

İNSAN VE ÇEŞİTLİ HAYVAN KAYNAKLI STAFİLOKOK SUŞLARININ
PROTEİN-A OLUŞTURMALARI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Ömer Akay¹ İbrahim Ocak² Müjgan İzgür³ Mustafa Arda⁴
Nejat Aydın⁵ Nedim Sultan⁶ Nedret Aydın⁷

An investigation on the production of Protein-A by staphylococci of human and various animal origin

Summary: *The aim of this study is to investigate the protein A production capacities of staphylococci strains of different origin (human and animals). In this study, 189 Staph. aureus and 248 Staph. epidermidis from human; 97 Staph. aureus and 43 Staph.epidermidis from bovine; 53 Staph. aureus and 7 Staph.epidermidis from avian, and 25 Staph.epidermidis strains from ovine sources were tested by passive haemagglutination test using sensitized sheep red blood cells on slide.*

To identify the staphylococci, the routine tests were used for the followings: coagulase, clumping factor, DNase, O/F glucose and mannitol. Of 662 staphylococci strains tested, 339 were identified as Staph.aureus and the rest (323) was Staph.epidermidis. Protein A was produced by 162 out of 339 Staph.aureus, but no production was observed by Staph.epidermidis strains.

Among 189 human and 97 bovine isolates of Staph.aureus, 118 (62.4%) and 44(45.3%) were positive for the protein A respectively. But, none of the 25 avian strains showed positive reaction in the same test.

These results showed that protein-A test can be used as an accessory to others to identify the pathogenic staphylococci.

Özet: *Bu çalışmada, insan orijinli 189 Staph.aureus ve 248 Staph. epidermidis; sığırlara ait 97 Staph.aureus ve 43 Staph.epidermidis; kanat-*

- 1 Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- 2 Dr., Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Ankara.
- 3 Yrd. Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- 4 Prof. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- 5 Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- 6 Araş. Gör., G.Ü. Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- 7 Uzm. Vet. Hek., Etlik Vet. Kont. Araşt. Enstitüsü, Ankara.

lı kaynaklı 53 *Staph. aureus* ve 7 *Staph.epidermidis* ile koyunlardan izole edilen 25 *Staph.epidermidis* suşlarının sensibilize koyun alyuvarları kullanarak lâm üzerinde, hemaglutinasyon testi ile protein A oluşturmaları incelenmiştir.

İzole edilen stafilkokları identifikasyonda, standart testlerden, koagülaz, clumping faktör, DNase, O/F glikoz ve mannitol fermentasyon deneyleri yapılmıştır. Toplam 662 stafilkok suşundan 339 tanesi *Staph.aureus* ve 323 adedi de *Staph.epidermidis* olarak tanımlanmıştır.

İnsan ve çeşitli hayvan türlerinden izole edilen 339 *Staph.aureus* suşundan 162 sinin protein A oluşturduğu, buna karşın *Staph.epidermidis*'lerden hiç birinin protein A meydana getirmediği saptanmıştır.

İnsan orijinli 189 *Staph.aureus*'dan 118'inin (% 62.4) ve 97 sığırlara ait *Staph.aureus* suşundan 44 ünün (% 45.3) protein A sentezledikleri, ancak 53 kanatlı izolatinın ise bu yönden negatif olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmadan alınan sonuçlara göre indirek hemaglutinasyon testi kullanılarak protein A saptanmasının diğer testlere yardımcı olarak, patojenik stafilkokların identifikasyonunda değerli olacağı anlaşılmıştır.

Giriş

Stafilkok suşlarından patojenik olanları belirlemek için bir çok kriterler kullanılmaktadır. Bunlar arasında koagülaz, DNase, termonukleaz, glikoz-mannitol anaerob fermentasyon gibi testler bulunmaktadır.

Protein-A(Sp A), bazı *Staph.aureus* suşlarının protein karakterinde ve antijenik spesifiteye sahip olan bir komponentidir. Önceleceği, insan ve tavşan serum globulinleri ile Protein-A'nın vermiş olduğu reaksiyon, bir antijen-antikör birleşmesi olarak göz önüne alınmış, ancak, Forsgren ve Sjöquist (6)'ün araştırmalarıyla bunun pseudo-immun bir reaksiyon olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmacılara göre, Protein-A, bir immunglobulin-G(Ig G) molekülünün Fc- kısmı ile reaksiyon vermekte, Fab-kısmı ile bağlantı yapamamaktadır. Bu bulgular diğer araştırmacılar (4, 7, 12, 13, 17) tarafından da doğrulanmıştır.

Hücre yüzeyindeki Protein-A'nın ortaya konulması taksonomik bir önem taşır. Zira, bu antijen, *Staph-aureus* suşları için spesifik ve aynı zamanda epidemiyolojik olarak bir önemi de vardır. Çünkü, bu antijen temel olarak insan orijinli suşlarla ve hayvanlardan, özellikle, sığır kaynaklılarda çok daha fazla bulunmaktadır (14, 23).

Stafilokok suşlarında Protein-A'nın varlığı çeşitli araştırmacılar (4, 10, 15) tarafından değişik yöntemler kullanılarak demonstre edilmiştir. Bu amaçla, Kronvall ve Frommel (12), Kronvall ve Williams (13) bakteri kültürlerinin ekstralarının serum ile presipitasyonunu, Kronvall ve ark. (15) Ig G tipi radioaktif myeloma globulinlerinin stafilokoklara absorpsiyonunu ve Forsgren (4), *Staph.aureus* suşlarının buyyon kültürlerinin üst sıvılarını duyarlaştırılmış eritrositlerle aglutinasyon testinde kullanmışlardır. Protein-A, Stafilkokların hücre duvarında bulunduğu gibi, bu yapının aynı suşların ekstraselüler bir ürünü de olduğu ortaya konulmuştur (5, 21, 28). Protein-A'ya fazla miktarda sahip bulunan *Staph.aureus* suşlarının bu maddeyi az veya çok hiç içermeyen suşlara oranla fagositoya çok daha dirençlilik gösterdiği bildirilmektedir (1).

İnsan ve değişik hayvan orijinli stafilokok suşlarının Protein-A oluşturmaları üzerinde bazı çalışmalar (14, 15, 22, 23, 25, 27) yapılmıştır. Poutrel ve Lefort (23), insan 589 ve sığır orijinli 245 stafilokok suşunu indirek hemaglutinasyon(IHA) ile Protein-A yönünden incelediklerinde; koagulaz pozitif suşlardan insan orijinli 139'undan 133 ünün (% 95.5) ve sığır orijinli 200 suştan 112 sinin (% 56) Protein-A yönünden pozitif olduğunu, buna karşın koagulaz negatif suşlardan 450 insan ve 45 sığır orijinli suşun Protein-A testinde negatif sonuç verdiklerini bildirmişlerdir. Poutrel ve Ducelliez (22), araştırmalarında sığır orijinli 200 *Staph.aureus* suşundan 112 tanesinin (% 56) Protein-A pozitif, 88'nin (% 44) ise negatif bulunduğunu açıklamışlardır. Vitkov (25), koyun mastitis olgularından izole ettiği 110 *Staph.aureus* suşundan 100 adedinin Protein-A testi ile pozitif, 23 *Staph.epidermidis* suşunun ise aynı testte negatif bulunduğunu rapor etmiştir. Kronvall ve ark. (14), insan orijinli 215, akut mastitis'li 30 ve kronik mastitis'li ineklerden izole ettikleri 97 *Staph.aureus* suşunun Protein-A oluşturmalarını incelediklerinde; insan ve akut mastitis orijinli suşların yüksek oranda Protein-A oluşturdıklarını (215 insan materyalinden 196'sının (% 91.2); 30 akut mastitis'li inekten % 100 ve kronik mastitis'li vakalardan ayırdıkları 97 suştan 58'inin (% 59.8) ve 77 *Staph.epidermidis* suşundan sadece birininin (% 1.3) Protein-A sentezlediklerini açıklamışlardır. Kronvall ve ark. (15), denemelerinde kullandıkları insan orijinli 156 *Staph.aureus* suşundan 141'ini (% 90) Protein-A pozitif buldukları halde, 47 *Staph.epidermidis* suşundan hepsinin negatif olduklarını rapor etmişler ve inkubasyon ısısının ve inokulum miktarının Protein-A oluşumu üzerine etkili olmadığını da açıklamışlardır. Forsgren (4), insan ori-

jinli 800 patojenik ve apatojenik stafilokok suşlarını Protein-A yönünden muayene ettiklerinde; 700 koagulaz pozitif suştan 692'sinin (% 98.9) ve 100 koagulaz negatif suştan ise 2'sinin (% 2) ekstraselüler Protein-A oluşturduğunu bildirmiştir. Winblad ve Ericson (27), insanlardan izole ettikleri 341 izolattan 301'inin (% 88.3) lâm testinde pozitif, bu yöntem ile negatif bulunan suşların 11'inin (% 3.2) tüpte yapılan HA testinde pozitif bulunduğunu açıklamışlardır. Weiss ve ark. (26), çeşitli hayvan türlerinden ayırdıkları stafilokok suşlarının hücreye bağlı ve ekstraselüler Protein-A yapımı yönünden *ELISA* yöntemi ile incelediklerinde; 29 sušta hücreye bağlı ve 88 sušta ise ekstraselüler Protein-A saptadıklarını, Lind (16), insan orijinli 455 *Staph.aureus*'u FAT yöntemi ile Protein-A yönünden incelediklerinde; 124 suşun pozitif ve 153'ünün ise negatif sonuç verdiğini, Müller ve ark. (20), sığırlardan izole ettikleri 345 *Staph.aureus* suşundan % 99'unda (341) Protein-A saptadıklarını açıklamışlardır. Holmberg (9), inek sütlerinden izole ettiği 46 *Staph.aureus* suşundan 20'sinin (% 43.5), 218 *Staph. epidermidis* suşundan sadece bir tanesinin (% 0.5) Protein-A oluşturduğunu, Müller ve ark. (19), insan ve çeşitli hayvan orijinli 36 *Staph.aureus* suşundan hepsinin Protein-A testinde pozitif bulunduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı, insan ve değişik hayvan orijinli stafilokok suşlarının Protein-A oluşturmalarını incelemek ve bu sonuçların diğer kriterlerle karşılaştırmasını yapmaktır.

Materyal ve Metot

Suşlar: Bu çalışmada aşağıda bildirilen stafilokok suşlarından yararlanılmıştır. Bunlar da:

a- *Test suşları*: Denemede, 437 insan ve 225 hayvan orijinli toplam 662 stafilokok suşundan yararlanılmıştır. İnsanlardan izole edilen 437 stafilokok suşundan 248'i *Staph.epidermidis* ve 189'u *Staph.aureus*; hayvanlardan ayrılan 225 suştan 75 i *Staph.epidermidis* ve 150'si ise *Staph.aureus* olarak tanımlanmıştır.

Denemede kullanılan suşların sağlandığı kaynaklar ve orijinleri Tablo-1 de gösterilmiştir.

b- *Standart suşlar*: Denemede, A.Ü. Veteriner Fakültesi Bakterioloji Bilim Dalı kültür koleksiyonundan sağlanan ve Protein-A sentezleyen *Staph.aureus* (Cowan suşu) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Ayrıca, çalışmada negatif kontrol olarak kullanılan *Staph.epidermidis* suşu da aynı kaynaktan temin edilmiştir.

Tablo 1. Denemede kullanılan suşların sağlandığı yerler ve orijinleri

Sağlandığı yer	Orijin	Suş sayısı	Stafilokok türü	
			Staph. epidermidis	Staph. aureus
Etlik Vet. Kont. Araşt. Enst.	İnek	109	42	67
A.Ü. Vet. Fak. Doğum ve Rep. Hastalıkları Bilim Dalı	İnek	16	1	15
Polatlı Devlet Üretim Çiftliği	İnek	15	-	15
A.Ü. Vet. Fak. Bakteriyoloji Bilim Dalı	Koyun	25	25	—
A.Ü. Vet. Fak. Bakteriyoloji Bilim Dalı	Tavuk	21	6	15
İ.Ü. Vet. Fak. Bakteriyoloji Bilim Dalı	Tavuk	39	1	38
SSK Ankara Hastanesi Çocuk Kli.	İnsan	47	29	18
Gülhane Askeri Tıp Akademisi Bakteriyoloji Bilim Dalı	İnsan	167	106	61
G.Ü. Tıp Fak. Bakteriyoloji Bilim Dalı	İnsan	223	113	110
T o p l a m		662	323	339

Besi yerleri: Denemede kullanılan suşların identifikasyonunda ve karakterlerinin saptanmasında (koagulaz, clumping faktör, DNase, O/F-glukoz, mannitol, morfolojik ve kültürel özellikleri, Protein-A oluşturmaları) kanlı agar, O/F stafilokok besi yeri, DNase agar (Oxoid), Müller-Hinton agar (Difco), nutrient buyyon ve nutrient agar (Difco), TSB, TSA (Oxoid) ve BHI (Difco) besi yerlerinden yararlanılmıştır.

Tavşan plazması: Çalışmada kullanılan insan ve hayvan orijinli stafilokok suşlarının koagulaz ve clumping faktör aktivitelerinin saptanması amacıyla ticari liyofilize tavşan plazması (Sigma) kullanılmıştır.

Sensibilize koyun eritrositlerinin hazırlanması: Sensibilize koyun eritrositleri Poutrel ve Lefort'un (23) bildirdikleri yöntemle göre hazırlanmıştır. Koyun kanı alsever solusyonuna alınarak, %0.85 FTS ile 3 kez yıkanmış, 0.4 ml kan sedimentine 9 ml fizyolojik tuzlu su ve 1/100 sulandırılmış hemolitik serum'dan (titre 1/5000-Behring-Germany) 6 ml ilâve edildikten sonra karışım, 40°C de 90 dak. hafifçe çalkalanarak inkube edilmiştir. Bu süre sonunda karışıma damla damla 1 ml % 0.0075 gluteral aldehit'ten konmuş ve solusyon

10 saat süre ile 40°C lik su banyosunda inkube edilmiştir. Bu işlemleri takiben karışım 3 kez FTS ile yıkanmış ve kan sedimenti, içinde % 1 oranında sığır albumini (Merck) içeren 14.5 ml PBS ile süspansiyon edilerek böylece % 3 lük duyarlaştırılmış kan solusyonu elde edilmiştir.

İdentifikasyon çalışmaları: Çeşitli kaynaklardan sağlanan 662 stafilocok suşunun identifikasyonları bilinen klasik yöntemlere göre yapılmıştır (11, 18, 24, 29).

Koagülaz testi: Bu test, Terzolo ve Shimizu'nun (24) bildirdiği metoda göre yapılmıştır. Teste tabi tutulacak suşların % 0.2 glikoz içeren BHI (Difco) buyyonunda 37°C deki 18 saatlik kültürlerinden 0.25 ml alınarak 0.5 ml tavşan plazmasına ilâve edilmiş ve tüpler 37°C de tutularak, sonuçlar koagülasyonun olup olmamasına göre 2, 4, 6 ve 24'üncü saatlerde değerlendirilmiştir.

Clumping faktör: Bu amaçla Koneman ve ark.'nın (11) bildirdiği yöntem uygulanmıştır. Temiz bir lâm üzerine, sulandırılmamış bir damla steril tavşan plazması ile, teste tabi tutulacak suşların nutrient agardaki kültürlerinden öze ile alınan kolonilerden konmuş ve kümeleşmenin oluşumu pozitif olarak kabul edilmiştir.

DNase testi: Bu test, Ziedt ve Golde'nin (29) bildirdiği metoda göre DNase (Oxoid) besi yerinde yapılmıştır. Denenecek suşların TBS'deki kültürlerinden besi yerine nokta inokulasyonu yapılmış ve petriler 37°C de 24 saat inkube edildikten sonra üremeler üzerine 1 N HCl ilave edilerek, üremeler etrafındaki açılmalar pozitif kabul edilmiştir.

O/F-glikoz ve manitol fermentasyonu: Teste tabi tutulacak stafilocok suşlarının glikoz yönünden O/F ve anaerob manitol fermentasyon testleri MacFaddin'in (18) bildirdiği yöntemle göre Staph-O/F besi yerinde yapılmış ve sonuçlar 14 günlük bir inkubasyon süresi sonunda indikatörün renk değişikliğine göre değerlendirilmiştir.

Protein-A testi: Çalışmada kullanılan insan ve hayvan orijinli 662 stafilocok suşunun Protein-A oluşturmaları Poutrel ve Lefort'un (23) bildirdikleri yöntemle göre yapılmıştır. Teste tabi tutulacak stafilocok suşlarının Müller-Hinton besi yerindeki 18-24 saatlik kültürlerinden yararlanılmıştır. Temiz bir lâm üzerine 20 µl duyarlaştırılmış kan solusyonundan konmuş ve Müller-Hinton besi yerindeki üremelerden öze ile alınan koloniler bu kan solusyonu ile karış-

tırılarak HA'nun oluşumu 30 saniye ile 2 dakika içinde değerlendirilmiştir. Aynı işlemler kontrol olarak Protein-A pozitif bilinen Cowan ve negatif *Staph. epidermidis* suşları ile de uygulanmıştır.

Ayrıca, suşların kendiliğinden sensibilize olmamış eritrositlerle HA verip vermediği ise yukarıda bildirilen yöntemle göre % 3'lük yıkanmış koyun eritrositleri ile de denenmiştir.

Bulgular

İdentifikasyon sonuçları: Çeşitli kaynaklardan izole edilen stafilocok suşlarının bilinen yöntemlere göre identifikasyonları yapılarak, toplam 662 stafilocok suşundan 323 tanesi *Staph.epidermidis*, 339'u ise *Staph.aureus* olarak identifiye edilmiştir. *Staph. epidermidis* suşlarının 248 tanesi insandan, 75 adedi değişik tür hayvanlardan, *Staph.aureus* suşlarından 189'u insandan ve 150 tanesi de hayvanlardan izole ve identifiye edilmiştir (Tablo-2).

Tablo 2. İzole ve identifiye edilen stafilocok suşlarının orijinleri

Orijin	İzole edilen stafilocok suş sayısı	İdentifiye edilen stafilocok türü	
		Staph. epidermidis	Staph. aureus
İnsan	437	248	189
İnek	140	43	97
Kanatlı	60	7	53
Koyun	25	25	—
Toplam	662	323	339

Koagülaz testi sonuçları: İnsan orijinli 248, sığır orijinli 43, kanatlı orijinli 7 ve koyun orijinli 25 *Staph.epidermis* suşu koagülaz negatif bulunmuş, insandan izole edilen 189 *Staph.aureus* suşundan 186'sı (% 98.4), inek orijinli 97 suştan 96'sı (% 98.9) ve avian orijinli 53 suşun 53'ünün (% 100) pozitif olduğu saptanmıştır.

Clumping faktör sonuçları: *Staph.epidermidis* suşlarından, insandan izole edilen 248 suşun 8'i (% 3.2), ineekten 43 suşun 2'si (% 4.6) pozitif sonuç verirken, kanatlı 7 ve koyun orijinli 25 suşun negatif bulunduğu belirlenmiştir. Buna karşın, 189 insan, 97 inek ve 53 kanat-

lı orijinli *Staph.aureus* suşunun sırası ile 176 (% 93.1), 91 (% 93.8), 52 (% 98.1)'sinin bu testte pozitif bulunduğu saptanmıştır.

D.Nase testi sonuçları: İnsan orijinli 248 *Staph.epidermidis* suşundan 7 (% 2.4), 140 inek orijinli'den 4 (% 9.3), koyun orijinli 25 suşun ise 15'i (% 60) testte pozitif sonuç verirken, kanatlı orijinli 7 suşun negatif olduğu ve ayrıca, insanlardan izole edilen 189 *Staph.aureus* suşundan 178'i (% 94.1) ve inek orijinli 97 suştan 94'ü (% 96.9) ve kanatlı orijinli 53 suştan 52'si (% 98.1) pozitif bulunmuştur.

O/F-glikoz, mannitol anaerob fermentasyon sonuçları: Testte kullanılan insan ve değişik hayvan orijinli *Staph. epidermidis* ve *Staph.aureus* suşlarının büyük bir çoğunluğunun glikozu aerob (% 98.7) ve anaerob (% 99.2) olarak fermente etmelerine rağmen, *Staph. epidermidis* suşlarının mannitolü anaerob fermente etme oranları ise düşük bulunmuştur (% 38.3). Ayrıca, denemede, kullanılan *Staph.aureus* suşları ise mannitol'ü anaerob olarak büyük bir oranda fermente etmişlerdir (% 96.4).

Protein-A testi sonuçları: İnsan ve hayvanlardan izole edilen toplam 662 stafilokok izolatlarından 162'sinin (% 27.4), sadece insan orijinli suşlardan 118'inin (% 27) ve hayvan orijinli suşlardan ise 44'ünün (% 19.5) Protein-A oluşturdıkları saptanmıştır (Tablo- 3). Bu çalışmada kullanılan 437 insan ve 225 hayvan orijinli stafilokok suşundan, insan orijinli 189 *Staph.aureus* suşundan 118 (% 62.4) ve hayvan orijinli 150 suştan 44 (% 29.3)'nün Protein-A pozitif oldukları belirlenmiş (Tablo-3) ve hayvan orijinli *Staph.epidermidis* suşlarının ise negatif oldukları saptanmıştır (Tablo-3).

Hayvan orijinli suşlar izole edildikleri hayvan türüne göre incelendiklerinde; ineklerden izole edilen 43, kanatlı 7 ve koyun orijinli 25 *Staph. epidermidis* suşunun Protein-A oluşturmadıkları saptanmıştır (Tablo-4). İneklerden izole edilen 97 *Staph. aureus* suşundan 44 tanesinin (% 45.3) Protein-A pozitif, buna karşın kanatlı orijinli 53 *Staph.aureus* suşundan hiçbirisinin Protein-A pozitif sonuç vermediği ortaya konulmuştur (Tablo-4).

Tartışma ve Sonuç

Protein-A(Sp A), patojenik stafilokoklar tarafından sentezlenen, hücre duvarına bağlı ve değişik serolojik yöntemlerle demonstr edilebilen bir yapıdır (4, 5, 21, 23, 26, 28). İnsan ve hayvan orijinli

Tablo 3. Denemede kullanılan stafilokok suşlarının Protein-A oluşturmaları

Orijin	Stafilokok suş sayısı	Stafilokok türü		Protein-A* pozitif Stafilokok suş sayısı ve (%) pozitif	Protein-A* pozitif Staph. epidermidis suş sayısı ve toplam Staph. epidermidis suş sayısı	Protein-A* pozitif Staph. aureus suş sayısı ve toplam Staph. aureus suş sayısı	Protein-A pozitif Staph. epidermidis (%) oranı	Protein-A pozitif Staph. aureus ve (%) oranı
		Staph. epidermidis	Staph. aureus					
İnsan+ Hayvan	662	323	339	162(24.7)	0/ 323	162/ 339	0	47.7
İnsan	437	248	189	118(27)	0/248	118/ 189	0	62.4
Hayvan	225	75	150	44(19.5)	0/ 75	44/ 150	0	29.3

*A: Denemede kullanılan suş sayısı.

Tablo 4. Hayvan orijinli stafilokok suşlarının Protein-A oluşturmaları

Hayvan orijini	Toplam Stafilokok sayısı	Staph. türü		Protein-A pozitif Stafilokok suş sayısı ve (%) pozitiflik	Protein-A negatif Stafilokok suş sayısı ve (%) Negatiflik	Protein-A pozitif Staph. aureus suş sayısı ve toplam Staph. aureus suş sayısı	Protein-A pozitif Staph. aureus (%) oranı
		Staph. epidermidis	Staph. aureus				
İnek	140	43	97	44 (31.4)	96 (68.5)	44/ 97	45.3
Kanatlı	60	7	53	0	60 (100)	0/ 53	0
Koyun	25	25	—	0	25 (100)	—	—

stafilokok suşları ile yapılan çalışmalarda; Protein-A'nın büyük bir oranda *Staph.aureus* suşları tarafından sentezlendiği ortaya konulmuştur (3, 14, 15, 20, 23, 25). Flandrois ve ark. (2) ile Kronvall ve ark. (15), tarafından yapılan çalışmalarda insan ve hayvan orijinli koagulaz-negatif suşların Protein-A oluşturmadıkları, aynı şekilde, Poutrel ve Lefort (23) denemelerinde kullandıkları 450 insan ve 45 sığır orijinli koagulaz negatif suşun da Protein-A sentezlemedikleri bildirilmiştir. Buna karşın, Kronvall ve ark. (14), inek orijinli 77 suştan birinin (% 1.3), Forsgren (4), insan orijinli 100 koagulaz negatif suştan 2'sinin (% 2), Holmberg (9), inek sütlerinden ayırdığı 218 *Staph.epidermidis* suşundan 1'ini (% 0.5) Protein-A yönünden pozitif bulduklarını açıklamışlardır. Çalışmada kullanılan 662 stafilokok suşundan, 248'i insan, 43'ü sığır, 7'si kanatlı ve 25'i koyun orijinli olmak üzere, toplam 323 *Staph.epidermidis* identifiye edilmiştir. Alınan sonuçlara göre 323 *Staph.epidermidis* suşundan hiçbirinin Protein-A yönünden pozitif sonuç vermediği ortaya konulmuş ve elde edilen bulgular araştırmacıların sonuçlarına uygunluk göstermiştir.

İnsan orijinli *Staph.aureus* suşlarının % 90'ının bu komponenti (Protein-A) sentezledikleri bildirilmiştir (3, 4, 14, 15, 20, 23). Bu çalışmada 437 insan kaynaklı stafilokok suşundan 189 tanesi *Staph.aureus* olarak, identifiye edilmiş ve bu suşların 118'i (% 62.4) Protein-A pozitif bulunmuştur.

Hayvan orijinli, özellikle, sığırlardan izole edilen stafilokoklar üzerinde Protein-A yönünden incelemeler de yapılmıştır. Kronvall ve ark. (14), Holmberg (9) ve Hajekve Marsalek (8) sırası ile ineklerden ayırdıkları *Staph.aureus* suşlarını Protein-A yönünden % 54, % 43 ve % 40 oranında pozitif bulduklarını, Poutrel ve Lefort (23) sığır orijinli 200 koagulaz pozitif suştan 112'sini (% 56) pozitif olarak saptadıklarını açıklamışlardır. Bu denemede, ineklerden izole edilen 97 ve kanatlı orijinli 53 olmak üzere toplam 150 hayvan orijinli *Staph.aureus* suşundan yararlanılmış ve bu suşların pozitiflik oranı ise % 29.3 olarak belirlenmiştir. Ancak, bu suşlardan 97 adedi sığır orijinli olup, Protein-A pozitif olan suş sayısı 44 (45.3), kanatlılardan ayrılan suş sayısı ise 53 olup, Protein-A testinde pozitif bulunan suş yoktur. Elde edilen bu bulgular, diğer araştırmacıların sonuçları ile karşılaştırıldığında bir paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak, denemede kullanılan *Staph.epidermidis* suşlarının Protein-A oluşturmadıkları, buna karşın insan ve hayvan orijinli

Staph.aureus suşlarının ise belirli oranlarda Protein-A meydana getirdikleri saptanarak, ister insan ve ister hayvan orijinli olsun suşlarda Protein-A'nın demonstre edilmesi bu suşların patojenik stafilokok suşları olabileceği, ancak sadece Protein-A testi ile yetinilmeyerek koagulaz, clumping faktör, DNase vs. testleriyle sonuçların birleştirilerek karar verilmesinin doğru olacağı ve Protein-A testinin *Staph.aureus* suşlarının ayırımında önemli ve geçerli bir test olduğu kanısına varılmıştır. Ayrıca, bundan sonra yapılacak çalışmada aynı yöntem uygulanarak besi yerinin, inkubasyon ısısı ve süresinin Protein-A yapımı üzerine etkinliği araştırılacaktır.

Kaynaklar

1. **Dosset, J.H., Kronvall, G., Williams, R.C. and Quie, P.G.** (1969). *Antiphagocytic effects of staphylococcal protein A*. J. Immunol., 103: 1405-1410.
2. **Flandrois, J.P., Fleurette, J. et Eyraud, F.** (1976). *Detection de la proteine A de Staphylococcus aureus par hemagglutination conditionnée*. Ann. Biol. Clin., 33: 365-368.
3. **Flandrois, J.P., Fleurette, J. et Thome, M.F.** (1978). *Facteurs influencant la production de proteine A par des souches humaines de Staphylococcus aureus*. Ann. Microbiol., 129 B: 57-62
4. **Forsgren, A.** (1970). *Significance of protein A production by staphylococci*. Infect. Immunity, 2: 672-673.
5. **Forsgren, A. and Forsum, U.** (1970). *Role of protein A in nonspecific immunofluorescence of Staphylococcus aureus*. Infect. Immunity, 2: 387-391.
6. **Forsgren, A. and Sjöquist, J.** (1966). *"Protein-A" from Staphylococcus aureus. I. Pseudo-immun reaction with human γ -globulin*. J. Immunol., 97: 822-827.
7. **Forsgren, A., Nordström, K., Philipson, L. and Sjöquist, J.** (1971). *Protein A mutants of Staphylococcus aureus*. J. Bacteriol., 107: 245-250.
8. **Hajek, V. and Marsalek, E.** (1976). *Evaluation of classificatory criteria for Staphylococci*. Zbl. Bakteriolog. Parasit. Abt. I. Orig., 209:154-160.
9. **Holmberg, O.** (1973). *Staphylococcus epidermidis isolated from bovine milk*. Acta Vet. Scand. Supp., 45:1-144.
10. **Jensen, K.** (1968). *A normally occurring staphylococcus antibody in human serum*. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 44: 421-448.
11. **Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R. and Simmer, H.M.** (1979). *"Diagnostic Microbiology"*. J.B. Lippincott Company. Philadelphia. Toronto.
12. **Kronvall, G. and Frommel, D.** (1970). *Definition of staphylococcal protein A reactivity for human immunoglobulin G fragments*. Immunochemistry, 7:124-127.
13. **Kronvall, G. and Williams, R.C.** (1969). *Differences in anti-protein A activity among IgG sub-groups*. J. Immunol., 103:828-833.

14. **Kronvall, G., Dossett, J.H., Quie, P.G. and Williams, R.C.** (1971). *Occurrence of Protein A in staphylococcal strains: Quantitative aspects and correlation to antigenic and bacteriophage types.* Infect. Immunity, 3:10-15.
 15. **Kronvall, G., Holmberg, O. and Ripa, T.** (1972). *Protein A in Staphylococcus aureus strains of human and bovine origin.* Acta. Pathol, Microbiol, Scand. Sec. B, 80:735-742.
 16. **Lind, I.** (1972). *Correlation between the occurrence of protein A and some other properties in Staphylococcus aureus.* Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, 80:702-708.
 17. **Lind, F., Live, I. and Mansa, B.** (1970). *Variation in staphylococcal protein A reactivity with γ G-globulins of different species.* Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B, 78:673-682.
 18. **Mac Faddin, J.F.** (1980). "Biological tests for identification of medical bacteria." 2 th. Ed. Williams and Wilkins. Baltimore/ London.
 19. **Müller, E.E., Brückler, J., Schaca, W., Blobel, H.** (1973). *Production of Protein - A by cultures of S. aureus isolated from cattle and its purification.* Pesquisa Agropecuaria Brasileira Veterinaria, 8(6):115-119.
 20. **Müller, H.P., Litke, O.M. und Blobel, H.** (1983). *Protein-A Aktivität von Staphylokokken und verschiedener tierartlicher Herkunft mit Immunglobulin G von Haus- und Versuchstieren, sowie vom Menschen.* Zbl. Vet. Med., 30:305-312.
 21. **Nickerson, D.S., White, J.G., Kronvall, G., Williams, R.C. and Quie, P.G.** (1970). *Indirect visualization of Staphylococcus aureus protein - A.* J. Exp. Med., 131:1039-1047.
 22. **Poutrel, B. and Ducelliez, M.** (1979). *Evaluation of three rapid tests for identification of Staphylococcus aureus isolated in bovine milk.* Ann. Rech. Vet., 10(1):125-129.
 23. **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.
 24. **Terzolo, H.R. and Shimizu, A.** (1979). *Biological characters and bacteriophage typing of Staphylococcus aureus isolated from chickens staphylococcosis and commercial balanced chicken food in Argentine.* Revista Argentina de Microbiologia, 11(3):89-101.
 25. **Vitkov, M.** (1984). *Production of protein A by Staphylococci of ovine origin.* Veterinaromeditsinski Nauku, 21(9):52-56.
 26. **Weiss, R., Schmeer, N., Amend, A., Schaeg, W. und Bekheat, I.** (1984). *Zum Nachweis der Protein - A - Bildung von Staphylokokken mittels der ELISA - Technik.* Zbl. Vet. Med., 31:424-434.
 27. **Winblad, 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.
 28. **Yoshida, A., Mudd, S. and Lenhart, N.A.** (1963). *The common protein agglutigen of Staphylococcus aureus. II. Purification, chemical characterization, and serologic comparison with Jensen's antigen.* J. Immunol., 91:777-782.
 29. **Zierdt, C.H. and Golde, D.W.** (1970). *Deoxyribonuclease-positive Staphylococcus epidermidis strains.* App. Microbiol., 20(1):54-57.
- 13.9.1985 günü gelmiştir.