

T.C.
A. Ü. TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANTALYA'DA İZOLE EDİLEN
PSEUDOMONAS AERUGINOSA
SUŞLARININ BİYOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI
VE SEROTİPLENDİRİMİ

Dr. Aydın ÖZPOLAT

UZMANLIK TEZİ
Antalya, 1984

T335/1-1

T E Ő E K K Ü R

İhtisas yaşamım boyunca her konuda beni destekleyen, tez konumu seçen ve tez çalışmalarımda bana yol gösteren değerli Hocam Sayın Doç.Dr.Gönül Mutlu'ya en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Ayrıca desteklerini gördüğüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>SAYFA NO</u>
GİRİŞ.....	1 - 3
MATERYEL VE METOT.....	4 - 12
BULGULAR.....	13 - 22
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	23 - 35
ÖZET.....	36
KAYNAKLAR.....	37 - 46

G İ R İ Ő

Pseudomonas aeruginosa Gram (-), hareketli, oksidatif, spor teşkil etmeyen, çomak şeklinde bir bakteri olup ilk defa 1872 yılında Schroeter tarafından isimlendirilmiştir (8, 50, 6).

Tabiatıta çok yaygın olan, genellikle saprofit olarak insan ve hayvanların barsak boşluğunda, dışkıında, organik artıkların karıştığı sularda ve toprakta bulunan *Pseudomonas aeruginosa* normal koşullarda düşük patojenite göstermesine karşın bazı metabolik, hematolojik ve malign hastalıklarda, immünosupresif tedavi görenlerde, antimetabolit ve antibiyotik alanlarda şua tedavisi görenlerde sıklıkla enfeksiyona yol açan fırsatçı patojen bir niteliğe sahiptir (41, 55, 52).

Antibiyotiklerin enfeksiyon hastalıklarında tedavi ve profilaksi amacıyla günden güne artan oranda kullanılmasıyla, bir çok bakterinin insan patojeni olarak önemlerinde büyük değişmeler olmuştur. Bu uygulama sonucu, *Pseudomonas aeruginosa* sık rastlanılan enfeksiyon etkenlerinden biri haline gelmiş ve her sene muayene maddelerinden artarak izole edilmektedir (41). Önce derinin nemli kısımlarında ve yaralar üzerinde kolonizasyon ve enfeksiyon yapan *Pseudomonas aeruginosa* daha sonra septisemi ve organlarda septik metastatik odaklara yol açabilir (55).

Pseudomonas aeruginosa pyocyanin pigmenti teşkil ettiğinde tanınması oldukça kolaydır. Apyocyanogenic *Pseudomonas aeruginosa*ların tanınması biyokimyasal özelliklerinin araştırılması ile mümkündür (15, 41, 8, 6, 44, 50, 53).

Hastane enfeksiyonlarının etyolojik ajanı olarak birçok araştırmada birinci sırayı alan *Pseudomonas aeruginosa* bazı araştırmalarda ise *staphylococcus aureus*tan sonra ikinci sırayı olmaktadır (11, 10, 51).

Antibiyotikler karşısında dirençliliği günden güne artmakta olan *Pseudomonas aeruginosa*nın hastane enfeksiyonu ajanı olarak oynadığı önemli rol nedeni ile bu bakteri ile meydana gelen enfeksiyonların kaynağına gitmeyi ve yayılımını izlemek için serolojik tiplendirme, bakteriofajik tiplendirme ve pyocin tiplendirmesi yapmayı gerekli kılmaktadır. Bazı araştırmalarda bu tiplendirmelerin sadece biri, bazılarında ise ikisi veya üçü birarada yapılmaktadır (10, 11, 41, 62).

Tiplendirme yöntemleri arasında serotiplendirim, antibiyotiklerle tedavisi mümkün olmayan bazı *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaya başlanan immünoterapinin temelini oluşturduğu ve immünoterapi için kullanılacak polivalan ve monovalan antiserumları belirlediği ve bu konuda bir yöre ve hatta bir ülke için önemli ip uçları verdiğinden özellikle önem taşımaktadır (21, 34).

Serotiplendirme karışık gereçler gerektirmediğinden ve uygulama kolaylığı nedeniyle en uygun tiplendirme yöntemi olarak kabul edilmiştir. Çeşitli ülkelerde bir çok araştırmacı bu konu üzerinde çalışarak değişik *Pseudomonas aeruginosa* serotiplendirme şemaları geliştirmişlerdir (16, 56, 57, 32, 28).

*Pseudomonas aeruginosa*ların serotiplendirilmeleri O antijenine göre yapılmış olup bir çok araştırmacı O antijeninin ortaklığına ve ayrılığına göre şemaları birleştirmeye, ortak bir şema yapmaya çalışmıştır (31, 32).

Takdim edilen çalışma Antalya ve yöresinde izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının biyokimyasal özelliklerini ve hakim olan serotipleri bulabilmek amacıyla yapılmıştır.

G E R E Ç V E Y Ö N T E M

Sunulan çalışmada biyokimyasal özellikleri araştırılan ve serotipi tayin edilen 104 *Pseudomonas aeruginosa* suşu Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim Hastanesi Klinik ve Polikliniklerinden Mikrobiyoloji Laboratuvarına 1982 yılında gönderilen 4638 değişik materyelden izole edildi.

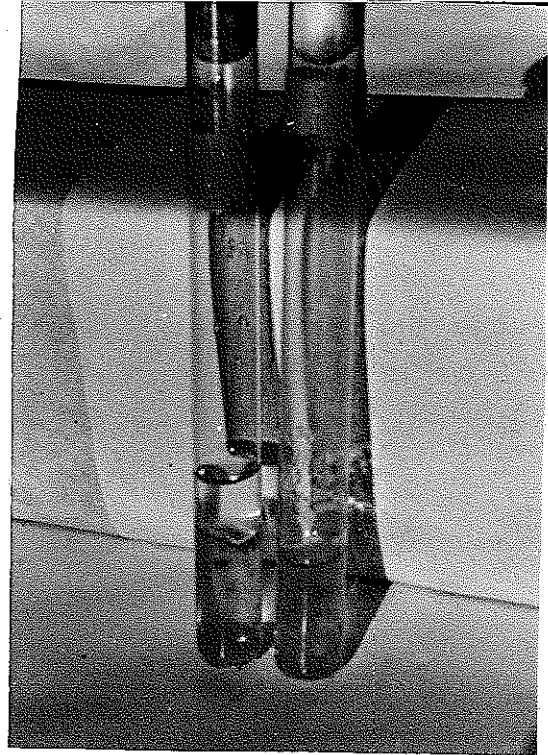
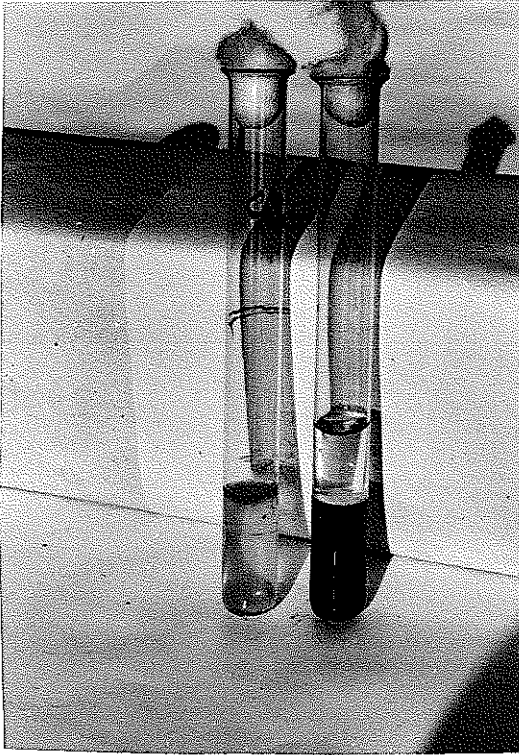
1. *Pseudomonas aeruginosa*nın identifikasyonunda kullanılan biyokimyasal testler:

*Pseudomonas aeruginosa*yı diğer pseudomonaslardan ve bazı yönleri *Pseudomonas aeruginosa*ya benzeyen diğer oksidatif bakterilerden ayırt etmek için izole edilen bakterinin çeşitli özellikleri araştırıldı. Materyel Mac Conkey, Kanlı Jeloz ve Adi Jeloz besiyerlerine ekildi. Bu besiyerlerindeki koloni özellikleri incelendi. Mukoid koloniler Enterobakter ve Klebsiella kolonilerinden pozitif oksidaz testi ile ayrıldı (19).

A- Oksidasyon-Fermentasyon: İzole edilen bakterinin oksidatif veya fermentatif solunum yapan bir bakteri olduğunu test için Hugh-Leifson'un glukozlu oksidasyon fermentasyon besiyeri kullanıldı (5, 50).

Jeloz kültüründen tek koloni seçilerek her bir suş için

iki besiyerine ekim yapıldı. Ekim yapılan besiyerlerinin bir tanesi açık olarak diğerinin üzerine steril sıvı parafin koyarak etüve konuldu. 37°C de 24 saat ve 48 saat dolunca kontrol edilerek bakterinin nasıl solunum yaptığına karar verildi (Resim 1).



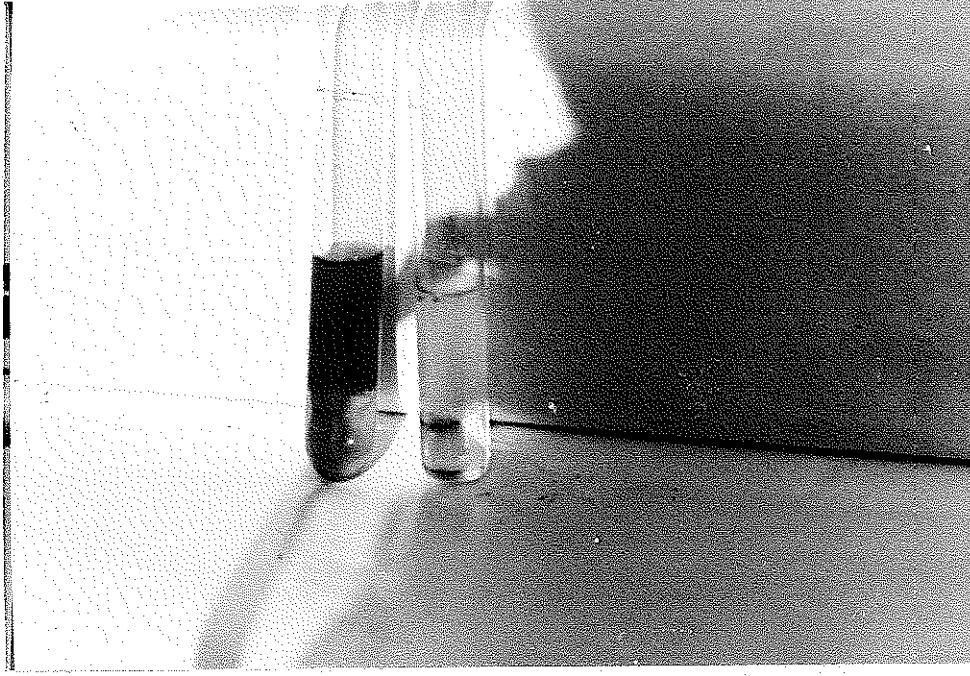
Resim: 1- a) Oksidatif bakterinin açık tüpte asit meydana getirip besiyerini sarartışı, parafinli tüpte ise asit meydana getirmeyişi görülmektedir.

b) Fermentatif bakterinin parafinli ve parafinsız tüpte asit meydana getirişi görülmektedir.

B- Karbonhidratlara Etki: Suşların sakkaroz, laktoz, galaktoz, adonitol, mannitol, früktoz ve maltoza etkisi incelendi. Karbonhidratlara etkinin incelenmesinde kullanılan şekerler OF bazal besiyerine % 1 oranında ilave edilerek hazırlandı. Ekim yapıldıktan sonra oksidatif koşullarda 48 saatlik inkübasyondan sonra kültürlerde asit oluşumu kontrol edildi (15, 50).

C- Pigment Yapımı: Pyocyanin pigmentini araştırmak için King A Besiyeri sıvı halde kullanıldı (54, 42). 48 saatlik inkübasyondan sonra kültür üzerine 1 ml kloroform ilave edilerek kloroformda eriyip dipte kloroform fazına geçen pyocyanin pigmenti araştırıldı (Resim 2). Kloroform ilave ettikten sonra mavi renk vermeyen kültürlerde dipteki kloroform fazı pipetle alındı. Üzerine 1 mililitre saf su ve bir damla N/1 H_2SO_4 damlatılarak kırmızı renk oluşup oluşmadığı kontrol edilerek pyocyanin tekrar araştırıldı (6).

Piyoverdin pigmentini araştırmak için KingB besiyeri sıvı halde kullanıldı (42). 48 saatlik inkübasyondan sonra 254 nm lik dalga boyundaki ultraviyole lambası ile floresans arandı. Parlak yeşil rengin görülmesi pyoverdinin varlığını göstermiştir (44, 6, 54)



Resim: 2- Soldaki tüpte kloroform fazına geçen pyocyanin pigmentinin dipte mavi renk oluşturmaması, sağdaki tüpte apyocyanogenik suşun mavi renk oluşturmaması görülmektedir.

D- Nitrat Redüksiyon: Suşların nitratı nitritlere redükte edip etmediğine ve nitratları parçalayarak Azot gazı teşkil edip etmediğine bakmak için durham tüplü nitrat redüksiyon test besiyeri kullanıldı. İnkübasyondan 48 saat sonra Nitrit A ve B ayıraçları ilave edilerek nitrit oluşumu, Durham tüpünün içinde hava kabarcıklarına bakılarak azot gazı araştırıldı. Pembe ren-

gin oluşumu nitrit varlığını gösterir. Besiyerinin çalışması çinko tozları ile kontrol edildi (14, 50, 7).

E- Sitrat Besiyerinde Üreme: Simon'un sitrat besiyeri kullanıldı. Bakteri sitratı karbon kaynağı olarak kullanıp ürettiğinde besiyerinin koyu yeşil rengi koyu maviye dönüştü (5, 50, 51).

F- Proteolitik Etki: Jelatin besiyerinde 1 aylık inkübasyon süresince 2 günde bir kontrol edilerek bakterinin proteolitik etkisi incelendi (5, 27).

G- Oksidaz Testi: Sitokrom oksidaz testi için Kovacs metodu uygulandı. Adi jelozda 24 saat 37°C de inkübe edilmiş kültürden alınan test kolonisi Whatman No:1 filtre kağıdına sürüldü. Bunun üzerine 2-3 damla % 1 lik tetrametil P-phenylene diamine dihidrochlorit damlatıldı. 5-10 dakika içinde koyu pembe bir rengin görülmesi pozitif kabul edildi (50, 25).

2) İndophenol oksidaz testi Adi jelozda 24 saat 37°C de inkübe edilmiş kolonilerin üzerine, alfa naftolün etil alkoldeki % 1 lik çözeltisi ile % 1 lik Para amino dimetil aniline eşit miktarda karıştırılarak elde edilen solüsyondan 2-3 damla damlatıldı. 2 dakikada kolonilerin mavi renk alması pozitif olarak değerlendirildi (Resim 3).

4°C de üremeyi araştırmak için jeloz besiyerine ekilen suşlar buzdolabının alt raflarında 4°C de 48 saat inkübe edildi (11, 50).

II- Serotiplendirme Metodu:

A. Doç.Dr.Gönül Mutlu tarafından Ankara Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında hazırlanmış olan anti serumlar kullanıldı. Antiserum hazırlanmasında kullanılan suşlar Romanya Cantacuzino Enstitüsünde Dr.E.Meitert'ten sağlanmıştır.

1. O Antijenlerinin Hazırlanması: Antiserum elde etmek için antijen hazırlanmasında T.Meitert'nin yöntemi kısmen değiştirilerek uygulandı (35). Liyofilize standart suşların jeloz besiyerine 18-21 saatlik kültürleri yapıldı. Plaklardan S koloniler seğıildi. Seğıilen kolonilerin buyyonda diffüz üreyerek süspansiyon yapması, kolayca pyocyanin geliştirebilme özelliği ve % 0,85 lik NaCl solüsyonunda otoaglutinasyon olmaksızın süspansiyon yapma özellikleri kontrol edildi.

Bakterinin pigment yapması için buyyonlar daima et suyundan hazırlandı (56). Seğıilen S koloniler jeloz besiyeri ihtiva eden Roux boit'larına pasaj yapıldı. 18-21 saat 37°C de kültür yapıldıktan sonra % 0,85 NaCl solüsyonu ile toplanarak 100°C de Koch kazanında 2,5 saat ısıtıldı. Hazırlanan antijenler 8000 rpm de santrifüjle çöktürüldü ve % 0,85 lik NaCl solüsyonu ile 2 defa yıkanarak kullanıldı.

2. İmmünizasyon Tekniği: Test bakterilerden hazırlanan O antijenlerinin uygulanmasında Mikkelsen'in tekniği uygulandı (39). Zerk antijenleri Mikkelsen'in Vaksin C dediği mililitrede $1,5 \times 10^9 \times 5$ milyar germ bulunacak şekilde hazırlandı. Bu yoğunluk Mac Farland Baryum Sülfat nefelometresinin 12 Nolu tüpüne uymaktadır. Her antijen ile 2 tavşan immünize edildi. İmmünizasyona başlamadan evvel tavşanlarda doğal olarak antikor olup olmadığı kontrol edildi. Kulak venasından gittikçe artan dozlarda 4 günlük aralıklarla 0,25-0,50-1-1,5-2 ml miktarında zerkler yapıldı. Son zerkten 4 gün sonra kan alınarak antikor arandı. Kan serumunda uygun seviyede antikor bulunan tavşanların kanları son zerkten sonra tamamen alındı. Alınan serumlar $+4^{\circ}\text{C}$ de buzdolabında saklandı.

B. Bakteri Antijenleri: 104 Pseudomonas aeruginosa suşundan serotiplendirmede kullanmak için O antijeni hazırlandı. Bakterilerin tüplerde hazırlanan yatık jelozda 24 saat 37°C de kültürü yapıldıktan sonra % 0,85 lik NaCl solüsyonu ile tüplere alındı. 2,5 saat 100°C da su banyosunda ısıtıldı. Daha sonra 5 mililitrelik şişelere yoğunluğu Mac Farland Baryum Sülfat nefelometresinin 1 Nolu tüpüne uyacak şekilde sulandırılarak konuldu (41, 32).

Aglütinasyon deneyleri saydam, 8x12 kuyulu plastik peteklerde yapıldı. Evvela 17 antiserum 1/10 dilüe edilerek otomatik pipetlerle kuyulara 0,1 ml konuldu, üzerine 0,05 ml antijen konularak 104 suşun O antijeni 17 antiseruma karşı denendi.

Sonuçlar petekler 2 saat 37°C de etüvde, daha sonra 20 saat oda ısısında bekletilerek aglütinoskopta okundu (41).

Bu şekilde bazı suşlar sadece bir antiserumla aglütinasyon verdiğiinden tiplendirilebildiyse de, suşların büyük çoğunluğu birden fazla antiserumla aglütinasyon verdiğiinden ilk etapta tiplendirilemedi. Tiplendirilemeyen suşlar için peteklerde aglütinasyon verdiği antiserumların 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600 ve 1/3200 lik dilüsyonları yapıldı. Daha evvel yapıldığı gibi kuyulara 0,1 ml damlatılan dilüe antiserumların üzerine 0,05 ml antijen solüsyonu ilave edildi. 2 saat 37°C de 20 saat oda ısısında bekletildikten sonra aglütinoskopla sonuçlar değerlendirildi ve her antijen için en yüksek titrede aglütinasyon veren antiserum serotip olarak kabul edildi (9).

B U L G U L A R

I- Morfolojik Özellikler ve Biyokimyasal Davranışlar:

104 Pseudomonas aeruginosa suşunun morfolojik ve biyokimyasal özellikleri incelendi (Tablo I).

Suşların % 52,8 i kenarları düz ve muntazam olan S koloni şeklini geliştirdi. Bu koloni şeklini çokluk sırasına göre SR, R, M koloni şekilleri izledi.

Suşların hepsi hareketli bulundu. Bütün suşlar Hugh Leifson'un Oksidasyon fermentasyon besiyerinde Pseudomonas tanısında önemli kriter olan oksidatif tipte asit oluşturdu.

Suşların hepsinin piyoverdin oluşturmaya mukabil % 95,2 oranında suş pyocyanin yaptı.

Karbonhidratlara olan etki incelendiğinde suşların früktozu (% 98), galaktozu (% 96), mannitolü (% 92,3) oranında olmak üzere genellikle etkilediği; sakkarozu (% 5,7), laktozu (% 3,8), adonitolü (% 1,9), maltozu (% 1,9) oranında çok az etkilediği görüldü.

Bütün suşların sitratı karbon kaynağı olarak kullanıp Simmon'un sitrat besiyerinde ürettiği ve yine bütün suşların jelatini hidroliz ettiği görüldü.

Suşların % 99 unun nitratlı besiyerinde gaz oluşturmasına karşın denitrifikasyonda ara madde olan nitrit daha az oranda (% 78,8) tesbit edildi.

Sitokrom oksidaz ve indofenol oksidaz testi bütün suşlarda olumlu bulundu.

+4°C de hiş bir suş remezken 42°C de bütün suşlar üre-di.

Pyocyanin yapan 99 suş oksidatif oluş, pigment varlığı, proteolitik etki, pozitif oksidaz testi ile Pseudomonas aeruginosa olarak isimlendirildi.

Pyocyanin yapmayıp piyoverdin yapan 5 suşun sakkarozu etkilemediği, + 4°C de üremediği, 42°C de ürediği, denitrifikasyon yaptığı, jelatini hidrolize ettiği ve hareketli olduğu göz önüne alınarak apyocyanogenik Pseudomonas aeruginosa olarak isimlendirildi.

II- Suşların İzolasyon Kaynakları: Pseudomonas aeruginosa suşlarının büyük çoğunluğu (% 27,8) boğazdan izole edilmiştir. İkinci sırayı (% 25,9) ile Cerrahi yara enfeksiyonlarından izole edilen p, üçüncü sırayı (% 22,1) ile kulak akıntısı, dördüncü sırayı balgam ve bronchial eksuda % 12,3 ile almakta, idrar (% 5,7) ile bundan sonra gelmektedir. Suşların % 1,9 unu teşkil eden 2 suş ameliyathane kökenlidir. Bunlardan bir tanesi benzalkonium hidrokloritli sudan izole edilmiştir (Tablo II).

TABLO I Pseudomonas aeruginosaların morfolojik ve Biyokimyasal özellikleri

<u>Morfoloji ve</u> <u>Biyokimyasal Davranış</u>	<u>Suş Sayısı</u>	<u>%</u>
S	55	52,8
SR	27	25,9
R	16	15,3
Jelatinöz	0	0
Cüce	0	0
Hareket	104	100
Oksidatif Asidite	104	100
Fermentatif Asidite	0	0
Pyocyanin	99	95,2
Pyoverdin	104	100
Sakkaroz	6	5,7
Laktoz	4	3,8
Galaktoz	100	96
Adonitol	2	1,9
Mannitol	97	92,3
Früktoz	102	98
Maltoz	2	1,9
Simmons Sitrat	104	100
Jelatin Hidroliz	104	100
Nitrattan Gaz	103	99
Nitrattan Nitrit	82	78,8
İndophenol Oksidaz	104	100
Sitokrom Oksidoz	104	100
+4°C de üreme	0	0
+42°C de üreme	104	0

TABLO II Apyocyonagenik Pseudomonas aeruginosaların
Fizyolojik ve Biyokimyasal özellikleri

	<u>Sus No:28</u>	<u>Sus No:54</u>	<u>Sus No:93</u>	<u>Sus No:95</u>	<u>Sus No:104</u>
Hareket	+	+	+	+	+
+4 ⁰ C üreme	-	-	-	-	-
+42 ⁰ C üreme	+	+	+	+	+
Sakkaroz etkisi	-	-	-	-	-
Jelatin hidrolizi	+	+	+	+	+
Denitrifikasyon	+	+	+	+	+

TABLO III Suşların İzolasyon Kaynakları

	<u>Suş Sayısı</u>	<u>%</u>
Boğaz Sürüntüsü	29	27,8
Pü	27	25,9
Kulak Akıntısı	23	22,1
Balgam ve Bronchial Eksuda	13	12,3
İdrar	6	5,7
Ameliyathane	2	1,8
Kan	1	0,95
Dışkı	1	0,95
Burun Akıntısı	1	0,95
BOS	1	0,95

Apyocyanogenik *Pseudomonas aeruginosa*ların 3 ü kulak akıntısı, 1 i Pü, 1 i ise Boğaz Sürüntüsünden izole edilmiştir. 1982 yılında A. Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji

laboratuvarında incelenen materyal sayısı ve bunlardan *Pseudomonas aeruginosa* izole etme oranı Tablo IV de yer almaktadır. İzolasyon en fazla % 16,54 ile Kulak Akıntısından, 2. olarak % 9,55 ile Balgam ve Bronchial Eksudadan, 3. olarak % 9 ile Pü materyelinden olmuştur. Diğerlerinde izolasyon oranı daha düşüktür.

TABLO IV İncelenen Materyel Sayısı ve İzole Edilen Suş Oranı

	<u>İncelenen</u> <u>Materyel sayısı</u>	<u>İzole edilen Suşların incele</u> <u>Suş sayısı</u>	<u>materyele oranı</u>
Boğaz Sürüntüsü	2306	29	1,25
Pü	300	27	9
Kulak Akıntısı	139	23	16,54
Balgam ve Bronchial Exuda	136	13	9,55
İdrar	1170	6	0,51
Ameliyathane	24	2	8,33
BOS	78	1	1,28
Kan	27	1	3,70
Dışkı	325	1	0,30
Burun Akıntısı	22	1	4,54
Diğerleri	111	0	0
Toplam	4638	104	2,26

III- Pseudomonas aeruginosa antiserumlarının homolog ve heterolog antikor titreleri: Tablo V de görüldüğü gibi uygulanan immunizasyon tekniği ile elde edilen homolog antikor titreleri yüksek seviyelerde bulundu. Antiserumların diğer serotip antijenleri ile heterolog aglütinasyon reaksiyonları yapılarak müşterek antikorlar saptandı. Antiserum I-IV, V-X, VI-X, VII-VIII, XII-I, XII-XIII, XIV-XV, XVI-XVII arasında çapraz aglütinasyon reaksiyonları meydana gelmiştir.

Antiserum II ile X, XV antijeni, Antiserum V ile II antijeni, antiserum IX ile XV antijeni, antiserum XVI ve XVII ile V antijeni arasında tek taraflı aglütinasyon reaksiyonları meydana gelmiştir (41).

IV- Serotiplerin dağılışı şekli ve sıklığı:

A) İlk denemede sadece bir antiserumla aglütinasyon vererek tiplendirilebilen suşları (% 33,6) lık bir oran teşkil etmiştir % 60,7 oranında suş ise en yüksek dilüsyonda aglütinasyon verdiği antiseruma göre tiplendirildi. En çok serotip XII (% 28,8) oranında görülmüş, serotip I (% 13,46), serotip XVI (% 10,57) oranıyla ikinci ve üçüncü sırayı almıştır. 4 suş poliaglütinabl olduğundan 2 suş nonaglütinabl olduğundan tiplendirilememiştir (TABLO VI).

TABLO V P.aeruginosa immün serumlarının nemolog ve neterolog antikor titreleri

SEROTİP ANTİJENLERİ

[illegible]

TABLO VI İzole edilen 104 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun serotiplere ayırımı

<u>SEROTİP No:</u>	<u>Suş Sayısı</u>	<u>%</u>
I	14	13,46
II	1	0,95
III	3	2,85
IV	2	1,9
V	0	0
VI	2	1,9
VII	3	2,85
VIII	10	9,61
IX	8	7,6
X	0	0
XI	0	0
XII	30	28,8
XIII	2	1,9
XIV	1	0,95
XV	9	8,65
XVI	11	10,57
Tiplendirilebilen suş	98	94,24
Non aglütinabl	2	1,98
Poli aglütinabl	4	3,8
Tiplendirilemeyen suş	6	5,76

B) Pseudomonas aeruginosa serotiplerinin izole edildiği materyele göre dağılımı: En çok izolasyonun yapıldığı boğaz sürüntülerinden sağlanan Pseudomonas aeruginosa suşları arasında ilk sırayı serotip XII almakta, bunu serotip I, serotip VIII ve serotip XV eşit olarak takip etmektedir. Cerrahi yara enfeksiyonlarındaki Püden izole edilen Pseudomonas aeruginosalar arasında serotip IX ve serotip XII eşit sayıyla ilk sırayı almakta serotip XVI bunları takip etmektedir. Kulak akıntılarından izole edilen Pseudomonas aeruginosalarda ise serotip I ilk sırayı almakta serotip XII bunu izlemektedir (Tablo VII).

TABLO VII *Pseudomonas aeruginosa* serotiplerinin izole edildikleri materyallere dağılımı

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	Poliaglü- tinabl	Nonaglü- tinabl
Boğaz sürüntüsü	4	-	1	-	-	1	1	4	-	-	-	10	-	-	4	1	1	1	1
Pü	2	1	-	-	-	-	-	2	6	-	-	6	-	-	3	4	-	2	1
Kulak akıntısı	8	-	2	1	-	1	-	-	2	-	-	5	-	-	1	2	-	1	-
Balgam ve Bronchial ek- suda	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	6	2	1	-	-	1	-	-
İdrar	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-
Ameliyathane	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Dışkı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Kan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
BOS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Burun akıntısı	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Toplam	14	1	3	2	0	2	3	10	8	0	0	30	2	1	9	11	2	4	2

T A R T I Ş M A V E S O N U Ç

1) MORFOLOJİK ÖZELLİK VE BİYOKİMYASAL TESTLERİN DEĞERLENDİRİLİŞİ: Koloni özelliklerine göre S koloniler başta gelmekte bunu SR ve R koloniler izlemektedir. M koloniler % 5,7 gibi diğer araştırmalara kıyasla yüksek sayılabilecek oranda bulunmuştur. Mutlu Ankara'da yaptığı çalışmada mukoid suş oranını % 1,36 olarak bulmuştur (41). Töreci İstanbul'da çeşitli çalışmalarda mukoid suşları % 0,8-4 arasında belirtmiştir (53).

Çalışmamızda Kistik fibrozisli hasta mevcut olmamasına karşılık, başka araştırmacıların çalışmalarında mucoid suşlar daha ziyade kistik fibrozisli hastalardan izole edilmiştir. Puğahetti ve arkadaşları kistik fibrozislilerden elde ettikleri 7 mucoid suşu çeşitli yönleriyle incelemişlerdir (45). Adler ve arkadaşlarının kistik fibrozislilerden izole ettikleri 18 Pseudomonas aeruginosanın 11 i mukoiddir (1). Shabalova ve arkadaşları ise çocuklarda solunum yollarında kolonizasyon yapan 38 Pseudomonas aeruginosanın 17 sinin mukoid olduğunu bildirmişlerdir (48).

Jelatinoz ve cüce koloniler çalışmamızda görülmedi (53, 15, 19).

Oksidatif tipte solunum, pozitif oksidaz testi, pyoverdin

teşekkülü gibi bütün suşlar için pozitif bulunan özellikler *Pseudomonas* genusunun karakteristik özellikleridir (8, 14, 50) Pyoverdin yapan floresan grupta *Pseudomonas aeruginosa*, *P.putida* ve *P.fluorescens* bulunmaktadır (14).

Hepsi pyoverdin yapan 104 suştan 99 u pyocyanin teşkil ettiğinden bunları *P.aeruginosa* diye isimlendirmek mümkün olmuştur (8, 50, 15, 54).

Pyoverdin yapan, pyocyanin yapmayan 5 suş +4°C de üremeleri, 42°C de üremeleri, Sakkarozu etki etmemeleri ve denitrifikasyon yapmaları ile *Pseudomonas fluorescens*; jelatini hidroliz etme özelliği ile *P.putida*dan ayırt edildi ve apyocyanogenic *Pseudomonas aeruginosa* olduğuna karar verildi (53, 8, 51, 11, 14, 7).

Sürekli yapılan pasajlar sonunda pyocyanin oluşturan *Pseudomonas aeruginosa*ların bazen bu özelliklerini yitirdikleri bildirilmiştir (53).

Suşların glukoz, sakkaroz, laktoz, galaktoz, adonitol, mannitol, früktoz ve maltoza etkileri, simmon's sitrat besiyerinde üremeleri genellikle diğer çalışmalarla uyum içersindedir (41, 14, 27).

Aynı şekilde bütün suşların hareketli bulunması, 42°C de üreyip 4°C de ürememesi, Nitrattan % 99 oranında gaz yap-

ması, % 78,8 oranında nitrit teşkil etmesi de diğer çalışmalara uygunluk göstermektedir (15, 7, 14, 41).

Sonuç olarak kullanılan biyokimyasal testler özellikle pyocyanin yapmayan *Pseudomonas aeruginosa*ların tanısında faydalı bulunmuştur. Şüpheli kolonilere Oksidaz testi ve Oksidasyon fermentasyon testi yapılmalıdır. Bu testlerle tesbit edilen nonfermentatif, oksidatif suşların çalışmamızda uygulanan biyokimyasal testlerle *Pseudomonas* veya diğer oksidatif, nonfermentatif bakterilerden hangisi olduğunu bulmak mümkündür.

2) *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*NIN SEROTİPLENDİRİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ: 1912 yılında Jacopstahl, 1916 yılında Trommsdorf *Pseudomonas aeruginosa*nın değişik antijenik tipleri olduğunu belirttiler. 1934 yılında Kanzaki, 1945 ve 1949 yılında Munoz ve arkadaşları, 1946 yılında Gaby *Pseudomonas aeruginosa*nın özel antijenik yapıları üzerinde durmuşlar ve bunlara karşı antikor elde etmeye çalışmışlarsa da başarılı olamamışlardır. Cristie 1948 de Fox ve Lowbary 1953, 1954 te yeterli immunizasyon yapmadıklarından istenilen antikorları elde edememişlerdir (40).

İlk defa 1957 yılında Almanya'da Habs *Pseudomonas aeruginosa* suşlarını termostabil O antijenlerine göre 12 sero gruba ayıran bir şema yaptı. Habs'ın 1957 yılında tiplendir-

diği 70 suş arasında serogrup 6 en fazla bulunan serogrup oldu (16).

Kleinmaier 1957 yılında lam aglütinasyon tekniğini kullanarak Habs'ın şemasına göre, *Pseudomonas aeruginosa*nın serotiplendiriminin uygun olduğunu gösterdi (23). Kleinmaier ve Müller 1958 yılında O antijenlerine karşı hazırlanmış olan antiserumlarla yapılan presipitasyon testleriyle aglütinasyon testinin aynı sonuçları verdiğini göstermişlerdir (24).

Sandvik 1960 ta Norveçte Habsın 12 serotipinden 7 tanesini alıp buna Habsın şemasında bulunmayan tip II serotipini katarak yeni bir şema hazırlamıştır (46).

Verder ve Evans 1961 de Amerika Birleşik Devletlerinde 326 *Pseudomonas aeruginosa* suşunu O antijenlerine göre 10 serotipe ayırarak kendi şemalarını geliştirmişlerdir. En fazla tip I i bulan araştırmacılar ayrıca termo labil H antijenleriyle de çalışmışlardır (56).

Veron 1961 de Fransa'da Habs'ın ve Sandvik'in şemalarına yeni serotipler ilave ederek serotip sayısını 17 ye çıkarmıştır. Veron 142 suşu tiplendirmiş en fazla serotip 5, 2, 7 ve 8 görülmüştür. Bu çalışmada suşların % 9,16 sı tiplendirilememiştir (57).

1966 yılında Meitert Romanya'da I den X kadar 10 se-

rotopluk bir şema geliştirmiştir. Farklı patolojik materyellerden izole edilen 304 Pseudomonas aeruginosa suşunu serotiplendirmiş ve serotip II yi % 51 oranında görmüştür. Bu çalışmada suşların % 18 i tiplendirilememiştir (35).

1967 de Macaristan'da lanyi 23 komponentte 13:0 gurubu ihtiva eden bir şema kullanarak 2197 suşu tiplendirdi. En fazla 572 suş ile tip III bulunmuş, bunu 470 suş ile tip 4 takip etmiştir (26).

Mikkelsen 1968 de Habsın şemasına uyarak çeşitli araştırmacıların antijen ve antiserum hazırlama yöntemlerini karşılaştırmıştır (39).

1969 yılında Japonya'da Matsumato ve arkadaşları lanyinin şemasına göre çeşitli aglütinasyon tekniklerini kıyaslamışlar ve lanyinin tipleriyle Habs, Werder ve Evansın tipleri arasında prototip suşlarını kullanarak antijenik benzerlik araştırmışlardır. Genel olarak antijenik benzerlik olduğu görülmüş, lanyideki 8, 9 ve 12:0 gruplarının Habs, Verder ve Evans şemalarında karşılığı bulunamamıştır (31).

1969 yılında Fisher ve arkadaşları Pseudomonas aeruginosayı koruyucu antijenlerine göre 7 serologik gruba ayırmıştır. Tip 1 % 21,8 ile ilk sırayı, tip 3 % 20,1 ile ikinci sırayı olmuş suşların % 6 sı tiplendirilemiştir. Ça-

lišmanın özelliği tiplendirmede kullanılan antiserumların *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonlarına karşı koruyucu olduğunun gösterilmesidir. Tipler birden fazla antijenik komponent ihtiva etmektedirler (13).

Diaz ve Neter 1970 yılında kanserli hastaların değişik materyellerinden izole ettikleri *Pseudomonas aeruginosa* suşlarını Habs ve Verder Evans şemalarını beraberce kullanarak tiplendirmişlerdir. Serotip II (% 30,3), Serotip III (% 28,6), Serotip IV (% 14,3) oranında en fazla bulunan tiplerdir (12).

Meitert ve arkadaşları 1971 yılında 160 suşun virulansını, serotipini ve lizotipini araştırmış virülan suşların en fazla serotip V te toplandığını, avirülan suşların ise serotip X da toplandığını belirtmişlerdir (37).

Dayton ve arkadaşları 1974 te Fisher şemasına göre serotiplendirim yaptıkları suşların % 25 ini Tip 1 in teşkil ettiğini belirtmişler, suşların antibiyotiklere karşı duyarlılığıyla serotipleri arasında ilişki bulamamışlardır (10).

Young ve Moddy 1974 yılında değişik hastalık materyellerinden izole ettikleri 467 suşu Fishere göre tiplendirmiş serotip 1 i (% 38,8) oranıyla en fazla bulmuşlardır. Araştırıcılar ayrıca Fisher, Habs, Verder-Evans ve lanyi şemalarının korrele-

yonunu yapmışlardır (59).

Baltimore ve arkadaşları 1974 te 314 hastadan izole ettikleri 586 suşu Fishere göre tiplendirmiştir. En fazla % 18 oranında serotip 2 yi bulan araştırmacılar suşların % 16 sını nonaglutinabl olduğundan % 19 unu poliaglutinabl olduğundan tiplendirememiştir (4).

Sato ve arkadaşları 1974 yılında Kanada'da çeşitli hastalık materyellerinden izole edilen 811 suşu lanyi şemasına göre serotiplendi. Serogrup 4 (% 25,4) oranıyla en fazla görülürken bunu (% 16,4) ile serogrup 3 takip etti. Sato ve arkadaşları araştırmanın sonucunda en fazla görülen serogruplara karşı aşı geliştirmenin uygun olacağı kanaatine varmışlardır (47).

Homma 1974 te Japonya'da Pseudomonas aeruginosaların serotiplendirimi için 15 serotiplik bir şema geliştirmiştir (17). Homma daha sonra 1976 da şemasındaki serotip sayısını 13 e indirmiş, 1979 da ise 17 ye çıkarmıştır (1979).

T.Meitert tarafından 1974 te oluşturulan 10 serotiplik Meitert şemasına 1967 de E.Meitert Serotip XI i, 1972 de Cristea serotip XII ve serotip XIII ü, 1973 te E.Meitert serotip XIV, XV, XVI, XVII yi 1976 da serotip XVIII, serotip XX ve XX ve XXI i, 1977 yılında serotip XIX ve XXII yi ilave etmiştir (32).

Meitert ve arkadaşları kendi şemalarına göre yaptıkları tiplendirmede 1973 te tip VII yi, 1974 ve 1978 yılları arasında ise tip IV ü en fazla bulmuşlardır. 1973 te suşların (% 10,3) tiplendirilemezken bu oran 1974 te % 14,52, 1975 te (%4,4), 1976 da (% 7,07), 1977 de (% 6,93), 1978 de(% 1,95) olarak kalmıştır (32).

Meitert ve arkadaşları 1973-1979 yılları arasında 13 farklı hayvandan izole ettikleri 1524 suş ile su, toz ve samandan izole ettikleri 24 suşu tiplendirmişlerdir. 1973 te serotip XII, 1974, 1975, 1976 da serotip IV, 1977 de serotip VIII, 1978 de serotip IV, 1979 da serotip I i predominant olarak bulmuşlardır (33).

Kevin ve arkadaşları 1981 de 37 *Pseudomonas aeruginosa* Parke-Davis şeması ile tiplendirmişler ve tip I i predominant olarak bulmuşlardır (22).

İida ve arkadaşları 1982 yılında Hiroşimada izole ettikleri 71 suşun proteaz ve elastaz yapıp yapmadığını araştırmışlar ve Homma (1976) şemasıyla tiplendirmişlerdir. En fazla serotip B(% 26,6) oranında bulunmuştur. % 9,9 suşun tiplendirilemediği bu çalışmada enzim prodüksiyonu ile serotiplendirme arasında bir ilişki saptanamamıştır (20).

Meitert ve arkadaşları 1982 de Romanya'da en fazla izo-

le ettikleri *Pseudomonas aeruginosa* serotiplerinden polivalan immünserum hazırlamışlar ve antibiyotiklere cevap vermeyen inatçı *Pseudomonas* enfeksiyonlarını tedavi amacı ile kullanmışlardır (38).

1983 yılında Sherertz ve Sarubbi Kuzey Karolinada hastane enfeksiyonlarından izole ettikleri 417 *Pseudomonas aeruginosa* 17 serotiplik Brokopp şemasına göre tiplendirdi. Serotip 6 en fazla görülürken % 9,3 oranında suş tiplendirilememiştir (49).

Ninna ve arkadaşları 206 *Pseudomonas aeruginosa* suşuna Brokopp şemasına göre tiplendirdiler. Bu çalışmada serotip 12 % 42,2 oranında predominant olarak bulunurken % 5,6 oranında suş tiplendirilememiştir (43).

1976 yılında Liu çeşitli serotiplendirim şemaları arasında korrelasyon kurmak için yaptığı çalışmalar sonucunda Habsın 1 den 12 ye kadar bütün serotiplerini, Sandvikin tip II sini, Verder-Evans'ın tip V ini, lanyinin serotip 12 sini, Hommanın tip 13 ünü, Meitert'in serotip I, IX, XII, XVII, XVIII ve XIX u, lanyinin 4 a, 9 ve 8 serotipleri, Hommanın 1976 şemasındaki M tipi, 1979 şemasındaki 15, 16, 17 tipleri yoktur (Tablo VIII). Buna karşılık internasyonal şemadaki serotip 7 nin sadece Habs şemasında karşılığı vardır, diğer şemalarda bunun karşılığı yoktur (30).

Yurdumuzda *Pseudomonas aeruginosa*nın serotiplendirimi konusunda ilk çalışmayı Yumul 1969 yılında 9 antiserumla yapmıştır (60).

1977 yılında Mutlu Ankara'da çeşitli hastalık materyellerinden izole ettiği, biyokimyasal davranışlarını incelediği 364 suşun serotiplendirimini ve bakteriofajik tiplendirimini beraberce yaptı. Sunulan çalışmada da kullanılan Meitert'in 17 serotiplik şemasıyla yapılan bu çalışmada en çok serotip XV (% 16,20) oranında görülmüştür. Bunu (% 12,91) oranıyla serotip XIII ve (% 11) oranıyla serotip IV takip etmiştir. Suşların %9,6 sının tiplendirilemediği bu çalışmada Meitert'in serotip antiijenleriyle hazırlanan antiserumlar Enstitü Pastörden getirilen serotip suşları ile karşılaştırılmış, antiijenik benzerlikler saptanarak Meitert'in tipleri ile Habs ve Veronun tiplerinin korrelasyonu sağlanmıştır (41).

TABLO VIII O antiijenlerine göre Pseudomonas aeruginosanin

değişik serotip şemalarının korrelasyonu

International serotip şema- sl	Habs 1957	Sandvik 1960	Verder Evans 1961	Meitert Meitert 1964/78	Lanyi 1966/67	Fisher	Homma 1970/74	Homma 1976
1	1	VII	IV	XIII	6	4	10	I
2	2	-	I	II	3 c	3	7	B
3	3	III	VI	V	1	-	1	A
4	4	IV	-	VIII	11	-	6	F
5	5	-	-	VI	3 df	-	2	B
6	6	I	II	IV	4 ac	1	8	G
7	7	-	-	-	-	-	-	-
8	8	VIII	VIII	III	5	6	3	C
9	9	V	IX	XIV	10	-	4	D
10	10	-	-	XI	2	5	9	H
11	11	VI	III	XV	7	2	5	E
12	12	-	VII	VII	13	-	14	L
13		II	-	XX	-	-	12	K
14			V	XXI	-	-	-	K
15			-	XXII	12	-	11	J
16			X	XVI	3 ab	7	13	B
17				X	-	-	-	
				I	4 ad	-	-	
				IX	-	-	-	
				XII	-	-	-	
				XVII	-	-	-	
				XVIII	9	-	15	M
				XIX	-	-	-	
					8	-	-	

1978 yılında Ayvaz İstanbul'da Homma şemasını kullanarak yaptığı çalışmada serotip 5, 7 ve 13 ü sırayla en fazla bulmuştur (2).

1980 yılında Yumul Diyarbakır'da hasta materyellerinden izole ettiği 951 suşu Habs'in, Sandvik'in ve Veron'un toplam 17 serotipine göre tiplendirdi. Bu çalışmada serotip 11 % 26,9 oranıyla predominant olarak bulunmuştur (61).

İzmir'de yapılan bir çalışmada Çakır ve Bilgiç hastanede hasta ile sıkı ilişkili olan eşya, tıbbi gereç ve hasta odalarının havasından izole ettikleri 41 Pseudomonas aeruginosa suşunu Habs'in, Neron'un ve Sandvik'in serotiplerini ortaklaşa kullanarak serotiplendirdiler. En fazla (% 14,5) oranında serotip II izole edilmiştir (9).

İstanbul'da 1981 yılında Badur 845 Pseudomonas aeruginosa suşunu Hommanın 17 serotiplik şemasına göre tiplendirmiştir. Önce canlı antijenlerle, daha sonra suşların ısıtılmasıyla elde edilen O antijenleriyle 2 defa yapılan bu tiplendirmede serotip 2, 7, 13, 16 Polivalan olarak % 41,4 oranında bulunmuş, serotip 5 ise % 31,6 oranında bulunmuş, % 7,3 oranında suş tiplendirilememiştir (3).

Takdim edilen çalışmada Meitert'in 17 serotiplik şeması kullanılmıştır. En fazla bulunan serotip XII nin diğer şemalarda karşılığı yoktur. 2. sırayı alan Serotip I Ianyı şemasındaki

4 ad tipinin karşılığıdır. 3. sırayı alan Serotip XVI international şemada tip 16, lanyide 3 ab, Fisherde tip 7, Homma (1974) te serotip 13 e uymaktadır.

Boğaz sürüntülerinden elde edilen suşların büyük çoğunluğunu serotip XII teşkil ederken, cerrahi yara enfeksiyonlarından alınan Pü de serotip IX ve XII eşit sayı ile baş sırayı almakta, kulak akıntılarında ise baş sırayı tip I almaktadır. Suşların % 1,92 nonaglutinabl olduğundan, % 3,8 i poliaglutinabl olduğundan tiplendirilemedi. Tiplendirememe oranı fazla değildir.

S O N U Ç

20 yüzyılın bakterisi olarak anılan P.aeruginosanın kulak akıntısı gibi bazı enfeksiyon materyellerinden % 16,54 e varan oranlarda izole edilmesi bölgemizde de yaygın bir enfeksiyon etkeni olduğunu göstermektedir. Yapılan biyokimyasal incelemelerle pyocyanin yapamayıp pyoverdin yapan apyocyanogenic P.aeruginosaların varlığı ortaya konmuştur. P.aeruginosa olduğu şüphe edilen suşlarında biyokimyasal yolla identifikasyonu yapılmıştır.

P.aeruginosanın serotiplendirilmesi tiplendirme yöntemleri içersinde stabilitesi ve uygulama kolaylığı yönünden en geçerli yöntem olarak değerlendirilebilir. Yapılan çalışmalarda farklı serotiplerin dominant olarak bulunması suşların sürekli mutasyon geçirmesine bağlıdır. Serotiplendirim yoluyla aynı soydan köken alan P.aeruginosalar saptanarak hastane enfeksiyonlarının kaynağına inilebilir.

Ö Z E T

Sunulan çalışma Antalya ve yöresinde çeşitli materyellerden izole edilen 104 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun biyokimyasal özelliklerini araştırmak ve serotiplerini tayin etmek amacıyla yapılmıştır.

İzole edilen ve çeşitli özellikleri incelenerek *Pseudomonas aeruginosa* olduğu tesbit edilen % 99 u Piyocyanin oluşturan 104 *Pseudomonas aeruginosa* suşundan 5 tanesi apyocyano-genic *Pseudomonas aeruginosa* olarak adlandırılmıştır.

Pseudomonas suşları Meitert (1964-1976) şeması kullanılarak serotiplendirilmiştir. 1. derecede serotip XII saptanmış, bunu serotip I, XVI ve IX takip etmiştir.

İzole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının % 94,24 ü tiplendirilebilmiştir.

K A Y N A K L A R

1. ADLER, K.B., Washington, C.W.J., Albergrini, T.V., Craighead, J.E.: Stümölatory effect of Pseudomonas aeruginosa on mucin secretion by the respiratory epithelium. J.Am.Med.Assoc., 249(12), 1615-1617-1983.
2. AYVAZ, S.: Pseudomonas aeruginosanın serotiplendirimi Uzmanlık Tezi. İ.Ü.İst.Tıp.Fak.İSTANBUL, 1978.
3. BADUR, S.: Pseudomonas aeruginosa suşlarında serotiplendirme ve çeşitli serotipler arasındaki antijenik ilişkiler, Doktora Tezi, İSTANBUL, 1981.
4. BALTIMORE, R.S., Dobek, A.S., Sterk, F.R., Artenstein, M.S.: Clinical and epidemiological corralates of Pseudomonas aeruginosa Typing. The Journal of Infectious Diseases, 130, 53-59, 1974.
5. BEŞE, MUZAFFER.: Mikrobiyolojide kullanılan Biyokimyasal Testler ve Besiyerleri. Ank. Üni. Vet. Fak. Yayınları, ANKARA, 1974.
6. BİLGEHAN, H.: Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Bilgehan Basımevi, İZMİR 1983.

7. BOOTH, E. V.: Methods for Studying the Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in the hospital environment. *Canadien Jour. of. Med.*, 8, 214-223, 1969.
8. BUCHANAN, R.E., Gibbons, N.E.: *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology* eighth edition. The Williams and Wilkins Company/BALTIMORE, 1975.
9. ÇAKIR, N., Bilgiç, A.: Hastanelerde Hasta Dışı Ortamdan Soyutulan *Pseudomonas aeruginosa*ların serotipleri. *Mikrobiyoloji Bülteni.*, 14:13-20, 1980.
10. DAYTON, S.L., Blasi, D., Chips, D.D., Smith, R.F.: Epidemiological tracing of *Pseudomonas aeruginosa* antibiogram and Serotyping. *Appl. Mic.*, 27, 6, 1167-1169, 1974.
11. DEODHAR, L. P., Joishy, K.N.: Typing Of *Pseudomonas Aeruginosa* *Journal Of Postgrad. Med.*, 19, 161-165, 1973.
12. DÍAZ, F., Neter, E.: *Pseudomonas aeruginosa* serogroups and antibody Response in Patients With Neoplastic Diseases *Amer.J.Med.Sci.* 259, 340, 1970

13. FISHER, M.W., Devlin, H.B., Gnabasik, F.J.: New Immün Type Schema for *Pseudomonas aeruginosa* Based on Protective Antigens, *Journal of Bact.*, 98, 2, 835-836, 1969.
14. GILARDI, G.L.: Charecterization of nonfermentative nonfastidious gram negative bacteria encountered in medical bacteriology. *J.Appl. Bact*, 34 (3), 623-644, 1971.
15. GILARDI, G.L.: Medical Microbiology, "Pseudomonas aeruginosa: The Organism, Diseases it causes and Their Treatment, Editor: L.D.Sabath Kitabında, 25-30, Hans Huber Publishers, Bern-Stuttgart Vienna, 1980.
16. HABES, I.: Untersuchungen Über die O Antigene Von *Pseudomonas aeruginosa*. *Zeitschr. F. Hygiene.*, 144, 218-228, 1957.
17. HOMMA, J. Y.: Serological typing of *Pseudomonas aeruginosa* and several points to be considered *Jap. J. Exp. Med.* 41:1, 1974.
18. HOMMA, J.Y.; Ghoda, A., Goto, S., Jok, K.I., Kodoma, H., Nosakai, N., Konno, M., Shionaya, H., Terada, Y., Tomiyama, T., Yabuuchi, E.: Proposal of an international standart, for the infraspecific serologic classification of *Pseudomonas aeruginosa*, *Jap. J. Exp. Med.*, 48:89, 1979.

19. HUTCHINSON, D.: A mucoid strain of *Pseudomonas aeruginosa*
J.Med. Lab. Technol. 26, 371-372, 1969.
20. LIDA, M., Kato, M., Tsuki, F., Nakamura, Y. K., Watanabe,
T., Ikeda, M., Muroki, K., Fusiye, Y.,
Kuwabara, M.: Protease and elastase Production in relation to serotype of *Pseudomonas aeruginosa*. Journal Med. Sci. 31 (3), 181-186, 1982.
21. IONESCU, A., Meitert, E., Vasiliu, S., Meitert, T., Milicescu, S., Sima, F., Savulian, C.: The immunoprophylaxis and immunotherapy of *Pseudomonas* infections in burns with Polyvalent *Pseudomonas aeruginosa* corpuscular vaccine Arch Roum. Path. Exp. Mic., 38, 3-4, 317-329, 1979.
22. KEVIN, E. C., Bass, J.A., Young, V. M., Straus, D.C.: Antibody Response to *Pseudomonas aeruginosa* Exoproducts in Cancer Patients, Journal of Clinical Microbiology, 115-122, 1981.
23. KLEINMAYER, H.: Die O-gruppenbestimmung von *Pseudomonas* Stämmen mittels objektträger Agglutination. Zbl. Bakt. 170:570-583, 1957.
24. KLEINMAYER, H., MÜLLER, H.: Vergleichende Prüfung der Präzipitation und Agglutination als Methode zur Bestimmung der O-Antigene von *Pseudomonas aeruginosa* ZBL. Bakt. 172:54-65, 1958.

25. KOVACS, N: Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*, 178: 703, 1956.
26. LANYI, B.: Serological properties of *Pseudomonas aeruginosa* 1. Grup specific somatic Antigens. *Acta. Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, 13, 295-318, 1967.
27. LANYI, B.: Biochemical and cultural characters of serologically Grouped *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, 15, 337-355, 1968.
28. LANYI, B., A'da'm, M.M.: Serological relationship between *Pseudomonas aeruginosa* and *enterobactericea*. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung* 19, 259-265, 1972.
29. LENETTE, E. H., Spaulding, E. H., Truant, J.P.: *Manual of Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, D.C.1974.
30. LIU, P.V., Matsumoto, H., Kusama, H., Bergan, T.: Survey of heat-stable, major somatic antigens of *Pseudomonas aeruginosa* *Int. J. Sust. Bact.* 33 (12):256-264, 1983.
31. MATSUMATO, H., Tazaki, T.: Relationships of O antigens of *Pseudomonas aeruginosa* between Hungarian Types of Lanyi and Habs type on Verder and

- Evans. Jap. J. Microbiol., 13(2), 209-211, 1969.
32. MEITERT, E., Meitert, T., Sima, F. L., Savulian, C., Butianu, A.: New *Pseudomonas aeruginosa* serotypes following the individualization of New antigenic O structures., Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol., 37, 3-4, 161-178, 1978.
33. MEITERT, E., Mihalache, V., Sima, F.L., Savulian, C., Illes, P., Butoianu, A.: *Pseudomonas aeruginosa* isolated in animals. Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol., 39, 4, 287-289, 1980.
34. MEITERT, E., Meitert, T., Sima, F., Savulian, C.: Mono and Polyvalent *Pseudomonas aeruginosa* vaccines preparation, control and administration. Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol., 41,2,
35. MEITERT, T.: Contribution A'L'e'tude de la structure antigenique des B. pyosyaniques (*Pseudomonas aeruginosa*). Arch.Roum.Path. Exp.Microbiol, 23, 3, 679-687, 1964.
36. MEITERT, T., Meitert, E.: Utilization Combine du serotypage et de la Lysotypie des Souches de *Pseudomonas aeruginosa* en vue D'approfondir les investigations epidemiologiques. Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol., 25(2), 427-436, 1966.

37. MEITERT, T., Meitert, E.: Virulance pour la souris blanc de
Quelques souches de *Pseudomonas aeruginosa*
provenant de gas sporodigues et D'infections
nosocamiales. Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol
30,1, 37-44, 1971.
38. MEITERT, T., Meitert, E., Szegli, G., Peligrad, I.: Thera-
peutical *Pseudomonas aeruginosa* antisera pre-
paration, control and administration. Arch.
Path. Exp. Microbiol., 41, 2, 115-121, 1982.
39. MIKKELSEN, O. S.: Serotyping of *Pseudomonas aeruginosa*
Acta path. Microbiol. Scandinav., 73, 373-390,
1968.
40. MURASCHI, T.F., Bolles, D.M., Moczulski, C., Lindsay, M.:
Serologic types of *Pseudomonas aeruginosa*
based on heat-stable O antigens: Correlation
of Habs (European) and Verder an Evans (Norht
American) classifications 1968.
41. MUTLU, G.: Ankara'da izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının
Biyokimyasal özellikleri, sero, Faj tipleri
2- *P.aeruginosa* Fajlarının çeşitli özellikleri
ANKARA, 1977.
42. Nesep, N.B.A.: *Pseudomonas*ların boya yapımını kolaylaştıran
yeni besiyerleri geliştirilmesi Doktora Tezi
İSTANBUL, 1979.

43. NINNA, G., Harper, P. B.: The invitro Activity of ceftazidime against a multi-resistant serotype 12 *Pseudomonas aeruginosa* *Infect. Eur.*, 1, 11, 16-19, 1983.
44. NOLTE, W. A.: Oral Microbiology with basic Microbiology And Immunology. The C. V. MOSBY COMPANY Saint Luis, 1977.
45. PUGASCHETTI, B., Howard, M., Metger, J., Vadas, L., Feingold, D. S.: Phenotypic differences among Clinically isolated mucoid *Pseudomonas aeruginosa* strains. *J. Clin Microbiol.* 16 (4):686-691, 1982.
46. SANDVIK, O.: Serological comparison between strains of *Pseudomonas aeruginosa*, from human and animal sources *Acta. Path. Microbiol. Scand. (B)*. 48 56, 1960.
47. SATO, H., Diena, B. B.: Serological survey of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients in Canadian Hospitals. *Can. J. Microbiol.* 20:477-482, 1974.
48. SHABALOVA, L. A., Rumyansev, V. G., Mikea, G. A., Chehan, L. V., Edvabnaya, L. S., Stanislavskii, E. S., Siferova, N. G.: Pyocyanic Infection (*Pseudomonas aeruginosa*) in mucoviscidosis: *Acad. Med. Sci.* 0 (1): 28-31, 1982.

49. SHERBERTZ, R. J., Sarubbi, F. A.: A Three-year study of nosocomial infections associated with *Pseudomonas aeruginosa* Journal of Clinical Microbiol., 18, 1, 160-164, 1983.
50. SONNENWIRTH, A. C., Jarret, L.: Gradwohl's Clinical laboratory Methods and Diagnosis Vol Two The C. V. Mosby Company. S. T. Luis. Toronto. London, 1980.
51. SOUNDY, C. J., Guzman, A.A.: Techniques used for the study of *Pseudomonas* Rev. Ins. Invest. Med: 10 (2): 190-200, 1982.
52. TAPPER, M.L., Armstrong, D.: Bacteremia Due to *P.aeruginosa* Complicating Neoplastic Disease 130, 14-23, 1974.
53. TÖRECI, K.: *Pseudomonas aeruginosa*'nın bakteriyolojik tanısı 2. Ulusal Kükem Kongresi, 51-65, İSTANBUL, 1981.
54. TÖRECI, K., Güner, Ü., *P.aeruginosa*'nın pigmentleri, Toxinleri ve Enzimleri 2. Ulusal Kükem Kongresi, 77-91, İSTANBUL, 1981.
55. TUMBAY, E.: *Pseudomonas aeruginosa*'nın Tıbbi ve Ekolojik Önemi 2. Ulusal Kükem Kongresi, 98-105, 1981
56. VERDER, E., Evans, J.: A proposed antigenic Schema for differentiation of strains of *Pseudomonas aeruginosa* J.infect. Dis. 109:183-193, 1961.

57. VERON, M.: Sur L'agglutination de *Pseudomonas aeruginosa* subdivision des Groupes antigeniques O:2 et O:5 Annales de L'institut Pasteur, 101, 3, 1961.
58. WAHBA, A. H.: Hospital infection with *pseudomonas pyocyanea*: An investigation by a combined pyocyanin and serological typing metot. Brit. Med.J., 1, 86-89, 1965.
59. YOUNG, V. M., Moddy, M. R.: Serotyping of *Pseudomonas aeruginosa*. The Jour. Of. Infec. Dis., 130, 47-52, 1974.
60. YUMUL, Ç.: Ankara'da hastalardan tecrit edilen *P.aeruginosa*ların serotipleri. Mikrobiyoloji Bülteni, 14: 9-12, 1969.
61. YUMUL, Ç.: Diyarbakır'da hastalardan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*ların serotipleri. Mikrobiol Bülteni, 14:9-12, 1980.
62. YUMUL, Ç.: *Pseudomonas aeruginosa* Tiplendirme Yöntemleri 2. Ulusal Kükem Kongresi, 92-97, 1981.