

- 1955). *Lancet* 1: 1318-22,1960
- 3- Jessen O, Rosendal K, Bülow P, Faber V, Eriksen KR: Changing staphylococci and staphylococcal infections: a ten year study of bacteria and cases of bacteremia. *N Engl J Med* 281: 627-35,1969
- 4- Çetin ET, Anđ Ö: Staphylococci resistant to methicillin ("Celbenin"). *Br Med J* 2:51,1962
- 5- Jevons MP: Celbenin-resistant staphylococci. *Br Med J* 1:124,1961
- 6- Knox R: Celbenin-resistant staphylococci. *Br Med J* 1:126,1961
- 7- Sheagren JN: İnatçı patojen: Staphylococcus aureus. *Literatür* 2: 2-7, 1985 (*N Engl J Med* 310: 1437-42,1984)
- 8- Lerner PI: Prosthetic valve endocarditis. "Current Therapy in Infectious Disease-2" (Ed. EH Kass, R Platt) Mosby Co., Toronto" kitabında, s. 300,1986
- 9- Freedman LR: Infective endocarditis and mycotic aneurysm. "Current Therapy in Infectious Disease-2" (Ed. EH Kass, R Platt) Mosby Co., Toronto" kitabında, s. 295, 1986
- 10- Çalangu S: Yeni antibiyotiklerin özellikleri. *Kükem Derg* 9:61-67, 1986
- 11- Eykyn SJ: Cephalosporins in perspective. *Med Digest* 11 (3): 14-18,1985
- 12- Hewitt WL: The third generation cephalosporins. Current clinical topics in infectious diseases-4, New York, McGraw-Hill Book Co. s. 403,1984
- 13- Robert RB: *Infectious Diseases: Pathogenesis, diagnosis and therapy*. Year Book Med Publ., Chicago-London, s.192,1986
- 14- Editorial: Antibiyotiklere dirençli stafilokoklar. *Literatür* 2:709-11, 1985 (*Lancet* 2:189-90, 1985)
- 15- Waldvogel FA: Treatment of infections due methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J Hosp Infect* 7 (supp. A): 37-46,1986
- 16- Righter J: Ciprofloxacin treatment of Staphylococcus aureus infections. *J Antimicrob Chemother* 20: 595-97, 1987
- 17- Eykyn SJ: Staphylococcal sepsis: the changing pattern of disease and therapy. *Lancet* 1: 100-103, 1988
- 18- Simon HB: Infections due to Gram positive cocci. In: Rubinstein E, Federman DD, eds. *Scientific American Medicine*. Vol 2 Scientific American, Inc, S.1, 1987
- 19- Dilmener, M, Öztürk R, Çalangu S, Kösemen H, Demiryont M, Baslo A, Çetin ET: Akut tonsilliten kaynaklanan Staphylococcus aureus sepsisi ve post-infeksiyöz polinöropati. *Tıp Fak Mecm* 48: 689-93,1985
- 20- Schwalbe RS, Stapleton JT, Gilligan PH: Emergence of vancomycin resistance in coagulase-negative staphylococci. *N Eng J Med* 316: 927-31, 1987
- 21- Sndyman DR: Intravenous catheter-associated infection. "Current Therapy in Infectious Disease-2", (Ed. EH Kass, R Platt), Mosby Co., Toronto " s. 426,1986

## Pseudomonas Cinsindeki Bakterilerin Bakteriyolojik Tanısı ve Virülans Faktörleri

Kurtuluş Töreci

### Sınıflandırma

*Pseudomonas* cinsi birçoğu doğada saprofit olarak yaşayan ve çeşitli organik maddeleri, bu arada çevre kirlenmesine yol açan bazı toksik maddeleri parçalayan, birçoğu bitki patojeni olan, bazıları da insan ve hayvanlarda infeksiyon oluşturabilen çok sayıda bakteri içerir. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology'nin 1975 yılına ait 8. baskısında, yeterince tarif edilmemiş veya kültür koleksiyonlarında saklanmamış türlerle birlikte, toplam 265 *Pseudomonas* türünden söz edilmiştir (13). 1980 yılına kadar önerilmiş bakteri türlerinden Bakteri Sistematigi Uluslararası Komitesi (ICSB) tarafından tasdik edilenleri içinde 87 *Pseudomonas* türü bulunmaktadır (55). Bakteri sınıflandırılmasında en yaygın kabul gören kaynak olan Bergey's Manual'in yeni bir düzenle basılan 1984 baskısında toplam 92 *Pseudomonas* türünün özellikleri bildirilmektedir (45). Ancak bu türlerin birçoğunda çeşitli biovarların veya patovarların varlığı belirtilmekte, örneğin *P. fluorescens* türünün 5 biovarı, *P. syringae*'nin 41 patovarı kaydedilmektedir. Bu sayıların gösterdiği gibi *Pseudomonas* bakteri sistematiginde en çok tür içeren cinslerden birini oluşturmaktadır. Bakterilerin birbirleri ile ilişkilerini incelemeye kullanılan yöntemlerin gelişmesine paralel ola-

rak bakteri sistematiginde görülen süratli değişimler bu cins içinde kendisini daha fazla göstermekte, bir kısım türler birleştirilmekte veya başka cinslere aktarılmakta, bazı türler ise birden fazla türe ayrılmaktadır. *Pseudomonas* cinsinin hem çevre mikrobiyologlarının, hem bitki, hayvan ve insan hastalıkları ile ilgili mikrobiyologların çok yakından ilgilendiği bir cins olması birçok türün farklı adlarla değişik türler olarak bildirilmesine neden olmuş, cinsi ve cins içindeki türleri doğru bir şekilde sınıflandırmayı güçleştirmiş ve çok sayıda sinonim adın kullanılmasına yol açmıştır.

*Pseudomonas* cinsindeki Gram-negatif boyanan, 0,5-1 µm eninde, 1,5-5 µm boyunda, düz veya hafif kıvrık çomak şeklinde bakteriler bulunur. Sporsuzdurlar. *P. mallei* dışındaki türler bir veya birçok polar kirpikle hareketlidirler. Hareketsiz tek tür *P. mallei*'dir ve diğer bazı türlerde (*P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. testosteroni*) düşük ısıda ve katı besiyerlerinde, lateral kirpik de oluşturulabilir. Zorunlu aeropturlar ve metabolizmaları oksidatifdir. Bazı türlerin ancak nitrat varlığında anaerop üreyebilmesi dışında anaerop koşullarda üreme olmaz ve fermentatif veya fotosentetik metabolizma görülmez. İndol, Voges-Proskauer ve metil kırmızısı deneyleri negatif, katalaz pozitifdir (23, 45).

Bu özellikler bir bakteriyi *Pseudomonas* cinsindeki yerleştirmek için gerekli en az özelliklerdir. Bir bakterinin piyosiyanın oluşturduğunun gösterilmesinin *P. aeruginosa* olarak idantifikasyonunda yeterli olması gibi belirli koşullarda bu özelliklerin hepsini aramak gerekmez. Ancak böyle özel

Tablo 1. İnsanda infeksiyon oluşturabilen *Pseudomonas* türleri (23)

RNA grubu I	RNA grubu III
Fluoresan grup <i>P. aeruginosa</i> <i>P. fluorescens</i> <i>P. putida</i>	Acidovorans grubu <i>P. acidovorans</i> <i>P. testosteroni</i> <i>P. delafieldii</i>
Stutzeri grubu <i>P. stutzeri</i> <i>P. mendocina</i>	RNA grubu IV Diminuta grubu <i>P. diminuta</i> <i>P. vesicularis</i>
Alcaligenes grubu <i>P. alcaligenes</i> <i>P. pseudoalcaligenes</i> <i>Pseudomonas</i> sp. grup 1	RNA grubu V * <i>P. maltophilia</i>
RNA grubu II Pseudomallei grubu <i>P. mallei</i> <i>P. pseudomallei</i> <i>P. cepacia</i> <i>P. gladioli</i> <i>P. pickettii</i>	Yakınlıkları kesinleşmemiş türler <i>P. mesophilica</i> <i>P. paucimobilis</i> <i>P. pertucinogena</i> <i>P. putrefaciens</i> <i>Pseudomonas</i> sp. grup Ve-1 <i>Pseudomonas</i> sp. grup Ve-2 <i>Pseudomonas</i> -benzeri grup 2

bir bulgu elde edilmeyen suşların benzer Gram-negatif suşlardan ayrılmasında *Alcaligenes* ve *Agrobacterium* cinslerinde, *Bordetella bronchicantis*'te kirpiklerin peritrik olması ve oksidaz deneyinin daima pozitif bulunması, *Acinetobacter* cinsinin hareketsiz olması ve oksidaz deneyinin negatif bulunması, *Moraxella* cinsinin hareketsiz olması ve oksidaz deneyinin pozitif bulunması, *Flavobacterium* cinsinin hareketsiz olması ve oksidaz ve indol deneylerinin pozitif bulunup hücreye bağlı sarı pigment oluşturması faydalı olur. Oksidaz deneyi *Pseudomonas* cinsinde pozitif veya negatif olabilir.

Bazı türler (örneğin *P. alcaligenes*, *P. pseudoalcaligenes*) dışında glikozdan asit oluştururlar ve çok sayıda bileşiği tek karbon kaynağı olarak kullanılabilirler.

*Pseudomonas*'ların besiyerine diftize olan pigment oluşturması tanıda çok faydalanılan bir özelliktir; fakat pigmentsiz türler veya pigmentli türler içinde pigmentsiz suşlar da bulunduğu için sınıflandırmada tek başına yeterli bir kriter olarak alınmaz.

*Pseudomonas* cinsindeki 80-100 türden 20 kadarı insanda çeşitli infeksiyonlardan izole edilmiştir. Bu türlerin dışında yine klinik materyelden izole edilen bir kısım suşlar henüz tür düzeyinde sınıflandırılmamışlardır ve belirli bir grup adıyla anırlar. *Pseudomonas* cinsinin gruplara ayrılmasında RNA/DNA hibridizasyon deneylerinden faydalanılır ve *Pseudomonas* türleri 5 RNA grubuna ayrılır (45). Bir kısım suşların da RNA grupları ve birbirlerine yakınlıkları henüz kesinlikle belirlenmemiştir. Bu 5 RNA grubunda ve gruplanması tamamlanmamış türler içinde insandan izole edilen suşlar bulunur (23, 45) (Tablo 1). Tablodaki türler yalnızca sıkça bildirilmiş türleri içerir. Bunlar dışında da az sayıda olguda bildirilmiş türlere literatürde rastlanmaktadır. Örneğin tabloda bulunmayan *P. luteola* ile peritonit, endokardit, pankreas apsesi ile seyreden septisemi olmak üzere 3 infeksiyon bildirilmiştir (7).

#### *P. mallei* ve *P. pseudomallei*

İnsanda infeksiyona yol açabilen *Pseudomonas* türleri genelde belirli bir hastalıkla ilgili değillerdir; yara infeksiyonundan menenjitte, septisemiden idrar yolları infeksiyonlarına kadar çok çeşitli infeksiyonlara yol açarlar. Ayrıca 2 *Pseudomonas* türü, insanda çok seyrek görülen belirli bir

hastalığın (entité morbide) etkenidir. Bu türler pseudomallei grubunda (RNA grup II) yer alan *P. mallei* ve *P. pseudomallei*'dir. *P. mallei* tek hareketsiz *Pseudomonas* türünü oluşturur. İki tür de piyoverdin veya fenazin pigmentleri oluşturamazlar. *P. pseudomallei* selüler sarı-portakal rengi karotenoid pigment oluşturabilir. *P. pseudomallei*'nin ni-trattan gaz oluşturması, jelatini eritmesi birçok özellikleri ile kendisine oldukça benzeyen *P. mallei*'den (hareketli olma özelliği ile birlikte) ayırt edilmesinde yararlı olabilen karakterleridir (23). *P. mallei* ruam etkenidir ve başta beygir, katır, eşek olmak üzere doğal konaklarında bulunur. Toprak ve suda bulunmaz. Kobay, hamster, tarla faresi de çok hassas; maymun, koyun, deve, tavşan, köpek, sıçan, beyaz fare, keçi, kedi, gelincik, köstebek az hassas; inek, domuz, güvercin dirençlidir (45). İnsana infeksiyon hemen daima hayvanlardan bulaşır, bu nedenle çok seyrek olarak hayvancılıkla uğraşanlarda, veterinerlerde ve laboratuvar çalışanlarında görülür. Ülkemizde bakteriyolojinin erken dönemlerinde 3 veterinerimiz çalışmaları sırasında ruama yaklaşıp şehit olmuşlardır (43). Bulaşma deri sıyrıklarına kontamine materyelin teması ile olur. Hastalık insanda genellikle yüksek ateş ve genel semptomlarla akut seyrederek 2-3 haftada, bazen birkaç günde ölüme neden olur (21). Daha seyrek görülen kronik şekli ülserler, deri altı cerahatlanmalar ile daha uzun seyrederek. Bakterinin mallein denilen endotoksini özellikle hayvanlarda tanıyı teyid için kullanılır. Bakteri ilk izolasyonda diğer *Pseudomonas*'lara göre çok daha yavaş ürer. Ruam Avrupa ve Amerika'da yıllar önce eradike edilmiştir; ülkemizde ise hâlâ görülebilmektedir. Bu nedenle binicilerimiz yıllardır Avrupa'daki yarışmalara atları ile kabul edilmemekte idiler. Uzun süredir ülkemizde de ruam görülmemesi Aralık 1988'de binicilerimiz ve atlarının Avusturya'daki bir yarışa kabul edilmelerine yol açmış, ancak 1988'in son günleri Büyükkada'da atlarda tekrar ruam olguları görülmüştür (Milliyet, 5.1.1989).

*P. pseudomallei* ise melioidoz hastalığını oluşturur. Whitmore basili olarak da adlandırılan *P. pseudomallei* Uzak Doğu ve Avustralya'da toprakta bulunur ve başlıca kemiricilerde hastalık oluşturur. Domuz dahil olmak üzere *P. mallei*'ye hassas hayvanlar *P. pseudomallei*'ye de duyarlıdır. Ruam ve melioidoz benzer semptomlarla seyrederek ve iki bakteri arasındaki yakınlıklar dikkati çekmeden önce oluşturdukları klinik belirtilerin benzerliği dikkati çekmiştir (45). *P. pseudomallei*'nin biri antikoagülan etkili letal toksin, diğeri deri nekrozu yapan proteolitik etkili en az iki toksini bilinmektedir. Melioidoz insanda nadir görülen fakat yüksek oranda ölüme neden olan bir hastalıktır. Tedavide tetrasiklin ve klo-ranfenikol kullanılır; ancak tedaviye uzun süre (1-5 ay) devam etmek gerekir (21). Bakterinin bulunduğu bölgelerde birçok kişide antikor saptanması, infeksiyonun birçok kişide belirtisiz seyredebildiğini düşündürmektedir.

Bu iki tür ve oluşturdukları infeksiyonlardan önce söz edilmesinin nedeni çok farklı infeksiyonlar oluşturmaları yüzünden *Pseudomonas* infeksiyonları dendiğinde genellikle bunların dışındaki infeksiyonların anlaşılması ve bu iki türden tekrar söz etmeye gerek bırakmamak isteğidir. Bundan sonraki kısımda *Pseudomonas* cinsi bakteriler dendiğinde, *P.*

*mallei* ve *P. pseudomallei* dışında insanda infeksiyon oluşturabilen türler kastedilecektir.

### Bakteriyolojik Tanı

*Pseudomonas* infeksiyonlarında bakteriyolojik tanı hemen daima muayene maddesinden bakterinin izole edilmesi ve çeşitli özellikleri incelenerek identifiye edilmesine dayanır (direkt etiyolojik tanı). Bunun için infeksiyona göre uygun muayene maddesinin alınması ve uygun besiyerlerine ekilmesi gerekir.

Alınacak muayene maddesi infeksiyona göre değişir. *Pseudomonas* cinsi bakteriler en bilinen fırsatçı patojenler olduklarından bakterinin giriş yerine, kişiye uygulanan cerrahi ve tıbbi girişimlere, kişinin diğer durumlarına ve çevre koşullarına göre çok değişik infeksiyonlara yol açabilirler. Bunun sonucu da yara cerahati, kan, beyin-omurilik sıvısı, balgam, idrar, dışkı, ponksiyon sıvıları, sürüntü materyeli gibi değişik muayene maddelerinden *Pseudomonas* cinsi bakteriler izole edilebilir. Bazen infeksiyon kaynağını saptamak için çevreden alınan çeşitli maddelerde de bakteri aramak gerekir. *Pseudomonas* cinsi bakteriler, özellikle en sık izole edilen *P. aeruginosa*, kuruluk ve yüksek sıcaklık dışında oldukça dayanıklı bakterilerdir. Bu nedenle muayene maddesinin uygun şekil ve makul sürede laboratuvara gönderilmesi koşuluyla özel bir taşıma besiyerine gerek duyulmaz.

*Pseudomonas* cinsi bakterilerin muayene maddesinden izolasyonu için çeşitli seçtirici besiyerleri hazırlanmıştır. Aslında *Pseudomonas*'lar genel amaçlı, jeloz, kanlı jeloz gibi besiyerlerinde, hatta başka bakteriler için seçtirici olarak hazırlanmış ancak fazla inhibitör olmayan MacConkey, eozin-metilen mavisi, Leifson deoksikolat jelozu gibi besiyerlerinde rahatlıkla ürerler. *Pseudomonas*'lar için seçtirici besiyerleri hazırlanması dışkı ya da doğadan alınan ve çok sayıda diğer bakteriler de içeren muayene materyelinden bu bakterilerin izolasyonunu kolaylaştırmak veya piyosiyanın ve piyoverdin gibi pigmentlerin oluşumunu artırarak izolasyon ve identifikasyonu süratlendirmek içindir.

Çok fazla sayıda başka bakteriler içeren muayene maddelerinden *Pseudomonas*'ların izolasyonu için kullanılabilen besiyerlerine örnek olarak setrimit agar (cetrimide agar, Difco), *Pseudomonas* agar F (Difco), Pseudosel agar (BBL), Lowbury ve Collins (38)'in Lemco agar bazına (% 0.03 setiltrimetilamonyum bromür (setrimit) ilavesiyle hazırladığı *Pseudomonas* izolasyon agarı (Difco), Sands ve Revira (53)'ün novobiosin, penisilin, sikloheksimil içeren besiyeri, Solberg ve arkadaşlarının (56) 2-hidroksi-2, 4, 4-triklorodifenil oksit ve setrimit içeren besiyeri, Krueger ve Sheikh (36)'in nitrofurantoin ve kristal viyole içeren besiyeri verilebilir. Literatürde ve ticari alanda daha başka besiyerleri de bulunabilir. Doğada rastlanan türler için de özel izolasyon besiyerleri bildirilmiştir (23). De Vicente ve arkadaşları (11)'de fekal streptokokların çok bulunduğu lağım sularından *Pseudomonas*'ları izolasyon için bir besiyeri tarif etmişlerdir. C-390 denilen maddenin ilavesiyle hazırlanan beyin kalp infüzyonunun *P. aeruginosa*'nın diğer *Pseudomonas* ve yakın bakteri türlerine göre üremesini ve izolasyon şansını artırdığı, aynı maddenin ilavesiyle hazırlanan Mueller-Hinton besiyerinin pigment oluşumunu artırdığı (18) bildirilmiştir. C-390 adlı maddenin fenantrolin ile birlikte Columbia agara ilavesiyle diğer *Pseudomonas* türlerinin, *Enterobacteriaceae*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus* cinslerinden bakterilerin ve difteroid bakterilerin üremesini tamamen inhibe eden fakat 1456 *P. aeruginosa* suşundan 1452'sinin üremesini sağlayan PC agarı

tarif edilmiştir (5). *P. aeruginosa* suşlarının izolasyonu için önerilmiş diğer besiyerleri önceki bir yazımızda bildirilmiştir (58). Genel olarak *Pseudomonas* cinsi için ve özel olarak *P. aeruginosa* için hazırlanmış besiyerlerinden başka *P. cepacia* suşlarının izolasyonu için de çeşitli özel besiyerleri bildirilmiştir. Bu besiyerlerinden bazı tuzlar dışında glikoz, asparagin, tripan mavisi ve tetrasiklin içeren TB-T besiyeri topraktan (26), polimiksin, basitrasin, laktoz içeren oksidasyon-fermentasyon (OFPBL) besiyeri kistik fibrozlu kişilerde balgamdan (6, 57, 62) *P. cepacia*'nın izolasyonu için önerilmiştir.

Muayene maddesinin ekildiği besiyerleri oksijenli ortamda ve insandan alınan muayene maddeleri için 35°C-37°C'de inkübe edilmelidir. *Pseudomonas*'lar içinde 4°C-42°C'ler arasında üreyen türler vardır ve düşük ya da yüksek sıcaklıklarda üreme tanı için bir kriter olarak kullanılabilir.

İzolasyon besiyerinde koloni şekli alışkın bir kişi için *Pseudomonas*'ları sadece anımsatıcı olabilir, fakat aynı saf kültürden tekrar yayıldığında bile değişik koloni şekillerine rastlanabilir. Silme üreme olan bölgede görülebilen metalik leke *P. aeruginosa*'yı düşündürür. Kültürde alınan özel bir koku da karışık üremelerde *Pseudomonas* varlığını düşündürücüdür.

İzolasyon besiyerindeki koloniler eğer pigmentli ise tanıda ilk önemli ipucunu verir. *Pseudomonas* suşlarının piyosiyanın ve piyoverdin oluşturması için de çeşitli besiyerleri bildirilmiştir (35, 44). Bu besiyerlerinin birçoğu King ve arkadaşlarının (35) A ve B besiyerlerine dayanır. Ayrıca piyosiyanın için *Pseudomonas* P besiyeri (Difco) ve piyoverdin için *Pseudomonas* F besiyeri (Difco) ticari olarak mevcuttur. Bu pigmentler besiyerine yayılır. Kloroformda eriyen piyosiyanın *P. aeruginosa* için tanı koydurucudur. Hatta idrar veya cerahat gibi muayene maddesinin kloroform ilavesinde kloroformun maviye boyanması kültür yapmadan muayene maddesinde *P. aeruginosa*'nın varlığı için kesin delil olarak alınabilir. Piyoverdin olarak adlandırılan fluoresan pigmentler insandan izole edilen suşlardan *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* ve *P. putida* tarafından oluşturulur. Fluoresan pigment oluşumu kolonilerin veya eğri besiyerlerindeki saf kültürün 254 nm dalga boyunda UV altında incelenmesi ile araştırılmalıdır. Fluoresansın rengi sarı-yeşil, sarı-kahverengi veya beyaz (renksiz) olabilir (23). *P. cepacia* ve *P. gladioli* fluoresans vermeyen besiyerine yayılan pigmentler; *P. vesicularis*, *P. maltophilia*, *P. mesophilica*, *P. paucimobilis* besiyerine yayılmayan ve fluoresans vermeyen pigmentler oluşturabilirler (45). Nadiren bazı *P. cepacia* suşları UV altında menekşe refle veren pigment oluşturabildiği de kaydedilmiştir (23). *Pseudomonas*'ların oluşturduğu pigmentin fluoresan pigment olduğu ancak UV ile incelenerek kararlaştırılmalıdır.

Fluoresan pigment oluşturan bir suş piyosiyanın oluşturması da 41-42°C'de üreyebiliyorsa *P. aeruginosa* olarak tanımlanabilir. Ancak fluoresan pigment oluşturmayan türlerde (örneğin stutzeri ve alcaligenes grubu, tablo 1) de 41-42°C'de üreyenler bulunduğu için yüksek sıcaklıkta üremek tek başına *P. aeruginosa* için tanımlayıcı bir özellik olarak alınmaz (45).

*P. aeruginosa* muayene maddelerinden izole edilen bütün nonfermentatif Gram-negatif çomakların yaklaşık % 70'ini oluşturur. Bu nedenle gerektiğinde bu pigmenti oluşturmayan besiyerlerinin kullanılmasıyla piyosiyanın oluşturduğunun gösterilmesi; piyosiyanın oluşturmayan fakat fluoresan pigment oluşturmayan suşların 41°C'de ürediğinin gösterilmesi klinik materyelden izole edilen *Pseudomonas* suşlarının pek çoğunun tanısı için yeterli olur. Fluoresan pigment

oluşturan, 41°C'de üremeyen suşlardan jelatini eritenler *P. fluorescens*, eritmeyenler *P. putida* olarak adlandırılabilir.

Yukarıda belirtilen kısa yollar dışında *Pseudomonas*'ların tanısı birçok biyokimyasal özelliklerinin, bazen kirpiklerinin konumu gibi yapı özelliklerinin incelenmesini gerektirir. Çeşitli testlerde değişiklik gösteren suşlara daima rastlanabildiğinden kesin tür tanısı için klasik kitaplarda belirtilen uzun bir test dizisinin uygulanması kaçınılmazdır (21, 23, 45, 68).

*Pseudomonas* ve diğer nonfermentatif Gram-negatif çomak şeklindeki bakterilerin çabuk tanısı için çeşitli ticari kitler de oluşturulmuştur. Bunlar arasında Oxif (Roche), Corning N/F (Corning), Minitex (MT, BBL), PathoTec Rapid I-D (Warner-Lambert), API 20E (Analytab), Otto ve Pickett'in OA sistemi sayılabilir (42, 58). *Pseudomonas*'ların enzimlerinin incelenmesinin patogenezleri hakkında bilgi vereceği gibi tanıda da yardımcı olabileceği bildirilmiş ve bir çalışmada API ZYM sistemi ile *P. cepacia*'da 19 enzim aktivitesi araştırılmıştır (49). Ayrıca çeşitli bakterilerin identifikasyonunda ve muayene maddesinde varlığının kültüre lüzum kalmadan ispatlanmasında gittikçe geliştirilen ve yaygınlaşan DNA prob tekniği *Pseudomonas*'ların identifikasyonunda da kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknikle yapılan çalışmalar *P. aeruginosa* suşlarının kendi içlerinde yakınlıklarının saptanmasında, dolayısıyla epidemiyolojik açıdan da çok faydalı sonuçlar vereceğini göstermiştir (25, 52).

*Pseudomonas* infeksiyonlarında serolojik tanı rutin kullanılan bir yöntem değildir. Yine de bu konuda bazı çalışmalar yapılmıştır. Pitt ve arkadaşlarının bir çalışmada (48) *P. aeruginosa* izole edilen 325 hastadan alınan 495 serum ve kontrol olarak normal kişilere ait 86 serum kullanılmıştır. Antijen olarak da polivalan-*Pseudomonas* aşısı antijeninin kullanıldığı bu çalışmada hem İHA testi ile, hem CIE ile, infeksiyon geçirenlerde çok daha yüksek titrelerde ve yüksek oranlarda pozitif sonuç almışlardır. Deneylerin akut infeksiyon tanısı için az kıymetli bulgular verdiği fakat *P. aeruginosa* infeksiyonu geçirenlerin yaklaşık üçte birinde antikor cevabını ortaya koyduğu sonucuna varılmıştır.

### Virülans Faktörleri

*Pseudomonas* türleri içinde muayene maddelerinden en sık izole edilen ve ilk tanınanı *P. aeruginosa* olduğu için, virülans faktörleri ile ilgili olarak da en çok bu bakteri ile çalışılmıştır.

*Pseudomonas*'larla infeksiyonun, konağın savunma gücü yanında, bakterinin birçok faktörünün toplu etkisi sonucu ortaya çıktığı, tek bir faktörün patogenezini açıklamada yeterli olmadığı anlaşılmaktadır. Bu faktörler arasında bakterinin oluşturduğu toksinleri, ekzoenzimleri, pigmentleri, pilus müköz maddeler veya lipopolisakkaritler gibi yüzey oluşumlarını, başka bakterileri inhibe eden maddelerini saymak gerekir (14, 63).

Letal toksin olarak da adlandırılan ekzotoksin A *P. aeruginosa*'nın oluşturduğu en önemli virülans faktörü olarak kabul edilir. *P. aeruginosa* suşlarının yaklaşık % 95'i bu toksini oluşturur (52). Çeşitli suşların oluşturduğu ekzotoksin A miktarı çok farklıdır ve suşların optimum üreme koşulları ile en çok toksin oluşturacağı koşullar birbirinden farklıdır. Demir iyonları bakterinin üremesini kamçımlarken toksin oluşumunu inhibe etmektedir. Blumentals ve arkadaşları (3) *P. aeruginosa*'dan en yüksek toksin miktarını elde etmek için ilk aşamada demir içeren, ikinci aşamada demirsiz kompleks bir sentetik besiyerinde iki aşamalı bir kültür yöntemi tarif etmişlerdir. Gliserol ve glutamat içeren fakat nükleik asit

içermeyen besiyerlerinin de toksin oluşumu için uygun olduğu, ancak sustan suşa en uygun besiyerinin farklı olabildiği de bildirilmiştir.

Ekzotoksin A 66.600 mol ağırlığında tek bir polipeptit içeren proteindir (60). Mol ağırlığı 71.000 olarak da bildirilmiştir (50). Salgılandığında proenzim halindedir. Proteolitik klevaj veya denaturasyon ve redüksiyon sonucu aktif ADP-ribosil transferaz haline geçer. Bu nedenle ekzoenzim A olarak da adlandırılır. Proenzim ve enzim arasındaki fark toksinin ilk salgılandığında ökaryot hücrenin reseptörü ile birleşmeyi sağlayan bir kısım içerdiği, bu şekilde hücre içine giren kısmın asıl enzim aktivitesine sahip kısmı oluşturduğu düşünülür (60). Hücreye bağlanan kısım B fragmanı, enzimatik aktiviteye sahip kısım A fragmanı olarak adlandırılır (50). Fragman A 26.000 mol ağırlığındadır (14). Ekzotoksin A'nın, aralarında hiçbir nükleik asit, amino asit dizisi veya antijenik ilişkisi yoksa da, etkisi difteri toksininin A fragmanı ile aynıdır. Ekzotoksin A da, difteri toksini gibi, nikotinamid adenin dinükleotit (NAD)'ten adenosil (ADP) ribozil grubunu ayırarak elongasyon faktörü 2 (EF-2) ile kovalan olarak bağlar ve EF-2'yi modifiye eder; bu şekilde ökaryot hücrede protein sentezi inhibe olur (60). Buna karşılık difteride hedef organ kalp iken ekzotoksin A'da karaciğerdir (68). Fındık farelerine toksin şırınga edildikten 3 saat sonra karaciğerde protein sentezi inhibe olur ve hayvanı ölüme götürür. Fındık faresi için letal doz 3 µg/kg'dır (24); 1 mg'da 12.000-16.000 LD<sub>50</sub> bulunur. Bir diğer deyişle bakterinin lipopolisakkaritinden en az bin defa daha toksiktir. Ekzotoksin A sitotoksik olduğundan lökopeniye, iç organlarda nekrotik ve hemorajik lezyonlara yol açar. İnsan makrofajları için de toksiktir (46). Bu etki bağışıklık sistemi hücrelerinde de görülür ve ekzotoksin A T lenfositlerinde poliklonal aktivasyon gösterir (67). Ekzotoksin A'ya karşı oluşan antitoksin koruyucudur (8, 14) ve farede tek başına koruyucu etki gösterir (33). Bakterinin 0 antijenleri ile ekzotoksin A kovalan bağlandığında toksik etkinin kaybolduğu, bu konjugatın aşısı olarak kullanılabileceği, kendisine karşı hem antitoksin, hem anti-LPS oluşturduğu bildirilmiştir (9). Ancak tek başına antitoksin A birçok deney hayvanında canlı bakteri ile anatoksin hazırlanabilir ve deney hayvanlarında antitoksik bağışıklık oluşturur (51). Letal toksinin insanlarda oluşan infeksiyonlarda da önemli rol oynadığı septisemili hastalarda antitoksin titresi ile yaşama oranı arasındaki ilişki-den anlaşılmaktadır (66). Ekzotoksin A geni *P. aeruginosa* genetiğinde halen üzerinde en çok çalışılan konulardan birini oluşturmaktadır (29, 61).

Ekzotoksin A'ya benzeyen fakat ondan farklı bir *P. aeruginosa* toksini de ekzoenzim S adıyla bildirilmiştir (34). Ekzoenzim S'nin aktivitesi ekzotoksin A'dakinden farklı bir mekanizma ile, ökaryot hücrede bir veya daha fazla proteini modifiye etmesiyle ortaya çıkar. Ekzoenzim S oluşturan ve oluşturmayan *P. aeruginosa* suşları ile siçanda kronik akciğer infeksiyonu modeli üzerinde yapılan çalışmalar ve ekzoenzim S oluşturmeyen suşların yanıklı fındık farelerinde daha az virülans bulunması bu enzimin de patolojide rolü olduğunu göstermektedir (41, 65).

*P. aeruginosa* infeksiyonlarının patogenezinde bakterinin salgıladığı proteolitik enzimler (proteazlar) da rol oynar. *Pseudomonas*'lar birçok proteolitik enzim oluşturur (59). Bunlardan infeksiyonlarda önemli rol oynayanlardan biri elastazdır. Elastaz damarlardaki elastini tahrip ederek deri altında hemorajilere, bu damarların beslediği alanlarda nekrozlara yol açar. Elastaz insan tip III ve IV kollajeni süratle, tip I kollajeni ise daha yavaş olarak etkiler (28). Elastaz, membran tabanlarının kollajen olmayan komponentleri olan

laminin A ve B polipeptidlerini de çabuk olarak tahrip eder ve nekrotizan pnömoni patogenezinde rol oynar (27). Elastazın insan doğal katil (NK) hücrelerinin fonksiyonunu da inhibe ettiği gösterilmiştir (47). Komplemanın C3b ve C5a fragmanlarını inaktive ederek opsonizasyonu da engeller. Elastazdan bir toksoid elde edilmiş (40) ve tavuk yumurta akı ovomakroglobulinin bu enzimin aktivitesini nötralize ettiği, bunun *P. aeruginosa* ile oluşan infeksiyonlarda faydalı olabileceği bildirilmiştir (39).

Elastaz gibi patogenezde rol oynayan bir proteolitik enzim de alkalen proteazdır. Bu proteolitik enzim insan tip I kollageninin yavaş olarak (28), laminin A polipeptidini çabuk, B polipeptidini ise yavaş olarak (27) parçalar. Alkalen proteaz insan T hücrelerinin gamma interferon oluşturmasını inhibe eder ve önceden oluşmuş olan gamma interferonun antiviral aktivitesini azaltır (32).

Elastaz 39.000, alkalen proteaz ise 48.000 mol ağırlığında proteinlerdir. Bunların ortak etkileri arasında korneada opak lezyonlara ve ülser oluşumuna yol açmaları da vardır. Kobay gözünde korneada akut erime nekrozuna neden olurlar; deriye şırınga edildiğinde damar permeabilitesini artırıp ödemeye yol açarlar (39). Domuz trakeasından elde edilen membransız titre tüylerin (aksonemlerin) yapı ve fonksiyonunu bozarlar (30). Kistik fibroz ve akciğer infeksiyonlarından izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının % 93'ünün iki enzimi de oluşturduğu, bu iki enzimin akciğer lezyonlarının oluşmasında önemli oldukları, kistik fibrozlu hastalarda bu enzimleri nötralize eden antikorlar meydana geldiği bildirilmiştir (15).

Elastaz ve alkalen proteazın lokalize infeksiyonların patogenezinde daha önemli rol oynadıkları gösterilmiştir (14).

*P. aeruginosa* hemolitik etkisi olan iki madde salgılar. *P. aeruginosa* çeşitli glikolipidler salgılayan tek Gram-negatif bakteridir (14). Salgıladığı bu glikolipidlerden biri olan ramnolipid 2 ramnoz ve 2 beta-hidroksidekanoik asitten oluşan 660 mol ağırlığında bir sitotoksindir. Yalnız eritrositleri eritmez, diğer hücrelerin membranlarına da deterjan etkisi gösterir. Ayrıca fosfolipaz C'nin aktivitesine de yardımcı olduğu düşünüldür. *P. aeruginosa*'nın 1 ramnoz, 2 beta-hidroksidekanoik asit içeren ve aynı etkileri gösteren ybir ikinci glikolipid daha sentezlediği de gösterilmiştir (22). Bu iki ikinci madde, 76.000-78.000 mol ağırlığındaki fosfolipaz C'dir (2). Bu enzimin deri lezyonlarında ve akciğer lezyonlarında önemi vardır. Akciğerlerde alveol yüzeylerini kaplayan, surfaktanlar olarak bilinen, fosfolipitten zengin maddeleri solubilize ederek akciğerlere zarar verir. Fosfolipaz C'nin ısıya duyarlı hemolizin olduğu, farede paraliyze, deri nekrozuna, taban şişmesine, damar permeabilitesinin artmasına ve ölüme yol açtığı gösterilmiştir (1).

*P. aeruginosa*'nın infeksiyon oluşturmasında D-mannuronik asit ve L-guluronik asitten oluşan alginik asit benzeri bir ekzopolisakkaritin önemi olduğu, daha çok mukoid suşlar tarafından oluşturulan bu maddenin antifagositer aktivitesi dolayısıyla bir virulans faktörü olarak kabul edilmesi gerekeceği, bunun yanında bazı suşların polimannuronik asit depolimeraz aktivitesi olan ve bu ekzopolisakkariti degrade eden bir enzim salgıladığı bildirilmiştir (16). Ayrıca alginik asit benzeri ekzopolisakkarit salgılayan suşların alginaz ile muamelesinin fagositozlarını kolaylaştırdığı gösterilmiştir (17). Bu ekzopolisakkaritler bitki patojeni suşların patojenitelerinde de rol oynamaktadır (19).

*Pseudomonas*'ların vücut antijenlerini oluşturan LPS'in bakterilerin patojenitesinde ve bunlara karşı oluşan antikorların *Pseudomonas* infeksiyonlarına dirençte önemi vardır (10). Ancak *Pseudomonas* LPS'lerinin toksisitesi *Enterobacteriaceae* ailesindeki kadar yüksek değildir (21).

*P. aeruginosa*'nın tavşan barsak kangalında sıvı toplanmasına yol açan bir enterotoksin oluşturduğu bildirilmişse de (37), bu toksin saflaştırılmamış ve daha sonraki çalışmalarda teyid edilmemiştir.

Yukarıda sözü edilenler dışında *P. aeruginosa*'nın virülansı ile ilgili olabilecek çeşitli faktörler bildirilmiştir. Örneğin 25.100 daltonluk, enzim aktivitesi olmayan asidik sitotoksik bir proteinin hücre membranlarını etkilediği, sepsis ve akciğer infeksiyonlarında bu proteinin oluşturduğu mikrovasküler lezyonların önemli olabileceği ileri sürülmüştür (54). *P. aeruginosa*'nın insan trakeası epitel hücrelerinin titre tüyelerine selektif olarak yapışma kabiliyetinin akciğer infeksiyonlarında rol oynadığı gösterilmiştir (20). *P. aeruginosa*'nın oluşturduğu piluslar da solunum sistemi epitel hücrelerine bakterinin yapışmasında etkili olarak infeksiyon oluşmasında bir rol oynar (12). Kapsüllü suşların oluşturduğu glikokaliks de denen kapsül maddesi özellikle akciğer infeksiyonlarında fagositozu önleyerek patogenezde katkıda bulunur (68).

*P. aeruginosa*'nın patojenliğinde çeşitli faktörlerin bir arada rol oynadığına güzel bir örnek oluşturan bir çalışmada Hingley ve arkadaşları (31) tavşan solunum yolu titre tüyelerine siliostatik etkinin görülmesinden en az 7 faktörün rol aldığını göstermişlerdir. Araştırmacılar *P. aeruginosa* kültür üst sıvısında varlığı bildirilen bu 7 faktörden piyoverdin türevlerinin tüylerde lezyon oluşturmadan inhibisyon yaptığını; fenazin türevlerinin hem inhibisyon, hem ultrastrüktürel lezyonlar yaptıklarını; ramnolipidlerin ise kısa sürede tüylerin membranında değişikliklerle birlikte inhibisyon, uzun sürede ise aksonemde tahribat oluşturduklarını; siliostatik olarak piyoverdin türevlerinin, tahribat yönünden ramnolipidlerin etkili faktörler olduklarını; bu faktörlerin beraberce bakterinin üst solunum yollarında kolonize olmasında rol aldığını ileri sürmüşlerdir (31).

*P. aeruginosa*'nın oluşturduğu virülans faktörleri suştan suşa değiştiği gibi suşun bulunduğu çevreye göre de değişir ve belirli klinik tablolarda rol oynayan suşların bazı virülans faktörlerini daha fazla, diğerlerini daha az oluşturduğu gösterilmiştir. Örneğin Woods ve arkadaşlarının (64) bir çalışmasında akut akciğer infeksiyonlarından izole edilen suşların daha fazla elastaz, idrar ve kandan izole edilen suşların daha fazla fosfolipaz C, kandan izole edilen suşların daha fazla ekzotoksin A, akut pnömoni olgularında izole edilen suşların daha fazla ekzoenzim S oluşturdukları saptanmıştır. Elastaz ve alkalen protez özellikle kornea ve deri infeksiyonlarında (lokal infeksiyonlarda) önemlidirler.

*P. aeruginosa* dışında diğer *Pseudomonas*'lar da neden oldukları hastalıkların patogenezinde rol oynayan çeşitli toksik maddeler oluştururlar. Örneğin elastaz, proteaz gibi ekzoenzimler insandan etken olarak ikinci sıklıkla izole edilen *P. maltophilia* ve ayrıca *P. cepacia* tarafından da sentezlenir (4). Ancak diğer *Pseudomonas*'ların toksin ve enzimleri *P. aeruginosa*'ninkilerden çok daha az incelenmiştir.

*P. aeruginosa* cinsinin en göze batan özelliklerinden biri birçok türün pigment oluşturmalarıdır. *P. aeruginosa* tanınmadan önce oluşturduğu "mavi cerahat" tanınmış ve bakterinin 1882'de tanınmasından çok önce 1860'da pigment üzerinde çalışmalar başlamıştır (21).

*Pseudomonas*'ların oluşturduğu pigmentler piyoverdinler, fenazinler ve karotenoidler olarak 3 grupta incelenebilir.

Piyoverdinler insanda infeksiyon etkeni olabilen türlerden *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* ve *P. putida* tarafından, ayrıca doğada yaşayan veya bitki patojeni olan çeşitli türler tarafından sentezlenen, UV ışığında mavi, yeşil beyaz (renksiz), nadiren menekşe fluoresans veren pigmentlerdir. Fluore-

sein veya fluoresin olarak da adlandırılırlar. Suda eriyen, besiyerine yayılan, 1.000-1.500 dalton dolayında mol ağırlığında olan, besiyerinde çeşitli degradasyon ürünleri bulunabilen piyoverdinlerin demir iyonlarının transportunda görevi vardır. Yapıları tam olarak bilinmemekle beraber bir siklik peptite bağlanmış kromofor gruptan oluştuğu, çeşitli türlerde farklı yapıda piyoverdinlerin bulunduğu bilinmektedir.

Fenazin pigmentler doğada yalnız bakteriler tarafından sentezlenir ve *Pseudomonas*'ların oluşturduğu 30 kadar Fenazin pigment vardır. Bunlardan piyosyaninin yalnız *P. aeruginosa* tarafından oluşturulduğu yukarıda belirtilmiştir. Fenazin pigmentleri suda erir ve besiyerine yayılır. Piyosyanin kloroformda da erir. *P. aeruginosa* 9-10 kadar fenazin yapısında pigment oluşturur. Bunlardan aeruginosin A ve aeruginosin B de yalnız *P. aeruginosa* kültürlerinde bulunan piyoverdin olarak da adlandırılan kırmızı renkte pigmentlerdir. Bazı *P. aeruginosa* suşları, suda eriyen, fenazin yapısında olmayan, kırmızı-kahverengi piyomelanin de oluşturur.

Karotenoid pigmentler ise bazı *Pseudomonas*'lar tarafından oluşturulan, suda erimeyen, bakteri hücrelerine bağlı kalan pigmentlerdir.

*Pseudomonas*'ların pigmentleri hakkında daha geniş bilgi bir başka yayınımda verilmiştir (59).

*Pseudomonas*'ların pigmentlerini önemli bir virülans faktörü olarak değerlendiren az yayın vardır. Örneğin bazı yayınlarda piyoverdinlerin solunum yolu infeksiyonlarında, epitel hücrelerinin titre tüylerine siliostatik etki göstererek rol oynadığı ileri sürülmüştür (31). Ayrıca bu pigmentler, bakteri metabolizmasındaki rollerden başka, diğer bakterilere ve protozoonlara inhibitör etki gösterirler. Örneğin bir zamanlar şarbon tedavisinde piyosyanaz adı ile kullanılan ekstraktta etkili madde alfa-oksifenazinden ibaret bir pigmenttir. Dolayısıyla *Pseudomonas* pigmentleri flora içeren vücut yüzeylerinde ve doğada diğer mikroorganizmaları inhibe ederek *Pseudomonas*'ların barınmasına yardımcı olurlar ve virulansta indirekt bir rol oynayabilirler.

#### Kaynaklar

- Berk R S, Brown D, Coutinho I, Meyers D: In vivo studies with two phospholipase C fractions from *Pseudomonas aeruginosa*, *Infect Immun* 55: 1728 (1987).
- Berka R M, Vasil M L: Phospholipase C (heat-labile hemolysin) of *Pseudomonas aeruginosa*: purification and preliminary characterization, *J Bacteriol* 152: 239 (1982).
- Blumentals I I, Kelly R M, Gorziglia M, Kaufman J B, Shiloach J: Development of a defined medium and two-step culturing method for improved exotoxin A yield from *Pseudomonas aeruginosa*, *Appl Environ Microbiol* 53: 2013 (1987).
- Bottone E J, Reitano M, Janda J M, Troy K, Cutzner J: *Pseudomonas maltophilia* exoenzyme activity as correlate in pathogenesis of ecthyma gangrenosum, *J Clin Microbiol* 24: 995 (1986).
- Campbell M E, Farmer S W, Speert D P: New selective medium for *Pseudomonas aeruginosa* with phenanthroline and 9-chloro-9-[4-(diethylamino) phenyl]-9,10-dihydro-10-phenylacridine hydrochloride (C-390), *J Clin Microbiol* 26: 1910 (1988).
- Carson L A, Tablan C O, Cusick L B, Jarvis W R, Favero M S, Bland L A: Comparative evaluation of selective media for isolation of *Pseudomonas cepacia* from cystic fibrosis patients and environmental sources, *J Clin Microbiol* 26: 2096 (1988).
- Connor B J, Kopecky R T, Frymoyer P A, Forbes B A: Recurrent *Pseudomonas luteola* (CDC Group Ve-1) peritonitis in a patient undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis, *J Clin Microbiol* 26: 1113 (1987).
- Cross A S, Sadoff J C, Iglewski B H, Sokol P A: Evidence for the role of toxin A in the pathogenesis of infection with *Pseudomonas aeruginosa* in humans, *J Infect Dis* 142: 538 (1980).
- Cryz S J Jr, Lang A B, Sadoff J C, Germanier R, Furer E: Vaccine potential of *Pseudomonas aeruginosa* O-polysaccharide-toxin A conjugates, *Infect Immun* 55: 1547 (1987).
- Cryz S J Jr, Meadow P M, Furer E, Germanier R: Protection against fatal *Pseudomonas aeruginosa* sepsis by immunization with smooth and rough lipopolysaccharides, *Eur J Clin Microbiol* 4: 180 (1985).
- De Vicente A, Borrego J J, Arrabal F, Romero P: Comparative study of selective media for enumeration of *Pseudomonas aeruginosa* from water by membrane filtration, *Appl Environ Microbiol* 51: 832 (1986).
- Doig P, Todd T, Sastry P A, Lee K, Hodges R S, Paranchych W, Irvin R T: Role of pili in adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* to human respiratory epithelial cells, *Infect Immun* 56: 1641 (1988).
- Doudoroff M, Palleroni N J: Gram negative aerobic rods and cocci: Genus I. *Pseudomonas*, "Buchanan R E, Gibbons N E (ed): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8. baskı" kitabında s. 217, Williams and Wilkins Co, Baltimore (1975).
- Döring G, Maier M, Müller E, Bibi Z, Tümmler B, Kharazmi A: Virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*, *Antibiot Chemother* 39: 136 (1987).
- Döring C, Obernesser H-J, Botzenhart K, Flehming B, Hoiby N, Hofmann A: Proteases of *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis, *J Infect Dis* 147: 744 (1983).
- Dunne W M Jr, Buckmire F L A: Partial purification and characterization of a polymanmuronon acid depolymerase produced by a mucoid strain of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a patient with cystic fibrosis, *Appl Environ Microbiol* 50: 562 (1985).
- Eftekhar F, Speert D P: Alginase treatment of mucoid *Pseudomonas aeruginosa* enhances phagocytosis by human monocyte-derived macrophages, *Infect Immun* 56: 2788 (1988).
- Fader R C, Latimer J, Bannister E, Lucia H: Evaluation of 9-chloro-9-[4-(diethylamino) phenyl]-9,10-dihydro-10-phenylacridine hydrochloride (C-390) in broth and agar media for identification of *Pseudomonas aeruginosa*, *J Clin Microbiol* 26: 1901 (1988).
- Felt W, Osman S F, Fishman M L, Siebles T S III: Alginate production by plant-pathogenic *Pseudomonas*, *Appl Environ Microbiol* 52: 466 (1986).
- Franklin A L, Todd T, Gurman G, Black D, Mankinen-Irvin P M, Irvin R T: Adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to cilia of human tracheal epithelial cells, *Infect Immun* 55: 1523 (1987).
- Freeman B A: *Burrows Textbook of Microbiology*, 22. baskı, s. 544, W B Saunders, Philadelphia-London-Tokyo (1985).
- Fujita K, Akino T, Yoshioka H: Characteristics of heat-stable extracellular hemolysin from *Pseudomonas aeruginosa*, *Infect Immun* 56: 1385 (1988).
- Gilardi G L: *Pseudomonas*, "Manual of Clinical Microbiology", 4. baskı" kitabında s. 350, Amer Soc Microbiol, Washington (1985).
- Gill D M: Bacterial toxins: a table of lethal amounts, *Microbiol Rev* 46: 86 (1982).
- Grothues D, Koopmann U, von der Hardt H, Tümmler B: Genome fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* indicates colonization of cystic fibrosis siblings with closely related strains, *J Clin Microbiol* 26: 1973 (1988).
- Hagedorn C, Gould W D, Bardinelli T R, Gustavson D R: A selective medium for enumeration and recovery of *Pseudomonas cepacia* biotypes from soil, *Appl Environ Microbiol* 53: 2265 (1987).
- Heck L W, Morihara K, Abrahamson D R: Degradation of soluble laminin and depletion of tissue-associated basement membrane laminin by *Pseudomonas aeruginosa* elastase and alkaline protease, *Infect Immun* 54: 149 (1986).
- Heck L W, Morihara K, McRae W B, Miller E J: Specific cleavage of human type III and IV collagens by *Pseudomonas aeruginosa* elastase, *Infect Immun* 51: 115 (1986).
- Hindahl M S, Frank D W, Iglewski B H: Molecular studies of a positive regulator of toxin A synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*, *Antibiot Chemother* 39: 279 (1987).

- 30- Hingley S T, Hastie A T, Kueppers F, Higgins M L: Disruption of respiratory cilia by proteases including those of *Pseudomonas aeruginosa*, *Infect Immun* 54: 379 (1986).
- 31- Hingley S T, Hastie A T, Kueppers F, Higgins M L, Weinbaum G, Shryock T: Effect of ciliostatic factors from *Pseudomonas aeruginosa* on rabbit respiratory cilia, *Infect Immun* 51: 254 (1986).
- 32- Horvat R T, Parmely M J: *Pseudomonas aeruginosa* alkaline protease degrades human gamma interferon and inhibits its bioactivity, *Infect Immun* 56: 2925 (1988).
- 33- Hugh R, Gilardi G L: *Pseudomonas*, "Lennette E H, Balows A, Hausler W J Jr, Truant J P (ed): *Manual of Clinical Microbiology*, 3 baskı" kitabında s. 288, Amer Soc Microbiol, Washington (1980).
- 34- Iglewski B H, Sadoff J, Bjorn M J, Maxwell E S: *Pseudomonas aeruginosa* exoenzyme S: an adenosine diphosphate ribosyltransferase distinct from toxin A, *Proc Natl Acad Sci USA* 75: 3211 (1978).
- 35- King E O, Ward M K, Rancy D E: Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin, *J Lab Clin Med* 44: 301 (1954).
- 36- Krueger C L, Sheikh W: A new selective medium for isolating *Pseudomonas* spp. from water, *Appl Environ Microbiol* 53: 895 (1987).
- 37- Kubota Y, Liu P V: An enterotoxin of *Pseudomonas aeruginosa*, *J Infect Dis* 123: 97 (1971).
- 38- Lowbury E J L, Collins A G: The use of a new cetrimide product in a selective medium for *Pseudomonas pyocyanea*, *J Clin Pathol* 8: 47 (1955).
- 39- Molla A, Matsumura Y, Yamamoto T, Okamura R, Maeda H: Pathogenic capacity of proteases from *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa* and their suppression by chicken egg white ovomacroglobulin, *Infect Immun* 55: 2509 (1987).
- 40- Morihara K, Homma J Y: New method of preparing elastase toxoid from *Pseudomonas aeruginosa*, *J Clin Microbiol* 23: 53 (1986).
- 41- Nicas T I, Frank D W, Stenzel F, Lile J D, Iglewski B H: Role of exoenzyme S in chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infections, *Eur J Clin Microbiol* 4: 175 (1985).
- 42- Otto L A, Pickett M J: Rapid method for identification of Gram-negative, nonfermentative bacilli, *J Clin Microbiol* 3: 566 (1976).
- 43- Ökten Z: *Tıbbi Bakteriyoloji*, 2. cilt, 2. baskı. s. 361, İstanbul Tıp Fakültesi Yayını No. 38, İstanbul (1960).
- 44- Özcek Ö, Çetin E T, Töreci K: *Pseudomonas aeruginosa*'nın pyocyanin teşkil edebileceği uygun besiyerleri, *Tıp Fak Mecm (İstanbul)* 22: 1252 (1959).
- 45- Palleroni N J: Family I. *Pseudomonadaceae*; Genus I. *Pseudomonas*, "Krieg N R, Holt J G: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1" kityabında s. 141, Williams and Wilkins, Baltimore-London (1984).
- 46- Parker M T: *Pseudomonas*, "Wilson G, Miles A, Parker M T (ed): *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity*, Vol 2: *Systematic Bacteriology*, 7. baskı" kitabında s. 246, Edward Arnold, London (1984).
- 47- Pedersen B K, Kharazmi A: Inhibition of human natural killer cell activity by *Pseudomonas aeruginosa* alkaline protease and elastase, *Infect Immun* 55: 986 (1987).
- 48- Pitt T L, Todd H C, Mackintosh C A, Im S W K: Evaluation of three serological tests for detection of antibody to *Pseudomonas aeruginosa* in human sera, *Eur J Clin Microbiol* 4: 190 (1985).
- 49- Poh C L, Loh G K: Enzymatic characterization of *Pseudomonas cepacia* by API ZYM profile, *J Clin Microbiol* 26: 607 (1988).
- 50- Pollack M: The role of exotoxin A in *Pseudomonas* disease and immunity, *Rev Infect Dis* 5 (Suppl 5): S979 (1983).
- 51- Pollack M, Young L S: Protective activity of antibodies to exotoxin A and lipopolysaccharides of *Pseudomonas aeruginosa* at onset of septicemia in man, *J Clin Invest* 63: 276 (1979).
- 52- Samadpour M, Moseley S L, Lory S: Biotinylated DNA probes for exotoxin A and pilin genes in the differentiation of *Pseudomonas aeruginosa* strains, *J Clin Microbiol* 26: 2319 (1988).
- 53- Sands D C, Revira A D: Isolation of fluorescent *Pseudomonas* with a selective medium, *Appl Microbiol* 20: 513 (1970).
- 54- Seeger W, Walmrath D, Neuhoef H, Lutz F: Pulmonary microvascular injury induced by *Pseudomonas aeruginosa* in isolated rabbit lungs, *Infect Immun* 52: 846 (1986).
- 55- Skerman V B D, McGowan V, Sneath P H A: Approved lists of bacterial names, *Int J Syst Bacteriol* 30: 225 (1980).
- 56- Solberg M, O'leary, V S, Riha W E Jr: New medium for the isolation and enumeration of *Pseudomonas*, *Appl Microbiol* 24: 544 (1972).
- 57- Tablan O C, Carson L A, Cusick L B, Bland L A, Martone W J, Jarvis W R: Laboratory proficiency test results on use of selective media for isolating *Pseudomonas cepacia* from simulated sputum specimens of patients with cystic fibrosis, *J Clin Microbiol* 25: 485 (1987).
- 58- Töreci K: *Pseudomonas aeruginosa*'nın bakteriyolojik tanısı, "2. Ulusal KÜKEM Kongresi" kitabında s. 51, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul (1981).
- 59- Töreci K, Güner Ü: *Pseudomonas aeruginosa*'nın pigmentleri, toksinleri ve enzimleri, "2. Ulusal KÜKEM Kongresi" kitabında s. 77, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul (1981).
- 60- Vasil M L, Chamberlain C, Grant C R: Molecular studies of *Pseudomonas* exotoxin A gene, *Infect Immun* 52: 538 (1986).
- 61- Vasil M L, Ogle J W, Grant C C R, Vasil A I: Recombinant DNA approaches to the study of the regulation of virulence factors and epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa*, *Antibiot Chemother* 39: 264 (1987).
- 62- Welch D F, Muszynski M J, Pai C H, Marcon M J, Hribar M M, Gilligan P H, Matsen J M, Ahlin P A, Hilman B C, Chartrand S A: Selective and differential medium for recovery of *Pseudomonas cepacia* from the respiratory tracts of patients with cystic fibrosis, *J Clin Microbiol* 25: 1730 (1987).
- 63- Woods D E: Pathogenesis of acute and chronic *Pseudomonas aeruginosa* infections, *Antibiot Chemother* 39: 160 (1987).
- 64- Woods D E, Schaffer M S, Rabin H R, Campbell G D, Sokol P A: Phenotypic comparison of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a variety of clinical sites, *J Clin Microbiol* 24: 260 (1986).
- 65- Woods D E, Sokol P A: Use of transposon mutants to assess the role of exoenzyme S in chronic pulmonary disease due to *Pseudomonas aeruginosa*, *Eur J Clin Microbiol* 4: 163 (1985).
- 66- Young L S, Pollack M: Immunologic approaches to the prophylaxis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection, "Sabath L D (ed): *Pseudomonas aeruginosa: the Organism, Diseases it Causes, and their Treatment*" kitabında s. 119, Hans Huber Publ, Bern-Stuttgart-Vienna (1980).
- 67- Zehavi-Willner T: Induction of murine cytolytic T lymphocytes by *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A, *Infect Immun* 56: 213 (1988).
- 68- Zwadyk P: *Pseudomonas*, "Joklik W K, Willett H P, Amos D B, Wilfert C M (ed): *Zinsser Microbiology*, 19. baskı" kitabında s. 487, Appleton and Lange, Norwalk-San Mateo (1988).