

İNSAN VE SIGIR ORJİNİLİ STAFİLOKOK SUŞLARININ LATEX AGLUTİNASYON TESTİ İLE ÇABUK İDENTİFİKASYONLARI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Ömer Akay¹
Banur Uslanoğlu³

Müjgan İzgür²
M. Ömer Esenalı⁴

Investigation on rapid identification of *Staphylococcus aureus* strains from human and bovine origin by using latex agglutination test.

Summary: *A latex agglutination test detecting clumping factor and protein A simultaneously is recommended for rapid and reliable routine identification of *Staphylococcus aureus*.*

*In this study, the latex agglutination test was compared to the conventional tube coagulase test, slide coagulase test, DNase, TNase and protein A by using 250 isolates of staphylococci strains from human and bovine origin. Of these, both human (100 strains) and bovine (100 strains) strains were identified as *Staphylococcus aureus* and the rest of them were identified as coagulase negative staphylococci (from human materials 25 strains and from cows' milk 25 strains). Positive latex agglutination tests occurred in 100 % of *Staph. aureus* strains from human and 97 % of *Staph. aureus* strains from bovine origin respectively, whereas 88 % of coagulase negative strains from human and 96 % coagulase negative strains from bovine origin gave negative latex tests.*

*Latex agglutination tests were found to be satisfactory for determining the coagulase and protein A status of *Staphylococcus aureus* strains isolated from human and bovine specimens and also it is concluded that in most instances the latex slide agglutination test is a reliable method for identifying *Staph. aureus* in the laboratory.*

Özet: *Staphylococcus aureus* suşlarının clumping factor ve protein A'larının ortak tanımlanması için son yıllarda latex aglutinasyon testi kullanılmaktadır.

-
- 1 Doç Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji Bilim Dalı, Ankara.
2 Yrd. Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji Bilim Dalı, Ankara.
3 Araş. Gör., Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji Bilim Dalı, Van.
4 Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Bakteriyoloji Bilim Dalı, Ankara.

Bu çalışmada, latex aglutinasyon ile *Staph. aureus* suşlarının identifikasyonunda kullanılan tüp-lam koagulaz, DNase, TNase ve protein A test sonuçları karşılaştırılmıştır. İnsan orijinli 100 *Staph. aureus* suşundan 100'ü (% 100), inek sütlerinden izole edilen 100 *Staph. aureus*'tan 97'si (% 97) latex pozitif, buna karşın 25 insan kaynaklı koagulaz negatif suştan 22'si (% 88) ve sığır orijinli 25 koagulaz negatif suştan ise 24'ü (% 96) negatif bulunmuştur.

Alınan bu sonuçlara göre latex aglutinasyon testinin *Staph. aureus* suşlarının clumping factor ve protein A'larının tanımlanması için uygun bir test ve aynı suşların kesin identifikasyonu için laboratuvarlarda kullanılabilcek çabuk bir yöntem olduğu ortaya konulmuştur.

Giriş

Staph. aureus'ların diğer stafilokoklardan ayırımı için koagulaz testi öncelikle uygulanan ve geçerli olan bir testtir (3, 11, 19). Ancak, *Staph. intermedius* ve *Staph. hyicus* suşlarının % 50 oranında koagulaz pozitif sonuç vermelerine (16, 23), testte yalancı pozitif ve negatif sonuçlar elde edilmesine rağmen (18, 37, 41) klasifikasyonunda kullanılan en fazla koagulaz testidir. Bu test yanısıra, patojenik olanları belirlemek için DNase (24, 30), termonükleaz (6, 8), protein A (36, 42), clumping factor (13, 31) gibi testler de kullanılmaktadır.

Patojenik ve apatojenik stafilokok suşlarının ayırımı için öncelikle koagulaz ve DNase testinden yararlanılmaktadır (24, 30). Weckman ve Catlin (44), klinik materyalden izole ettikleri 87 mikrokok suşundan 34 tanesinin DNase ve koagulaz pozitif, buna karşın koagulaz negatif suşların sadece birisinin DNase pozitif, DiSalvo (10), 204 *Staph. aureus* suşundan 199'nun DNase ve koagulaz pozitif, 100 *Micrococcus pyogenes* var. *albus* suşundan sadece birisinin hem DNase ve hem de koagulaz pozitif, Victor ve ark. (43), koagulaz pozitif *Staph aureus* suşlarının % 95'ini, ayrıca 41 koagulaz negatif suştan ise 10 tanesini DNase pozitif bulduklarını bildirmişlerdir. Jacobs ve ark. (17) insan orijinli 1467 koagulaz pozitif stafilokok suşundan tamamını, 227 koagulaz negatif suştan ise 5'nin DNase pozitif bulduklarını ve bu nedenle de testin teşhis laboratuvarlarınca güvenle kullanılabilceğini açıklamışlardır. Raymond ve Traub (38), izole ettikleri 350 stafilokok suşundan 241 tanesini *Staph. aureus* ve 109'nu ise *Staph. epidermidis* olarak tanımlamışlar, 241 *Staph. aureus*'tan 11'nin DNase ve 34'nün koagulaz negatif, 109 *Staph. epidermidis* suşundan 26'sının DNase po-

zitif, hepsinin koagulaz testinde negatif, Jungkind ve ark. (20), 219 *Staph. aureus* suşunun % 94.4'nün 4'ncü, % 99.5'nin ise 24'üncü saatlerde tüp koagulaz testinde pozitif, 103 koagulaz negatif stafilokok'un ise bu testte negatif bulunduğunu saptamışlardır. Akay (1), insan orijinli *Staphylococcus epidermidis* suşlarından 247 tanesinden birinin koagulaz pozitif (% 0.4), 246 insan ve 48 sığır kaynaklı suşun hepsinin negatif, insan orijinli 189 *Staph. aureus*'tan 187'sinin pozitif (% 98.9), 2 suşun negatif, sığır orijinli 102 suştan 101'inin pozitif (% 99), birisinin negatif olduğunu bildirmiştir.

Clumping factor koagulaz pozitif stafilokokların tanımlanması için uygun, yapılması kolay, kısa sürede sonuç veren ve tüp testine oranla daha ekonomik bir testtir (28, 34). Essers ve Radebold (13), denemelerinde kullandıkları 218 koagulaz pozitif stafilokok suşunun insan plazması ile yapılan CF testinde, 208'ini pozitif, 10'unu negatif, koagulaz negatif 150 suştan 18'ni pozitif, 132'sini negatif, Doern (11), insan orijinli 158 *Staph. aureus* suşunun 132'sinin CF pozitif (% 83.5), ve 264 koagulaz negatif suşun CF negatif, Myrick ve Ellner (31), latex aglutinasyon testi ile pozitif sonuç veren 357 stafilokok suşundan 311'ni CF pozitif ve latex aglutinasyon negatif bulunan 449 suştan tamamını aynı testte negatif bulmuşlardır. Baker ve ark. (5), 380 stafilokok suşundan 239'nu *Staph. aureus* olarak tanımladılar ve bu suşların CF testinde 210 tanesini pozitif, 25'ni negatif, 4'nü şüpheli, Berke ve Tilton (7), 118 *Staph. aureus*'tan 115'ni pozitif, 3'nü negatif ve 50 *Staph. epidermidis*'den tamamını lam koagulaz testinde negatif bulduklarını açıklamışlardır.

Micrococcaceae familyasında bulunan diğer organizmalardan *Staph. aureus* suşlarının kesin identifikasyonu için TNase testi de önemli bir kriter olarak kullanılmış ve bu amaçla bir çok araştırma yapılmıştır (4, 8, 26, 27, 38, 40, 41). Yapılan bu çalışmalarda toplam 2992 koagulaz pozitif ve 2396 koagulaz negatif stafilokok suşu TNase yönünden incelenmiş, koagulaz pozitif suşların % 99'unun ve negatiflerin ise % 2'sinin TNase oluşturdıkları belirlenmiştir. Park ve ark. (33), 224 koagulaz pozitif suştan 221'nin (% 98.7) ve 148 koagulaz negatif suştan 26'sinin (% 17.6) TNase pozitif, Shanhotzer ve Peterson (39), klinik materyalden izole ettikleri 189 Gram pozitif koku CF, koagulaz, DNase ve termonukleaz yönünden incelediklerinde; bunların 72'sinin 4 testte pozitif, 88'nin ise negatif sonuç verdiklerini, geriye kalan 29 suş arasında ise koagulaz ve termonukleazın % 90 korelasyon gösterdiğini ve termonukleaz testinin basit, uygun, pahalı

olmayan ve çabuk sonuç veren yöntem olduğunu, Berke ve Tilton (7), insan orijinli 118 *Staph. aureus* suşundan 117'sini TNase pozitif bulduklarını bildirmişlerdir. Menzies (29), izole ettiği 1035 stafilokoktan koagulaz pozitif 728 suşun TNase pozitif, koagulaz negatif 307 suştan 306'sının negatif, bir suşun ise pozitif, Zarzour ve Belle (46), çalışmalarında kullandıkları 520 stafilokok'tan 450 *Staph. aureus* suşunun TNase pozitif, 60'nın negatif, Sperber ve Tatini (41), 508 stafilokok suşundan 439 *Staph. aureus*'un pozitif, 69 koagulaz negatif suşun ise TNase testinde negatif sonuç verdiğini açıklamışlardır.

Protein-A antijenik spesifiteye sahip ve bazı *Staph. aureus* suşlarının hücre duvarında bulunan bir proteindir. İnsan ve değişik hayvan orijinli stafilokok suşlarının Protein-A oluşturmaları üzerinde çalışmalar yapılmıştır (22, 35, 36, 42). Poutrel ve Lefort (36), insan 589 ve sığır orijinli 245 stafilokok suşunu IHA ile Protein-A yönünden incelediklerinde; koagulaz pozitif suşlardan insan orijinli 139'undan 133'ün ve sığır orijinli 200 suştan 112'sinin pozitif, buna karşın koagulaz negatif suşlardan 450 insan ve 45 sığır orijinli suşun Protein-A testinde negatif, Kronvall ve ark. (21), insan orijinli 215, akut mastitisli 30 ve kronik mastitisli ineklerden izole ettikleri 97 *Staph. aureus* suşundan insan orijinlilerden % 91.2'sinin ve akut mastitislilerden % 100'nün, kronik vakalardan ayırdıkları 97 suştan % 59.8'nin ve 77 *Staph. epidermidis*'ten sadece bir tanesinin Protein-A sentezlediğini bildirmişlerdir. Forsgren (15), insan orijinli 800 patojenik ve apatojenik stafilokok suşlarını Protein-A yönünden incelendiğinde; 700 koagulaz pozitif suştan 692 ve 100 negatif suştan 2'sinin ekstraselüler Protein-A oluşturduğunu, Windbold ve Ericson (45), insanlardan izole ettikleri 341 izolattan 301'nin tüpte yapılan HA ile pozitif bulunduğunu, Flandrois ve ark. (14) ile Kronvalc ve ark. (22) tarafından yapılan çalışmalarda ise; insan ve hayvan orijinli koagulaz negatif suşların Protein-A oluşturmadıkları açıklanmıştır. Akay ve ark. (2), insan orijinli 189, sığır orijinli 97 suşunun sırasıyla 118 ve 44'nü pozitif 248 insan ve 43 sığır orijinli *Staph. epidermidis* suşunun ise testte negatif bulunduğunu bildirmişlerdir.

Son yıllarda Essers ve Radebold (13), *Staph. aureus* suşlarının clumping factor ve Protein-A larının ortak tanımlanması için çabuk lam aglutinasyonu (Latex aglutinasyon testi) ortaya koymuşlardır. Bu testte kullanılan latex partikülleri plazma ile bağlanmış (12, 31) ve bu partiküllerin *Staph. aureus* ile karşı karşıya gelmesinde organiz-

mayı aglutine ettiği ortaya konulmuştur. Aglutinasyon reaksiyonu, stafilokok'ların hücre duvarı yüzeyinde bulunan Protein-A ile latex partiküllerine adsorbe olmuş immunglobulin (IgG) arasında meydana gelen bağlantı ve yine hücre duvarına bağlı clumping factor ile latex partiküllerine adsorbe edilen pıhtılaşma faktörünün birleşmesi sonucu oluşmaktadır (12, 20, 28, 31). Latex aglutinasyon testi ile *Staph. aureus* suşlarının *Micrococcaceae* familyasında bulunan diğer etkenlerden ayırımı için çalışmalar yapılmış (3, 5, 7, 11, 19) ve olumlu sonuçlar alınmıştır. *Staph. aureus* suşlarının latex aglutinasyon testi ile identifikasyonunda ilk çalışma Essers ve Radebold (13) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada araştırmacıların hazırlamış oldukları reagent'le insan orijinli 218 koagulaz pozitif suştan 128'nin pozitif 150 koagulaz negatif suştan 149'nun negatif, bir suşun domuz plazması ile pozitif sonuç verdiği ve testin *Staph. aureus* suşlarının idetifikasyonunda teşhis laboratuvarlarınca güvenle kullanılabilceği açıklanmıştır. Berke ve Tilton (7) insan orijinli 118 *Staph. aureus* ve 50 *Staph. epidermidis* suşunu *Staph. Aurex*, *Veri-Staph.*, *Bacto Staph.* ticari isimli latex reagent'leri ile incelediklerinde 118 *Staph. aureus*'tan *Staph. Aurex* ile 1, *Veri-Staph.*'ta 1 ve *Bacto Staph.* ta 11 suşun negatif, 50 *Staph. epidermidis* suşunun ise her üç kit'le negatif, Baker ve ark. (5), insan orijinli 380 stafilokok suşundan 239 nu *Staph. arueus* ve 14'linün koagulaz negatif suş olarak ayırmışlar ve ticari *Sero STAT Staph.* kiti ile *Staph. aureus* suşlarından 238 (% 99.6) nin pozitif, koagulaz negatif 141 suştan tamamının latex aglutinasyon testinde negatif sonuç verdiği belirtilmiştir. Myrick ve Ellner (31) denemelerinde kullandıkları 806 stafilokok suşundan 357'sinin latex pozitif ve 339'nun bu testte negatif bulunduğunu, pozitif 357 suştan 351'nin koagulaz pozitif, 6'sının koagulaz negatif, 449 latex negatif suştan 2 sinin koagulaz pozitif ve 447' sinin koagulaz negatif, Jungikind ve ark. (20), 219 insan orijinli *Staph. aureus* ve 103 koagluaz negatif suş üzerinde yaptıkları çalışmada, *SeroSTAT Staph.* kiti ile 219 *Staph. aureus* tan 209 nun (% 95.4) pozitif, 103 koagulaz negatif suştan tamamının negatif sonuç verdiği bildirilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, ticari latex aglutinasyon kiti ile stafilokok suşlarının identifikasyonunda rutin olarak kullanılan tüp koagulaz, clumping factor, TNase, DNase, ve Protein-A test sonuçlarının karşılaştırılmasıdır.

Materyal ve Metot

Suşlar: Bu çalışmada aşağıda bildirilen stafilokok suşlarından yararlanılmıştır.

a- *Test suşları:* Denemede, 125 insan ve 125 sığır orijinli toplam 250 stafilokok suşu kullanılmıştır. Test edilen 125 insan suşundan 100'ü *Staph. aureus*, 25'i koagulaz negatif stafilokok, sığır orijinli suşlardan 100'ü *Staph. aureus*, 25'i koagulaz negatif stafilokok'dur.

İnsan kaynaklı suşlar, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, SSK Ankara Hastahanesi Çocuk Kliniği, G.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, sığır orijinli suşlar ise, Etlik Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü ve A.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına getirilen süt örneklerinden izole ve identifiye edilmiştir.

b- *Standart suşlar:* Denemede, A.Ü. Veteriner Fakültesi Bakteri-yoloji Bilim Dalı kültür koleksiyonundan sağlanan *Staph. aureus* Cowan suşu, Protein-A pozitif kontrol, aynı kaynaktan sağlanan *Staph. epidermidis*-33 suşu, Protein-A negatif kontrol, ayrıca *Staph. aureus* ATCC 25923 ve *Staph. epidermidis* ATCC 12228 suşları latex aglutinasyon testinde kontrol olarak kullanılmışlardır.

Besi yerleri: Denemede kullanılan suşların çeşitli karakterlerinin saptanması ve metisilin'e karşı duyarlılıklarının belirlenmesinde; Muller Hinton (Oxoid), Brain Heart Infusion agar (Difco), Brain Heart Infusion broth (Difco), kanlı agar, triptikaz soy buyyon ve TSA agar (Difco), DNase agar (Oxoid), Toluidine blue deoxyribo-nucleic acid agar (TDA) gibi besi yerlerinden yararlanılmıştır.

Tavşan plazması: Çalışmada, insan ve sığır orijinli stafilokok suşlarının koagulaz ve clumping factor aktivitelerinin saptanması amacıyla ticari liyofilize tavşan plazması (Sigma) kullanılmıştır.

Latex aglutinasyon seti: Test edilen suşların clumping factor ve Protein-A özelliklerini ortaya koymak için, *Bacto Staph. Latex* (Difco-3850-32-7)'den yararlanılmıştır.

Metisilin diski: Stafilokok suşlarının metisilin'e duyarlılıklarının saptanması için Oxoid-5 mcg lik diskler kullanılmıştır.

Sensibilize koyun eritrositlerinin hazırlanması: Sensibilize koyun eritrositleri Poutrel ve Lefort un (36) bildirdikleri yöntemle göre hazır-

lanmıştır. Koyun kanı Alsever solusyonuna alınarak yıkanmış, titresi 1/5000 olan hemolitik serumdan (Behring-Germany) ilave edilmiş ve buna glutrealdehit katılarak 10 saat süreyle 40 °C lik su banyosunda inkubasyondan sonra 3 kez yıkanmış ve % 1 oranında sığır albumini içeren PBS ile süspanse edilerek, % 3 lük kan solüsyonu hazırlanmıştır. Ayrıca, üç kez yıkanmış % 3 lük koyun eritrositlerinden denemede sensibilize edilmemiş kan olarak yararlanılmıştır.

Clumping factor : Bu test için temiz bir lam üzerine bir damla sulandırılmamış plazma konulmuş, test edilecek stafilokok suşlarının Muller Hinton ve BHIA da üreyen kolonilerinden öze ile alınarak plazma ile karıştırılmış, 45 saniye içinde meydana gelen kümeleşme pozitif kabul edilmiştir (20).

Tüp koagulaz testi : Tüp koagulaz testi Pennell ve ark. (34)'na göre yapılmıştır. Steril tavşan plazması 1/5 oranında sulandırılarak 0.5 ml miktarında tüplere konmuş ve üzerine teste tabi tutulacak suşların BHIB'daki taze kültürlerinden 0.1 ml ilave edilmiş, sonuçlar koagülasyonun olup olmamasına göre 2, 4, 6 ve 24'ncü saatlerde değerlendirilmiştir.

TNase testi : Bu test, Lachica ve ark. (25)'larına göre TB-DNA agar besi yerinde gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan DNA agar ortamına 0.1 M toluidin blue'dan 0.3 ml katılmış, 95 mm çapındaki petri kutularına 20 ml miktarında dökülmüş ve agar katılaştıktan sonra besi yeri üzerine 3 mm çapında çukurlar açılmıştır. Bu çukurların her birine denenecek suşların 100 °C'de 15 dakika kaynatılmış olan BHIB'nundaki 18-24 saatlik kültürlerinden mikropipet ile 25 µl konmuş ve 37 °C'de inkube edilmiştir. Petri kutuları 1, 2, 4 ve 24'ncü saatlerde incelenmiş ve çukurlar etrafındaki 1-3 cm çapında açık pembe renkli zonun oluşumu pozitif kabul edilmiştir (41).

DNase testi : Bu test, Zierdt ve Golde (47)'nin tanımladıkları metoda göre yapılmıştır. Teste tabi tutulacak suşların triptikaz soy buyyondaki kültürlerinden DNase agar üzerine nokta inokülasyonu yapılmış ve 37 °C'de 24 saatlik bir inkubasyonu takiben koloniler üzerine 1 N HCl'den konulmuş ve koyu zemin üzerinde incelenerek koloniler etrafındaki açılmalar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Latex testi : Bu test için ticari Staph Latex test setinden (Difco-3850-32-7) yararlanılmıştır. İncelenecek stafilokok'ların BHIA'daki 24 saatlik kolonileri temiz bir lamda fizyolojik tuzlu su ile emülsiyone

edilmiş ve üzerine Staph Latex süspansiyonundan bir damla damlatılıp karıştırılarak 1-2 dak içinde oluşan aglutinasyon pozitif olarak değerlendirilmiştir (9). Ayrıca, pozitif kontrol *Staph. aureus* ATCC 25923 ve negatif kontrol *Staph. epidermidis* ATCC 12228 suşları ile de aynı işlemler yapılmıştır.

Protein-A testi : İnsan ve hayvan orijinli stafilocok suşlarının Protein-A oluşturma özelliklerini saptamak için bu suşların MH ve BHIA'daki kolonilerinden yararlanılmıştır. Bu kolonilerin temiz bir lam üzerine konulan 20 µl duyarlılaştırılmış kan ile emülsiyonları yapılarak 2 dak içinde aglutinasyonun görülmesi pozitif kabul edilmiştir (36). Aynı işlemler sensibilize edilmemiş % 3 lük kanla da tekrarlanmıştır. Ayrıca, kontrol olarak Protein-A pozitif *Staph. aureus* Cowan ve negatif *Staph. epidermidis*-33 suşları sensibilize ve sensibilize olmayan kanlarla da denenmiştir.

Metisilin duyarlılık testleri : İzole ve identifiye edilen stafilocokların metisilin duyarlılık testleri Oxoid'e (32) göre Mueller Hinton agarında yapılmış ve sonuçlar Oxoid standartlarına göre değerlendirilmiştir.

Bulgular

Clumping factor sonuçları : Bu test, MH ve BHIA'da olmak üzere iki ayrı besi yerinde yapılmıştır. Bu iki besi yerinde gerçekleştirilen CF testinde, insan orijinli 100 *Staph. aureus* suşundan tamamı pozitif, koagulaz negatif 25 suşun ise hepsi negatif (Tablo - 1), MH ortamında sığır orijinli 100 *Staph. aureus* suşundan 98'i CF pozitif, 2 tane negatif, koagulaz negatif suşların ise tümü aynı testte negatif bulunmuştur (Tablo - 2).

Tüp koagulaz test sonuçları : İnsan ve sığır orijinli 100 *Staph. aureus* suşu pozitif, aynı kaynaklı koagulaz negatif stafilocok suşları (25'er adet) ise negatif bulunmuştur (Tablo - 3).

TNase test sonuçları : TNase testi TB-DNA agar ortamında yapılmış ve insan orijinli 100 *Staph. aureus* suşundan 93'ü pozitif, 7'si negatif sığır orijinli aynı sayıdaki *Staph. aureus*'tan 81'i pozitif, 19'u negatif, 25 koagulaz negatif stafilocok suşundan ise insan ve sığır kaynaklı olanların tamamı negatif sonuç vermiştir (Tablo - 1 ve - 2).

DNase test sonuçları : Denemede kullanılan insan orijinli 100 *Staph. aureus* suşundan 100'ü, sığır orijinli 100 *Staph. aureus* suşundan 95'i

Tablo 1. Koagulaz (tüp) testi ile stafilokok'ların identifikasyonunda kullanılan diğer testler arasındaki korelasyon (İnsan suşları)

Test	Koagulaz pozitif ^x (n = 100)	Koagulaz negatif ^x (n = 25)
Clumping factor (MH)		
Pozitif	100	0
Negatif	0	25
Clumping Factor (BHIA)		
Pozitif	100	0
Negatif	0	25
TNase		
Pozitif	93	0
Negatif	93	0
DNase		
Pozitif	100	0
Negatif	0	25
Latex		
Pozitif	100	3
Negatif	0	22
Protein-A (MH)		
Pozitif	90	0
Negatif	10	25
Protein-A (BHIA)		
Pozitif	94	0
Negatif	6	25

* Tavşan plazması

Tablo 2. Koagulaz (tüp) testi ile stafilokok'ların identifikasyonunda kullanılan diğer testler arasındaki korelasyon (Sığır suşları)

Test	Koagulaz pozitif ^x (n = 100)	Koagulaz negatif ^x (n = 25)
Clumping factor (MH)		
Pozitif	98	0
Negatif	2	25
Clumping factor (BHIA)		
Pozitif	94	0
Negatif	6	25
TNase		
Pozitif	81	0
Negatif	19	25
DNase		
Pozitif	95	0
Negatif	5	25
Latex		
Pozitif	97	1
Negatif	3	24
Protein-A (MH)		
Pozitif	58	2
Negatif	42	23
Protein-A (BHIA)		
Pozitif	64	0
Negatif	36	25

* Tavşan plazması

Tablo 3. İnsan ve sığırlardan izole edilen toplam 250 stafilokok suşunun koagulaz testi ile latex aglutinasyon sonuçlarının karşılaştırılması.

Tüp koagulaz testi		Latex aglutinasyon testi			
		Pozitif	% pozitif	Negatif	% negatif
	Pozitif suşlar (100)	100	100	100	0
	Negatif suşlar (25)	3	12	22	88
	Pozitif suşlar (100)	97	97	3	3
	Negatif suşlar (25)	1	4	24	96

Sığır İnsan

pozitif, aynı kaynaklı koagulaz negatif stafilokok suşlarının hepsi testte negatif bulunmuştur (Tablo - 1 ve - 2).

Latex test sonuçları : İnsan kaynaklı 100 *Staph. aureus* suşunun hepsi (% 100), sığır orijinli 100 *Staph. aureus* suşundan 97'si (% 97) latex aglutinasyon testinde pozitif (Tablo - 3), insan kaynaklı 25 koagulaz negatif stafilokok suşundan 3'ü pozitif (% 3), 22'si negatif (% 88), hayvan orijinli aynı sayıdaki suştan 1'i pozitif (% 4), 24'ü negatif (% 96) bulunmuştur (Tablo - 1, 2 ve - 3). Tablo 3'ün değerlendirilmesinde, insan suşlarının latex aglutinasyon testine göre tüp koagulaz test spesifitesi % 100, sensitivitesi % 97, pozitif prediktif değeri (PV⁺) % 100 olmasına rağmen, negatif prediktif değeri (PV⁻) % 88 dir. Yine aynı tabloda sığır suşlarının latex aglutinasyon testine göre tüp koagulaz test spesifitesi % 88, sensitivitesi % 98.9, PV⁻ değeri % 97 ve negatif prediktif değeri % 96 dır.

Protein-A test sonuçları : Bu çalışmada kullanılan toplam 250 stafilokok suşundan, insan orijinli *Staph. aureus*'ların MH besisi yerinde 90'ı pozitif, 10'u negatif, BHIA'da 94'ü pozitif, 6'sı negatif sığırlardan izole edilen 100 *Staph. aureus* suşundan MH besisi yerinde 58'i pozitif, 42 si negatif, BHIA'da 64'ü pozitif, 36'sı negatif bulunmuştur. Ayrıca, insan ve sığır kaynaklı koagulaz negatif stafilokok suşlarının her iki ortamda da Protein-A oluşturmadıkları saptanmıştır (Tablo - 1 ve - 2).

Metisilin duyarlılık test sonuçları : İnsan orijinli 100 *Staph. aureus*'tan 96'sı metisilin'e duyarlı, 4'ü dirençli, koagulaz negatif suşlardan 22'si duyarlı, 3'ü dirençli, hayvan orijinli 100 *Staph. aureus*'tan 98'i duyarlı, 2'si dirençli, koagulaz negatif 25 suştan hepsi metisilin'e duyarlı bulunmuştur (Tablo - 4a ve - 5a). İnsan suşlarının metisilin'e

Tablo 4a. Stafülokok suşlarının metisilin'e duyarlılık ve dirençliliklerine göre testlerin karşılaştırılması (insan suşları).

Tür	Suş sayısı	Clumping ^x factor ¹	Tüp ^x koagulaz	TNase ^x	DNase ^x	Latex aglutinasyon testi		Protein ^x A (1)
						+	-	
Staph. aureus								
Metisilin duyarlı	96	96	96	89	96	96	0	89
Metisilin dirençli	4	4	4	4	4	4	0	0
Koagulaz negatif Stafülokok suşları								
Metisilin duyarlı	22	0	0	0	0	3	19	0
Metilsiin dirençli	3	0	0	0	0	0	3	0

X. Pozitif suş sayısı

1. Muller Hinton

Tablo 4b. İnsan orijinli Staph. aureus suşlarının değişik testlere göre sensitivite ve spesifiteleri

Test	% Sensitivite			% spesifite	PV+ (%)	PV- (%)
	Toplam	Metisilin-S	Metisilin-R			
Clumping factor	100	100	100	100	100	100
Tüp koagulaz	100	100	100	100	100	100
TNase	93	92.7	100	100	95.7	100
DNase	100	100	100	100	100	100
Latex	100	100	100	100	100	100
Protein-A	90	92.7	25	25	96.7	12.5

Tablo 5a. Stafülokok suşlarının metisilin'e duyarlılık ve dirençliliklerine göre testlerin karşılaştırılması (sığır suşları)

Tür	Suş sayısı	Clumping ^x factor (1)	Tüp ^x koagulaz	TNase ^x	DNase ^x	Latex aglutinasyon testi		Protein A ^x (1)
						+	-	
Staph. aureus								
Metisilin duyarlı	98	96	79	93	93	95	3	57
Metisilin dirençli	2	2	2	2	2	2	0	1
Koagulaz negatif stafülokok suşları								
Metisilin duyarlı	25	0	0	0	2	1	24	2
Metisilin dirençli	0	0	0	0	0	0	0	0

X. Pozitif suş

1. Muller Hinton

Tablo 5b. Sığır orijinli *Staph. aureus* suşlarının değişik testlere göre sensitivite ve spesifiteleri

Test	% Sensitivite			% spesifite	PV+	PV-
	Toplam	Metisilin-S	Metisilin-R			
Clumping factor	98	97.9	100	100	97.9	100
Tüp koagulaz	100	100	100	100	100	100
TNase	81	80.6	100	100	97.5	100
DNase	95	94.9	100	100	97.9	100
Latex	97	96.9	100	100	97.9	100
Protein-A	58	58.1	50	50	98.2	2.3

duyarlılık ve dirençlilik durumuna göre diğer testlerle karşılaştırıldığı Tablo - 4a'nın incelenmesinde, Tablo - 4b'de görüldüğü gibi CF, tüp koagulaz, DNase ve latex testinin sensitivite, spesifite, pozitif-negatif prediktif değerleri % 100, TNase testinin metisilin duyarlılığına göre sensitivitesi % 92.7, pozitif prediktif değeri % 95.7, Protein-A testinin ise sensitivitesi metisilin duyarlılığına göre % 92.7, metisilin dirençliliğine göre % 25, spesifitesi % 25, pozitif prediktif değeri % 96.7 ve negatif prediktif değeri % 12.5'dur. Tablo - 5a ve 5b'nin incelendiğinde, sığır suşları için CF, tüp koagulaz, TNase, DNase ve latex testlerinin metisilin dirençlilik sensitivite, spesifite ve negatif prediktif değerinin % 100, CF metisilin duyarlılık sensitivite ve pozitif prediktif değerlerinin % 97.9, TNase metisilin duyarlılık sensitivitesinin % 80.6, pozitif prediktif değerinin % 97.5, DNase, latex aglutinasyon ve Protein-A için bu değerlerin sırasıyla % 94.9, % 97.9, % 96.9, ve % 97.9, % 58.1, % 98.2, ayrıca, Protein-A için metisilin dirençlilik sensitivite ve spesifitesinin % 50, negatif prediktif değerinin % 2.3 olduğu anlaşılmaktadır.

Tartışma ve Sonuç

Bu araştırmada, insan ve sığırlardan izole edilen stafilocok suşlarının latex aglutinasyonu ile bu mikroorganizmaların kesin identifikasyonunda kullanılan tüp koagulaz, CF, DNase, TNase ve Protein-A gibi test sonuçları arasındaki korelasyon incelenmiştir.

İnsan ve hayvanlarda hastalık meydana getiren stafilocok'larla (*Staph. aureus*), kommensal özellik taşıyan diğer türlerin birbirinden ayrımı bugün dahi teşhis açısından zaman zaman ortaya sorunlar çıkartmaktadır. Tür ayrımında en sık başvurulan tüp koagulaz testi olup (10, 17, 43, 44), lam testi de (11, 13, 31) kullanılmaktadır. Son

yıllarda Essers ve Radebold (13) stafilokokların Protein-A ve CF lerinin ortak belirlenmesi için geliştirdikleri latex aglutinasyon reagentini hazırlamışlar, koagulaz pozitif 218 suşun tamamını latex ile, 216'sını Protein-A ve 208'ni CF testleriyle pozitif, koagulaz negatif suştan latex ile 149'nu, Protein-A ve CF ile 132 sini negatif bulmuşlardır. Doern (11) çalışmasında test ettiği 427 stafilokok suşunun 161'ni koagulaz pozitif ve bunlarında 158'ni latex pozitif, 266 koagulaz negatif suşun ise 264'nü latex negatif bulmuştur. Daha sonra çeşitli firmalarca değişik isimler altında latex aglutinasyon kitleri hazırlanmış ve bu kitlerle çalışmalar yapılmıştır (3, 5, 7, 11, 19). Aldridge ve ark. (3) 92 tüp koagulaz pozitif suşun Sero-STAT Staph. kiti ile 86'sını, Staph-latex ile de tamamını pozitif bulduklarını, Pennell ve ark. (34) inceledikleri 354 stafilokok suşunun tüp koagulaz testi ile 165'ni *Staph. aureus*, bunların da SeroSTAT Staph ve Staphlatex kitleri ile 163'nü latex pozitif, 189 koagulaz negatif stafilokok suşunun ise her iki kit'le 188'nin negatif açıklamışlardır. Bu denemede alınan sonuçlara göre, insan orijinli 100 *Staph. aureus* suşunun tamamı tüp koagulaz, CF ve latex aglutinasyon testlerinde pozitif, sığır orijinli 100 *Staph. aureus*'un tüp koagulaz testinde tamamının, CF testinde 94'ünün ve Latex aglutinasyon testinde ise 87'sinin pozitif sonuç verdiği saptanmıştır. Latex aglutinasyon testinde negatif bulunan sığır orijinli 3 suşun (E-13, E-114 ve E-125) tüp koagulaz, DNase ve TNase testlerinde pozitif sonuç vermeleri göz önünde bulundurularak, bu suşlar *Staph. aureus* olarak tanımlanmışlardır. Koagulaz negatif suşlardan insan orijinli 3 ve sığır orijinli 1 suş ise Latex aglutinasyonunda pozitif bulunmuştur. Alınan bu sonuçlara göre *Staph. aureus*'ların kesin identifikasyonunda kullanılan tüp koagulaz, CF ve Latex aglutinasyon testleri arasında uygun bir korelasyon bulunmaktadır. Buna karşın, Jasper ve ark. (19), inek sütlerinden izole ettikleri 238 koagulaz pozitif suşun % 49.2'sini Latex pozitif, 402 koagulaz negatif suşun ise % 95'ini Latex negatif bulmuşlar ve sonuçlara dayanarak, Latex testinin stafilokok identifikasyonunda uygun olmayacağını ve bu olumsuz sonucun da bazı *Staph. aureus* suşlarında Protein-A'nın bulunmamasına bağlamışlardır. İnsan orijinli stafilokok suşlarının Latex aglutinasyon testine göre tüp koagulaz sensitivite ve PV⁻ değerleri sırası ile % 97 ve % 88'dir. Sığır orijinli stafilokok suşlarının ise aynı testler için değerleri % 98.9 ve % 96'dır. İncelenen suşların spesifite ve PV⁻ değerleri insan orijinlilerde % 100, % 100, sığır orijinli stafilokoklar için ise % 88.9 ve % 97'dir. Bu sonuçlar, insan orijinli stafilokokların

Protein-A değerlerinin sığır orijinli suşlara göre yüksek olması nedeniyle ortaya çıkmaktadır.

Stafilokokların identifikasyonunda kullanılan DNase testi için yapılan çalışmalardan (10, 38, 43, 44) bu testin klasifikasyonda önemli bir değer taşıdığı anlaşılmaktadır. Denemede insan orijinli koagulaz ve Latex pozitif 100 *Staph. aureus*'un DNase testinde de % 100 pozitif; koagulaz % 100, Latex % 97 pozitif sığır orijinli 100 *Staph. aureus*'un ise bu testte % 95'inin pozitif ve % 5'inin de negatif olduğu belirlenmiştir. Ancak, % 5'lik bu negatif bulgu Zarzour ve Belle (46) nin de açıkladıkları gibi *Staph. aureus*'lar tarafından az miktarda sentezlenen DNase'in belirlenmemesine bağlanabilir.

TNase oluşumunun *Staph. aureus* suşlarının identifikasyonunda önemli bir kriter olarak kullanılabilceği yapılan araştırma sonuçlarından anlaşılmaktadır (7, 29, 33, 39). Denemede insan orijinli koagulaz pozitif stafilokokların % 93'ünün, sığır orijinli koagulaz pozitif stafilokokların % 81'nin TNase pozitif, her iki orijinli koagulaz negatif suşların ise bu testte % 100 negatif olduğu belirlenerek, TNase testinin *Staph. aureus*'ların identifikasyonunda diğer testlerle birlikte güvenle kullanılabilceği ortaya konulmuştur.

Protein-A testinin *Staph. aureus*'ların identifikasyonunda özellikle insan suşlarında olumlu sonuç verdiği yapılan araştırmalarda belirtilmektedir (22, 35, 36, 42). Denemede bu amaçla kullanılan iki ayrı besi yerinde koagulaz ve Latex % 100 pozitif insan suşları Muller Hinton'da % 90, Brain Heart Infusion Agar'da % 94 Protein-A pozitif bulunarak, bu konudaki araştırma sonuçları ile paralellik sağlanmıştır. Sığır koagulaz pozitif suşlarda bu test Muller Hinton'da % 58, Brain Heart Infusion Agar'da % 64'lük bir pozitiflik göstermiştir. Denemede alınan bu sonuçlar Protein-A testinde besi yerinin de önemli olduğunu göstermektedir.

Stafilokoklarla yapılan çalışmalarda metisilin'e duyarlılık durumunun stafilokok'ların identifikasyonunda kullanılan diğer testlerle, özellikle, Protein-A ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (3, 7, 45). Bu çalışmada metisilin'e duyarlı 96 insan orijinli *Staph. aureus*'un tümünün, CF, tüp koagulaz, DNase, Latex, 89'unun ise TNase ve Protein-A; sığır orijinli metisilin'e duyarlı 98 *Staph. aureus* suşunun ise 96'sının CF, 98'inin tüp koagulaz, 79'unun TNase, 93'nün DNase, 95'inin Latex ve 57'sinin Protein-A yönünden pozitif olduğu saptanmıştır. İnsan orijinli stafilokok suşlarının metisilin'e duyarlılık du-

rumuna göre CF, tüp koagulaz, TNase, DNase ve Latex testlerinin sensitivite, spesifite, PV⁺, ve PV⁻ değerleri çok yüksektir. Ancak Protein-A testi ile sensitivitesi % 92.7, spesifitesi % 25 ve PV⁻ % 12.5'tur. (Tablo - 4b). Sığır orijinali suşların ise aynı değerleri yine yüksek olup, Protein-A testinde sensitivite % 58.1, spesifite % 50 ve PV⁻ % 2.3'tür. Bu durum metisilin'e duyarlılığın Protein-A ile olan ilişkisinden kaynaklanmaktadır (Tablo - 5b).

Bu çalışmada stafilokokların tanısında kullanılan CF, tüp koagulaz, DNase, TNase, ve Protein-A testi ile Latex aglutinasyon test sonuçlarının büyük bir oranda uygunluk gösterdiği, ayrıca, bu testin basit, uygulanması kolay ve kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle *Staph. aureus*'ların rutin identifikasyonunda diğer testler gibi güvenle kullanılabileceği anlaşılmıştır.

Kaynaklar

1. **Akay, Ö.** (1985). *Çeşitli kaynaklardan izole edilen stafilokok suşlarının koagulaz ve DNase aktiviteleri üzerinde bir araştırma.* Vet. Fak. Derg., 32 (3): 429-437.
2. **Akay, Ö., Ocak, İ., İzgür, M., Arda, M., Aydın, N., Sultan, N. ve Aydın, N.** (1985). *İnsan ve çeşitli hayvan kaynaklı stafilokok suşlarının Protein-A oluşturmaları üzerinde bir araştırma.* Vet. Fak. Derg., 32 (3): 401-412.
3. **Aldridge, K.E., Kogos, C.V., Sanders, C.V. and Marier, R.L.** (1984). *Comparison of rapid identification assay for Staphylococcus aureus.* J. Clin. Microbiol., 19: 703-704.
4. **Baird-Parker, A.C.** (1974). *Staphylococcus. Bergey's manual of determinative bacteriology.* 8th Ed. Williams and Wilkins Co. Baltimore.
5. **Baker, J.S., Borman, M.A., and Boudreau, D.H.** (1985). *Evaluation of various rapid agglutination methods for the identification of Staphylococcus aureus.* J. Clin. Microbiol. 21: 726-729.
6. **Barry, A.L., Lachica, R.V.F. and Atchison, F.W.** (1973). *Identification of Staphylococcus aureus by simultaneous use of tube coagulase and thermonuclase tests.* App. Microbiol., 25: 496-497.
7. **Berke, A. and Tilton, R.C.** (1986). *Evaluation of rapid coagulase methods for the identification of Staphylococcus aureus.* J. Clin. Microbiol., 23 (5): 916-919.
8. **Devriese, L.A. and Oeding, P.** (1975). *Coagulase and heat resistant nuclease producing Staphylococcus epidermidis strains from animals.* J. App. Bact., 39: 197-207.
9. **Difco Laboratories.** (1986). *Bacto Staph Latex Test. Technical Information.* Difco Laboratories. Detroit, USA.
10. **DiSalvo, J.N.** (1958). *Deoxyribonuclease and coagulase activity of micrococci.* Med. Tech. Bull., 9: 191-196.

11. **Doern, G.V.** (1982). *Evaluation of commercial latex agglutination test for identification of Staphylococcus aureus.* J. Clin. Microbiol., 15: 416-418.
12. **Doern, G.V. and Robbie, L.I.** (1982). *Direct identification of Staphylococcus aureus in blood culture fluid with a commercial latex agglutination test.* J. Clin. Microbiol., 16: 1048-1051.
13. **Essers, L. and Radebold, K.** (1980). *Rapid and reliable identification of Staphylococcus aureus by latex agglutination test.* J. Clin. Microbiol., 19: 641-643.
14. **Flandrois, J.P., Fleurette, J. and Eyraud, F.** (1975). *Detection de la proteine A de Staphylococcus aureus par hemagglutination conditionee.* Ann. Biol. Clin., 33: 365-368.
15. **Forsgren, A.** (1970). *Significance of protein A production by staphylococci.* Infect. Immunity, 2: 672-673.
16. **Hajek, V.** (1976). *Staphylococcus intermedius a new species isolated from animals.* Int. J. Sys. Bacteriol., 26: 401-408.
17. **Jacobs, S.L., Wills, A.E. and Goodburn, G.W.** (1963). *Signification deoxyribonuclease production by staphylococci.* Nature (London), 200: 709-710.
18. **Jasper, D.E. and Jain, N.C.** (1965). *Some cultural characteristics of staphylococci isolated from milk.* Can. J. Com. Med., 29: 119-124.
19. **Jasper, D.E., Martinez, F.I. and Dellinger, J.D.** (1984). *Evaluation of latex agglutination tests for establishing coagulase status of staphylococci from milk.* Can. J. Com. Med., 48: 223-224.
20. **Jungkind, D.L., Torhan, N.J., Corman, K.F. and Bondi, J.M.** (1984). *Comparison of two commercially available test methods with conventional coagulase tests for identification of Staphylococcus aureus.* J. Clin. Microbiol., 19: 191-193.
21. **Kronvall, G., Dossett, J.H., Quine, P.G. and Williams, R.C.** (1971). *Occurrence of Protein A in staphylococcal strains: Quantitative aspect and correlation to antigenic and bacteriophage types.* Infect. Immunity, 3: 10-15.
22. **Kronvall, G., Holmberg, O. and Ripa, T.** (1972). *Protein A in Staphylococcus aureus strain in human and bovine origin.* Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B., 80: 735-742.
23. **Klods, W.E. and Wolfshohl, J.F.** (1982). *Identification of Staphylococcus species with API Staph-I dent system.* J. Clin. Microbiol., 16: 509-516.
24. **Köhler-Samouilidis, G.** (1984). *Significance of deoxyribonuclease activity of animal staphylococci.* Deut. Tierarztl. Wschr., 91 (4): 157-158.
25. **Lachica, R.W.E., Hoepflich, P.D. and Gerigeorgis, C.** (1971). *Metachromatic agar diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity.* App. Microbiol., 21: 585-587.
26. **Lachica, R.W.E., Hoepflich, P.D. and Genigeorgis, C.** (1971). *Nuclease and lysostaphin susceptibility of Staphylococcus aureus and other catalase-positive cocci.* App. Microbiol., 21: 823-826.
27. **Lachica, R.V.F., Weiss, K.F. and Deibel, R.H.** (1969). *Relationship among coagulase, enterotoxin and heat-stable deoxyribonuclease production by Staphylococcus aureus.* App. Microbiol., 18: 126-127.

28. **Lannette, E.D., Balows, A., Hausler, W.J. and Shadomy, H.J.** (1985). *Manual of Clinical Microbiology*. 4th Ed. American Society for Microbiology, Washington, USA.
29. **Manzies, R.E.** (1977). *Comparison of coagulase, deoxyribonuclease (DNase) and heat-stable nuclease tests for the identification of Staphylococcus aureus*. J. Clin. Pathol., 30: 606-608.
30. **Morton, H.E. and Cohn, J.** (1972). *Coagulase and deoxyribonuclease activities of staphylococci isolated from clinical sources*. App. Microbiol., 23: 725.
31. **Myrick, B.A. and Ellner, P.N.** (1982). *Evaluation of the latex slide agglutination test for identification of Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 15: 275-277.
32. **Oxoid Limited.** (1986). *Antibiotic susceptibility test*. Technical information. Oxoid Limited, Basingstoke, England.
33. **Park, C.E., Serrano, A.D. and Landgraf, M.** (1980). *A survey of micro-organisms for thermonuclease production*. Can. J. Microbiol., 26: 532-535.
34. **Pennel, D.R., Rott-Petri, A.R. and Kurzynski, T.A.** (1984). *Evaluation of three commercial agglutination tests for the identification of Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 20 (4): 614-617.
35. **Poutrel, and Ducelliez, M.** (1979). *Evaluation of three rapid tests for identification of Staphylococcus aureus isolated from milk*. Ann. Rech. Vet., 10: 125-129.
36. **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 Staphylococcus aureus*. Med. Mal. Inf., 10 (1): 38-41.
37. **Rayman, M.K., Park, C.E., Philpott, J. and Todd, E.C.** (1975). *Reassessment of the coagulase and thermostable nuclease tests as a means of identifying Staphylococcus aureus*. App. Microbiol., 29: 451-454.
38. **Raymond, E.A. and Traub, N.H.** (1970). *Identification of staphylococci isolated from clinical material*. App. Microbiol., 19 (6): 919-922.
39. **Schanholtzek, C.J. and Peterson, L.R.** (1980). *Clinical laboratory evaluation of the thermonuclease test*. Amer. J. Clin. Pathol., 77: 587-591.
40. **Sperber, W.H.** (1976). *The identification of staphylococci in clinical and food microbiology laboratories*. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 7: 121-124.
41. **Sperber, W.H. and Tatini, S.R.** (1975). *Interpretation of the tube coagulase test for identification of Staphylococcus aureus*. App. Microbiol., 29: 502-505.
42. **Vitkov, M.** (1984). *Production of Protein-A by staphylococci of bovine origin*. Veterinarno-meditsinski Nauku, 21 (9): 52-56.
43. **Victor, R., Lachica, F.L., Weissand, W.F. and Dibel, K.H.** (1964). *Relationship among coagulase, enterotoxin and heat-stable deoxyribonuclease production by Staphylococcus aureus*. App. Microbiol., 18: 126-127.
44. **Weckman, B.G. and Catlin, B.W.** (1957). *Deoxyribonuclease activity of micrococci from clinical sources*. J. Bacteriol., 73: 742-753.
45. **Windbold, S. and Ericson, C.** (1973). *Sensitized sheep red cells as a reactant for Staphylococcus aureus protein A*. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, 81: 150-156.
46. **Zarzour, J.Y. and Belle, E.A.** (1978). *Evaluation of three tests procedures for identification of Staphylococcus aureus from clinical sources*. J. Clin. Microbiol., 7: 133-136.
47. **Zierdt, C.H. and Golde, D.W.** (1970). *Deoxyribonuclease-positive Staphylococcus epidermidis strains*. App. Microbiol., 20 (1): 54-57.