

**ÇEŞİTLİ GIDA ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS*
TÜRLERİNDE SİDEROFOR VARLIĞI, SERUM DİRENCİ,
GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ (GSBL) ÜRETİMİ
VE ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN BELİRLENMESİ**

Gülcan AYDIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2010

ANKARA

Gülcan AYDIN tarafından hazırlanan ÇEŞİTLİ GIDA ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS* TÜRLERİNDE SİDEROFOR VARLIĞI, SERUM DİRENCİ, GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ (GSBL) ÜRETİMİ VE ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN BELİRLENMESİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Sumru ÇITAK

.....

Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı, G. Ü.

Bu çalışma jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR

.....

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, H. Ü.

Doç. Dr. Sumru ÇITAK

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, G. Ü.

Doç. Dr. Nihal YÜCEL

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, G. Ü.

Tarih : 02 /07 / 2010

Bu tez ile Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Bilal TOKLU

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Gülcan Aydın

**ÇEŞİTLİ GIDA ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN *PSEUDOMONAS*
TÜRLERİNDE SİDEROFOR VARLIĞI, SERUM DİRENCİ, GENİŞLEMİŞ
SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ (GSBL) ÜRETİMİ VE ANTİBİYOTİK
DİRENCİNİN BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Gülcan AYDIN

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Temmuz 2010

ÖZET

Araştırmamızda Mart 2008-Aralık 2009 tarihleri arasında Ankara'nın çeşitli köylerinden toplanan 20 çiğ süt örneği, çeşitli satış noktalarında tüketime sunulan 20 beyaz peynir, 20 dondurma, 20 dana kıyma, 20 dana kuşbaşı ve 20 tavuk göğüs eti örneği materyal olarak kullanılmıştır. Çalışılan 120 örnekten *Pseudomonas* izolasyonu gerçekleştirilerek, tür seviyesindeki tanımlamaları Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification Systems ve Enteric/Nonfermenter ID Kit ile yapılmıştır. Tanımlamaları yapılan *Pseudomonas* türlerinde; siderofor varlığı, serum direnci, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi, indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) üretimi ve antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır. Gıda örneklerinden izole edilen 154 *Pseudomonas* izolatının 57'si (%37,0) *P.aeruginosa*, 52'si (%33,8) *P.fluorescens*, 43'ü (%27,9) *P.putida*, 2'si *P. stutzeri* (%1,3) olarak tanımlanmıştır. Gıda örneklerinden izole edilen 154 *Pseudomonas* izolatının tamamında siderofor üretimi tespit edilmiştir. İnsan serumuna dirençliliğini araştırdığımız 154 *Pseudomonas* izolatının 117'si (%76,0) serumda dirençli, 28'i

(%18,2) duyarlı, 9'u (%5,8) orta duyarlı bulunmuştur. Çift disk sinerji yöntemiyle, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimini araştırdığımız 154 *Pseudomonas* izolatının hiçbirinde GSBL üretimi tespit edilmemiştir. Disk indüksiyon yöntemine göre indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) üretimini araştırdığımızda 154 *Pseudomonas* izolatının 35'inde (%22,7) İBL üretimi tespit edilmiştir. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik dirençliliklerini araştırdığımız 154 *Pseudomonas*'ın 89'u (%57,8) cefotaxime, 87'si (%56,5) azteronam, 58'i (%37,7) ceftriaxone, 41'i (%26,6) ticarcillin/clavulonic acid, 4'ü (%2,6) colistin, 4'ü (%2,6) ceftazidime antibiyotiğine dirençli olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen *Pseudomonas*'ların tamamının ciprofloxacın, gentamicin ve piperacillin antibiyotiklerine duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Bilim Kodu : 203.1.010
Anahtar Kelimeler : *Pseudomonas*, gıda, siderofor varlığı, serum direnci, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL)
Sayfa Adeti : 105
Tez Yöneticisi : Doç. Dr. Sumru ÇITAK

**DETERMINATION OF SIDEROPHORE PRODUCTION, SERUM
RESISTANCE, PRODUCTION OF EXTENDED SPECTRUM BETA-
LACTAMASE (ESBL) AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF
PSEUDOMONAS SPECIES ISOLATED FROM VARIOUS OF FOOD
PRODUCTS
(M.Sc.Thesis)**

Gülcan AYDIN

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

July 2010

ABSTRACT

In this research; we examined 20 raw milk samples collected from various villages of Ankara, 20 white cheese, 20 icecream, 20 minced meat, 20 meat in small pieces, 20 chicken breast collected from different sale points in Ankara, as material between March 2008 and December 2009. *Pseudomonas* species were isolated from food samples and identified with Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification Systems and Enteric/Nonfermenter ID Kit. Identified *Pseudomonas* species were analysed in terms of virulence factors such as siderophore production and serum resistance. Furthermore production of extended spectrum beta-lactamases (ESBL), inducible beta-lactamases (IBL) and antibiotic resistance characteristics were analysed. The rate of distribution 154 *Pseudomonas* strains, isolated from food samples, was 57 (37,0%) *P.aeruginosa*, 52 (33,8%) *P.fluorescens*, 43 (27,9%) *P.putida*, 2 *P. stutzeri* (1,3%). It was determined that 154 *Pseudomonas* isolates (100%) siderophore producers. 117 (76,0%) of total 154 *Pseudomonas* isolates were determined as

resistant to human serum. Detection of extended spectrum of beta-lactamases (ESBL) was made with double disc synergy method and none of *Pseudomonas* isolates were established ESBL producers. Detection of inducible beta-lactamases (IBL) was made with disc induction method and 35 (22,7%) of total 154 *Pseudomonas* isolates were found as IBL producers. Antibiotic sensitivities of *Pseudomonas* isolates were detected Kirby-Bauer disc diffusion method. The distribution of antibiotic resistances of *Pseudomonas* isolates was 89 (%57,8) cefotaxime, 87 (%56,5) azteronam, 58 (%37,7) ceftriaxone, 41 (%26,6) ticarcillin/clavulonic acid, 4 (%2,6) colistin, 4 (%2,6) ceftazidime. All *Pseudomonas* isolates were determined as susceptible to ciprofloxacin, gentamicin and piperacillin.

Science Code : 203.1.010

Key Words : *Pseudomonas*, food products, siderophore, serum resistance, extended spectrum beta-lactamase (ESBL)

Page Number : 105

Adviser : Assoc. Prof. Dr. Sumru ÇITAK

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesinde bana yardımcı olan, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, teşvikleriyle beni destekleyen Sayın Hocam Doç.Dr. Sumru ÇITAK'a; bilgi ve deneyimlerinden faydalanma olanağı bulduğum hocalarım Sayın Doç. Dr. Neslihan Gündoğan ve Sayın Doç. Dr. Nihal Yücel'e ; laboratuvar çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimleriyle bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Dr. Ebru Yılmaz'a ; doğduğum günden beri her koşulda yanımda olan, yetişmemde büyük özveriler gösteren babam Naim AYDIN ve annem Hediye AYDIN'a, hiçbir koşulda desteklerini benden esirgemeyen kardeşlerim Nurcan AYDIN ve Sercan AYDIN'a ; lisans hayatımdan bu yana hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan, maddi ve manevi her şekilde bana destek olan Ş.Ceren ÖÇAL'a; Yücem ŞAVLUĞ'a, bir arada çalıştığım tüm laboratuvar arkadaşlarıma ve bu süreçte beni her şekilde desteklemiş olan bütün arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. <i>Pseudomonas</i> 'ların Tarihçesi	4
2.2. <i>Pseudomonas</i> 'ların Genel Özellikleri	4
2.2.1. <i>Pseudomonas</i> türleri	7
2.3. <i>Pseudomonas</i> 'ların Gıda Ürünleriyle İlişkisi	10
2.4. Sütün Bileşimi ve Mikrobiyolojik Kalitesi	11
2.5. Etin Bileşimi ve Mikrobiyolojik Kalitesi	16
2.6. Siderofor Üretimi	23
2.7. Serum Direnci	24
2.8. Antimikrobiyal Duyarlılık	26
2.9. Beta Laktamazlar	30
2.9.1. İndüklenebilir beta-laktamazlar (İBL)	34
2.9.2. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)	35
3. MATERYAL VE METOD	37
3.1. Örneklerin Alınması ve Analize Hazırlanması	37

sayfa

3.1.1. Çiğ süt örneklerinin analize hazırlanması.....	37
3.1.2. Dondurma örneklerinin analize hazırlanması.....	38
3.1.3. Peynir ve et örneklerinin analize hazırlanması.....	38
3.2. Gıda Örneklerinden <i>Pseudomonas</i> İzolasyonu ve İzolatların Tanımlanması	38
3.3. Gıda Örneklerinden <i>Pseudomonas</i> İzolasyonu ile İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve İçerikleri	39
3.4. Gıda Örneklerinden İzole Edilen <i>Pseudomonas</i> 'ların İdentifikasyonu İçin Yapılan Testler	45
3.4.1. Gram boyama yöntemi	45
3.4.2. Oksidaz testi.....	45
3.4.3. Katalaz testi	45
3.4.4. Hareket testi	46
3.4.5. Oksidasyon-fermentasyon (O/F-Glukoz) testi.....	46
3.4.6. İndol testi	47
3.4.7. Triple sugar iron (TSI) besiyerinde üreme	47
3.4.8. Sitrat testi	48
3.4.9. Metil-Red (MR) - Voges-Proskauer (VP) testi.....	48
3.5. <i>Pseudomonas</i> İzolatlarının Tür Seviyesinde Tanımlanması	49
3.6. <i>Pseudomonas</i> Türlerinde Virülans Faktörlerin Belirlenmesi	49
3.6.1. <i>Pseudomonas</i> türlerinde siderofor varlığının tayini	49
3.6.2. <i>Pseudomonas</i> türlerinde serum direncinin belirlenmesi.....	51
3.7. <i>Pseudomonas</i> Türlerinde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) ve İndüklenebilir Beta-Laktamaz (İBL) Varlığının Araştırılması	53
3.7.1. GSBL varlığının tayini	53
3.7.2. İBL varlığının tayini	53

	sayfa
3.8. <i>Pseudomonas</i> Türlerinin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi	54
4. BULGULAR	56
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	73
KAYNAKLAR.....	89
ÖZGEÇMİŞ.....	104

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	sayfa
Çizelge 3.1. Araştırmamızda Kullanılan Antibiyotik Diskleri ve Duyarlılık sınırları.....	55
Çizelge 4.1. <i>Pseudomonas</i> türlerinin izole edildiği materyallere göre dağılımları.....	56
Çizelge 4.2. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen <i>pseudomonas</i> 'ların türlere göre dağılımı.....	57
Çizelge 4.3. Et ve et ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'ların türlere göre dağılımı.....	58
Çizelge 4.4. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'ların türlere göre dağılımı.....	59
Çizelge 4.5. <i>Pseudomonas</i> 'lardaki siderofor üretiminin süt ve süt ürünü örneklerine göre dağılımı.....	59
Çizelge 4.6. <i>Pseudomonas</i> 'lardaki siderofor üretiminin et örneklerine göre dağılımı.....	60
Çizelge 4.7. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'lardaki serum direncinin dağılımı.....	60
Çizelge 4.8. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'lardaki serum direncinin türlere göre dağılımı.....	61
Çizelge 4.9. Et ve et ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'lardaki serum direncinin dağılımı.....	62
Çizelge 4.10. Et ve et ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'lardaki serum direncinin türlere göre dağılımı.....	63
Çizelge 4.11. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'lardaki serum direncinin türlere göre dağılımı.....	63
Çizelge 4.12. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'lardaki İBL üretiminin dağılımı.....	64
Çizelge 4.13. Süt ve süt Ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'lardaki İBL üretiminin türlere göre dağılımı.....	65
Çizelge 4.14. Et ve et ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'lardaki İBL üretiminin dağılımı.....	65

Çizelge	sayfa
Çizelge 4.15. Et ve et ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'lardaki İBL üretiminin türlere göre dağılımı.....	66
Çizelge 4.16. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'lardaki İBL üretiminin dağılımı.....	67
Çizelge 4.17. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'ların antibiyotik hassasiyetlerinin dağılımı.....	68
Çizelge 4.18. Et ve et ürünlerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'ların antibiyotik hassasiyetlerinin dağılımı.....	69
Çizelge 4.19. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'ların antibiyotik hassasiyetlerinin dağılımı.....	70
Çizelge 4.20. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Pseudomonas</i> 'ların antibiyotik dirençliliklerinin türlere göre dağılımı.....	71

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	sayfa
Resim 3.1. <i>Pseudomonas</i> kolonilerinin <i>Pseudomonas</i> CFC agar besiyerindeki görünümü.....	38
Resim 3.2. Oksidaz testi.....	45
Resim 3.3. Katalaz testi.....	46
Resim 3.4. Hareket testi (Pozitif Sonuç).....	46
Resim 3.5. Oksidasyon-fermantasyon testi.....	47
Resim 3.6. İndol testi.....	47
Resim 3.7. Sitrat testi.....	48
Resim 3.8. MR-VP testi sonuçları.....	49
Resim 3.9. Siderofor üreten kolonilerin CAS agardaki görüntüsü.....	51
Resim 3.10. Serum direnci testi sonuçları.....	53
Resim 3.11. İndüklenebilir beta-laktamaz enzim aktivitesi gösteren suşlar.....	55

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
α	Alfa
pH	Asitlik değeri
β	Beta
gr	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
L	Litre
μ	Mikron
μ g	Mikrogram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
-	Negatif
+	Pozitif
°C	Derece Santigrat
Kısaltmalar	Açıklama
NaCl	Sodyum Klorür
KOH	Potasyum Hidroksit
ATCC	American Type Culture Collection
BL	Beta-Laktamaz
CAS	Chrome Azurol Sulphate
CFC	Cetrimide-Fucidin-Cephaloridine
İBL	İndüklenebilir Beta-Laktamaz
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz

Kısaltmalar**MR-VP****NCIM****NCL****O/F****TSA****TSB****TSI****PBP****MAR****Açıklama**

Metil Red Voges-Proskauer

National Collection of Industrial
Microorganisms

National Chemical Laboratory

Oksidasyon-Fermentasyon

Tryptic Soy Agar

Tryptic Soy Broth

Triple Sugar Iron

Penisilin bağlayan proteinler

Multiple antibiyotik direnci

1. GİRİŞ

Gıdaların birçok hastalığın kaynağını oluşturduğu ve yayılmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Gıda kaynaklı hastalıklar; mikrobiyal, kimyasal, bitkisel veya hayvansal etkenlere bağlı olup, enfeksiyon veya toksikasyon şeklinde ortaya çıkmaktadır. Mikroorganizmaların salgıladıkları toksinler, toksikasyon tipi hastalıklarda, hastalık etkenini oluştururken; gıda enfeksiyonlarının etkeni enterotoksijenik veya invazif mikroorganizmalardır [1].

Süt; dişi memeli hayvanların yeni doğurdukları yavrularını besleyebilmek üzere, süt bezlerinde hayvan türlerine göre farklı sürelerde salgılanan, içinde yavrunun kendi kendisini besleyecek bir duruma gelinceye kadar almak zorunda olduğu tüm besin maddelerini gerekli oranlarda bulunduran, porselen beyazı renginde kendine has tat ve kokusu olan bir sıvıdır [2].

Sağlıklı bir hayvanın memesinde sentezlenen süt, hiçbir mikroorganizma içermez. Ancak, hayvan memesinden sağım işlemi aseptik koşullarda yapıldığında bile değişik kaynaklardan mikroorganizmalar süte bulaşır. Süt daha meme içindeyken hayvanın memesi üzerinde bulunan bakteriler süt kanalları vasıtasıyla meme bezlerine girerek süte geçerler. Bunun dışında sağım sırasında, sağımdan sonra, taşınırken, işletmelerde çeşitli ürünlere işlenirken ve nihayet dağıtım sırasında da mikroorganizmaların süt ve mamullerine bulaşma olasılığı mevcuttur. Sağım kaplarından, taşıma ekipmanlarından, ahır havasından, sudan, yemden ve çevreden birçok mikroorganizma süte bulaşabilir [2].

Süt hayvanının derisinden, ahır koşullarına bağlı olarak daha değişik bakterilerin bulaşması mümkündür. Hayvan derisi üzerinde sıkça rastlanan bakterilere örnek olarak; *S.aureus*, *E.coli*, *K.aerogenes*, *C.pyogenes*, *S.agalactiae*, *S.uberis*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis* verilebilir. Bu bakterilerden bazıları meme iltihaplanmasına (mastitis) neden olur ve süt teknolojisinde zararlı olduklarından istenmeyen bakterilerdir. Ahır havasından ileri gelen bakteri kontaminasyonu özellikle sağımdan önce ahırın temizlenmesi, süpürülmesi veya yem verilmesi halinde ciddi boyutlarda olabilir [2].

Süt ve mamullerinin neden olduğu hastalıklar denildiğinde genellikle bakteriyel kaynaklı enfeksiyonel ve bakteriyel zehirlenmeler (intoksasyonlar) söz konusudur. Bakteriyel intoksasyon, süt ve mamüllerinde oluşan bakteriyel toksinin neden olduğu hastalıklardır. Bakteriyel enfeksiyon ise, bakterilerle kontamine olmuş süt ve mamulleri aracılığıyla patojen bakterilerin vücuda alınması sonucunda ortaya çıkan hastalıklardır [3].

Kırmızı et memeli hayvanların kas dokusu olarak tanımlanabilir. Et sığır, koyun, keçi gibi hayvanların bütün organları ayrıldıktan sonra elde edilen karkasın yenilebilir kısmıdır. Kas miyofibriler proteinler ile sarkoplazmik proteinlerden oluşur. Ayrıca özelliğine göre farklı oranlarda yağ içerir. 7 civarında pH'sı olan kasta yaklaşık %75 oranında su ile çeşitli besinler ve gelişmeyi destekleyici faktörler bulunur. Bu özellik birçok mikroorganizmanın et üzerinde üremesini kolaylaştırır [4].

Pseudomonas'lar, bazıları 0°C'ye yakın sıcaklıklarda, bazıları ise 0°C'nin altındaki sıcaklıklarda gelişebilen psikrofil türlerde içermesi nedeniyle soğukta saklanan gıdalarda bozulmaya neden olabilen organizmalardır. Özellikle süt, tavuk, balık, et ve sebzenin bozulmasından sorumludurlar [5]. Gıdaların bozulmasıyla ilgili *Pseudomonas* türleri şunlardır; *P.ambigua*, *P.coharens*, *P.convexa*, *P.fluorescens*, *P.fragi*, *P.incognata*, *P.ovalis*, *P.fragi*, *P.incognata*, *P.ovalis*, *P.perolens* ve *P.putrefaciens*'dir. Bu organizmalar toprakta, tatlı ve tuzlu sularda bulunabilir [6]. Ayrıca *Pseudomonas*'lar proteolitik ve lipolitik aktiviteye sahiptirler. Bazı *Pseudomonas*'lar ise pektinolitik aktiviteye sahip olmalarından dolayı sebzelerde kök yumuşamasına neden olmaktadır [7]. Et ve ürünlerinin uzun süre depolanmalarında renk değişimi, acılaşma ve aroma kaybında psikrofil mikroorganizmalar (*Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* ve *Alteromonas* gibi) büyük bir öneme sahip ve metabolik aktiviteleri sonucu bu ürünlerde bozulmalara neden olmaktadır [8].

Çoğu bakteri, konak organizma içerisindeki demir kaynaklarını siderofor denilen demir bağlama eğilimli ve düşük moleküler ağırlığa sahip olan demir kazanıcılarını kullanarak almaya çalışır [9]. Bu sideroforlar konak proteinlerinin demir bağlarını

koparıp demiri serbest hale getirirler. Bu sayede bakteri için gerekli olan demiri hücrelerin içine taşınmaya hazır hale getirirler [10].

Konağın mikroorganizmalar tarafından istila edilmesine karşı ilk savunma şekillerinden biri serumun bakterisit etkisidir. Serum bakterisit etkisi temel olarak kompleman proteinlerle başlatılır ve bu kompleman sistemi sayesinde savunma mekanizması başlar. Bu mekanizmaya karşılık olarak patojen mikroorganizmalar serumun bakterisit özelliğini etkisiz hale getirecek stratejiler geliştirmiştir [11].

Antibiyotikler, hayvanları hastalıklardan korumak ve verimi arttırmak amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak her madde gibi antibiyotiklerin de bir takım avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Önemli olan bunların yerinde kullanımına dikkat edilmesi ve bunda aşırıya kaçılmamasıdır. Çünkü bazı bilinçsiz üreticiler, hastalıkları daha çabuk tedavi edeceklerine ve verimi arttıracaklarına inanarak fazla ve gereksiz antibiyotik kullanımı seçmektedir [3].

Gram negatif bakteriler içerisinde *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Klebsiella pneumonia* ve *E. coli* türleri toprak, su ve bitkilerden başka normal insanların deri ve dışkısında veya hastane ortamında, nemli olan her yerde bulunabilmektedirler [12].

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda hayvansal gıdalarda ve çevreden izole edilen bakteriler arasında antimikrobiyal direncin oldukça yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir. Antibiyotik dirençli bakterilerin ve dirençli genlerin insanlara hayvansal gıdalardan veya hayvan dışkılarından geçtiği iddia edilmektedir [13].

Bu çalışmada süt ve süt ürünleri ile et ve et ürünlerinden *Pseudomonas* izolasyonu, izolatların identifikasyonu, identifiye edilen türlerde siderodor üretimi, serum direnci, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi, indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) üretimi ve çeşitli antibiyotiklere karşı hassasiyetlerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. *Pseudomonas*'ların Tarihçesi

P. aeruginosa ilk olarak 1850' de Sedillot tarafından cerrahi yara pansumanlarında mavi renk değişikliği yapan bir ajan olarak tanımlanmıştır. İlk olarak *Bacillus pyocyaneus* ve daha sonra *Pseudomonas pyocyanea* olarak adlandırılmıştır. Piyosiyanin izolasyonu Lucke tarafından 1862' de yapılmıştır, ancak bu organizma, Gessard' ın klasik çalışmaları ile 1882' de saf kültür olarak izole edilmiştir. 1897' de Hitschman ve Kreibich, 1917' de Frenkel ve 1925' te Osler patojen bir bakteri olduğunu tanımlamışlardır. 1926 yılında Dooren de Jong, *Pseudomonas* türlerini, çeşitli organik bileşiklerin karbon ve enerji kaynağı olarak kullanımına dayanan fenotipik özelliklerine göre sınıflandırmıştır. 1966' da Buchanon, Holt ve Lessel *Pseudomonas* türlerini fenotipik özelliklerine göre sınıflandırmışlardır. Daha sonra DNA hibridizasyon çalışmaları başlamıştır. 1973 yılında Palleroni ve arkadaşları, nükleik asit hibridizasyon çalışmalarını genişleterek *Pseudomonas*' ları rRNA homolojilerine göre 5 gruba 5 ayırmışlardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu cinsin sınıflandırılması yeniden düzenlenmiştir [14].

2.2. *Pseudomonas*'ların Genel Özellikleri

Pseudomonas 'lar Gram negatif, çubukçuk şeklinde, obligat aerob, çoğu uçlarındaki bir veya birkaç kirpikten ötürü (polar flagellalı) hareketli, sporsuz, katalaz ve genellikle oksidaz pozitif bakterilerdir. *Pseudomonadaceae* familyası içerisinde yer alan *Pseudomonas* cinsinin üyeleridir. Boyutları 0,5-1 x 1,4-4 µm'dir. 4°C veya daha düşük ısılarda üreyebilen türleri olduğu gibi, 42°C'de üreyebilen türleri de vardır. 4°C'deki psikrofil türleri özellikle soğukta muhafaza edilen et ve süt gibi gıdaların bozulmasında önemli rol oynarlar. *Pseudomonas* türleri su, toprak, süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, kanalizasyon, memelilerin bağırsağı ve çeşitli bitkiler gibi birçok doğal kaynaktan izole edilebilirler [15].

Bazı türleri insan, hayvan ve bitki patojenidir. *Pseudomonas*'ları gıdalar için önemli kılan pek çok özellik vardır. Bazı türleri proteolitik ve lipolitik aktivite

göstermektedir. Aerobik olmaları nedeniyle gıdaların yüzeyinde hızla gelişirler ve sonuçta okside ürünler ve mukoz madde oluştururlar. Kendi gelişmeleri için gerekli olan gelişme faktörlerini ve vitaminleri sentezleme yeteneğindedirler. Özellikle soğukta saklanan gıdalarda birinci derecede bozulma etmenidirler. Isı ve radyasyonla kolaylıkla inhibe olabilmektedirler. Oksijensiz koşullarda ve 42 °C' nin üzerinde çoğalamazlar. Kurumaya dirençlilikleri zayıftır. Bazı gıdalar üzerinde *Pseudomonas fluoresans* yeşilimsi, *Pseudomonas nigrificans* siyah, diğer türleri ise kahverengi pigment oluşturur [16-18].

Pseudomonas büyük ve kompleks bir gram-negatif bakteri cinsi olup, klinik ve çevresel açılardan dikkate alınması gereken pek çok tür içerdiğinden önemli bir bakteri grubudur [19].

Pseudomonas cinsinin, 1970'lerin başında gerçekleştirilen ribozomal RNA-DNA hibridizasyon çalışmaları sonucunda birbirinden ilişkisiz beş gruptan oluştuğu belirlenmiştir. *Pseudomonas Proteobacteria*'ların gama alt sınıfında olup, rRNA homoloji grup I'dir [20].

Diğer rRNA homoloji grupları II *Burkholderia* türleri ; III *Comamonas*, *Acidovorax* ve *Hydrogenophaga*; IV *Brevundimonas* ; V ise *Stenotrophomonas* ve *Xanthomonas* cinsleridir [21].

Günümüzde *Pseudomonas* genusu içinde 160 tür olup, bunlar içinde sadece 12 tür klinik önem sahiptir [19].

Bilinen tüm türler içerisinde genetik düzeyde en yüksek farklılık gösteren *Pseudomonas stutzeri* olup en az 18 genomuvara sahiptir ve klinik izolatlar genomuvar 1 ve 2'ye aittir. *P.stutzeri*'yi ayrı türler olarak tanımlamaya yeterli güvenilir fenotipik farklılıklar bulunmamaktadır [22].

Pseudomonas fluorescens A,B,C,D,E,F ve G biyotiplerine (A'dan E'ye kadar olan biyotipler biyovar I, II, III, IV ve V olarak da anılmaktadır) ayrılmıştır. Biyotip B *Pseudomonas marginalis* olarak tekrar sınıflandırılmıştır. Biyotip D ve E (*P. chlororaphis* ve *P.aureofaciens*) artık *P.cholororaphis* olarak tek bir tür halinde

birleştirilmiştir ve floresan *Pseudomonas* grubu üyesi olarak kabul edilmemektedir [19]. *Pseudomonas putida* biyovar A ve B'yi içermektedir. Biyovar A tipik *P.putida* olarak kabul görürken, biyovar B *P.fluorescens*'e daha yakın görülmektedir [23].

Pseudomonas türlerinin çoğu farklı çevresel yerleşimler gösterebilir. Nemli ortamlar başta olmak üzere doğada yaygın olarak bulunurlar[19]. Uygun çevre sıcaklığı koşullarında sulara aylarca canlı kalırlar. Özellikle hastane ortamında cerrahi ve yanık servislerinde organik kalıntıların bulunmasına bağlı olarak uzun süre canlı kalabilirler Diğer patojenlere göre kimyasal dezenfektanlara daha dirençlidirler. Dörtlü amonyum bileşiklerinde, heksaklorofenli sabunlarda, iyotlu solüsyonlar içinde bile üreyebilirler, hatta dörtlü amonyum bileşiklerini besin kaynağı olarak kullanabilirler. Fenoller ve glutaraldehit genellikle *Pseudomonas*'lara etkili olan dezenfektanlardır [14,17].

Pseudomonas cinsi bakterilerden en sık izole edilen insan patojeni *P. aeruginosa*'dır. Hastane ortamında sık bulunurlar. Bu nedenle birçok hastane infeksiyonu etkeni arasında ön sıralarda yer alırlar [24].

P. aeruginosa bulunduğu her nemli ortamda kolaylıkla üreyebilen, antibiyotiklere ve antiseptiklere oldukça direnç gösteren bir mikroorganizmadır. *P. aeruginosa*'da indüklenebilir kromozomal AmpC tipi β -laktamaz mevcuttur. Bu β laktamazlar penisilin ve sefalosporinlere dirençte önemli rol oynarlar [25]. Ayrıca *P. aeruginosa* tarafından kodlanan porin proteinleri çevre koşullarına göre kanalların daralmasına neden olur. Bu durum antibiyotiklerin geçişini sınırlar ve antibiyotiklere karşı direnci artırmada yardımcı olur [26].

Ülkemizde son yıllarda yapılan çok merkezli çalışmalarda yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda izole edilen mikroorganizmalar arasında *Pseudomonas*'ların ilk sırayı aldığı öne sürülmüştür. Bu bakteriler, gerekli sterilizasyon ve dezenfeksiyonun yapılamadığı hastane ortamında, ameliyathane ve yoğun bakım ünitelerinde kullanılan araç ve gereçlerde kolonize olarak antibiyotiklere dirençli ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olabilirler [27].

2.2.1. *Pseudomonas* Türleri

Floresan Özellik Gösteren *Pseudomonas*'lar

Floresan *Pseudomonad* grubu üyeleri pyoverdin (floresan) olarak isimlendirilen, suda çözünen, sarı-yeşil veya sarı-kahverengi, kısa dalga boylu UV ışığında floresan veren bir pigment üretirler. Pek çok *P.aeruginosa* suşu mavi bir pigment olan piyosiyanin üretirler. Pyoverdin suda çözünen mavi renkli bir fenotiazin pigmenti olan piyosiyaninle birleştiğinde *P.aeruginosa* için karakteristik olan parlak yeşil rengi oluştururlar. Organizma ayrıca piyorubrin (kırmızı) veya piyomelanin (kahverengi/siyah) gibi suda çözünen başka pigmentleri de üretebilir. Pigmentler bakterinin demir alımı için siderofor olarak da görev yaptıklarından demirin kısıtlı olduğu durumlarda pigment üretimi artar. Boya içermeyen besiyerleri pigmentlerin görülmesini kolaylaştırır [19].

Pseudomonas aeruginosa

P.aeruginosa'ların çoğu karakteristik koloni morfolojileri, besiyerlerine yayılan pigmentleri ve üzüksü kokularıyla primer izolasyon besiyerlerinde kolaylıkla tanınırlar. Eski miş kültürleri mısırdan yapılmış tako benzeri bir koku oluşturabilir. Kolonileri genellikle düz ve yayılmış yapıda olup, kenarları girintili çıkıntılıdır [19].

P.aeruginosa 42°C'de üreyebilme özelliği ile klinik önemi olan diğ er *Pseudomonad*'lardan ayrılır. Pigment üretiminin yanı sıra tanıyı doğrulayan diğ er testler pozitif oksidaz ve arjinin reaksiyonları ve üç şekerli demirli besiyerinde alkale n renk de ğ iş imi veya renk de ğ iş iminin saptanmamasıdır [19].

Pseudomonas aeruginosa 'nın virulans faktörleri

Pili ve Fimbrialar: Konak epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunan GM-1gangliosid reseptörlerine tutunmayı sağlar. Pililer en önemli adherans faktörüdür [28,29].

Polisakkarid kapsül: Glikokaliks, eksopolisakkarid ya da alginate olarak da adlandırılan bu kapsüller yapı, monnuronik ve glukronik asitten oluşur. Özellikle mukoid suşlarda bulunur. Müsin salgılanması, bakterinin fagositozdan korunması,

aminoglikozidler başta olmak üzere antibiyotiklerin bakterisidal aktivitesinin azalması ve biyofilm tabakanın oluşması gibi işlevleri vardır [28,29].

Nörominidaz: *Pseudomonas* cinsi bakteriler sialik asidin olmadığı gangliozid reseptörlerine öncelikli bağlanırlar. Nöraminidaz da sialik asidi uzaklaştırarak pilinin GM-1 reseptirlerine bağlanmasını kolaylaştırır [28,29].

Endotoksin: Lipopolisakkarit yapıda olup, araşidonik asid metabolitlerinin üretimini stimüle ederek ateş, şok, diseminan intravasküler koagülasyon ve metabolik değişikliklerle karakterize septik şok sendromuna neden olur [28,29].

Ekzotoksin A (Lipid A): *P. aeruginosa*'nın en önemli virulan faktörüdür. Memeli hücrelerinde nikotinamid adenin dinukleotid (NAD)'in elongasyon faktör 2 (EF2)'ye bağlanmasını sağlayarak protein sentezinin inhibisyonuna sebep olur [28,29].

Enterotoksin: Normal gastrointestinal aktivitenin kesintiye uğramasına neden olarak diyareye yol açar [29-30].

Pyosyanin: Solunum yolları siliyer aktivitesinin kesintiye uğramasından ve akciğerde oksidatif ve nötrofil bağlantılı doku hasarından sorumludur [28,29].

Ekzoenzim S-T (ExoS): Ekstrasellüler toksinler olup, bakterilerin yayılmasını ve invazyonunu kolaylaştırıcı etkisi vardır. Virulansı yüksek suşlarda güçlü nekrotik etkisi deneysel olarak gösterilmiştir [28-29].

Ekstrasellüler proteazlar (Elastaz-alkalin proteaz): Elastaz enzimi elastin içeren doku hasarından sorumludur. Akciğer parenkim hasarına ve hemorajik deri lezyonları olan ektima gangrenozuma neden olur. Nötrofil kemotaksisini engeller, bakterilerin yayılımını artırır. Kronik *Pseudomonas* infeksiyonlarının çoğunda elastaza karşı antikor saptanmıştır [29,30].

Hemolizinler: Hemolizinlerden fosfolipaz C ısı değişken, ramnolipid ısı değişken olmayan hemolizin özelliğinde olup siliyer aktivitenin azalması ve alt solunum yolu infeksiyonlarının oluşmasından sorumludur [29,30].

Sitotoksin (lökosidin): Lökosit fonksiyonlarını bozar, deney hayvanlarında pulmoner mikrovasküler hasar yaptığı gösterilmiştir [29,30].

P.fluorescens ve *P.putida*

P.fluorescens ve *P.putida* belirgin bir koloni morfolojisi veya kokuya sahip değildir. Nitrati nitrojene indirgemeleri ve ksilozdan asit oluşturmaları ile bu iki tür diğer floresan pseudomonadlardan ayırt edilebilirler. *P.fluorescens*, *P.putida*'dan 4°C'de üreyebilmesi ve jelatini hidrolize edebilmesi ile ayırt edilebilir [19].

Nonfloresan Özellik Gösteren *Pseudomonas*'lar

P.stutzeri ve *P.mendocina*

P. stutzeri izolatlarının çoğu primer izolasyon besiyerlerine *Burkholderia pseudomallei* kolonilerine benzeyen belirgin kuru buruşuk koloni morfolojileri ile kolaylıkla tanınırlar. *P. stutzeri*, *B. pseudomallei*'den arjinin hidrolaz aktivitesinin negatifliği ve laktozdan asit oluşturmaması ile ayırt edilebilir. *P.stutzeri* kolonileri kahverengimsi sarı-kahverengi renkte olup, agarda oyuk oluşturabilir veya agara yapışabilir. *P. mendocina* kolonileri düzgün, düz ve kahverengimsi sarı pigment üreten kolonilerdir. Tipik biyokimyasal özellikleri nitrati nitrojene indirgemeleri, pozitif arjinin hidrolaz aktivitesi ve asetamidi hidrolize edememesidir [19].

P. alcaligenes ve *P. pseudoalkaligenes*

P.alkaligenes ve *P. pseudoalkaligenes* klinik örneklerde nadiren saptanmakta olup belirgin bir koloni morfolojileri bulunmamaktadır. Diğer Pseudomonadlarla karşılaştırıldığında biyokimyasal olarak inaktiftirler. Bu türleri diğer biyokimyasal olarak inaktif gram negatif basillerden ayıran özellikleri pozitif oksidaz reaksiyonları, polar flajele bağlı hareketleri ve MacConkey agarda üremeleridir. *P.alkaligenes* *P.pseudoalkaligenes*'den fruktozu okside edememe özelliği ile ayrılır [19].

P. luteola ve *P. oryzihabitans*

P.luteola ve *P.oryzihabitans* diğer pseudomonadlardan oksidaz negatif olmaları ve yayılmayan, hücre içi sarı bir pigment üretmeleri ile ayrılırlar. Her iki türde tipik olarak düzgün olmayan, buruşuk, besiyerine yapışık veya çok nadiren düzgün koloniler oluştururlar. *P.luteola* *P.oryzihabitans*'dan eskülini hidrolize etme özelliği ile ayırt edilir [19].

2.3. *Pseudomonas*'ların gıda ürünleriyle ilişkisi

P.aeruginosa çevrede yaygın olarak bulunmaktadır. Toprakta, sudan, bitkilerden, hayvanlardan ve insanlardan izole edilebilir. Hayvanlarda patojenik olmasının yanı sıra bitkilerde de patojendir [31].

Pseudomonas'ların çevrede yaygın olarak bulunmaları çok basit gelişim ihtiyaçlarına sahip olmalarındandır. Minimal besin ihtiyaçlarını 4-42°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında tolere edebilirler ve birçok antibiyotiğe ve dezenfektanlara karşı dirençlidirler [32].

Pseudomonas'lar nemli ve güneş ışından uzak yerlerde, toprakta yiyeceklerde barınmakta, buralarda uzun süre canlı kalmaktadır. Sebzelerde, gıda mikserlerinde, dezenfektanlarda, ilaçlarda, temizlik solüsyonlarında, solunum cihazlarında, küvez, mesane yıkama aracı, diyalizör, diyaliz seti ve solüsyonu, lavabolarda ve paspaslarda yani *P.aeruginosa*'nın hastane rezervuarlarında nemlilik kritik bir faktördür [31].

Pseudomonas cinsi bakteriler buzdolabı sıcaklığında depolanan gıdalardaki bozulmaların birçoğundan sorumludurlar. Buzdolabında birkaç gün depolanmış taze etlerde hakim florayı oluştururlar. Raf ömrünün başlangıcında toplam mikroflorada az bir yer kaplarlar ancak yüksek su aktivitesi, nötr pH, uygun sıcaklık ve O₂ kaynağının bulunması gibi şartların sağlanması durumunda hızlı bir gelişme gösterirler. *Pseudomonas*'lar lipolitik ve proteolitik aktiviteleri sonucunda gıdalarda istenmeyen tat, renk ve koku oluştururlar. Taze etlerde ve diğer gıdalarda kalite kriterlerini belirlemede *Pseudomonas*'ların izolasyonu ve sayımı önemlidir [33,34].

1988 yılında Walker, yaptığı çalışmada psikrofil bakterilerden özellikle *Pseudomonas* türlerinin ekstrasellüler enzim salgılarından dolayı et, süt ve süt ürünlerinin bozulmalarına sebep olduğunu belirtmiştir [35].

Pseudomonas türleri soğukta saklanan gıdalarda bozulma nedeni olan önemli organizmalardır. Özellikle süt, tavuk, balık, et ve sebzenin bozulmasından sorumludurlar [7].

2.4. Sütün Bileşimi ve Mikrobiyolojik Kalitesi

Süt, organizmanın gelişmesi ve yaşamını devam ettirebilmesi için gerekli olan besin unsurlarının hemen hepsini içeren ve eski devirlerden beri en çok tüketilen besin maddelerinden biridir. Süt proteinleri yaşam için büyük önem taşıyan eksojen aminoasitlerinin tümünü içerdiğinden yüksek biyolojik değerdedir [36].

Bileşiminde bulundurduğu besin öğeleri ve bu maddelerde meydana gelen biyokimyasal tepkimeler açısından süt, mikroorganizmaların gelişmesine çok uygun bir ortamdır [2].

Bakteri, maya ve küflerin yaşamaları ve çoğalmaları için gereksinim duydukları su, protein, şeker ve mineral maddeler gibi temel besin öğelerinin yanı sıra mikroorganizmalar için çok önemli olan vitaminler, serbest yağ asitleri de sütte mevcut bulunmaktadır. Özellikle süt şekeri, mikroorganizmalar için çok uygun bir karbonhidrattır [3]. Mikroorganizmalar için kolloid haldeki proteinler azot kaynağı; süt şekeri, limon asiti ve karbon enerji kaynağını oluştururken; mineral tuzlar da hücre yapımı ve yaşamlarının devamı için görev üstlenirler [2].

Süt teknolojisinde mikroorganizmalar çok önemli rol oynarlar. Mikroorganizmaların süt ve mamulleri üzerinde olumlu etkileri olduğu gibi olumsuz etkileri de vardır. Sütün ve mikroorganizmaların çok iyi bilinmesi ve gerekli önlemlerin alınması halinde, mikroorganizmalar süt ve ürünleri için yararlı olurlar. Aksi halde kalitenin düşmesine, süt ve mamullerinin bozulmasına neden olur, hatta insan sağlığına zarar verecek düzeyde olumsuz gelişme gösterirler. Diğer taraftan bazı mikroorganizmalar fermente süt ürünlerinin oluşmasında, bazı organizmalar ise, peynir tereyağı ve yoğurt gibi süt mamullerinin tat, koku ve yapılarının oluşmasında önemli rol

oyunlar. Bu yararlı, hatta kullanılması zorunlu olan mikroorganizmalar, üretim sırasında starter kültür olarak dışarıdan ilave edilir [2].

Süt, ışığı geçirmeyen kalsiyum kazeinat gibi kolloidal maddeler ile ışığı yansıtan süt yağının etkisi ile porselen beyazı rengine algılanır. Bazı mikroorganizmalar ve bunların neden olduğu hastalıklar sütün rengini bozabilirler. Sarılık, mastitis, şap gibi hastalıklar sütün anormal şekilde sarı olmasına sebep olurken; meme kanamaları veya bazı bakterilerin etkisiyle normal kabul edilmeyen kırmızımsı, mavimsi veya kahverengi gibi anormal renkler görülebilir [2].

Mikroorganizmaların sütte üremesi pek kolay değildir. Süt, birçok mikroorganizmanın çoğalmasına karşı bir direnç gösterir. Bu direnç, başlangıç mikroorganizma yüküne, sütün muhafaza koşullarına, sonradan meydana gelen bulaşmalara, diğer rakip mikroorganizmalara ve onların metabolik ürünlerine bağlı olarak değişir [3].

Mikroorganizmaların yaşaması ve çoğalması için sıcaklık da önemli bir faktör olup, sütün sağım sıcaklığı olan 36°C, onların gelişmesi için çok uygundur. Sıcaklık yalnız bakteri sayısını değil, aynı zamanda bakteri florasını da etkiler. Örneğin; uzun süre düşük sıcaklıkta bekletilen sütlerde sütün proteinli maddeleri üzerinde etkili olan ve soğuğu seven bakteriler floraya hakim olur. Buna karşın orta ve yüksek sıcaklıkta bekletilen sütlerde, mezofilik ve termofilik bakteriler ortama hakim olurlar [2].

Süt ve ürünleri, birçok salgın hastalığın kaynağı olabildiği gibi çeşitli nedenlerle süte bulaşan antibiyotik, pestisit, deterjan ve radyoaktif maddeler gibi yabancı maddeler de insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir [3].

Çiğ sütün mikroorganizmalarla bulaşmasında sağımda kullanılan ekipmanlar ile taşıma sırasında kullanılan ekipmanlar önemli bir yer tutar. Hayvanlardan elde edilen süt önce sağım ekipmanları, boru ve toplama tankları veya soğutma tankları ile temas eder. İyi temizlenmiş ve dezenfekte edilmiş bir sağım makinesi ile sağılan 1ml sütteki bakteri sayısı 1000-10000 arasında değişirken; kötü temizlenmiş bir sağım tesisinden elde edilen sütün 1 ml'sindeki bakteri sayısı bazen 10 misline, bazen de 100 misline ulaşabilir [2].

Çiğ sütlerde gram-negatif psikrofil flora üzerine yapılan araştırmalarda *Pseudomonas*'ların en sık bulunduğu saptanmıştır [37,38,39,40].

Milliere ve arkadaşlarının (1973) Fransa'da çiğ sütlerle yaptıkları çalışmada elde ettikleri 452 psikrofil izolatın %84,7'sinin *Pseudomonas* türü olduğu belirlemişlerdir [41].

Milliere ve arkadaşları (1979) Fransa'nın Nancy bölgesinde yaptıkları çalışmada çiğ sütlerden 999 psikrofil Gram negatif bakteri izole etmiş ve psikrofil bakterilerden %32,5'ini *Pseudomonas fluorescens* olarak tanımlamışlardır [42].

Keskin ve Ekmekçi (2007) İzmir'deki çeşitli satış noktalarından topladıkları 100 farklı su ve gıda örneğini incelemişlerdir. Araştırmada kullandıkları 19 çiğ süt örneğinden izole ettikleri *Pseudomonas*'ların 4'ünü *P.aeruginosa*, 4'ünü *P.cepacia*, 3'ünü *P.fluorescens* olarak tanımlamışlardır. Çalıştıkları 9 peynir örneğinden *Pseudomonas* izole etmemişlerdir. 16 kıyma örneğinden 1 *P.aeruginosa*, 3 *P.fluorescens*; 11 tavuk örneğinden ise 1 *P.aeruginosa* 3 *P.fluorescens* tanımlamışlardır [43].

Wang ve Jayarao (2001); batı Minnesota ve Güney Dakota'nın doğusundaki 55 merkezden topladıkları sütlerden 55 *Pseudomonas* izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. API 20 NE ile identifikasyonunu yaptıkları 55 suşun *P.fluorescens* olduğunu bildirmişler ve bu suşların fenotipik özellikleri ile genotipik özelliklerini araştırmışlardır [44].

Uraz ve Çıtak (1998), 1990-1992 tarihleri arasında çeşitli merkezlerden topladıkları 200 çiğ süt örneğinden 48 *Pseudomonas* izolasyonu gerçekleştirdiklerini ve bu izolatlardan 20'sini (%41.66) *P. fluorescens*, 11'ini (%22.91) *P. aeruginosa*, 11'ini (%22.91) *P. putida*, 2'sini (%4.16) *P. aurefaciens*, 3'ünü (%6.25) *P. pseudomallei*, 1'ini (%2.08) *P. cepacia* olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir [45].

Samagh ve Cunningham (1971), 136 süt ve süt örneğiyle yapmış oldukları çalışmada, 653 alkaligenik ve psikrofilik izolat elde etmişlerdir. Bu izolatlardan 182'sinin *Pseudomonas* cinsine ait olduğunu bildirmişlerdir [46].

Pseudomonas' lar süt ürünlerinde en büyük tehlikeyi oluşturan psikrotrof bakteri türleri olarak bilinmektedir. Özellikle soğukta saklanmış çiğ sütlerden yapılan ürünlerde rahatlıkla gelişebilmeleri ile pastörize ve sterilize sütlere uygulanan sıcaklık normlarında salgıladıkları ekstraselüler enzimler ve sahip oldukları kapsüller nedeniyle aktivitelerini sürdürebilmeleri bu bakterilerin en önemli özelliğidir [47].

Wiedmann ve ark. (2000), *Pseudomonas*' ların süt ürünlerinde iki şekilde bozulmaya neden olduğunu bildirmiştir. Bunlardan birincisi proteaz ve lipaz gibi ekstraselüler enzimler nedeniyle, ikincisi ise pastörizasyon sonrasında başta *P. aeruginosa* olmak üzere sütün birçok bakteri ile kontaminasyonu nedeniyle, süt ürünlerinin buzdolabı sıcaklığında depolanması sırasında bozulması olarak belirlenmiştir [48].

Psikrotrofların en önemlisi olan *Pseudomonas*'lara ait proteazların, kazeini parçaladığı tespit edilmiş bu amaçla 9 adet çiğ süt  rneği incelenmiştir. Söz konusu araştırmada; *Pseudomonas* popülasyonunun sayısının 104 kob/mL düzeyine ulaşması ile K-kazein parçalanmasının gerçekleştiği tespit edilmiştir [49].

Kristiansen (1983)  iğ sütlerde yaptığı çalışmada *Pseudomonas* CN (Cetrimid, nalidiksik asit) ve *Pseudomonas* CFC (cephaloridin fucidin cetrimid) besiyerini kullanmıştır. Çiğ süt örneklerine bu besiyerlerinde 25-30  C'de 24 saat inkübasyon uygulanmıştır. *Pseudomonas* CN ve *Pseudomonas* CFC besiyerinde *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. cepacia* 'nın üreme gösterdiği saptanmıştır [50].

Alişarlı ve ark. (2003) Van ili ve çevresinde yapmış oldukları çalışmada 100 adet sağmal süt ineğine ait meme başı derisi ve aynı ineklere ait çiğ süt  rneği mikrobiyolojik olarak incelenmişlerdir. İncelenen  iğ süt örneklerinde; ortalama olarak 2,17 log kog/ml, meme başı derisi örneklerinde 2,54 log kob/ml seviyesinde *Pseudomonas* belirlemişlerdir [51].

Macaristan'da tanklardan toplanan soğutulmuş çiğ süt örneklerinde *Pseudomonas* türleri araştırılmıştır. Bu  alışmada Z Broth, Nitrofurantoin Broth ve Cetrimide Agar besiyerlerindeki üreme durumları değerlendirilmiştir. Z Broth ve Nitrofurantoin Broth besiyerinde *P. aeruginosa*'nın ürediği, *P. putrefaciens*, *P. putida* *P. cepacia*,

P. acidovorans, *P. testosteroni*, *P. maltophilia* ve *P. diminuta*'nın üreme göstermediği saptanmıştır [52].

Tel ve ark. (2009) Şanlıurfa'da yaptıkları çalışmada, 250 sağmal inekte 1000 meme lobu CMT (California Mastitis Test) ile muayene edilerek CMT pozitif bulunan 181 (%72.4) inekten alınan 332 (%33.2) adet süt örneği mikrobiyolojik olarak incelenmiştir. 258 (%77.7) süt örneğinden izole ettikleri aerobik mikroorganizmalardan 3'ünü (%1.1) *Pseudomonas aeruginosa* olarak tanımlamışlardır [53].

Yano (1976) Japonya'da yaptığı çalışmada çiğ sütlerden izole edilen psikrofil bakterilerin %88'ini *Pseudomonas spp.* olarak tanımlamışlardır [54].

Kroll ve arkadaşları (1984) tarafından Bavaria'da yapılan araştırmada soğutulmuş sütlerin psikrofil florasında 101 bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzole edilen türler içerisinde dominant olarak % 83 oranında *P.fluorescens* izole etmişlerdir [55].

Fischer ve ark. (1987) Bloemfoentein şehrinde 30'u yaz, 30'u kış mevsiminde olmak üzere toplam 60 çiğ süt tankerindeki psikrofil bakterileri araştırmıştır. Buna göre *Pseudomonas* %41 oranında saptanmıştır. *Pseudomonas*'ların mevsimlere göre dağılımları değerlendirildiğinde kış mevsiminde en fazla sıklıkla %30,8 oranında, yaz mevsiminde ise %6,6 oranında *Pseudomonas* izole etmişlerdir [56].

Anuranjini ve ark. (2006) Mangalore'deki farklı bölgelerinden rastgele seçtikleri 5 parakende satış noktasından toplanan, çeşitli aromalarda 18'er tane dondurma örneğini çalışmışlardır. Toplam 90 dondurma örneğinden 24 *Pseudomonas spp.* izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Bu izolatların 10 tanesini vanilyalı dondurmada, 12 tanesini çilekli dondurmada, 2 tanesini ise kakule aromalı dondurmada izole ettiklerini bildirmişlerdir [57].

Kumaresan ve Annal Villi (2008) aseptik koşullarda topladıkları, 9 farklı markaya ait pastörize sütlerde toplam bakteri sayımı ve psikrofil bakteri sayımlarını yapmışlardır. Çalışmaları sonucunda, sütteki baskın psikrofil bakterileri *P.fluorescens* (%42,42), *P.fragi* (%24,24) ve *P. aeruginosa* (%12,12) olarak tespit etmişlerdir [58].

Sütün hijyenik durumu, sadece içerdiği mikroorganizmaların tür ve miktarına bağlı olmayıp, aynı zamanda sütün bileşiminde doğal olarak bulunmayan, fakat çeşitli kaynaklardan süte bulaşan yabancı maddelerin de miktar ve çeşidine bağlı bulunmaktadır. Özellikle süt işletmelerinin temizlik ve dezenfeksiyonunda kullanılan dezenfektan ve deterjan kalıntıları; hayvan hastalıkları ile mücadele amacıyla kullanılan başta antibiyotikler olmak üzere ilaç kalıntıları; tarımsal faaliyetlerde hayvan ve bitki zararlıları ile mücadele etmek amacıyla kullanılan zirai mücadele ilaç kalıntıları, kimyasal madde kalıntıları, radyoaktif madde kalıntıları gibi maddeler süte ve dolayısıyla süt mamullerine bulaşabilirler. Bu konu süt hijyeni açısından önemli bir bölümü oluşturmaktadır [3].

Süt hayvanlarında görülen başta mastitis olmak üzere bazı solunum sistemi hastalıkları, üreme ve idrar yolları enfeksiyonları gibi hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerden yararlanılmaktadır. Kullanılan antibiyotikler süte geçerek başta fermente süt mamulleri olmak üzere peynir ve tereyağı teknolojisinde starter kültürlerin çalışmasını yavaşlatarak, hatta tamamen engelleyerek üründe arzu edilen özelliklerin oluşmasına engel olurlar [3].

Antibiyotikli sütler, sağlık ve teknolojik yönden bazı sorunlar yaratır. Bunlardan birincisi, antibiyotiklere karşı duyarlı olan bazı insanlarda alerjik reaksiyonlara neden olmasıdır. Ayrıca antibiyotikli sütlerin uzun süre tüketilmesi sonucun da insanlardaki mikroplar antibiyotiklere karşı bağışıklık kazanmakta ve herhangi bir tedavi anında insanlarda istenilen etki sağlanamamaktadır [3].

2.5. Etin Bileşimi ve Mikrobiyolojik Kalitesi

Taze et fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeni ile mikrobiyolojik bozulmalara karşı en duyarlı gıdalardan biri olarak bilinmektedir [59].

Gıdaların neden olduğu hastalıklar arasında et ve et ürünleri %70 ile en büyük payı almaktadır [60].

Canlı hayvanlar çeşitli kaynaklardan kendilerine bulaşmış olan mikroorganizmaların dokulara geçmesini önleyen bir korunma mekanizmasına sahiptir. Burada deri,

mukoz membran, kıl, iltihaplanma olayları, mide suyu, bağırsaklarda sindirim rol oynar. Bu nedenle sağlıklı hayvanların kasları steril denebilecek bir özelliğe sahiptir. Ancak kesim sırasında kas, hayvanın dış yüzeyindeki mikroorganizmalar ve bazen de mide ve bağırsaklardaki mikroflora ile bulaşır. Bulaşma kesim metoduna bağlı olarak değişir. Ancak kesimde kullanılan aletlerde, işçilerin elinde, hava ve suda bulunan mikroorganizmalarda bu mikrofloraya eklenir [4].

Etin mikroorganizma yükü et kalitesinin belirlenmesinde önemli bir kriterdir. Etin elde edildiği yer hakkında bilgi alabilmek için indikatör mikroorganizma olarak adlandırılan, örneğin *Escherichia coli* gibi hijyen indikatörlerine bakmak yeterlidir. Bu mikroorganizmalara bağırsak kökenli olduklarından ette bulunması antihijyenik koşulların bir göstergesi sayılmaktadır [61].

Et ve et ürünlerinin tüketimi sonucu insanlarda gıda enfeksiyonları ve zehirlenmelerine neden olan, halk sağlığı açısından önemli patojen mikroorganizmalar olarak *Salmonella enteritidis*, *L. Monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *E.coli O157:H7*, *S.aureus*, *Y. Enterocolitica*, *Lactobacillus plantarum*, *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Micrococcus spp.* sayılabilir [59,62,63]

Ette, indikatör olarak aerobik mezofilik bakteri, *Enterobacteriaceae*, toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayıları önemlidir. Karkaslardaki ve kıyılmış etlerde sayımı yapılan aerobik mezofilik bakteri sayısı genellikle kesim ve kesim sonrası işlemler sırasındaki sanitasyon uygulamalarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. *Enterobacteriaceae*, toplam koliform, fekal koliform ve *E. coli* ise genellikle bağırsak orjinli kontaminasyon düzeyini göstermekle beraber, bu mikroorganizmaların aynı zamanda hayvanın derisinde de bulunmaları ve bazı *Enterobacteriaceae* türleriyle fekal olmayan koliform bakterilerden bazılarının doğada serbest halde yaşayabilmeleri nedeniyle dış çevreden gelen kontaminasyonu da ifade etmektedir [8].

Diğer gıdalar da olduğu gibi ette de mikroorganizmaların üremesine nem miktarı, besin içeriği, pH, depolama sıcaklığı, depolama süresi ve koşulları, oksidasyon redüksiyon redüksiyon potansiyeli ile bulaşan mikroorganizmalar ve bulaşma düzeyi

gibi faktörler etki eder. Mikroorganizmalar besin içeriği yönünden çok zengin olan ette diğer faktörlerinde uygun olması durumunda hızla çoğalarak ürünün kısa zamanda bozulmasına neden olur [4].

Et heterojen özellik gösterdiğinden, ete bulaşan mikroorganizmaların gelişimi de bulaştığı yere göre değişir. İç kısımlara erişen mikroorganizmalar daha çabuk bozulmaya neden olur. Etin parçalanması ile doğal bariyerlerin yıkılması ve doku derinliklerine oksijenin girmesiyle mikrobiyolojik risk artar. Dış yüzeyde bulunan mikroorganizmalar tüm ete bulaşır. Kemik sıyrma, parça etlerin porsiyonlanması ile artan risk kıyma üretimi ile en üst düzeye çıkar. Kıyma üretimiyle mikroorganizma sayısı süratle 10 katına çıkmakta, dayanıklılık ise 1/3'e inmektedir [61].

Et hijyeni; et ve et ürünlerinin dayanıklılığı ile kalitesi açısından en önemli faktördür. Mezbaha ve depo ortamındaki hava, duvarlar, taban ve tavan, kullanılan su, kesilen hayvanın ayakları, derisi, iç organları, hayvandan akan kan, bu yerlerde kullanılan araç-gereçler, makine ekipman, kasabın veya işçilerin elleri, elbisesi, önlüğü ve bıçağı kontaminasyon kaynağıdır. Hijyenik koşullarda elde edilen etin yüzeyinde cm^2 'de birkaç yüz ile birkaç bin adet mikroorganizmaya rastlanmaktadır. Etteki mikroorganizma faaliyetlerini ortamın bağıl nemi ve sıcaklığı, ürünün su aktivitesi, pH'sı, yüzey büyüklüğü ve başlangıçtaki mikroorganizma yükü etkilemektedir [61].

Etlerin normal soğuk depolama süreleri dışında bozulmalarına neden olan psikrofil bakterilerin başında *Pseudomonas*'lar gelmektedir. Aerob koşullarda depo edilen soğutulmuş etlerde *Pseudomonas*'lar aktif olarak çoğalır ve aynı sıcaklıkta üreyebilen diğer mikroorganizmaların çoğalmalarını önleyici etki yaparlar. Donmuş etlerin depolanmalarında ($-3, -5^\circ\text{C}$ 'de), çözünmelerinde veya çözünmüş etlerin saklanmalarında da *Pseudomonas*'lar görülmektedir. Psikrofil karakter taşıyan *Pseudomonas*'ların etlerde koloni ve sümüksel tabaka oluşturmaları, tanınmalarını kolaylaştırır [64].

Pseudomonas kolonileri, katı besiyerinde renksiz veya bazen az derecede yeşilimsi sarı renklidirler. Bu bakteriler, besiyerlerinde renkli olmaları ve glukozdan asit yapmalarına göre 4 alt gruba ayrılırlar. Birinci gruptaki bakteriler pigment yaparlar

ve glukozdan asit yapma yeteneğine sahiptirler. Bu gruptaki bakterilerin bazıları 42°C’de üreme gösterebilmelerine karşılık, diğer bir kısmı 5°C’de (mezofil türleri) ölürlür. Yine bu grubun bazı bakterileri 42°C’de yaşamlarını sürdürememelerine rağmen, bazıları 5°C’de üreme gösterebilirler. Bunlar psikrofil grubuna girerler ve etlerin soğuk depolanmasında önem taşırlar [64].

Pigment yapmayan fakat glukozdan asit yapabilen *Pseudomonas*’lar ikinci gruba girmektedir. Üçüncü gruba girenler glukozdan asit yapmazlar ve Hugh-Leifson mediumu alkalize ederler. Dördüncü gruptaki *Pseudomonas*’lar Hugh-Leifson mediumu alkalize etmezler [64].

Fluoresans özelliği gösteren psikrofil bakterilerden *P. putida*, jelatini parçalamamasına rağmen, diğer bazı *Pseudomonas*’ların lipolitik özelliklerini gösterirler. Jelatini parçalayan *Pseudomonas*’lara, *P. putrefaciens* ve *P. fragi*’yi örnek olarak gösterebiliriz. Bu bakteriler, proteinleri parçalarlar ve ette lipolitik olarak etkilerini sürdürürler [35].

Newton ve ark. (1978) Yeni Zelanda’da et ürünleriyle yapmış oldukları çalışmada Gram (-), psikrofil mikroorganizmalardan *Pseudomonas*, *Acinetobacter* ve *Moraxella*’nın daha fazla sıklıkta bulunduğunu tespit etmişlerdir [65].

Dainty ark. (1983) et ve et ürünlerinde *Pseudomonas*’ların 106-108/cm² düzeyinde bulunduğu zaman bozulma nedeni olduğunu söylemişlerdir [66].

Chambers (1976), 457 kıyma örneğini ABD’nin Ohio eyaletindeki çeşitli perakendecilerden alarak yaptıkları çalışmada taze etlerin bozulmasında psikrofil floranın önemli rol oynadığını ve bunlar içerisinde özellikle *Pseudomonas* türlerinin etkin olduğunu bildirerek sanitasyon ve muhafaza sıcaklığına dikkat edilerek daha kaliteli kıyma üretilbileceğini vurgulamışlardır [67].

Banwart tarafından 1989 yılında yapılan araştırmada dondurulmuş etlerde psikrofil mikroorganizmaların önemli potansiyel bozucu oldukları belirtilmiştir [68]. Taze etlerde sıklıkla rastlanan mikrobiyolojik bozulmalar aerobik ve anaerobik koşullarda meydana gelen bozulmalar olarak iki grupta toplanmaktadır. Ancak etlerde aerobik

ve anaerobik faaliyetler birlikte olduğu için her iki bozulma şekli genellikle bir arada gelişir. Başlıca tipik aerobik bozulmalar; et renginin değişmesi, küf gelişmesi ve yüzeyde yapışkanlık olarak üçe ayrılmıştır. Yapılan çalışmalarda bu tür aerob bozulmalara *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Alteromonas*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus* ve *Micrococcus* türleri neden olmaktadır. Soğukta saklanan taze etlerde daha çok *Pseudomonas-Alcaligenes* grubu bakteriler gelişmektedir. Daha yüksek sıcaklıklarda bekletilen etlerde ise *Micrococcus* ve diğer mezofilik bakteriler *Pseudomonas-Alcaligenes* grubu bakterilerle rekabet edebilirler. Sığır etlerinde kötü koku ve yüzeyde kayganlığın oluşabilmesi için 1 cm²'deki mikroorganizma sayısının 1,2x10⁶-1,0x10⁸ düzeylerine çıkması gerekir [8].

Lampropoulou ve ark.(1996) yaptığı araştırma sonuçlarına göre, 4°C'de bekletilen kıymaların mikroflorasında aerob şartlar altında *Pseudomonas*'ların daha fazla yoğun bulunduğunu, *Pseudomonas*'ları takiben laktik asit bakterilerinin ve *Brochothrix thermosphocta* türlerinin görüldüğü belirtilmiştir. Bu çalışmada *Pseudomonas*'ların izolasyonunda *Pseudomonas*-CFC agar kullanılmıştır [69].

Arnaut-Rollier ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada taze ve dondurularak saklanan tavuk derilerinde *Pseudomonas*'ların varlığı tesbit edilmiştir. *Pseudomonas* türlerinden *P. fragi*, *P. lundensis*, *P. putida*, *P. acidovorans*, *P. alcaligenes* ve *P. fluorescens*'in dominant olarak bulunduğunu saptamışlardır [70].

Nortje ve ark. (1990) et ve et ürünlerinde ve üretim sistemi içinde temas ettikleri yüzeylerde aerobik psikrofil popülasyonu araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda soğutulmuş et yüzeyinde %51, mezbahadaki karkaslarda %36 oranında, *Pseudomonas*'ların ortamda daha yaygın olarak bulunduğu, daha az sıklıkla, Gram (+) kok, *Acinetobacter*, *Alcaligenes* ve *Moraxella* tespit etmişlerdir. Mezbahalardan 295, toptancıdan 375 ve süpermarketlerden 595 olmak üzere toplam 1265 suş izole etmişlerdir. İzole edilen 471 *Pseudomonas* suşunun 107'si (%36,3) mezbahadan, 58'i (%15,5) toptancıdan, 306'sı da (%51,4) süpermarketlerden elde edilmiştir. 57 *Acinetobacter spp.* izolatının 21'ini (%7,1) mezbahadan, 18'ini (%4,8) toptancıdan, 18'ini de (%3) süpermarketten izole etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada, 32 *Alcaligenes*

spp. izole etmişlerdir ve bunların dağılımını; 13'ünü (%4,4) mezbahadan, 10'unu (%2,7) toptancıdan, 9'unu (%1,5) süpermarketten olarak göstermişlerdir [71].

Dainty ve ark. (1985) doğal ortamda bekletilen kontamine olmuş sığır etlerinin buzdolabı ısısında depolanmaları süresince, depolanan etlerde *Pseudomonas* spp.'lerin baskın tür olduğunu ve daha az sıklıkta *Brochothrix thermosphocta* ve *Enterobacteriaceae* bulunduğunu saptamışlardır [72].

Shaw ve Latty (1984), aerobik ortamda; sığır, koyun ve domuz etlerinden 787 *Pseudomonas* izolatu elde etmişlerdir. Bu izolatının içerisinde, *P. fragi*, *P. fluorescens* biyotip I, *P. fluorescens* biyotip III ve *P. putida* türlerini çoğunlukta bulmuşlar, 0-10°C arasında depolanan sığır, domuz ve koyun etlerinde *Pseudomonas*'ların benzer dağılım gösterdiğini tespit etmişlerdir [73].

Gill ve Newton, (1980) Yeni Zelanda'da yapmış oldukları araştırmada et ürünlerinde bozulmaya etkisi olan mikroflora içerisinde, 20°C'de %60 *Pseudomonas*, %11 *Acinetobacter*, %10 *Moraxella*, %8 *Micrococcus*, %5 *Enterobacteriaceae*; 30°C'de ise %19 *Pseudomonas*, %44 *Acinetobacter*, %1 *Moraxella*, %36 oranlarında *Enterobacteriaceae* türlerini izole etmişlerdir [74].

Tekinşen ve ark. (1980) Ankara'da satışa sunulan kıymaların mikrobiyolojik karakterlerini araştırdıkları çalışmada; et ve balık kurumu bayileri, ordu pazarı ve süper marketlerden alınan 20 kıyma örneğini incelemişlerdir. Alındıkları kaynaklara bağlı olarak mikroorganizma sayıları bakımından örneklerin oldukça farklılık gösterdiği görülmüştür. Et ve balık kurumu ve ordu pazarına ait örneklerin süper marketlerden alınanlara göre mikrobiyolojik olarak daha iyi kalitede oldukları saptanmıştır [75].

Gashe ve Mpuchane (2000) yılında 354 et örneğinde yaptıkları çalışmada toplam aerobik mikroorganizmaların çoğunun psikrofil türlerden oluşturduğunu tespit etmişlerdir [76].

Zorunlu aerob olan *Pseudomonas*'lar etlerin bozulmasında rol oynayan önemli mikroorganizmalardır. *Pseudomonas*'lar glikozu kullanmayı tercih etmekte ve glikoz

bittiğinde, aminoasitleri kullanıp kötü kokulu bileşikler üretmektedir. Aminoasitler kullanıldığında sayıları 10^8 hücre/cm²'yi aşmakta ve etin yüzeyinde kaygan bir tabaka göze çarpmaktadır [77].

Tavuklarda psikotrofik bakteriler, tüylerden, su kaynaklarından, soğutma tanklarından, soğutma tanklarından ve fabrikadaki işleme ekipmanlarından kaynaklanır. Özellikle ekipmanların gün sonunda temizlenip dezenfekte edilmemesi durumunda üzerinde kalan yağ, et ve kan kalıntıları mikroorganizmaların *Pseudomonas*'ların çoğalması için iyi bir ortam oluşturur ve mikroorganizmalar ertesi gün işlenen ürüne geçebilir [4].

Barnes ve Thornley (1960) yaptıkları çalışmada ızgaralık tavuk karkaslarında başlangıçta *Pseudomonas spp.*'nin %2 oranında olduğunu belirtmişlerdir. Depolamanın sonraki evrelerinde ise ette bulunan bakteriyel türlerin yaklaşık %80'ini *P. fluorescens*'in oluşturduğunu bildirmişlerdir [78].

Viehweg ve ark. (1989) tavuk karkaslarında 8 günlük depolamanın sonunda ise bozulma florasının %50'sini *P. fluorescens* ve *P. putida*'nın oluşturduğunu bildirmiştir [79].

Sezen (2009), İstanbul piyasasında ambalajlı olarak satışa sunulan taze kanatlı etlerinin son kullanma tarihlerinde duysal, kimyasal ve mikrobiyolojik analizlerini yaparak hijyenik kalitelerini araştırmıştır. Çeşitli firmalara ait, tavuk ve hindi etlerinden oluşan 175 numuneden 101'inde kokuşma yönünden pozitiflik tespit etmişlerdir. Elde ettikleri mikrobiyolojik bulgulara göre toplam örneklerin 108'inin toplam mezofil aerob bakteri, 4'ünün *Escherichia coli*, 5'inin *Staphylococcus aureus* ve 95'inin (25 piliç but, 33 piliç kanat) *Pseudomonas spp.* sayıları yönünden Türk Gıda Kodeksinde belirtilen değerlerin üzerinde olduğunu tespit etmişlerdir [80].

Studer ve ark. (1998) gaz geçirgenli polietilen ambalajlarda bulunan kanatlı karkaslarında 8 günden sonra bakteri gelişiminin azaldığı, paketlenmiş ve paketlenmemiş karkasların hepsinde *Pseudomonas*'ların floraya hakim olduğunu belirtilmiştir [81].

Regez ve ark. (1988) soğuk depolama ($0-4^{\circ}\text{C}$) sonrasında kanatlı karkaslarında bozulma yapan floranın %60-80'ini *Pseudomonas*'ların oluşturduğunu bildirmişlerdir [82].

Soğukta depolanan tavuk karkaslarında *Pseudomonas* identifikasyonu üzerine yapılan çalışmada onyedici karbon kaynağını kullanma özelliklerine göre gruplama yapılmıştır. 601 izolatın 531 tanesi (%88) *Pseudomonas sp.* olarak tanımlanmıştır. Diğer türler ise *P.lundensis* ve *P.fragi* olarak bulunmuştur [83]

2.6. Siderofor Üretimi

Demir birçok enzimin redox aktivitesi için temel kofaktörlerdendir ayrıca biyolojik olarak kullanılabilen demir optimal büyüme için mikromolar seviyelerde birçok bakteri için gereklidir [84]. Demir; biyokatalist olarak demir yerine kobalt ve manganez kullanan Laktobasil cinsi bakteriler hariç, diğer tüm mikroorganizmalar için zorunlu bir gelişme faktörüdür [85-87].

Yüksek ökaryotlar önemli miktarlarda demir içermelerine rağmen, bu moleküler depo ve taşıma proteinlerine bağlı olduğundan mikroorganizmaların kullanımı için uygun değildir [88]. İnsan vücudunda da bulunan bol miktardaki demire rağmen, serbest demir miktarı, bakterilerin çoğalmasını sağlayacak miktardan düşüktür. Bakteriler, iyi üreyebilmek için 10^{-5}mol/L serbest demir iyonuna gereksinim duyarlar. Vücut sıvılarında sadece yaklaşık 10^{-20}mol/L serbest demir iyonu bulunmaktadır [86].

Demir bakterilerin büyümesi, çoğalması ve konakta kalıcı infeksiyon oluşumunda temel rol oynadığından; patojen bakteriler konaktaki proteinlere bağlı demiri kullanabilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir [89,90]. Bağlı haldeki ferric demiri ferroz iyonlarına indirgeyerek ya da ferric-siderofor formunu alarak demir elde etmek gibi mekanizmalar bunlardan bazılarıdır [88].

Siderofor sözcüğü demir kazanıcısı ya da demir taşıyıcısı anlamına gelir ve yunanca bir kelimedir. Sideroforlar yalnızca büyüme ortamında demir oranı yetersiz

olduğunda üretilerek ortama salınırlar. Sideroforların varlığı bakterilerin virulansı ile ilişkilendirilmiştir [91].

Siderofor aracılığıyla demir elde etmek bakteriler arasında en yaygın demir elde etme şeklidir. Sideroforlar, toprak ve su ortamlarında yaşayan bakterilerin yaşamlarını sürdürebilmesi ve büyümesi için çok önemlidir [84]. Ayrıca hayvanlarda ve insanlarda hastalık etmeni olan patojenlerin virulansı için gereklidir [92].

Beşyüze yakın sayıda farklı siderofor kimyasal olarak tanımlanmıştır [93].

Fluoresan *Pseudomonas*'lar birbirlerine kovalent olarak peptid bağlarıyla bağlanmış quinoline gruplarından oluşan pyoverdin veya pseudobactin olarak isimlendirilen renk maddesine sahip sideroforlar üretirler. Bu renk maddeleri, suda çözünebilen, besi ortamına yeşilimsi sarı renkli görünümde yayılabilen ve ultraviyole ışık altında floresan parlama özelliğinde olan maddelerdir. Floresan *Pseudomonas*'lardaki pyoverdin Fe^{+3} iyonuna yüksek derecede bağlanma eğilimindedir. Bu bağlanma bakteri hücresinin dış membranındaki spesifik reseptörler tarafından gerçekleştirilir. Daha sonra Fe^{+3} iyonu sitoplazma içerisine taşınarak Fe^{+2} iyonuna indirgenir ve kullanılabilecek hale gelmiş olur [94].

Pyoverdinler dışında demire düşük seviyede eğilim gösteren değişik sideroforlarda farklı *Pseudomonas*'larda tanımlanmıştır [95]. Bunlar arasında piyoselin [96], pseudomonin [97], salisilik asit [98], kuinolobaktin ve siderofor olarak kabul edilen pyridine-2,6-bis (PDTC) sayılabilir [95,99].

Pyoverdinler, aslında floresan *Pseudomonas*'ların sideroforları olan, karakteristik floresan pigmentleridir [100]. Fırsatçı patojen olan *P.aeruginosa*'nın çeşitli hastalık tiplerinde enfeksiyon oluşturabilmesi için pyoverdin gereklidir [101]. Pyoverdine bağlı demir taşınmasının biyofilm meydana getirmede önemli olması *Pseudomonas*'lardaki bu sideroforların önemini arttırmaktadır [101].

2.7. Serum Direnci

Konağın mikroorganizmalar tarafından istila edilmesine karşı ilk savunma şekillerinden biri serumun bakterisit etkisidir. Serum bakterisit etkisi temel olarak

kompleman proteinlerle başlatılır ve bu kompleman sistemi sayesinde savunma mekanizması başlar. Bu mekanizmaya karşılık olarak patojen mikroorganizmalar serumun bakterisit özelliğini etkisiz hale getirecek stratejiler geliştirmiştir [11].

Çoğu kommersal gram negatif bakteri insan serumunun bakterisit etkisine duyarlıdır. Oysa patojenik suşlar çoğunlukla seruma direnç gösterir. İnsan serumunun bakterisit etkisine karşı dayanıklılık, birçok gram negatif bakteri için patojeniteyi indükler [102].

Bazı *Pseudomonas* suşlarının insan veya hayvan serumu karşısında herhangi bir enfeksiyona neden olmadan üremelerinin durduğu saptanmıştır. Buna karşılık bazı suşların ise üremelerini sürdürdükleri saptanmış, seruma dirençli olarak tanımlanan bu suşların özellikle doku içerisinde yayılma eğilimi gösteren infeksiyonlardan sorumlu suşlar olduğu ileri sürülmüştür [11,103,104].

Doğal bir direnç bilinmediği halde, kan, yara, idrar ve yanıktan izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının çoğunda serum direnci gösterilmiş, mukoid koloni yapan suşların yapmayanlara oranla seruma daha duyarlı oldukları bildirilmiştir [105].

Young ve ark. (1972), 46'sı kan kültürlerinden, 43'ü ise saprofit olarak tanımlanan (deri ve gastrointestinalden izole) toplam 89 *P.aeruginosa* suşunun değişik oranlardaki serum konsantrasyonlarında 1 saatlik inkübasyon süresi sonunda serum duyarlılıklarını ölçtüklerinde; kan kültürlerinden elde edilen 46 suşun 42'sini (%91), 43 saprofit suşun 34'ünü (%79) serum dirençli olarak saptamışlardır [106].

Cevahir ve ark. (2006) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşlarının serum dirençliliklerini araştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda *P.aeruginosa* suşlarının 4'ünü(%8,3) duyarlı, 9'unu(18,7) orta duyarlı, 35'ini (%72,9) ise dirençli bulmuşlardır [107].

Mete ve ark. (1998) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri *P.aeruginosa* suşlarının 72'sini (%83,7) dirençli, 8'ini (%9,3) orta duyarlı, 6'sını (%6,9) duyarlı bulmuşlardır [108].

2.8. Antimikrobiyal Duyarlılık

Pseudomonas'lar hücre duvarında bariyer bir mekanizmanın varlığından ve antibiyotiklere etkili enzimler (beta-laktamaz ve aminoglikozitleri modifiye eden enzimler) ürettiğinden dolayı yaygın olarak kullanılan birçok antibiyotiğe dirençlidirler [109].

Walker ve ark. (2002) tavuklardan izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarının antibiyotik duyarlılığını çalışmışlardır. *P. aeruginosa* izolatlarının sülfisoksazol, seftiofur, penisilin, linkomisin, basitrasin, oksitetrasiklin, eritromisin, naladiksik asit ve tetrasikline karşı dirençli olarak bulmuşlardır [110].

Jensen ve ark. (2001) Danimarka'da 4 domuz çiftliğinde topraktan fluoresens *Pseudomonas* türlerinden *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa* türlerini ve *Bacillus cereus* izole etmişlerdir. Yapılan antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre kloramfenikol, nalidiksik asit, nitrofurantoin, streptomisin ve tetrasikline dirençli bulurlarken, siprofloksasin, gentamisin ve kanamisin'e duyarlı bulmuşlardır [111].

P. aeruginosa nonfermentatif Gram negatif çomaklar içinde infeksiyonlara en sık neden olan etkindir. Değişik çalışmalarda, hastane infeksiyonlarının % 8-25'inden *P. aeruginosa*'nın sorumlu olduğu gösterilmiştir. Özellikle yoğun bakım ünitesi ve nötroopenik hastaların izlendiği bölümlerde bu bakterinin etken olduğu hastane infeksiyonları ön plana çıkmaktadır [112].

P. aeruginosa pek çok antibiyotiğe karşı intrensek dirence sahiptir ve farklı kromozomal mutasyonlarla veya plazmidler, transpozonlar veya integronlar aracılığıyla taşınan direnç genlerinin horizontal kazanımı yoluyla direnç geliştirebilme yeteneğine sahiptir [19].

P. aeruginosa başlıca iki intrensek direnç mekanizmasına sahiptir. Bunlar; ampisilin, amoksisilin, amoksisilin-klavulonat, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, sefotaksim ve seftriaksona [114] direnci sağlayan indüklenebilir kromozomal AmpC β -laktamazlar ve çeşitli atım pompa sistemleridir [115].

Çeşitli antibiyotikler *P.aeruginosa*'nın intrinsek direncinin üstesinden gelir. Bunlar arasında geniş spektrumlu penisilinler (piperasilin ve tikarsilin), bazı genişlemiş spektrumlu sefalosporinler (seftazidim ve sefepim), karbapenemler (imipenem ve meropenem), monobaktamlar (aztreonam), florokinolonlar (siprofloksasin ve levofloksasin), aminoglikozidler (gentamisin, tobramisin ve amikasin) ve kolitsin sayılabilir. Tüm antipseudomonal antibiyotiklere karşı mutasyonel olarak kazanılmış direnç gelişebilir [19].

Toplumdan kazanılmış *P. aeruginosa* izolatları genellikle antipseudomonal penisilinlere (tikarsilin ve piperasilin), aminoglikozidlere (gentamisin, tobramisin, amikasin), siprofloksasine, sefoperazona, seftazidime, meropeneme ve imipeneme hassastır. Antistafilokokkal penisilinler, sulbaktam-ampisilin, ampisilin, amoksisilin, amoksilin-klavulanik asid, 1. ve 2. kuşak sefalosporinler, sefotaksim, seftriakson, trimetoprim sulfametaksazol, nalidiksik asid'e doğal olarak dirençlidir. Tetrasiklinler, makrolidler, rifampin, kloramfenikol, sefiksim, sefpodoksime ise kural olarak dirençlidir. Tikarsilin, piperasilin, seftazidim, sefepim, sefpirom, sefoperazon, karbapenemler ve aztreonam antipseudomonal β -laktamlardır [30].

P. aeruginosa kökenlerinde uzun süreli tedavi sırasında antibiyotiklere direnç gelişebileceği, başlangıçta duyarlı bulunan kökenlerin tedavinin başlangıcından 3-4 gün sonra dirençli hale gelebileceği, bu nedenle tekrarlanan kültürlerde aynı bakterinin izole edilmesi halinde antibiyogram yapılmasının uygun olacağı belirtilmektedir [116].

Klinikte ciddi sorun *Pseudomonas* türlerinin β -laktamazları 'indüklenebilir' özelliktedir. Bu bakteriler antibiyotiklerin yokluğunda eser miktarda β -laktamaz sentezlerken ortamda β -laktam antibiyotikler bulunduğunda sentezledikleri β -laktamaz seviyesi geçici olarak yükselmektedir. Bu durumda antibiyogramlarda zayıf indükleyici olan geniş spektrumlu sefalosporinler, üreidopenisilinler ve aztreonama duyarlı bulunurlarsa da bu antibiyotiklerle tedavi sırasında β -laktamızı indüklenebilir populasyon ölürken populasyonda bulunan dereprese mutantlar seçilip aşırı üreyebilir ve sonuç olarak tedavi başarısızlığı ortaya çıkabilir [117,118].

P. aeruginosa genetik olarak birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençli olmasının yanı sıra kemoterapi sırasında da çoğul dirençli suşlar ortaya çıkabilmektedir [119,120]. Bu direnç mekanizmaları başlıca şu şekildedir:

- Beta laktamaz salınmasına bağlı direnç; Kromozomal ve plazmid kaynaklı β -laktamazların üretimi.
- Antibiyotik hedeflerinde değişiklik sonucu oluşan direnç; Penisilin bağlayan proteinler (PBP)'deki değişime bağlı olan bu direnç Gram negatif bakterilerde yaygın değildir. Bununla birlikte *Pseudomonas* cinsi bakterilerde β -laktamaz üretmeyen suşlardaki penisilin direncine düşük afiniteli PBP'ler neden olur.
- Dış membran geçirgenliğinin azalması ile kazanılan direnç; Porin proteinlerinde değişiklik.
- Aktif dışa pompalama sistemi ile antibiyotiğin dışarı atılmasına bağlı direnç.

Pseudomonas'larda β -laktamazlardan sonra en önemli direnç mekanizmaları aktif dışa pompalama sistemleridir. Günümüzde aktif dışa pompalama sistemleri en iyi *P. aeruginosa*'da araştırılmıştır. Aktif dışa pompalama sistemleri yapısal olup normalde düzenleyici genler ile kontrol altındadır. Bu genlerdeki mutasyonlar aktif dışa pompalama sistemlerinin aşırı çalışmasını ve antimikrobiyallerin de dışarı atılmasına neden olur [121,122].

P. aeruginosa'da MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXYOprM aktif dışa pompalama sistemleri tanımlanmıştır. MexAB-OprM aktif dışa pompalama sistemi en iyi tanımlanmış olanıdır [123].

Aktif pompalama sistemi ile kazanılan direnç çoğul direnç genine sahip fenotipler oluşturur. MexAB-OprM aktif pompalama sistemi imipenem hariç tüm betalaktamlara ve kinolonlara direnç oluşturması ile önemlidir. MexCD-OprJ aktif pompalama sistemi 4. kuşak sefalosporinlere direnç oluşturur. MexEF-OprN aktif pompalama sistemi karbapenemlerde de dirence neden olabilir [122,124].

Multiple antibiyotik direnci (MAR) *P. aeruginosa*' da çoğul antibiyotik direncine sebep olur ve en az üç mutasyon sonucu ortaya çıkar. Bunlar nalB, nfxB, nfxC gen mutasyonlarıdır. Bunların hepsi düzenleyici genlerdeki değişikliklere ek olarak aktif dışa pompalama sistemlerinde aşırı salınmaya neden olurlar [122,124].

Dış Membran Porin Defektleri; Dış membran gram negatif bakteriler için oldukça önemlidir. *P. aeruginosa* dış membranındaki asıl porin proteini OprF dir. OprB, OprC, OprD, OprE yardımcı porin proteinleridir. OprD porin kaybı karbapenem direncini gösterir. Bu durumda meropeneme duyarlılık azalırken, imipeneme direnç ortaya çıkabilir. *P. aeruginosa* tedavisinde ilk haftanın sonunda OprD kaybı ile yaklaşık olarak % 50 oranında karbapenem direnci saptandığı gösterilmiştir [122,123,125].

Plazmid kaynaklı fosforilasyon, asetilasyon, adenilizasyon ile enzimatik hidroliz, permeabilite azalması, ribozomal hedeflerdeki değişiklikler, kromozomal kaynaklı aphA gen mutasyonları aminoglikozid direncinin oluşmasına katkıda bulunur. Ayrıca aktif dışa pompalama sistemleri de bu dirence neden olurlar [115,126].

P. aeruginosa'da DNA giraz (Topoizomera II) mutasyonları, dış membran proteinlerinin özellikle OmpF, OmpC defektleri ile oluşan dış membran geçirgenliğinin değişmesi ve aktif dışa pompalama sistemlerinin hepsi kinolon direncine neden olur [127,128].

Besi hayvanları için antimikrobiyal ajanların kullanımı hayvanlar için patojenik olan bakteriler arasında direncin seleksiyonu ile hayvanlardaki infeksiyonların tedavisinde problemlere neden olabilmektedir. Bu zoonotik bakterilerde direnç gelişimi primer olarak tedavi başarısızlığı ile giden bir halk sağlığı problemi oluşturmaktadır [129,130]. İnsanlarda olduğu gibi hayvanlarda da antibiyotiklerin kullanımı sadece patojenik bakterilerde direncin artmasına yol açmaz ayrıca bunların endojen floralarına da dirençli suşların yerleşmesine neden olur. Hayvanlardaki bu dirençli zoonotik veya flora bakterileri insanlara sadece direkt yolla bulaşmaz, ayrıca hayvansal besin maddeleri ile de bulaşabilir. Bu suşların insanlara bulaşması sonucu oluşabilecek enfeksiyonlarda tedavi oldukça güçleşecektir [130]. Son yıllarda

hayvanlardan insanlara bulaşan infeksiyon ajanlarında antimikrobiyal ajanlara gittikçe artan direnç görülmeye başlanmıştır. Hayvanlarda hem büyümeyi desteklemek amacıyla, hem de insanlarda olduğu gibi infeksiyonların tedavisinde antimikrobiyal ajanların kullanımının artışı söz konusudur. Bunun sonucunda ortaya çıkan dirençli genler, antibiyotik dirençli suşların seçilmesine neden olmuştur [129,131].

2.9. Beta Laktamazlar

Beta-laktamazlar kromozom, plazmid veya transpozonlarla kodlanan enzimlerdir ve sınıflandırılmalarında genellikle iki şema kullanılır: Ambler klasifikasyon şeması ve Bush-Jacoby-Medeiros klasifikasyon sistemi. AmpC beta-laktamazları Ambler sınıflandırmasında grup C (Bush-Jacoby-Medeiros grup 1)'de yer alan, hemen hemen tüm Gram negatif bakterilerden değişen oranlarda salgılanan enzimlerdir [132].

İndüklenebilir veya indüklenemeyen özellik gösteren AmpC beta-laktamazları sefalosporinleri penisilinlerden daha etkin parçalamaktadır [117].

Beta-laktam/betalaktamaz inhibitörleri bu enzimi üreten suşlara etkisizdir [133].

Acinetobacter, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Providencia*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia marcescens* izolatları indüklenebilir beta-laktamaz üretmektedir [134].

Bu enzimler ortamda indükleyici antibiyotik yoksa düşük düzeyde yapılmakta, indükleyici beta-laktam antibiyotik varlığında ise sentezleri geçici olarak artmaktadır. Farklı antibiyotiklerin AmpC beta-laktamaz salgısını indükleme yeteneği farklıdır. Örneğin imipenem ve sefoksitin güçlü indükleyici iken sefoksitin indüklediği enzimle hızla parçalanır, imipenem ise enzimin etkisine dayanıklı olduğundan tedavide sorun teşkil etmez. Üçüncü kuşak sefalosporinler AmpC beta-laktamazları için zayıf indükleyicidir, enzim yüksek düzeyde salgılanmadığı sürece sorun oluşturmazlar [117,135].

Dördüncü kuşak sefalosporin olan sefepim ise sefalosporinler arasında özellikle AmpC beta-laktamazlarına karşı iyi stabilite gösteren bir ajandır [117,135,136].

Bugüne kadar en az 350 ye yakın β -laktamaz enzimi tanımlanmıştır. 1980’de Ambler tarafından moleküler yapılarına göre 4 sınıfa ayrılmışlardır:

- Sınıf A, öncelikle penisilinleri hidrolize eder.
- Sınıf B, karbapenemazlardan oluşan metallo- β -laktamazlardır.
- Sınıf C, öncelikle sefalosporinazlardan oluşan, kromozomal AmpC geni tarafından kodlanması nedeniyle AmpC enzimler olarak da adlandırılan enzimlerdir.
- Sınıf D, oksasilinazlardan oluşur.

Bush, Jacoby ve Mederios (1995), biyokimyasal özellikleri ve substrat profillerine göre β -laktamazları 4 gruba ayırmışlardır. Bugün için en geçerli kabul edilen sınıflama budur [137].

Grup 1: Bunların birçoğu kromozomal enzimlerdir ve indüklenibilme özelliğine sahiptirler. Moleküler sınıflamada sınıf C’de yer alırlar. Kromozomal AmpC enzimleri, ayrıca plazmid kontrolündeki FOX-1, LAT-1, MIR-1, BIL-1 β -laktamazları da bu grupta yer almaktadır. Sefaloridin ve sefalotini penisilinden daha hızlı hidroliz ederler. Klavulanik asit ve sulbaktamdan etkilenmezler, buna karşın aztreonam ve kloksasilin tarafından inhibe edilirler. Karbapeneme karşı da duyarlıdırlar. Grup 1 enzimlerini kodlayan genler plazmidlerde de görülebilmekte ve *Enterobacteriaceae* arasında transmisyon yoluyla aktarılabilmektedir. *Salmonella* dışında hemen tüm GN bakterilerde kromozomal grup 1 β -laktamazlar bulunur. Ancak sentez miktarı açısından farklılıklar göstererek yüksek veya düşük düzeyde üretilebilir [117].

Enterobacter spp., *P.aeruginosa*, *C. freundii*, *Serratia spp.*, *Morgenella morganii*, *Providencia stuartii* ve *Providencia rettgeri*’deki sentezlenen kromozomal β -laktamazlar indüklenabilen türdendir [117,138].

Normalde bakteri tarafından bu enzimler bir baskılayıcı mekanizma ile düşük düzeyde sentezlenirken ortama bir penisilin ya da sefalosporin eklendiğinde enzim sentezinde birkaç yüz kat artış olabilmektedir [117]

Farklı beta-laktam antibiyotikler değişik oranlarda olmak üzere Grup 1 β -laktamazları indükleyebilirler. Ancak, indükleyici β -laktamın ortadan kalkmasıyla bakteri tekrar eski bazal β -laktamaz sentezine geri döner. Bu yüzden bu mekanizma ile klinikte kalıcı bir direnç söz konusu olmaz. Esas sorun bu enzimleri doğal olarak fazla miktarda sentezleyen mutant suşlar nedeniyle oluşur [117,138].

Grup 2: En geniş kategoriyi oluşturan bu grup substrat profilindeki farklılık nedeniyle birkaç alt gruba ayrılmaktadır. Tümü moleküller sınıf olarak A ve D’de yer almaktadır. Bu β -laktamazlar penisilinleri, sefalosporinleri, kloksasilini, karbenisilini, karbapenemleri ve monobaktamları hidroliz etmelerine göre 6 alt gruba ayrılırlar [139].

2b, 2be ve 2br alt grubunda bulunan TEM ve SHV grubu enzimler, sık soyutlanan türlerde yaygın olmaları ve plazmidlerce taşınmaları nedeniyle klinik açıdan önem taşımaktadırlar [117,138,140].

2a: Bu alt grupta penisilini hidrolize eden, klavulanik asite duyarlı enzimler bulunmaktadır. *S. aureus*’un enzimleri bu gruptadır. Ayrıca *B.cereus*’un kromozomal β -laktamazları, *Citrobacter amalonaticus*, *Eikenella corrodens* ve *Fusobacterium nucleatum*’da tanımlanan enzimler de bu gruptadır [137].

2b: Hem penisilin hem sefalosporinleri hidrolize eden, klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi β -laktamaz inhibitörlerine duyarlı β -laktamazları içerirler [138].

Plazmid kontrolündeki “geniş spektrumlu” TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri bu gruptadır. Bu enzimlere ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin gibi β -laktam

antibiyotiklere direnç oluşturmaları nedeniyle geniş spektrumlu denilmiştir. TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 β -laktamazları *Enterobacteriaceae* ailesinde yaygın olarak bulunur. Ayrıca OHİO-1 ve *H.influenzae*’da saptanan ROB-1 enzimini de içermektedir. TEM-1 betalaktamazı özellikle *E.coli* suşlarında ampisilin ve

amoksisilin direncine neden olan mekanizmalar arasında en sık görülenidir. Ayrıca TEM-1 enzimi, diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinde olduğu gibi *Haemophilus*, *Vibrio* ve *Neisseria* gibi diğer cinslerde de bulunur. SHV-1 özellikle *K.pneumoniae* suşlarında bulunur [140,141].

2be: Oksiimino β -laktamlar ve monobaktamlar gibi antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucunda TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi ana enzimlerden 1-4 aminoasit değişikliği ile genişlemiş spektrumlu β -laktamlara (seftazidim, seftriakson, sefotaksim veya aztreonam) da etki eden yeni TEM- ve SHV- enzimleri gelişmiştir [140].

Bunlar grup 2be’de yer almakta ve genişlemiş-spektrumlu β -laktamaz (GSBL) olarak adlandırılmaktadır. Sefoksitin, sefotetan ve klavulanik asit gibi β -laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Özellikle *Klebsiella* ve *E.coli* suşlarında yaygındır. Bu grupta yer alan enzimlerden biri de PER-1 enzimidir. Bu enzim ilk kez Türkiye’den izole edilen bakteriyel suşlarda saptanmıştır [142,143].

2br: Klavulanik asitten etkilenmeyen, geniş spektrumlu β -laktamazlar bu gruba alınmıştır. TEM-30’dan TEM-36’ya kadar olan TEM enzimleri ve TRC-1 enzimi bu gruptadır.

2c: Bu grup içinde karbenisilini hidroliz eden, klavulanik asite duyarlı enzimler yer almaktadır. PSE-1, PSE-3, PSE-4 β -laktamazları, *Aeromonas hydrophilia*’nın AER-1 enzimi, *M.catarrhalis*’in BRO-1 ve BRO-2 enzimleri, *V.cholerae*’nin SAR-1 enzimi de bu gruptadır.

2d: Bu grup, kloksasilini penisilinden daha hızlı hidroliz eden β -laktamazları içermektedir. OXA enzimleri bu gruptadır. Bunlardan OXA-11 enzimi, Türkiye’de izole edilen bir suşta saptanmıştır [144]. Klavulanik asit ve sulbaktama dirençlidirler. Grup 2’nin diğer alt gruplarında bulunan tüm enzimler, moleküler sınıf A’da yer alırken, sadece bu alt grup moleküler sınıf D’de yer alır.

2e: Bu grupta yer alan β -laktamazlar sefalosporinaz olmalarına karşın, grup 1’dekilerden farklı olarak klavulanik asitle inhibe olmaktadır. *B.fragilis*’in CepA enzimi, *B.uniformis* ve *B.vulgatus*’un kromozomal CblA ve CfxA, *E.coli*’den izole

edilen FEC-1 ile *S.maltophilia*'nın L2 ve *Y.enterocolitica*'dan izole edilen Blal enzimleri bu grupta yer almaktadır [137].

2f: Bu grupta, *E.cloacae*'nin indüklenebilen IMI-1 enzimi, *E.cloacae*'nin kromozomal NMC-A enzimi ve *S.marcescens*'in Sme-1 enzimi yer almaktadır. Karbapenemleri hidroliz etmekte, klavulanik asit ile inhibe olmaktadır [137].

Grup 3 metallo- β -laktamazlar: B sınıfı olan bu β -laktamazlar, monobaktamlar hariç tüm β -laktamları ve karbapenemleri hidrolize ederler. Sıklıkla etki spektrumlarını genişletecek bir diğer enzimle birlikte üretilirler. Diğer enzimlerden farklı olarak aktif bölgelerinde serin yerine bir Zn^{+2} iyonu bulunur. β -laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezler fakat EDTA ile inaktive olurlar. 3 alt gruba bölünmüştür. 3a'da genellikle penisilinleri karbapenemlerden daha hızlı hidrolize eden IMP-1-8 ve VIM-1-3 enzimleri yer alır. 3b'de *Aeromonas*'ın gerçek karbapenemazları, 3c'de sadece *Legionella gormanii*'nin yüksek sefalosporinaz aktivitesi olan metalloenzimleri yer alır.

Grup 4: Bu grup, klavulanik asit ile pek de iyi inhibe olmayan küçük bir penisilinazlar grubundan oluşur. Biri dışında hepsi kromozomaldır. Yapıları henüz tam olarak saptanamamıştır ve molekül sınıfı henüz belirlenmemiştir. *A.faecalis*, *B.fragilis*, *C. jejuni*'den izole edilen enzimler, *Clostridium butyricum*'un indüklenebilen enzimi, *E. coli*'nin plazmid kontrolündeki SAR-2 -laktamazı bu gruba sokulmuştur. *Pseudomonas cepacia*'daki β -laktamazlar da bu gruba dahildir.

2.9.1. İndüklenebilir beta-laktamazlar (İBL)

Gram olumsuz bakterilerin çoğunda normalde düşük düzeyde üretilen β -laktamazlar, ortamda bir indükleyici bulunması halinde sentezlerinin uyarılması, indükleyici ajan ortadan kalktığında sentezin tekrar bazal seviyeye inmesi nedeniyle, indüklenebilir beta-laktamazlar (İBL) olarak adlandırılırlar. İBL'ler yüksek düzeyde üretildiklerinde karbapenemler hariç tüm beta-laktamları parçalayabilme özelliğindedirler [145].

2.9.2. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)

GSBL'lar genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri parçalayan ve etkileri klavulonikasitle inhibe olan β -laktamazlardır [146].

Beta-laktamaz (BL) dayanıklı genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin 1980'li yıllarda geliştirilmesinden kısa bir süre sonra nozokomiyal infeksiyonlardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında plazmid kontrolünde olan çeşitli BL'ler tanımlanmıştır. Bu enzimlere “Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL)” adı verilmiştir [147].

GSBL'lar; penisilinler, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi sefalosporinleri hidrolize ederken, karbapenemlere, sefamisinlere ve beta-laktamaz inhibitörü içeren kombinasyonlara etki edemezler [147,148].

GSBL'lar beta-laktamazlara ait sınıflandırmada sınıf A'da yer alan grup 2be, grup 2e ve sınıf D (grup 2d) β -laktamazlardan oluşur. Birçok GN bakteride bulunurlar. Geniş spektrumlu penisilinlere, 3.jenerasyon sefalosporinlere ve kısmen sefepime etkili; karbapenemlere, sefamisinlere ve β -laktamaz inhibitörlerine etkisizdirler. Klasik olarak tanımlanan GSBL'lerin büyük çoğunluğu TEM, SHV ve OXA enzimlerinden köken almıştır. Günümüzde TEM türü β -laktamazların sayısı 130'u SHV türü β -laktamazlarınki 50'yi geçmiştir. Bu üç enzimin türevleri dışında son yıllarda 15 bunlardan köken almayan CTX-M, PER, VEB vs. genişlemiş spektrumlu enzimlerde büyük bir artış olmuştur [149].

SHV ve TEM türevi enzimler grup A'da yer almaktadır. OXA türevi olan GSBL'ler ise grup D'de yer alan oksasilinazlardır [146].

GSBL doğrulama testleri klavulonik asit ve indikatör sefalosporin ve/veya monobaktam arasındaki sinerjinin gösterilmesi temeline dayanmaktadır. Sık olarak kullanılan yöntemler;

- Kombine disk yöntemi

- Çift disk sinerji yöntemi
- E test yöntemi
- Mikrodilüsyon yöntemi
- Üç boyutlu test

GSBL sentezleyen bakterilerin klinikte neden olduğu sorunların başında bu enzimleri sentezleyen bakterilerin yol açtığı direnç problemi gelmektedir. Bilindiği üzere bu enzimlerden birini sentezlediği saptanan Gram negatif bakteriler tüm geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama karşı dirençli kabul edilmelidir. Diğer taraftan da bu enzimleri kodlayan plazmidler aynı zamanda pek çok beta-laktam dışı antibiyotiğe karşı da genetik materyal taşımaktadır. Dolayısıyla GSBL taşıyan bakterilerde başta aminoglikozidler olmak üzere kinolon, tetrasiklin, kloramfenikol ve trimetoprim/sülfometaksazol direnci de eş zamanlı olarak bulunabilmektedir [150].

3. MATERİYAL VE METOD

Araştırmamızda 23.03.2008-04.12.2009 tarihleri arasında Ankara'nın çeşitli köylerinden toplanan 20 çiğ süt örneği, çeşitli market ve mandıralarda tüketime sunulan 20 beyaz peynir örneği ile çeşitli pastane ve dondurmacılardan toplanan 20 dondurma örneği süt ürünlerine ait materyal olarak; Ankara'da çeşitli süpermarket ve kasaplardan toplanan 20 kıyma, 20 dana kuşbaşı ve 20 tavuk göğüs eti ise et ürünlerine ait materyal olarak kullanılmıştır. Çalışılan örneklerden *Pseudomonas* izolasyonu gerçekleştirilerek, tür seviyesindeki tanımlamaları Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification Systems ve Enteric/Nonfermenter ID Kit ile yapılmıştır. Tanımlamaları yapılan *Pseudomonas* türlerinde virulans faktörü olarak siderofor varlığı ve serum direnci araştırılmıştır. *Pseudomonas* izolatlarında virulans faktörlerin dışında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi, indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) üretimi ve antibiyotik duyarlılıkları araştırılmıştır.

3.1. Örneklerin Alınması ve Analize Hazırlanması

Araştırmamızda Türk Standardı (TS) 1018 [151] ve TS 4265'de [152] belirtilen esaslara göre süt ve süt örnekleri, TS 11566 [153] ve TS 3135'de [154] belirtilen esaslara göre et ve et örnekleri toplanmıştır. Süt örnekleri steril koyu renkli cam şişelere; et örnekleri de tat ve koku değişime neden olmayacak ve örneklerin mikrobiyal yükünü etkilemeyecek steril kaplara alınarak 0°C - +2°C sıcaklık koşullarında laboratuvar ortamına getirilerek aynı gün içerisinde çalışılmıştır.

3.1.1. Çiğ süt örneklerinin analize hazırlanması

Steril numune kaplarına alınıp analiz için laboratuvara getirilen çiğ süt örneklerinden steril pipet ile 5 ml. alınarak, 45 ml.'lik ringer solüsyonuna ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım vortekslenerek homojenize edildikten sonra ringer solüsyonu ile 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} oranlarında dilue edilmiştir.

3.1.2. Dondurma örneklerinin analize hazırlanması

Steril numune kaplarına alınıp analiz için laboratuvara getirilen dondurma örnekleri 30°C'deki su banyosunda eritilip, steril pipet ile 5 ml. alınarak, 45 ml.'lik ringer solüsyonuna ilave edilmiştir. Hazırlanan karışım vortekslenip homojenize edildikten sonra ringer solüsyonu ile 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} oranlarında dilue edilmiştir.

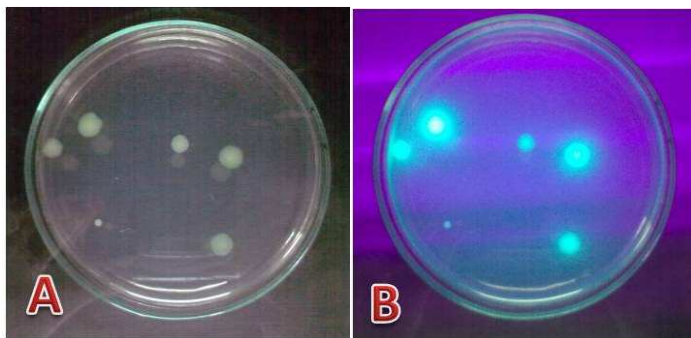
3.1.3. Peynir ve et örneklerinin analize hazırlanması

Steril numune kaplarına alınan beyaz peynir ve et örnekleri, analiz için, en kısa sürede laboratuvara getirilmiştir. Peynir örneklerinden steril pens ve bistüri yardımıyla 5 gr. tartılıp, 15.000-20.000 devir/dakika hızla stomacher ile parçalanarak 45 ml. ringer solüsyonu ile homojenize edilmiştir. Hazırlanan karışım ringer solüsyonu ile 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} oranlarında dilue edilmiştir.

Et ve süt ürünlerine ait her bir örneğin 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} oranlarındaki dilusyonlarından 0,1 ml alınarak *Pseudomonas* CFC (Oxoid CM559) besiyeri bulunan petri kutularına aktarılıp steril drigalski ile ekimleri yapılmıştır. Ekim yapılan plaklar 30-35°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.2. Gıda Örneklerinden *Pseudomonas* İzolasyonu ve İzolatların Tanımlanması

Pseudomonas CFC agar besiyerinde 24-48 saat inkübasyon sonucunda üreyen koloniler 354 nm dalga boyundaki ultra viyole ışık altında incelenerek floresan pigment gösteren koloniler tespit edilmiştir.



A: normal ışıktaki görünüm B: ultra viyole ışıktaki görünüm

Resim 3.1. *Pseudomonas* kolonilerinin *Pseudomonas* CFC agar besiyerindeki görünümü

Ultra viyole ışık altında florasan pigment gösteren koloniler steril öze ile MacConcey Agar besiyerine ekilip, 30-35°C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. MacConcey besiyerinde Laktoz (-) karakterde üreme gösteren koloniler Gram boyama yöntemine göre boyanmış ve Gram (-), basil özellik gösteren koloniler seçilmiştir. Bu izolatlarla Bergey’s of Manuel Systematic Bacteriology’de [15] belirtilen esaslara göre katalaz, oksidaz, sitrat, indol, Metil-Red (MR), Voges-Proskouwer(VP), oksidasyon-fermentasyon (O/F), hareket ve Triple sugar iron (TSI) testleri uygulamıştır. O/F testi sonucunda oksidatif fermentasyon gösteren, TSI besiyerinde alkali sonuç veren, oksidaz (+), katalaz (+), hareket(+), sitrat (+),indol(-), MR(-) VP(-) sonuç gösteren koloniler *Pseudomonas* cinsi olarak tanımlanarak Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerine ekilip 30-35°C’de 24-48 saat inkübe edilerek stoklanmıştır.

Çalışmamızda *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 (Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümü) referans suş olarak kullanılmıştır.

3.3. Gıda Örneklerinden *Pseudomonas* İzolasyonu ve İdentifikasyonunda kullanılan Besiyerleri Ve İçerikleri

Pseudomonas Agar Base (Oxoid CM 559)

Bileşimi;	g/L
Jelatin pepton (Gelatin peptone)	: 16
Kazein hidrolaz (Cazein hydrolysate)	: 10
Potasyum sülfat (Potassium sulphate)	: 10
Magnezyum klorid (Magnesium chloride)	: 1,4
Agar	: 11

Pseudomonas Agar Base besiyeri pH 7,1 ± 0,2 koşullarında; 500 ml’sine 5 ml glycerol ilave edilerek hazırlanmış ve 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. 50°C’ye kadar soğutulan bu besiyerine, 2 ml steril distile su ile karıştırılmış *Pseudomonas* CFC Supplemti (Oxoid SR103) ilave edilerek, elde edilen *Pseudomonas* CFC agar, petri kutularına taksim edilmiştir.

Pseudomonas CFC Supplementi (Oxoid SR 103)

Bileşimi;	gr
Cetrimide	: 0,005
Fucidin	: 0,005
Cephaloridine	: 0,025

Ringer Solüsyon Tabletleri (Merck TP923425)

25°C’de pH 7,0 ± 0,2 koşullarında 500 ml distile su içerisinde 1 tablet homojen olarak çözdürülerek oluşturulan solüsyon uygun cam malzemeye taksim edilir.

MacConkey Agar (LAB M 45)

Bileşimi;	g/L
Pepton(Peptide)	: 20
Laktoz (Lactose)	: 10,0
Sodyum klorid (Sodium chloride)	: 5,0
Safra tuzu (Bile salt no:3)	: 1,5
Nötral kırmızı (Neutral red)	: 0,03
Kristal mor (Crystal violet)	: 0,001
Agar (No:2)	: 15

Toz halindeki maddeler 25°C’de, pH 7,1 ± 0,2 koşullarında 1000 ml distile su içerisinde çözdürülerek, 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrasında 50°C’ye kadar soğutulan besiyeri, petri kutularına taksim edilmiştir.

Tryptone Soy Agar (LAB M 11)

Bileşimi;	g/L
Tripton (Tryptone)	:15,0
Soya Peptonu (Soy Peptone)	:5,0
Sodyum Klorid (Sodium Chloride)	:5,0
Agar (No:2)	:12,0

Toz halindeki maddeler 25°C’de, pH 7,1 ± 0,2 koşullarında 1000 ml distile su içerisinde çözdürülerek, 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrasında 50°C’ye kadar soğutulan besiyeri, petri kutularına taksim edilmiştir.

SIM Besiyeri (Oxoid CM:435)

Bileşimi;	g/L
Tripton (Tryptone)	:20,0
Pepton (Peptone)	:60,1
Ferroz amonyum sülfat(Ferrous ammonium sulphate)	:0,2
Sodyum trisülfat (Sodium thiosulphate)	:0,2
Agar	:3,5

Toz halindeki maddeler 25°C’de, pH 7,3 ± 0,2 koşullarında 1000 ml distile su içerisinde çözdürülerek, deney tüplerine 5’er ml pipetlenmiştir. Tüpler 121°C’de 15 dakika steril edildikten sonra dik konumda soğumaya bırakılmıştır.

Oksidasyon-Fermentasyon (O/F-Glukoz) Besiyeri

Bileşimi;	g/L
Tripton (Tryptone)	: 2
Sodyum klorid (Sodium chloride)	: 5

Dipotasyum fosfat (Dipotassium phosphate)	: 0,3
Brom timol mavisi (BromThymolBlue)	: 0,08
Agar	: 2

Toz halindeki maddeler 25°C’de, pH 6,8 $\pm$ 0,2 koşullarında 1000 ml distile su içerisinde çözdürülerek, 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrasında 50°C’ye kadar soğutulan besiyerine % 10’luk steril glukoz solüsyonundan 100 ml ilave edilerek steril tüplere 4 ml taksim edilmiştir.

Tryptone water (Fluka 70194)

Bileşimi;	g/L
Tripton (Tryptone)	: 10
Sodyum Klorid (Sodium chloride)	: 5

Toz halindeki maddeler 25°C’de, pH 7,5 $\pm$ 0,2 koşullarında 1000 ml distile su içerisinde çözdürülmüştür. Homojen hale gelen besiyeri deney tüplerine 5’er ml pipetlenerek 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir.

Triple Sugar Iron Agar (Oxoid CM 277)

Bileşimi;	g/L
Sığır özütü (Beef extract)	: 3,0
Maya özütü (Yeast Extract)	: 3,0
Pepton (Peptone)	: 20,0
Sodyum Klorid (Sodium chloride)	: 5,0
Laktoz (Lactose)	: 10,0
Sükroz (Sucrose)	: 10,0
Glikoz (Glucose)	: 1,0

Ferrik sitrat (Ferric citrate)	: 0,3
Sodyum tiosülfat (Sodium thiosulphate)	: 0,3
Fenol kırmızısı (Phenol red)	: 0,024
Agar	: 12,0

Toz halindeki maddeler 25°C’de, pH 7,4 $\pm$ 0,2 koşullarında 1000 ml distile su içerisinde çözdürülmüştür. Homojen hale gelen besiyeri deney tüplerine 10’ar ml pipetlenerek 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrasında tüplerdeki besiyeri, yatık bir şekilde katılaşmaya bırakılmıştır.

Simmons Sitrat Agar (Oxoid CM 155)

Bileşimi;	g/L
Magnezyum sülfat (Magnesium sulphate)	:0,2
Amonyum dihidrojen fosfat(AmmoniumDihydrogenPhosphate)	:0,2
Sodyum amonyum fosfat (SodiumAmmoniumPhosphate)	:0,8
Sodyum Sitrat (Sodium citrate, tribasic)	:2,0
Sodyum Klorid (Sodium chloride)	:5,0
Brom timol mavisi (Bromothymol blue)	:0,08
Agar	:15,0

Toz halindeki maddeler 25°C’de, pH 7.0 $\pm$ 0.2 koşullarında 1000 ml distile su içerisinde çözdürülerek deney tüplerine taksim edilmiştir. 121°C’de 15 dakika steril edilen tüplerdeki besiyerleri yatık olarak katılaşmaya bırakılmıştır.

Metil Red- Voges Proskauer (MR-VP) Broth (Merck 5712)

Bileşimi;	g/L
Pepton (etten)(Peptone from meat)	: 7
D(+) Glikoz (D(+))Glukoz)	: 5
Fosfat tamponu (Phosphate buffer)	: 5

Toz halindeki maddeler 25°C’de, pH 6,9 ± 0,1 koşullarında 1000 ml distile su içerisinde çözündürülmüştür. Homojen hale gelen besiyeri deney tüplerine 5’er ml pipetlenerek 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir.

MR indikatörü

Metil red	: 0,2 gr.
%95’lik etil alkol	: 50 ml
Damıtık su	: 50 ml

Toz halindeki metil red 50 ml etil alkol içerisinde homojen hale getirildikten sonra çözeltiye 50 ml distile su eklenerek 100 ml’lik indikatör solüsyon hazırlanır.

VP indikatörü

Alfa naftol (α -naphtol)	: 5 gr.
Etil alkol	: 100 ml.

5 gr α -naphtol 100 ml etil alkol içerisinde homojen hale getirilerek indikatör solüsyon hazırlanır.

%40 KOH

Potasyum hidroksit	: 40 gr.
Distile su	: 100 ml.

40 gr potasyum hidroksit 100 ml distile su içerisinde homojen hale getirilerek %40'lık KOH solüsyonu hazırlanır.

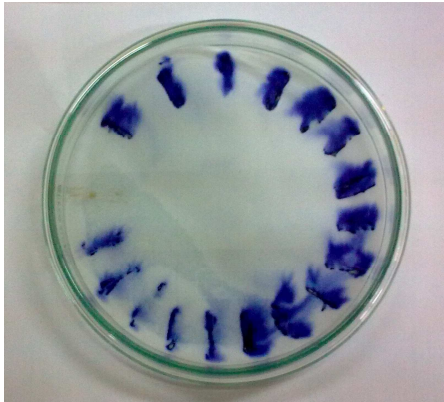
3.4. Gıda Örneklerinden İzole Edilen *Pseudomonas*'ların İdentifikasyonu İçin Yapılan Testler

3.4.1. Gram boyama yöntemi

Klasik Gram boyama yöntemi ile boyanarak *Pseudomonas* 'lar için Gram (-) , basil ve kokobasil tarzında üreme gösteren koloniler çalışılmıştır.

3.4.2. Oksidaz testi

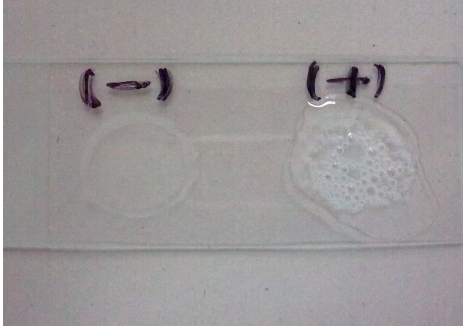
N, N, dimetil p-fenilendiamin dihidrokloridin (%1'lik) çözelti hazırlanarak Whatman No. 1 kurutma kağıdına emdirilmiştir. Bu kurutma kağıdının üzerine, TSA besiyerindeki stok kültürlerden öze ile alınan koloniler reaksiyona sokulduğunda, 5-10 saniye içinde pembe renk oluşturan koloniler oksidaz (-), mavi-mor renk oluşturan koloniler oksidaz (+) olarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.2. Oksidaz Testi

3.4.3. Katalaz testi

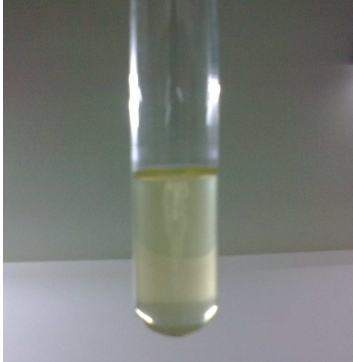
TSA besiyerindeki stok kültürden alınan koloniler temiz bir lam üzerinde serum fizyolojik içinde süspanse edilmiştir. Oluşan süspansiyon üzerine %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatıldığında kabarcıklarının görülmesi halinde test pozitif kabul edilmiştir.



Resim 3.3. Katalaz Testi

3.4.4. Hareket testi

TSA besiyerindeki stok kültürden alınan koloniler iğne öze ile SIM besiyerinin dip kısmına kadar dik bir şekilde batırılarak ekilmiştir. 30-35°C'de 48 saatlik inkübasyon sonucunda ekim çizgisi boyunca ters çam ağacı biçiminde üreme gösteren koloniler hareket pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.4. Hareket Testi (Pozitif Sonuç)

3.4.5. Oksidasyon-Fermentasyon (O/F-Glukoz) Testi

Oksidasyon-Fermentasyon (O/F-Glukoz) testi için stok kültürden 2 ayrı tüpe daldırma şeklinde ekim yapılmıştır. Tüplerden birinin ağzı steril sıvı parafinle kapatılmıştır. 37°C'de 48 saatlik inkübasyon sonucunda her 2 tüpte yeşil rengin sarıya dönüşmesi fermentatif, yalnız parafinsiz tüpün sarıya dönüşmesi oksidatif, her 2 tüpte de hiçbir renk değişikliğinin olmaması non-oksidatif fermentasyon olarak değerlendirilmiştir.

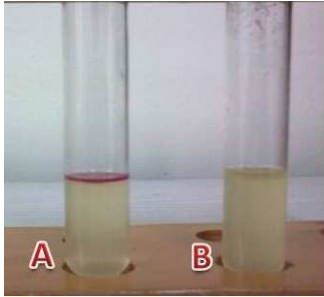


A: Non-oksitatif B:Oksitatif C: Fermantatif

Resim 3.5. Oksidasyon-Fermantasyon Testi

3.4.6. İndol Testi

TSA besiyerindeki stok kültürden öze ile alınarak tryptone water bulunan tüplere ekim yapılarak 30-35°C’de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kültüre 0,5 ml Kovak’s indol ayırıcı (Merck 109293) aktarılıp, tüp çalkalanmıştır. Tüpün üst kısmında kiraz kırmızısı renkte bir tabakanın oluşması testin pozitif, sarı bir tabakanın oluşması ise negatif olduğunu gösterir.



A: İndol pozitif B: İndol negatif

Resim 3.6. İndol Testi

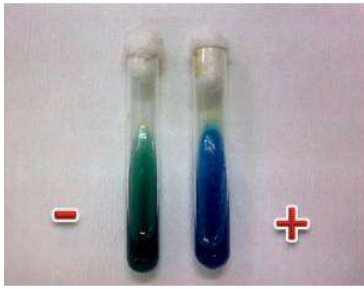
3.4.7. Triple Sugar Iron (TSI) besiyerinde üreme

TSA besiyerindeki stok kültürden iğne öze ile yoğun miktarda örnek alınıp, yatık agar yüzeyine sürme ekim yapılmış ve öze bu işlem sonunda besiyerinin dip kısmına batırılıp çıkarılmıştır. 37°C’de 24 saat inkübasyon sonunda sonuçlar aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir.

<u>Dip Kısım</u>	<u>Yatık yüzey</u>	<u>Sonuç</u>
Değişme yok veya kırmızı	kırmızı	alkali
Sarı	sarı	asit
Sarı	kırmızı	asit-alkali

3.4.8. Sitrat Testi

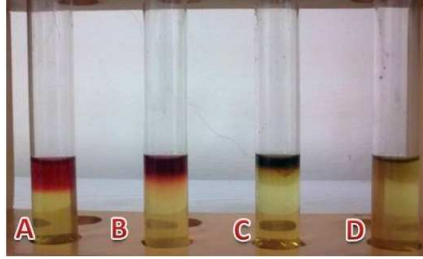
TSA besiyerindeki stok kültürden bir öze dolusu koloni simmon sitrat agar besiyeri olan tüplerdeki yatık yüzeye sürülerek ekim yapmıştır. Yeşil renkli besiyerinin maviye dönmesi sitrat (+) olarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.7. Sitrat Testi

3.4.9. Metil Red (MR) - Voges-Proskauer (VP) Testi

Her izolat için 2 ayrı metilred-vogesproskauer besiyeri içeren tüp hazırlanmıştır. İzolatlar MR-VP sıvı besiyerine ekilip, 37 °C’de 2-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Metil Red testi için, 5 ml kültüre 5 damla olacak şekilde metil red indikatörü eklenmiştir. Rengin kırmızı-pembeye dönmesi testin pozitif, sarı kalması ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Voges-Proskauer testi için, inkübasyon sonucunda besiyerine 0,6 ml α -naphtol + etil alkol karışımı olan VP indikatörü ve 0,2 ml %40’lık KOH ilave edilmiştir. Test sonucunda pembe renk oluşumu (+), sarı renk oluşumu ise (-) olarak değerlendirilmiştir.



A: Metil-Red pozitif B: Voges-Proskauer pozitif
C: Metil-Red negatif D: Voges-Proskauer negatif

Resim 3.8. MR-VP testi sonuçları

3.5. *Pseudomonas* İzolatlarının Tür Seviyesinde Tanımlanması

Pseudomonas cinsine ait izolatların saflık kontrolleri yapıldıktan sonra, tür seviyesindeki tanımlamaları Becton Dickinson (BD) BBL Crystal Identification Systems ve Enteric/Nonfermenter ID Kit ile yapılmıştır. Tryptic Soy Agar besiyerine tek koloni yöntemine göre ekimleri yapılan *Pseudomonas* izolatları, 30-35°C’de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda üreyen *Pseudomonas* kültürleri, tanımlama kitlerinin ait solüsyonlara 0,5 Macfarland bulanıklığına eşdeğer şekilde ekilip, solüsyonun tamamı kit paneline aktarılmıştır. Paneller, 18-24 saat 35-37 °C’de inkübe edildikten sonra, BBL Crystal Panel Viewer cihazı ve Enteric/Nonfermenter ID Kit’e ait renkli okuma kartı ile değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonuçları bilgisayar ortamında, BBL Crystal Identification System programına göre yapılarak *Pseudomonas* türleri tanımlanmıştır.

3.6. *Pseudomonas* Türlerinde Virülans Faktörlerin Belirlenmesi

3.6.1. *Pseudomonas* Türlerinde Siderofor Varlığının Tayini

İzolatların siderofor tayinleri Chrome Azurol Sulphate (CAS) Agar kullanılarak Schwyn ve Neilands yöntemine göre yapılmıştır [155]. Tryptic soy agar besiyerine ekilerek 24 saat inkübasyona bırakılan kültürlerden 2-3 koloni alınarak CAS agara inoküle edilmiştir. 30-35°C’de 24 saat’lik inkübasyon sonrasında mavi-turkuaz renkteki CAS agarın sarı-turuncuya dönmesi siderofor varlığı olarak yorumlanmıştır.

Chrome Azurol Sulphate (CAS) Agar

CAS indikatör solüsyonunun hazırlanması;

Chrome Azurol S (CAS)	:60,5 mg
Demir-III klorid heksahidrat (Iron(III) chloride hexahydrate)	:27 mg
Hidroklorik asit (HCl)	:83,3 µl
Hexadecyltrimethylammonium bromide (HDTMA)	:72,9 mg

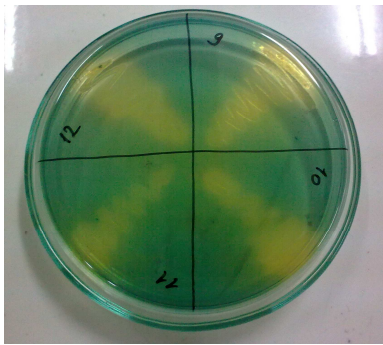
CAS indikatör solüsyonunu hazırlamak için ilk olarak 60,5 mg CAS 50 ml distile suda çözündürülür ve üzerine 10 ml Iron III solüsyonu eklenir (IronIII solüsyonu 100 ml distile suya eklenir 83,3 µl konsantre HCl üzerine 27 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ilave edilerek hazırlanır). Hazırlanan solüsyona 40 ml distile suda çözündürülmüş 72,9 mg HDTMA karıştırılarak yavaşça eklenir. Hazırlanan koyu mavi likit 121°C’de 15 dakika steril edilir.

Basal agarın hazırlanması;

3-(N-morpholino)propane sulfonic asit (MOPS)	:3,0 gr
Agar	:1,5 gr
Sodyum klorür (Sodium chloride)	:0,05 gr
Potasyum fosfat (Potassium phosphate)	:0,03 gr
Amonyum klorür (Ammonium chloride)	:0,01 gr
L-asparjin (L-asparagine)	:0,5 gr
Distile su	:83 ml
% 50 NaOH	:5 ml

100 ml basal agar hazırlamak için agar hariç yukarıda sıralanan tüm maddeler 83 ml distile suda eritilir ve besiyerinin pH’sı NaOH solüsyonu ile 6,8’e ayarlanır. Daha sonra 1,5 gram agar karıştırılarak ilave edilir. Karışım 121°C’de 15 dakika steril

edilir. Steril edilmiş basal agar ve CAS indikatörü öncelikle 50°C sıcaklıktaki bir su küvetinde soğutulmuştur. Bu işlemi takiben 2 ml % 50'lik glukoz solüsyonu basal agar üzerine karıştırılarak eklenir. CAS indikatörü de bu karışım üzerine yavaşça ve karıştırılarak ilave edilir. Steril plaklara bu karışımdan 30 ml dökülür. CAS agara inoküle edilen izolatlar 30°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında koloniler etrafında yeşil agarın sarıya dönmesi siderofor varlığı olarak yorumlanmıştır [155].



Resim 3.9. Siderofor üreten kolonilerin CAS agardaki görüntüsü

3.6.2. *Pseudomonas* Türlerinde Serum Direncinin Belirlenmesi

Pseudomonas türlerinin serum dirençlilikleri Sharma yöntemine göre yapılmıştır [156]. Testte kullanılacak insan serumları gönüllü, sağlıklı yetişkin bireylerden elde edilmiştir. TSA besiyerine ekilerek 24 saat inkübasyona bırakılan kültürlerden 2-3 koloni alınarak brain-heart infusion (BHI) broth besiyerine ekilmiştir. BHI besiyerinde 30-35 °C'de 24 saat inkübasyon sonrası, izolatlar santrifüje edilerek pelletler toplanmış ve tamponlanmış peptonlu su ile bulanıklığı 0,5 McFarland'a eşit olacak şekilde sulandırılmıştır. Tamponlanmış peptonlu sudaki ekimlerden alınan 0,1 ml bakteri süspansiyonu, 0,2 ml normal insan serumu ve 0,1 ml peptone glikose bromothymol broth ile karıştırılmış ve son hacim 0,6 ml tamponlanmış peptonlu su eklenerek 1 ml'ye tamamlanmıştır. Karışım 37°C'de inkübe edilmiştir. Aynı işlemler her bir izolat için kontrol serumları ile de tekrarlanmıştır. Kontrol serumları normal insan serumunu 30 dakika süreyle 56°C ısıya maruz bırakarak elde edilmiştir.

İnkübasyon süresince tüplerdeki renk değişimi (orijinal yeşil rengin sarıya dönüşümü) saat başı kontrol edilmiştir. Buna göre 5 saat sonunda kontrol (inaktive

edilmiş insan serumlu tüp) ve deney tüpünün (normal insan serumlu tüp) her ikisinde de renk değişimi gözlenmesi seruma karşı direnç olarak yorumlanmıştır. Kontrol tüpü 5 saate kadar renk değiştirdiği halde deney tüpü 6,7 veya 8 saatte değiştirir ise seruma karşı orta duyarlı olarak yorumlanmıştır. Kontrol tüpü 5 saat sonunda sarıya döndüğü halde deney tüpünün renginde 8 saat sonunda hiç bir değişme gözlenmemesi seruma karşı duyarlı olarak yorumlanmıştır.

Bromothymol Blue Broth

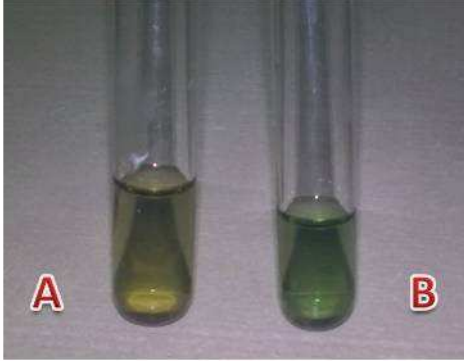
Bileşimi;	g/L
Pepton (Kazeinden) (Peptone from casein)	:10
Sodyum klorür (Sodium chloride)	: 5
Glikoz (Glucose)	:10
Brom timol mavisi (Bromothymol blue)	: 0,025

Glikoz dışındaki bütün maddeler 1 litre distile su içerisinde çözdürülmüş ve 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon sonucunda 100°C'ye kadar soğutulan bileşime 10 gram glikoz eklenmiş ve son karışım 100°C'lik su banyosunda 20 dakika bekletilmiştir. pH kontrolü 25°C'de $7,2 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır.

Tamponlanmış Peptonlu Su

Bileşimi;	g/L
Pepton (Peptone)	:10
Sodyum klorür (Sodium chloride)	:5
Di sodyum hidrojen fosfat($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	:9
Potasyum hidrojen fosfat(K_2HPO_4)	:1,5
Distile Su	:1000 ml

Dehidre besiyeri 25,5 g/L olacak şekilde distile su içerisinde eritilmiş, uygun cam malzemeye dağıtılarak 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası pH kontrolü 25°C’de $7,0 \pm 0,2$ kriteri göz önüne alınarak yapılmıştır [157].



Resim 3.10. Serum Direnci Testi Sonuçları (A: Dirençli B: Duyarlı)

3.7. *Pseudomonas* Türlerinde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) ve İndüklenebilir Beta-Laktamaz (İBL) Varlığının Araştırılması

İzole edilmiş *Pseudomonas* türlerinin GSBL ve İBL varlıkları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilen Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi standartlarına göre yapılmıştır [158].

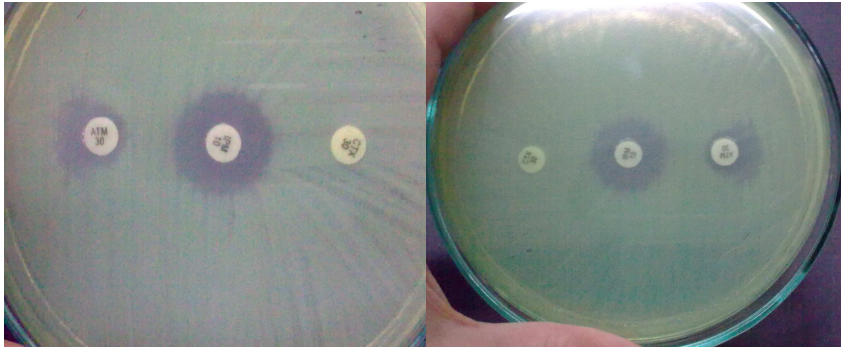
3.7.1. GSBL varlığının tayini

İzole edilen *Pseudomonas* türlerinin GSBL varlığı çift disk sinerji yöntemiyle araştırılmıştır [159]. Mueller hinton besiyerine ekilip 30-35°C’de 24 saat inkübe edilen kültürlerden 2-3 koloni alınarak, 0,5 Macfarland bulanıklık standardına eşdeğer şekilde serum fizyolojik içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyondan, steril eküvyon çubuk ile alınarak Mueller Hinton Agar yüzeyine ekim yapılmıştır. Besiyeri yüzeyine antibiyotik diskleri; merkezde amoxicillin/clavulonic acid (AMC-20/10), merkeze uzaklıkları 25 mm olacak şekilde ise aztreonam (ATM-30), ceftriaxone (CRO-30), cefotaxime (CTX-30), ceftazidime (CAZ-30) olarak yerleştirilir. 30-35°C’de 24 saat inkübe edilen besiyerleri incelenerek aztreonam, ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime disklerine ait inhibisyon zonlarının amoxicillin/clavulonic acid diski karşısında genişlemesi veya iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen

alanda üreme olmayan bir bölgenin bulunması durumunda GSBL pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.7.2. İBL varlığının tayini

İzole edilen *Pseudomonas* türlerinin İBL varlığı direkt indüksiyon direkt indüksiyon yöntemiyle araştırılmıştır [160]. Mueller hinton besiyerine ekilip 30-35°C’de 24 saat inkübe edilen kültürlerden 2-3 koloni alınarak, 0,5 Macfarland bulanıklık standardına eşdeğer şekilde serum fizyolojik içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyondan, steril eküvyon çubuk ile alınarak Mueller Hinton Agar yüzeyine ekim yapılmıştır. Besiyeri yüzeyine antibiyotik diskleri; merkezde imipenem, merkezden 20 mm uzaklıkta olacak şekilde ise aztreonam ve sefotaksim diskleri yerleştirilmiştir. 30-35°C’de 18-24 saat inkübasyon sonucu aztreonam ya da sefotaksim disklerinin imipenem diskine bakan yüzlerinde belirgin bir şekilde daralma görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.11. İndüklenebilir beta-laktamaz enzim aktivitesi gösteren suşlar

3.8. *Pseudomonas* Türlerinin Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Antibiyotik duyarlılık testi CLSI önerilerinde değinildiği üzere Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi [158] izlenerek yapılmıştır. Mueller hinton besiyerine ekilip 30-35°C’de 24 saat inkübe edilen kültürlerden 2-3 koloni alınarak, 0,5 Macfarland bulanıklık standardına eşdeğer şekilde serum fizyolojik içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyondan, steril eküvyon çubuk ile alınarak Mueller Hinton Agar yüzeyine ekim yapılmıştır. Besiyeri yüzeyi kuruduktan sonra antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. 30-35°C’de 18-24 saatlik inkübasyon sonucunda oluşan antibiyotik

inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölülmüştür. Elde edilen zon çapları CLSI da belirtilen zon çaplarıyla karşılaştırılarak *Pseudomonas*'ların, antibiyotiklere hassas ve dirençli olarak değerlendirilmesi yapılmıştır. Bioanalysé firmasından temin edilerek çalışmamızda kullanılan antibiyotikler ve antibiyotik disklerine ait zon çapları [161] izelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmamızda Kullanılan Antibiyotik Diskleri ve Duyarlılık Sınırları

Antibiyotikler	Antibiyotik Konsantrasyonu	Antibiyotik İnhibisyon Zon apı (mm.)	
		Hassas (S)	Dirençli (R)
Aztreonam (ATM)	30 µg	≥22	≤15
Cefotaxime (CTX)	30 µg	≥23	≤14
Ceftazidime (CAZ)	30 µg	≥18	≤14
Ceftriaxone (CRO)	30 µg	≥21	≤13
Ciprofloxacin (CIP)	5 µg	≥21	≤15
Colistin (CT)	10 µg	≥11	≤10
Gentamicin (CN)	10 µg	≥15	≤12
Piperacillin (PRL)	100 µg	≥18	≤17
Ticarcillin/Clavulonic acid (TIM)	85µg	≥15	≤14

4. BULGULAR

Araştırmamızda 23.03.2008-04.12.2009 tarihleri arasında Ankara'nın çeşitli köylerinden toplanan 20 çiğ süt örneği, çeşitli market ve mandıralarda tüketime sunulan 20 adet beyaz peynir örneği, çeşitli pastane ve dondurmacılardan toplanan 20 adet dondurma örneği, Ankara'da çeşitli süpermarket ve kasaplardan toplanan 20 dana kıyma, 20 dana kuşbaşı ve 20 tavuk göğüs eti materyal olarak kullanılmıştır. Çalışılan örneklerden *Pseudomonas* izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen *Pseudomonas*'ların identifikasyonu, siderofor varlığı, serum direnci, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi, indüklenebilir beta-laktamaz (IBL) üretimi ve antibiyotik hassasiyetleri araştırılmıştır.

Çizelge 4.1. *Pseudomonas* türlerinin izole edildiği materyallere göre dağılımları

Materyal		Çalışılan örnek sayısı	İzolat sayısı	%
Süt ve Süt Ürünleri	Çiğ süt	20	4	2,6
	Dondurma	20	10	6,5
	Beyaz peynir	20	20	13
TOPLAM		60	34	22,1
Et ve Et Ürünleri	Kıyma	20	34	22,1
	Kuşbaşı et	20	48	31,2
	Tavuk(Göğüs)	20	38	24,5
TOPLAM		60	120	77,9
GENEL TOPLAM		120	154	

Çizelge 4.1'de gösterildiği üzere; çalışmamızda 120 (60 adet süt ve süt ürünü, 60 adet et ve et ürünü) örnekten; 34'ü (%22,1) süt ve süt ürünlerinden, 120'si (%77,9) et ve et ürünlerinden olmak üzere toplam 154 *Pseudomonas* izolatu elde edilmiştir. Toplam 154 izolatu 20'si (%13) beyaz peynir, 10'u (%6,5) dondurma, 4'ü (%2,6) çiğ süt, 48'i (%31,2) kuşbaşı, 38'i (%24,5) tavuk 34'ü (%22,1) kıyma örneklerinden izole edilmiştir.

Çizelge 4.2. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'ların türlere göre dağılımı

<i>Pseudomonas</i> türü	Çiğ Süt		Dondurma		Beyaz Peynir		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>P.aeruginosa</i>	4	100	3	30	19	95	26	76,5
<i>P.fluorescens</i>	-	-	3	30	-	-	3	8,8
<i>P.putida</i>	-	-	4	40	1	5	5	14,7
TOPLAM	4		10		20		34	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.2'deki sonuçlarımıza göre süt ve süt ürünü örneklerinden izole edilen 34 *Pseudomonas* izolatının 26'sı (%76,5) *P.aeruginosa*, 3'ü (%8,8) *P.fluorescens*, 5'i (%14,7) *P.putida* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.2'ye göre; çiğ süt örneklerinden izole edilen toplam 4 *Pseudomonas* izolatının tamamı *P.aeruginosa* olarak, dondurma örneklerinden izole edilen 10 *Pseudomonas* izolatının 4'ü (%40) *P.putida*, 3'ü (%30) *P.aeruginosa*, 3'ü (%30) *P.fluorescens* olarak; peynir örneklerinden izole edilen 20 *Pseudomonas* izolatının 19'u (%95) *P.aeruginosa*, 1'i (%5) *P.putida* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.3. Et ve et ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'ların türlere göre dağılımı

<i>Pseudomonas</i> türü	Kıyma		Kuşbaşı		Tavuk		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>P.aeruginosa</i>	12	35,3	18	37,5	1	2,6	31	25,8
<i>P.fluorescens</i>	1	2,9	14	29,2	34	89,5	49	40,8
<i>P.putida</i>	20	58,8	16	33,3	2	5,3	38	31,7
<i>P.stutzeri</i>	1	2,9	-	-	1	2,6	2	1,7
TOPLAM	34		48		38		120	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.3'deki sonuçlarımıza göre et örneklerinden izole edilen toplam 120 *Pseudomonas* izolatının 49'u (%40,8) *P. fluorescens*, 38'i (%31,7) *P. putida*, 31'i (%25,8) *P. aeruginosa*, 2'si *P. stutzeri* (%1,7) olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.3'e göre; kıyma örneklerinden izole edilen 34 *Pseudomonas* izolatının 20'si (%58,8) *P. putida*, 12'si (%35,3) *P. aeruginosa*, 1'i (%2,9) *P. fluorescens*, 1'i (%2,9) *P. stutzeri* olarak; kuşbaşı örneklerinden izole edilen 48 *Pseudomonas* izolatının 18'i (%37,5) *P.aeruginosa*, 16'sı (%33,3) *P.putida*, 14'ü (%29,2) *P.fluorescens* olarak, tavuk örneklerinden izole edilen 38 izolatın 34'ü (%89,5) *P.fluorescens* 2'si (%5,3) *P.putida*, 1'i (%2,6) *P.aeruginosa*, 1'i (%2,6) *P.stutzeri* olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.4. Gıda örneklerinden izole edilen *Pseudomonas*'ların türlere göre dağılımı

	Süt ve Süt Ürünleri		Et ve Et Ürünleri		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%
<i>P.aeruginosa</i>	26	76,5	31	25,8	57	37,0
<i>P.fluorescens</i>	3	8,8	49	40,8	52	33,8
<i>P.putida</i>	5	14,7	38	31,7	43	27,9
<i>P.stutzeri</i>	-	-	2	1,7	2	1,3
TOPLAM	34		120		154	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.4'deki sonuçlarımıza göre gıda örneklerinden izole edilen toplam 154 *Pseudomonas* izolatının 57'si (%37,0) *P. aeruginosa*, 52'si (%33,8) *P. fluorescens*, 43'ü (%27,9) *P. putida*, 2'si *P. stutzeri* (%1,3) olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.5. *Pseudomonas*'lardaki siderofor üretiminin süt ve süt ürünü örneklerine göre dağılımı

Siderofor	Çiğ süt		Dondurma		Peynir		TOPLAM
	n	%	n	%	n	%	
	4	100	10	100	20	100	34
TOPLAM	4		10		20		34

n: izolat sayısı

Çizelge 4.5'deki sonuçlarımıza göre çiğ süt, dondurma ve beyaz peynir örneklerinden izole edilen toplam 34 *Pseudomonas* izolatının tamamında siderofor üretimi tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. *Pseudomonas*'lardaki siderofor üretiminin et örneklerine göre dağılımı

Siderofor	Kıyma		Kuşbaşı		Tavuk		TOPLAM
	İzolat sayısı	%	İzolat sayısı	%	İzolat sayısı	%	
	34	100	48	100	38	100	
TOPLAM	34		48		38		

n: izolat sayısı

Çizelge 4.6'daki sonuçlarımıza göre kıyma, kuşbaşı ve tavuk örneklerinden izole edilen toplam 120 *Pseudomonas* izolatının tamamında siderofor üretimi tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki serum direncinin dağılımı

SERUM DİRENCİ	Çiğ süt		Dondurma		Peynir		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Duyarlı	-	-	1	10	4	20	5	14,7
Orta Duyarlı	1	25	-	-	3	15	4	11,8
Dirençli	3	75	9	90	13	65	25	73,5
TOPLAM	4	100	10	100	20	100	34	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.7'deki sonuçlarımıza göre süt ve süt ürünü örneklerinden izole edilen toplam 34 *Pseudomonas* izolatının 25'i (%73,5) insan serumuna dirençli, 5'i (%14,7) duyarlı, 4'ü (%11,8) orta duyarlı bulunmuştur.

Çizelge 4.7'ye göre çiğ süt örneklerinden izole edilen toplam 4 *Pseudomonas* izolatından 1'i (%25) seruma orta duyarlı, 3'ü (%75) dirençli olarak tespit edilmiştir.

Dondurma örneklerinden izole edilen toplam 10 *Pseudomonas* izolatından 1'i (%10) seruma duyarlı, 9'u (%90) dirençli olarak tespit edilmiştir.

Peynir örneklerinden izole edilen toplam 20 *Pseudomonas* izolatından 4'ü (%20) seruma duyarlı, 3'ü (%15) orta duyarlı, 13'ü (%65) dirençli olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.8. Süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki serum direncinin türlere göre dağılımı

SERUM DİRENCİ	<i>P.aeruginosa</i>		<i>P.fluorescens</i>		<i>P.putida</i>		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Duyarlı	4	15,4	1	33,4	-	-	5	14,7
Orta Duyarlı	4	15,4	-	-	-	-	4	11,8
Dirençli	18	69,3	2	66,6	5	100	25	73,5
TOPLAM	26		3		5		34	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.7'deki sonuçlarımıza göre süt ve süt ürünü örneklerinden izole edilen toplam 26 *P.aeruginosa* türünün 18'i (%69,3) insan serumuna dirençli, 4'ü (%15,4) duyarlı, 4'ü (%15,4) orta duyarlı; toplam 3 *P. fluorescens* türünün 2'si (%66,6) seruma dirençli, 1'i (%33,4) duyarlı, toplam 5 *P. putida* türünün tamamı seruma dirençli bulunmuştur.

Çizelge 4.9. Et ve et ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki serum direncinin dağılımı

SERUM DİRENCİ	Kıyma		Kuşbaşı		Tavuk		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Duyarlı	19	55,9	4	8,3	-	-	23	19,2
Orta Duyarlı	5	14,7	-	-	-	-	5	4,2
Dirençli	10	29,4	44	91,7	38	100	92	76,7
TOPLAM	34		48		38		120	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.9'daki sonuçlarımıza göre et örneklerinden izole edilen toplam 120 *Pseudomonas* izolatından 92'si (%76,7) seruma dirençli, 23'ü (%19,2) duyarlı, 5'i (%4,2) orta duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Kıyma örneklerinden izole edilen toplam 34 *Pseudomonas* izolatından 19'u (%55,9) seruma duyarlı, 5'i (%14,7) orta duyarlı, 10'u (%29,4) dirençli olarak tespit edilmiştir. Kuşbaşı örneklerinden izole edilen toplam 48 *Pseudomonas* izolatından 44'ü (%91,7) seruma dirençli, 4'ü (%8,3) duyarlı olarak tespit edilirken orta duyarlı tür tespit edilmemiştir. Tavuk örneklerinden izole edilen toplam 38 *Pseudomonas* izolatının 38'ide (%100) seruma dirençli olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.10. Et ve et ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki serum direncinin türlere göre dağılımı

SERUM DİRENCİ	<i>P.aeruginosa</i>		<i>P.fluorescens</i>		<i>P.putida</i>		<i>P.stutzeri</i>		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Duyarlı	7	22,6	2	4,1	13	34,2	1	50,0	23	19,2
Orta Duyarlı	2	6,5	-	-	3	7,9	-	-	5	4,2
Dirençli	22	70,9	47	95,9	22	57,9	1	50,0	92	76,6
TOPLAM	31		49		38		2		120	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.10'daki sonuçlarımıza göre et örneklerinden izole edilen toplam 31 *P.aeruginosa* türünün 22'si (%70,9) insan serumuna dirençli, 7'si (%22,6) duyarlı, 2'si (%6,5) orta duyarlı olarak; toplam 49 *P. fluorescens* türünün 47'si (%95,9) seruma dirençli, 2'si (%4,1) duyarlı olarak, toplam 38 *P. putida* türünün 22'si (%57,9) seruma dirençli, 13'ü (%34,2) duyarlı, 3'ü orta duyarlı olarak; toplam 2 *P.stutzeri* türünün 1'i (%50) seruma duyarlı, 1'i (%50) dirençli olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.11. Gıda örneklerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki serum direncinin türlere göre dağılımı

SERUM DİRENCİ	<i>Süt ve Süt Ürünleri</i>		<i>Et ve Et Ürünleri</i>		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%
Duyarlı	5	14,7	23	19,2	28	18,2
Orta Duyarlı	4	11,8	5	4,2	9	5,8
Dirençli	25	73,5	92	76,7	117	76,0

Çizelge 4.11'deki sonuçlarımıza göre gıda örneklerinden izole edilen toplam 154 *Pseudomonas* izolatından 117'si (%76,0) seruma dirençli, 28'i (%18,2) duyarlı, 9'u (%5,8) orta duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Çift disk sinerji yöntemiyle, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimini araştırdığımız süt ve et örneklerinden izole edilen toplam 154 *Pseudomonas* izolatının hiçbirinde GSBL üretimi tespit edilmemiştir.

Süt ve et örneklerinden izole edilen 154 *Pseudomonas* izolatının indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) üretiminin tespiti disk indüksiyon yöntemine göre yapılmıştır.

Çizelge 4.12. Süt ve Süt Ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki İBL üretiminin dağılımı

İBL	Çiğ süt		Dondurma		Peynir		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Pozitif	4	100	2	20	-	-	6	17,6
Negatif	-	0	8	80	20	-	28	82,4
TOPLAM	4		10		20	-	34	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.12'deki sonuçlarımıza göre toplam 34 *Pseudomonas* izolatının 6'sında (%17,6) indüklenebilir beta-laktamaz üretimi tespit edilirken, 28'sinde (%82,4) tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.12'ye göre; çiğ süt örneklerinden izole edilen toplam 4 *Pseudomonas* izolatının 4'ünde de (%100), dondurma örneklerinden izole edilen toplam 10 *Pseudomonas* izolatından 2'sinde (%20) İBL üretimi tespit edilirken 8'sinde (%80) İBL üretimi tespit edilmiştir. Peynir örneklerinden izole edilen *Pseudomonas*'larda İBL üretimi tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.13. Çiğ süt, dondurma ve beyaz peynir örneklerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki İBL üretiminin türlere göre dağılımı

İBL	<i>P.aeruginosa</i>		<i>P.fluorescens</i>		<i>P.putida</i>		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Pozitif	5	19,2	-	0	1	20	6	17,6
Negatif	21	80,8	3	100	4	80	28	82,4
TOPLAM	26		3		5		34	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.13'deki sonuçlarımıza göre süt ve süt ürünü örneklerinden izole edilen toplam 26 *P.aeruginosa*'nın 21'inde (%80,8), 5 *P. putida*'nın 1'inde (%20) İBL üretimi tespit edilirken, izole edilen *P.fluorescens*'lerde İBL üretimi tespit edilmemiştir.

Çizelge 4.14. Et ve Et Ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki İBL üretiminin dağılımı

İBL	Kıyma		Kuşbaşı		Tavuk		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Pozitif	3	8,8	13	27,1	13	34,2	29	24,2
Negatif	31	91,2	35	72,9	25	65,8	91	75,8
TOPLAM	34		48		38		120	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.14'deki sonuçlarımıza göre, et örneklerinden izole edilen toplam 120 *Pseudomonas* izolatından 29'unda (%24,2) İBL üretimi tespit edilirken, 91'inde (%75,8) tespit edilememiştir. Çizelge 4.14'e göre kıyma örneklerinden izole edilen

toplam 34 *Pseudomonas* izolatından 3'ünde (%8,8), kuşbaşı örneklerinden izole edilen 48 *Pseudomonas* izolatından 13'ünde (%27,1), tavuk örneklerinden izole edilen 38 *Pseudomonas* izolatından 13'ünde (%34,2) İBL üretimi tespit edilmiştir.

Çizelge 4.15. Et ve Et Ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki İBL üretiminin türlere göre dağılımı

İBL	<i>P.aeruginosa</i>		<i>P.fluorescens</i>		<i>P.putida</i>		<i>P.stutzeri</i>		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Pozitif	11	35,5	14	28,6	3	7,9	1	50,0	29	24,2
Negatif	20	64,5	35	71,4	35	92,1	1	50,0	91	75,8
TOPLAM	31		49		38		2		120	

n: izolat sayısı

Çizelge 4.15'deki sonuçlarımıza göre toplam 31 *P.aeruginosa*'nın 11'inde (%35,5), 49 *P.fluorescens*'in 14'ünde (%28,6), 38 *P.putida*'nın 3'ünde (%7,9), 2 *P.stutzeri*'nin 1'inde (%50,0) İBL üretimi tespit edilmiştir.

Çizelge 4.16. Gıda örneklerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki İBL üretiminin dağılımı

İBL	Süt ve Süt Ürünleri		Et ve Et Ürünleri		TOPLAM	
	n	%	n	%	n	%
Pozitif	6	17,6	29	24,2	35	22,7
Negatif	28	82,4	91	75,8	119	77,3

n: izolat sayısı

Çizelge 4.16'daki sonuçlarımıza göre, gıda örneklerinden izole edilen toplam 154 *Pseudomonas* izolatından 35'inde (%22,7) İBL üretimi tespit edilirken, 119'unda (%77,3) tespit edilememiştir.

Süt ve et örneklerinden izole edilen *Pseudomonas* türlerinin antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerilerinde değinildiği üzere Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi [158] izlenerek tespit edilmiştir.

Çizelge 4.17. Süt ve Süt Ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'ların antibiyotik hassasiyetlerinin dağılımı

Antibiyotik(μg)	Çiğ Süt				Dondurma				Peynir				TOPLAM
	S		R		S		R		S		R		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Aztreonam (ATM 30 μg)	3	75	1	25	1	10	9	90	13	65	7	35	34
Cefotaxime (CTX 30 μg)	-	-	4	100	1	10	9	90	8	40	12	60	34
Ceftazidime (CAZ 30 μg)	4	100	-	-	9	90	1	10	20	100	-	-	34
Ceftriaxone (CRO 30 μg)	2	50	2	50	4	40	6	60	20	100	-	-	34
Ciprofloxacin (CIP 5 μg)	4	100	-	-	10	100	-	-	20	100	-	-	34
Colistin (CT 10 μg)	4	100	-	-	10	100	-	-	20	100	-	-	34
Gentamicin (CN 10 μg)	4	100	-	-	10	100	-	-	20	100	-	-	34
Piperacillin (PRL100 μg)	4	100	-	-	10	100	-	-	20	100	-	-	34
Ticarcillin/Clavulonic acid (TIM85 μg)	2	50	2	50	-	-	10	100	20	100	-	-	34

n: izolat sayısı

Çizelge 4.18. Et ve Et Ürünlerinden izole edilen *Pseudomonas*'ların antibiyotik hassasiyetlerinin dağılımı

Antibiyotik(µg)	Kıyma				Kuşbaşı				Tavuk				TOPLAM
	S		R		S		R		S		R		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Aztreonam (ATM 30 µg)	25	73,5	9	26,5	16	33,3	32	66,7	9	23,7	29	76,3	120
Cefotaxime (CTX 30 µg)	26	76,5	8	23,5	23	47,9	25	52,1	7	18,4	31	81,6	120
Ceftazidime (CAZ 30 µg)	34	100	-	-	46	95,8	2	4,2	37	97,4	1	2,6	120
Ceftriaxone (CRO 30 µg)	27	79,4	7	20,6	23	49,7	25	52,1	20	52,6	18	47,4	120
Ciprofloxacin (CIP 5 µg)	34	100	-	-	48	100	-	-	38	100	-	-	120
Colistin (CT 10 µg)	34	100	-	-	45	93,8	3	6,2	37	97,4	1	2,6	120
Gentamicin (CN 10 µg)	34	100	-	-	48	100	-	-	38	100	-	-	120
Piperacillin (PRL100 µg)	34	100	-	-	48	100	-	-	38	100	-	-	120
Ticarcillin/ Clavulonic acid (TIM85 µg)	34	100	-	-	45	93,8	3	6,2	12	31,6	26	68,4	120

n: izolat sayısı

Çizelge 4.19. Gıda örneklerinden izole edilen *Pseudomonas*'ların antibiyotik hassasiyetlerinin dağılımı

	Süt ve Süt ürünleri				Et ve Et ürünleri				TOPLAM			
	Duyarlı(S)		Dirençli (R)		Duyarlı(S)		Dirençli (R)		Duyarlı(S)		Dirençli (R)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Aztreonam (ATM 30 µg)	17	50	17	50	50	41,7	70	58,3	67	43,5	87	56,5
Cefotaxime (CTX 30 µg)	9	26,5	25	73,5	56	46,7	64	53,3	65	42,2	89	57,8
Ceftazidime (CAZ 30 µg)	33	97,1	1	2,9	117	97,5	3	2,5	150	97,4	4	2,6
Ceftriaxone (CRO 30 µg)	26	76,5	8	23,5	70	58,3	50	41,7	96	62,3	58	37,7
Ciprofloxacin (CIP 5 µg)	34	100	-	-	120	100	-	-	154	100	-	-
Colistin (CT 10 µg)	34	100	-	-	116	96,7	4	3,3	150	97,4	4	2,6
Gentamicin (CN 10 µg)	34	100	-	-	120	100	-	-	154	100	-	-
Piperacillin (PRL100 µg)	34	100	-	-	120	100	-	-	154	100	-	-
Ticarcillin/ Clavulonic acid (TIM85 µg)	22	64,7	12	35,3	91	75,8	29	24,2	113	73,4	41	26,6

n: izolat sayısı

Çizelge 4.17'deki sonuçlarımıza göre, çiğ süt izolatlarında, %100 cefotaxime, %25 aztreonam, %50 ceftriaxone, %50 ticarcillin/clavulonic acid direnci; dondurma izolatlarında %90 aztreonam, %90 cefotaxime, %10 ceftazidime, %60 ceftriaxone, %100 ticarcillin/clavulonic acid direnci; peynir izolatlarında, %60 cefotaxime, %35 aztreonam direnci tespit edilmiştir.

Çizelge 4.18'deki sonuçlarımıza göre, kıyma izolatlarında, %26,5 aztreonam, %23,5 cefotaxime, %20,6 ceftriaxone direnci; kuşbaşı izolatlarında %66,7 aztreonam, %52,1 cefotaxime, %4,2 ceftazidime, %52,1 ceftriaxone, %6,2 colistin, %6,2 ticarcillin/clavulonic acid direnci; tavuk izolatlarında, %81,6 cefotaxime, %76,3 aztreonam, %68,4 ticarcillin/clavulonic acid, %47,4 ceftriaxone, %2,6 ceftazidime, %2,6 colistin, direnci tespit edilmiştir.

Çizelge 4.19'deki sonuçlarımıza göre et ve süt ürünlerinden izole ettiğimiz toplam 154 *Pseudomonas*'ın 89'u (%57,8) cefotaxime, 87'si (%56,5) aztreonam, 58'i (%37,7) ceftriaxone, 41'i (%26,6) ticarcillin/clavulonic acid, 4'ü (%2,6) colistin, 4'ü (%2,6) ceftazidime antibiyotiklerine dirençli bulunmuştur. İzole edilen *Pseudomonas*'ların tamamının ciprofloxacin, gentamicin ve piperacillin antibiyotiklerine duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Süt örneklerinden izole edilen *Pseudomonas*'lardaki direnç durumu %73,5 cefotaxime, %50 aztreonam, %23,5 ceftriaxone, %2,9 ceftazidime şeklindeyken; et ürünlerinde %58,3 aztreonam, %53,3 cefotaxime, %41,7 ceftriaxone, %24,2 ticarcillin/clavulonic acid, %3,3 colistin, %2,5 ceftazidime direnci şeklindedir.

Çizelge 4.20. Gıda örneklerinden izole edilen *Pseudomonas*'ların antibiyotik dirençliliklerinin türlere göre dağılımı

	<i>P. aeruginosa</i>		<i>P. fluorescens</i>		<i>P. putida</i>		<i>P. stutzeri</i>	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Aztreonam	28	49,1	38	73,1	19	44,2	2	100
Cefotaxime	35	61,4	38	73,1	15	34,9	2	100
Ceftazidime	2	3,5	1	1,9	1	2,3	-	-
Ceftriaxone	21	36,8	24	46,2	11	25,6	2	100
Ciprofloxacin	-	-	-	-	-	-	-	-
Colistin	-	-	2	3,8	2	4,7	-	-
Gentamicin	-	-	-	-	-	-	-	-
Piperacillin	-	-	-	-	-	-	-	-
Ticarcillin/Clavulonic acid	7	12,3	26	50	7	16,1	1	50

n: Dirençli suş sayısı

Çizelge 4.20'deki sonuçlarımıza göre, izole edilen 57 *P.aeruginosa* izolatının 35'i (%61,4) cefotaxime, 28'i (%49,1) azteronam, 21'i (%36,8) ceftriaxone, 7'si(%12,3) ticarcillin/clavulonic acid, 2'si (%3,5) ceftazidime direnci göstermiştir.

52 *P. fluorescens* izolatının 38'i (%73,1) cefotaxime, 38'i (%73,1) azteronam, 26'sı (%50) ticarcillin/clavulonic acid, 24'ü (%46,2) ceftriaxone, 1'i (%1,9) ceftazidime 2'si (%3,8) colistin direnci göstermiştir.

43 *P. putida* izolatının 15'i (%34,9) cefotaxime, 19'u (%44,2) azteronam, 7'si (%16,1) ticarcillin/clavulonic acid, 11'i (%25,6) ceftriaxone, 1'i (%2,3) ceftazidime 2'si (%4,7) colistin direnci göstermiştir.

2 *P. stutzeri* izolatının tamamı ceftriaxone, cefotaxime ve azteronam direnci gösterirken, 1'i (%50) ticarcillin/clavulonic acid direnci göstermiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmamızda Ankara'nın çeşitli köylerinden toplanan çiğ süt örnekleri, çeşitli satış noktalarından toplanan beyaz peynir, dondurma, kıyma, kuşbaşı ve tavuk göğüs örneklerinden *Pseudomonas* izolasyonu ve identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Toplam 154 *Pseudomonas*'ın 57'si (%37,0) *P.aeruginosa*, 52'si (%33,8) *P.fluorescens*, 43'ü (%27,9) *P.putida*, 2'si (%1,3) *P.stutzeri* olarak identifiye edilmiştir.

Çalışmamızda süt ve süt ürünü örneklerinden izole edilen 34 *Pseudomonas* izolatının 26'sı (%76,5) *P.aeruginosa*, 5'i (%14,7) *P.putida*, 3'ü (%8,8) *P.fluorescens* olarak tanımlanmıştır.

Gram (1993), *Pseudomonas* türlerini soğukta saklanan gıdalarda bozulma nedeni olan önemli organizmalar olarak tanımlamıştır. Özellikle süt, tavuk, balık, et ve sebzenin bozulmasından sorumlu olduğunu bildirmiştir [7].

Walker (1988), yaptığı çalışmada psikrofil bakterilerden özellikle *Pseudomonas* türlerinin ekstrasellüler enzim salgılarından dolayı et, süt ve süt ürünlerinin bozulmalarına sebep olduğunu belirtmiştir [35].

Tel ve ark. (2009) Şanlıurfa'da yaptıkları çalışmada, 250 sağmal inekte 1000 meme lobu CMT (California Mastitis Test) ile muayene edilerek CMT pozitif bulunan 181 (%72,4) inekten alınan 332 (%33,2) adet süt örneği mikrobiyolojik olarak incelenmiştir. 258 (%77,7) süt örneğinden izole ettikleri aerobik mikroorganizmalardan 3'ünü (%1,1) *Pseudomonas aeruginosa* olarak tanımlamışlardır [53].

Kumaresan ve Annal Villi, (2008) aseptik koşullarda topladıkları, 9 farklı markaya ait pastörize sütlerde toplam bakteri sayımı ve psikrofil bakteri sayımlarını yapmışlardır. Çalışmaları sonucunda, sütteki baskın psikrofil bakterileri *P.fluorescens* (%42,42), *P.fragi* (%24,24) ve *P. aeruginosa* (%12,12) olarak tespit etmişlerdir [58].

Keskin ve Ekmekçi (2007) İzmir'deki çeşitli satış noktalarından topladıkları 100 farklı su ve gıda örneğini incelemişlerdir. Araştırmada kullandıkları 19 çiğ süt örneğinden izole ettikleri *Pseudomonas*'ların 4'ünü *P.aeruginosa*, 4'ünü *P.cepacia*, 3'ünü *P.fluorescens* olarak tanımlamışlardır. Çalıştıkları 9 peynir örneğinden *Pseudomonas* izole etmemişlerdir [43].

Bizim çalışmamızda; Tel, Kumaresan ve Villi'nin sonuçlarına benzer şekilde, *P. aeruginosa* ve *P. fluorescens* izolasyonu gerçekleştirilmiş olup, tanımlanan *P.aeruginosa* izolatlarının oranı Kumaresan'dan farklı olarak; *P.fluorescens* izolatlarına göre daha fazladır. Bu sonuçlarımız Keskin ve Ekmekçi'nin çiğ sütle yaptıkları çalışmayla da benzerlik göstermektedir.

Araştırmamızda peynir örneklerinden izole edilen 20 *Pseudomonas* izolatının 19'u (%95) *P.aeruginosa*, 1'i (%5) *P.putida* olarak tanımlanırken; Keskin ve Ekmekçi peynir örneklerinden *Pseudomonas* saptamamıştır.

Anuranjini ve ark. (2006), Mangalore'deki farklı bölgelerinden rastgele seçtikleri 5 parakende satış noktasından toplanan, çeşitli aromalarda 18'er tane dondurma örneğini çalışmışlardır. Toplam 90 dondurma örneğinden 24 *Pseudomonas* spp. izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Bu izolatların 10 tanesini vanilyalı dondurmadan, 12 tanesini çilekli dondurmadan, 2 tanesini ise kakule aromalı dondurmadan izole ettiklerini bildirmişlerdir [57]. Çalışmamızda benzer şekilde 20 dondurma örneğinden 10 *Pseudomonas* izolasyonu gerçekleştirilerek identifiye edilmiştir.

Wang ve Jayarao (2001); batı Minnesota ve Güney Dakota'nın doğusundaki 55 merkezden topladıkları sütlerden 55 *Pseudomonas* izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. API 20 NE ile identifikasyonunu yaptıkları 55 suşun *P.fluorescens* olduğunu bildirmişler ve bu suşların fenotipik özellikleri ile genotipik özelliklerini araştırmışlardır [44]. Çalışmamızda süt ve süt ürünlerinden benzer şekilde *P.fluorescens* izolasyonu ve identifikasyonu sağlanmıştır.

Uraz ve Çıtak (1998), 1990-1992 tarihleri arasında çeşitli merkezlerden topladıkları 200 çiğ süt örneğinden 48 *Pseudomonas* izolasyonu gerçekleştirdiklerini ve bu izolatlardan 20'sini (%41.66) *P. fluorescens*, 11'ini (%22.91) *P. aeruginosa*, 11'ini

(%22,91) *P. putida*, 2'sini (%4,16) *P. aurefaciens*, 3'ünü (%6,25) *P. pseudomallei*, 1'ini (%2,08) *P. cepacia* olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir [45].

Çalışmamızda Uraz ve Çıtak'ın sonuçlarından farklı yüzdelerde *P.aeruginosa*, *P.putida* ve *P.fluorescens* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Uraz ve Çıtak'ın çalışmalarında baskın tür olarak %41,66 oranıyla *P.fluorescens* identifiye edilirken, bizim çalışmamızda %76,5 oranıyla *P.aeruginosa* identifiye edilmiştir.

Ternström ve ark. (1993) çiğ süttten izole ettikleri 81 izolatin %45'ini *P.fluorescens*, %24'ünü *P.fragi*, %16'sını *P.lundensis*, %1'ini ise *P.putida* olarak identifiye etmişlerdir [162].

Kroll ve ark. (1984) Bavaria'da yaptıkların araştırmada soğutulmuş sütlerin psikrofil florasında 101 bakteri izolasyonu gerçekleştirmiştir. İzole edilen türler içerisinde dominant olarak % 83 oranında *P.fluorescens* izole etmişlerdir [55].

Kristiansen (1983) çiğ sütlerde yaptığı çalışmada, *Pseudomonas* CN (Cetrimid, nalidiksik asit) ve *Pseudomonas* CFC (cephaloridin fucidin cetrimid) besiyerini kullanmıştır. Çiğ süt örneklerine bu besiyerlerinde 25-30 °C'de 24 saat inkübasyon uygulanmıştır. *Pseudomonas* CN ve *Pseudomonas* CFC besiyerinde *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. cepecia* 'nın üreme gösterdiği saptanmıştır [50]. Çalışmamızda bu sonuçları destekler şekilde *Pseudomonas* CFC besiyeri kullanılarak *P.aeruginosa*, *P.putida* ve *P.fluorescens* izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Milliere ve arkadaşları (1979) Fransa'nın Nancy bölgesinde yaptıkları çalışmada çiğ sütlerden 999 psikrofil Gram negatif bakteri izole etmiş ve psikrofil bakterilerden %32,5'ini *P. fluorescens* olarak tanımlamışlardır [42].

Bizim çalışmamızda Ternström, Milliere ve Kroll'un sonuçlarından farklı olarak çiğ sütlerden *P.aeruginosa* identifiye edilmiştir.

Çalışmamızda et örneklerinden izole edilen toplam 120 *Pseudomonas* izolatinın 49'u (%40,8) *P. fluorescens*, 38'i (%31,7) *P. putida*, 31'i (%25,8) *P. aeruginosa*, 2'si *P. stutzeri* (%1,7) olarak tanımlanmıştır.

Keskin ve Ekmekçi (2007) İzmir'deki çeşitli satış noktalarından topladıkları 100 farklı su ve gıda örneğini inceledikleri çalışmada; 16 kıyma örneğinden 1 *P.aeruginosa*, 3 *P.fluorescens*; 11 tavuk örneğinden ise 1 *P.aeruginosa* 3 *P.fluorescens* tanımlamışlardır [43].

Bizim çalışmamızda; kıyma ve tavuk örneklerinden benzer şekilde *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* izolasyonu gerçekleştirilirken farklı olarak *P. stutzeri* ve *P. putida* izolasyonu da gerçekleştirilmiştir.

Arnaut-Rollier ark. (1999) taze ve dondurularak saklanan tavuk derilerinde *Pseudomonas*'ların varlığını tesbit etmişlerdir. *Pseudomonas* türlerinden *P. fragi*, *P. lundensis*, *P. putida*, *P. acidovorans*, *P. alcaligenes* ve *P. fluorescens*'in dominant olarak bulunduğunu saptamışlardır [70]. Çalışmamızda benzer şekilde, tavuk örneklerinden baskın tür olarak *P.fluorescens* identifiye edilmiştir.

Lebert ve ark. (1998) çeşitli et örneklerinden toplam 59 *Pseudomonas* izole etmişlerdir. Standart yöntemlerle identifikasyonlarını yaptıkları 59 *Pseudomonas*'ın 19'sunu (%32,2) *P.fluorescens*, 40'ını (%67,8) *P.fragi* olarak tanımlamışlardır [163]. Çalışmamızda araştırmacılarla paralel şekilde % 40,8 oranında *P.fluorescens* identifiye edilirken; *P. fragi* çalışmamızda tanımlanan türler arasında bulunmamaktadır.

Viegweg ve ark. (1989) tavuk karkaslarında 8 günlük depolamanın sonunda ise bozulma florasının %50'sini *P. fluorescens* ve *P. putida*'nın oluşturduğunu bildirmiştir [79]. Bu sonuçları destekler şekilde çalışmamızda kullanılan tavuk örneklerinden % 89,5 oranında *P.fluorescens* , % 5,3 oranında ise *P.putida* izole ve identifiye edilmiştir.

Shaw ve Latty (1984) aerobik ortamda; sığır, koyun ve domuz etlerinden 787 *Pseudomonas* izolatu elde etmişlerdir. Bu izolatının içerisinde, *P. fragi*, *P. flourescens* biyotip I, *P. flourescens* biyotip III ve *P. putida* türlerini çoğunlukta bulmuşlar, 0-10°C arasında depolanan sığır, domuz ve koyun etlerinde *Pseudomonas*'ların benzer dağılım gösterdiğini tespit etmişlerdir [73].

Barnes ve Thornley (1960) yaptıkları çalışmada ızgaralık tavuk karkaslarında başlangıçta *Pseudomonas spp.*'nin %2 oranında olduğunu belirtmişlerdir. Depolamanın sonraki evrelerinde ise ette bulunan bakteriyel türlerin yaklaşık %80'ini *P. fluorescens*'in oluşturduğunu bildirmişlerdir [78]. Bu sonuçları destekler şekilde bizim çalışmamızda da tavuk izolatlarının %89,5'i *P. fluorescens* olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda izole edilen *Pseudomonas*'ların siderofor tayinleri CAS (Chrome Azurol Sulphate) Agar kullanılarak Schwyn ve Neilands [155] yöntemine göre yapılmış, bütün izolatlarda siderofor üretimi tespit edilmiştir.

Sayyed ve ark.(2005) Hindistan'da National Collection of Industrial Microorganisms (NCIM) ve National Chemical Laboratory (NCL) merkezlerinden temin ettikleri *P. fluorescens* NCIM5096 ve *P. putida* NCIM 2847 suşlarında siderofor üretimini spektrofotometrik metotla araştırıp; CAS agar ortamında sonuçlarını doğrulamışlardır. CAS agarda *P. fluorescens*'in %87 ve *P. putida*'nın %83 oranında siderofor ürettiğini tespit etmişlerdir [164].

Páez ve ark. (2005) 30 rizosfer örneğinden izole ettikleri floresan özellikteki *Pseudomonas*'ların *in vitro* koşullarda siderofor üretimini King B ortamında araştırmışlardır. Sıvı ve katı ortamda 24 saat inkübe ettikleri *P. aeruginosa*, *P. putida* *biovar B* ve *P. marginalis* izolatlarında sarı-yeşil pigment oluşumu siderofor varlığı olarak yorumlamışlardır [165].

Huston ve ark. (2004) *P. aeruginosa*'da tanımlanan 2 tip siderofor olan pyosiyalin ve piyoverdin üretimini King A ve King B ortamlarında araştırmışlardır. 35 klinik *Pseudomonas* izolat kullandıkları çalışmada, 4 suş dışında tüm izolatların King B ortamında pyoverdin sideroforunu ürettiğini bildirmişlerdir [166].

Mahmoud ve ark. (2001) rizosfer mikroflorasından izole ettikleri 84 izolatın siderofor üretimini kimyasal yollarla araştırmışlardır. CAS agar ortamında pozitif sonuç veren 42 izolat içindeki *P. aeruginosa* izolatlarının tamamının güçlü pozitif sonuç verdiğini tespit etmişlerdir [167].

Vachée ve ark. (1997) kaynaklardan şişelenme öncesinde topladıkları maden sularından izole ettikleri ve %29'unu tür seviyesinde tanımladıkları 382 izolatın siderofor üretimini araştırdıkları çalışmalarında 120 *Pseudomonas* tanımlamışlardır. İdentifiye edilemeyen, floresan özellikteki *Pseudomonas*'ların 99'unda (%82,5); izole edilen *P.fluorescens*'lerin 35'inde (%70), *P.chlororaphis*'lerin 1'inde (%25), *P.stutzeri* ve *P.alcaligenes*'lerin tamamında siderofor üretimi tespit etmişlerdir. Ayrıca King B besiyerinde pyoverdin üretimi tespit ettikleri halde CAS agarda siderofor üretmeyen suşların %35 oranında olduğunu bildirmişlerdir [168].

Laine ve ark. (1996) topraktan izole ettikleri 2 *P.fluorescens* ve 2 *P. chlororaphis* izolatının siderofor üretimini ve gıda patojenleri üzerindeki antimikrobiyal etkilerini araştırdıkları çalışmalarında 4 izolatında siderofor üreticisi olduğunu tespit etmişlerdir [169].

Yang ve ark. (1991) melioidozisli hastalardan izole ettikleri 84 *P.pseudomallei* izolatında siderofor üretimini CAS agar kullanarak araştırmışlardır. İzole edilen tüm *Pseudomonas*'larda siderofor üretimi tespit etmişlerdir [170].

Çalışmamızda insan serumuna dirençliliğini araştırdığımız 154 *Pseudomonas* izolatının 117'si (%76,0) seruma dirençli, 28'i (%18,2) duyarlı, 9'u (%5,8) orta duyarlı bulunmuştur. İdentifikasyonu yapılan toplam 57 *P. aeruginosa* suşunun 11'i (%19,3) duyarlı, 6'sı (%10,5) orta duyarlı, 40'ı (%70,2) dirençli bulunmuştur.

Cevahir ve ark. (2006) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşlarının serum dirençliliklerini araştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda *P.aeruginosa* suşlarının 4'ünü (%8,3) duyarlı, 9'unu (18,7) orta duyarlı, 35'ini (%72,9) ise dirençli bulmuşlardır [107].

Vitkauskiene ve ark. (2005) 2001-2004 yılları arasında, klinik örneklerden izole ettikleri 220 *P.aeruginosa* izolatının serum direncini araştırdıkları çalışmada 58 (%73,6) izolatta serum direnci tespit etmişlerdir [171].

Çalışmamızda seruma direnci sonuçlarıyla Cevahir ve Vitkauskiene sonuçları paralellik göstermektedir.

Mete ve ark. (1998) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 86 *P.aeruginosa* suşunun 72'sini (%83,7) seruma dirençli, 8'ini (%9,3) orta duyarlı, 6'sını (%6,9) duyarlı bulmuşlardır [108]. Çalışmamızdaki direnç oranı bu sonuçlardan daha düşüktür, duyarlı ve orta duyarlılık oranları paralellik göstermektedir.

Pajdak ve ark. (1990) *P.aeruginosa*'da serum direncini %73 oranında tespit etmişler ve serum direncinin proteolitik aktiviteyle paralellik gösterdiğini bildirmişlerdir [172].

Schiller ve Joiner (1986) kistik fibrozisli hastalardan izole ettikleri *P. aeruginosa* suşlarının çoğunu seruma duyarlı bulmuştur [103].

Schiller ve ark. (1984) doğal bir direnç bilinmediği halde; kan, yara, idrar ve yanıktan izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının çoğunun serum direnci gösterdiği bildirilmiştir [105].

Young ve ark. (1972) 46'sı kan kültürlerinden, 43'ü ise saprofit olarak tanımlanan (deri ve gastrointestinalden izole) toplam 89 *P.aeruginosa* suşunun değişik oranlardaki serum konsantrasyonlarında 1 saatlik inkübasyon süresi sonunda serum duyarlılıklarını ölçtüklerinde; kan kültürlerinden elde edilen 46 suşun 42'sini (%91), 43 saprofit suşun 34'ünü (%79) serum dirençli olarak saptamışlardır [106].

Pajdak, Schiller ve Young'ın sonuçlarına paralel şekilde *P.aeruginosa* izolatlarımızda serum direnci oranı; duyarlılık ve orta duyarlılık değerlerine göre daha yüksektir.

Çalışmamızda et ve süt ürünlerinden izole ettiğimiz toplam 154 *Pseudomonas*'ın 89'u (%57,8) cefotaxime, 87'si (%56,5) azteronam, 58'i (%37,7) ceftriaxone, 41'i (%26,6) ticarcillin/clavulonic acid, 4'ü (%2,6) colistin, 4'ü (%2,6) ceftazidime antibiyotiklerine dirençli bulunmuştur. İzole edilen *Pseudomonas*'ların tamamının ciprofloxacin, gentamicin ve piperacillin antibiyotiklerine duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

İzole ettiğimiz 57 *P.aeruginosa* izolatında ise %61,4 cefotaxime, %49,1 aztreonam, %36,8 ceftriaxone, %12,3 ticarcillin/clavulonic acid, %3,5 oranında ceftazidime

direnci tespit edilirken; suşlarımızın ciprofloxacın, colistin, gentamicin ve piperacillin antibiyotiklerine duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Disk indüksiyon yöntemine göre indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) üretimini araştırdığımızda 154 *Pseudomonas* izolatının 35'inde (%22,7) İBL üretimi tespit edilmiştir. İzole ettiğimiz 57 *P.aeruginosa* izolatından 16'sında (%28,1) İBL üretimi tespit edilmiştir.

Değişik klinik örneklerden izole edilen *P.aeruginosa* izolatlarında GSBL üretiminin araştırıldığı çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda araştırılan *Pseudomonas*'larda farklı yüzdelerde GSBL üretimi tespit edilmesine rağmen bizim çalışmamızda çift disk sinerji yöntemine göre GSBL üretimi tespit edilen şuşa rastlanmamıştır.

Çeliksöz ve ark. (2009) 2005-2006 yılları arasında, mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve otomatize sistemle (Vitek32) identifiye edilen *P.aeruginosa* suşlarında çift disk sinerji yöntemiyle GSBL varlığını araştırmışlardır. Çalışılan 70 suşun 35'inde (%50) GSBL üretimi saptamışlardır. Pozitiflik saptanan tüm suşların ceftazidime antibiyotiğine dirençli olduğunu bildirmişlerdir [173]. Bizim çalışmamızda izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında %3,5 oranında ceftazidime direnci tespit edilirken GSBL üretimi tespit edilmemiştir.

Özdemir ve ark.(2009) klinik örneklerden izole ettikleri 159 *Pseudomonas* suşunun 1'ini *P.putida*, 158'ini *P.aeruginosa* olarak identifiye ederek antibiyotik duyarlılıklarını araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre; bütün izolatların kolitsine duyarlı olduğunu; %36 ceftazidime, %44 ciprofloxacın, %48 azteronam, %52 gentamicin, %83 oranında cefotaxime antibiyotiklerine direnç tespit etmişlerdir [174].

Bizim çalışmamızda da benzer şekilde tüm *P.aeruginosa* izolatlarında %100 colistin direnci tespit edilmiştir. Ceftazidime direnci bizim sonuçlarımızdan yüksek, cefotaxime direnci bizim sonuçlarımızdan düşük olduğu bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda, gentamicin ve ciprofloxacın direnci tespit edilmemiştir.

Castanheira ve ark. (2009), 2003-2007 yılları arasında topladıkları çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 9256'sı *P.aeruginosa*, 438'i ise diğer *Pseudomonas* türlerine ait olan toplam 14979 farklı izolatın antibiyotik duyarlılıklarını araştırmışlardır. Elde ettikleri bulgulara göre *P.aeruginosa*'da %74 ceftriaxone, %21,8 aztreonam, %21,2 ceftazidime direnci; diğer *Pseudomonas*'larda ise %36,3 ceftriaxone, %30,4 aztreonam, %13,2 ceftazidime direnci tespit etmişlerdir [175]. Çalışmamızda *P.aeruginosa* izolatlarının ceftriaxone, aztreonam ve ceftazidim dirençlilikleri Castanheira ve ark.'larının sonuçlarından daha düşüktür. Bunun yanı sıra *Pseudomonas* türlerinin dirençlilikleri karşılaştırıldığında; ceftriaxone direnci sonuçlarımızla paralelken, aztreonam direnci bizim sonuçlarımızdan düşük, ceftazidime direnci ise yüksektir.

Ullah ve ark. (2009) yanık yaralarındaki enfeksiyonlardan izole ettikleri 106 *P.aeruginosa* suşunun antibiyotik duyarlılıklarını ve GSBL üretimini araştırmışlardır. Toplam izolatların 38'inde (%35,85) GSBL üretimi tespit etmişlerdir. 31 (%29,24) izolatın 3 ve daha fazla antibiyotiğe dirençli olduğunu tespit ettikleri çalışmada; izolatlardan 47'si (%44,34) ceftriaxone, 45'i (%42,45) ceftazidime, 51'i (%48,11) ciprofloksacin, 76'sı (%71,70) gentamicin antibiyotiğine dirençli bulunmuştur [176].

Çelik (2008) çoğul dirençli olduğu tespit edilen 50 *P.aeruginosa* suşunda beta-laktamazları incelemiştir. Çift disk sinerji yöntemiyle 9 (%18) suшта GSBL varlığı tespit etmiştir [177].

Ullah ve Çelik'in sonuçlarından farklı olarak çalışmamızda GSBL üretimi tespit edilmemiştir. Ullah'ın sonuçlarında direnç tespit edilen antibiyotiklerden gentamicin ve ciprofloksacin antibiyotiklerine *P.aeruginosa* izolatlarının tamamı duyarlı bulunmuştur.

Güven ve ark. (2008) Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarına gelen çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 161 *P.aeruginosa* suşunun antibiyotik duyarlılıklarını ve beta laktam direnç fenotiplerini araştırmıştır. 161 *Pseudomonas* suşunda %44 piperacillin, %35 ceftazidime, %38 aztreonam, %66 cefotaxime, %48 tikarsilin/klavulonik asit, %54 oranında ise gentamicin direnci

tespit etmişlerdir. Ayrıca, toplam 161 izolatın 2'sinde (%1,2) GSBL varlığı tespit etmişlerdir [178]. Çalışmamızda Güven'den farklı olarak *P.aeruginosa* izolatlarımızın tamamının piperacillin antibiyotiğine duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Kurtoğlu ve ark. (2008) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 130 *P.aeruginosa* suşunun antimikrobiklere direnç oranlarını araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre gentamicin %75,4, aztreonam %36, ceftazidim %34, ciprofloksacin %33,1, piperacillin %27 oranında direnç tespit etmişlerdir [179].

Gayyurhan ve ark. (2008) ocak-mart 2007 tarihleri arasında yatan hastalara ait farklı klinik örneklerden izole edip; klasik yöntemlerle ve Vitek2 tam otomatik bakteri identifikasyon cihazı kullanarak identifikasyonunu yaptıkları 89 *P.aeruginosa* suşuyla çalışmışlardır. Toplam 89 suşun 84'ünde (%94,38) cefotaxime, 72'sinde (%80,89) ceftriaxone, 48'inde (%53,93) aztreonam, 47'sinde (%52,80) ceftazidim, 45'inde (%50,56) gentamicin, 37'sinde (%41,57) ciprofloksacin direnç tespit etmişlerdir [180].

Çalışmamızda Kurtoğlu ve Gayyurhan'dan farklı olarak gentamicin, ciprofloksacin ve piperacillin antibiyotiklerine direnç tespit edilmemiştir. Sonuçlarımıza göre izolatlarımızın ceftazidim direnci Kurtoğlu ve Gayyurhan'ın sonuçlarına göre daha düşüktür.

Güler ve ark. (2008) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 332 *Pseudomonas* spp. 'ı beta-laktamaz üretimi ve antibiyotiklere direnç yönünden araştırmışlardır. İndüklenebilir beta-laktamaz (İBL) üretimini direkt indüksiyon testiyle, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimini çift disk sinerji testiyle araştırdıkları çalışmada, 332 *Pseudomonas* spp.'dan 9'unda (%2,7) GSBL, 61'inde (%18,4) İBL, 5'inde (%1,5) ise hem GSBL hem İBL olumluluğu tespit etmişlerdir [181].

Çalışmamızda % 22,7 oranında İBL üretimi tespit edilmiş olması ve GSBL üretimi tespit edilmemiş olması Güler'in sonuçlarıyla örtüşmemektedir.

Ekşi ve ark. (2007) çeşitli klinik örneklerden izole edip klasik yöntemlerle identifiye ettikleri 51 *P.aeruginosa* suşunu İBL üretimi ve çeşitli antibiyotiklere direnç

durumları bakımından araştırmışlardır. İzole ettikleri 51 suşun 27'sinde (%52,9) İBL üretimi saptamışlardır. Bu suşlarda %56,9 oranında cefotaxime, %33,3 oranında aztreonam, %29,4 oranında ceftriaxone, %27,5 oranında gentamicin, %23,5 oranında ceftazidime, %21,6 oranında piperacillin ve %9,8 oranında ciprofloxacin direnç tespit etmişlerdir [182]. Çalışmamızda Ekşi ve ark.'nın sonuçlarından daha düşük oranda (%28,1) İBL üretimi tespit edilmiştir. Ekşi'nin sonuçlarından farklı olarak gentamicin, ciprofloxacin ve piperacillin direnci tespit edilmemiştir.

Cavallo ve ark. (2007) 2004 yılında Fransa'daki çeşitli üniversite hastanelerinden topladıkları 450 *P.aeruginosa* suşunun çeşitli antibiyotikler üzerindeki MIC değerleri agar dilüsyon yöntemine göre ölçülerek antibiyotik hassasiyetlerini tespit etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre %78 piperacillin, %50 aztreonam, %78 ceftazidime, %68 ciprofloxacin hassasiyeti tespit etmişlerdir [183]. Çalışmamızdaki *P.aeruginosa*'lar piperacillin ve ciprofloxacin antibiyotiklerine %100 hassas bulunmuştur. Aztreonam direnci Cavallo'nun sonuçlarıyla örtüşürken; ceftazidime direnci bizim sonuçlarımızda daha düşük oranda (%3,5) tespit edilmiştir.

Küçükateş ve ark. (2007) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 67'si (%25,8) *P.aeruginosa* olarak identifiye edilen 260 Gram negatif çomak izolatının antibiyotik duyarlılıklarını araştırmışlardır. Elde edilen bulgulara göre gentamicin %56,5 oranında duyarlılık tespit etmişlerdir [184]. Çalışmamızdaki tüm izolatların %100 oranında gentamicin hassasiyeti göstermesi Küçükateş'in sonuçlarından daha yüksek oranda duyarlı izolat elde ettiğimizi göstermektedir.

Küçükbasmacı ve ark. (2007) 8920 kan örneğinden izole ettikleri gram negatif çomaklar arasında en sık izole edilen non-fermantatif tür *P.aeruginosa* olmuştur. 308 izolatın 55'i (%17,8) *P.aeruginosa* olarak tanımlanmıştır. Antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında, *P.aeruginosa* suşlarının, ceftazidime %43,5, gentamicin %38,3, ciprofloxacin %31,0 oranında direnç tespit ederken, aztreonama direnç tespit etmemişlerdir [185].

Alıcı ve ark. (2006) 2001-2004 yılları arasında, çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 3974 Gram(-) çomakta, genişlemiş spektrumlu beta laktamaz(GSBL)

varlığını çift disk sinerji yöntemiyle araştırmışlardır. Toplam 3974 izolatın 148'ini (%3,7) *Pseudomonas spp.* olarak tanımlamışlar ve bunların hiçbirinde GSBL varlığı tespit etmemişlerdir [186]. Alıcı ve ark.'nın sonuçlarına benzer şekilde çalışmamızda *Pseudomonas* izolatlarında GSBL varlığı tespit edilmemiştir.

Öngüt ve ark.(2006) 2003-2004 tarihleri arasında mikrobiyoloji birimindeki çeşitli klinik örneklerden izole edip ve konvansiyonel yöntemlerle identifikasyonları yaptıkları 36 *P.aeruginosa* suşunda İBL üretimini direkt indüksiyon yöntemiyle tespit etmişlerdir [187]. Çalışmamızda Öngüt'ün sonuçlarından daha düşük oranda (%28,1) İBL üretimi tespit edilmiştir.

Özkalay ve ark. (2006) 2005 yılında yatan hastaların ve poliklinik hastalarının çeşitli klinik örneklerinden izole edip tanımlamalarını klasik yöntemlerin yanı sıra API 32E ile yaptıkları 154 *Pseudomonas* suşunun antibiyotik duyarlılıklarını incelemişlerdir. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışılan antibiyotiklerden, ciprofloksacin %23, gentamicin %24, ceftazidime %62 oranında direnç tespit etmişlerdir. Ayrıca çalışılan suşlarda %72 oranında İBL aktivitesi tespit etmişlerdir [188].

Çalışmamızda Özkalay'ın sonuçlarından daha düşük oranda İBL üretimi ve ceftazidime direnci (%2,6) tespit edilirken; Özkalay'dan farklı olarak ciprofloksacin ve gentamicin antibiyotiklerine direnç tespit edilmemiştir.

Cevahir ve ark. (2006) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri *P.aeruginosa* izolatının antibiyotik duyarlılıklarını araştırmışlardır. %85,4 cefotaxime, %62,5 ceftazidime, %56,2 aztreonam, %41,6 gentamicin, %25,0 piperacillin ve %8,3 ciprofloksacin direnci tespit etmişlerdir [107]. Bizim çalışmamızda *P.aeruginosa*'larda ciprofloksacin, gentamicin, piperacillin direnci tespit edilmemiş olup cefotaxime ve ceftazidime direnci bu sonuçlardan daha düşük bulunmuştur. Aztreonam direnci ise Cevahir ve ark.'larının sonuçlarıyla paraleldir.

Toroğlu ve ark. (2005) 2001 yılında 9 ay süresince, Aksu deresinin 5 farklı noktasından topladıkları su örneklerinden izole ettikleri 67 suşun 1'ini (%1,5) *Pseudomonas spp.* olarak tanımlamışlardır. Bu suşu beta laktamaz üreticisi olarak

tanımlamışlar ve aztreonam, cefotaxime, ceftriakson antibiyotiklerine dirençli olduğunu bildirmişlerdir [189].

Fidan ve ark.(2005) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 40 *P.aeruginosa* suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarını araştırmışlardır. Çalıştıkları suşlarda %15 oranında ciprofloxacine, %25 oranında ceftriaxone, %23 oranında ceftazidime direnci belirlemişlerdir [190].

Çiftçi ve ark.(2005) *P.aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında Ocak 2003-Ekim 2004 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole edilen toplam 101 *P.aeruginosa* suşunu kullanmışlardır. Elde ettikleri bulgulara göre; piperacillin dirençli 31(%31), ciprofloxacine dirençli 29(%29), ceftazidime dirençli 23(%23), gentamicin dirençli 48 (%47) tür tespit etmişlerdir [191].

Fidan ve Çiftçi'nin sonuçlarından farklı olarak çalışmamızda *P.aeruginosa*'larda ciprofloxacine, gentamicin, piperacillin direnci tespit edilmemiştir. Ceftazidime direnci çalışmamızda daha düşük oranda (%3,5), ceftriaxone direnci ise daha yüksek oranda (%38,6) tespit edilmiştir.

Gültekin ve ark.'nın (2004) Ocak 2002-Aralık 2003 yılları arasında yaptıkları çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen 87 *Pseudomonas spp.* kökeninin çeşitli antibiyotikler direnç durumlarını incelemişlerdir. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotiklerden gentamicin %14, ceftazidime %18, piperacillin %18, ciprofloxacine %7, aztreonama %13 oranında direnç tespit etmişlerdir [192].

Şahin ve ark. (2003) ocak-haziran 2001 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri 222 Gram(-) çomakta GSBL varlığını araştırmışlardır. Toplam 222 suştan *P.aeruginosa* olarak tanımladıkları 18 suşun 3'ünde (%16,7) çift disk sinerji yöntemiyle GSBL varlığı tespit etmişlerdir [193].

Köksal ve Samastı (2002) 1997-2000 tarihleri arasında 3200 hastadan alınan 5231 kan kültürünü değerlendirmiştir. 112 *Pseudomonas spp.* izolasyonu gerçekleştirdikleri çalışmada NCCLS standartlarına göre disk difüzyon yöntemiyle antibiyotiklere direnç durumlarını araştırmışlardır. *Pseudomonas*'ların 34'ü (%30,4)

ciprofloxacin, 54'ü (%48,2) ceftazidime, 87'si (%77,7) cefotaxime, 59'u (%52,3) aztreonam, 53'ünü (%47,3) piperacillin antibiyotiğine dirençli olarak bulmuşlardır [194].

Çalışmamız sonuçlarında gentamicin, piperacillin, ciprofloxacin antibiyotiklerine dirençli suş bulunmayışı Gültekin ve Köksal'ın sonuçlarıyla farklılık göstermiştir. Aztreonam antibiyotiğine direnç oranı Gültekin'in sonuçlarından daha yüksekken, Köksal'ın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Ceftazidime direnci çalışmamızda Gültekin ve Köksal'ın sonuçlarından daha düşük orandadır.

Cesur ve ark. (2002) Ocak 2000-Aralık 2001 tarihleri arasında İbn-i Sina hastanesinde yatan hastaların idrar örneklerinden izole ettikleri Gram negatif çomakların antibiyotik duyarlılıklarını araştırmışlardır. İzole edilen 7 *P.aeruginosa* suşunun aztreonama %43, ceftriaxone %29, cefotaxime %14, ceftazidime %57, ciprofloxacin %29 oranında duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir [195].

Cesur ve ark. (2002) Ankara İbn-i Sina hastanesinde yatan hastalara ait çeşitli klinik örneklerden izole edilen 255 *P.aeruginosa* suşunun antibiyotik duyarlılıklarını disk difüzyon yöntemine göre araştırmışlardır. 255 suşun %51,20'si aztreonam , %54,83 ceftazidime, %79,18 cefotaxime, %82,18 ceftriaxone antibiyotiğine dirençli olarak bildirmişlerdir [196].

Cesur'un her iki çalışmasında da aztreonam dirençliliği çalışmamızla paralellik göstermektedir. Ceftriaxone dirençliliği bir çalışmalarında bizim çalışmamızla paralellik gösterirken, diğer çalışmalarında yüksek oranlarda tespit edilmiştir. Cefotaxime dirençliliği oranı bir çalışmalarında bizim sonuçlarımızdan daha düşükken, diğer bir çalışmada daha yüksektir. Ceftazidime dirençliliği ise bizim sonuçlarımızdan yüksek oranlarda tespit edilmiştir.

Kandemir ve ark. (2002) Mersin Üniversitesi hastanesinde Mayıs 2000-Haziran 2001 tarihleri arasında izlenen hastalara ait çeşitli materyallerden izole ettikleri 71 Gram negatif bakteride çift disk sinerji metoduyla GSBL ve direkt indüksiyon metoduyla İBL varlığını araştırmışlardır. İzole ettikleri 71 bakteriden 13'ünü *Pseudomonas* spp. olarak tanımladıkları çalışmada, 4(%30) *Pseudomonas*'da İBL varlığı tespit ederken

hiçbir *Pseudomonas* izolatında GSBL varlığı tespit etmemişlerdir [197]. Kandemir ve ark.'nın sonuçlarına paralel şekilde bizim çalışmamızda da çift disk sinerji yöntemiyle *Pseudomonas* izolatlarının hiçbirinde GSBL varlığı tespit edilememişken; direkt indüksiyon yöntemiyle 35 izolatta (%22,7) İBL üretimi tespit edilmiştir.

Akın ve Ommaty (1988) değişik kaynaklardan izole ettikleri 184 *Pseudomonas* suşunun 110'unda (%59,78) cefotaxime, 148'inde (%80,43) gentamicin direnci tespit etmişlerdir [198]. Çalışmamızda Akın ve Ommaty'nın sonuçlarına paralel şekilde %57,8 oranında cefotazime direnci tespit edilirken; Akın'dan farklı olarak gentamicin direnci tespit edilmemiştir.

Pseudomonas türleri doğada toprak ve suda yaygın olarak bulunabilen hareketli aerobik çomaklardır. Klinikte ise özellikle başıgıklık sistemi baskılanmış hastalarda infeksiyon etkeni fırsatçı patojenlerdir. Gıda işletmelerinde farklı yüzeylerde bulunabilen *Pseudomonas*'lar üretim aşamasında ciddi üretim sorunlarına, kayıplara neden olurken; tüketim aşamasında ise sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Özellikle dezenfeksiyon işlemlerine direnç göstermeleri ve işletmelerdeki cihazlarda biyofilm oluşturmaları ortamdan uzaklaştırılmalarını güçleştirmektedir. Bu tür işletmelerde tüketim amaçlı üretilen ürünlere *Pseudomonas* bulaşması bunları tüketen kişilere geçebilme riskini doğurmaktadır. *Pseudomonas* cinsi bakteriler buzdolabı sıcaklığında depolanan gıdalardaki bozulmaların birçoğundan sorumludurlar. Özellikle et, süt, tavuk ve sebzelerde bozulmalara neden olur. Bu da soğukta depolanan gıdalardaki önemine dikkat çekmektedir.

Klinikte *P.aeruginosa* suşlarının sahip olduğu çeşitli virulans faktörler ve antibiyotiklere çoklu direnç göstermesi günümüzdeki önemini arttırmıştır. Özellikle İBL üretileri tedavilerini dahada güçleştirmektedir.

Araştırmamızda çeşitli gıda örneklerinden izole edilen *Pseudomonas* türlerinde özellikle *P.aeruginosa* türlerinde de klinik örnekler olduğu gibi çoklu antibiyotik direncinin bulunması ve İBL üretiminin tespit edilmesi gıda endüstrisinde de antibiyotik direncine dikkat edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Çünkü çoklu

antibiyotik direnci bulunan *Pseudomonas* izolatlarının bulunduğu gıdaların tüketilmesi halk sağlığı için risk teşkil edebilir. Bu nedenle *Pseudomonas* kökenlerinde doğru tedavi politikalarının oluşturulabilmesi ve antibiyotik direncinin artmasını engellemek amacıyla uygun antibiyotik kullanımının yaygınlaştırılması ve etkili tedbirlerin alınması önemlidir.

Siderofor üretimi ve serum direnci gibi önemli virulans faktörlerle, İBL üretimi ve çoklu antibiyotik direnci gibi klinikte önem taşıyan patojenite kriterlerine gıda ürünlerinden izole edilen türlerde de rastlanmış olması, gıda örneklerinde sanitasyon ve hijyen kurallarına uyularak halk sağlığı açısından bu türlerin risk oluşturmasının önüne geçilmesi gerekliliğini bir kez daha göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. Frazier, W.C., Westhoff, D.C., "Food Microbiology", **Mc Graw-Hill Inc.**, Singapore, 461, (1988).
2. Metin, M., "Süt teknolojisi: Sütün Bileşimi ve İşlenmesi", E.Ü. Müh.Fak.Yay. No:33, **Ege Üniversitesi Basımevi**, Bornova, İzmir, (2003).
3. Metin, M., Öztürk F.G., "Süt İşletmelerinde Sanitasyon", E.Ü. Mes.Yük.OkuluYay. No:17, **Ege Üniversitesi Basımevi**, Bornova, İzmir, (2003).
4. Gökten, D., "Gıdaların Mikrobiyal Ekolojisi: Et Mikrobiyolojisi", **Ege Üniversitesi Basımevi**, Bornova, İzmir, (1990).
5. Bilgehan, H., "Klinik Mikrobiyoloji-Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları", **Barış Yayınları**, İzmir, (2000).
6. Nickerson. J.T., Sinskey.A.J., "Microbiology of foods and food processing", **Elsevier**, NorthHolland, (1977).
7. Gram, L., "Inhibitory effect of against of *Salmonella* pathogenic and spoilage bacteria of *Pseudomonas* strains isolated from spoiled and fresh fish", **Appl. Environ. Microbiol.**, 59(7): 2197-2203, (1993).
8. Ünlütürk, A., Turantaş, F., Acar, J., Karapınar, M., Temiz, A., Aktuğ, Ş., Tunçel, G., "Gıda Muhafaza İlkeleri, Gıdalarda Mikrobiyolojik Bozulmalar, Patojen Mikroorganizmalar ve Muhafaza Yöntemleri", Gıda Mikrobiyolojisi, **Mengi Tan Basımevi**, İzmir, 262-265 (1999).
9. Griffiths, H., Chart, H., Stevenson, P. and Doth, J. A. (ed.) "High affinity iron uptake systems and bacterial virulence, Virulence mechanisms of bacterial pathogens", **Clin. Microbiol. Rev.**, 11 (4): 589-603 (1998).
10. Perry, R. D. and San Clemente, C. L., "Siderophore synthesis in *Klebsiella pneumoniae* and *Shigella sonnei* during iron deficiency", **J. Bacteriol.**, 140(3): 1129-1132 (1979).
11. Taylor, P.W., "Bactericidal and bacteriolytic activity of serum against Gram-negative bacteria", **Microbiology Review**, 47: 46-83, (1983).
12. Akalın, H., Özakın, C., Sütcü, Ş., Helvacı, S., Ener, B., Gedikoğlu, S., "Uludağ Univ. Tıp Fakültesi Hastane enfeksiyonları", **Klinik Derg.**, 12 (2): 55-57 (1999).
13. Jensen, L. B., Hammerum, A. M., Poulsen, R. L., Westh, H., "Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strains with highly similar pulsed field gel electrophoresis patterns containing similar Tn-1546-like elements isolated from a hospitalized patient and pigs in Denmark", **Antimicrob Agents Chemother**, 43: 724-729 (1999).

14. Aydın, F., “Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Değişik Yöntemlerle Çeşitli Antimikrobiyellere Duyarlılıklarının Araştırılması” **A.Ü.Tıp Fak. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Uzmanlık Tezi**, Ankara, (2001).
15. Doudorof, M., “Gram-Negative Aerobic Rods and Cocci, Genus 1: *Pseudomonadaceae*”, In Krieg, N. R., Holt, J. G. (eds), *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, **William&Wilkins**, Baltimore, London 1: 114-219 (1984).
16. Pelczar, J. M., Reid, D. R., “Microbiology”, **Kogakuska Company Ltd.**, Tokyo, (1958).
17. Tortora, J. G., Funke, R. B., Case, L. C., “Microbiology”, **The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc.**, California, (1992).
18. Ayhan, K., “Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmaların Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları”, Ankara Ün. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü Yayınları, **Sim Matbaacılık Ltd.**, Ankara, (2000).
19. Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A., “Klinik Mikrobiyoloji”, **Atlas Kitapçılık**, 1: 734-748, Ankara, (2009).
20. De Vos, P., De Ley, J., “Intra and Intergeneric similarities of *Pseudomonas* and *Xanthomonas* Ribosomal Ribonucleic and cistrons”, **Int. J. Syst. Bacteriol.**, 33: 487-509, (1983).
21. Kersters, K., Ludwig, M., Vancanneyt, P., De Vos, P., Gillis, M., Schleifer K. H., “Recent Changes in the Classification of the Pseudomonads: an overview”, **System Appl. Microbiol.**, 19: 465-477, (1996).
22. Guasp, C., Moore, E. R., Lalucat, J., Bennasar, A., “Utility of internally transcribed 16S-23S rDNA spacer regions for the definition of *Pseudomonas stutzeri* genomovars and other *Pseudomonas* species”, **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, 50(4): 1629-1639, (2000).
23. Elomari, M., Izard, D., Vincent, P., Coroler, L., Leclerc, H., “Comparison of Ribotyping analysis and numerical taxonomy studies of *Pseudomonas putida* biovar A”, **System Appl. Microbiol.**, 17:361-369, (1994).
24. Şengöz, G., Karabela, Ş., Durdu, Y., Yaşar, K., Yıldırım, F., Bakar, M., Koldaş, M., Nazlıcan, Ö., “*Pseudomonas* cinsi Bakterilerde İsepanisin Direncinin Araştırılması ve Diğer Aminoglikozid Dirençleriyle Karşılaştırılması” **Klimik Dergisi**, 18(1): 41-44, (2005).
25. Baştürk, S., “*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Çeşitli Kinolon Grubu Antibiyotiklerin Duyarlılıklarının Araştırılması”, **T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği Uzmanlık Tezi**, İstanbul, (2005).

26. Arda, M., "Mikrobiyel Üremenin Kontrolü. Bakterilerin Anatomik Yapıları", *Web sitesi: <http://www.mikrobiyoloji.org>*, Erişim Tarihi: 17.02.2006.
27. Özsoy, M. F., Öncül, O., Pahsa, A., Erdem, H., Eemekdaş, G., " Etil alkol, Povidon İyot ve Benzalkonyum Klorürün *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarına Karşı Etkinliği", *Klinik Dergisi*, 14(1): 30-32, (2001).
28. Erdem, B., "Temel ve Klinik Mikrobiyoloji: *Pseudomonas*'lar", Ustaçelebi Ş. ed., *Güneş Kitapevi*, 551-558, Ankara, (1999).
29. Bergagne, E., "*Pseudomonas* and Miscelaneus Gram Negative Bacilli In: Infectious Diseases 2nd ed." Colman J., Powerdyly Gw. ed., 1733-1748, Toronto, (2004).
30. Pier G.B., Ramphal, R., "*Pseudomonas aeruginosa* In: Principles and Practice of Infectious Diseases 6th ed." Madell G.L., Bennett J.E., Dolin R. ed., **Churchill Livingstone Inc.**, 2587-2614, Philadelphia, (2005).
31. Pollack, M., "Mandell: Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed.", **copyright Churchill Livingstone Inc.**, (2000).
32. Brooks, G. F., Butel, J. S., Morse, S. A., "Medical Microbiology, *Pseudomonas* and Related Organisms", **Appleton&Lange**, Stamford Connecticut, (1988).
33. Solberg, M., O'leary, V.S., Riha, W.E., "New Medium fort he Isolation and Enumeration of Pseudomonads", *Applied Microbiology*, 24(4): 544-550, (1972).
34. Jeppesen, C., "Media for *Aeromonas* spp., *Plesiomonas shigelloides*, *Pseudomonas* spp. From Food and Environment", *International Journal of Food Microbiology*, 26: 25-41, (1995).
35. Walker, S. J., "Major spoilage microorganisms in milk and dairy products", *Journal of Society for Dairy Technology*, 41: 91-92 (1988).
36. İnal, T., "Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi", İstanbul, (1990).
37. Cousin, M.A., "Presence and Activity of Pschrotrophic microorganism in milk and dairy product, a review", *Journal of Food Protect*, 45(2): 172-207, (1982).
38. Cousins, C. M., Bramley, A. J., "The Microbiology of Raw Milk, Dairy Microbiology", Robinson, R. K. ed., 1: 119-164, (1983).
39. Juff, J. S., "Identification of *Pseudomonas* species isolated from milk produced in South Eastern Queensland", *J. Appl. Bacteriol*, 36: 585-598, (1973).
40. Stead, D., "Microbial lipases, their characteristics, role in food spoilage and industrial uses", *J.Dairy Research*, 53: 481-505, (1986).
41. Milliere, J. B., Rachid, M.S.B., Chadi, A., "Pschrotrophic bacteria of raw milk", *Archives De Institut Pasteur de Tumis*, 50(3): 189-209, (1973).

42. Milliere, J. B., Veilett-Pancet, L., "Determination of caseolytic pschrotrophic bacteria in refrigerated raw milk" *Lait*, 59: 581-582, (1979).
43. Keskin, D., Ekmekçi, S., " Investigation of the Incidence of *Pseudomonas* sp. In Foods", *Hacettepe J. Biol. & Chem.*, 35(3): 181-186, (2007).
44. Wang, L., Jayarao, B. M., "Phenotypic and Genotypic Characterization of *Pseudomonas fluorescens* Isolated from Bulk Tank Milk", *J. Dairy Sci.*, 84:1421-1429, (2001).
45. Uraz, G., Çıtak, S., "Çeşitli Yörelere Sağlanan Çiğ Süt Örneklerinden *Pseudomonas*'ların İzolasyonu ve Türlerin Dağılımları Üzerine Bir Araştırma", *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 22: 469-474, (1998).
46. Samagh, B. S., Cunningham, J. D., " Numerical Taxonomy of the Genus *Pseudomonas* from Milk and Milk Products", *Journal of Dairy Science*, 55(1): 19-24, (1971).
47. Barry, A. L., " Reviews of the progress of Dairy Science: Enzymes of Psychrotropic Bacteria and Their Affects on Milk Products", *Journal of Dairy Research*, 46: 573-588, (1979).
48. Wiedmann, M., Weilmeier, D., Dineen, S. S., Ralyea, R., Boor, K. J., "Molecular and Phenotypic Characterization of *Pseudomonas* spp. Isolated From Milk", *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5): 2085-2095, (2000).
49. Kılıç, S., Kavas, G., Uysal, H., "Süt Teknolojisi Açısından Psikrotrof Bakteriler: Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri.VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı", Demirci M. ed., *Rebel Yayıncılık*, İstanbul, (2000).
50. Kristiansen, A. K., "Evaluation of two selective media for rapid isolation of *Pseudomonas* strains", *Danks Veterinertid Skrift*, 66(3): 83-91, (1983).
51. Alisharlı, M., Solmaz, H., Akkaya, L., "Süt İneklerinde Meme Başı Derilerinin Bazı Mikroorganizmalar ve Çiğ Sütlerinde Mikrobiyolojik Kalite Yönünden İncelenmesi", *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 14(1): 35-39, (2003).
52. Szita, G., "A Novel Selective Synthetic Acetamide Containing Culture Medium For Isolating *Pseudomonas aeruginosa* From Milk", *International Journal of Food Microbiology*, 43: 123-127, (1998).
53. Tel, O. Y., Keskin, O., Zonturlu, A. K., Arserim-Kaya N. B., "Şanlıurfa Yöresinde Subklinik Mastitislerin Görülme Oranı, Aerobik Bakteri İzolasyonu ve Duyarlı Antibiyotiklerin Belirlenmesi", *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.*, 23(2): 101-106, (2009).
54. Yano, Y., "Psychrotrophic Microorganism in Animal Products", *Jap.Agricult.Research Quarteny*, 10: 42-47, (1976).

55. Kroll, V. S., Kellerer, B., Busse, M., Klustermeyer, H., "Proteolytic active psychrotrophs of raw milk identification on the basis of physiological characteristics", *Milchwissenschaft*, 39(9): 538-540, (1984).
56. Fischer, P. L., Jooste, P. J., Novello, J. C., "The Seasonal Distribution of psychrotrophic bacteria in Bloemfontein Raw Milk Supplies", *South Afr. J. Dairy Sci.*, 19: 73-76, (1987).
57. Anuranjini, C., Geethu, S., Dhanashree, B., "Bacteriological analysis of ice creams from Mangalore, South India" *Indian J. Med. Res.*, 127: 91-92, (2008).
58. Kumaresan, G., Villi, A., "Incidence of *Pseudomonas* Species in Pasteurized Milk", *Tamilnadu J. Veterinary & Animal Sciences*, 4(2): 56-59, (2008).
59. Soyutemiz, E., "Et ve Et Ürünlerinde Mikrobiyal Bozulmalar", *Dünya Yayınları Gıda Dergisi*, Mart:52-57, (2000).
60. Mbandi, E., Shelef, L. A., "Enhanced antimicrobial effects of combination of lactate and diacete on *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in beef Bologna", *International Journal of Food Microbiology*, 76: 191-198, (2002).
61. Öztan, A., "Et Bilimi ve Teknolojisi", *TMMOB. Gıda Müh. Odası Yayınları*, 1: 495, (2003).
62. Fung, D. Y., Thompson, P.H.D. L., "Effects of Dried Plums on Suppression of Growth of Foodborne Pathogens in Liquid Medium and Ground Meat", *Department of Animal Sciences and Industry*, Kansas State University, Hall Manhattan, 656: 160, (2001).
63. Tunçel, G., Tiryaki, G., "Çiğ Köftelerin Gıda Güvenliği Açısından Değerlendirilmesi", *Dünya Gıda Dergisi*, Aralık : 56-61, (2001).
64. Yalçın, Y., "Et Mikrobiyolojisi", Et Mikrobiyolojisi Hijyeni ve Kimyası, *Uludağ Üniversitesi Basımevi*, 47-49, 59 (1987).
65. Newton, K. G., Harrison, J. C. L., Wauters, M. A., "Sources of psychrotrophic bacteria on meat at the abattoir", *J. of Applied Bacteriology*, 45: 75-82 (1978).
66. Dainty, R.H., Shaw, B.G., Roberts, T.A., "Microbial and chemical changes in chill-stored red meats." In. Food Microbiology: Advances and Prospects, ed. Roberts, T.A. and Skinner, F.A., *London and New York: Academic Press.*, 151-178 (1983).
67. Chambers, J. V. et al., "A microbiological survey of raw ground beef in Ohio", *J. Milk Food Technol.*, 38 (8): 530-535 (1976).
68. Banwart, G. J., "Basic Food Microbiology", Second Edition, *An Avi Book*, New York, 773 (1989).
69. Lampropoulou, K. A., Drosinos, E. H., Nychas, G. J., E., "The effect of glucose supplementation on the spoilage microflora and chemical composition of mince

- beef stored aerobically or under a modified atmosphere at 4°C”, *Int. J. of Food Microbiol.*, 30: 281-291 (1996).
70. Arnaut-Rollier, I., Vauterin, L., De Vos, P., Massart, D. L., Devriese, L. A., De Zutter, L., Van Hoff, J., “A numerical taxonomic study of the *Pseudomonas* flora isolated from poultry meat”, *J. of Appl. Microbiol.*, 87: 15-28 (1999).
 71. Nortje, G. L., L., Nel, Jordaan, E., Badenhorst, K., “The aerobic populations on meat and meat contact surfaces in a meat production system and on meat stored at chill temperatures”, *J. of Appl. Bacteriology*, 68: 335-344 (1990).
 72. Dainty, R. H., Edwards, R. A., Hibbart, C. M., “Time course of volatile compound formation during refrigerated storage of naturally contaminated beef in air”, *J. of Appl. Bacteriology*, 59: 303-309 (1985).
 73. Shaw, B. G., Latty, J. B., “A study of the relative incidence of different *Pseudomonas* groups on meat using a computer-assisted identification technique employing only carbon source test”, *J. of Appl. Bacteriology*, 57: 59-67 (1984).
 74. Gill, C. O. ve Newton, K. G., “Growth of bacteria on meat room temperatures”, *J. of Appl. Bacteriology*, 49: 315-323 (1980).
 75. Tekinşen, O. C., Yurtyeri, A., Mutluer, B., “Ankara’da Satılan Hazır Kıymaların Bakteriyolojik Kalitesi ”, *Ankara Üni., Veteriner Fak. Dergisi*, 27(1-2): 45-63, (1980).
 76. Gashe, B. A., Mpuchane, S., “Prevalence of *Salmonella* on beef products at butcheries and their antibiotic resistance profiles”, *J. Food Sci.*, 65 (5): 880-883 (2000).
 77. Gill, J., “Microbial Ecology of Meat and Poultry”, *Advances in Meat Research, Meat and Poultry Microbiology*, Pearson, M.A., Dutson, T.R. ed., *AVI Publishing Company Inc.*, Vol:2, Westport, Connecticut, (1986).
 78. Barnes, E. M., Thornley, B., “Bacteriological problems in broiler preparations and storage”, *Research Soc. Health J.*, 80: 145-148, (1960).
 79. Viegweg, S. H., Scmitt, R. E., Schmidt-Lorenz, W., “Microbial Spoilage of refrigerated fresh broilers, PartVII, Production of odours from poultry skin bacterial isolates”, *Lebensmittel-Wissen Schaft und Technology*, 22: 356-367, (1989).
 80. Sezen, G., “Piyasada Satışa Sunulan Taze Kanatlı Eti Preparatlarının Son Kullanma Tarihlerindeki Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Kaliteleri ”, *Uludağ Uni. J. Fac. Vet. Med.*, 28(1): 19-24, (2009).
 81. Studer, P., Schmitt, R. E., Gallo, L., Schmidt-Lorenz, W., “Microbial Spoilage of refrigerated fresh broilers, II, Effect of Packaging on microbial association of poultry carcasses” *Lebensmittel-Wissen Schaft und Technology*, 21: 224-228, (1998).

82. Regez, P., Gallo, L., Schmidt-Lorenz, W., "Microbial Spoilage of refrigerated fresh broilers, III, Effects of storage temperature on microbial association of poultry carcasses", *Lebensmittel-Wissenschaft und Technology*, 21: 229-233, (1988).
83. Sundheim, G., Sletten, A., Dainty, R. H., "Identification of Pseudomonads from fresh and chill-stored chicken carcasses", *Internat. J. Food Microbiol.*, 39: 185-194, (1998).
84. Gueriot, M. L., "Microbial Iron Transport", *Ann. Rev. Microbiol.*, 48: 743-772, (1994).
85. Bagg, A., Neilands, J. B., "Molecular Mechanisms of Regulation of Siderophore-Mediated Iron Assimilation", *Microbiol. Rev.*, 51: 509, (1987).
86. Erdem, E., "Bakterilerde Sideroforlar ve Diğer Demir Alım Sistemleri", *İnfeksiyon Dergisi*, 10: 101, (1996).
87. Gueriot, M. L., "Microbial Iron Transport", *Annu. Rev. Microbiol.*, 48: 743, (1994).
88. Visca, P., Leoni L., Wilson M. J., Lamont lain L., "Iron Transport and regulation, cell signalling and genomics: lessons from *Escherichia coli* and *Pseudomonas*", *Blackwell Science Ltd. Molecular Microbiology*, 45(5):1177-1190, (2002).
89. Neilands, J. B., "Siderophores: Structure and Function of Microbial Iron Transport Compounds", *J. Biol. Chem.*, 270: 26723-6, (1995).
90. Neilands, J. B., "Siderophores", *Arch. Biochem. Biophys*, 302: 1-3, (1993).
91. Crichton, R. R., Charleaux-Wauters, M., "Iron transport and storage", *European Journal of Biochemistry*, 164: 485-506, (1987).
92. Ratledge, C., Dover, L. G., "Iron Metabolism in pathogenic bacteria", *Ann. Rev. Microbiol.*, 54: 881-941, (2000).
93. Drechsel, H., Winkelmann, G., "Iron Chelation and siderophores", Winkelmann, G., Carrona, C. J. eds., *Transition Metals in Microbial Metabolism*, Amsterdam: *Harwood Academic*, 1-49, (1997).
94. Aksoy, M. H., "Toprak Kökenli Fungal Patojenlerin Fluoresan Pseudomonadlarla Biyolojik Mücadelesi", *J. of Fac. Of Agric.*, 21(3): 364-369, (2006).
95. Cornelis, P., Matthijs, S., "Diversity of Siderophore-Mediated Iron Uptake Systems in Fluorescent Pseudomonads: Not Only Pyoverdines", *Environ. Microbiol.*, 4: 787-798, (2002).
96. Cox, C. D., Graham, R., "Isolation of an Iron-binding Compound from *Pseudomonas aeruginosa*", *J. Bacteriol*, 137: 357-364, (1979).

97. Mercado-Blanco, J., van der Drift, K. M., Olsson, P. E., Thomas-Oates, J. E., van Loon, L. C., Bakker, P. A., “ Analysis of the pmsCEAB gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374”, **J. Bacteriol**, 183:1909-, (2001).
98. Meyer, J. M., Azelvandre, P., Georges, C., “Iron Metabolism in *Pseudomonas*: Salicylic acid, a Siderophore of *Pseudomonas fluorescens* CHAO”, **Biofactors**, 4: 23-37, (1992).
99. Poole, K., Mckay, G. A., “Iron acquisition and its control in *Pseudomonas aeruginosa*: many roads lead to Rome”, **Front Biosci**, 8:661-686, (2003).
100. Meyer, J. M., Hallé, F., Hohnadel, D., Lemanceau, P., Ratefiarivelo, H., “Siderophores of *Pseudomonas* biological properties. In Iron Transport in Microbes, Plants and Animals”, **VCH Verlagsgesellschaft**, 188-205, (1987).
101. Visca, P., Imperi, F., Lamont, Iain L., “Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance”, **Trends in Microbiology**, 15(1): 22-30, (2006).
102. Taylor, P. W., Roth, J. A.(ed), “Bacterial resistance to complement virulence mechanisms of bacterial pathogenesis”, **American Society for Microbiology**, Washington DC, 107-120, (1988).
103. Schiller, N. L., Janer, K. A., “Interaction of complement with serum- sensitive and serum-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*”, **Infect. Immun.**, 54: 689-694, (1986).
104. Thomassen, M. J., Demko, C. A., “Serum bactericidal effect of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients.”, **Infect Immun**, 33: 512-518, (1981).
105. Schiller, N. L., Alazard, M. J., Borowski, R. S., “Serum sensitivity of a *Pseudomonas aeruginosa* mucoid strain”, **Infect Immun.**, 45: 748-755, (1984).
106. Young, L. S., Armstrong, D., “Human Immunity to *Pseudomonas aeruginosa*. I. *In vitro* interaction of bacteria, polymorphonuclear leukocytes and serum factors”, **J. Infect Dis.**, 126: 257-276, (1972).
107. Cevahir, N., Kaleli, İ., Demir, M., Yıldırım, U., Çevik, E., Gürbüz, M., “ *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarında serum direncinin araştırılması”, **Mikrobiyoloji Bülteni**, 40: 251-255, (2006).
108. Mete, M., Atmaca, S., Gül, K., Elçi, S., “Serumun *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına antibakteriyel etkisi”, **Turkish Journal of Infection**, 12(3): 385-387, (1998).
109. İnan, D., Övünç, D., Günseren, D., Çolak, D., Namıkoğlu, L., Gültekin, M., “*Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere karşı direnci”, **Mikrobiyoloji Bülteni**, 34: 255-260, (2000).

110. Walker, S. E., Sander, J. E., Cline, J. L., Helton, J. S., "Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates associated with mortality in broiler chicks", *Avian Diseases*, 46: 1045-1050, (2002).
111. Jensen, L. B., Baloda, S., Boye, M., Aarestrup, F. M., "Antimicrobial resistance among *Pseudomonas* spp. and the *Bacillus cereus* group isolated from Danish agricultural soil", *Environment International*, 26: 581-587, (2001).
112. Aydın, K., Çaylan, R., Köksal İ., Volkan, S., Öksüz, R., "*Pseudomonas aeruginosa* suşlarının yıllara göre antibiyotik duyarlılığı", *Hastane Enfeksiyonları Derg.*, 4: 92, (2000).
113. Pollack, M., Mandell G. L., Bennett, J. E., Dolin R.(eds),. "*Pseudomonas aeruginosa*: Principles and Practice of Infectious Diseases 4th ed.", **Churchill Livingstone**, NewYork, (1995).
114. Livennore, D. M., "Beta-Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance", *Clin. Microbiol. Rev.*, 8: 557-584, (1995).
115. Livermore, D. M., "Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare?", *Clin. Infect. Dis.*, 34: 634-640, (2002).
116. "National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing; Eleventh Informational Supplement", **NCCLS Document**, M100-S11-6, Wayne, (2001).
117. Livermore D. M., "Beta-lactamases in Laboratory and Clinical Resistance", *Clin. Microbiol. Rev.*, 8(4): 557-584, (1995).
118. Swenson, J. M., Hindler, J. A., Peterson, R. L., "Antimicrobial agents and microbial testing: Manual of Clinical Microbiology, 6th ed.", Murray P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F.C., Tenover, R.H. ed., **ASM Press**, Washington, (1995).
119. Gülay, Z., Sümerkan, B., "Antibiyotik Direnci: Mekanizma fenotip ilişkisi ve bildirimi ", **5.Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Özet Kitabı**, 43-67, İstanbul, (2002).
120. Hancock, REW., "Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative Gram-negative bacteria", *Clinic Infectious Disease*, 27(1): 93-99, (1989).
121. Vahaboğlu, H., "YBÜ'sinde Gram negatif bakteriler ve direnç sorunu", **X. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı**, Adana, (2001).
122. Nikaido, H., "Antibiotic Resistance caused by Gram-negative multidrug efflux pumps", *Clinical Infectious Diseases*, 27(1): 32-41, (1998).

123. Louis B., Rice M. D., Robert A., Bonomo, M. D., “ The Red Menace: Emerging Issues in Antimicrobial Resistance In Gram-Negative Bacilli”, ***Current Infectious Disease Reports***, 1(4): 338-346, (1999).
124. Helfand, S., Bonomo, R., “Current Challenges in Antimicrobial Chemotherapy: The Impact of Extended-Spectrum Beta-Lactamases and Metallo-Beta-Lactamases on the Treatment of Resistant Gram-Negative Pathogens”, ***Current Opinion in Pharmacology***, 5: 452-458, (2005).
125. Akkurt, L., Havuz, G. S., Uyar, Y., Karadağ, A., Esen, Ş., “1999-2000 yıllarında yoğun bakım ünitelerinden izole edilen bakterilerde antibiyotik direnci”, ***ANKEM Dergisi***, 16(1): 14-17, (2002).
126. Canton, R., Teressa, M., Baquero, C. F., “ Multiresistant Gram-Negative Bacilli: From epidemics to endemics” ***Current Opinion in Infectious Disease***, 16: 315-325, (2003).
127. Jacoby, G. A., “Mechanism of Resistance to Quinolones”, ***Clinical Infectious Diseases***, 41: 120-126, (2005).
128. Hooper, C. D., “Bacterial Topoisomerases and anti-topoisomerase resistance”, ***Clinical Infectious Diseases***, 27(1): 54-63, (1998).
129. Levy, S. B., Fitzgerald, G. B., Macone, A. B., “Spread to antibiotic resistance plasmids from chicken to chicken and from chicken to man”, ***Nature***, 260: 40-2, (1976).
130. Van den Bogaard, A. E., Stobberingh, E. E., “Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans”, ***Int. J. Antimic. Agent.***, 14(4): 327-335, (2000).
131. Linton, A. H., Howe, K., Bennet, P. M., Richmond, M. H., “The Colonization of the human gut by antibiotic-resistant *Escherichia coli* from chickens”, ***J. Appl. Bacteriol.***, 43: 465-469, (1977).
132. Rice, L. B., Sahm, D., Bonomo, R. A., “Mechanisms of resistance to antimicrobial agents (Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Pfaller, M. A., Tenover, R. C. eds)”, ***Manual of Clinical Microbiology***, 8th ed., Washington DC, 1074-1101, (2003).
133. Philippon, A., Arlet, G., Jacoby, G. A., “Plasmid-determined AmpC beta-lactamases”, ***Antimicrob. Agents Chemother***, 46(1): 1-11, (2002).
134. Swenson, J. M., Hindler, J. F., Jorgensen, J. H., “Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance:Manual of Clinical Microbiology, 8th ed.”, Murray, P. R., Baron E. J., Jorgensen, J. H., Pfaller, M. A., Tenover, R. C. ed., ***ASM Press***, Washington DC, 1178-1195, (2003).

135. Gülay Z., “Beta Laktamazlar ve Klinik Önemi: İndüklenebilir beta-laktamazlar: Özellikleri, epidemiyolojisi ve klinik önemi, Mezuniyet sonrası eğitim dizisi-2”, Ulusoy, S. ed., **Bilimsel Tıp Yayınevi**, 45-69, Ankara, (2005).
136. Pfaller, M. A., Jones, R. N., Mystic Study Group (Europe): Antimicrobial susceptibility of inducible AmpC beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* from the meropenem Yearly susceptibility Test Information Collection Programme”, **Int. J. Antimicrob Agents**, 19(5): 383-388, (2002).
137. Bush, K., Jacoby, G. A., Medeiros, A. A., “A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure”, **Antimicrob Agents Chemother**, 39: 1211-1233, (1995).
138. Gür, D., “Hastane Enfeksiyonlarında Önem Kazanan Gram-Negatif Bakterilerde Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları”, **Hastane İnfek. Derg.**, 1: 38-45, (1997).
139. Medeiros, A. A., “Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics”, **Clin. Infect. Dis.**, 24: 19-45, (1997).
140. Yuluğ, N., “Beta-laktamazlar ve klinik açıdan önemi”, **ANKEM Derg.**, 11: 205-207, (1997).
141. Livermore, D. M., “Beta-lactamase mediated resistance and opportunities for its control”, **J. Antimicrob. Chemother**, 41(D): 24-41, (1998).
142. Danel, F., Hall, L. M. C., Gür, D., Akalın, H. E., Livermore, D. M., “Transferable production of PER-1 beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*”, **J. Antimicrob. Chemother**, 35: 281-294, (1995).
143. Vahapoğlu, H., Hall, L. M., Mülazımoğlu, L. et. al., “Resistance to extended spectrum cephalosporins, caused by PER-1 beta-lactamase in *Salmonella typhimurium* from İstanbul”, **J. Med. Microbiol.**, 43: 294-299, (1995).
144. Hall, L. M. C., Livermore, D. M., Gür, D., Akalın, H. E., “OXA-11, an extended spectrum variant of OXA-10 beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*”, **Antimicrob. Agents Chemother**, 37: 1637-1644, (1993).
145. Kaye, K. S., Fraimow, H. S., Abrutyn, E., “Pathogens resistant to antimicrobial agents: Epidemiology, molecular mechanisms and clinical management”, **Infect. Dis. Clin. North Am.**, 14(2): 293-319, (2000).
146. Demir, N., “Gram Negatif Bakterilerde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üretimine Katkıda Bulunan Çeşitli Risk Faktörlerinin Araştırılması”, **Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği Uzmanlık Tezi**, İstanbul, (2006).
147. Philippon, A., Arlet, G., Lagrange, P.H., “Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases”, **Eur J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, 13(1): 17-29, (1994).

148. Livermore, D. M., Williams, J. D., “ Beta lactams: Mode of action and mechanisms of bacterial resistance” Antibiotics in Laboratory Medicine 4th ed., Lorian, V. (ed), **Williams & Wilkins**, Baltimore, 502-578, (1996).
149. Gür, D., “ Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar”, Beta laktamazlar ve klinik önemi, Ulusoy, S.(ed), **Bilimsel Tıp Yayınevi**, Ankara, 70-84, (2005).
150. Akova, M., “Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar ve klinik önemi”, Önemli ve sorunlu gram-negatif bakteri infeksiyonları, Ulusoy, S., Leblebicioğlu, H., Arman, D.(ed), **Bilimsel Tıp Yayınevi**, Ankara, 85-94, (2004).
151. TS-1018, “İnek sütü-Çiğ”, **Türk Standardları Enstitüsü**, (2002).
152. TS-4265, “Dondurma-Süt Esaslı”, **Türk Standardları Enstitüsü**, (1992).
153. TS-11566, “Hazır Kıyma Standardı”, **Türk Standardları Enstitüsü**, (1995).
154. TS-3135, “Et ve et mamülleri-Numune alma ve analiz numunelerinin hazırlanması”, **Türk Standardları Enstitüsü**, (1998).
155. Schwyn, B., Neilands, J. B., “Universal Chemical Assay for the Detection and Determination of Siderophores”, **Analytical Biochemistry**, 160: 47-56, (1987).
156. Sharma, S. K., Fatma, T., “A simple and rapid bactericidal assay and its evaluation in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*”, **Journal of Mic.Meth.**, 39: 45-48, (1998).
157. TS 7895 EN ISO 8261, “Süt ve Süt Ürünleri-Mikrobiyolojik Muayene İçin Deney Numunelerinin, Başlangıç Süspansiyonların ve Ondalık Seyreltilerin Hazırlanması İçin Genel Kılavuz”, **Türk Standardları Enstitüsü**, (2003).
158. “Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests” **CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute)**, Chicago, (2006).
159. Akçam, F. Z., Gönen, İ., Kaya, O., Yayla, G., “ Hastane infeksiyonu etkeni enterobakterilerde beta-laktam antibiyotiklere duyarlılık ve ESBL sıklığının araştırılması”, **Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi**, 11(1): 6-9, (2004).
160. Elşi, F., Bayram, A., Balcı, İ., Özer, G., “*Pseudomonas aeruginosa* suşlarında indüklenabilir beta-laktamaz aktivitesinin ve antibiyotiklere direncin araştırılması”, **Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi**, 37(3): 142-146, (2007).
161. Gür, D., Gülay, Z., Söyletir, G., “Antibiyotik duyarlılık testleri için uygulama standartları 19. bilgi eki ”, **Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti**, 29(3): 44-45, (2009).
162. Ternström, A., Lindberg, A. M., Molin, G., “Classification of spoilage flora of raw and pasteurized bovine milk, with special reference to *Pseudomonas* and *Bacillus*”, **Journal of Applied Bacteriology**, 75: 25-34, (1993).

163. Lebert, I., Begot, C., Lebert, A., "Growth of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas fragi* in a meat medium as affected by pH (5,8-7,0), water activity (0,97-1,00) and temperature (7-25°C)", *International Journal of Food Microbiology*, 39(1998): 53-60, (1998).
164. Sayyed, R. Z., Badgujar, M. D., Sonawane, H. M., Mhaske, M. M., Chincholkar, S. B., "Production of antimicrobial iron chelators (siderophores) by fluorescent *Pseudomonads*", *Indian Journal of Biotechnology*, 4: 484-490, (2005).
165. Páez, M., Martínez-Nieto, P., Bernal-Castillo, J., "Siderophore producing *Pseudomonas* as pathogenic *Rhizoctonia solani* and *Botrytis cinerea* antagonists", *Universitas Scientiarum*, 10(1):65-74, (2005).
166. Huston, W. M., Potter, A. J., Jennings, M. P., Rello, J., Hauser, A. R., McEwan, A. G., "Survey of ferroxidase expression and siderophore production in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*", *J.Clin.Microbiol.*, 42(6): 2806-2809, (2004).
167. Mahmoud, A.L., ABD-Alla, M.H., "Siderophore production by some microorganisms and their effect on *Bradyrhizobium*-Mung Bean Symbiosis", *Int. J. of Agriculture & Biology*, 3(2):157-162, (2001).
168. Vacheé, A., Mossel, D.A.A., Leclerc, H., "Antimicrobial activity among *Pseudomonas* and related strains of mineral water origin", *J.of Applied Microbiology*, 83: 652-658, (1997).
169. Laine, M. H., Karwoski, M. T., Raaska, L. B., Sandholm, T.M., "Antimicrobial activity of *Pseudomonas* spp. against food poisoning bacteria and moulds", *Letter in Applied Microbiology*, 22: 214-218, (1996).
170. Yang, H., Chaowagul, W., Sokul, P. A., "Siderophore production by *Pseudomonas pseudomallei*", *Infection and Immunity*, 59(3): 776-780, (1991).
171. Vitkauskienė, A., ScheuB, S., Sakalauskas, R., Dudzevicius, Shaly, H., "Pseudomonas aeruginosa strains from nosocomial pneumonia are more serum resistant than *P.aeruginosa* strains from noninfectious respiratory colonization processes", *Infection*, 33: 356-361, (2005).
172. Pajdak, E., Szkarlat, A., Kobylarz, K., "Characteristics of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* I. Resistance to serum bactericidal effect and production of proteolytic enzymes", *Arch Immunol. Ther Exp (Warsz)*, 38: 309-314, (1990).
173. Çeliksöz, C., Karslıgil, T., Balcı, İ., "Seftazidim dirençli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz sıklığı", *Gaziantep Tıp Dergisi*, 15(1): 20-23, (2009).

174. Özdemir, M., Erayman, İ., Türkdağı, H., Baykan, M., Baysal, B., “Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları”, *ANKEM Derg.*, 23(3):122-126, (2009).
175. Castanheira, M., Jones, R. N., Livermore, D. M., “Antimicrobial activities of doripenem and other carbapenems against *Pseudomonas aeruginosa*, other nonfermentative bacilli and *Aeromonas* spp.”, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 63(2009): 426-433, (2009).
176. Ullah, F., Malik, S. A., Ahmed, J., “Antimicrobial susceptibility and ESBL prevalence in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in the North West of Pakistan”, *Burns*, 35(2009): 1020-1025, (2009).
177. Çelik, N., “Çoğul dirençli nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında beta laktamazların incelenmesi”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 38(1): 5-11, (2008).
178. Güven, Ö., Ünver, D., Özdemir, S., Gönüllü, N., Küçükbaşmacı, Ö., Altaş, K., “Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları ve beta-laktam direnç fenotipleri”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 38(3-4): 112-116, (2008).
179. Kurtoglu, M. G., Bozkurt, H., Yaman, G., Aygöl, K., Bayram, Y., Berktaş, M., “*Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobik direnci”, *Selçuk Tıp Dergisi*, 24(1): 1-6, (2008).
180. Gayyurhan, E., Zer, Y., Mehli, M., Akgün, S., “Yoğun bakım ünitesi hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve metallo-beta laktamaz oranlarının belirlenmesi”, *Turkish Journal of Infection*, 22(1):49-52, (2008).
181. Güler, Ö., Aktaş, O., Uslu, H., “Klinik örneklerden izole edilen bakterilerde beta-laktamaz varlığının ve çeşitli antibiyotik gruplarına karşı duyarlılıklarının araştırılması”, *ANKEM Derg.*, 22(2): 72-80, (2008).
182. Ekşi, F., Bayram, A., Balcı, İ., Özer, G., “*Pseudomonas aeruginosa* suşlarında indüklenbilir beta-laktamaz aktivitesinin ve antibiyotiklere direncin araştırılması”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 37(3): 142-146, (2007).
183. Cavallo, J. D., Hocquet, D., Plesiat, P., Fabre, R., Roussel-Delvallez, M., “Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials: a 2004 French multicentre hospital study”, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59: 1021-1024, (2007).
184. Küçükateş, E., Kansız, E., Gültekin, N., “Gram negatif bakterilerde isepamisin ve gentamisine karşı direnç”, *Turkish Journal of Infection*, 21(1): 21-25, (2007).
185. Küçükbaşmacı, Ö., Algingil, R. Ç., Hamanç, Ö., Çelik, Ş., Köksal, F., Gönüllü, N., Samastı, M., “Kan örneklerinden üretilen Gram negatif çomakların

- antibiyotiklere duyarlılıkları”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 37(4): 201-203, (2007).
186. Alıcı, Ö., Açıkgöz, Z. C., Göçer, S., Gamberzade, Ş., Karahocagil, M. K., “Gram negatif çomaklarda geniş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı: 2001-2004 yılı verileri”, *Mikrobiyol. Bült.*, 40: 355-361, (2006).
187. Öngüt, G., Ögünç, D., Mutlu, D., Demirbakan, H., Dağlar, D., Çolak, D., Gültekin, M., “İndüklenebilir beta-laktamaz salgılandığı gösterilebilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında sefepimin in-vitro etkinliğinin E-test yöntemiyle araştırılması”, *ANKEM Derg.*, 20(1): 1-3, (2006).
188. Özkalay, N., Ağuş, N., Cengiz, A., Taneri, N., “*Pseudomonas* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarındaki değişim”, *ANKEM Derg.*, 20(3):159-163, (2006).
189. Toroğlu, S., Dinçer, S., Korkmaz, H., “Antibiotic resistance in Gram negative bacteria isolated from Aksu River in (Kahramanmaraş) Turkey”, *Annals of Microbiology*, 55(3): 229-233, (2005).
190. Fidan, I., Gürelık, F. Ç., Yüksel, S., Sultan, N., “*Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci ve metallo-beta-laktamaz sıklığı”, *ANKEM Derg.*, 19(2):68-70, (2005).
191. Çiftçi, İ. H., Çetinkaya, Z., Aktepe, O. C., Arslan, F., Altındış, M., “Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 35:98-102, (2005).
192. Gültekin, B., Eyigör, M., Neriman, A., “Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas* kökenlerinin antibiyotik direnci”, *ANKEM Derg.*, 18(1): 1-4, (2004).
193. Şahin, İ., Kaya, D., Öksüz, Ş., Okay, A., Şencan, İ., Öztürk, E. “Klinik örneklerden izole edilen Gram-negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve antibiyotik duyarlılığı”, *Turkish Journal of Infection*, 17(1): 45-48, (2003).
194. Köksal, F., Samastı, M., “Kan örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 32:187-192, (2000).
195. Cesur, S., Albayrak, F., Özdemir, D., Kolcu, Z., Tekeli, E., “Hastanede yatan hastaların idrar örneklerinden izole edilen Gram negatif çomakların antibiyotiklere duyarlılıkları”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 32: 174-176, (2002).
196. Cesur, S., Albayrak, F., Birengel, S., Kolcu, Z., Tekeli, E., “Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının karbapenem ve diğer beta-laktam antibiyotiklere duyarlılıkları”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 32: 203-206, (2002).

197. Kandemir, O., Ersöz, G., Şahin, E., Kaya, A., “Hastanede yatarak tedavi gören hastalardan soyutlanan Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve indüklenebilir kromozomal beta-laktamaz sıklığı”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 32:207-211, (2002).
198. Akın, A., Ommaty, M. R., “*Pseudomonas*’larda antibakteriyellere dirençliliğin R plazmidleri ile ilişkisi”, *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 18(1): 44-56, (1988).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : AYDIN, Gülcan
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 24.09.1983, ANKARA
Medeni hali : Bekar
Telefon : (0312) 229 10 68
e-mail : gulcanaydinn@gmail.com

Eğitim

<u>Derece</u>	<u>Eğitim Birimi</u>	<u>Mezuniyet tarihi</u>
Lisans	Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2007
Lise	Ankara Atatürk Anadolu Lisesi	2001

Yabancı Dil

İngilizce, Almanca

Hobiler

İnternet, Sinema, Müzik dinlemek, Kitap okumak, Bisiklet Sürmek, Yüzmek