacak plazma, sitrat ya da EDTA ile elde edilmiş olabilir(14).

2- Hyaluronidaz : *S. aureus* suşlarının % 90'ı tarafından sentezlenen bir enzimdir(2). Bu enzim, konnektif (bağ) doku'nun mukoid bir korunma faktörü olan hyaluronik asidi hidrolize ederek depolimerizasyonunu ve böylece stafilocokların enfeksiyon sırasında dokular arasına kolayca yayılmasını sağlar. Stafilocokal yayılma faktörü (spreading faktör) olarak da bilinen hyaluronidaz, etkenin patojenitesini artırır(5). Stafilocokal hyaluronidaz, streptokokal hyaluronidazdan yapı ve antijenik olarak farklıdır(9).

3- Stafilokinaz (Fibrinolizin) : Bakteriler tarafından sentezlenen kinazlar, plazmada bulunan plazminojeni (profibrinolizin) aktive ederek plazmini (fibrinolizin) oluştururlar. Fibrinolitik etki bu plazmin sayesinde gerçekleşir(2). Stafilokinaz, *S. aureus*'un bir çok suşu tarafından, kültür ortamında üredikten sonra sentezlenen ve plazminojeni plazmine dönüştüren bir enzimdir(1). Molekül ağırlığı, 15.000 dalton ve izoelektrik noktadaki pH'sı 6.7'dir (17).

Lack ve ark. (1976), stafilokinazın fibrinolitik etkisini, etanol ile presipite ettikten sonra hazırladıkları enzimi kullanmak suretiyle göstermişlerdir. Bu invivo denemeler ile köpeklerde meydana gelen trombo-embolik oluşumların çözülmesi için ne kadar stafilokinaz hazırlanması gerektiği araştırılmıştır(17). Daha sonraki çalışmalar, stafilokinazların jel immunodiffüzyon yöntemi ile tanımlanabileceğini göstermiştir(18).

Stafilokinaz aktivitesi, direkt olarak fibrin digesyonuna bağlı değildir. Ancak, plazminin aktive edilmesi için stafilokinaz aktivitesi gereklidir. Stafilokinaz aktivitesi, optimal pH (6-8) ve metal iyonları varlığında, iki aşamada gerçekleşir. İlk olarak stafilokinaz yardımıyla plazminojenin plazmine aktivasyonu ve daha sonra plazmin tarafından fibrinin digesyonu şeklindedir. Stafilokinaz plazminojen kompleksi, fizyolojik plazmin aktivasyonundan daha az fibrinolitik aktiviteye sahiptir. 37°C'de 24 saat sonunda, stafilokinaz aktivitesinin azaldığı ve 100°C'de 45 dakika içinde bu aktivitenin % 40' ının kaybolduğu görülür. Isıya karşı dirençlilik, konsantre solüsyonlarda ve özellikle doğal solüsyonlarda, dilüe solüsyonlardan daha fazladır(17).

Stafilokinaz, genellikle insan orijinli stafilocokların koagulaz pozitif olan suşları tarafından üretilir. Aynı suşların büyük bir çoğunluğu, β-hemolizin üretirler. β-hemolizin üretimi, stafilokinaz aktivitesini artırır. Stafilokinaz üreten bazı suşlar, koagulaz ve hemoliz yönünden negatif olabilirler (17,18).

4- Jelatinaz : Jelatin, bir protein olup kollagenin hidrolizasyonu sonucu oluşur. Genellikle patojen mikroorganizmaların üremelerini artırıcı bir özellik göstermez (1). Mikroorganizmalarca sentezlenen proteolitik enzimler tarafından jelatin hidrolize olunca eski katı özelliğini kaybederek sıvı haline dönüşür. Yüksek ısı altında uzun süre kalırsa kısmen hidrolize olur ve polimerize olma yeteneğini yitirir (6). Koagulaz ve mannitol pozitif olan *S. aureus* suşlarının hemen hepsi kollagenin hidrolizasyonu sonucu oluşan jelatini eritme yeteneğine sahip olan jelatinaz enzimini sentezlerler (5). Bir mikroorganizmanın jelatinaz üretilmediğini anlamak amacıyla jelatinli ortamlara ekim yapılır. Jelatinin eriyip erimemesine göre sonuç değerlendirilir (6).

5- Nükleaz : Nükleaz, *S. aureus*'un hemen hemen bütün suşları tarafından sentezlenen termostabil bir enzimdir. Bu enzim, yüksek konsantrasyonlarda dahi, tek başına hücre duvarı üzerine toksik etkili değildir (14). α-hemolizin, nükleaz aktivitesini artırıcı etkiye sahiptir (3). Nükleaz'ın antijenitesi, kalsiyum iyonları ve deoksitimidin 3, 5- difosfat ile, aktivitesi ise 100°C'de 2dk. ısıtma ile inaktive edilebilir(14). Enterotoksin üretimi ile nükleaz üretimi arasında bir paralellik vardır. Enterotoksijenik olan tüm stafilocok türleri, nükleaz üretebilirler (1,14). DNA'ase ve RNA'ase olmak üzere ikiye ayrılan nükleazlar, konakçı dokularını ve aynı zamanda bakteri hücrelerinin DNA ve RNA'larını lize etme yeteneğine sahiptirler(2). DNA'daki deoksitimidilik asit yerine, RNA'da uridilik asit olması nedeni ile

RNA'nın hidrolizasyonu, DNA'nın hidrolizasyonundan daha yavaş gerçekleşir(14).

DNase (Deoksiribonükleaz) : Enzim niteliğindeki bu madde, DNA'yı hidrolize eder(1). Koagulaz pozitif stafilocokların birçoğu, DNase oluşturur. Ancak çeşitli özellikleri (α -toksin oluşturma, stafilokinaz ve hyaluronidaz sentezleme, *S. aureus* suşları ile erime v.b.) ile, *S. aureus* oldukları anlaşılan stafilocokların nadir de olsa bazı suşları, koagulaz negatif bulunabileceğinden, bunların DNase testi ile de pozitif sonuç vermeleri, patojen *S. aureus* olduklarını ispat eder(6,19).

6- Proteaz : Koagulaz pozitif stafilocokların çoğu ve koagulaz negatif stafilocokların çok azı tarafından sentezlenen bir enzimdir(1). Bu enzim, kazein, jelatin, at serumu proteinleri, at ve tavşan fibrinleri üzerine proteolitik etkilidir(6). Aktivasyonun anaerobik ortamlarda azaldığı görülür. Proteazların, kazeini dijest edebileceği optimum pH, 7.0'dır. Bu etki, EDTA, Zn^{++} ve Co^{++} iyonları ile inaktive edilebilir (16).

7-Lipaz : Logaritmik üreme safhasında sentezlenen bu enzimin molekül ağırlığı, 100.000- 400.000 dalton ve izoelektrik noktadaki pH'sı, 4.2 ile 8.2 arasındadır(9). Koagulaz pozitif stafilocokların hemen hepsi ve koagulaz negatif stafilocokların % 30'undan fazlası çeşitli lipazlar sentezleyebilirler(1). Stafilocoklar, lipaz ve esteraz olmak üzere iki tip lipolitik enzim sentezlerler. Bu enzimler, vücudun yağlı bölgelerindeki lipidleri hidrolize ederek stafilocokların kutanöz ve subkutanöz dokulara girmelerini sağlar. Yüzeysel stafilocok enfeksiyonlarından olan frünkül, karbonkül (kan çıbanı) ve arpacık oluşumu gibi durumlarda lipazlar aktif olarak görev yaparlar(5). Stafilocokal lipaz aktivitesi, yüksek sıcaklıkta inaktive edilebilir(1).

8- Yumurta Sarısı Faktörü (Lesitinaz) : Bazı stafilocok suşları tarafından sentezlenen bu enzim, yumurta sarısı ve insan serumunda bulunan lipoprotein komplekslerini ayrıştırma özelliğine sahiptir(6). EDTA, lesitinaz üzerinde inhibitör etkiye sahiptir(7).

9- Fosfataz : Koagulaz pozitif stafilocokların hemen hepsi tarafından sentezlenir(1). Fosfataz enziminin tespiti için fenoltaleyinli agara ekimler yapılır. Fosfataz enzimine sahip olan stafilocoklar, fenoltaleyndifosfatı fenoltaleyin ve difosfata ayrıştırır. Genellikle bu enzim, stafilocoklarda patojeniteyi belirleyici etkiye sahip değildir(6).

10- Lizozim : Koagulaz pozitif stafilocokların çoğunda bulunan bir enzimdir. Lizozim üretimi ile patojenite arasında belirgin bir ilişkinin olup olmadığı tespit edilememiştir(1). Bu enzim, birçok bakterinin hücre duvarında bulunan peptidoglikamı hidrolize ederek etkir. Lizozim, bakteriler için otolitik bir enzimdir(2).

11- Penisilinaz : *S. aureus*'ta özellikle penisiline karşı dirençliliği belirleyen ekstrasözomal elementler (penisilinaz plazmidi) vardır(6). Penisilinaz, *S. aureus*'un bazı patojen suşlarında bulunan endo ya da ekstrasellüler bir enzimdir. Stafilocoklarda bulunan penisilinaz enzimi, bakteri biyosentezinde ve

transpeptidaz reaksiyonunun inhibisyonunda önemli bir role sahip olan β -laktam halkasının hidroksil grubunu hidrolize ederek etkisini gösterir(2). Stafilocoklar, bu enzimleri vasıtasıyla hücre duvarının sentezini inhibe ederek etki gösteren penisilin gibi antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirirler. Antibiyotiklere karşı direnç kazanan stafilocokların aksine, penisilinaz enzimine sahip suşlar, penisilinün uygulanmasından önce de bu özelliğe sahiptirler. Bunun nedeni, gen den gene penisilinaz plazmidinin aktarılmasıdır(1,6).

Penisilinaz plazmidi, kolisin, F- ve R- faktörlerinden farklıdır. Diğerleri gibi otonom olarak replike olabilirler. Penisilinaz plazmidinde hem regülatör hem de strüktürel genler bulunur(6).

Penisilinaz plazmidi, eritromisin, inorganik iyon merkürü, arsenit, arsenat, kadmiyum, kurşun ve bizmut'a karşı dirençlilik gibi bazı özelliklere de sahiptir. Bu determinantlar, hücreden hücreye konjugasyonla değil, transdüksiyonla aktarılırlar(6).

C-Stafilocokkal Toksinler

I. Ekzotoksinler

Stafilocoklar, α , β , γ , ϵ , δ ve lökositin olmak üzere sitolitik ve hemolitik toksin meydana getirirler. İlk 5 toksinin aktivitesi sadece eritrositlerle sınırlı değildir. Lökositin ise eritrositleri eritmeyip lökositler üzerine sitolitik etkiye sahiptir. Bu sitotoksinler, etrafta bulunan zedelenmiş dokulardan salınan lizozomal enzimlerle birlikte nötrofilleri eritirler(1,2).

a. Hemoliziner : Stafilocoklar, α , β , γ , ϵ , δ olmak üzere başlıca beş hemolizin oluştururlar(1). Koagulaz pozitif stafilocokların hepsinde α - ya da γ - hemolizin bulunur. Çoğu zaman ayrıca β -hemolizin de üretirler(2). Hayvan orjinli stafilocoklarda α - β - γ - , β - γ - ya da α - γ - hemoliziner bulunmaktadır(8). Koagulaz negatif stafilocoklar, α - ya da γ - hemolizin sentezlemezler. Sadece β - ya da ϵ hemolizin sentezleyebilirler(10).

a.1-Alfa (α -) Toksin : Bu toksin, eritrosit, lökosit, hepatosit, trombosit, insan diploid fibroblastları, HeLa hücreleri ve Ehrlich asid Karsinoma hücreleri gibi birçok hücre için sitotoksik özellik gösterir(2). α - toksinine karşı değişik canlıların eritrositleri arasında duyarlılık farkı vardır. Tavşan eritrositleri, α - toksine, insan eritrositlerinden yüz kez daha fazla duyarlıdır. Tavşan, koyun ve sığır eritrositlerini 37°C'de hemoliz ettiği halde, at ve insan eritrositlerine etkimez ya da çok az etkir (1). Bu toksin, sıcak-soğuk lizis özelliğine sahip değildir (3). Hücredeki zararlı etkileri üç aşamada gerçekleşir : İlk olarak hücre yüzeyine tutunma, ikinci olarak hücre membranında dejenerasyon, son aşama ise hücrenin koloidal olarak lize olmasıdır(15).

α -toksinin invivo etkileri şunlardır :

1. İnsanlarda öldürücü etki,
2. Sinir sistemine etkileri : Sinir hücresi membranında polarizasyon ve depolarizasyonda aksaklıklar, hipotalamus, serebral korteks ve nervus vagusta dejenerasyonlar,

3. Düz kaslar üzerine etkileri : Histamin ve serotonin salınmasına neden olarak küçük kan damarlarında permeabilite artışını sağlar. İntestinal bölgede ve büyük kan damarlarında spastik kontraksiyon oluşturur,
4. Dolaşım sistemine etkisi : Ketakolamin'in serbest kalmasını sağlayarak hipertansiyona neden olur,
5. Diğer etkileri : Renal kortikal nekroz, deri nekrozları v.b(15).

α -toksinin hemolitik aktivitesi, spesifik antiserum ile inhibe edilebilir(1). Deri içi enjeksiyonunda dermonekroz etki oluşturur(4). Ayrıca Alon ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, α - toksinin, doku kültürlerinde embriyonik tavuk kalp fibroblastlarına toksik etki gösterdiği saptanmıştır(3). 100°C'de 30 dakika ya da 120°C'de 15 dakika ısıtmakla insan eritrositlerini lize etme aktivitesinde kısmî bir azalma görülür(15).

α -toksin ile benzer özellik gösteren diğer toksinler :

Nekrotoksin : Bu toksin, α - hemolizin ile aynıdır. Tavşan ya da kobaylara deri içi enjekte edilirse 12-24 saat içinde dermonekroza neden olur. Bu etki, spesifik anti-nekrotoksin ile nötralize edilebilir(1).

Letal Toksin : α -toksinin aynıdır. Toksin i.v. verildiğinde fareleri öldürür. Toksine spesifik antikor, onu nötralize eder(1).

a.2- Beta (β -) Toksin (Hemolizin) : Sfingomyelinaz (fosfolipaz-C) olarak da bilinen bu toksin, büyümenin logaritmik safhası boyunca üretilir Termolabil (100°C'de 10 dakikada inaktive olabilir) bir protein olup eritrositler, lökositler ve makrofajlar gibi çeşitli hücreler için toksik etki gösterir(2). Hemolitik aktivitesi bulunup, bu etki eritrositlerin duvarındaki sfingomyelin miktarına bağlıdır. Katalaz enzimi ile birlikte duyarlı hücrelerin membran fosfolipidlerini hidrolize eder. Hemoliz'in oluşması, Mg^{++} ve Ca^{++} iyonları varlığında gerçekleşir (21). Koyun ve sığır eritrositlerinde kısmî ya da tam olmayan hemoliz yapar. Hemoliz alanı, oldukça geniştir ve sınırları kesinlikle belirgindir. Hemoliz olayı, 37°C'de bakterinin inkübasyonundan sonra, kanlı agarın soğukta bekletilmesiyle daha belirgin hale gelir (22). Bu olay, Glenni ve Stevens tarafından "Hot-Cold = Sıcak-Soğuk Lizis" olarak tanımlanmıştır. β -hemoliz'in tespiti, immunoelktroforez ile de yapılabilir (21). β -hemolizin, tavşanlara i.v. olarak 40-160 mg dozunda verildiğinde letal, deri içi verildiğinde ise, dermonekrotik etki görülür. Letal etki, her zaman tam olarak görülmez. Dermonekrotik etki, spesifik antitoksinlerle önlenemez (1). β -hemolizin, α -hemolizinden daha az toksiktir. Bu nedenle genellikle yalnız başına öldürücü etki göstermeyebilir. β - hemolizin, α - hemolizin ile birlikte stafilokokal apse oluşumunda doku tahribatından sorumludur (21). Hayvan orijinli stafilokokların hemen hepsi β -hemolizine sahipken, insan orjinlilerde bu toksinin bulunması değişkendir (1). β -hemolizine sahip bir stafilokok, streptokoklarda CAMP faktörünün tespitinde kullanılır. Streptokok, CAMP faktörüne sahipse (özellikle *Strept. agalactiae*), β -hemolizinli stafilokok'a dik olarak kanlı agar ekim yapıldığında iki

bakterinin birbirine yaklaştığı noktalarda semi sirküler bir zon oluştuğu görülür(1,10).

a.3- Delta (δ -) Hemolizin : Termostabil, büyük moleküllü (6.8×10^4 ile 2×10^5 dalton), heterojen bir proteindir(2). Toksinin geniş bir sitolitik aktivitesi vardır. Delta toksininin, hücre zarının tahribatında deterjan benzeri etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir(3). Delta toksin, i.v. verildiğinde dermonekroz yapar. Bu etki, anti-deltatoksin ile inhibe edilebilir (23).

a.4- Gamma (γ -) Hemolizin : Molekül ağırlığı, 2×10^5 dalton ve izoelektrik noktadaki pH'sı, 9.6 - 9.9'dur. γ -hemolizin, logaritmik büyüme safhasında sentezlenir (20). İnsan, tavşan ve koyun eritrositleri gibi çeşitli eritrositleri hemolize ederek kanlı agarda büyük ve belirgin bir hemoliz alanı oluşturur(2). Aynı zamanda insan lenfoblastik hücrelerini de eritir(1). γ -hemolizinin aktivitesi, kimyasal ajanlar ve Na^{++} iyonları vasıtası ile inhibe edilebilir(24).

b. Lökositinler : Molekül ağırlığı, 32.000-38.000 dalton ve izoelektrik noktadaki pH'sı 9.0 olan termolabil bir toksindir(2). Koagulaz pozitif stafilokokların hemen hepsi ve insan orjinli koagulaz negatif stafilokokların çok azı tarafından sentezlenen bu toksinin bir F-, bir de S-komponenti vardır(1). Bunların hiçbiri tek başına lökosit membranına etkili değildir. İkiisi birlikte hücre membranında hasar oluşturmada etki ve permeabilitesini arttırmada önemli role sahiptir (2). Lökositinler, bakterilerin fagositoz ve çeşitli etkilere karşı korunmaları için gereklidir. Lökositin yapan stafilokoklar, lökositler tarafından fagosite edilseler bile lökositin yapmayan stafilokokların aksine hücre içinde üremelerini sürdürürler (1,5). Bugün için bilinen üç tip lökositin vardır. Bunlardan birincisi, α -hemolizine, ikincisi, γ -hemolizine benzeri etki gösterir. Ayrıca ikinci tip lökositin ısıya dayanıklı olup, koyun lökositleri dışında bütün hayvanların lökositlerinde belirli morfolojik değişiklikler oluşturur. Üçüncüsü ise, Pantan-Valentine lökositin olarak bilinir. Bu lökositinin hemolitik etkisi olmayıp, yalnızca insan ve tavşan orjinli granulosit ve makrofajlar üzerine sitolitik etkilidir(15,18).

c. Lökosit Sitotoksinleri : Stafilokoklar tarafından üretilen ve çoğu hayvan türünün lökositleri ile insan lökositleri üzerine lökositidal etkisi olan bu sitotoksik madde hakkındaki bilgiler, henüz açıklık kazanmamıştır(1).

d. Eksfoliyatif Toksin (Exfoliyatif Toksin=Epidermolitik Toksin) : Faj II tipindeki stafilokokların çoğu tarafından sentezlenen bu toksinin molekül ağırlığı, 24.000-33.000 dalton ve izoelektrik noktadaki pH'sı, 7.0-7.2'dir (2). Yeni doğan ve süt çocuklarında görülen "Staphylococcal Scalled Skin Syndrome (SSSS)/ haşlanmış deri sendromunu"na neden olan toksindir. İnsan orjinli stafilokoklar tarafından sentezlenen bu toksin, intradermal dokunun ayrılmasına (separasyonuna) ve derinin pul pul dökülmesine (eksfoliyasyonuna) neden olur(19).

Antijenik ve biyolojik özellikleri bakımından en az iki çeşit epidermolitik toksin olduğu saptanmıştır:

Epidermolitik Toksin A: Bakteri kromozomundaki bir gen tarafından oluşturulan, termostabil (100°C'de 20 dak.) ve EDTA ile inaktive olan, zayıf immunolojik karakterde ve aside karşı dirençsiz bir toksindir(2,19).

Epidermolitik Toksin B: Plazmid tarafından oluşturulan, termolabil (60°C'de 20 dak.) ve EDTA'ya dayanıklı olan bir toksindir. Patojen stafilocokların yaklaşık %30'u bu toksinlerden biri ya da ikisini birden oluşturur. Bu toksin, yavru farelere deri içi enjekte edildiğinde lokal olarak epidermisin soyulduğu ve kızardığı, haşlanmış deri görünümü aldığı görülür. Toksinlere karşı elde edilen antitoksik serumlar bu olayı önler(2,19).

e. Toksik Şok Sendromu Toksin I (TSST-I) : Önceleri pirojenik ekzotoksin C ve enterotoksin F olarak bilinirdi. Şimdi bunlardan farklı olduğu ispatlanmıştır (5). Koagülaz negatif ve pozitif stafilocoklar ve diğer bazı bakteriler tarafından üretilir(2). Özellikle *S. aureus* tarafından oluşturulan ateş, hipotansiyon, çeşitli organlarda konjesyon ve insanlarda letal şok oluşturan bir toksindir(5). Ayrıca insanlarda şiddetli diare, deride yaygın kırmızı döküntüler, bilinç kaybı ve böbrek yetmezliği şeklinde seyreden stafilocokal kızıl hastalığının sebebi bu toksindir. TSST-I üreten stafilocokların infekte doku ve klinik örneklerden direk olarak izolasyonu ve tespiti için PCR (Polymerase Chain Reaction) kullanılmaktadır (25).

f. Pirojenik Toksin C : Toksik şok sendromundan sorumlu pirojen bir maddedir. Toksik şok sendromunda görülen ateş, bu maddeden dolayı ortaya çıkar(8).

II. Enterotoksinler : Stafilocokal enterotoksinler, 1914'te Barbera tarafından stafilocokal mastitisli bir ineğin sütünün içilmesi sonucu mide bulantısı ile kendini gösteren akut gastrointestinal bir enfeksiyonun oluşmasıyla fark edilmiş, 1930'da Dack tarafından yapılan çalışmalarla stafilocok suşlarının sentezlediği enterotoksinlerin alınmasıyla hastalığın olduğu kesinleşmiştir(1,4).

Enterotoksinler, suda ve tuz solüsyonlarında eriyebilen, higroskopik özelliğe sahip, termostabil (100°C'de 30 dak.) ve özel antijen yapısında maddelerdir(1). Piyojenik enterotoksinler, asidik ve nötral formaldehit solüsyonu ile muamele edildiğinde toksoid hale dönüşürler(5).

A, B, C, C₂, C₃, D, E ve F diye adlandırılan değişik antijen yapısında 8 çeşit stafilocokal enterotoksin saptanmış olup soyutlanan patojen stafilocokların %50'sinin bu toksinleri yapabildikleri görülmüştür. Stafilocoklar tarafından en çok enterotoksin A oluşturulur. Bir *S. aureus* suşu bu enterotoksinlerden sadece birini yapabildiği gibi birkaçını da birlikte sentezleyebilir(4). Enterotoksin A, logaritmik üreme safhasında, enterotoksin B ise, duraklamanın başladığı safhada sentezlendiği için enterotoksin A, besin zehirlenmelerinde enterotoksin B'den daha fazla oranda izole edilir(1).

Gıda içinde stafilocokların üremesi sonucu oluşan enterotoksinler, stafilocokal gıda zehirlenmesine yol açarlar(4). Stafilocokal enterotoksinler, insanlardaki gıda zehirlenmelerinin %25'ini oluştururlar(2). Koagülaz pozitif stafilocokların hemen hepsi enterotoksin oluştururlar ve enterotoksijenik stafilocok suşları olarak nitelenirler. Enterotoksijenik suşlar, Voges-Proskauer, yumurta sarısı, laktöz ve galaktöz fermentasyonu yönünden pozitif reaksiyon verir ve yüksek sıklıkla β- hemolizin oluştururlar. Koagülaz negatif stafilocokların enterotoksinleri yoktur(18,26).

Stafilocokal enterotoksinler, CO₂ konsantrasyonunun yüksek olduğu karbonhidrat ve proteinden zengin yarı katı besi yerinde bazı stafilocokların üremesi sırasında sentezlenirler(1). Önceden hazırlanıp bekletilen yemek veya salatalar stafilocok zehirlenmelerinin başlıca kaynağıdır. Stafilocoklar bu tür besin maddelerinde kolaylıkla üreyerek enterotoksin salgırlar. Stafilocokal enterotoksinlerin 1-25 mg alınması, kusma ve ishale neden olur(19).

Enterotoksinler, barsağın basal lumenindeki suyun absorpsiyonunu ya da lumen içindeki sıvının geçiş hızını inhibe ederek ishale neden olur. Evcil hayvanlarda 100 mg/kg enterotoksinin i.v. enjeksiyonu, barsak lumeninin bozulmasına ve ishale neden olan faktörlerin transferine neden olur(4).

Enterotoksin zehirlenmelerinde etkenin alınmasından sonra 1-6 gün içinde kusma, ishal, salivasyon, mide bulantısı, öğürme ve abdominal kasılmalar gibi semptomlar görülür(1). Zehirlenme sonunda insanlarda ölüm nadiren görülür. Hayvanlar ise, insanlara nazaran daha duyarlıdır. Kedi ve köpekler, parenteral yolla aldıkları enterotoksinlere karşı tümüyle duyarlıdır(4). Toksinin etkisi, alınış yoluna bağlı olarak değişir. İ.V. yolla küçük dozda dahi alınsa semptomlar görülürken, oral yolla alındığında semptomların görülmesi için daha fazla miktarlarda toksine gereksinim vardır. Oral dozların tekrarlanmasıyla hayvanlarda dirençlilik şekillenir. Çünkü enterotoksin antikorları ancak parenteral enjeksiyon sonrası oluşur(26).

Konservelerde, konserveleme işlemleri sırasında inaktive olurlar. Ancak, enterotoksin B, sütün pastörizasyonu ve süt tozu hazırlanması sırasında aktivitesini kaybetmez. Enterotoksin A, 100°C'de 1 dakikada inaktive olurken, enterotoksin B, 99°C'de 87 dakikada inaktive olur. Dolayısıyla enterotoksin B, enterotoksinlerin arasında ısıya en dayanıklı olan toksindir(1,4).

Enterotoksijenik suşlarda enterotoksin üretimi ile metisilin'e dirençlilik arasında büyük bir paralellik vardır. Metisilin'e dirençli olan stafilocokların büyük bir çoğunluğu enterotoksijeniktir(1).

Sadece enterotoksin A üreten enterotoksijenik *S. aureus* suşlarının, penisilin G ve metisilin ile muamele edilmiş besi yerleinde üretilen L formları, enterotoksin üretmezler. Ayrıca mikroorganizmaların üremelerini

engelleyen Tween 80, oleik asit, D-sikloserin, deterjan v.b. maddeler, enterotoksin B üretimini inhibe eder(4).

Enterotoksin, aerobik ve anaerobik olarak 9-12 saat inkübe edildikten sonra FAT ile bakterilerin çevresinde tespit edilebilir. Ayrıca enterotoksinlerin tespiti için mikroslide testi, presipitasyon testi, pasif hemagglutinasyon ve ELISA gibi tekniklerden yararlanılabilir(1,4).

Düzensiz antibiyotik kullanımı, Stafilokok suşlarının aktif hale geçerek enterotoksin üretmelerine neden olacağı için mümkün olduğunca bundan sakınılmalıdır.

Kaynaklar

- Arda,M., Minbay, A., Leloğlu,N., Aydın,N., Akay,Ö.: Özel Mikrobiyoloji. A.Ü. Vet. Fak. Yayn. No:741, Ders Kitapları Serisi 243, A.Ü. Basımevi, Ankara, (1992).
- Krieg,N,R and Holt,J.G.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2, Williams and Wilkins. 1021-1035, Baltimore,U.S.A., (1986).
- Alon,W., Bernheimer, K., Lois,S. and Grushofl,A.P.: Lytic effects of staphylococcal alpha toxin and delta toxin, J. Bacteriol., 487-491, (August,1968).
- Ayhan, H.: Stafilokokal Enterotoksinler, Seminer, A. Ü. Vet. Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, (1984).
- Bilgehan,H.: Klinik Mikrobiyoloji (Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları), 2. Basım, Barış Yayn., Fakülte Kitabevi, İzmir, (1995).
- Arda,M.: Genel Bakteriyoloji, Ders Kitabı. A.Ü. Vet. Fak. Yayn., No:404, A.Ü. Basımevi, Ankara, (1992).
- Bilgehan,H.: Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 2. Basım, Barış Yayn., Fakülte Kitabevi, İzmir, (1995).
- Erganiş,O.: Mikrobiyoloji ve İmmunoloji. Konya Sağlık Eğitim Enst. Yayn., No:11, Konya, (1994).
- Devriese,L. and Oeding,P.: Characteristics of Staphylococcus aureus strains isolated from different animal species., Res. Vet.Sci.,21:284, (1976).
- Williams,R.E.O. and Herper,G.J.: Staphylococcal hemolysis on sheep blood agar with evidence for a fourth hemolysins. J. Pathol. Bacteriol., 59:69-78, (1974).
- Gagliano,V.J. and Hinsdill,R.D.: Characterization of a Staphylococcus aureus bacteriocine. J.Bacteriol., 8:104-197, (1974).
- Forsgren,A., Sjöquist,J.: "Protein-A" from Staphylococcus aureus I-Pseudoimmun reaction with human gamma globulin. J.İmmunol., 97:822, (1966).
- Lambert,P.A., Hancock,I.C. and Baddiley,J.: Occurence an function of membrane teichoic acids. Bio. Biophys. Acta., 472:1, (1977).
- Jasper,D.E.,Infante,F.,Dellinger,J.D.: Relationships among the results of coagulase, staphylococcal toxin, and thermonuclease tests on staphylococci from cow milk. J. Clin. Microbiol., 21: 4, 582-584, (1985).
- Jonsson,P.: Virulence determinants of Staphylococcus aureus, virulence studies of alpha-toxin, coagulase, and protein A mutants and recombinants and studies of cell-surface hydrophobicity. Fac. Vet. Med., Univ. Agric. Sci., Uppsala, Sweden, 68:6, (1986).
- İzğür,M., Akay,Ö., Uslanoğlu,B., Esenalı,Ö., Aydın,F.: Mikrotiter plate'leri kullanarak S.aureus suşlarının protein-A ve koagulaz ativiterinin tanımlanması. İnfeksiyon Derg., 2: 3, 3977-4077, (1988).
- Lack,C.,Glovoville,H.,Kitty,L.A.: Staphylokinase. In methods in enzymology, 19:706, (1976).
- Johnson,W.M., Tyler,S.D., Ewan,E.P., Ashton,F.E., Pollard,D.R. and Rozee,K. R.: Enterotoxigenity of staphylococci. J.Clin. Microbiol., 9:426-430, (1991).
- Kılıçturgay,K., Gökırmak,F., Töre,O., Gedikoğlu,S., Göral,G., Helvacı,S.: Klinik Mikrobiyoloji, 2. Basım, Güneş ve Nobel Tıp Kitabevi, Bursa, (1994).
- Skalka,B., Smalo,J. and Pillich.J.: A simple method of detecting staphylococcal hemolysins. Zbl. Bact. Hyg. I Ab. Orig. A., 245:283-286, (1979).
- Bryce,L.M. and Rauntree,P.M.: The production of beta toxin by staphylococci. J.Pathol.Bacteriol., 43:173-189, (1996).
- Tabassum,R. and Ajmal,M.: Beta-toxin production by Staphylococcus aureus strains from different sources., Pakistan-Vet.J.,3:3,115-118, (1983).
- Edward,M., Hoffman A. and Murray,M.: The antibiotic activity associated with preparations of delta hemolysin of Staphylococcus aureus. Canadian J. Microbiol., 2;115-118, (1985).
- Edwardo,C., Albert,P., Guidry,J., Warren,P., Marquardt,W.: Role of milk productions, serum and divalent cations in protections of mammary epithelial cells of cows against damage by Staphylococcus aureus toxins. AJVR., 57:3, (March,1996).
- Takeuchi,S., Ishiguro,K., Ikegoma,M., Kaidoh.T. and Hayakawa.Y.: Detection of toxic shock syndrome toxin-I gene in Staphylococcus aureus bovine isolates and bulk milk by the polymerase chain reaction. J.Clin. Microbiol., 13:4, (1996).
- Kenny,K.,Reiser,R.F. and Marcros,N.L.: Enterotoxins production of Staphylococcus aureus and properties some of them. J.Clin. Microbiol., 31;706-717, (1993).