

MASTITİSLİ İNEK SÜTLERİNDEN İZOLE EDİLEN STAFİLOKOK'LARIN TÜR DÜZEYİNDE İDENTİFİKASYONU VE BAZI ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ*

"Species Identification and Some Characteristics of Staphylococci Isolated From Bovine Milk With Mastitis"

Mehmet Kadri YAVUZ** Ömer Memduh ESENDAL***

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, mastitisli inek sütlerinden izole edilen stafilocok suşlarının tür düzeyinde kesin identifikasyonlarının yapılması ve bazı özelliklerinin ortaya konulmasıdır. Çalışmada, toplam 2726 mastitis şüpheli süt numunesinden 955 adet fossomatik hücre sayımı sonunda pozitif bulundu. Yapılan çeşitli besi yerine ekimlerde 664 adet Gram pozitif kok ve bunların arasından belirlenen 584 adet stafilocok suşu incelendi. Yapılan testler sonucunda incelenen 584 Stafilocok suşundan 311'i (% 53.3) *S. aureus*, 193'ü (% 33) *S. saprophyticus*, 61'i (% 10.4) *S. epidermidis*, 11'i (% 1.9) *S. intermedius* ve 8'i de (% 1.4) *S. hyicus* olarak tanımlandı. Patojenik ve apatojenik stafilocok suşlarının ayırımında ve suşların tür düzeyinde identifikasyonlarında koagülaz, CF, DNase, TNase ve Protein A testleri yeterlidir. Fakat apatojenik türler olan *S. saprophyticus* ve *S. epidermidis*'in ayırımında nitrat redüksiyon ve manitol fermentasyon testlerinin mutlaka yapılması da gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Mastitis, Stafilocok, İnek sütü, İdentifikasyon.

SUMMARY

The aim of this study is to make diagnosis at species level and search some characteristics of Staphylococci isolated from bovine milk with mastitis. In the study 955 out of total 2726 milk samples were found to be positive after fossomatic cell counts. After the culture to certain media, 664 Gram positive cocci and among these 584 Staphylococcus strains were examined. Among 584 Staphylococcus strains tested, 311 (53.3%), 193 (33.0%), 61 (10.4%), 11 (1.9%) and 8 (1.4%) strains were identified as *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. intermedius* and *S. hyicus* respectively.

Coagulase, CF, DNase, TNase and Protein A tests were proved to be sufficient in the identification of pathogenic and nonpathogenic Staphylococcus strains. However, additional tests such as nitrate reduction and mannitol fermentation must be performed to discriminate *S. saprophyticus* and *S. epidermidis* strains which are considered as nonpathogenic species.

Key Words: Mastitis, Staphylococcus, Bovine milk, Identification.

1. GİRİŞ

Meme bezinin yangısı olan mastitis, süt kalitesinin değişmesi ve miktarının azalması ile karakterize, multifaktöriyel özellikte bir hastalıktır. Stafilocokal mastitis özellikle inek, koyun ve keçilerde akut veya kronik olarak ortaya çıkan, sığırlarda genellikle sporadik ve koyunlarda ise daha çok enzootik seyirli bir hastalıktır. Akut stafilocokal mastitisler ölümlere neden olabilirken, kronik olanlar daha hafif seyrederek (7). İzole edilen koagülaz

negatif stafilocok türleri olan, *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus*, kommensal olarak toprakta bulunurlar. Genellikle apatojenik olarak değerlendirilmelerine rağmen insanlarda ve nadiren de hayvanlarda oportunistik infeksiyonlar oluştururlar (39). İdentifiye edilen mastitis etkenleri arasında Staphylococcus cinsi bakteriler başta gelmektedir (6, 8).

Stafilocok suşlarının birbirinden ayırımı için bir çok test kullanılmaktadır. Bunlar arasında koagülaz (18, 26), DNase (28, 33), termonükleaz (TNase) (9, 17), glikoz-mannitol anaerob fermentasyon ve protein A (36, 39) gibi testler bulunmaktadır. Bazı patojen *S. aureus* suşlarının koagülaz negatif olmaları,

Kabul Tarihi: 10.12.2002

* Yüksek Lisans Tezinden Özetlenmiştir

** Etlik Veteriner Merkez Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, ANKARA

*** A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

apatojenik olarak bilinen *S. epidermidis* suşları arasında da çok az sayıda koagülaz pozitif suşların bulunması kesin identifikasyonda sorun yaratmış ve yeni yöntemlerin kullanılmasını zorunlu hale getirmiştir (4, 23, 38). Clumping Faktor (CF), koagülaz pozitif stafilokokların tanımlanması için uygun, pratik, kısa sürede sonuç veren ve tüp testine göre daha ekonomik bir testtir (19, 31, 35).

Prasad ve ark. (37), değişik kaynaklardan izole ettikleri *S. aureus* suşlarında DNase aktivitesini % 96.7 olarak açıklamışlardır. Jacobs ve ark. (25) insanlardan izole ettikleri 1467 koagülaz pozitif stafilokok şuşunun tümünün DNase pozitif olduğunu açıklamışlardır. Zierdt ve Golde (44), bazı *S. epidermidis* suşlarının az miktarda DNase üretebildiklerini, bu nedenle DNase testi ile *S. aureus*'un identifiye edilemeyeceğini rapor etmişlerdir. Araştırmalarda izole edilen *S. aureus* suşlarının tamamının DNase pozitif olduğunu açıklamışlardır (15, 38). Akay, (1), 345 adet değişik orijinli *S. aureus* suşundan 326 tanesini DNase pozitif, 19'unu DNase negatif bulunduğunu açıklamıştır. İzole edilen stafilokok suşlarının ayırımı için DNase testi de kullanılmaktadır (28, 33). Burns ve Holtman (14), DNase testinin, koagülaz, pigmentasyon ve mannitol fermentasyonu ile korelasyon gösterdiğini, DNase testinin stafilokokların patojenitelerinin belirlenmesinde bir değere sahip olacağını bildirmişlerdir. Higgins ve Chartier (22), izole ettikleri

koagülaz pozitif *S. aureus* suşlarının % 94.7'sinin, *S. intermedius* suşlarının ise % 99.3'ünün DNase oluşturduklarını bildirmişlerdir.

S. aureus'un ısıya dayanıklı nukleaz meydana getirdiğini, *S. epidermidis* dahil diğer stafilokokların salgıladıkları benzer nukleazların ısıya dayanıksız olduklarını, ısıtıldığında parçalandıklarını ve bu özelliğin *S. aureus* için diagnostik bir özellik olduğunu bildirmişlerdir (11, 24, 34, 37).

Protein A, stafilokok suşlarının hücre duvarına bağlı, antijenik özelliğe sahip bir proteindir (16). Hücre duvarına bağlı Protein A lam aglutinasyonu ile, eriyebilen ekstrasellüler Protein A ise tüp veya mikropate'lerde saptanabilir. *S. aureus* suşları için spesifiktir (36). İnsan ve hayvan orijinli *S. aureus* suşundan çoğu Protein A pozitif ve *S. epidermidis* suşundan hepsi negatif olarak bulunmuştur (5, 37).

Cowan ve ark. (16), mannitol fermentasyonu ve koagülaz testleri ile izole edilen *S. aureus* ve *S. epidermidis* suşlarının identifiye edilebileceğini açıklamışlardır. Çünkü bu testler sonucu, mannitol'ü fermente eden ve koagülaz pozitif olanlar *S. aureus*, mannitol'ü fermente edemeyen ve koagülaz negatif olanlar ise *S. epidermidis* olarak kabul edilmektedir. Quinones ve Raspanti (38), 72 adet *S. aureus* suşundan 56 tanesinin mannitol'ü fermente ettiğini bildirmişlerdir. *S. intermedius* zayıf veya gecikmiş bir reaksiyon verir. *S. hyicus* ise, maltozu fermente etmez. Fakat besiyerindeki peptonu etkileyerek kolonilerin etrafında alkali bir reaksiyon (koyu mor bir renk) şekillenmesine neden olur.

TABLO:2.1. Süt numunelerinin geldiği yer, sayıları ve izole edilen Gram pozitif suşlar

SÜTÜN GELDİĞİ YER	GELEN SÜT ADETİ	FOSSOMATİK HÜCRE SAYIMI (+)	GRAM POZİTİF SUŞLAR
Yozgat	520	118	98
Bala (TİGEM)	482	168	104
Adana	615	134	91
Polatlı (TİGEM)	476	224	142
Ankara	43	41	34
Ankara Üniv. Vet. Fak.	298	147	120
Ankara Ü. V. F. Deneme Çifliği	70	23	12
Konya	12	12	8
Balıkesir	19	19	11
Ankara AKYURT	54	10	7
Kayseri	100	47	28
Ankara Çubuk	37	12	9
TOPLAM	2726	955	664

Fossomatik 80 (1990), Kullanım kılavuzuna göre <500.000 hücre / ml pozitif.

Bu çalışmanın amacı, mastitisli inek sütlerinden izole edilen stafilkok suşlarının tür düzeyinde kesin identifikasyonlarının yapılması ve bazı özelliklerinin ortaya konulmasıdır.

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada toplam 2726 mastitis şüpheli süt numunesinden izole edilen 664 adet Gram pozitif kok ve bunların arasından belirlenen 584 adet stafilkok suşu incelendi. Mastitis şüpheli süt numunelerinin sayıları ve geldikleri yerler Tablo: 2.1.'de gösterilmiştir.

Bu çalışmada, Etlık Veteriner Merkez Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Antibiyotik Disk Üretim Laboratuvarındaki kültür kolleksiyonundan sağlanan *S. aureus* Cowan I, *S. epidermidis* suş-33, *S. agalactiae* ve *Micrococcus spp.* suşları kontrol amacıyla kullanılmıştır.

2.1. İdentifikasyon Testleri

Katalaz Testi Beşe (12), Furozolidon'a Duyarlılık

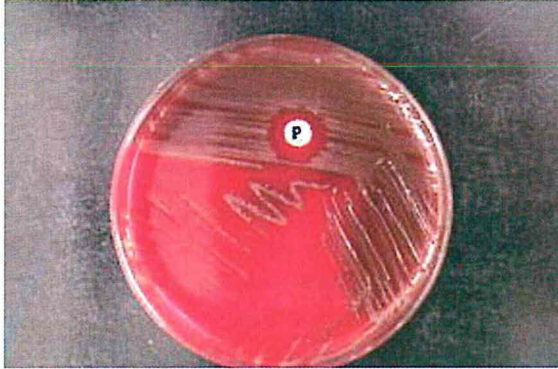
Testi, Oksidaz testi, Değişik Isı Derecelerinde Üretme, Değişik Tuz Konsantrasyonlarında Üretme, Anaerobik Ortamda Üretme Koneman ve ark.(27), Tüp koagülaz testi Pennel ve ark. (35), Clumping Faktor Jungkind ve ark. (26), DNase Testi Zierdt ve Golde (44), Protein A Testi Poutrel ve Lefort (36), TNase Testi Lachica ve ark. (30), Mannitol Fermantasyon Testi, Nitrat Redüksiyonu Lassen (32), Üreaz Oluşumu, Karbonhidratların Fermentasyonu Bekar (10)'ın bildirdikleri yöntemlere göre yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. İzolasyon ve İdentifikasyon Sonuçları

Gram ve katalaz pozitif kok olduğu saptanan 636 adet bakterilerden 584'ü (% 91.8) 15 mm ve daha geniş çaplı zon oluşturarak furazolidona duyarlı, oksidaz negatif Stafilkok suşundan 311'i (% 53.3) *S. aureus*, 193'ü (% 33.0) *S. saprophyticus*, 61'i (% 10.4) *S. epidermidis*, 11'i (% 1.9) *S. intermedius* ve 8'i de (% 1.4) *S. hyicus* olarak identifiye edildi.

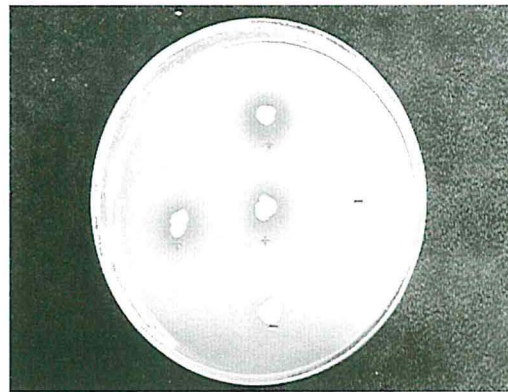
RESİM: 3.1. Furazolidon Testi



Furazolidona Duyarlı
Staphylococcus spp.



Furazolidona Dirençli
Micrococcus spp.



DNase Testi; Pozitif (+); Negatif (-)

Tüp koagülaz, CF, DNase, TNase ve Protein A test sonuçları Tablo:3.1.' de gösterilmiştir.

TABLO: 3.1. Test Sonuçlarının Karşılaştırılması

Testler	Pozitif (%' si)	Negatif (%' si)
Tüp Koagülaz	322 (55.2)	262 (44.8)
CF	311 (53.3)	273 (46.7)
Dnase	330 (56.5)	254 (43.4)
Protein A	258 (44.2)	326 (55.8)
Tnase	317 (54.3)	267 (45.7)

3. 2. Test Sonuçlarının Karşılaştırılması

Test edilen toplam 584 stafilokok suşundan 322'si (% 55.2) koagülaz pozitif, 262'si (% 44.8) koagülaz negatif bulundu. Koagülaz pozitif bulunan 322 stafilokok suşundan 311'i (% 96.5) hem CF hem de DNase testinde pozitif bulundu. Koagülaz pozitif fakat, CF negatif olan 11 (% 3.4) stafilokok suşundan tümü DNase pozitif bulundu. Bu sonuçlara göre incelenen 322 koagülaz pozitif stafilokok suşundan 311'i (% 96.5) *S. aureus* ve 11'i (% 3.4) de *S. intermedius* olarak tanımlandı. Koagülaz, CF ve DNase pozitif olan 311 adet *S. aureus* suşundan 298'i (% 95.8) TNase, 258'i (% 83.0) Protein A pozitif, 13'ü (% 4.2) TNase ve 53'ü (% 17.0) ise Protein A negatif sonuç verdi. CF pozitif olan suşlardan hiç biri DNase negatif bulunmadı.

Koagülaz pozitif olan 322 stafilokok suşundan 11'i (% 3.4) CF testinde negatif sonuç verdi. *S. intermedius* olarak tanımlandı bu 11 adet suşun tümü DNase ve TNase testlerinde pozitif ve Protein A testinde ise negatif bulundu. İdentifiye edilen 311 adet *S. aureus* ve 11 adet *S. intermedius* suşunun hepsi Deoksiribonükleaz enzimi yönünden pozitif bulundu. İdentifiye edilen 311 adet *S. aureus* suşundan 298'i (% 95.8) ve 11 adet *S. intermedius* suşunun hepsi in vitro koşullarda ısıya dayanıklı nükleaz meydana getirdi. Bu çalışmada tanımlandı 311 adet *S. aureus* suşundan 258'inde (% 83.0), hücre duvarına bağlı, antijen özellikte olan Protein A bulunurken, 11 adet *S. intermedius* suşunun hiç birinde bu antijen

bulunmadı. *S. aureus* suşlarından, 13 (% 4.1) tanesi TNase ve 53 (% 17.0) tanesi ise Protein A negatif sonuç verdi.

Koagülaz negatif bulunan 262 (% 44.8) stafilokok suşunun tümü CF negatif bulundu. Koagülaz ve CF negatif olan suşlardan 8'i (% 3.0) DNase ve TNase testinde pozitif, Protein A testinde ise negatif sonuç verdi. Bu 8 adet stafilokok suşu da *S. hyicus* olarak tanımlandı. *S. hyicus* olarak tanımlandı edilen 8 suşun tümü DNase ve TNase testlerinde pozitif reaksiyon verirken, Protein A testinde negatif bulundu.

İdentifiye edilen 11 *S. intermedius* suşun, hepsi DNase ve TNase pozitif sonuç verirken, suşların hepsi CF ve Protein A negatif, TNase negatif olan 267 adet suşun 254'ü (% 95.1) diğer bütün testlerde de negatif sonuç verdi.

DNase pozitif olan 311 adet suştan 258'i protein A, hepsi CF ve tüp koagülaz, 298'i TNase testinde pozitif sonuç verdi. CF testinde 311'i pozitif olan suştan, hepsi tüp koagülaz testinde de pozitif, protein A testinde negatif olan suşların, 11'i (% 3.3) tüp koagülaz, CF, DNase ve TNase testinde pozitif sonuç verdi. İzole edilen 584 adet stafilokok suşundan ancak 317'si (% 54.2) ısıya dayanıklı nükleaz, 330'u (% 56.5) deoksiribonükleaz ve 322'si ise koagülaz enzimine sahip bulundu. Koagülaz pozitif olan 11 suş CF testinde negatif sonuç verdi. 311 suştan hem bağlı, hem de bağlı olmayan koagülaz enzimi tespit edilirken, 11 suştan sadece serbest koagülaz enziminin varlığı saptandı. 262 Koagülaz negatif suşun hepsi CF testinde de negatif sonuç verdi. İdentifiye edilen 262 suştan, hepsinde bağlı koagülaz ve 254'ünde (% 97.0) DNase ve ısıya dayanıklı TNase enzimi bulunmadı. Fakat 8 tanesinde DNase ve TNase enzimi saptandı. Bu suşların hiç birinde Protein A saptanmadı. İdentifiye edilen 311 *S. aureus* suşundan, tümünde hem bağlı, hem de bağlı olmayan koagülaz ve hepsinde hem koagülaz hem de DNase enzimleri bulundu.

3.3. Biyokimyasal test sonuçları

İdentifiye edilen, koagülaz, CF, DNase, TNase ve Protein A negatif olan 262 adet stafilokok suşundan 193'ü nitrat redüksiyon testinde negatif, mannitol fermentasyon testinde ise pozitif bulunmuştur.

Biyokimyasal testlerin sonuçları Tablo: 3.2.'da özetlendi.

TABLO: 3.2. Biyokimyasal Test Sonuçlarının Karşılaştırılması

TESTLER	Pozitif (%' si)	Negatif (%' si)
% 10' luk NaCl	568 (97.2)	16 (2.7)
% 15' lik NaCl	427 (73.1)	157 (26.8)
15 °C' de Üreme	505 (86.4)	79 (13.5)
45 °C' de Üreme	526 (90.0)	58 (10.0)
Maltoz Ferm. Aero	571 (97.7)	13 (2.2)
Maltoz Ferm. Anaer	573 (98.1)	11 (1.8)
Xyloz Ferme.	--	584 (100)
Sakkaroz Ferme.	584 (100)	--
Laktoz Ferme.	534 (91.4)	50 (8.5)
Mannitol Aerobik	311 (53.2)	273 (46.7)
Mannitol Anaerob.	307 (52.5)	277 (47.4)
Nitrat Redüksiyon.	356 (60.9)	193 (33.0)
Üreaz	163 (27.9)	386 (66.0)

Bu sonuçlara göre koagülaz, CF ve DNase negatif olan 254 suştan 193'ü *S. saprophyticus* ve 61'i de *S. epidermidis* olarak tanımlandı.

Çalışmada izole edilen Gram pozitif kok morfolojisine sahip mikroorganizmalara ait toplu izolasyon sonuçları Tablo:3.3.'da verilmiştir.

TABLO: 3.3. İzole Edilen Pozitif Kok Morfolojisine Sahip Mikroorganizmalar ve Oranları

İzole Edilen Mikroorganizma Türü	İncelenen 664 adet Süt Örneğinden İzolasyon Sayısı ve Oranı (%)
<i>Streptococcus spp.</i>	28 (4.2)
<i>Micrococcus spp.</i>	52 (7.8)
<i>Staphylococcus aureus</i>	311 (46.8)
<i>Staphylococcus intermedius</i>	11 (1.6)
<i>Staphylococcus hyicus</i>	8 (1.2)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	61 (9.1)
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	193 (29.0)

4. TARTIŞMA

Yapılan çalışmalar mastitis olgularından izole edilen etkenler arasında Gram pozitif kokların % 70-80' lik bir orana sahip olduklarını göstermiştir (40, 41). Bu çalışmada, incelenen 955 adet mastitisli süt örneğinin 664' ünden (% 69.5) Gram pozitif kok izole edilmiştir. Elde edilen bu bulgular, yerleşik bakteriyel floranın fazla değişmemesi ve sabit kalmasından dolayı, yurdumuzda daha önceden yapılmış çalışmaların sonuçları ile uyum göstermektedir.

Çalışma sonunda izole edilen 584 Stafilokok suşundan 311'i (% 53.3) *S. aureus*, 193'ü (% 33.0) *S. saprophyticus*, 61'i (% 1.4) *S. epidermidis*, 11'i (% 1.9) *S. intermedius* ve 8'i de (% 1.4) *S. hyicus* olarak tanımlandı.

Koagülaz testi, halen en fazla kullanılan ve patojenite kriteri olarak kabul edilen bir testtir. Koagülaz pozitiflerin yanında negatiflerin de çeşitli infeksiyonlara neden olduğu araştırmacılar tarafından açıklanmıştır (2, 13). Patojenik olan *S. aureus*, *S. intermedius* ve *S. hyicus* türlerinin bir çok suşu koagülaz pozitifdir. Koagülaz testi patojenite ile uyum gösterir. Tavşan plazması ile yapılan tüp koagülaz testi, *S. aureus*'ların tanımlanmasında ayırıcı bir test olarak kabul edilmektedir. Çünkü *S. aureus* suşlarının koagülaz testinde % 100'e yakın oranda pozitif bulunduğunu açıklamışlardır (1, 23, 37).

Bu çalışmada izole edilen 584 suştan 322 (% 55.2) suş tüp koagülaz pozitif, 262 (% 44.8) suş ise negatif olarak bulunmuştur.

CF ile tüp koagülaz testi arasında büyük bir korelasyon vardır. CF testi, koagülaz pozitif stafilokokların tanımlanması için uygun, pratik, hemen sonuç veren ve daha ekonomik bir testtir (31). İzole edilen koagülaz pozitif *S. aureus*'dan % 80 - 97'sinde, CF testi ile pozitif sonuç alınmıştır (11,18,19), 50 adet *S. epidermidis* suşundan hepsinin CF negatif sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise mastitisli inek sütlerinden izole edilen 584 adet suştan 311'i (% 53.3) CF testinde pozitif ve 273'ü (% 46.7) ise negatif bulunmuştur. Tüp koagülaz testinde pozitif olan suşların 11 tanesi (% 3.4) CF testinde negatif sonuç vermiştir. Tanımlanmış olan 311 adet *S. aureus* suşunun % 100' ü CF testinde pozitif olup, alınan sonuçlar diğer araştırmacıların sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

İzole edilen stafilokoklardan patojen olanları ayırmak için kullanılan testlerden biri de DNase testidir (24, 28, 33), mastitisli inek sütlerinden izole ettiği 218 *S. epidermidis* suşundan 75 inde ve 46 *S. aureus* suşundan 43 adedinde DNase aktivitesi saptamıştır. İstanbulluoğlu ve Diker (24), izole ettikleri 120 adet stafilokok suşundan 62 *S. aureus*'un % 66 oranında, Akay (1), 54 *S. aureus*'tan % 90 oranında ve Akay ve ark. (3), 50 adet *S. aureus* izolatından % 92'sini DNase testinde pozitif bulduklarını açıklamışlardır. Akay (1), izole ettiği 7 adet *S. epidermidis* suşunun hepsinin DNase negatif olduğunu açıklamıştır. Araştırmacı (1) koagülaz negatif stafilokokların yaklaşık % 18'inde DNase aktivitesi saptandığı için bu testin tek başına patojenite testi olarak değerlendirilemeyeceğini, çünkü az miktarda DNase üretebilen *S. epidermidis*'den dolayı *S. aureus*'un sadece DNase testi ile tanıya edilmesinin mümkün olmadığını bildirmiştir.

Bu çalışmada, 584 adet stafilokok suşundan 330'u (% 56.5) DNase pozitif ve 254'ü (% 43.4) ise DNase negatif bulunmuştur. Koagülaz pozitif 322 ve CF pozitif 311 suşdan hepsi DNase pozitif sonuç vermiştir. Koagülaz pozitif ve CF negatif olan 11 adet *S. intermedius* ile koagülaz ve CF pozitif olan 311 *S. aureus* suşunun hepsi DNase testinde de pozitif sonuç vermiştir. Koagülaz ve CF negatif olan 8 adet *S. hyicus* suşunun tümünde DNase aktivitesi saptanmıştır. Biyokimyasal testlerle tanıya edilen 193 adet *S. saprophyticus* ve 61 adet *S. epidermidis* suşlarının hepsi koagülaz, CF ve DNase testlerinde negatif bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar diğer araştırmacıların sonuçları ile uyumlu, DNase sonuçları ise uyumsuz bulunmuştur.

Patojen stafilokokların tanıya konusunda DNase oluşumunun da önemli bir faktör olduğu araştırmacılar tarafından açıklanmıştır (9, 34, 11). Park ve ark. (34), izole ettikleri 224 koagülaz pozitif suştan % 99'unu ve 148 koagülaz negatif stafilokoktan % 18'ini DNase testinde pozitif bulduklarını bildirmişlerdir. Zarzour ve Belle (43), izole ettikleri bütün *S. aureus* suşlarının DNase pozitif ve *S. epidermidis* suşlarının da DNase negatif sonuç verdiğini açıklamışlardır. Araştırmacılar (43) koagülaz pozitif olan suşların hepsinin DNase pozitif, koagülaz negatif olan suşların tümünün DNase negatif sonuç verdiğini rapor etmişlerdir. İstanbulluoğlu ve Diker

(24), izole ettikleri 120 adet stafilokok suşunun % 52 oranında koagülaz, % 56 oranında DNase, % 66 oranında ise DNase pozitif sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise izole edilen 584 adet stafilokok suşundan 317'si (% 54.2) DNase pozitif, 267'si (% 45.7) DNase negatif bulunmuştur. CF pozitif olan 311 *S. aureus*'tan 298'i (% 95.8) DNase pozitif, 13'ü (% 4.2) negatif; koagülaz, CF ve DNase negatif olan 61 *S. epidermidis* ile 193 *S. saprophyticus* suşunun hepsi DNase testinde negatif; koagülaz ve CF negatif, DNase pozitif olan 8 *S. hyicus* suşundan hepsi DNase testinde pozitif sonuç vermiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular diğer araştırmacıların bulguları ile paralel sonuçlar vermektedir.

Patojen stafilokokların tanıya konusunda kullanılan testlerden biri olan Protein A testinde yararlanılan besiyerinin de etkili ve önemli olduğu yapılan araştırmalarla açıklanmıştır (4, 21, 29, 36). Koagülaz pozitif stafilokoklardan, Kronvall ve ark. (29) % 54, Holmberg (23) % 43 oranında Protein A saptadıklarını ve koagülaz negatif stafilokokların hiç birisinin Protein A oluşturmadığını açıklamışlardır. Forsgren ve Sjoquist (21), izole ettikleri 700 koagülaz pozitif suştan 692'sinin, koagülaz negatif suşların % 2'sinin, Holmberg (23), 46 *S. aureus* suştan 1'inin, Prasad ve ark. (37), 152 *S. aureus* suştan 145'inin, Akay ve ark. (5), 286 *S. aureus*'un 162'sinin, Kronvall ve ark. (29), 215 *S. aureus* suşundan 196'sının, Poutrel ve Lefort (36), 339 koagülaz pozitif etkenin 245'inin Protein A pozitif ve 291 *S. epidermidis* suşundan hepsinin Protein A negatif sonuç verdiğini açıklamışlardır.

Bu çalışmada ise koagülaz pozitif olan 322 suşdan 258'inin Protein A oluşturduğu ve koagülaz negatif olan suşların tümünün Protein A oluşturmadığı saptandı. 311 adet *S. aureus* suşundan 258'i Protein A pozitif bulunurken, 193 adet *S. saprophyticus*, 61 adet *S. epidermidis*, 11 adet *S. intermedius*, ve 8 adet *S. hyicus* Protein A negatif bulundu. Koagülaz pozitif olan 322'i suşun % 19.8'si Protein A oluşturmadı.

Bu çalışmanın ikinci aşaması olan biyokimyasal testlerde Üreaz oluşturan 163 (% 27.9) suştan hepsi diğer testlerde de pozitif, bütün izolatlar ise xysiloz'da negatif ve sakkaroz'da pozitif sonuç vermiştir. Anaerobik ortamda yapılan mannitol fermantasyon testinde pozitif olan suşların hepsi aerobik mannitol fermantasyonunda da pozitif bulundu. Aerobik

fermantasyonda 311'i pozitif ve 273'ü negatif olarak sonuç vermiştir.

Çalışma sonunda izole edilen 584 Stafilokok suşundan 254'ü (% 43.5) apatojenik veya saprofitik olarak kabul edilen *S. saprophyticus* ve *S. epidermidis* türleri olarak tanımlanmıştır. Bu türlere ait çalışmada elde edilen % 43.5'lik izolasyon oranı diğer araştırmacıların bulgularından oldukça yüksektir (6, 8, 41). Apatojenik veya saprofitik olarak kabul edilen koagülaz negatif özellikteki *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus*'un kötü çevre koşullarında ve immün sistemin zayıflaması durumunda hayvanlarda oportunistik infeksiyonlara neden olabilecekleri gözönünde tutularak bunların da tür düzeyinde tanımlanması büyük önem taşır(39). *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus* gibi koagülaz negatif olabilen fakat patojenik etki gösterebilen *S. hyicus*'un da tür düzeyinde kesin tanımlanması hastalığın kesin tanısında hayati önem taşımaktadır.

5. SONUÇ

Patojenik Stafilokok türlerinin ayırımında temel kriter olan koagülaz testinin tek başına tür düzeyinde tanımlanmasında kullanılması yeterli olmayacağı, *S. intermedius* ve *S. hyicus* türlerinin tanımlanması için mutlak suretle CF ve DNase testlerinin de yapılması gerektiği sonucuna varıldı. DNase testi ile büyük oranda korelasyon gösterdiği için patojenik Stafilokok'ların tür düzeyinde tanımlanması için TNase testinin de kullanılması uygun olacaktır.

Genelde apatojenik ve komensal olarak kabul edilen fakat arasıra hayvanlarda oportunistik infeksiyonlara neden olan *S. saprophyticus* ve *S. epidermidis* suşlarının patojenik stafilokok'lardan ayırımında koagülaz, CF, ve DNase testlerinin başarı ile kullanılabilmesi, ancak bu iki türün birbirinden ayırımı için de biyokimyasal testlerin uygulanması gerektiği sonucuna varıldı. Biyokimyasal testlerden özellikle nitrat redüksiyonu ve manitol fermentasyonunun *S. saprophyticus* ve *S. epidermidis* ayırımında güvenle kullanılabilmesi kanısına ulaşıldı.

KAYNAKLAR

1. AKAY Ö (1985). *Çeşitli kaynaklardan izole edilen stafilokok suşlarının koagülaz ve DNase aktiviteleri üzerinde bir araştırma*. A Ü Vet Fak Derg, 32: 429-412.
2. AKAY Ö, İZGÜR M, AYHAN H ve USLANOĞLU B (1988). *İnek sütlerinden izole edilen S. epidermidis suşlarının çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıkları üzerinde bir araştırma*. A Ü Vet Fak Derg, 34:309-316.
3. AKAY Ö, İZGÜR M, USLANOĞLU B ve ERGANİŞ O (1987a). *Hasta piliçlerden izole edilen S. aureus suşlarının kültürel, biyokimyasal ve biyolojik karakterlerinin belirlenmesi üzerinde bir araştırma*. A Ü Vet Fak Derg, 34: 294-308.
4. AKAY Ö, İZGÜR M, USLANOĞLU B, ve ESENDAL ÖM (1987b). *İnsan ve sığır orjinli stafilokokal suşlarının latex aglutinasyon testi ile çabuk tanımlanmaları üzerinde bir araştırmalar*. A Ü Vet Fak Derg, 34: 251-267.
5. AKAY Ö, OCAK İ, İZGÜR M, ARDA M, AYDIN N, SULTAN N ve AYDIN N (1985). *İnsal ve çeşitli hayvan kaynaklı stafilokok suşlarının protein A oluşturmaları üzerine bir araştırma*. A Ü Vet Fak Derg, 32: 401-412.
6. ARDA M ve İSANBULLUOĞLU E (1979). *Mastitislere neden olan aerob, anaerob ve mantarların izolasyonu, tanımlanması, bunlara karşı etkili olan antibiyotik ve fungusitlerin saptanması*. A Ü Vet Fak Derg, 26: 14-29.
7. ARDA M, MİNBAY A, LELOĞLU N, AYDIN N ve AKAY Ö (1992). *A Ü Yayın Kars Vet Fak Yayın NO: 1, Özel Mikrobiyoloji Ders Kitabı*. Ser. A. Ü. Basım Evi Erzurum.
8. AYDIN F, LELOĞLU N, ŞAHİN M, ÇOLAK A ve OTLU S (1995). *Kars yöresi sığı ineklerinde klinik ve subklinik mastitislere neden olan mikroorganizmaların tanımlanmaları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine araştırmalar*. Pendik Vet Mikrobiyol Derg, 26: 55 65.
9. BARRY AL, LACHICA, RVF and ATCHISON FW (1973). *Identification of Staphylococcus aureus by simultaneous use of tube coagulase and thermonuclase tests*. App Microbiol, 25:496-497.
10. BEKAR M (1997). *Enterobacteriaceae familyası, Mikroorganizmaların genel karakterleri ve tanı yöntemleri*. Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın No: 97-1.

11. BERKE A and TILTON RC (1986). *Evaluation of rapid coagulase methods for the identification of S. aureus*. J Clin Microbiol, 23: 916-919.
12. BEŞE M (1974). *Nitrat redüksiyon testi ve besiyeri*. Mikrobiyolojide kullanılan biyokimyasal testler ve besiyerleri. 215-218.
13. BROWN RW (1973). *Intramammary infections produced by various strains of S. epidermidis and Micrococcus*. Cornell Vet, 63: 630-645.
14. BURNS J and HOLTMAN D (1962). *A laboratory technique employing DNase activity for the differentiation of staphylococci*. J Tenn Acad Sci, 37: 15-16.
15. CHEONG KP (1983). *Studies on Staphylococci isolated from bovine udder infections. II. Distribution and biochemical properties of coagulase-negative Staphylococci*. Korean J Vet Res, 23: 165-172.
16. COWAN ST, HOT JG and LISTON J (1975). *Bergeys manual of determinative bacteriology*. Eight ed. The Williams and Wilkins company, Baltimore, USA.
17. DEVRIESE LA and OEDING P (1975): *Coagulase and heat resistant nuclease producing Staphylococcus epidermidis strains from animals*. J App Bact, 39: 197-207.
18. DOERN GV (1982). *Evaluation of commercial latex agglutination test for identification of Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 15: 416-418.
19. ESSERS L and RADEBOLD K (1980). *Rapid and reliable identification of Staphylococcus aureus by latex agglutination test*. J Clin Microbiol, 19: 641-643.
20. FORSGREN A (1970). *Significance of protein A production by Staphylococci*. Infect Immun, 2: 672-673.
21. FORSGREN A and SJOQUIST J (1966). *"Protein-A" from Staphylococcus aureus. I. Pseudoimmun reaction with human gammaglobulin*. J Immunol, 97: 822-827.
22. HIGGINS R et CHARTIER P (1984). *Contribution a l' identification des Staphylocoques "coagulase pozitive" D' origine animale*. Med Vet Quebec, 14(2): 61-65.
23. HOLMBERG O (1973). *Staphylococcus epidermidis isolated from bovine milk*. Acta Scand Vet Suppl, 45: 1-144.
24. İSTANBULLUOĞLU E ve DİKER S (1983). *Çeşitli hayvanlardan izole edilen stafilokole suşlarının enzim karakterleri üzerinde incelemeler*. A Ü Vet Fak Derg, 30: 223-227.
25. JACOBS SL, WILLS AE and GOODBURN GW (1963). *Signification deoxyribonuclease production by staphylococci*. Nature (London). 200: 709 710.
26. JUNGKIND DL, TORHAN NJ, CORMAN KF and BONDI JM (1984). *Comparison of two commercialy available test methods with conventional coagulase test for identification of Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 19: 191-193.
27. KONEMAN EW, ALLEN SD, JANDA WM, SCHRECKENBERGER PC and WINN WC (1992): *The Gram - Positive Cocci Part I : Staphylococci and Related Organisms*. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Fourth edition: pp 405-429.
28. KÖHLER-SAMOULIDIS G (1984): *Significance of deoxyribonuclease activity of animal staphylococci* . Deut Tierarztl Waschr, 91: 157-158.
29. KRONVAL G, DOSSETT JH, QUINE PG and WILLIAMS RC (1971). *Occurrence of Protein-A in staphylococcal strains: Quantitative aspect and correlation to antigenic and bacteriophage types*. Infect Immun, 3: 10-15.
30. LACHICA RWE, HOEPRICH PD and GERIGEORGIS C (1971a). *Metachromatic agar diffusion methods detecting staphylococcal nuclease activity*. Appl Microbiol, 21: 285-287.
31. LANNETTE ED, BALOWS A, HAUSLER WJ and SHADOMY HJ (1985). *Manual of Clinical Microbiology*. 4th Ed. American Society for Microbiology. Washington. USA.
32. LASSEN J (1975). *Rapid identification of Gram negative rod using tree-tube mehods combined with dichotomic key*. Acta Pathol Microbiol Scend Sect B, 93 :523-533.
33. MORTON HE and COHN J (1972): *Coagulase and deoxyribonuclease activities of staphylococci isolated from clinical sources*. App Microbiol, 23: 725.
34. PARK CE, SERRANO AD and LANDGRAF M (1980). *A survey of microorganisms for termonuclease production*. Can J Microbiol, 26: 532-535.
35. PENNEL DR, ROTT-PETRI AR and KURZYNSKI TA (1984). *Evaluation of three commercial agglutination tests for the identification of Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 20: 614-617.
36. POUTREL B et LEFORT B (1980): *Mise au point et utilisation d'un reactif sensible pour la detection de la proteine a de Staphylococcus aureus*. Med Mal Inf, 10: 38-41.

37. PRASAD J, KAPUR MP and SHARMA A (1986). *Studies on Protein-A production and other biochemical characteristics of Staphylococcus aureus of human and non-human origin.* Indian Vet J 65: 761-767.
38. QUINONES J and RASPANTI C (1987). *Characterization of Staphylococcus aureus isolated from milk of cows with subclinical mastitis.* Vet Argentina, 4: 706-708.
39. QUINN PJ, CARTER ME, MARKEY B and CARTER GR (1994): *Staphylococcus.*, Clinical Veterinary Microbiology. Pp, 118-126
40. ULUSOY E, İZGÜR M, AKAY Ö, DİKER KS, AYDIN N ve ARDA M (1985). *Mastitisli inek sütlerinden izole edilen mikroorganizmaların identifikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerinde bir araştırma.* A Ü Vet Fak Derg, 32: 358-370.
41. UYSAL Y ve BERKOĞLU A (1989). *Mastitis nedeni ile memeleri körlenerek kesime gönderilen süt ineklerinin kör memelerinden etken izolasyonu.* Pendik Hay Hast Merk Araşt Enst Derg, 20: 5 14.
42. VITKOY M (1984). *Production of ProteinA by staphylococci of bovine origin.* Vet Med Nauki, 21:52-56.
43. ZARZOUR JY and BELLE EA (1978). *Evaluation of three tests procedurs for identification of S. aureus from clinical sources.* J Clin Microbiol,7 : 133-136.
44. ZIERDT CH and GOLDE DW (1970). *Deoxyribonuclease positive Staphylococcus epidermidis strains.* App Microbiol, 20: 54-57.