



**T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BURDUR İLİ ÇİĞ SÜT ÖRNEKLERİNDEN BAZI
GRAM NEGATİF BAKTERİLERİN İZOLASYONU,
MALDİ-TOF MS İLE TANIMLANMASI VE BAZI
VİRULANS ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ**

Hacer KAÇAR

BURDUR, 2021

**T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BURDUR İLİ ÇİĞ SÜT ÖRNEKLERİNDEN BAZI
GRAM NEGATİF BAKTERİLERİN İZOLASYONU,
MALDI-TOF MS İLE TANIMLANMASI VE BAZI
VİRULANS ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ**

Hacer KAÇAR

Prof. Dr. Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ

BURDUR, 2021

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **“Burdur İli Çiğ Süt Örneklerinden Bazı Gram Negatif Bakterilerin İzolasyonu, MALDI-TOF MS ile Tanımlanması ve Bazı Virulans Özelliklerin Belirlenmesi”** başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı, bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

16/09/2021

(İmza)

Hacer KAÇAR

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ'a, çalışmalarım sırasında bana her türlü yardımda bulunan Öğr. Gör. Dilek Bengü YAMAN ACAY ve Öğr. Gör. Dr. Ali SOYUÇOK'a teşekkürlerimi sunarım.

0612-YL-19 No`lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın her aşamasında beni her anlamda destekleyen eşim Hakan KAÇAR'a sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Eylül, 2021

Hacer KAÇAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGE DİZİNİ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ÖZET.....	viii
SUMMARY.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. <i>Enterobacteriaceae</i> Ailesinin Genel Özellikleri ve Morfolojisi.....	5
2.2. Bakterilerde GSBL ve Antibiyotik Duyarlılığı.....	8
2.3. Bakterilerin Bazı Virulans Özellikleri.....	15
2.3.1. DNaz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	15
2.3.2. Jelatinaz Üretiminin Belirlenmesi.....	16
2.3.3. Dekarboksilaz Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	17
2.3.4. Hemolitik Aktivitenin Belirlenmesi.....	18
2.3.5. Biyofilm Oluşturma Özelliğinin Araştırılması.....	19
2.3.6. Ekstrasellüler Proteaz Üretiminin Belirlenmesi.....	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1. Materyal.....	23
3.2. Yöntem.....	23
3.2.1. Gram Negatif Bakterilerin İzolasyonu.....	23
3.2.2. Bakterilerin MALDI-TOF MS ile Tanımlanması.....	23
3.2.3. Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi.....	23
3.2.4. Bakterilerin Bazı Virulans Özelliklerinin Belirlenmesi.....	24
3.2.4.1. DNaz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	24
3.2.4.2. Jelatinaz Üretiminin Belirlenmesi.....	24
3.2.4.3. Bakterilerin Dekarboksilaz Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	24
3.2.4.4. Hemolitik Aktivitenin Belirlenmesi.....	25
3.2.4.5. Biyofilm Oluşturma Özelliğinin Araştırılması.....	25
3.2.4.6. Ekstrasellüler Proteaz Üretiminin Belirlenmesi.....	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	27
4.1. İzolasyon Sonuçları.....	27
4.2. Bakterilerin MALDI-TOF MS Sonuçları.....	28
4.3. Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları.....	33
4.4. Bakterilerin Bazı Virulans Özellikleri Sonuçları.....	43
4.4.1. DNaz Aktivitesi Sonuçları.....	43
4.4.2. Jelatinaz Üretim Sonuçları.....	44
4.4.3. Dekarboksilaz Aktivite Sonuçları.....	45
4.4.4. Hemolitik Aktivite Sonuçları.....	48
4.4.5. Biyofilm Oluşturma Sonuçları.....	49
4.4.6. Ekstrasellüler Proteaz Üretim Sonuçları.....	54
5. SONUÇ.....	57
6. KAYNAKLAR.....	60

7.EKLER.....	70
--------------	----



ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.3. Antibiyogram Aktivite Testi Sonucundaki Zon Görüntüleri.....	42
Şekil 4.4.1. DNaz Aktivite Değerlendirilmesinde Zon Görüntüleri.....	43
Şekil 4.4.2. Jelatinaz Üretimi Deneyinde 48 Saat Inkübasyon Süresi Sonunda +4 °C’de 1 Saat Bekletildikten Sonraki Görüntüleri.....	45
Şekil 4.4.3. Dekarboksilaz Aktivite Değerlendirilmesinde Zon Görüntüleri.....	48
Şekil 4.4.4. Hemolitik Aktivite Değerlendirilmesinde Zon Oluşumu.....	49
Şekil 4.4.5. Biyofilm Testi Sonucunda Biyofilm Oluşturan Ve Oluşturmayan İzolatlara Ait Mikroplaka Görüntüsü.....	54
Şekil 4.4.6. Ekstrasellüler Proteaz Deneyinde Oluşturdukları Zon Görüntüleri.....	56

ÇİZELGE DİZİNİ

	Sayfa
EK 1- Tablo 1. Örneklerin Alındığı Yerler ve Kodları.....	98
EK 2- Tablo 2. Antibiyogram Aktivite Testi Sonuçları.....	102
EK 3- Tablo 3. Vitek Antibiyogram Sonuçları	104
EK 4- Tablo 4. MALDI-TOF MS Sonuçları.....	107
EK 5- Tablo 5. Jelatinaz Üretimi Sonuçları	108
EK 6- Tablo 6. Dekarboksilaz Aktivite Sonuçları	109
EK 7- Tablo 7. Hemolitik Aktivite Sonuçları.....	111
EK 8- Tablo 8. Biyofilm Üretimi Sonuçları.....	112
EK 9- Tablo 9. Ekstrasellüler Proteaz Üretimi Sonuçları (mm).....	113

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMC	: Amoksisilin/klavulanik asit
CAZ	: Seftazidim
CLSI	: Klinik ve Labotaruvar Standartları Enstitüsü
CPD	: Sefpodoksim
CRO	: Seftriakson
CTX	: Sefotaksim
ÇDS	: Çift disk sinerji
EPEC	: Enteropatojenik <i>Escherichia coli</i>
EPS	: Hücre dışı polimerik maddeler
ESKAPE	: Enterobacter türleri
EUCAST	: Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi
FDA	: Gıda ve İlaç İdaresi
FEP	: Sefepim
GSBL	: Geniş spektrumlu beta laktamaz
HCl	: Hidroklorik asit
IDSA	: Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği
İYE	: İdrar yolu enfeksiyonu
KOB	: Koloni oluşturan birim
L	: Litre
LAB	: Laktik asit bakterileri
M	: Molar
MİK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MK	: Mikrobiyolojik kültür
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MHA	: Mueller Hinton agar
N	: Normalite
NaCl	: Sodyum klorür
OD	: Optik dansite
PBS	: Phosphate buffered saline

PZR	: Polimer zincir reaksiyonu
TCA	: Triklora asetik asit
TSA	: Tryptic soy agar
TSB	: Tryptic soy broth
YVD	: Yüksek verimli dizileme
VGS	: Viridans grup streptokoklar
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Burdur İli Çiğ Süt Örneklerinden Bazı Gram Negatif Bakterilerin İzolasyonu, MALDI-TOF MS ile Tanımlanması ve Bazı Virulans Özelliklerin Belirlenmesi

Hacer KAÇAR

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gülden BAŞYİĞİT KILIÇ

Eylül, 2021

Burdur ili ve ilçelerinden toplanmış olan süt örneklerinden CHROMagar™ ESBL besiyerinden 33 adet Gram negatif bakteri izole edilmiştir ve MALDI TOF-MS ile 15 adet *Stenotrophomonas maltophilia*, 5'er adet *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, 3 adet *Klebsiella oxytoca*, 2 adet *Chryseobacterium gleum* ve 1'er adet *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alvei*, *Acinetobacter baumannii* tanımlanmıştır. Disk difüzyon yönteminde tüm antibiyotikler genel olarak değerlendirildiğinde en duyarlı suşun *H. alvei* YH102A olduğu belirlenmiştir. *H. alvei* YH102A suşu seftazidim (30 µg), sefpodaksim (10 µg), sefotaksim (30 µg), sefepim (30 µg) ve sefepim (5 µg) antibiyotiklerine duyarlı bulunmuştur. VITEK® 2 Compact sistemi ile en fazla direnç seftiofur antibiyotiğinde, en fazla duyarlılık ise trimetoprim/SMZ antibiyotiğinde tespit edilmiştir. Çalışmamızda *E. coli* YH131A suşunun en yüksek antibiyotik direnç profiline sahip olduğu, çalışmada kullanılan 16 antibiyotiğin 13'üne dirençli iken, sadece amoksisilin/klavulanik asit, tikarsilin/klavulanik asit ve imipenem antibiyotiklerine duyarlı olduğu belirlenmiştir. Virulans özelliklerin belirlenmesi amacıyla yapılan analizler sonucunda incelenen tüm suşlarda DNaz aktivitesi belirlenmemiştir. *S. maltophilia* (YH6A, YH100, YH101, YH103, YH129D), *E. coli* (YH131A, YH140B), *C. gleum* YH67B ve *A. baumannii* YH138B suşlarının jelatinaz üretimi pozitif bulunmuştur. Suşlarda histidin, ornitin ve lizin aminoasitlerinde dekarboksilaz aktivite belirlenmezken, suşların en fazla triptofan aminoasidini dekarboksile ettiği belirlenmiştir. *P. aeruginosa* (YH27C, YH152B, YH138A, YH148A), *S. maltophilia* (YH101, YH103, YH113, YH135B) ve *E. cloacae* YH27A suşları beta hemoliz, *S. maltophilia* YH64 suşu ise alfa hemoliz özellik göstermiştir. *S. maltophilia* (YH12A, YH94A, YH97B, YH99, YH129D), *E. coli* (YH126A, YH131A), *K. oxytoca* YH98B, *H. alvei* YH102A zayıf alfa hemoliz gösterirken diğer suşlarda hemoliz oluşmamıştır. *S. maltophilia* YH6A ve *P. aeruginosa* YH27C suşlarının 0,64 değeri ile güçlü biyofilm üreticisi olduğu, diğer suşların ise 0,15 ile 0,38 arasında zayıf biyofilm üreticisi oldukları tespit edilmiştir. Ekstraselüler proteaz üretimi deneyinde; 17 suşun kazein, süt ve skim milk agarda zon oluşturduğu, her üç besiyerinde de zon oluşturmayan tek suşun *E. coli* YH140B olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: GSBL, gram negatif bakteri, *Enterobacteriaceae*

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından **0612-YL-19** proje numarası ile desteklenmiştir



SUMMARY

M. Sc. Thesis

Isolation of Gram Negative Bacteria from Raw Milk Samples in Burdur Province, Identification by MALDI-TOF MS and Determination of Some Virulence Characteristics

Hacer KAÇAR

Burdur Mehmet Akif Ersoy University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Food Engineering Main Science

Supervisor: Prof. Dr. Gül den BAŞYİĞİT KILIÇ
September, 2021

33 Gram-negative bacteria were isolated from CHROMagar™ ESBL broth from milk samples collected from Burdur province and its districts. Out of 33 bacteria, 15 *Stenotrophomonas maltophilia*, 5 *Pseudomonas aeruginosa*, 5 *Escherichia coli*, 3 *Klebsiella oxytoca*, 2 *Chryseobacterium gleum*, 1 *Enterobacter cloacae* 1 *Hafnia alvei* and *Acinetobacter baumannii* were identified by MALDI TOF-MS. When all antibiotics were evaluated in the disk diffusion method, it was determined that the most sensitive strain was *H. alvei* YH102A. *H. alvei* YH102A strain was found to be sensitive to ceftazidime (30 µg), cefpodaxime (10 µg), cefotaxime (30 µg), cefepime (30 µg) and cefepime (5 µg) antibiotics. With the VITEK® 2 Compact system, the highest resistance was detected in the ceftiofur antibiotic, and the highest sensitivity was detected in the trimethoprim/SMZ antibiotic. In our study, it was determined that *E. coli* YH131A strain had the highest antibiotic resistance profile, while it was resistant to 13 of the 16 antibiotics used in the study, it was sensitive only to amoxicillin/calvulanic acid, ticarcillin/clavulanic acid and imipenem antibiotics. As a result of the analysis carried out to determine virulence characteristics, DNase activity was not determined in all strains examined. *S. maltophilia* (YH6A, YH100, YH101, YH103, YH129D), *E. coli* (YH131A, YH140B), *C. gleum* YH67B and *A. baumannii* YH138B strains were found to be positive for gelatinase production. While decarboxylase activity was not determined in histidine, ornithine and lysine amino acids of the strains, the most decarboxylated amino acid by the strains was determined as tryptophan. *P. aeruginosa* (YH27C, YH152B, YH138A, YH148A), *S. maltophilia* (YH101, YH103, YH113, YH135B) and *E. cloacae* YH27A strains showed beta hemolysis. Eventhough *S. maltophilia* YH64 strain showed alpha hemolysis. *S. maltophilia* (YH12A, YH94A, YH97B, YH99, YH129D), *E. coli* (YH126A, YH131A), *K. oxytoca* YH98B, *H. alvei* YH102A showed weak alpha hemolysis, other strains did not show hemolysis. *S. maltophilia* YH6A and *P. aeruginosa* YH27C strains were found to be strong biofilm producers with a value of 0.64, while other strains were found to be weak biofilm producers between 0.15 and 0.38. In the experiment of extracellular protease production; It was determined that 17 strains formed a zone in casein, milk and skim milk agar, and *E. coli* YH140B was the only strain that did not form a zone in all three media.

Keywords: ESBL, gram negative bacteria, Enterobacteriaceae

The present M.Sc. / Ph. D. Thesis was supported by Coordinator of Scientific Research Projects (No: **0612-YL-19**), Mehmet Akif Ersoy University



1. GİRİŞ

Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL)'lar plazmid aracılığı ile taşınan enzimlerdir. Laktamaz üretimi Gram negatif bakterilerin laktam antibiyotiklere direncinde rol oynayan en önemli mekanizmadır (Thomson vd.,1990; Philippon vd., 1994). Bu laktamazların çoğu, TEM-1, TEM-2 ve SHV tipi laktamazlardan enzimin aktif bölgesinde bulunan 1-4 anahtar aminoasidin değişikliği ile oluşmaktadır (Jacoby ve Medeiros, 1991). GSBL; penisilinler, sefalosporinler ve aztreonam, sefotaksim, seftazidim gibi oksimino laktamları içeren geniş spektrumlu laktam antibiyotikleri hidroliz ederler. GSBL'ler sefamisin, metoksiminosefalosporinler ve karbapenemleri etkilemezler, ancak klavulanik asit ve diğer laktamaz inhibitörleri ile inaktive olurlar (Jacoby ve Medeiros,1991; Philippon vd.,1994).

GSBL'ler ilk olarak 1984'de bir *Klebsiella* suşunda tanımlanmıştır (Jacoby ve Medeiros, 1991). Bunu *Escherichia coli* izlemiş ve daha sonra ise *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii* ve *Enterobacter aerogenes* suşlarının da bu enzimleri sentezlediği, ancak insidanslarının daha düşük olduğu belirlenmiştir (Akova, 1999). GSBL antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılmaya başlanmasından kısa bir süre sonra bu ajanlara karşı direnç geliştiği görülmüştür. *Klebsiella pneumoniae* en çok GSBL üreten bakteri olarak bilinmekle birlikte zamanla diğer enterik bakterilerde de GSBL enzimi varlığını tespit edilmiştir (Gür, 1997). Son yıllarda enterik Gram negatif mikroorganizmalar arasında giderek artan antimikrobiyal direnç nedeniyle tedavide sorun yaşanmaktadır. GSBL üreten çoklu ilaca dirençli *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarına bağlı enfeksiyonlar giderek artmaktadır (Mody vd., 2007). *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında GSBL aktivitesindeki artış; klinikte tedavi seçeneklerini kısıtlamakta, mortalite ve morbiditeye neden olmakta, hastanede yatış süresini ve maliyeti artırmaktadır (Lautenbach vd., 2001). *Klebsiella* suşlarında Kuzey Amerika'da %4,2-4,4, Güney Amerika'da %40-47, Uzak Doğu'da %11-51, Avrupa'nın kuzey ülkelerinde %1-5, Doğu Avrupa ülkelerinde %39-47, Türkiye'de %60'a varan oranlar; *E. coli* suşlarında ise Kuzey Amerika'da %3,3-4,7, Güney Amerika'da %6,7-25,4, Uzak Doğu'da %7,9-23,6, Avrupa'da %5,3, Türkiye'de %13-36 gibi oranlarda GSBL üretimi bildirilmektedir (Stürenburg vd., 2003; Akova, 2004; Aktaş, 2004; Mesa vd., 2006; Marrissey vd., 2014).

GSBL enzimleri insanlarla temas halinde olan ev hayvanlarından, çiftlik hayvanlarından ve yaşadıkları ortamlardan da sıklıkla izole edilmiştir (Briñas vd., 2005;

Kojima, 2005; Blanc vd., 2006; Hammerum ve Heuer, 2009; Locatelli vd., 2009). Hayvanlarda bulunabilen bu tip mikroorganizmalar hayvan sahipleri, çiftlik çalışanları ve hayvansal gıda tüketenler için tehdit oluşturmaktadırlar (Blanc vd., 2006, Hammerum ve Heuer, 2009). Beta-laktamaz üreten bakteriler, GSBL başta olmak üzere farklı gruptan antibiyotiklere de direnç göstermektedirler. Bu nedenle bakterilerin GSBL aktivitelerinin ve antibiyotik direnç profillerinin araştırılması, enfeksiyonların etkin antibiyotiklerle hızlı bir şekilde tedavisi açısından önemlidir (Blanc vd., 2006).

Beta-laktamaz sentezi enterik Gram negatif bakteriler için en önemli antibiyotik direnç mekanizmasıdır. Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki siklik amid bağını parçalayarak etki gösterirler. Beta-laktamaz genleri, bakteride kromozom kontrolünde veya plazmid ya da transpozonlarda yerleşmiş genler üzerinde kodlanmaktadır (Roy vd., 1983).

Süt ve süt ürünleri; çeşitli mikroorganizmaları barındırabilir ve gıda kaynaklı patojenlerin önemli kaynaklarını oluştururlar. Sütte gıda kaynaklı patojenlerin varlığı, çiftlik ortamındaki kontamine kaynaklarla doğrudan temastan ve enfekte bir hayvanın memesindeki salgılardan kaynaklanmaktadır. Sütte gıda kaynaklı patojenlerin prevalansı, çiftliğin büyüklüğü, çiftlikteki hayvan sayısı, hijyen, çiftlik yönetim uygulamaları, numune alma yöntemleri ve değerlendirilen numune türleri, kullanılan tespit metodolojilerindeki farklılıklar, coğrafi konum ve mevsim gibi çok sayıda faktörden etkilenir. Yapılan tüm araştırmalar sütün, insan sağlığı açısından önemli olan gıda kaynaklı patojenlerin ana kaynağı olabileceğini oldukça açık bir şekilde göstermiştir (Saltık, 2019).

Hastane ortamlarında üçüncü kuşak sefalosporinlerin yaygın kullanımı nedeniyle GSBL'ler giderek yaygınlaşmaktadır (Bradford, 2001). GSBL üreticileri, genellikle β -laktamaz inhibitörleri tarafından inaktive edilen augmentin (amoksisilin ve klavulanik asit), seftazidim ve sefotaksim gibi bir oksiminino grubu içeren β -laktam antibiyotikleri hidrolize etme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, antibiyotiklerin organizmalar üzerindeki bakterisidal etkisi önemli değildir; çünkü *Enterobacteriaceae* familyası özellikle, GSBL'ler çeşitli hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Quale vd., 2002).

GSBL enzimleri kromozomal ve bakteriler arasında aktarılabilen plazmidler üzerinde kodlanmaktadır (Abbott, 2007). GSBL'lerin TEM, SHV, CTX-M, OXA, PER, GES gibi çeşitli türleri bulunmaktadır ve günümüzde 250'den fazla GSBL enzimi tanımlanmıştır (Bush vd., 2015). CLSI (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü) ve EUCAST (Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi)'in yenilenen dökümanlarında GSBL varlığının araştırılması rutin olarak önerilmesede, halen enfeksiyon kontrolü amacı ile ve epidemiyolojik çalışmalarda araştırılması önerilmektedir (EUCAST,

2013; CLSI, 2014). GSBL tespiti için standart testler, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından geliştirilmiştir (Crowley ve Ratcliffe, 2003).

Süt ve çeşitli süt ürünleri tüketicilerde enfeksiyonlara neden olan çok sayıda mikroorganizmanın gelişmesi için mükemmel bir ortamdır (Oliver vd., 2005). Spesifik üretim nedeniyle sütün mikroorganizmalarla kontaminasyonunu önlemek mümkün değildir, bu nedenle sütün mikrobiyal içeriği kalitesini belirlemede önemli bir özelliktir (Torkar ve Teger., 2008). Çiğ sütte gıda kaynaklı patojenlerin varlığı, zararlı toksinlerin alınmasını ve bulaşma tehdidini artırabilir (Srinu vd., 2012).

Çiftliklerdeki hayvan sayısının artması, hem hayvanlar arasında hem de bakteri türleri arasında dirençli genlerin transferi için elverişli bir ortam sağlamaktadır. Sığır, süt ve çiftlik ortamının, insanda, hayvanlarda ve çevrede GSBL genlerinin yayılmasında önemli olduğu belirtilmiştir (Kamaruzzaman vd., 2020).

Çiftliklerin teknik tavsiyeleri izleyerek sağım rutini gerçekleştirmesi önemlidir. İyi sağım uygulamalarının izlenmemesi; daha fazla mastitis vakasına ve bu durum da daha da fazla antibiyotik kullanımına neden olacaktır (Oliver ve Murinda, 2012).

Hastanede yatan insanlardan izole edilen GSBL üreten *Enterobacteriaceae* 'nın ilk kez tanımlanmasından bu yana (Knothe vd., 1983), birçok hastane kaynaklı salgın rapor edilmiştir. Daha yakın zamanlarda, raporlar ayrıca, Avrupa (Meunier vd., 2006; Cortés vd., 2010) ve Asya'daki (Duan vd., 2006; Tian vd., 2009) çeşitli ülkelerde sağlıklı gıda üreten hayvanlarda veya et, balık ve çiğ süt gibi gıda ürünlerinde GSBL üreten *E. coli*'nin yayılmasıyla ilgili endişeleri de dile getirmiştir (Jouini vd., 2007; Hammad vd., 2008). Wittum vd. (2010) ve Doi vd. (2010) ilk kez ABD'de sağlıklı süt sığırlarında ve perakende etlerde GSBL üreticilerini tanımlamışlardır.

Son yıllarda mikroorganizmaların tanımlanmasında ve işlevlerinin belirlenmesinde genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik alanlarda yapılan çalışmalar artış göstermektedir (Cerit vd., 2021) Metagenomik, çevresel bir örnekte bulunan tüm genomların doğrudan izole edilerek genetik analizinin gerçekleştirilmesi olarak tanımlanabilir. Genetik materyalin dizilenmesiyle gerçekleştirilen metagenomik analizlerde yeni nesil sekanslama yöntemleri kullanılmaktadır. Kültüromik ise seçici besiyerlerinde farklı ortam şartlarında geliştirilen ve saf kültür olarak elde edilen izolatların Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) ile tanımlanmasına olanak sağlayan bir yaklaşımdır (Escobar-Zepeda, 2015). Gıda kaynaklı patojen bakterilerin hızlı bir şekilde identifikasyonlarının gerçekleşmesi kaliteli ve güvenli ürün elde edilebilmesi için büyük önem arz etmektedir.

Bu nedenle bakteriyel tehlikelere karşı erken tanıda MALDI-TOF MS yönteminin kullanımının daha hızlı ve faydalı olduğu görülmüştür (Singhal vd., 2015).

GSBL aktivitesine sahip izolatlarda virulans özelliklerin belirlenmesi önemlidir. Tamamlanan bu tez çalışmasında Burdur ili ve çevresinden toplanan 152 adet süt örneklerinden GSBL aktivitesi olabilecek Gram negatif bakterilerin izolasyonu yapılmış, izole edilen bakterilerin antibiyotik direnci VITEK 2 Compact (bioMérieux) sistemi ile belirlenmiş, bu bakterilerin MALDI-TOF MS ile tanımlanması yapıldıktan sonra bakterilerin DNaz (deoksiribonükleazlar), dekarboksilaz, hemolitik aktiviteleri, jelatinaz ve ekstrasellüler proteaz üretimi ve biyofilm oluşturma özelliklerini kapsayan virulans özellikleri araştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Enterobacteriaceae* Ailesinin Genel Özellikleri ve Morfolojisi

Enterobacteriaceae familyası üyeleri insan ve hayvan bağırsak mikroflorasının doğal üyeleri olan; çoğunlukla Gram negatif, çomak, sporsuz, glukoz ve diğer şekerleri fermente eden, fakültatif anaerob, nitratı nitrite indirgeyen, katalaz pozitif ve oksidaz negatif bakterilerdir (Paterson ve Bonomo, 2005).

Enterobacteriaceae'nın *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Kluyvera* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. ve *Escherichia coli* gibi türleri bulunmaktadır (Torlak, 2011). Bu bakterilerin fırsatçı ve patojen olanları sepsis, üriner sistem enfeksiyonları, pnömoni, kolesistit, kolanjit, peritonit, yara enfeksiyonları, menenjit, gastroenterit gibi birçok ciddi enfeksiyona sebep olmaktadır (Tham vd., 2012).

Gram negatif bakterilerden *Enterobacteriaceae* ailesi idrar yolu (İYE), kan dolaşımı enfeksiyonları, hastane ve sağlık bakımıyla ilişkili pnömoniler ve çeşitli karın içi enfeksiyonların enfeksiyonların önemli nedenleridir. Bu aile içinden *E. coli* İYE'lerinin sık nedeni iken, *Klebsiella* spp. ve *Enterobacter* spp. pnömoninin önemli nedenleridir. Ayrıca tüm *Enterobacteriaceae* türleri kan dolaşımı enfeksiyonları, peritonit, kolanjit ve diğer karın içi enfeksiyonlarının başlıca nedenleridir. Ek olarak, *Salmonella* gibi organizmalar gastroenterit üretir ve bazı hastalarda invazif enfeksiyona neden olurlar. *Enterobacteriaceae* türlerinde ortaya çıkan direnç ve özellikle GSBL üretimi ile ilgili direnç acil müdahale gerektiren önemli bir sorundur (Paterson, 2006).

Enterobacteriaceae, süt ürünleri tesisinin üretim zincirine girebilir ve proteinlerin veya lipidlerin enzimatik parçalanmasına neden olarak, önemli ekonomik kayıplara ve israfa sebep olabilir. Ayrıca, bazı *Enterobacteriaceae* türleri, plazmitler, transpozonlar ve bakteriyofaj gibi hareketli genetik elementler üzerinde taşınan virulans ve antibiyotik direnç faktörlerinin kazanılmasından dolayı potansiyel fırsatçı patojenler olarak bilinmektedir (Baylis vd., 2011). Antibakteriyellerin etkilerinden kaçabilen mikroorganizmaları tanımlamak için ESKAPE (*Enterobacter* türleri) olarak adlandırılan dirençli mikroorganizmalar grubu literatüre girmiştir (Giamarellou ve Poulakou, 2009).

Çiğ süt; mastitis süreçleri sırasında, doğrudan hayvan dışkısı yoluyla veya dolaylı olarak sağım sırasında sağım yapan kişi veya makineler yoluyla *Enterobacteriaceae* ile meme içinde kontamine olabilir (Dahmen vd., 2013).

Klebsiella sp. toprak örneklerinden ve çeşitli kaynaklardan izole edilmiştir (Jalasutram vd., 2011). *Stenotrophomonas* sp. cinsinin ana kaynağı toprak ve bitkilerdir

(Ryan vd., 2009), bu bakteriler aynı zamanda çeşitli atık su arıtma tesislerinden ve atık sularından da izole edilmiştir (Verma vd, 2010). *Klebsiella* esas olarak klinik mastitise neden olan meme içi enfeksiyonların en sık nedenlerinden biri olan Gram negatif bir bakteridir (Oliveira vd., 2013) Klinik mastitis vakalarından en çok izole edilen *Klebsiella* türleri: *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'dır. Her iki tür de çiftlik ortamı, ineğin vücut bölgeleri ve sürüntü meme ucunda sıklıkla tespit edilmiştir (Munoz vd., 2008; Zadoks vd., 2011; Rowbotham ve Ruegg, 2016).

İnsanlarda, *Klebsiella* yara, idrar yolu dahil olmak üzere Gram negatif enfeksiyonlar ve hastane kaynaklı enfeksiyon vakalarının üçte birine sebep olmaktadır (Navon-Venezia vd., 2017). *K. pneumoniae* genellikle karaciğer absesi gibi toplum kökenli enfeksiyonlar, menenjit veya endoftalmiye sebep olur (Ko vd., 2002). *Klebsiella* spp. GSBL gibi enzimleri kolaylıkla üretebilen ve ciltte diğer Gram negatif çubuklardan daha uzun süre hayatta kalma yeteneğine sahip olan mikroorganizmalar olarak tanımlanır (Livermore, 1995). *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* sıklıkla evcil hayvanlardan izole edilmektedir (El-Naker vd., 2015). *K. oxytoca* genellikle kapsüllüdür ve laboratuvar ortamında büyük, grimsi beyaz, mukoid koloniler oluştururlar. *K. pneumoniae* ile çok yakından ilişkilidir, ancak indol pozitif olması ve farklı gelişme özelliklerine sahip olması ile farklılaşmışlardır. Melezitozda gelişebilirken, 3-hidroksibutiratta gelişemezler. *K. oxytoca*, ilaçlara dirençli ve bronkopnömoni, kolit ve sepsis gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olabilen bakteri türüdür (Singh vd., 2016). *K. oxytoca*, insanda idrar yolu enfeksiyonu ve septisemiye neden olmasının ve yoğun bakım ünitelerindeki bağışıklığı baskılanmış ve güçten düşmüş hastalarda önemli bir patojen olmasının yanı sıra, ciddi antibiyotik ve nonsteroid antiinflatuvar ilaçlarla ilişkili hemorajik kolite neden olabilir (Högenauer vd., 2006; Singh vd., 2016; Youn, vd., 2018).

Eski adı *Flavobacterium* olan *Chryseobacterium* cinsi, Gram negatif, fermentatif özelliği olmayan, katalaz pozitif ve indol pozitif aerobik basillerdir. Birçoğu, tipik olarak çeşitli sarı tonları olan pigmentli koloniler üretir. Çoğu patojenik olmayan çevresel izolatlar olan ve genellikle nemli ortamlarla ilişkilendirilen yaklaşık 80 *Chryseobacterium* türü vardır. *Chryseobacterium indologenes* ve *C. gleum* insan patojenleridir (Winn vd, 2006). *Chryseobacterium* toprakta, suda, bitkilerde ve gıda ürünlerinde bulunur ve hastane ortamlarında, klorlu sularda ve ıslak yüzeylerde hayatta kalabilir ve bunların tümü potansiyel enfeksiyon kaynağı olarak değerlendirilebilir. Biyofilm ve proteaz üretiminin *Elizabethkingia meningoseptica* (*Chryseobacterium meningosepticum*) ve *C.*

indologenes'in virölansında rol oynayan önemli mekanizmalar olsada, *Chryseobacterium* üyelerinin virulans faktörleri hakkında çok az şey bilinmektedir (Hsueh vd., 1996).

Acinetobacter baumannii, başta pnömoni olmak üzere toplum kökenli ve hastane enfeksiyonları ile ilişkili yaşamı tehdit eden bir patojen olarak kabul edilir. *Acinetobacter* türleri üzerinde yapılan çalışmalar 1911 yılında bir toprak örneğinden izole edilmesi ve *Micrococcus calcoaceticus* (Henriksen, 1973) olarak adlandırılması ile başlamıştır. *Acinetobacter* cinsi 1971'de taksonomistler tarafından paylaşılan biyokimyasal özelliklere dayalı olarak resmen tanınmıştır (Henriksen, 1973; Elhosseiny ve Attia, 2018). Bu cinsin adı, kokobasil morfolojisi ve kayma hareketliliği sergilemelerine rağmen, hareketsiz çubuk anlamına gelen Yunanca a-kinetos-bacter kelimesinden gelmektedir. Bu bakteriler Gram negatif, aerobik, fermentatif olmayan, oksidaz negatif, katalaz pozitif ve pigmentsiz veya soluk sarıdan griye dönen pigmentlidir (Wong vd., 2017).

P. aeruginosa, çevrede yaygın olarak bulunan Gram negatif fırsatçı bir patojendir. *P. aeruginosa*, risk altındaki hastalarda akut ve kronik enfeksiyonlara neden olabilir ve özellikle hastane ortamlarında insan sağlığı için büyük bir endişe kaynağıdır. *P. aeruginosa*'nın neden olduğu enfeksiyonlar keratitten bakteriyemiye kadar uzanır (Hilliam vd., 2020). *P. aeruginosa*'nın kronik enfeksiyonlarının neden olduğu epitel mukozasının iltihaplanması ve hasarı, diğer bakterilerin, özellikle *S. maltophilia*'nın gelişimini teşvik edebilir (De Vidipo vd., 2001).

Pseudomonas, sütteki baskın psikrotrofik bakteriler olarak tanımlanmıştır ve bu sebeple endüstrisindeki en önemli bakteri gruplarından birisidir (Wiedmann vd., 2000; Marchand vd., 2009). Virulans faktörleri *P. aeruginosa* kromozomunda yer alan virulans genleri tarafından kodlanır ve hastalıklara neden olan moleküllerdir (Neamah vd., 2017). *P. aeruginosa*, yüksek genetik plastisitesi ve çeşitli ortamlara uyum sağlama potansiyeli ile karakterize edilen bir bakteridir. Türler sıklıkla topraktan, sudan, bitkilerden, böceklerden, hayvanlardan ve insanlardan izole edilir. Bu bakteri gıda zehirlenmesine neden olabilir. Birçok virulans faktöre sahiptir ve süt sığırlarında mastitisin ana nedeni olarak kabul edilir (Edit vd., 2016; Fadhil vd., 2016; Streeter ve Katouli, 2016).

Pseudomonas, *Pseudomonadaceae* familyasından Gram negatif, aerobik bir çubuk bakteridir. Yaklaşık 200 tanımlanmış *Pseudomonas* türü vardır. Süt fabrikalarında bulunan bu bakterinin en yaygın ailesi, en az 52 türden oluşan *Pseudomonas fluorescens* grubudur. Aerobik ve psikrotrofik bir bakteridir Bununla birlikte, *P. aeruginosa*, çok daha nadir olmakla birlikte, süt işletmelerinde de bulunmuştur. *P. aeruginosa* fırsatçı bir patojendir,

mevcut bir immün yetmezliği olanlar bu patojenden etkilenebilir (Johnson ve Sommer, 2020).

Önceden *Pseudomonas maltophilia* veya *Xanthomonas maltophilia* olarak bilinen *S. maltophilia*, günümüzde dünya çapında hastanede yatan veya bağışıklığı baskılanmış hastalarda *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'den sonra önemli bir fırsatçı patojen haline gelmiştir (Wang vd., 2016; Moriceau vd., 2020). *S. maltophilia* abiyotik yüzeylere, konak dokulara ve biyofilm yapılarına yapışma yeteneğine sahiptir (Pompilio vd., 2010; Ghasemi vd., 2018). *S. maltophilia*'nın biyofilm oluşturma özelliği giderek önemli bir virülans faktörü olarak kabul edilmektedir ve hastane ortamlarında *S. maltophilia* enfeksiyonlarının tespit edilmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Fouhy vd., 2007; Pompilio vd., 2010; Madi vd., 2016).

S. maltophilia, hastane enfeksiyonlarından sorumlu Gram negatif fırsatçı bir patojendir (Fihman vd., 2012). *S. maltophilia*'nın patojenitesine katkıda bulunabilecek birçok virülans faktörü bildirilmiştir (Trifonova ve Strateva, 2019). *S. maltophilia*, aminoglikozitlere ve tetrasiklinlere doğal olarak dirençlidir (Trifonova ve Strateva, 2019). Çoğu *S. maltophilia* suşu, çeşitli biyotik ve abiyotik yüzeylerde biyofilmler oluşturur ve bu bakterinin patojenitesine büyük ölçüde katkıda bulunur (Alcaraz vd., 2019; Pompilio vd., 2020).

Yapılan literatür taramasında özellikle *K. oxytoca*, *A. baumannii*, *C. gleum* ve *S. maltophilia* türlerinin süt ve süt ürünlerinde araştırıldığı sınırlı çalışmaya ulaşılmış, bu sebeple bu türler klinik izolatlardan örnekler verilerek tartışılmıştır.

2.2.Bakterilerde GSBL ve Antibiyotik Duyarlılığı

GSBL'ler üçüncü kuşak oksiminino-sefalosporinleri ve monobaktamları (aztreonam) hidrolize ederek, bakterinin bu antibiyotiklere karşı dirençli olmasını sağlarlar ve klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe olurlar. GSBL üreten bakteriler sefamisinlere (sefoksitin) ve karbapenemlere duyarlıdırlar (MacKenzie vd., 2002). Beta-laktamazlar, penisilinler, sefalosporinler ve monobaktamlar dahil olmak üzere beta-laktam antibiyotikleri inaktive eden en yaygın antibiyotik direnç mekanizmasıdır (Falagas ve Karageorgopoulos, 2009; Shashwati vd., 2014).

Gram negatif bakterilerin en önemli direnç mekanizmalarından biri, β -laktam halkalarını hidrolize ederek β -laktam antibiyotiklere direnç kazandıran β -laktamazlardır (Gazin vd., 2012). Pek çok farklı β -laktamaz arasında, GSBL'ler en büyük enzim grubunu oluşturur (Gazin vd., 2012) ve üçüncü kuşak sefalosporinler ve monobaktamlar dahil

olmak üzere daha yeni β -laktam antibiyotiklere karşı dirence neden olurken sefamisinler ve karbapenemlere karşı dirençli değildirler (Bradford, 2001; Pitout ve Laupland, 2008).

Plazmid kaynaklı beta-laktamazlar, başlangıçta penisilin ve birinci kuşak sefalosporinleri hidrolize edebilen enzimler iken, sonraları bu enzimleri kodlayan genlerde ortaya çıkan mutasyonlar sonucu GSBL adı verilen, üçüncü kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize edebilen yeni beta-laktamazlar olarak tanımlanmıştır (Sirot, 1995). CTX-M grubu GSBL'ler substrat olarak sefotaksimi tercih etmektedir (Jacoby ve Bush, 2012).

Kromozomal veya plazmidik genler, genellikle diğer antibiyotik gruplarına direnç için ek genler taşıyan ve dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlara yönelik tedavilerin etkinliğini tehlikeye atan mobil genetik elemanlar aracılığıyla bakteriler arasında kolayca aktarılabilir (Smet vd., 2010).

En büyük endişelerden biri, üçüncü kuşak sefalosporinler ve monobaktamlar gibi çok çeşitli beta-laktam antibiyotiklerin etkinliğini azaltan GSBL'ler üreten dirençli bakterilerin hızla artmasıdır (Bush, 2010).

Günümüzde, GSBL üreten bakterilerin artması; antimikrobiyal sınıfların çoğuna karşı direnç oluşturması ve tedaviyi zorlaştırması nedeniyle küresel bir endişe haline gelmiştir. Uygun bir tedavi seçeneği elde etmek için, GSBL üreten yaygın türlerin yanı sıra antibiyotik duyarlılık modellerinin tanımlanması dünya çapında önemlidir. Bakteriler arasında artan antibiyotik direnci ve GSBL üreten izolatların yüksek dağılımı nedeniyle, bu enzimi üreten yaygın türlerin yanı sıra antibiyotik duyarlılık profillerinin tanınması, her topluluğun en etkili tedavi seçeneklerini seçmesi için gereklidir (JavadGharavi vd., 2021). GSBL'ler çoğunlukla Gram negatif basiller, özellikle *Enterobacteriaceae* familyası tarafından üretilir (Ye vd., 2018).

GSBL saptanması amacıyla tarama ve doğrulama testleri önerilmektedir. Tarama testi olarak sefotaksim, seftriakson, seftazidim, sefpodoksim ile disk difüzyon testiyle inhibisyon çapı veya agar/broth dilüsyon yöntemi ile minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) saptanır (Genç ve Dündar, 2015).

GSBL grup beta-laktamazlar, oksimino sefalosporinlere (sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim ve sefepim) ve monobaktamlara (aztreonam) direnç gösterirken, sefamisinler (sefoksitin, sefotetan) veya karbapenemlerde direnç göstermezler (Rice, 2009). GSBL'ler üçüncü kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize edebilirken klavulanik asit tarafından inhibe edilirler (Philippon vd., 1989). Sefalosporin (sadece seftazidim veya sefepim), aminoglikozid, florokinolon, karbapenem ve piperasiline

dirençli mikroorganizmalar çoklu ilaç direnci olan mikroorganizmalardır (Giamarellou ve Poulakou, 2009).

GSBL ve AmpC β -laktamazların ikisi de üçüncü kuşak sefalosporinlere, penisilinlere ve monobaktamlara direnç gösterebilirler. Bu iki enzim grubu çok farklıdır ve temel olarak klavulanik asit gibi β -laktam bölgeye özgü inhibitörlere karşı farklı duyarlılıklara sahiptirler. Sefepim gibi dördüncü kuşak sefalosporinlere ve sefoksitin gibi sefamisinlere karşı aktivite farklılıkları ile ayırt edilebilirler (CLSI, 2013a).

CLSI, sıvı mikrodilüsyon testi ile sefotaksim, seftazidim, seftriakson, aztreonamın Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerleri ≥ 2 $\mu\text{g/mL}$, sefpodoksimin MİK değeri ise ≥ 8 $\mu\text{g/mL}$ olarak saptandığında; ya da disk difüzyon testinde seftazidim inhibisyon zon çapının ≥ 22 mm, sefpodoksim zon çapının ≥ 17 mm, aztreonam ve sefotaksim zon çaplarının ≥ 27 mm; seftriakson zon çapının ≥ 25 mm olduğu durumlarda GSBL varlığı için doğrulama testi yapılmasını önermektedir. Fenotipik doğrulama yöntemlerden hiç birisi Gram negatif bakterilerde GSBL yönünden %100 duyarlı ve özgül değildir (CLSI, 2009).

Genellikle, GSBL'ler mikrobiyoloji laboratuvarında sefalosporin hidrolizinin klavulanik asit tarafından inhibisyonuna dayanan fenotipik testler ile kolaylıkla tanımlanabilir (Paterson ve Bonomo, 2005) Bununla birlikte, inhibitöre dirençli beta-laktamazların birlikte ortaya çıkması, bu tahlillerin doğruluğunu büyük ölçüde azaltır ve bu plazmit kodlu ampC beta-laktamaz genleri GSBL genine ek olarak mevcut olduğunda ortaya çıkar (Robberts vd., 2009).

GSBL enzimini salgılayan bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların görülme sıklığı tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de gittikçe artmaktadır (Sönmez vd., 2018). GSBL pozitif enterik Gram negatif bakteriyemiler sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonlar iken, toplum kökenli bakteriyemilerin de önde gelen etkenleri arasındadırlar (Chiu vd., 2015).

GSBL üreten *Enterobacteriaceae* suşlarının zamanında tanımlanması, antimikrobiyal direnç gelişiminin izlenmesinde ve halk sağlığının korunması için enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanmasında esastır (WHO, 2001). GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'nin besin zincirine ve çevreye girişi, insanlar ve hayvanlar arasındaki direnç genlerinin değişimi için olası bir ara yüz olarak düşünülmektedir (WHO, 2001; Walsh ve Fanning, 2008; EFSA, 2011).

E. cloacae, kromozomal β -laktamazlarını yüksek derecede üreten ve daha az sıklıkla GSBL üreten mutantları içeren çeşitli salgınlarla ilişkilendirilen hastane

enfeksiyonlarının bir nedeni olarak kabul edilmektedir (Iabadene vd., 2008). *E. cloacae*'de, genişletilmiş spektrumlu sefalosporin direncinin en önemli mekanizması, kromozomal AmpC-laktamaz üretiminin aşırı olmasıdır (Kaneko vd., 2005).

Bogner vd. (2016) çalışmalarında *Enterobacteriaceae*'nin GSBL pozitif izolatlarında beta-laktam genlerini tanımlamayı amaçlamışlardır. 2005 ve 2009 yılları arasında, Münih Teknik Üniversitesi'nde rutin mikrobiyoloji örneklerinden GSBL pozitif *Enterobacteriaceae* suşlarını toplamışlardır. Suşlar TEM, SHV, CTX- M ve ampC beta-laktamaz genlerinin varlığı açısından PZR ile analiz edilmiştir. Analiz edilen 767 suş arasında 448 *E. coli*, 245 *K. pneumonia*, 21 *K. oxytoca* ve 53 *E. cloacae* suşu tespit edilmiştir. İncelenen suşların sadece %10'u ampC genleri için pozitif çıkmıştır. *E. coli* ve *K. pneumonia*'nın birkaç alt grubu ampC genlerini barındırırken, *E. cloacae* ve *K. oxytoca*'da sadece EBC ampC genleri tespit edilmiştir.

Özpınar vd. (2017) çalışmalarında tavuk eti, çiğ süt ve açık taze peynir örneklerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarında GSBL- ve/veya AmpC- tipi beta-laktamazların varlıklarının incelenmesini amaçlamışlardır. İzolatlarda *Enterobacteriaceae* dağılımının %68,8 *E. coli*, %8,8 *K. pneumoniae*, %7,5 *E. cloacae*, %6,2 *Citrobacter* spp., %6,2 *H. alvei* ve %2,5 *K. oxytoca* olduğu tespit edilmiştir. İnceleme sonucunda 75 adet izolatta GSBL-, 10 adet izolatta GSBL- ve AmpC- kombinasyonu ve beş adet izolatta AmpC- tipi enzimler karakterize edilmiştir.

Kamaruzzaman vd. (2020), çalışmalarında süt sığırları, süt ve çiftlik ortamında GSBL üreten *E. coli*'nin varlığını ve özelliklerini araştırmışlardır. İzolatların %66,7'si süttten, %27,8'i çiftlik ortamından ve %5,5'i dışkı örneklerinden toplanmıştır. Toplam örneklerin 18'nde (%4,8) GSBL pozitif *E. coli* bulunmuştur.

Enterobacteriaceae üyelerinde GSBL üretimi sıklıkla beta laktam direncinden sorumlu olan mekanizmadır. Karbapenemler dışında tüm birçok beta laktama direnç gelişimine neden olan GSBL üretimi tedavide kullanılabilecek etkin antibiyotik sayısını kısıtlamaktadır. GSBL üreten mikroorganizmalar için sıklıkla başvurulanan birinci seçenek antibiyotikler karbapenemlerdir. Ancak GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin neden olduğu enfeksiyonların artması sonucu sıklıkla karbapenemlerin kullanılması, beraberinde karbapenem direnç oranlarında artışa neden olmuştur (Gür vd., 2009; Pfeifer vd., 2010).

Antibiyotiklerin tarımda ve hayvancılıkta kullanımı hayvan patojenlerinde antibiyotik direncinin gelişmesi nedeniyle giderek küresel bir sağlık sorunu olarak görülmektedir (Davies 2013; O'Neill, 2015). Çoklu ilaca dirençli bakterilerle enfeksiyonların küresel yükselişi sonucu Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği

“IDSA” enfeksiyon kontrol stratejilerinin en üst düzeye çıkarılması gerektiğini belirtmiştir (Boucher vd., 2009). GSBL’leri kodlayan plazmitler, başta *E. coli* ve *K. pneumoniae* olmak üzere *Enterobacteriaceae* familyasında ve ayrıca *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* gibi fermentatif olmayan Gram negatif bakteriler arasında kolayca yayılır (Falagas ve Karageorgopoulos, 2009). GSBL üreten *Enterobacteriaceae*, özellikle *E. coli* son on yılda artmıştır (Ali vd., 2017).

Enterokoklar, sefalosporinler ve aminoglikozitler gibi antimikrobiyal ajanlar için çoklu ilaç direnci belirleyicilerini barındırabilirler (Kang vd., 2015). Genel olarak bakteriler, oldukça yeni mekanizmalarla antibiyotik direnci üretebilir (Klare vd., 2001). Direnç genleri genellikle konjugatif transpozonlar ve plazmitler yoluyla diğer türlere kolayca aktarılır ve geniş bir konak profili gösterir (Çöleri ve Çökmüş, 2008).

Antibiyotiklerle kontamine olmuş sütler, yüksek kaliteli süt ve süt ürünlerinin üretiminin azalmasına ve dolayısıyla ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Pant vd., 2013). *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakterilerde antibiyotik direnci, antibiyotiklerle tedaviye ilk başlandığında yüksek oranda duyarlı bulunurken, uygulamadan bir süre sonra yaygın ve gittikçe artan oranda direnç saptanabilmektedir. Oranları coğrafik bölgelere ve türlere göre farklılık göstermektedir (Gur vd., 2009). GSBL üreten *Enterobacteriaceae* familyasına ait suşlar üçüncü nesil sefalosporin ve aztreonamı hidrolize ederek etkinliklerini yitirmelerine ve tedavilerin başarısız olmasına sebep olmaktadır (Paterson ve Bonomo, 2005). Özellikle *K. pneumoniae* ve *E. coli* kökenlerinde görülen ve sayıları 350’yi aşan GSBL ile oluşan direnç tüm dünyada ve ülkemizde hızla artarak önemli bir sorun haline gelmiştir (Şanal ve Tümtürk, 2019). GSBL’ler plazmid-aracılı *bla* genleri tarafından kodlanan, beta-laktam antibiyotikleri enzimatik inaktivasyon direnç mekanizması yoluyla etkisizleştiren ve enfeksiyon tedavilerini başarısız kılan enzimlerdir.

GSBL pozitif *E. coli* izolatlarıyla oluşan enfeksiyonların artmasıyla, tedavide karbapenem kullanımlarında artış yaşanmıştır. GSBL üreten bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlarda birçok antibiyotik etkisiz kalmıştır, buna paralel olarak kullanılan antibiyotikler mortalitede artışa sebep olmuş ve durum ciddi ekonomik kayıplara neden olmuştur. Bu nedenle tedaviye başlamadan önce etkenin GSBL oluşturup oluşturmadığının bilinmesi, daha hızlı bir şekilde ilerleyebilmek için önemlidir. Dünyanın çeşitli yerlerinden GSBL pozitifliği araştırılan suşların sıklığının bölgeler arasında değişkenlik gösterebileceği belirtilmektedir (Sağlam vd., 2011; Karaayak Uzun vd., 2012; Livermore 2012).

Sağlam vd. (2011) çalışmalarında, antibiyotik direncini GSBL üreten suşlarda üretmeyenlere göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. GSBL üretiminden sorumlu genlerle diğer direnç genlerinin aynı plazmidlerle taşınması, GSBL üreten suşların aynı zamanda aminoglikozidler, trimetoprim-sülfametoksazol, kloramfenikol ve tetrasiklin gibi antibiyotiklere de dirençli olabilmelerine neden olmaktadır (Pitout ve Laupland, 2008; Falagas ve Karageorgopoulos, 2009).

Beta-laktam grubu bir antibiyotik olan ampisilin, beta-laktamazlarla inaktive olur ve *Enterobacteriaceae* ailesindeki birçok bakteriye ve *Pseudomonas* türlerine etkisizdir (Ustaçelebi, 1999). Demirtürk vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada, yatan hastalarda ampisiline direnç oranları *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp. için sırasıyla %79,7, %100, %100, %100 olarak bulunmuştur. Temiz vd. (2008) ise poliklinik ve klinik hastalarında bulunan ampisilin direncini, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. için sırasıyla; %76,1, %79,3; %98,3, %100; %100, %87,5 olarak tespit etmiştir.

Kuzucu vd. (2011), GSBL pozitif suşlarla yaptıkları araştırmada, *E. coli* suşlarının tümünü imipenem ve meropenem duyarlı, *K. pneumoniae* suşlarının ise %5'ini dirençli bulmuşlardır. Görgeç vd. (2011) ise GSBL-pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında meropenem direncine rastlamamışlardır. *Pseudomonas* infeksiyonlarının tedavisinde ilk tercih edilecek antibiyotiklerden biri seftazidimdir. Temiz vd. (2008), tarafından yapılan çalışmada, *A. baumannii* suşlarında seftazidime %78,6, sefepime %42,8 oranında direnç tespit edilmiştir. Temiz vd. (2014), yaptıkları çalışmada seftazidim direncini %30,8 olarak belirlemişlerdir.

Uzun vd. (2012), *E. coli* izolatlarında GSBL üretimini %32, *K. pneumoniae* izolatlarında ise %38 olarak belirlemişlerdir. Kurt Azap vd. (2004), tarafından yapılan bir çalışmada *S. maltophilia* 'ya karşı dilüsyon yöntemi ile en iyi *in vitro* etki ofloksasin (%96) ve levofloksasin (%81) ile elde edilmiştir. Dülger vd. (2006), otomatize sistemle suşların %64'ünün, Öngüt vd. (2005), ise E-test yöntemi ile suşların %72'sinin siprofloksasine duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Gazi Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada nozokomiyal *S. maltophilia* suşlarında disk difüzyon yöntemi ile imipenem direnci %79,8, seftazidim direnci ise %45,1 olarak tespit edilmiştir (Dizbay vd., 2009). Temiz vd. (2014), GSBL üretmeyen *K. pneumoniae* suşlarında ise imipenem ve meropenem direnci tespit etmemiş, bu suşlarda en etkili antibiyotiklerin imipenem, meropenem ve amikasin olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca GSBL üreten *K. pneumoniae* suşlarında en etkili antibiyotiklerin,

imipenem ve meropenem olduğunu, bu antibiyotiklere karşı %20 oranında direnç bulunduğunu belirlemişlerdir.

Chryseobacterium spp. genellikle belirgin kokuları nedeniyle, gıda bozulma bakterileri olarak kabul edilmiştir. Ancak gıda ürünlerinden yoğun olarak izole edilen *Chryseobacterium* hastalıklı hayvanlardan da izole edilmiştir (Mielmann, 2006; Zheng vd., 2013). İnsan klinik kaynaklarından izole edilen *Chryseobacterium*'lar genellikle beta-laktamlara ve karbapenemlere dirençlidir. Benzer şekilde, suda yaşayan hayvanlardan ve çevreden izole edilen bakterilerin %90'ından fazlası polimiksin B, karbapenemler (imipenem ve meropenem), sefotaksim, amoksisilin-klavulanik asit, aztreonam ve tetrasikline karşı direnç geliştirmiştir (Maravić, vd., 2013).

Vásquez vd. (2017), Eylül ve Ekim 2013 arasında rastgele seçilen toplam 120 çiğ süt numunesi (mandıra başına bir toplu tank süt numunesi) toplanmıştır. GSBL üretimi şüpheli olan bakteriler, eşit sayıda dökme tankın süt örneklerinden %6,6 (8/120) oranında izole edilmiştir. 8 tankın her birinden bir izolat elde edilmiştir. Bu sekiz izolattan iki fermente olmayan glikoz izolatu çalışma dışı bırakılmıştır. Kalan altı izolattan 4'ünde GSBL üretimi doğrulanmıştır. Dökme tank sütünde GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'nin görünür sıklığının %3,3 (4/120; CI95 %: %3-3,5) olduğu tespit edilmiştir. İzolatların tümü kullanılan sefalosporinlerden en az ikisine ve klavulanik aside sinerji göstermiştir. GSBL üreten *Enterobacteriaceae* izolatları CrystalTM kullanılarak *E. cloacae*, *Serratia fonticola*, *E. coli* ve *Enterobacter kanserojenus* olarak tanımlanmıştır.

Ahmed vd. (2021) çalışmalarında Mısır'da sığır mastitisi vakalarının sütünden izole edilen enterokok ve *E. coli*'nin GSBL prevalansını ve antimikrobiyal direncini araştırmışlardır. Mısır'ın Nil Deltası bölgesindeki yerleşim yerlerinden elli adet süt örneği toplanmıştır. Bu örneklerden on yedi *Enterococcus* izolatu ve sekiz koliform suşu izole edilmiştir. *E. faecalis* izolatları klindamisin, eritromisin, gentamisin, rifampisin, sinersit, trimetoprim/sülfametoksazol ve daptomisine direnç göstermiştir. Linezolid, moksifloksasin, eritromisin ve diğerleri için direnç oranı %92,3'e ulaşmıştır, vankomisin direnç oranı yüksek çıkmıştır. Diğer antibiyotiklere karşı direnç oranları ampisilin için %38,4, oksasilin için ise %84,6 arasında tespit edilmiştir. Tüm *E. coli* izolatları penisilin, streptomisin, eritromisin, kloramfenikol, rifampisin ve trimetoprim/sülfametoksazole dirençli çıkmıştır. Bunu %85,7 direnç oranı ile seftazidim, siprofloksasin, gentamisin, levofloksasin ve tetrasiklin izlemiştir. Diğer antibiyotikler, amoksisilin/klavulanik asit ve imipenem için sırasıyla %42,9 ve amikasin için %71,4 direnç göstermişlerdir. Ayrıca VITEK 2 sisteminde, tüm *E. coli* izolatlarının GSBL üreticisi olduğu doğrulanmıştır. Bu

çalışma, Mısır'da pastörize edilmemiş ve gıda olarak kullanılan küçük çiftçilerin sütlerinin ticaretinin yapıldığını veya daha sonra işlenecek olan sütlerinin insan sağlığına potansiyel olarak zararlı bakterilerle kontamine olduğunu açıkça göstermiştir. Bu bakterilerin çoğu çoklu ilaca dirençli bulunmuş ve bu da ortaya çıkan hastalıkların tedavisini zorlaştırmıştır. Sonuç olarak, daha iyi bir hijyen sistemi ve üretilen sütün istisnasız pastörizasyonu konusunda çiftçilere eğitim verilmesi ve devlet kurumları tarafından bir gözetim sisteminin kurulmasının gerekli olduğu belirlenmiştir.

Sütten izole edilen *P. fluorescens*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *Burkholderia* türlerinin birkaç β -laktam ve β -laktam olmayan antibiyotiğe karşı direnç gösteren psikrotroflar olduğu tespit edilmiştir. Çiğ sütün soğuk zincir yoluyla taşınması sırasında bu bakterilerin tespitinin arttığı görülmüştür (Munsch-Alatossava ve Alatossava, 2007). Çiğ sütten izole edilen *Acinetobacter* cinslerinde antibiyotik direnci tespit edilmiştir (Gurung vd., 2013). Bu bakteriler, toprak ve su dahil olmak üzere doğada yaygındır ve insanlarda çoklu ilaca dirençli fırsatçı patojen olduğu için ciddi bir endişeye sebep olmaktadır (Dijkhoorn, 2013).

2.3.Bakterilerin Bazı Virulans Özellikleri

2.3.1.DNaz Aktivitesinin Belirlenmesi

DNazlar, DNA'yı parçalayan enzimlerdir ve sergiledikleri çeşitli biyokimyasal özellikler sonucu zamanla birçok farklı gruba ayrılmıştır (Laskowski, 1967). Holmberg (1973), inek sütlerinden izole ettiği 46 *S. aureus* suşundan %93,5, 218 *S. epidermidis* suşundan ise %34,4'ünün DNaz pozitif olduğunu açıklamıştır. Köhler-Samouilidis (1984), 182 süt örneğinden ayırdığı 32 *S. aureus*'dan %84'nün, 66 *S. epidermidis*'den %20'sinin DNaz pozitif sonuç verdiğini bildirmiştir. DNaz enzimi nükleik asitleri parçalayan, endo ve ekzo nükleaz aktivitesi olan fosfodiesterazlardır (Doğan 2014). Gündoğan vd. (2006) çalışmalarında çiğ süt, pastörize süt ve dondurma örneklerinden izole ettikleri 110 adet *S. aureus* suşunun DNaz aktivitesini araştırmak için kullanılan DNaz agar, 110 *S. aureus*'un %94,5'inde DNaz aktivitesi gösterdiğini tespit etmişlerdir.

DNaz, RNaz, fibrinolisin, lipazlar, hiyaluronidaz, proteaz ve elastaz gibi hücre dışı enzimler *S. maltophilia* ile ilişkili enfeksiyonun patogenezinde rol oynayabilirler (Bottone vd., 1986). *S. maltophilia*, su ve toprakta bulunabilen Gram negatif fırsatçı patojendir. *S. maltophilia* temizlikte kullanılan sulara ve invazif tıbbi cihazlarda gelişme ve biyofilm üreterek canlı kalabilme özelliğiyle ciddi enfeksiyonlara neden olan önemli bir hastane

patojenidir (Adegoke vd., 2017). *S. maltophilia* ayrıca proteazlar, lipazlar, fibrolizin ve enfeksiyonları oluşturmak için kullanılan DNazlar gibi bir dizi hücre dışı virulans faktörüne sahiptir (Trifonova ve Strateva, 2019).

2.3.2. Jelatinaz Üretiminin Belirlenmesi

Jelatinaz; kollojen, kazein, hemoglobin ve diğer peptidleri hidrolize edebilen bir proteazdır. Doku hasarı oluşumunda etkilidir. Jelatin, hayvansal kollojen türevi olan bir proteindir. Jelatini hidrolize eden enzim jelatinaz adını alır ve bu enzim bazı mezofil ve halofilik bakteriler tarafından salgılanmaktadır. Kromozomal *gelE* geni tarafından kodlanan jelatinaz (metalloproteaz) enzimi, kollajen, jelatin, kazein, hemoglobin ve diğer biyoaktif küçük peptidleri hidrolize eden ve hayvan modellerinde endoftalmit ve endokarditi şiddetlendiren hücre dışı bir çinko-endopeptidazdır (Vergis vd., 2002; Mohamed vd., 2007; Klibi vd., 2007; Billström vd., 2008; Worth vd., 2008; Fisher ve Phillips, 2009). Jelatinaz üretiminin belirlenmesi bakteri identifikasyonunda ve bazı bakterilerin virulans özelliğinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir testtir (Seçkin ve Dostbil, 2018).

Jelatinaz, enterokoklarda virulans faktörü seviyelerinde yer alan hidrolitik enzimlerdir. Jelatinaz (*gelE*), hücre dışı bir çinko metallo-endopeptidazdır. Bu gen çoğunlukla *E. faecalis* tarafından salgılanır. *gelE* geni, kromozom üzerinde bulunur, hücre yoğunluğuna bağlı bir şekilde düzenlenir ve jelatin, kazein, hemoglobin ve diğer biyoaktif peptitleri hidrolize eder (Koch vd., 2004).

Enfeksiyon etkeni olan klinik izolatlar arasında *Enterococcus*'ların %45'inde farklı düzeylerde jelatinaz aktivitesi tespit edilmiştir (Qin vd., 2000). Jelatinaz üretimi gıda kökenli enterokok suşlarına nazaran fekal ve klinik izolatlarda daha sık rastlanılan bir virulans faktördür. Bunun yanı sıra, son yıllarda farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da gıda kökenli enterokok suşlarında sessiz *gelE* geninin varlığı sıklıkla tespit edilmiştir (Cariolato vd., 2008; Gomes vd., 2008; Ben Belgacem vd., 2010; Özden Tuncer vd., 2013; İnoğlu ve Tuncer, 2013). Enterokokal yüzey proteini (Esp) üretimi hücre hidrofobisitesini, abiyotik yüzeylere tutunmayı, *in vitro* koşullarda biofilm oluşumunu arttırmakta ve üriner sistem enfeksiyonlarında kolonizasyon faktörü olarak rol oynamaktadır (Upadhyaya vd., 2009).

E. faecalis suşlarından çoğunluk algılama sistemi ile düzenlenen jelatinaz enziminin biyofilm oluşumuna da etkili olduğu iddia edilmiş ancak çok sayıda suş yapılan araştırmalarda biyofilm oluşumu ile jelatinaz üretimi arasında anlamlı bir ilişki olmadığı

belirtilmiştir (Hancock vd., 2004; Mohamed ve Murray, 2005). Çeşitli *P. aeruginosa* suşlarında virulans özellikleri bakımından karşılaştıran bir çalışmada da, enfeksiyon gelişen hastaların suşları arasında jelatinaz üretimi bakımından anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir. Bu bulgu pek çok *P. aeruginosa* suşu tarafından üretilen jelatinaz enziminin mukoid fenotip için genel bir virulans faktörü olmadığı ancak patogeneizde yardımcı rolünün olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Enzimin kolonizasyon sürecinde bakterinin konak dokularında hayatta kalmasında etkili olduğu öne sürülmektedir (Stehling vd., 2008).

Enterokok ve *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının patogenezinde önemi ortaya konmuş jelatinaz enziminin *A. baumannii* kökenlerindeki sıklığı, önemi ve diğer virulans özellikleri ile ilişkisi ise net olarak bilinmemektedir. Literatürde klinik *A. baumannii* kökenlerinde jelatinaz üretiminin çalışıldığı iki yayında Sechi vd. (2004), inceledikleri klinik kökenlerde jelatinaz aktivitesi saptanmadığını, Cevahir vd. (2008), ise %14 sıklıkta jelatinaz aktivitesinin varlığını bildirmişlerdir.

2.3.3. Dekarboksilaz Aktivitelerinin Belirlenmesi

Biyojen aminler; hayvan, bitki ve mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucunda, amino asitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve ketonların aminasyonu ve transaminasyonu ile oluşan düşük molekül ağırlıklı azotlu bileşiklerdir (Uylaşer ve Konak, 2004). Biyojen aminler gıdalardaki aminoasitlerin, bazı mikroorganizmaların dekarboksilaz enzimleri ile dekarboksilasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Biyojen amin oluşumu ortamın pH'sını yükselterek mikroorganizmayı asidik ortam etkisinden korumaktadır. Biyojen aminler proteince zengin ve fermente gıda maddelerinin üretimi, işlenmesi ve depolanması sırasında oluşabilen ve gıdalarla çok fazla miktarlarda alındığında toksik etkilere sebep olabilen maddelerdir. Bu nedenle bakterilerin konakçıda, gıda bileşenlerini veya biyolojik salgıları zararlı sekonder maddelere dönüştürüp dönüştürmediği belirlenmelidir. Örneğin bazı bağırsak bakterileri protein ve parçalanma ürünlerinden amonyak, indol, fenol ve aminler üretirler. Birçok araştırmayla, farklı bakteri sınıflarının biyojen amin ürettiği ortaya konmuştur. Histamin, tiramin, triptamin, serotonin, putresin, kadaverin, oktopamin, dopamin, agmatin, spermin, spermidin, diaminobutan ve feniletilamin, çeşitli çalışmalar ile gıdalarda tespit edilmiş önemli biyojen aminler olarak gösterilebilir (Alper ve Temiz, 2001). Gıdalarda yüksek derecede bulunan biyojen aminlerin, insanlarda önemli sağlık tehlikesi yaratabileceği düşünülmektedir (Collins vd., 2011).

Biyojenik aminler, gıdalarda önemli düzeylerde bulunduğunda genellikle insanlar için ciddi bir sağlık tehlikesi olarak kabul edilmektedirler (Pintado vd, 2008). Hijyenik gıda kalitesinin yaygın kimyasal göstergeleri arasında histamin, tiramin, kadaverin, putresin, triptamin ve 2-feniletilamin gibi biyojenik aminler yer alır (Vale ve Gloria, 1998). Biyojenik amin üretimine dahil olan mikroorganizmalar, kullanılan başlatıcı kültürler olabileceğinden veya üretim ve depolama öncesinde, sırasında veya sonrasında kontaminasyon yoluyla dahil edilebileceğinden, sütün bakteriyolojik kalitesi, biyojenik aminlerin oluşumunu kontrol etmede kritik olabilir (Novella-Rodriguez vd., 2000).

Kimura vd. (2001) ve Konagoya vd. (2002), Japon fermente kalamar karaciğer sosundan izole ettikleri *Tetragenococcus muriaticus*'da histidin dekarboksilaz aktivitesini tespit etmişlerdir. Fermente deniz ürünlerinde histamin birikimine sebep olduğu bilinen *T. muriaticus* türünün histamin üreticisi olduğu belirlenmiştir. *T. muriaticus* türüne ait *T. muriaticus* a9 suşunun incelendiği bir başka araştırmada ise bu suşun histamin üretmediği tespit edilmiştir (Kobayashi vd., 2003).

2.3.4.Hemolitik Aktivitenin Belirlenmesi

Hemolitik aktivite, patojenik mikroorganizmaların demir kaynağı olarak demir bağlı proteinleri kullanarak konak içinde yaşamalarını sağlayan önemli bir faktördür. Hemoglobin bu mikroorganizmalar için önemli bir demir kaynağıdır. Hemolizinler ise patojen mikroorganizmaların elementer demiri kullanmak için hemi parçalamalarını sağlayan enzimlerdendir ve özellikle streptokok ve stafilokokların oluşturduğu infeksiyonların patogeneğinde rol alan önemli virulans faktörleri olarak bilinirler.

Hemolizin, hem ökaryotik hem de prokaryotik hücrelerde lizise neden olmasından dolayı daha çok sitolizin olarak adlandırılır (Shankar vd., 2004; Klibi vd., 2007; Hallgren vd., 2009). Hemolizin genleri (*cyl*), genellikle feromona duyarlı plazmidler üzerinde taşınırlar; ancak patojenite adaları içinde bakteriyel kromozoma da entegre olabilirler (Shankar vd., 1999; Vankerckhoven vd., 2004; Seno vd., 2005; Klibi vd., 2007; Fisher ve Phillips, 2009).

Hemolizin, insan, tavşan ve at eritrositlerini parçalayan ve birçok Gram pozitif bakteriye karşı bakterisidal, feromon bağlı plazmid DNA veya kromozomal DNA üzerinde bulunan bir operon tarafından kodlanan bakteriyel bir toksindir (Vergis vd., 2002; Koch vd., 2004; Hallgren vd., 2009; Fisher ve Phillips, 2009).

Hemolizin üretimi enterokok enfeksiyonlarının şiddetini arttırmaktadır. Enterokoklarda hemolizin/sitolizin üretiminden sorumlu genlerin varlığı risk faktörü olarak

değerlendirilmektedir (Valenzuela vd., 2008). Hemolitik aktivite patojenik mikroorganizmaların demir ihtiyacını konağın hemoglobinininden karşıladıklarını göstermektedir.

S. maltophilia suşlarının genomunda eritrositleri, lökositleri, mast hücrelerini ve nötrofilleri parçalamak için kullanılan bir enzim sınıfı olan hemolizinler hem çevresel hem de klinik izolatlarda tespit edilmiştir (Adamek vd., 2014).

Bazı patojenite faktörleri hemolitik ve lökotosik membran hücre sitotoksinleri olarak tanımlanmıştır (Paraje vd., 2005). *E. cloacae*, ampicilin, amoksisilin-klavulanik asit, sefalotin ve sefoksitine doğal olarak dirençlidir. *E. cloacae* TEM, SHV ve CTX-M gibi çeşitli GSBL'lere dirençlidir (Arpin vd., 2002; Szabo vd., 2005).

2.3.5. Biyofilm Oluşturma Özelliğinin Araştırılması

Biyofilm yapısı konakçı immün sistemiyle etkileşerek immün yanıt oluşumuna neden olan ciddi bir enfeksiyon ve enflamasyon etkeni olarak kabul edilmektedir (Hänsch, 2012). Mikroorganizma tarafından çevresel stres koşullarında oluşturulan bu yaşam formu, biyotik ve abiyotik farklı yüzeylerde oluşabilmektedir.

Mikroorganizma topluluklarının oluşturduğu biyofilm yapısı, mikroorganizmanın kolonizasyonunu destekleyen, pH değişikliği, besin yetersizliği gibi olumsuz dış ortam koşullarına, antibiyotik, dezenfektan madde gibi kimyasallara karşı dayanıklı olmasını sağlayan önemli bir virulans faktörüdür. Polisakkaritler, protein, ekstraselüler DNA, su ve iyonlar gibi farklı bileşenleri içeren kompleks bir yapı olan biyofilm yapısının oluşumu dinamik bir süreçtir (Marcinkiewicz vd., 2013; Fleming ve Rumbaugh, 2018).

Biyofilm matriksi sahip olduğu mekanik ve fizikokimyasal özellikler aracılığıyla antibiyotik ve antiseptikler de dâhil olmak üzere pek çok bileşiğin penetrasyonunu azaltarak biyofilm içerisindeki bakteri hücrelerine ulaşmasını engellemektedir (Stewart, 2003).

Biyofilm oluşumunu ve virulans faktörlerini düzenleyen genetik faktörleri anlamak, bu tür enfeksiyonların tedavisi için önemlidir (Ramos-Hegazy, 2020). Biyofilm oluşumu ayrıca enterokok patojenitesine katkıda bulunur ve gıda ürünlerinde hijyen sorunlarına yol açan kalıcı kontaminasyon sebebidir (Giaouris vd., 2014).

Süt işleme ortamlarında biyofilmler, işlenmiş süt ürünlerinin mikrobiyal kontaminasyonu açısından sorun yaratır. Bu biyofilmler bozulmaya sebep olan ve/veya patojen mikroorganizmalar içerebilir. Biyofilm üreten bakteriler, çoklu türlerin iş birliği ve hücre dışı polimerik maddelerin varlığı nedeniyle dezenfektanlardan korunur, bu sayede

canlılığını devam ettirir ve daha sonra işlenmiş süt ürünlerinin kontaminasyonu teşvik edebilirler (Marchand vd., 2012). Süt filtrasyon sistemlerinde biyofilm oluşumu, membran gözeneklerinin tıkanmasına, ürün kontaminasyonuna ve dolayısıyla ekonomik kayıplara neden olur (Tang vd., 2009).

Uygun koşullar altında, bir süt işleme ortamında biyofilm, başlangıçta metal bir yüzey üzerinde organik maddenin birikmesi ve daha sonra bakterilerin kolonizasyonu ile oluşur. Bir biyofilm topluluğu, tek ve/veya birden fazla bakteri türünü içerebilir ve tek bir katman veya 3 boyutlu yapılar oluşturabilir. Biyofilmler; besin, metabolit ve atık ürün dağıtımı için geçitler sağlayan su kanallarındaki, karmaşık ve organize bakteriyel ekosistemlerdir (Sauer vd., 2007). Bakteriyel tutunma ve biyofilm oluşumunun, şartlandırma tabakasının oluşumu, bakteri yapışması, bakteri üremesi ve biyofilm genişlemesi gibi farklı aşamalarda gerçekleştiği görülmektedir (Kokare vd., 2009).

Bakterilerin antibiyotik direncinin yanı sıra, hem konak immün sistemi hem de antimikrobiyal ajanlar açısından önemli bir bariyer olan biyofilm yapısının neden olduğu direnç, biyofilm enfeksiyonlarında tedaviyi daha da zorlaştırmaktadır (Römling ve Balsalobre, 2012, Fuente-Núñez vd., 2013). Yapılan araştırmalarla da, biyofilm yapısına sahip mikroorganizmaların diğer mikroorganizmalara kıyasla antibiyotiklere 100-1000 kat daha dirençli olduğu gözlenmiştir. Biyofilm pek çok antibiyotik açısından tedavide sorun yaratan bir yapı olsa da florokinolonlar, ampisilin ve rifampin gibi bazı antibiyotiklerin biyofilm matriksinden geçişte sorun yaşamadığı ve biyofilme iyi nüfuz edebildiği çalışmalarla saptanmıştır. Ancak biyofilm enfeksiyonlarında bu antibiyotiklerle uygulanan tedavilerde istenilen sonuca ulaşamaması ilacın düşük penetrasyonunun tek başına direnci açıklamaya yeterli olmadığını göstermektedir (Rodríguez-Martínez vd., 2007).

P. aeruginosa'nın patojenitesi, biyofilm oluşturma kabiliyetine ve çok sayıda membran ve hücre dışı virulans faktörün üretimine bağlıdır. Flagella, fimbria, yüzey polisakkaritleri ve tip IV pili gibi bazı faktörler bakteri kolonizasyonunda rol oynar. Tüm bu unsurlar, bağlanma mekanizması için gerekli kabul edilir. *P. aeruginosa* dokuyu istila etme yeteneğine sahiptir (Khattab vd., 2015)

S. maltophilia genomu, çeşitli antibiyotiklere karşı direncine katkıda bulunan birkaç moleküler mekanizmayı kodlar (Crossman vd., 2008). Bu nedenle *S. maltophilia* insan sağlığı için önemli bir tehdit haline gelmiştir. *S. maltophilia*'nın en önemli virulans faktörlerinden biri, biyotik ve abiyotik yüzeylerde birbirine yapışabilen mikrobiyal hücre toplulukları olan biyofilmleri oluşturma yeteneğidir (Pompilio vd., 2011). Bu yapışan hücreler genellikle, hücre dışı bir polimerik maddenin kendi ürettiği bir matrisle kaplanır

ve karmaşık bir üç boyutlu yapı oluşturur (Pompilio vd., 2008). Bakteriyel virulansı azaltmak ve biyofilmle ilişkili direncini engellemek için, biyofilm oluşumunun önlenmesi, önceden var olan biyofilmlerin yok edilmesi ve devam eden virulans faktörü üretiminin durdurulması alternatif kontrol stratejileri olarak tavsiye edilmektedir (Kim vd., 2018). *S. maltophilia*'da biyofilm oluşturma özelliğinin antibiyotik direnci ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Liaw vd., 2010).

2.3.6. Ekstrasellüler Proteaz Üretiminin Belirlenmesi

Proteazlar, bakteriler, virüsler, protozoonlar, mayalar ve funguslar gibi farklı mikroorganizmalarda bulunan enzimlerdir (Gupta vd., 2002; Joo ve Chang, 2005). Yaşayan tüm organizmalarda bulunan proteolitik enzimler, hücre gelişimi ve farklılaşması için oldukça önemli bir yere sahiptirler (Gupta vd., 2002; Gençkal, 2004). Farklı fizikokimyasal ve katalitik özelliklere sahip olan proteazlar, enzimlerin oldukça kompleks grubunu oluştururlar. Proteazlar enzim sınıfları içerisinde hem fizyolojik, hem de ticari alanda büyük bir uygulama alanına sahiptirler (Mukherjee vd., 2008). Proteolitik enzimler hem ekstrasellüler hem de intrasellüler olarak sentezlenirler (Kumar vd., 2005). Yıkıcı özelliğe sahip bu enzim grupları patojenin penetrasyonunda önemli görevler alırken, konakçı dokunun proteinlerini etkisiz hale getirerek savunma mekanizmasını da bozmaktadır.

Özellikle proteazlar konak defansının bozulmasında ve dokulara invazyon ile yayılımında rol oynarlar. Proteaz salınımı, mikrobiyal üreme için gerekli besinlerin oluşumunu sağlar ve stafilokok enfeksiyonlarının daha şiddetli olmasına sebep olur (Dubin, 2002).

Sütün bozulmasında düşük sıcaklıklarda depolama sırasında *Pseudomonas* spp. tarafından üretilen proteolitik enzimlerin varlığı da önemli bir sebeptir (Meng vd., 2017). *Pseudomonas* spp.'nin proteolitik aktivitesi 4–7°C sıcaklık aralığında etki göstermektedir (Caldera vd., 2016).

Çiğ sütteki psikrotrofik bakteriler, ısıya dayanıklı hücre dışı proteazlar üretir, bu da aşırı yüksek sıcaklıkta işlem görmüş süt ve süt ürünlerinin bozulmasına ve raf ömrünün azalmasına neden olur. Bu bozulmanın engellenmesi için çiğ sütte bulunan mikroorganizmaların hızlı ve güvenilir yöntemlerle taranması ve tanımlanması önemlidir. Vithanage vd. (2014), çalışmalarında çiğ sütte ısıya dayanıklı proteaz üreten bakterilerin tanımlanması için genetik yöntemle ticari bakteri tanımlama sistemlerini karşılaştırmışlardır. Beş bakteri 16S rRNA gen dizilimi ve MALDI-TOF MS'in tür

düzeyinde Gram negatif basillerin tanımlanması için doğruluğu sırasıyla %100 ve %63,2 çıkmıştır.

P. aeruginosa, proteazın iki türü olan elastaz ve alkalın proteaz; doku nekrozu, immünoglobulinin distraksiyonu ve tümör nekroz faktörlerinin ve gama interferonun inhibisyonu gibi birçok virulans faktörüne sahiptir (Pollack, 1995). *P. aeruginosa* 'nın dış zar proteinleri (OprI ve OprL); bakterinin çevre ile etkileşiminde, hücre geçirgenliğini etkileyen akış taşıma sistemlerinde ve ayrıca antibiyotiklere doğal direncinde önemli roller oynar (Nikaido, 1994). *P. aeruginosa* 'nın proteaz salgılaması sebebiyle; yağsız süt agarı kullanılarak proteaz aktivitesi incelenmiştir (La Fayette vd., 2015)

Acinetobacter spp. proteazlar ve lipazlar gibi ısıya dayanıklı enzimler üretebilen, pastörizasyondan sonra bile aktif kalan ve uzun depolama sırasında sütü bozabilen baskın bakterilerdir (Fusco vd., 2020). *Acinetobacter* spp. *Moraxellaceae* familyasına aittir, mutlak aerobik, Gram negatif, fermentatif olmayan bakterilerdir. *Acinetobacter* türleri sadece toprakta, suda, yiyeceklerde süt ürünlerinde değil doğada her yerde bulunurlar (Gurung vd., 2013). Ayrıca *Acinetobacter* türleri bazı soğutulmuş çiğ süt ve süt ürünlerinde de tespit edilmiştir (Saad vd., 2018).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.Materyal

Araştırmada 74 adet Burdur/Merkez ve merkeze bağlı köylerden, 10 adet Gölhisar, 14 adet Ağlasun, 1 adet Yeşilova, 11 adet Tefenni, 12 adet Çavdır, 1 adet Çeltikçi, 17 adet Bucak, 5 adet Altınyayla, 7 adet Kemer ilçelerinden direkt üreticiden, çiğ süt toplama merkezlerinden, süt fabrikalarındaki çiğ süt depolama tanklarından toplam 152 adet çiğ süt örneği alınarak, çalışma kapsamında araştırılacak bakteriler için izolasyon materyali olarak kullanılmıştır (Tablo 1). Örnekler steril kapaklı tüplere alınmış ve soğuk ortamda laboratuvara getirilmiştir.

3.2.Yöntem

3.2.1. Gram Negatif Bakterilerin İzolasyonu

Bakterilerin GSBL aktiviteleri CHROMagar™ ESBL (bioMérieux) kullanılarak belirlenmiştir. Bu besiyerinde duyarlı Gram negatif bakteriler inhibe olurken, GSBL aktivitesi *E. coli*'de koyu pembeden kırmızıya, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*'de metalik mavi, *Proteus* grubunda ise kahverengi zon oluşumu ile belirlenmiştir (Alışkan vd., 2012). Seçilen kolonilerin Caso sıvı besiyerinde saflık kontrolü yapıldıktan sonra Gram boyama, katalaz ve oksidaz testleri yapılmıştır. Bu kolonilerden Gram negatif, katalaz pozitif ve oksidaz negatif olan izolatlar seçilmiş ve 2 ml'lik endorff tüplerinde %20'lik gliserol ile stoklanmış ve -18°C'de diğer testler için muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Bakterilerin MALDI-TOF MS ile Tanımlanması

GSBL aktivitesine sahip bakterilerin MALDI-TOF MS ile tanımlanması MALDI TOF/TOF-MS Biotyper System (Bruker Autoflex Speed) cihazla Barreiro vd. (2017)'nin yöntemine göre Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi'nden hizmet alımı ile yapılmıştır.

3.2.3.Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılığının Belirlenmesi

GSBL üreticisi olduğundan şüphelenilen tüm izolatların antibiyotik duyarlılığı otomatik bir mikrodilüsyon sistemi olan VITEK® 2 Compact (bioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen, Almanya) kullanılarak bioMérieux Diagnostik A.Ş. tarafından alınan hizmet ile doğrulanmıştır. Bu çalışma için, ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, tiraksilin/klavulanik asit, sefalekssin, sefalotin, sefaperazon, seftiofur, sefkuinom,

imipenem, gentamisin, neomisin, flumekin, enrofloksasin, marboflaksasin, tetrasiklin, florfenisol, polimiksin B, trimetoprim/ sülfametaksazol antibiyotikleri içeren test kartı kullanılarak izolatların antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir (Spanu vd., 2006).

Bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi için alternatif olarak disk difüzyon yöntemi de kullanılmıştır. Test edilen bakteriler Triptic Soy Agar (TSA)'da 37°C'de 16 saat geliştirildikten sonra bakterilerin steril eküvyon ile konsantrasyonu densitometre (Alla, Fransa) McFarland 0.5'e ayarlanmıştır. Bakteri süspansiyonundan Mueller Hinton agar (MHA) besiyerine sürüntü ekimi yapılmış ve sefpodoksim (CPD) (10 µg), seftriakson (CRO) (5 µg), sefepim (FEP) (5 µg), sefotaksim (CTX) (5 µg), seftazidim (CAZ) (10 µg), sefotaksim (CTX) (30 µg), seftazidim (CAZ) (30 µg), amoksisilin/klavulanik asit (AMC) (20/10 µg), sefepim (FEP) (30 µg) antibiyogram diskleri yerleştirilerek 37°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra, antibiyotik zon çapları ölçülmüştür (Bauer ve Kirby, 1966).

3.2.4. Bakterilerin Bazı Virulans Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.4.1. DNaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Suşların DNaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla bakteriler 0.008 g/L toluidin mavisi ilave edilmiş DNaz test agar (Merck) besiyerine 100 µl ekilmiştir. 30 °C'de 48 saat inkübasyondan sonra, besiyerinin yüzeyine 1 N HCl çözeltisi damlatılmış ve kolonilerin etrafında meydana gelen şeffaf zon DNaz aktivitesi olarak değerlendirilmiştir (Onishi, 1983).

3.2.4.2. Jelatinaz Üretiminin Belirlenmesi

Jelatinaz testi için 0,1x Nutrient (Merck) sıvı besiyerine %10 jelatin (Oxoid) ilave edilmiştir. 18 saatlik taze kültürler hazırlanan besiyeri ortamına 100 µl inoküle edilmiş ve 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 1 saat +4°C'de buzdolabında bekletilen tüplerde, besiyerinde katılaşma olup olmadığı incelenmiştir. Katılaşma görülen tüpler negatif, sıvı görünüm ise pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Cappucino ve Sherman, 2007).

3.2.4.3. Bakterilerin Dekarboksilaz Aktivitelerinin Belirlenmesi

İzole edilen kültürlerin dekarboksilaz aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla Nutrient Agar (Merck) besiyerine %2 düzeyinde histidin, tirosin, lisin, ornitin, fenilalanin, triptofan

aminoasitleri ilave edilmiş, bakteriler damla kültür yöntemiyle inoküle edilerek 7 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Kolonilerin etrafında meydana gelen pembe halka pozitif olarak değerlendirilmiştir (Joosten ve Northolt, 1989).

3.2.4.4. Hemolitik Aktivitenin Belirlenmesi

Hemolitik aktivitenin belirlenmesi için, Columbia Blood Agar'a %5'lik defibrine at kanı ilave edilmiş, mikroorganizmalar besiyeri üzerine öze ile sürülmüş ve besiyerleri 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Kolonilerin etrafındaki yeşil zonlar alfa-hemolitik, beyaz zonlar beta-hemolitik aktivite ve zon gelişimi görülmeyenler gama-hemolitik olarak değerlendirilmiştir (Vankerckhoven, 2004)

3.2.4.5. Biyofilm Oluşturma Özelliğinin Araştırılması

İzolatların biyofilm oluşturma yetenekleri kantitatif olarak mikropilaka testi ile belirlenmiştir (Sudagidan ve Aydın, 2009). Bu test için bakteriler TSA'da 37 °C'de 16 saat geliştirilen bakterilerden steril eküvyon ile alınarak McFarland densitometre (Alla, Fransa) 0.5'e ayarlanmıştır. 96 kuyucuklu mikropilaklara (Corning 3599) 180 µl %1 sükröz içeren TSB (TSB+S) ve 20 µl bakteri süspansiyonu ilave edilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda mikropilaka boşaltılmış ve 3 defa 200 µl PBS ile yıkanmıştır. Bu sayede tutunmayan bakteriler uzaklaştırılmıştır. Bakteriler 200 µl metanol eklenerek 15 dakika fiske edilmiştir. Metanol plakalardan döküldükten sonra 55 °C'de 1 saat kurutulan mikropilaka yüzeyine tutunan bakteriler, 200 µl kristal viyole ile boyanmış ve 5 dakika sonra fazla boya çeşme suyu ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Mikropilaka kurutulduktan sonra tutunan boya 200 µl %33'lük asetik asit ile çözündürülerek optik densite (OD) 590 nm'de mikropilaka okuyucusu (Thermo Multiskan Go) kullanarak belirlenmiştir. OD₅₉₀ değeri > 0.5 olan bakteriler biyofilm üreticisi olarak kabul edilmiştir.

3.2.4.6. Ekstrasellüler Proteaz Üretiminin Belirlenmesi

İzolatların proteaz üretme yetenekleri kazein agar, süt agar ve skim milk agar kullanılarak tespit edilmiştir (Sudagidan vd., 2008; Sudagidan ve Aydın, 2009). Suşların - 80°C'de muhafaza edilen stoklarından nokta ekim yapılarak besiyerlerine inokülasyonu yapılmıştır. Petriler 37°C'de 2-3 gün inkübasyona tabi tutulmuş ve inkübasyon sonunda skim milk ve süt agar besiyerlerinde, ekim alanları çevresinde zon oluşumu incelenmiştir. Kazein agarda gelişen koloniler üzerine inkübasyondan sonra yüzeyi kaplayacak kadar %5

trikloro asetik asit (TCA) eklenmiş ve ekim alanı çevresinde zon oluşumu değerlendirilmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. İzolasyon Sonuçları

Araştırma kapsamında Burdur yöresinde direkt üreticiden, çiğ süt toplama merkezlerinden, süt fabrikalarındaki çiğ süt depolama tanklarından 74 adet Merkez ve merkeze bağlı köylerden, 10 adet Gölhisar, 14 adet Ağlasun, 1 adet Yeşilova, 11 adet Tefenni, 12 adet Çavdır, 1 adet Çeltikçi, 17 adet Bucak, 5 adet Altınyayla, 7 adet Kemer ilçeleri olmak üzere toplam 152 adet çiğ süt örneği toplanmıştır (TABLO 1). CHROMagar™ ESBL (bioMérieux) besiyerinden izole edilen suşların 24 tanesi krem, 4 tanesi koyu pembe, 2 tanesi koyu kahverengi, 2 tanesi mavi, 1 tanesi ise sarımtırak koloni renkleri göstermiştir. 152 adet örnekten katalaz pozitif, oksidaz negatif basillerden toplam 40 tane suş izole edilmiştir; ancak bu izolatlardan 3 tanesi Gram pozitif olduğu ve 4 tanesi de tanımlamada karışık çıktığı için örneklerin arasından çıkarılmıştır. Kalan 33 adet izolat ise MALDI-TOF MS ile tanımlanmıştır. Araştırmada Burdur Merkeze bağlı Kuruçay köyünden alınan 6. örnekten, Ağlasun ilçesinden alınan 12. örnekten, Düğer köyünden alınan 27. örnekten, Bucak ilçesine bağlı Susuz köyünden alınan 97. örnekten, Tefenni ilçesinden alınan 138. örnekten ve Kemer ilçesinden alınan 152. örnekten 2’şer adet izolat elde edilmiştir. Bu izolatlar dışında Merkeze bağlı Kökez köyünden 5, Düğer köyünden 3, İlyas köyünden 1 örnekten izolat alınmıştır. Ayrıca Bucak ilçesi Susuz köyünden 4, Kemer ilçesinden 2, Dirmil/Altınyayla’dan Tefenni ve Gölhisar’dan alınan 1’er örnekten izolat elde edilmiştir.

Oksidaz testi, *Enterobacteriaceae*’yi Gram negatif *Enterobacteriaceae* olmayan organizmalardan ayırt etmek için kullanılır. *Enterobacteriaceae* oksidaz negatiftir (Abdi vd., 2021). Potansiyel *Klebsiella* kaynaklarının belirlenmesi, maruziyeti azaltan ve meme enfeksiyonu riskini sınırlayan önleyici tedbirlerin uygulanması için önemlidir (Hogan vd., 1989; Zdanowicz vd., 2004).

Abdi vd. (2021), çalışmalarında Tennessee, Kentucky ve Mississippi’deki 34 süt çiftliğinden yüksek somatik hücre sayısına sahip ve klinik mastitisli 151 inekten toplam 174 süt örneği toplamışlardır. Araştırmada *S. aureus*, *S. uberis*, *S. disgalactiae*, *E. coli*, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* içeren altı bakteri türünden oluşan toplam 193 bakteri izole edilmiştir. Araştırmada *S. aureus*’un baskın izolat olduğunu belirlemişlerdir.

Huang vd. (2010) çalışmalarında GSBL üreten *Enterobacteriaceae*’nın seçici izolasyonu ve varsayımsal tanımlaması için yeni bir kromojenik agar olan Brilliance ESBL agarın (OX; Oxoid, Basingstoke, Birleşik Krallık) performansını değerlendirmeyi

amaçlamışlardır. Bunun için izole edilen örnekler OX, BM ve MacConkey agarda geliştirilmiştir. 94 örnekten toplam 112 GSBL üretmeyen izolat, 68 fermente olmayan Gram negatif basil, 39 *Enterobacteriaceae* izolatı ve 5 Gram negatif olmayan mikroorganizma izole edilmiş ve bu mikroorganizmaların üç besiyerinden herhangi birinde gelişimi incelenmiştir. 39 *Enterobacteriaceae* izolatından, doğal AmpC hiperprodüktörlerinin (n=21), her üç besiyerinde de “yanlış pozitif” sonuçların çoğundan sorumlu olduğu belirlenmiştir.

İbrahim vd. (2016) çalışmalarında GSBL üreten *E. coli* suşlarının çoklu ilaca dirençlerini belirlemek için bir süt çiftliğinden bulamaç ve dışkı örneklerinden 126 *E. coli* izole etmiştir. İzolatları elde etmek için seçici mikrobiyolojik besiyerleri olan ESBL CHROMagar TM kullanılmıştır. ESBL CHROMagar TM üzerinde izole edilen kolonilerin çoğunun, *E. coli* için tipik koloni özellikleri vermesine rağmen, doğrulama testleri bu tanımlamayı doğrulamamıştır ve bu izolatlar daha sonraki analizlerden çıkarılmışlardır.

4.2. Bakterilerin MALDI-TOF MS Sonuçları

Kütle spektrometresinin (MS) keşfinden bu yana mikroorganizmalar için, hücre yüzey proteinlerinin profillemesine dayanan çok sayıda tanımlama yöntemi ile çalışılmıştır. Bunlardan birisi olan MALDI-TOF MS, tüm hücre analizini esas alarak mikroorganizmaların protein parmak izine dayanarak hızlı tanımlanması, tiplendirilmesi ve sınıflandırılması alanında umut verici uygulamalara sahip en güvenilir araçlardan birisi olarak ortaya çıkmıştır. Günümüzde, ticari MALDI sistemleri, biyolojik araştırma çalışmaları için olduğu gibi; klinik tıpta, biyoteknoloji ve endüstride tanısal uygulamalar için de erişilebilir durumdadır (Carolus vd., 2012; Chalupová, vd., 2014).

Araştırmamızda GSBL aktivitesi olduğu düşünülen bakteriler Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi’nde MALDI TOF/TOF-MS Biotyper System (Bruker Autoflex Speed) ile tanımlanmıştır. Tanımlama sonucunda incelenen 33 adet bakterinin 15 adeti *S. maltophilia* (YH6A, YH12A, YH12B, YH64, YH93, YH94A, YH97A, YH97B, YH99, YH100, YH101, YH103, YH129D, YH113, YH135B) olarak tespit edilmiştir. Tanımlama da ayrıca 5 adet *P. aeruginosa* (YH6B1, YH27C, YH152B, YH138A, YH148A), 5 adet *E. coli* (YH175A, YH78A, YH131A, YH140B, YH126A), 3 adet *K. oxytoca* (YH152A, YH96, YH98B), 2 adet *C. gleum* (YH67B, YH69A), 1’er adet *E. cloacae* (YH27A), *H. alvei* (YH102A), *A. baumannii* (YH138B) tespit edilmiştir. MALDI-TOF MS analizlerinde skor değerleri incelendiğinde 18 adet izolatın yüksek olasılıklı, 10 adet izolatın muhtemel olasılıklı ve 4 adet izolatın ise düşük olasılıklı oldukları belirlenmiştir (TABLO 4).

İzolatların dağılımları incelendiğinde 13 adetinin Merkez ve merkeze bağlı köylerden, 7 adetini Bucak'tan, 4 adetinin Kemer'den, 3 adetinin Tefenni'den, 2 adetinin Ağlasun'dan, 2 adetinin Çavdır'dan, 1 adetini Gölhisar'dan ve 1 adetinin de Altınyayla ilçesinden olduğu tespit edilmiştir. Tanımlanan suşlarımız insan sağlığı için son derece riskli kabul edilen türlerdir. Bu türlerin süt gibi bir gıda ürününde bulunması riskli bir durum oluşturmaktadır. Süt kalitesi için sağım koşullarına ve sağım personelinin temizliğine dikkat edilmesinin önemli olduğu söylenebilir.

MALDI-TOF yöntemi proteinler, peptitler ve şekerler gibi biyomoleküllerin ve polimerler, dendrimerler gibi büyük organik moleküllerin analizini sağlayan ve kütle spektrometresinde kullanılan hassas bir tekniktir. MALDI-TOF bakteri tanımlamasında, incelenecek olan mikroorganizmaya ait tek koloni doğrudan hedef noktası üzerine yayılır ve matriksle kaplanır. Matriks içindeki numune otomatik modda lazer ışınıyla iyonize edilir. Oluşan kütle spektrumları da ilgili yazılımla incelendikten sonra sistemin kütüphanesindeki verilerle karşılaştırılarak tür tayini yapılır (Çetinkaya ve Ayhan, 2012). Tanımlama için temel alınan mikroorganizma proteinleri esasen çevresel koşullardan az etkilenen ribozomal proteinlerden oluşmaktadır (Yılmaz vd., 2014). Böylece her mikroorganizma için spesifik olan bir çeşit parmak izi oluşturulmakta ve mikroorganizmaların tanımlanması yapılabilmektedir. Geleneksel yöntemlerde bir mikroorganizmanın tanımlanması birkaç gün sürerken, MALDI-TOF MS yönteminde tanımlama işlemi 1 saat hatta yarım saatte tanımlanabilmektedir (Wieser vd., 2012). Ayrıca MALDI-TOF MS yöntemi daha önceden 16S rRNA gen sekansı ile ayrılabilen yakın türlerin bile ayrımını başarıyla yapabilmektedir. Günümüzde kullanılan MALDI-TOF MS teknikleri kültür için kullanılan besiyerlerinden ve üreme koşullarından etkilenmeden çalışmaktadır fakat analiz için alınacak koloninin 48 saatten daha yaşlı olmaması tercih edilmektedir. Yaşlı kültürlerde ayırt edici pik sayısı ve bu piklerin yoğunluğu düşmektedir. Buna neden olarak ise bekleyen kültürlerde meydana gelen ribozomal proteinlerin parçalanması gösterilmektedir (Wieser vd., 2012). Direkt olarak koloniden yapılan çalışmada tanımlama yapılamadıysa mikroorganizmaya protein ekstraksiyon protokolleri uygulanarak yönteminin tekrarlanması önerilmektedir (Van Veen vd., 2010). MALDI-TOF MS yöntemi mikrobiyolojik tanımlama için nispeten yeni bir yöntem olduğundan, yanlış tanımlama ya da tanımlama yapılamama sebebi genellikle veritabanında o mikroorganizma için yeterli referans spektrumlarının olmaması ile açıklanmaktadır (Mellman vd., 2008). Bu eksikliğin veritabanının gün geçtikçe gelişmesi ile beraber yakın bir gelecekte aşılabacağı düşünülmektedir. Rutin bakteri izolatlarında MALDI-TOF MS'in tür bazında doğru

tanımlama oranının %84,1 ile %95,2 arasında değiştiği bildirilmiştir (Eigner vd., 2009; Seng vd., 2009).

Rutin süt mikrobiyolojik prosedürlerinin tamamlanmasının ortalama olarak, 3 ile 5 gün sürmesi ve çeşitli biyokimyasal testler ve deneyimli laboratuvar personel (Barreiro vd. 2010) ihtiyacı zorluğu nedeniyle bazı mikroorganizmaların konvansiyonel yöntemlerle teşhisi için MS teknikleri giderek yaygınlaşmaktadır (Bizzini ve Greub 2010; Sogawa vd., 2011; Steensels vd., 2011). MALDI-TOF MS tekniği mikroorganizmaları tür düzeyinde tanımlayan yüksek doğruluğa sahip ve hızlı bir prosedür olarak ortaya çıkmıştır (Dubois vd., 2010; Sogawa vd., 2011). MALDI-TOF MS rutin olarak dünya çapında uygulanan bir yöntemdir ve birçok klinik mikrobiyal laboratuvarında hızlı analiz ve güvenilir teşhis için kullanılmaktadır (Bizzini ve Greub 2010; Steensels vd., 2011; Welker 2011; Braga vd., 2013).

Bakteri kolonileri kültürlenebildiğinde, MALDI-TOF kullanılarak tek ve hızlı (<60s) bir analiz ile cins (örn. *Staphylococci*) ve tür düzeyinde (örn. aureus) tanımlanabilmektedir (Middleton vd., 2017). MALDI-TOF tanımlama sonuçlarının laboratuvarlar arasında tutarlı olmasını sağlamak için tüm laboratuvarlar tarafından standart prosedürlerin kullanılması önerilmektedir. Laboratuvarlar, iyi karakterize edilmiş izolatlar kullanarak özel veritabanlarına ana spektrumları ekleyerek, türlerin tanımlanmasına izin verebilir veya önceden tanımlanmış türler için doğruluğu artırabilir (Cameron, vd., 2018).

Dobranic vd. (2016), çalışmalarında çiğ inek sütündeki özellikle enterokokal fırsatçı patojenlerin varlığını incelemişler ve standart kültür yöntemleri kullanılarak değerlendirmişlerdir. Süt örnekleri sağlıklı (n=17) ve antibiyotikle tedavi edilmiş inek memelerinden (n=19) alınmıştır. Olası enterokoklar (n=43), kromojenik ortamdan rastgele seçilmiş ve API 20 Strep ile fenotipik tanımlamaya tabi tutulmuş, ardından MALDI-TOF MS ile tanımlanmıştır. MALDI-TOF MS ile API 20 Strep *E. faecalis*'in tanımlanmasında %100 uyum göstermiştir. Yalnızca cins düzeyinde belirlenen suşlar veya API 20 Strep tarafından belirlenmemiş suşlar, MALDI-TOF MS kullanılarak *E. faecalis*, *E. faecium* ve *E. durans* olarak tür düzeyine başarıyla tanımlanmışlardır. Sonuçlar, MALDI-TOF MS'nin çiğ süttten enterokok türlerinin rutin tanımlanmasında güvenilir bir yöntem olarak uygulanabileceğini göstermiştir. Bizim araştırmamızda enterokok suşlarına rastlanılmamıştır.

Barreiro vd. (2017), çalışmalarında süt örneklerinden sığır mastitisine neden olan mikrobiyolojik kültür olmadan MALDI-TOF MS ile doğrudan tanımlama için tespit

limitini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Süt örneklerinde 10^3 ve 10^9 KOB/ml arasında (n=15) *S. aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* ve *E. coli* tespit edilmiştir. Yapılan MALDI-TOF MS analizi ile doğru bir şekilde bakteri türlerinin tanımlanabildiği belirlenmiştir.

Braga vd. (2018) mastitise neden olan patojenlerin geniş çaplı olarak tanımlanması amacıyla subklinik mastitisli ineklerden tanımlanan toplam 305 bakteri izolatını, geleneksel mikrobiyolojik kültür (MK) ve MALDI-TOF MS ile analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda MALDI-TOF MS tarafından gerçekleştirilen tanımlamaların yaklaşık %89'u, MK tarafından elde edilen sonuçlarla tutarlı çıkmıştır. %11 izolatın %6,3'ü yanlış tanımlanmış (hem cins hem de tür düzeyinde uyumsuzluk) olarak sınıflandırılmıştır ve %4,7'si ise cins düzeyinde tanımlanmış yani tür düzeyinde tanımsız olarak sınıflandırılmıştır. Tanımlanamayanların ise iki cins arasındaki dar fenotipik benzerlikten dolayı çoğunlukla *Streptococcus* ve *Enterococcus* olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, biyokimyasal analizlerin tanımlama hatalarına eğilimli olabileceğini ve bu nedenle MALDI-TOF MS'nin yanlış türe özgü tanımlamanın engellenmesi için bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir. Sığır mastitis teşhisi için standart mikrobiyolojik yöntemler, bazı bakteri türleri için zaman alıcı, zahmetli ve hatalara eğilimlidir. Yapılan alışma sonucu Biotyper ile birleştirilmiş MALDI-TOF MS'nin, klasik mikrobiyolojik rutin protokollere kıyasla süt örneklerinden izole edilen bakterilerin geniş ölçekli tanımlanması için alternatif bir yöntem olabileceği ortaya konmuştur.

Boultifat (2018), alışmalarında Cezayir, Constantine'deki yerel bir süt şirketinde, üretim hattının farklı noktalarından toplanan pastörize süt örneklerinden beş bakteri türü izole etmişlerdir. İzolatlar, MALDI-TOF MS yöntemi ile analiz edip, sonuçları doğrulamak için 16S rDNA gen dizileme yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Tüm bakteri izolatlarının, MALDI-TOF MS yöntemi ile tür düzeyinde (skor ≥ 2) başarılı bir şekilde tanımlandığı, buna paralel olarak, 16S rDNA gen dizileme analizi ile beş izolatında tür düzeyinde tanımlandığı tespit edilmiştir (≥ 99 dizi benzerliği). Sonuçlara göre MALDI-TOF MS yönteminin referans yöntem 16S rDNA ile tam bir uyum (%100 aynı tür) gösterdiği belirlenmiştir. Bu alışmada MALDI- TOF ile B1 ve B3 izolatları *B. cereus* ve *B. licheniformis* olarak tanımlanmıştır. 16S rDNA dizi analizi ile ise, B1 izolatının %100 *B. anthracis* olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda 16S rDNA gen dizilimine göre *B. cereus* ile *B. anthracis* %100 benzerlik göstermiştir. Bu sebepten dolayı hem *B. cereus* hem de *B. anthracis* bu analiz ile ayırt edilememiştir. Helgason vd. (2000)'nin çalışmasında da gösterildiği gibi *B. anthracis*, bazı *B. cereus* ve *B. thuringiensis* suşları ile genetik olarak

çok yakından ilişkilidir. Aynı durum B3 izolatı için de geçerli olmuştur. BLAST analizlerinden elde edilen sonuçlara göre *B. licheniformis* ve *B. paralicheniformis* arasında da net bir ayırım yapılamadığı görülmüştür.

Saad vd. (2018) çalışmalarında Mısır'ın Assiut kentinden rastgele iki yüz kırk adet süt ve Domiati, Kareish peyniri ve krema gibi bazı süt ürünü örnekleri toplamışlardır. Toplanan örnekleri, Leeds *Acinetobacter* seçici besiyeri kullanılarak *Acinetobacter* türlerinin insidansı açısından incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, *Acinetobacter* türlerinin çiğ süt örneklerinin %15'inden, Domiati peynir örneklerinin %3,3'ünden, Kareish peynir örneklerinin %13,3'ünden ve krema örneklerinin %13,3'ünden izole edildiğini, pastörize edilmiş süt örneklerinde ise tespit edilemediği belirtilmiştir. Bizim araştırmamızda sadece 1 adet *A. baumannii* tanımlanmıştır.

Nonnemann vd. (2019) çalışmalarında sığır mastitisine neden olan bakteri cinsleri ve türlerinin tanımlanması için bakteri ve izolatları MALDI-TOF MS ile analiz edilmiş ve %93,5'ini tür düzeyinde, %6,5'ini ise cins düzeyinde tanımlamıştır. Cins düzeyinde tanımlanan izolatlar, geleneksel yöntemlerle veya 16S rDNA dizilimi ile tür düzeyinde daha fazla tanımlama gerektirmiştir. Doğrulanmış türlerden elde edilen kütle spektrumları, MALDI-TOF MS veri tabanını genişletmek için kullanılmıştır. Bu çalışmada toplam 24 cins ve 61 tür tespit edilmiştir. Detaylı tanımlama sonuçlarına göre veterinerlik uygulamasından elde edilen 413 izolatı %19,1 (79/413) *S. aureus*, %23,7 (98/413) streptokok, %15,6 (64/413) *E. coli*, %15,6 (64/413) *S. aureus* olmayan stafilokok %3,4 (14/413) *Klebsiella* spp., %2,9(12/ 413) *Corynebacterium* spp. ve %1,5'i (6/413) *Bacillus licheniformis* olan (10/413) *Bacillus* spp. olarak tanımlanmıştır. Sığır izolatlarının ise %12,1'i (50/413) *S. uberis* ve %7,5 (31/413) *S. dysgalactiae* olarak tanımlanmıştır.

Zhang vd. (2019), çalışmalarında Yeni Zelanda'dan farklı mevsimlerde toplanan çiğ sütlerdeki psikrotrofik bakteri çeşitliliğini belirlemek için 16S rDNA, yüksek verimli dizileme (YVD) ve MALDI-TOF MS yöntemlerini kullanmışlardır. İki yöntemde de *Pseudomonas* cinsinin baskın olduğu belirlenmiştir; ancak, baskın türler iki tanımlama yöntemi arasında farklılık göstermiştir. YVD ve MALDI-TOF MS'nin kullanımının, çiğ sütün psikrotrofik bakteri çeşitliliğini tanımlamada tamamlayıcı olduğu ve süt kalitesini etkileyebilecek çiğ süt mikroflorasının belirlenmesinde kullanılabileceği belirtilmiştir.

Aydın vd. (2020) çalışmalarında sıkma peynirlerden izole edilen enterokokların MALDI-TOF MS ve 16S rRNA sekans analizleri kullanarak tanımlamış ve bu izolatların antibiyotik dirençleri ile bazı gıda patojenlerine karşı antibakteriyel etkilerini değerlendirmişlerdir. Seksen dört izolat 16S rRNA sekans analizi sonucunda; 33 (%39,3)

E. faecalis, 29 (%34,5) *E. faecium*, 14 (%16,7) *E. durans*, 4 (%4,8) *E. gallinarum*, 3 (%3,5) *E. casseliflavus* ve 1 (%1,2) *E. thailandicus* olarak tanımlanmıştır. Seksen bir izolat MALDI-TOF MS yöntemi ile aynı tanımlama sonucunu vermiştir (%96,43). İzolatların tanımlanmasında kullanılan iki tanımlama yönteminin arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Ancak MALDI-TOF MS yönteminin daha az iş gücü gerektirmesi, ekonomik ve hızlı olması gibi bazı avantajlarının olduğu belirtilmiştir.

Zeinhom vd. (2021) çalışmalarında toplam 240 süt örneği toplamışlardır. İncelenen numunelerin %36'sından (87/240) *Stenotrophomonas* spp.'ı izole etmişler ve standart biyokimyasal testlerle analiz etmişlerdir. *S. maltophilia*'nın laboratuvarında krema, tereyağı ve peynir gibi örneklerde, farklı koruma koşulları altında canlılığını incelemişlerdir. *S. maltophilia*'nın, ekşi kremada 30, tereyağında 30, %3 tuzlu tereyağında 28, tuzsuz peynirde 30 ve %6 tuzlu peynirde 8 gün canlı kalabildiğini belirlemişlerdir. Böylece, *S. maltophilia* bu çalışmadaki tüm ürünlerde tahmin edilenden daha fazla hayatta kalmayı başardığı tespit edilmiştir. Bu durum *S. maltophilia* suşlarının farklı gıda muhafaza koşulları altında canlı kalmasını sağlayan adaptasyon stratejileri geliştirebildiği şeklinde yorumlanmıştır. Bizim araştırmamızda da 33 izolatın 15 adeti (%45) *S. maltophilia* olarak tanımlanmıştır.

4.3. Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılık Sonuçları

Disk difüzyon testi sonucunda seftazidimde (10 µg) 31 suş, seftazidimde (30 µg) 14 *S. maltophilia* suşu, sefpodaksimide (10 µg) 4 suş, seftrikasonda (5 µg) 9 suş, sefotaksimide (5 µg) 12 suş, amoksisilin/klavulanik asit (30 µg) antibiyotiğinde ise 30 suş zon oluşturmalarına rağmen CLSI'da zon çapı sınır değerleri olmadığı için bu suşların dirençli veya duyarlı olma durumları belirlenememiştir. Zon gelişimi olmayan suşlar incelendiğinde seftazidimde (10 µg) 2 suş, seftazidimde (30 µg) 1 suş, sefpodaksimide (10 µg) 22 suş, amoksisilin/klavulanik asitte (30 µg) 3 suş, seftriaksonda (5 µg) 15 suş, sefotaksimide (5 µg) 18 suş, sefotaksimide (30 µg) 2 suş ve sefepimde (5 µg) 4 suş olduğu tespit edilmiştir. 22 adet suşla en fazla zon gelişimi olmayan antibiyotiğin sefpodaksim (10 µg) antibiyotiği olduğu tespit edilmiştir. Diğer suşlar CLSI referans değerlerine göre incelendiğinde; sefotaksim (30 µg) antibiyotiğinde *H. alvei* YH102A ve *K. oxytoca* YH152A suşları duyarlı bulunurken, 29 suş dirençli bulunmuştur. Sefotaksim (5 µg) antibiyotiğinde *S. maltophilia* (YH100, YH113, YH135B) suşları dirençli bulunmuştur. Seftazidim (30 µg) antibiyotiğinde 13 suş dirençli, *C. gleum* (YH67B ve YH69A), *H. alvei* YH102A, *P. aeruginosa* (YH6B1, YH27C) suşları duyarlı bulunmuştur. Sefpodaksim (10

µg) antibiyotiğinde *E. coli* YH75A, YH131A ve YH140B, *K. oxytoca* YH96 ve YH98B suşları dirençli bulunurken, *H. alvei* YH102A ve *K. oxytoca* YH152A suşları duyarlı bulunmuştur. Seftriakson (5 µg) antibiyotiğinde *P. aeruginosa* YH6B1, YH27C, YH138A, YH148A ve YH152B, *S. maltophilia* YH97B, YH100, YH113 ve YH135B suşları dirençli bulunmuştur. Sefepim (5 µg) antibiyotiğini incelediğimizde *C. gleum* YH67B ve YH69A suşları orta duyarlı, *H. alvei* YH102A suşu duyarlı bulunurken, 25 suşun dirençli oldukları tespit edilmiştir. Sefepim (30 µg) antibiyotiğinde ise, *C. gleum* YH67B ve YH69A, *H. alvei* YH102A, *P. aeruginosa* YH6B1 ve YH148A suşları duyarlı, *K. oxytoca* YH96 ve YH152A, *P. aeruginosa* YH152B, *S. maltophilia* YH64 suşları orta duyarlı, 25 suş ise dirençli olarak tespit edilmiştir. Disk difüzyon yönteminde tüm antibiyotikler genel olarak değerlendirildiğinde ise en duyarlı suşun *H. alvei* YH102A olduğu belirlenmiştir. *H. alvei* YH102A suşunun seftazidim (30 µg), sefpodaksim (10 µg), sefotaksim (30 µg), sefepim (30 µg) ve sefepim (5 µg) antibiyotiklerine duyarlı olduğu belirlenmiştir. *H. alvei* YH102A suşu seftazidim (10 µg), amoksisilin/klavulanik asit (30 µg), seftriakson (5 µg) ve sefotaksim (5 µg) antibiyotiklerinde zon oluşturmaya rağmen CLSI'da zon çapı sınır değerleri olmadığı için sonuçlar yorumlanamamıştır. *A. baumannii* YH138B, *E. cloacae* YH27A, *E. coli* YH78A, *K. oxytoca* YH96, *P. aeruginosa* YH27C, YH148A ve YH152B, *S. maltophilia* YH97B 4'er adet antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. *E. coli* YH75A, YH131A ve YH140B, *K. oxytoca* YH98B, *P. aeruginosa* YH138A, *S. maltophilia* YH100, YH113 ve YH135B ise 5'er adet antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. Bu suşların hepsinin çoklu antibiyotik direncine sahip oldukları belirtilebilir (TABLO 2) (ŞEKİL 4.3).

Araştırmamızda izolatların CHROMagar ESBL besiyerinden izole edilmesine rağmen VITEK® 2 Compact (bioMérieux) analizlerinde incelenen bakterilerde sadece *E. coli* YH131A GSBL pozitif bulunurken, *K. oxytoca* YH152A ise GSBL negatif bulunmuştur. Bakterilerin VITEK® 2 Compact (bioMérieux) sistemi ile antibiyotik dirençlerine bakıldığında ise izolatların %15,2'si *K. oxytoca* (YH96, YH152A), *E. cloacae* (YH27A), *E. coli* (YH131A), *H. alvei* (YH102A) ampisiline, %6,1'i *H. alvei* (YH102A), *E. cloacae* (YH27A) amoksisilin/klavulanik asite, %6,1'i *C. gleum* (YH67B), *E. cloacae* (YH27A) tikarsilin/klavulanik asite, %15,2'si *K. oxytoca* (YH96, YH152A), *E. cloacae* (YH27A), *E. coli* (YH131), *H. alvei* (YH102A) sefalotine, %3'ü *E. coli* (YH131A) sefaperazona, %27,4'ü *P. aeruginosa* (YH27C, YH138A, YH148A), *K. oxytoca* (YH96), *C. gleum* (YH67B), *E. cloacae* (YH27A), *A. baumannii* (YH138A), *H. alvei* (YH102A), *E. coli* (YH131A) seftiofura, %9,1'i *E. coli* (YH131A), *H. alvei* (YH102A), *K. oxytoca* (YH152A) sefkuinoma, %3'ü *C. gleum* (YH67B) imipeneme, %6,1'i *C. gleum* (YH67B),

E. coli (YH131A) gentamisine, %3'ü *E. coli* (YH131A) neomisine, %6,1'i *E. coli* (YH131A), *K. oxytoca* (YH152A) fkumekine, %3'ü *E. coli* (YH131A) enroflaksasine, %3'ü *E. coli* (YH131A) marboflaksasine, %9,1'i *C. gleum* (YH67B), *E. coli* (YH131A), *P. aeruginosa* (YH148A) tetrasikline, %12,1'i *E. coli* (YH131A), *H. alvei* (YH102A), *K. oxytoca* (YH96, YH152A) florfenisole, %12,1'i *E. coli* (YH131A), *P. aeruginosa* (YH148A, YH152B), *S. maltophilia* (YH129D) trimetoprim/SMZ antibiyotiklerine dirençli bulunmuştur. Sonuçlara bakılarak izolatlarımızın en dirençli olduğu antibiyotiğin seftiofur olduğu görülmüştür. Bunun dışında izolatlarımızın en duyarlı olduğu antibiyotik ise %48,5 oranıyla trimetoprim/SMZ olduğu tespit edilmiştir. VITEK® 2 Compact (bioMérieux) analiz sonuçlarına göre araştırmamızda *E. coli* YH131A 13 adet, *H. alvei* YH102A 6 adet, *K. oxytoca* YH152A 5 adet, *K. oxytoca* YH96 4 adet, *E. cloacae* YH27A ve *P. aeruginosa* YH148A 3'er adet antibiyotiğe dirençli bulunmuştur. Ayrıca 11 adet *S. maltophilia* (YH6A, YH12A, YH12B, YH64, YH94A, YH97A, YH99, YH103, YH113, YH129D, YH135B) suşları sefalotin, sefoperazon, seftiofur, sefkuinom, imipenem, gentomisin, neomisin, flumekin, enrofloksasin, marbofloksasin, tetrasiklin, florfenisol ve polimiksin B antibiyotiklerinde VITEK'te tanımlanmış bir referans MİK aralığı olmadığı için çalışılamamıştır; ancak trimetoprim/SMZ antibiyotiğine YH12A, YH12B, YH64, YH94A, YH97A, YH103, YH113, YH135B suşları duyarlı iken, YH129D suşu ise dirençli tespit edilmiştir. Ayrıca YH75A, YH126A, YH140B, YH98B ve YH6B1 suşları yetersiz üremeden dolayı değerlendirilememiştir (TABLO 3).

GSBL üretimi için testleri içeren FDA (Gıda ve İlaç İdaresi) onaylı özel kartlar mevcuttur. Kartların aşılınması normal VITEK kartları ile aynıdır. Tüm kuyuların analizi, gelişme kontrol kuyusu belirli bir eşiğe ulaştığında (4-15 saat) otomatik olarak gerçekleştirilir. VITEK ESBL testinde (bioMérieux Vitek, Hazelton, Missouri) sefotaksim ve seftazidimi tek başına (0,5 µg/mL'de) ve klavulanik asitle (4 µg/mL) kombinasyon halinde kullanılabilir. Klavulanik asit içeren sefotaksim veya seftazidim kuyularındaki gelişme, tek başına sefalosporin içeren kuyudaki gelişme seviyesi ile karşılaştırıldığında, önceden belirlenmiş bir azalma GSBL'nin varlığını gösterir. Yöntemin duyarlılığı ve özgüllüğü %90'ın üzerindedir (Sanders vd., 1996)

Aşırı ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı mikroorganizmalarda antibiyotik direnci gelişimine sebep olmaktadır. Gıda kodeksinde mikrobiyolojik kriterler olmasına rağmen, antibiyotik dirençliliği için düzenleme henüz yapılmamıştır. Beta-laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* suşları enfeksiyonlara karşı tedaviyi başarısız kılarak, insan sağlığını olumsuz etkilemektedir. Özpinar vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada; tavuk eti, çiğ süt

ve açık taze peynir örneklerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarında GSBL- ve/veya AmpC- tipi beta-laktamazların varlıklarının incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada, 109 adet tavuk eti, 135 adet çiğ süt ve 83 adet açık taze peynir olmak üzere toplam 327 adet gıda örneğinde ISO/DIS21528-2 talimatı uyarınca ön ve selektif zenginleştirme ile oksidaz testi uygulanarak mikrobiyolojik inceleme yapılmıştır. Toplam 80 adet GSBL- ve/veya AmpC- pozitif izolat kütle spektrometresi ile tiplendirilmiştir. İzolatlarda *Enterobacteriaceae* dağılımının %68,8 *E. coli*, %8,8 *K. pneumoniae*, %7,5 *E. cloacae*, %6,2 *Citrobacter* spp., %6,2 *H. alvei* ve %2,5 *K. oxytoca* olduğu saptanmıştır. Tiplendirilmiş izolatlarda beta-laktamazların karakterizasyonu CLSI talimatlarına (CLSI, 2013) göre disk difüzyon, disk difüzyon konfirmasyonu ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değeri tespiti ile yapılmıştır. İnceleme sonucu 75 adet izolatta GSBL-, 10 adet izolatta GSBL- ve AmpC- kombinasyonu ve beş adet izolatta AmpC- tipi enzimler karakterize edilmiştir. Sonuç olarak, analiz edilen gıda maddelerinde GSBL- ve/veya Amp- tipi beta-laktamazların baskın enzimler oldukları saptanmıştır.

Saini vd. (2012), çalışmalarında Kanada'daki 6 eyalette bulunan 89 süt çiftliğinde ki süt örneklerinden metisiline dirençli *S. aureus*'da dahil olmak üzere yaygın mastitis patojenlerini izole edip, izolatların antimikrobiyal direnç profillerini incelemişlerdir. *E. coli* suşlarının %62,8'i *Klebsiella* suşlarının ise %55'i çoklu direnç göstermiştir. *E. coli* suşlarında 5'ten, *Klebsiella* suşlarında ise 2'den fazla antibiyotiğe direnç tespit edilmiştir. *E. coli* ve *Klebsiella* türlerinin izolatlarda en yaygın türler olduğunu ve hiçbirinin GSBL üreticisi olmadığını, ayrıca Gram negatif meme patojenlerinin çoğunun çoklu antibiyotik dirençli olduklarını belirlemişlerdir.

E. coli suşlarında GSBL saptanması için çeşitli yöntemlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, çalışılan 42 suştan 20'si ÇDS testi ile, 15'i VITEK 2 ile GSBL pozitif olarak saptanmıştır. En fazla pozitifliği 40 suşla ChromID ® ESBL (bioMérieux, Fransa) yöntemiyle saptamalarına rağmen, ÇDS testinin fenotipik metotlar arasında, *E. coli* suşlarında GSBL saptanması için en uygun metot olduğu belirtilmiştir (Kałużna, vd., 2014).

Genç ve Dünder (2015) çalışmalarında, GSBL varlığını saptamada VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) tam otomatize sistemi ile Çift Disk Sinerji (ÇDS) testi arasında fark olup olmadığının araştırılmasını amaçlamışlardır. 2014 yılı içerisinde enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 95 *E. coli* ve 61 *K. pneumoniae* suşu çalışmaya alınmıştır. VITEK 2'nin GSBL negatif sonuç verdiği bir *E. coli* ve üç *K. pneumoniae* suşu ÇDS testi ile GSBL pozitif, VITEK 2'nin GSBL pozitif sonuç verdiği on iki *E. coli* ve dört *K. pneumoniae* suşu

ise ÇDS testi ile negatif bulunmuştur. VITEK 2'nin duyarlılığı %93,3, özgüllüğü %81,8, yanlış pozitiflik oranı %18,1, yanlış negatiflik oranı %6,6 ve doğruluk oranı %86,4 olarak saptanmıştır. VITEK 2 otomatize sistemi ile GSBL saptanmasında yalancı negatif ve yalancı pozitif sonuçlar alınabilmekle birlikte, duyarlılık ve özgüllüğünün yüksek olduğu görülmektedir. Ancak bunun referans yöntem olmadığı unutulmamalı, uyumsuz sonuçlarda ikinci bir test ile GSBL varlığı/yokluğu doğrulanmalıdır. Bizim çalışmamızda referans yöntemde seçici besiyeri olan CHROMagar™ ESBL (bioMérieux) besiyerinde suşlarımızın hepsi GSBL pozitif sonuç vermiştir; ancak VITEK 2 Compact sisteminde sadece *E. coli* YH131A GSBL pozitif bulunmuştur.

Çakıcı vd. (2021) çalışmalarında gıda endüstrisi çalışanlarından elde edilen toplum kaynaklı *Enterobacteriaceae* üyelerinde antimikrobiyal direnç ve GSBL, karbapenemaz üretiminin belirlenmesini amaçlamışlardır. Elde edilen 222 adet Gram negatif bakterinin tür bazında dağılımı; 129 (%58,1) *K. pneumoniae*, 32 (%14,4) *E. cloacae*, 31 (%13,9) *A. baumannii*, 11 (%4,9) *E. coli*, 8 (%3,6) *Enterobacter asburiae*, 4 (%1,8) *Escherichia hermanni*, 3 (%1,4) *Enterobacter aerogenes* 2 (%0,9) *K. oxytoca* ve 2 (%0,9) *Enterobacter cancerogenus* olarak belirlenmiştir. *Enterobacteriaceae* üyelerinden (n: 191) 7'sinin (%3,7) klinik sınır değerlere göre sefotaksime dirençli (<17mm) olduğu tespit edilmiştir. Sefotaksim inhibisyon çapı GSBL tarama sınır değeri altında (<21mm) tespit edilen 13 izolatın kombine disk ve ÇDS testi sonuçlarına göre *K. pneumoniae*, *E. cloacae*'ya ait iki bakterinin GSBL pozitif olduğu belirlenmiştir. PZR yöntemine göre *K. pneumoniae* izolatının CTX-M geni taşıdığı ve hastanede görevli olan bir gıda çalışanından izole edildiği tespit edilmiştir. Gıda çalışanlarında bu sayıda Gram negatif bakterilerin tespit edilmesi hijyen eğitimlerine önem verilmesi gerektiğini düşündürmüştür.

Kalmus vd. (2011), mastitisli ineklerden izole ettikleri *E. coli* suşlarının %24,3'ünün ampisiline, %15,6'sının streptomisine, %13,5'inin tetrasikline, %12'sinin trimetoprim-sülfometaksazol %2,2'sinin gentamisine, %1,6'sının enrofloksasine dirençli olduğunu tüm suşların ise sefaperazona duyarlı olduğunu saptamışlardır. Sığır mastitislerinden izole edilen *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp. suşlarında birden fazla antibiyotiğe karşı direnç gelişimi nadirken, *E. coli* suşlarında bu durumun daha yüksek oranda gözleendiği ve birden fazla antibiyotiğe karşı direnç gelişiminin “çoklu ilaç direnci” olarak tanımlandığı bildirilmektedir (Lehtolainen vd., 2003; Srinivasan vd., 2007; Bengtsson vd., 2009; Kalmus vd., 2011). Lehtolainen vd. (2003), inceledikleri mastitis orijinli *E. coli* suşlarının %11'inin, Bengtsson vd. (2009) %12,3'ünün, Srinivasan vd. (2007) ise %100'ünün çoklu ilaç dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Dehkordi vd. (2014) fermente süt ürünlerinden izole edilen Shiga toksini üreten *E. coli* (STEC) sularının tetrasiklin (%84), penisilin (%46), sefalotin (%42), ampisilin (%38) ve streptomisine (%36) karşı yüksek bir direnç prevalansı gösterdiğini tespit etmiştir. Tark vd. (2017) iğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* sularının tetrasiklin (%23,3), streptomisin (%17,10), ampisilin (%16,60), neomisin (%11,80) ve trimetoprim'e karşı yüksek direnç prevalansı gösterdiğini belirlemişlerdir.

İbrahim vd. (2016) alımalarında, tek bir süt iftliğinden *E. coli* sularının antibiyotik direnç genlerinin kalıcılığını belirlemek için çiftliğin farklı alanlarından bulamaç ve dışkı örneklerinden seçici mikrobiyolojik besiyerleri kullanarak 126 *E. coli* izolatu elde etmişlerdir. 17 antibiyotik için antibiyotik direnç profili belirlenmiş, izolatların %57,9'nun 3 ile 15 antibiyotiğe dirençli olduğunu tespit edilmiştir. En yüksek direnç sıklılığının ampisiline (%56,3) ve en düşük direncin ise imipeneme (%1,6) olduğu belirlenmiştir. GSBL direnci 53 izolatta saptanmış ve PZR ile sırasıyla 12, 4 ve 2 suçta *blaCTX-M*, *blaTEM* ve *blaOXA* genleri belirlenmiştir. Fenotipik olarak sefalosporinlere direnç gösteren izolatların çoğu GSBL'den ziyade AmpC'ye direnç göstermiştir. Test edilen sular arasında en yüksek direnç ampisilinden sonra oksitetrasiklin, streptomisin ve sülfonamid (sırasıyla %41,1, 39,6 ve %37,3)'te tespit edilmiştir. Ayrıca, izolatların tümü üçüncü kuşak sefalosporinler olan sefotaksim, seftazidime ve seftiofur'a sırasıyla %38, %14,2 ve %23' direnç gösterirken, izolatların %11,1'i dördüncü kuşak bir sefalosporin olan sefkinome direnç göstermiştir. İzolatların yaklaşık %48'i doğrudan β -laktam antibiyotik takviyeleri içeren besiyerlerinden seçildiği için bu sonuç normal olarak değerlendirilmiştir. CHROMagar GSBL'den izole edilen izolatların çoğu, sefkinom, seftiofur, seftazidim, sefotaksim ve aztreonam GSBL direnci ile yakından ilişkili bir direnç kümesi oluşturmuştur. Çalışmamızda *E. coli* YH131A suunun en yüksek antibiyotik direnç profiline sahip olduğu, çalışmada kullanılan 16 antibiyotiğin 13'nde direnç oluşturduğu, sadece amoksisilin/klavulanik asit, tikarsilin/klavulanik asit ve imipenem antibiyotiklerine duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Gharavi vd. (2021) idrar yolu enfeksiyonu olduğundan şüphelenilen hastalardan toplam 21.604 idrar rneği toplamılar ve antimikrobiyal duyarlılıkları ile GSBL prevalansını belirlemeyi amaçlamışlardır. İzole edilen sulardan *K. oxytoca* izolatlarının %100 duyarlılık oranıyla imipenem'e karşı reaktif olduğu ve bunu amikasinin (%92,3) izlediği tespit edilmiştir. Ancak izolatların hiçbiri ampisiline (%0) duyarlı çıkmamıştır. 23 pozitif *K. oxytoca*'nın 5'ini (%38,46) GSBL pozitif olarak doğrulamışlardır. GSBL üreten izolatlar; sefazidime, sefotaksim, norfokasin, sefaleksine ve ko-trimoksazole karşı oldukça

dirençli çıkmıştır. *P. aeruginosa* izolatları için en düşük duyarlılık oranının sefaleksim (%7,1) ve sefotaksim (%15,4)'e karşı olduğu belirlenmiştir (%4,34). Araştırmacılar *P. aeruginosa*'nın test edilen 13 antibiyotikten 10 antibiyotiğe %100 duyarlı olduğunu bulmuşlardır. Yapılan bu çalışmada, GSBL izolatları arasında *E. coli* türünün en belirgin izolat olduğu ve bunu *Klebsiella* spp.'nin izlediği tespit edilmiş; ancak birçok çalışmada *K. pneumoniae*'nin en yüksek GSBL üreticisi olduğu ve bunu *E. coli*'nin izlediği belirtilmiştir (Şenbayrak vd., 2017; Köksal vd., 2019).

A. baumannii, hastane enfeksiyonlarının, önde gelen mortalite ve morbidite sorunlarının önemli bir nedenidir. Beta-laktam antibiyotiklere, özellikle 3. nesil sefalosporinlere ve karbapenemlere dirençli olan *A. baumannii* enfeksiyonlarının yaygın şekilde yayılması, küresel ölçekte önemli bir sorun haline gelmiştir (Pfeifer vd., 2010). *A. baumannii* ile ilgili en önemli sorun özellikle hastane enfeksiyonlarında tedavi için uygun antibiyotik seçiminin zor olmasıdır (Kempf ve Rolain, 2012). Ghaima (2018) çalışmasında Irak'ta Bağdat şehrinin 2 hastanesinden yanık enfeksiyonu olan hastalardan toplanan 90 örnekten 65 *A. baumannii* (%72,2) izole etmiştir. Toplam 65 izolattan 40 (%61,53) *A. baumannii* izolatının GSBL enzimi üretebildiği belirlenmiştir. GSBL üreten 40 *A. baumannii* izolatının 8 beta-laktam antibiyotiğe duyarlılığı Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. İzolatların tüm antibiyotiklere yüksek direnç gösterdiği belirlenmiştir. 40 *A. baumannii* izolatından sırasıyla %95, %92,5, %92,5 ve %90'ı sefotaksime, seftazidime, sefepime ve piperasilin'e direnç göstermiştir. Bizim çalışmamızda tanımlanan *A. baumannii* YH138B suşunun VITEK 2 Compact'ta incelenen antibiyotiklerden sadece tetrasikline direnç oluşturduğu tespit edilmiştir.

Jacoby ve Han (1996) tarafından yapılan çalışmada GSBL üreticisi 40 adet *E. coli*'nin %40'ı ve GSBL üreticisi 141 *K. pneumoniae* izolatının %29'u en az bir oksimino-b-laktam diskinde duyarlı bulunmuştur. 181 GSBL üreticisi suşlar arasında sadece bir tanesi aztreonam ve seftazidime duyarlı ancak sefotaksime dirençli bulunmuştur. Seftazidime duyarlı olduğu belirlenen 39 GSBL üreten izolatın 5'i aztreonam dirençli iken, 31 GSBL üreten izolattan seftazidime dirençli olan 4 tanesinin test edilen aztreonama duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Gündoğan ve Yakar (2007), çalışmalarında çiğ süt, pastörize süt, dondurma ve beyaz peynir örneklerinden 43 adet *Klebsiella* spp. izole etmişlerdir. İzole edilen *Klebsiella* türlerinin 14 antimikrobiyal ajana dirençlilikleri tespit edilmeye çalışılmıştır. Çalışma sonunda 43 *Klebsiella* türünün siprofloksasine (%4,6), gentamisine (%2,3), sefotaksime (%11,6), seftazidime (%7), sefepime (%9,3), trimetoprim/sülfametoksazola (%2,3),

ampisilin/sulbaktam (%4,6) ve aztreonama (%32,5) verilen oranlarda, ampisilin ve amoksisiline ise (%100) oranında direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Buna karşın tüm suşların meropenem, imipenem, amikasin ve piperasilin/tazobaktama duyarlı oldukları belirtilmiştir. Bizim araştırmamızda *K. oxytoca* YH96 ve YH152A suşları VITEK 2 Compact analizinde ampisilin, florfenisol ve sefalotine dirençli bulunurken YH96 suşunun ayrıca seftiofura da direnç gösterdiği tespit edilmiştir.

Hindistan'da Doon vadisinin çiğ sütlerinde bulunan ESBL üreten *Klebsiella* türlerinin varlığının değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışma Temmuz 2007-2008'de gerçekleştirilmiştir. Doon vadisinden toplam 100 çiğ süt örneği toplanmıştır. Bu örnekler kültüre alınmış ve izole edilen organizmalar standart bakteriyolojik metodlar kullanılarak tanımlanmıştır. Toplam 27 örnekte *Klebsiella* türleri pozitif bulunmuştur. Ayrıca yapılan GSBL fenotipik tarama sonucunda 27 izolatın tümünde GSBL üretimi tespit edilmiştir. İzole edilen *Klebsiella* spp.'ler imipeneme %96,29, siprofloksasine %62,96, piperasilin/tazobaktam kombinasyonuna %51,85 ve ceftazidime %18,51 duyarlı olarak belirlenmiştir. Bu çalışma Doon vadisinde çiğ süttten izole edilen *Klebsiella* suşlarının büyük oranda GSBL ürettiğini ortaya koymaktadır. Araştırmacılar GSBL üreten *Klebsiella* izolatlarına karşı oldukça duyarlı bulunan imipenem antibiyotığının tedavi için kullanılabileceğini belirtmiştir (Chauhan vd., 2013). Saini vd. (2020) çalışmalarında süt örneklerinde *K. oxytoca* prevalansını değerlendirip antibiyogramlarını inceledikleri araştırmalarında çeşitli kaynaklardan toplanan toplam 100 süt örneğinden toplam 7 tane *K. oxytoca* türünü izole etmişlerdir. İzolatlar, ofloksasin ve kloramfenikol'e eşit derecede duyarlı bulunmuş; ancak hiçbirinde çoklu ilaç direnci tespit edilmemiştir. Bu örneklerin bazılarında diğer koliformlarda tespit edilmiştir. Çiğ süttün önemli bir *K. oxytoca* kaynağı olduğunu, oral yolla alınabilecek bir patojen olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmamızda izole ettiğimiz *K. oxytoca* suşlarının ampisilin, sefalotin, seftiofur, sefkuinom, flumekin ve florfenisol antibiyotiklerine dirençli oldukları; ancak amoksisilin/klavulanik asit, sefaperazon, tikarsilin/klavulanik asit, gentamisin, imipenem, neomisin, enroflaksasin, marboflaksasin, tetrasiklin, trimetoprim/smz gibi antibiyotiklere duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Bratu vd. (2005), Brooklyn'deki 15 hastaneden hasta izolatlarından 691 örnek toplamış, tüm izolatlarda %5 olan amikasin direncinin imipenem dirençli izolatlarda %13'e, seftazdim direncinin %23'ten %49'a, piperasilintazobaktam direncinin %17'den %35'e, siprofloksasin direncinin %46'dan %89'a yükseldiğini bildirmişlerdir. Üstün (2010), Dicle Üniversitesi Hastanesi'nden farklı polikliniklerden yara, trakeal aspirat,

idrar, kan ve diren örneklerinden 75'i karbapenem (imipenem ve meropenem) dirençli, 75'i duyarlı 150 hastane kökenli *P. aeruginosa* suşu izole etmişlerdir. Karbapenem duyarlı *P. aeruginosa* izolatlarında %1 olan amikasin direncinin karbapenem dirençli suşlarda %61,3'e, seftazidim direncinin %21,3'den %89,3'e, piperasilin direncinin %20'den %96'ya, gentamisin direncinin %28'den %93,3'e, siprofloksasin direncinin %9'dan %60'a arttığı tespit edilmiştir.

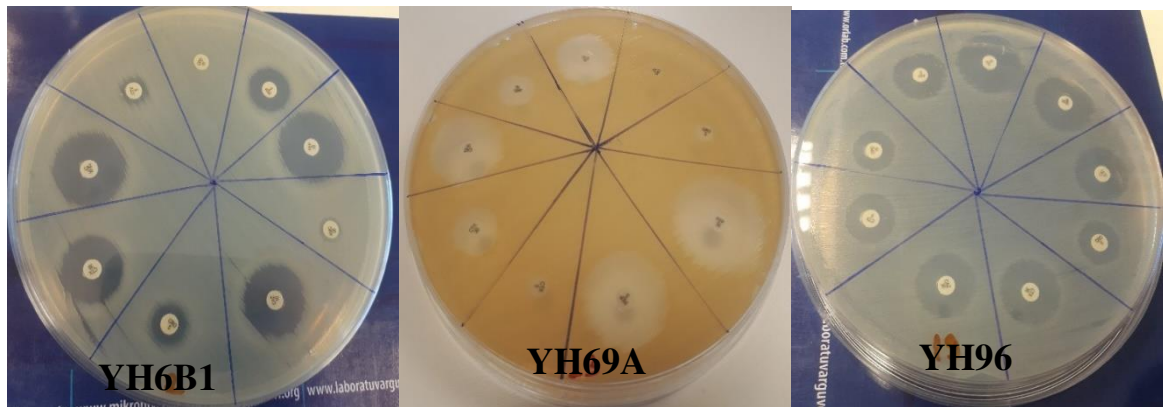
Seftazidim, beta-laktamazlara karşı yüksek derecede dirençli olan antipsödomonal bir üçüncü kuşak sefalosporindir. *P. aeruginosa*'nın neden olduğu enfeksiyonların kombine tedavisinde öncelikle tercih edilen antimikrobiyal ajanlardan birisi olan seftazidim, ampirik tedavilerde de kullanılmaktadır (Öztürk vd., 2011). Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda *P. aeruginosa* izolatlarında imipeneme %3 ile %71,1 meropeneme ise %9,5 ile %60 arasında değişen oranlarda direnç bildirilmiştir (Zarakolu vd., 2005; Vahaboğlu vd., 2008; Güven vd., 2008; Tunçoğlu vd., 2009; Öztürk vd., 2010; Paköz vd., 2011; Türkdagi vd., 2011; Ağca ,2011; Söğüt vd., 2011; Uzun vd., 2012; Atilla vd., 2012; Aktaş vd., 2012). Bizim çalışmamızda izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının imipeneme direnç göstermediği aksine duyarlı oldukları; ancak seftiofur, tetrasiklin, trimetoprim/smz antibiyotiklerine değişen oranlarda direnç gösterdikleri tespit edilmiştir. Scaccabarozi vd. (2015) çalışmalarında 7 klinik mastitis vakası olan keçiden 142 süt örneği toplamışlardır. 142 süt örneğinde yapılan bakteriyolojik analizlerde, sütlerin 12'sinde (%50) *P. aeruginosa*, 6'sında (%25) koagülaz negatif stafilokok (CNS), 1'inde (%4.17) *Streptococcus* spp., 1'inde (%4.17) *S. aureus* ve 2'sinde (%8.33) *Micrococcus* spp. ve *Bacillus* spp. tespit edilmiştir. Tüm *P. aeruginosa* izolatları 3 veya daha fazla antibiyotik sınıfına direnç göstermiştir. En yüksek düzeyde direnç, Avrupa'da gıda hayvanları için onaylanan en yaygın kullanılan beta-laktam antibiyotiklere (ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, oksasilin) ve test edilen tüm sefalosporinlere karşı bulunmuştur.

Azevedo vd. (2018) çalışmalarında 8 *E. cloacae* ve 6 *E. aerogenes* suşu olmak üzere toplam 14 *Enterobacter* türü izole etmişlerdir. EC01 ve EA06 izolatlarının geniş spektrumlu sefalosporinlere veya karbapenemlere karşı duyarlılık göstermediğini ve EA05 ve EA06 izolatlarının karbapenemlere duyarlı olmadığını tespit etmişlerdir. İzole edilen tüm suşlarda dokuz virulans geni araştırılmıştır ve hiçbir *E. cloacae* suşunun antibiyogram testinde virulans genlerine sahip olmadığını belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda izole ettiğimiz *E. cloacae* suşunun disk difüzyon testinde seftazidim (10 µg), seftazidim (30 µg), sefpodaksim (10 µg), seftriakson (5 µg), seftriakson (30 µg), sefotaksim (5 µg), sefepim (5

µg), sefepim (30 µg) antibiyotiklerine direnç gösterdiği, amoksisilin/klavulanik asit (30 µg) antibiyotiğinde ise CLSI'da zon çapı sınır değeri olmadığı için dirençli mi yoksa duyarlı mı olduğu belirlenememiştir. VITEK 2 Compact analizine baktığımızda ise ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, tikarsilin/klavulanik asit, sefalotin ve seftiofur antibiyotiklerine dirençli olduğu diğer antibiyotiklere ise duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Cho vd. (2018) çalışmalarında. Almanya'daki bir süt tozu üreticisinden elde edilen süt tozundan 47 *Acinetobacter* spp. suşu izole etmişlerdir. 47 suşun 42'si 16S rRNA gen dizilimine dayalı olarak *A. baumannii*, 4'ü *A. pittii* ve 1'i *A. calcoaceticus* olarak tanımlamıştır. Tüm suşlar, kloramfenikol ve oksasiline karşı dirençli; ancak tetrasiklin, tobramisin, eritromisin ve siprofloksasine karşı duyarlı bulunmuştur. Sefotaksim için 43 suş (%91,5) orta ve 3 suş (%6,4) dirençli iken, sırasıyla 3 (%6,4) ve 21 (%44,7) suş sefepime ve streptomisine direnç göstermişlerdir. Çalışmamızda izole ettiğimiz *A. baumannii* izolatının VITEK'te hiçbir antibiyotiğe direnç göstermediği aksine duyarlı olduğu disk difüzyon yönteminde ise seftazidim (30µg), sefepim (30µg) ve sefotaksim (30µg) antibiyotiklerine direnç gösterdiği, diğer kalan 6 antibiyotiğin ise CLSI'da zon çapı sınır değerleri olmadığı için dirençli ve/veya duyarlılık durumları tespit edilememiştir.

Arouna vd. (2017) çalışmalarında idrar örneğinden izole ettikleri *C. gleum*'un metallo-β-laktamaz geni nedeniyle karbapenem de dahil olmak üzere çok çeşitli antibiyotiğe dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. *C. gleum*'un nadir olarak enfeksiyona neden olduğunu ve Afrika'da daha önce böyle bir vaka bildirilmediğini; ancak düşük virülansına rağmen, *C. gleum* suşunun potansiyel bir fırsatçı patojen olarak düşünülmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Daha iyi tanı ve tedavi için *C. gleum*'un epidemiyolojisi, patojenitesi ve direnç mekanizmaları hakkında daha fazla çalışmanın yapılmasının önemini vurgulamışlardır.



Şekil 4.3. Antibiyogram aktivite testi sonucundaki zon görüntüleri

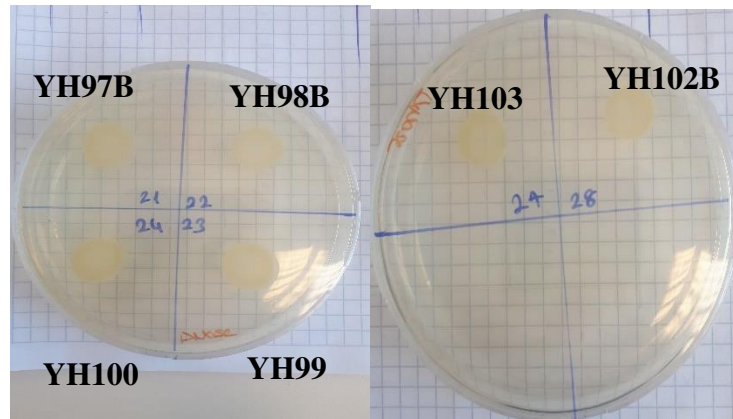
4.4. Bakterilerin Bazı Virulans Özellikleri Sonuçları

4.4.1. DNaz Aktivitesi Sonuçları

DNaz aktivite testi çalışmasında DNaz test agar besiyerine inokule edilen 33 bakteriden hiçbirinde şeffaf zon tespit edilmemiştir. Bu sebeple sonuçlar tüm bakteriler için negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.4.1).

DNaz testi, patojenik stafilocokları tanımlamak için geleneksel olarak ek bir test olarak kullanılan basit, ekonomik bir yöntemdir. Bu test ayrıca *Enterobacteriaceae* ve *P. aeruginosa*, *Aeromonas* sp., *Clostridium* sp. ve *Moraxella catarrhalis* dahil olmak üzere diğer birçok patojenin *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* ile yakından ilişkili cinslerin farklılaşmasına da yardımcı olur (MacFaddin 2000; Koneman vd., 2006).

Gündoğan vd. (2006), çalışmalarında toplam 180 adet çiğ süt, pastörize süt ve dondurma örneğini *S. aureus* varlığı açısından analiz etmişlerdir. Bu örneklerden 110 adet *S. aureus* suşu izole edilmiş ve DNaz aktivitesi DNaz agarda incelenmiştir. 110 *S. aureus*'un %94,5'inde DNaz aktivitesi tespit edilmiştir. *P. aeruginosa*, çok çeşitli çevresel nişleri işgal eden fırsatçı bir patojendir. Hücre dışı DNA, çeşitli ortamlarda her yerde bulunur ve zengin bir karbon, nitrojen ve fosfat kaynağıdır. Mulcahy vd. (2010), yaptıkları çalışmalarında ve kistik fibroz hastalarından izole edilmiş *P. aeruginosa* suşlarının DNA'yı besin kaynağı olarak kullanabildiğini göstermişlerdir. Fosfat sınırlayıcı koşullar altında *P. aeruginosa* tarafından üretilen hücre dışı enzim olan DNaz tarafından DNA'nın parçalanarak fosfat kaynağı olarak kullanıldığını göstermişlerdir. *P. aeruginosa* tarafından üretilen DNaz enziminin ayrıca virulans ve biyofilm oluşumu için önemli etkilere sahip olduğu bildirilmiştir.



Şekil 4.4.1. DNaz aktivite değerlendirilmesinde zon görüntüleri

4.4.2. Jelatinaz Üretim Sonuçları

Jelatin, hayvansal kollojen türevi olan bir proteindir. Jelatini hidrolize eden enzim jelatinaz adını alır. Jelatinaz üretimi bazı bakteriler için virulans faktörü olabilmektedir (Seçkin ve Dostbil, 2018)

Çalışma sonucunda 9 adet izolatta jelatinaz üretimi pozitif olarak bulunmuştur. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde 15 *S. maltophilia* suşundan 5 tanesinde (YH6A, YH100, YH101, YH103, YH129D), 2 adet *C. gleum* suşundan 1 tanesinde (YH67B), 5 adet *E. coli* suşundan 2 tanesinde (YH131A, YH140B) ve 1 adet *A. baumannii* suşunda (YH138B) jelatinaz üretimi pozitif bulunmuştur. Jelatinaz üretimine ait sonuçlar TABLO 5' de verilmiştir (ŞEKİL 4.4.2.).

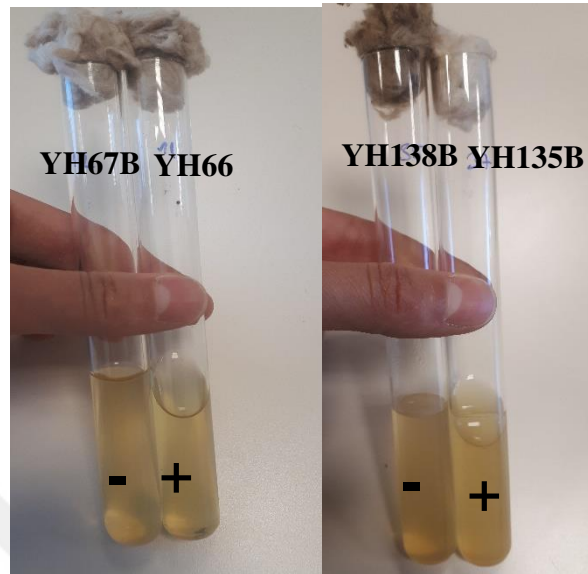
Jelatinaz, özellikle *E. faecalis*'te ortaya çıkan virulans faktörlerinden biridir. Bu enzim canlı bir organizmanın jelatini polipeptitler, peptitler ve amino asitler gibi alt bileşenlere parçalayarak yani hücre zarından geçebilir ve organizmalar tarafından kullanılabilir forma getirilmesine yarayan enzimdir (Lauková vd., 2015). Enterokok ve *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının patogeneğinde önemi ortaya konmuş jelatinaz enziminin *A. baumannii* suşlarında sıklığı, önemi ve diğer virulans özellikleri ile ilişkisi ise net olarak bilinmemektedir.

Travassos vd. (2004), Brezilya Rio de Janeiro'da yedi hastaneden izole ettikleri 39 adet klinik *S. maltophilia* suşlarında yaptıkları enzimatik testler sonucunda suşların %97,6'sının DNaz ve jelatinaz aktivitelerini gösterdiğini belirlemişlerdir.

Silva Lopes vd. (2006), süt enterokoklarının virulans potansiyelini araştırmak için çiğ koyun sütünden ve geleneksel olarak fermente edilmiş peynirlerden elde ettikleri 35 adet *E. faecalis*, *E. faecium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus dispar* ve *Enterococcus hirae* suşunun jelatinaz üretme kapasiteleri ve *gelE*, *sprE*, *fsrA*, *fsrB* ve *fsrC* genlerinin varlığını taramışlardır. Sonuçlar, virulans faktörü olan jelatinazın cinsler arasında yayıldığını göstermiştir. *Enterococcus* ve süt izolatlarının klinik izolatlarla karşılaştırılabilir seviyelerde jelatinaz üretebildiği, ancak kolaylıkla laboratuvarda dondurularak kaybolduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle süt enterokoklarının jelatinaz üretim potansiyelinin hafife alınabileceği belirtilmiştir.

Jelatinaz enzimi, protein substratları arasında jelatin ve kollajeni hidrolize edebilir. *jelE*'nin ekspresyonu yoluyla jelatinaz üretiminin, *fsrA*, *fsrB* ve *fsrC* ürünleri tarafından hücre yoğunluğuna bağlı bir şekilde düzenlendiği açıklanmaktadır. Bu genler, sırasıyla

tepki düzenleyici, sensör dönüştürücü ve otoindükleyici peptidleri kodlamaktadır (Qin vd., 2001).



Şekil 4.4.2. Jelatinaz üretimi deneyinde 48 saat inkübasyon süresi sonunda +4 °C’de 1 saat bekletildikten sonraki görüntüleri

4.4.3. Dekarboksilaz Aktivite Sonuçları

Çalışmamızda izole edilen 33 suşdan 18 adeti (%54,5) *S. maltophilia* (YH6A, YH12A, YH12B, YH64, YH93, YH94A, YH97A, YH97B, YH99, YH100, YH101, YH103, YH129D), *K. oxytoca* (YH96, YH98B, YH152A), *C. gleum* YH67B, *E. coli* YH131A tirozinde, 6 adeti (%18,2) *P. aeruginosa* (YH138A, YH148A), *K. oxytoca* YH96, *E. coli* YH140B, *A. baumannii* YH138B, *S. maltophilia* YH113 fenilalaninde, 25 adeti (%75,8) *S. maltophilia* (YH6A, YH12A, YH12B, YH64, YH93, YH94A, YH97A, YH97B, YH99, YH100, YH101, YH129D), *P. aeruginosa* (YH6B1, YH27C, YH138A), *K. oxytoca* (YH96, YH98B, YH152A), *C. gleum* (YH67B, YH69A), *E. coli* (YH75A, YH78A, YH126A, YH131A), *H. alvei* YH102A triptofanda dekarboksilaz aktivite gösterirken; histidin, lizin ve ornitin aminoasitlerinde 33 izolattan hiçbiri dekarboksilaz aktivite göstermemiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde suşların en yüksek triptofan biyojen aminini dekarboksile ettiği görülmektedir. Pozitif ve negatif suşların yanında bazı suşların şeffaf zonlar oluşturduğu görülmüştür. Bunlar incelendiğinde histidinde 5 adeti (%14,7) *S. maltophilia* (YH112, YH135B), *E. coli* YH140B, *P. aeruginosa* YH138A, *A. baumannii* YH138B, tirozinde 9 adeti (%27,3) *P. aeruginosa* (YH6B1, YH27C, YH152B, YH138A, YH148A), *S. maltophilia* (YH113, YH135B), *E. coli* YH140B, *A. baumannii* YH138B,

lisinde 3 adeti (%9,1) *S. maltophilia* (YH112, YH135B), *P. aeruginosa* YH148A, ornitinde 4 adeti (%12,1) *S. maltophilia* (YH113, YH135B), *P. aeruginosa* (YH148A, YH152B), fenilalaninde 11 adeti (%33,3) *S. maltophilia* (YH99, YH100, YH101, YH103, YH129D), *P. aeruginosa* (YH6B1, YH27C), *H. alvei* YH102A, *K. oxytoca* YH98B, *E. coli* (YH126A, YH131A), triptofanda 2 adeti (%6,1) *S. maltophilia* YH135B, *P. aeruginosa* YH148A şeffaf zon oluşturmuştur. İncelenen suşlardan 6 biyojen aminin hepsinde de dekarboksilaz aktivitesi gösteren veya incelenen aminoasitlerin tamamında dekarboksilaz aktivitesi göstermeyen suş tespit edilmemiştir. Tüm suşlar genel olarak değerlendirildiğinde biyojen amin üretimi açısından riskli suşlar oldukları görülmektedir (Şekil 4.4.3.) (TABLO 6)

Maifreni vd. (2013) hem lizini hem de ornitini dekarboksilatlama yeteneğinin tüm *Enterobacteriaceae* türlerinde mevcut olduğunu, sadece *E. cloacae* ve *H. alvei* suşlarının potansiyel tiramin üreticileri olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca *H. alvei* suşunun tirozin, lizin ve ornitin amino asitlerini dekarboksile edebildiği tespit edilmiştir. Bizim araştırmamızda *E. cloacae* YH27A ve *H. alvei* YH102A suşlarında tirozin oluşumu tespit edilmemiştir.

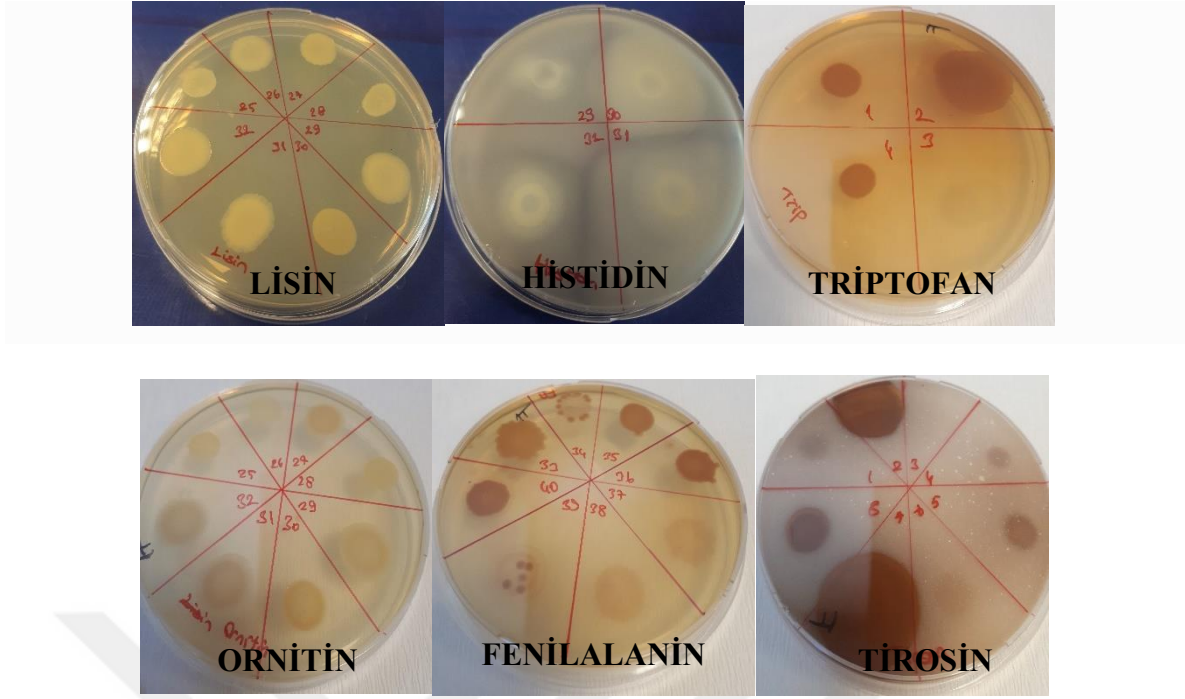
Espinosa-Pesqueira vd. (2018)'nin koyun sütü peynirlerinden izole ettikleri 11 Gram negatif suşu dekarboksilaz aktivitesi göstermiştir. Bunlardan 5 tanesi *H. alvei* olarak tanımlanmış ve bu suşların kadaverin, putresin ve histamin biyojen aminlerini oluşturmak için maksimum kapasiteye sahip oldukları belirlenmiştir. Maksimum tiramin oluşturma kapasitesinin *C. freundii* suşu tarafından olduğu, aynı zamanda *K. oxytoca* ve *E. coli* suşlarının güçlü diammin üretim kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda ise *H. alvei*, *K. oxytoca* ve *E. coli* suşlarının putresin, kadaverin ve histamin oluşum miktarlarının gıdalarda 100 mg/L'nin üzerinde olduğu da bildirilmiştir (Marino vd., 2000; Bover-Cid vd., 2001; Roig-Sagués vd., 2002; Pircher vd., 2007; Torracca vd., 2018).

Gram negatif bakteriler arasında, enterobakteriler ve *Pseudomonas* histamin, kadaverin ve putresin üreticileri olarak bilinirler (Ben-Gigirey vd., 2000 ; de las Rivas vd., 2007 ; Pircher vd., 2007 ; Lorenzo vd., 2010). Enterobakteriler tarafından üretilen biyojen aminler fermente edilmiş sosler, et ve peynirlerde de bulunmuştur (Ruiz-Capillas ve Jiménez-Colmenero, 2004 ; Bover-Cid vd., 2009 ; Linares vd., 2011). Olağan kontaminantlar olarak tanımlanan Gram negatif bakterilerin sütte histamin üretebildiği, *H. alvei*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *Serratia* spp.'nin putresin ve kadaverin üretiminde esas

olarak ilişkilendirildiği belirtilmiştir. Bu uygulamalar sonucunda biyojen amin varlığının kalitesiz veya kötü üretimin bir göstergesi olduğu ortaya çıkmıştır (Ten Brink vd., 1990).

Pirche vd. (2007) çalışmalarında çiğ etten, fermente edilmiş sosisten ve peynir örneklerinden toplamda 149 adet *Enterobacteriaceae* türü izole etmişler ve izolatlar, amino asit içeren et suyu ortamında inkübasyona bırakıp bu türlerin putresin, kadaverin, histamin ve tiramin üretimlerini değerlendirmişlerdir. Değerlendirmeler sonucunda *Enterobacteriaceae* izolatlarının çoğunun (147/149) sıvı ortamda 100 mg/l'den fazla kadaverin ve putresin ürettiği tespit edilmiştir. Bu türler arasında en fazla izole edilen türler *H. alvei*, *Serratia liquefaciens* ve *E. coli* olarak belirlenmiş ve bu türlerin aynı zamanda 10mg/l den az miktarda histamin ürettikleri görülmüştür. *Enterobacteriaceae* izolatları arasında *Klebsiella terrigena* türünün de orta derecede putresin ve yüksek derecede kadaverin üreticisi olduğu tespit edilmiştir.

Sömer ve Başıyigit Kılıç (2012) yaptıkları çalışmalarında Afyon, Aydın, Burdur, Isparta ve Muğla yerel açık pazarlarından otuz üç süzme yoğurt örneği toplamışlardır. Tüm izolatları fizyokimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerin yanı sıra biyojenik amin içeriği açısından da incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda triptaminin tüm yoğurt örneklerinde belirlenen tek biyojenik amin olduğunu; ayrıca örneklerin hiçbirinde kadaverin, putresin, tiramin ve b-feniletilamin üretmediklerini tespit etmişlerdir. Sonuçların Küçükçetin'in (2008), Antalya ilinde yerel pazarlarda satılan süzme yoğurtların biyojenik amin içeriğini belirlediği bulguları ile uyumlu olduğunu belirlemişlerdir. Süt ürünlerindeki biyojenik amin konsantrasyonları için resmi bir sınırın belirlenemediğinden de bahsetmişlerdir. Pintado vd., (2008), süzme yoğurtlarda düşük triptamin üretimini etkileyen en olası faktörün, düşük pH'ları olduğunu söylemişlerdir.



Şekil 4.4.3. Dekarboksilaz aktivite değerlendirilmesinde zon görüntüleri

4.4.4. Hemolitik Aktivite Sonuçları

Araştırmamız sonucunda suşlarımızın %27,3'ü beta hemoliz, %3'ü alfa hemoliz, %27,3'ü zayıf alfa hemoliz gösterirken, %42,4'ünde hemoliz tespit edilmemiştir. Detaylı bir şekilde incelendiğinde ise 4 adet *P. aeruginosa* (YH27C, YH152B, YH138A, YH148A), 4 adet *S. maltophilia* (YH101, YH103, YH113, YH135B) ve *E. cloacae* YH27A suşu beta hemoliz; *S. maltophilia* YH64 suşu ise alfa hemoliz özellik göstermiştir. 5 adet *S. maltophilia* (YH12A, YH94A, YH97B, YH99, YH129D), 2 adet *E. coli* (YH126A, YH131A), *K. oxytoca* YH98B, *H. alvei* YH102A zayıf alfa hemoliz gösterirken, diğer suşlarda hemoliz oluşmamıştır (ŞEKİL 4.4.4.) (TABLO 7).

Keller vd. (1998) çalışmalarında toplam 54 *E. cloacae* suşu izole etmişlerdir. İzolatlardan 28'i hastanede yatan hastaların klinik örneklerinden (kan, idrar ve sekresyonlar), 5'i kateterlerden, 2'si kafa derisinden ve 19'u sağlıklı gönüllülerin dışkılarından elde edilmiştir. Tüm izolatlar hemolitik aktivite bakımından test edilmiş ve 54 *E. cloacae* suşunun hiçbirinde hemolitik aktivite tespit edilmemiştir. Bizim çalışmamızda izole ettiğimiz *E. cloacae* YH152A suşunun beta hemoliz oluşturduğu belirlenmiştir.

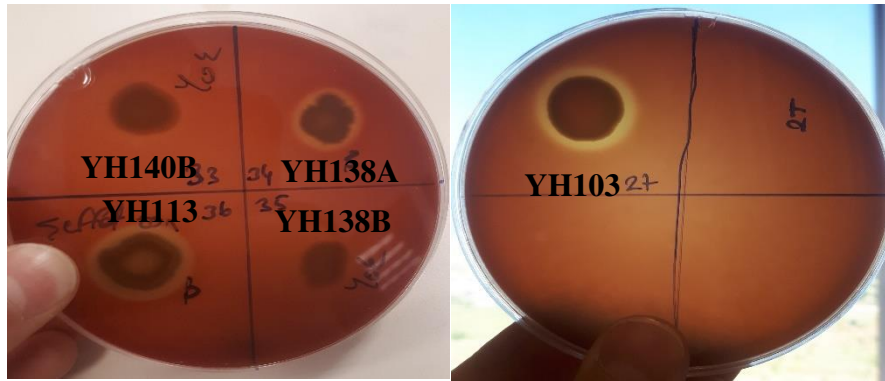
Travassos vd. (2004) 39 adet *S. maltophilia* suşlarının koyun ve tavşan kanlı agarda %90,4 oranında hemolitik aktivite gösterirken; insan kanlı agar üzerinde %64,3 oranında

hemolitik olduğunu belirlemişlerdir. Bu sonuçlara göre hemolitik aktivitenin kan kaynağına bağlı olduğu gösterilmiştir.

Gündoğan ve Yakar (2007), 80 adet çiğ süt, pastörize süt, dondurma ve beyaz peynir örneğinden izole ettikleri 43 *Klebsiella* suşunun kanlı agar kullanarak beta hemolizin durumlarını incelemişlerdir. 43 *Klebsiella* suşunun 25 tanesinin pozitif sonuç verdiğini, bunlardan on sekizinin (%72) *K. pneumoniae*, beşinin (%20) *K. oxytoca* ve ikisinin (%8) *Klebsiella rhinoscleromatis* olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda izole ettiğimiz 3 *K. oxytoca* suşundan sadece YH998B suşunun zayıf alfa hemoliz oluşturduğu tespit edilmiştir.

Kuş vd. (2017)'nin yaptıkları çalışmada %5 koyun kanlı agar ve triptik soy buyyon ile alfa hemoliz varlığı araştırılan *K. pneumoniae* izolatlarının hiçbirinde fenotipik yöntemlerle alfa hemolizin üretimi görülmemiş, alfa hemolizin ilişkili *hlyA* ve *cnf-1* genleri de saptanmamıştır. *K. pneumoniae* izolatlarında alfa hemolizin varlığının araştırıldığı benzer bir çalışmada fenotipik yöntemle izolatların hiçbirinde hemolitik aktivite saptanmamış ve izolatlarda *hlyA* ve *cnf-1* genleri negatif bulunmuştur (El Fertas-Aissani vd., 2013).

Yapılan çalışmalar pilin geni, çoklu ilaç akış taşıma sistemi, porin *oprD* geni ve hemolitik ve proteolitik aktiviteler gibi virulans faktörlerinin çevresel izolatlardan elde edilen *P. aeruginosa* suşları ile klinik *P. aeruginosa* arasında fark olmadığını göstermiştir (Allydice-Francis ve Brown, 2012).



Şekil 4.4.4. Hemolitik aktivite değerlendirilmesinde zon oluşumu

4.4.5. Biyofilm Oluşturma Sonuçları

Mikroorganizma topluluklarının oluşturduğu biyofilm yapısı, mikroorganizmanın kolonizasyonunu destekleyen pH değişikliği, besin yetersizliği gibi olumsuz dış ortam

koşullarına, antibiyotik, dezenfektan madde gibi kimyasallara karşı dayanıklı olmasını sağlayan önemli bir virulans faktörüdür (Marcinkiewicz vd., 2013, Fleming ve Rumbaugh, 2017). Planktonik hâldeki bakterilerin antibiyotik direncinin yanı sıra hem konak immün sistemi hem de antimikrobiyal ajanlar açısından önemli bir bariyer olan biyofilm yapısının neden olduğu direnç, biyofilm enfeksiyonlarında tedaviyi daha da zorlaştırmaktadır (Römling ve Balsalobre, 2012; Fuente-Nú-ez vd., 2013). Bu sebeple izole ettiğimiz suşların biyofilm oluşturma özellikleri araştırılmış, sonuçlar 590 nm dalga boyunda optik dansitometrede okunmuştur ve biyofilm üretimi 0,5'in üzerinde olanlar biyofilm pozitif olarak değerlendirilmiştir. Buna göre sonuçlar karşılaştırıldığında sadece 2 izolatomuzun biyofilm üretiminin pozitif olduğu belirlenmiştir. *S. maltophilia* YH6A ve *P. aeruginosa* YH27C suşlarının 0,64 değerinde biyofilm ürettikleri görülmüştür. Çalışmamızda 14 *S. maltophilia*, 4 *P. aeruginosa*, 3 *K. oxytoca*, 2 *C. gleum*, 5 *E. coli*, 1 *E. cloacae*, 1 *H. alvei* ve 1 *A. baumannii* suşlarının 0,15 ile 0,38 arasında biyofilm ürettiği belirlenmiştir. Bu suşların zayıf biyofilm üreticisi olarak kabul edilebileceği düşünülmektedir. Araştırmamızda biyofilm üretimi olmayan bakteri tespit edilmemiştir (ŞEKİL 4.4.5.) (TABLO 8).

Gram negatif biyofilm oluşturan bakterilerin çoğu *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Moraxella*, *Alcaligenes* ve *Pseudomonas* türleri olarak tanımlanmıştır (Gündüz ve Tuncel, 2006). Nyenje vd. (2013), çalışmasında *E. cloacae*'nin plastik yüzeyler üzerinde kolaylıkla biyofilm oluşturduğunu belirlemişlerdir. Günümüzde *E. cloacae* gıda işleme ortamlarında sıklıkla kullanılmakta ve gıdalar için büyük bir endişeye sebep olmaktadır. *E. cloacae*'nin biyofilm oluşumunun sıcaklık ve inkübasyon süresinden önemli ölçüde etkilendiği belirlenmiştir.

Süt endüstrisinde çiğ sütün çok çeşitli mikroorganizmaları içermesi ve süt ürünlerinin mikrobiyal bozulmaya karşı hassas olması sebebiyle biyofilm oluşumu temel bir sorundur. Birincil biyofilm oluşturunucular bozulma organizmaları ya da patojenler olsa bile, biyofilmler *L. monocytogenes* gibi zararlı organizmalar için bir yaşam alanı haline gelebilir (Weiler vd., 2013). Pastörize ürünlerle temas eden yüzeylerdeki biyofilmler insan sağlığı ve ürün için tehdit oluşturmaktadır (Sharma ve Anand, 2002; Latorre vd., 2010). Ayrıca biyofilm, proteazlar ve lipazlar gibi ısıya dayanıklı bozulma enzimlerinin çiğ sütte bulunması, UHT sütün raf ömrünün azalmasına neden olabilir (Teh vd., 2014; Teh vd., 2011).

Bakteriler kendilerini pastörizasyon ve yerinde temizleme süreçleri gibi olumsuz koşullardan korumak için süt ürünleri yüzeylerine yapışabilir ve biyofilm yapıları geliştirebilir (Cherif-Antar vd., 2016). Biyofilmler, biyofilm üretmeyen mikrobiyal tiplerin bağlanmasına izin vererek mikrobiyal kontaminasyonu arttırabilir (Brooks ve Flint, 2008). Ayrıca biyofilmlerin gelişimi, metalik yüzeylerin artan korozyon oranları, azaltılmış ısı transfer etkinliği, boru hatlarında akışın azalması ve sıvı sürtünme direncinin artması nedeniyle süt fabrikalarında ciddi problemler yaratmaktadır (Gupta ve Anand, 2018). Biyofilmler son ürünlerin mikrobiyolojik kalitesini düşüren ve aynı zamanda ekonomik kayıplara yol açan unsurlardır (Mittelman 1998). *E. faecalis*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus* ve diğerleri dahil olmak üzere çok sayıda gıda bozulmasına sebep olan ve/veya patojenik bakteriler, halihazırda süt ürünleri nişlerinden elde edilen biyofilmlerle ilişkilendirilmiştir (Latorre vd., 2010). Bizim çalışmamızda ise *S. maltophilia* YH6A ve *P. aeruginosa* YH27C izolatlarında biyofilm üretimi tespit edilmiştir.

Biyofilmler esas olarak bakterilerin boruların duvarlarına kolayca yapışmasına izin veren koşullar altında oluşurlar (Stoodley vd., 2002). Bakteriler biyofilmlerden ayrılabilir ve yüzeylerden geçerken sütü kontamine edebilirler (Austin ve Bergeron, 1995). Tarihsel olarak, biyofilm oluşumu üzerine yapılan çalışmalar büyük ölçüde kültüre dayalı yöntemler kullanılarak izole edilmiş, saflaştırılmış ve tanımlanmış tekli mikroorganizmalara odaklanmıştır. Bununla birlikte, farklı bakteri türleri, doğal ortamlarda polimikrobiyal biyofilmlerin oluşumunda farklı roller oynamakta ve bu nedenle bazı durumlarda biyofilm oluşumu izole edilen türlerin gelişmesi ve laboratuvar ekimi sırasında belirlenememektedir (Dogan ve Boor, 2003).

Pseudomonas spp. gıda endüstrisinde genel yüzeylerden en sık izole edilen bakteriler arasındadır ve ısıl işlemden önce süt soğutma tanklarının ve boru hatlarının duvarlarında çok türde biyofilm oluşturmaktadırlar. Hareket yeteneği sağlayan flagellum üretimi nedeniyle, *P. aeruginosa*, temastan en az 4 saat sonra abiyotik ve biyotik yüzeylerde tek hücre katmanları oluşturabilir (Shirtliff vd., 2002; Marchand vd., 2012). Bizim çalışmamızda izole ettiğimiz *P. aeruginosa* YH27C suşunun güçlü biyofilm üreticisi olduğu diğer *P. aeruginosa* suşlarının ise zayıf biyofilm üreticisi olduğu belirlenmiştir. *P. aeruginosa* kaynaklı hastane enfeksiyonların önemli bir sebebi flagella, tip IV pilidir ve aljinat matriks biyofilm oluşumunda rol oynar (O'Toole ve Kolter, 1998). *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşumunu ve gelişimini koordine etmek için hücre dışı çekirdek algılama sinyallerini kullandığı belirtilmiştir (Davies vd., 1998).

Biyofilm üreten *P. aeruginosa*, gıdaları kirleten ve gıda işleme-üretim döngülerinde; yetersiz gıda işlemeye, süt ürünleri üretiminde sorunlara, ısıya dayanıklı kompleks enzimatik sistemi nedeniyle gıda bozulmasına kadar ciddi sorunlara neden olan çok yönlü fırsatçı gıda kaynaklı bir patojendir. Mastitis ve gıda zehirlenmesine karşı pastörizasyon ve UHT uygulamalarında canlı kalabilen suşlar, özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde, fenazin pigmentleri ve ekzopolisakkarit mukoid salgılanması (aljinat-biyofilm) ve antibiyotiklere dirençli profili ölümcül kistik fibroz vakası ile sonuçlanan gıda zehirlenmelerine sebep olabilirler (Al-Shammary, 2015; El-Leboudy vd., 2015).

Biyofilmler fagositoza, oksidatif streslere, besin/oksijen kısıtlamasına, metabolik atık birikimine, türler arası yarışmalara ve geleneksel antimikrobiyal ajanlara karşı dirençlidir (Leid, 2009; Olsen, 2015). *P. aeruginosa* tarafından üretilen mukoid biyofilm kronik enfeksiyonların, hastalığın ilerlemesinin ve uzun süreli kalıcı olmasının sebeplerindendir (McDaniel vd., 2015).

S. maltophilia'nın bir diğer önemli virulans faktörü, hücre dışı polimerik maddeler (EPS) içine gömülü biyotik veya abiyotik yüzeylerde gelişen mikrobiyal hücre toplulukları olan biyofilmleri oluşturma kapasitesidir (Passerini de Rossi vd., 2007; Pompilio vd., 2008).

Acinetobacter cinsinin bakterileri, ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olma potansiyelleri (Towner, 2006), çoklu ilaç direnci geliştirmede özellikleri, aşırı ilaç direnci göstermeleri (Prashanth ve Badrinath, 2005) ve bazı suşların verotoksin üretme yetenekleri (Grupper vd., 2007) nedeniyle son yıllarda artan bir ilgi kazanmıştır. *A. baumannii*, dünya çapında ortaya çıkan önemli bir hastane patojenidir. Deri ve yara enfeksiyonları, sepsis, peritonit, kolanjit, osteomyelit ve endokarditin önemli nedenidir (Dent vd., 2010). Sütte en yaygın *Acinetobacter* suşları; sağım makineleri, boru hatları veya soğutucularda kalan kalıntılar, ekipmanlarının yetersiz temizliği, kirli meme ve emzikler, sütün taşınması ve depolanması sonucu oluşan olumsuz durumlarda biyofilm üretebilirler (Santana vd., 2004). Çalışmamızda izole etmiş olduğumuz *A. baumannii* YH138B suşunun zayıf biyofilm üreticisi olduğu belirlenmiştir.

Thomas vd. (2014) çalışmalarında Malezya'daki hastanelere çeşitli hastalıklar nedeniyle başvuran hastalardan toplam 108 *S. maltophilia* klinik izolatu toplamışlardır. DNaz, jelatinaz, hemolizin, lipaz ve proteinaz aktivitesi çalışılan tüm izolatlarda gözlemlenmiştir. Tüm izolatlar, çeşitli yoğunluklarda biyofilm üreticisi çıkmıştır.

İzolatların çoğu düşük biyofilm üreticisi iken (%80 invazif ve %82,5 invazif olmayan), bazıları çok güçlü biyofilm oluşumu (%20 invazif ve %17,5 invazif olmayan) göstermiştir.

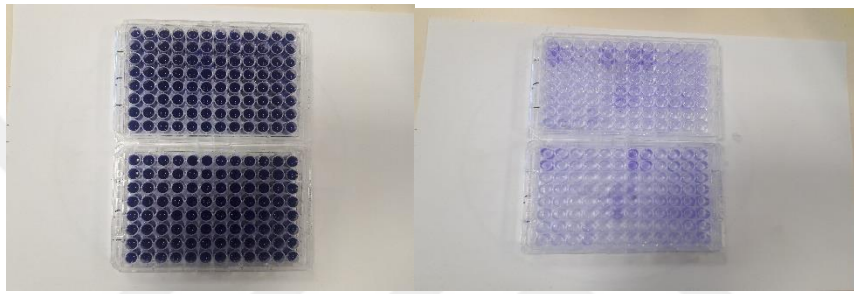
Rossi vd. (2016) süt, süt ürünleri ve süt tesislerinden 64 *Pseudomonas fluorescens* suşunu izole etmiş ve farklı sıcaklıklardaki biyofilm oluşumunu karşılaştırmışlardır. *P. fluorescens* suşlarında biyofilm oluşumunun 10°C’de desteklendiğini; ancak 30°C’de biyofilm üretemediklerini tespit etmişlerdir. *P. fluorescens* suşlarının 10°C’de zayıf veya özellikle ılımlı biyofilm üreticileri oldukları görülmüştür. Cherif-Antar vd. (2016), çalışmalarında bir süt işletmesindeki pastörizasyon öncesi ve sonrası boru hatlarında paslanmaz çelik yüzeylere bağlanan mikrobiyotadan 70 Gram pozitif, 55 Gram negatif izolat elde etmiştir. Gram negatif izolatlardan 9 *E.coli*, 2 *K. pneumoniae*, 3 *B. cereus*, 3 *Enterobacter* spp., 2 *Staphylococcus hominis*, 1 *P. aeruginosa*, 3 *Serratia marcescens*, 2 *Escherichia vulneris*, 1 *Staphylococcus saprophyticus* sp. olmak üzere toplam 27 izolatın biyofilm üretimi negatif iken, 1 *Enterococcus faecalis* ve 1 *Staphylococcus hominis* suşları güçlü biyofilm üreticisi olarak tespit edilmişlerdir. Kıvanç vd. (2016), anne sütünden izole ettikleri 20 *E. faecium* suşunun biyofilm üretme yeteneklerini test etmişlerdir. Sadece iki izolatın biyofilm üreticisi olduğunu; ancak bunların da sadece zayıf biyofilm üretme yetenekleri sergilediklerini tespit etmişlerdir.

Bostanghadiri vd. (2021) inceledikleri 85 *S. maltophilia*’nın kristal viyole boyama testine göre, tamamını (%100) biyofilm oluşturduğunu tespit etmiştir. Ayrıca izolatların 24’üne göre (%28,23), 32’si (%37,65) ve 29’u (%34,12) sırasıyla zayıf, orta ve güçlü biyofilm üreticileri olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda en baskın mikroflora olan *S. maltophilia* suşlarından sadece YH6A suşunun güçlü biyofilm üreticisi olduğu geri kalan 14 suşun ise zayıf biyofilm üreticisi oldukları tespit edilmiştir.

Weber vd. (2019), *Kocuria*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* gibi *Enterobacteriaceae*’nin cinslerinin yanı sıra *Serratia marcescens* ve *E. coli* gibi farklı türlerinin de güçlü biyofilm oluşturmaları olarak sınıflandırmışlardır.

Wang, vd. (2019), sütün işlenmesi sırasında ekipman yüzeylerinde oluşan biyofilmlerin bakteriyel çeşitliliğini araştırmışlardır. Tespit edilen bakterilerin biyofilm oluşturma kabiliyetini belirlemek için kristal viyole boyama yoluyla biyofilm analizi yapılmıştır. Kültüre dilebilen sekiz türden beşi olan, *A. baumannii*, *Acinetobacter junii*, *E. faecalis*, *Corynebacterium callunae* ve *S. maltophilia*’nın biyofilm oluşturabildiği belirlenmiştir. Tanımlanan bakterilerin çoğunun potansiyel gıda kaynaklı veya fırsatçı patojenler olmasından dolayı, çalışmanın süt işleme tesislerinde üretilen ürünlerin kalite kontrolü için rehberlik olabileceğini belirtmişlerdir.

Cherif-Antar vd. (2016), bir süt işleme tesisinin pastörizasyon öncesi ve sonrası boru hatlarında paslanmaz çelik yüzeylere bağlanan mikrobiyotadan örnekler almışlar ve bu izolatları biyofilm oluşturma yeteneklerini değerlendirmek için *in vitro* testlere tabi tutmuşlardır. Testin sonuçlarına göre 9'u *E. coli*, 8'i *K. pneumoniae*, 5'i *Enterobacter* spp., 4'ü *A. calcoaceticus*, 3'ü *P. aeruginosa*, 3'ü *S. marcescens*, 2'si *E. vulneris* ve 1'i *P. mirabilis* olan suşları güçlü biyofilm üreticisi iken, 11 suş zayıf biyofilm üreticisi olarak kabul edilmiştir. *E. coli* (9), *E. vulneris* (2) ve *S. marcescens* (3) türlerinin ise hiçbirinin biyofilm oluşturmadağı belirlenmiştir. En güçlü biyofilm üreticilerinin, *E. faecalis* ve *S. hominis* türlerine ait suşlar olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.4.5. Biyofilm testi sonucunda biyofilm oluşturan ve oluşturmeyan izolatlara ait mikropilaka görüntüsü

4.4.6. Ekstrasellüler Proteaz Üretim Sonuçları

Proteolitik enzimler hem ekstrasellüler hem de intrasellüler olarak sentezlenirler (Kumar vd., 2005). Proteazlar, bakteriler, virüsler, protozoonlar, mayalar ve funguslar gibi farklı mikroorganizmalarda bulunurlar (Gupta vd., 2002; Joo ve Chang, 2005). Yıkıcı özelliğe sahip bu enzim grupları patojenin penetrasyonunda önemli görevler alırken konakçı dokunun proteinlerini etkisiz hale getirdiğinden savunma mekanizmasını da bozmaktadır.

Araştırmamız da incelenen izolatlardan 23 tanesi kazein agarda, 27 adeti süt agarda ve 29 adeti skim milk agar da zon oluşturmuştur. Kazein agarda *S. maltophilia* YH97B, *H. alvei* YH102A, *P. aeruginosa* YH148A 10 mm'den az zon oluşturmuş, 20 adet suş ise 10-20 mm arasında zon oluşturmuştur. Süt agar da *K. oxytoca* (YH96 ve YH98B), *E. cloacae* YH27A, *H. alvei* YH102A, *A. baumannii* YH138B 10 mm'den az zon oluştururken, 22 adet suş 10-30 mm arasında zon oluşturmuştur. Skim milk agar da ise *S. maltophilia* YH94A ve YH97B, *P. aeruginosa* YH6B1, *H. alvei* YH102A, *E. coli* YH126A, *A. baumannii* YH138B, *K. oxytoca* YH152A 10 mm altında zon oluştururken 22 adet suş 10-35 mm arasında zon oluşturmuştur. Ölçülen zon çapları kazein agar da 2,84-19,36 mm

arasında, süt agar da 1,42-28,33 mm arasında, skim milk agar da ise 1,21-30,76 mm arasında belirlenmiştir. İncelenen suşlardan 11 adet *S. maltophilia* (YH12A, YH12B, YH64, YH93, YH94A, YH97A, YH97B, YH99, YH101, YH113, YH135), 2 adet *C. gleum* (YH67B, YH69A), *E. cloacae* YH27A, *P. aeruginosa* YH148A, *K. oxytoca* YH96, *H. alvei* YH102A ve *E. coli* YH126A suşları her üç besiyerinde de zon oluşturmuştur. Her üç besiyerinde de zon oluşturmayan tek suş *E. coli* YH140B suşu olarak belirlenmiştir (ŞEKİL 4.4.6.) (TABLO 9).

Hücre dışı bakteri enzimleri, enfeksiyona neden olmada rol oynadıkları için çok önemlidir (Marty vd., 2002). Patojenin hücre dışı enzimleri, virulansını artırır (Sharma ve Tıwarı, 2005). Katarina vd. (2020)'nin yaptıkları çalışmada proteaz aktivitesi TSB'de MH'dan daha yüksek çıkmıştır. En yüksek absorbanslar *E. coli* KGPMF 16, *E. coli* KGPMF 21, *E. coli* KGPMF 24, *S. marcescens biogp* 1 KGPMF 19, *K. oxytoca* KGPMF 2, *K. oxytoca* KGPMF 7 izolatlarının bulunduğu et suyunda ölçülmüştür, *E. coli* KGPMF 14 ve *K. pneumoniae* KGPMF 10'un proteaz aktivitesi MH'de daha yüksek çıkmıştır. *K. oxytoca* KGPMF 1, *K. oxytoca* KGPMF 3'ün hücre dışı proteazı her iki besiyerinde de etkisiz olduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak TSB'de protein miktarı ile proteaz aktivitesi arasında anlamlı korelasyon (Spearman korelasyon katsayısı- $P < 0.05$) elde edilirken, MH'de fark tespit edilmemiştir.

E. coli süt ineklerinde en çok mastite neden olan önemli patojendir (Bradley, 2002) ve Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), insanlarda gastrointestinal enfeksiyonlara neden olur. EPEC bağırsak yüzeyine bağlanır ve agresif kolonizasyon yoluyla bağırsak mukozal hücrelerini değiştirir. Buna rağmen, EPEC enfeksiyonunun patojenik mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Budiarti ve Mubarik (2007), yaptıkları çalışmada hücre dışı proteolitik enzimlerin EPEC kolonizasyonu için gerekli oldukları anlaşılmıştır.

Juven vd. (1981), çalışmalarında İsrail'den toplanmış çiğ süttten izole edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarının yağsız süt agarda proteolitik aktivite sergilediğini belirlemişlerdir. Wessels vd. (1989), Güney Afrika'dan topladıkları süt ve süt ürünlerinden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* suşlarının genellikle proteolitik aktivite göstermediğini; ancak *E. cloacae*, *K. oxytoca* ve *Serratia rubidaea*'nın proteolitik olarak tanımlanan türler olduğunu belirlemişlerdir.

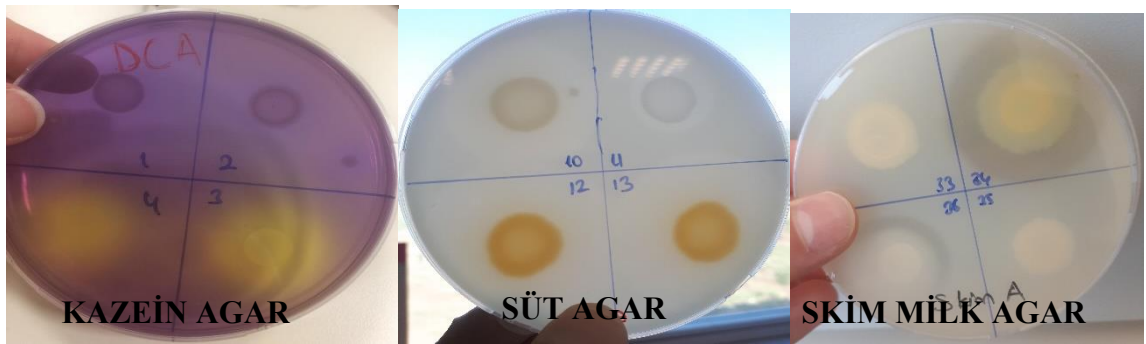
P. aeruginosa flagellaya, yapışma proteinleri, hücre dışı proteinleri olması proteolitik ve/veya sitotoksik aktiviteye sahip ikincil metabolitler (ekzotoksin A, elastaz, proteazlar, piyosyanin, hemolizinler gibi) gibi virulans faktörlerine sahiptir (Driscoll vd., 2007). Hayvanlarda, *P. aeruginosa*, bazen enzootik veya epizootik mastitis salgınlarında

rol oynar. İnsan enfeksiyonlarından izole edilen *P. aeruginosa* suşları üzerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır, hayvan enfeksiyonlarından izole edilen suşlar hakkında ise daha sınırlı veri mevcuttur (Ohnishi vd., 2011).

Arslan vd. (2011) çalışmalarında *Pseudomonas* spp.'nin biyokimyasal özelliklerini, hücre dışı enzimlerini, slime ve β -laktamaz üretimini ve antimikrobiyal duyarlılıklarını araştırmayı amaçlamışlardır. Açık hava pazarından toplanan 140 adet ev yapımı beyaz peynir örneğinden toplam 32 adet (%22,9) *Pseudomonas* spp. izole edilmiştir. Araştırmacılar *Pseudomonas* spp izolatlarının örneklerin %22,9'unda tespit edildiğini ve tüm izolatların hücre dışı enzimler olan proteaz, lipaz ve lesitinaz ürettiklerini belirlemişlerdir.

Meng vd. (2017) çalışmalarında süt bozulmasına neden olan *Pseudomonas* spp. suşlarının ürettikleri proteolitik enzimlerin varlığını belirlemeyi amaçlamışlardır. Bunun için Çin'in Shaanxi Eyaletindeki 87 dökme tanktan çiğ süt örnekleri toplamışlar ve *Pseudomonas* spp suşlarını izole etmişlerdir. *Pseudomonas* spp.'nin düşük sıcaklıklarda depolama sırasında, çiğ sütte ürettikleri proteolitik özelliklerini süt agar kullanarak araştırmışlardır. 87 örnekten elde edilen 143 izolattan 40'ının (%28,0) 2°C'de sütlü agarda, 74'ünün (%51,8) 4°C'de, 104'ünün (%72,7) 7°C'de ve 102'sin (%71,3) 10°C'de proteolitik aktiviteye sahip olduğunu saptamışlardır.

Soğuk depolama sırasında *Pseudomonas* tarafından salgılanan peptidazlar, pastörizasyon veya ultra yüksek sıcaklık işleminden sonra aktivitelerini koruyabilen, ısıya dayanıklı hücre dışı peptidazlardır (Glück vd., 2016). Çalışmamızda izole ettiğimiz 5 adet *P. aeruginosa* suşu kazein agar, süt agar ve skim milk agarda proteoliz durumları değerlendirilmiştir. 5 suşunda süt agar ve skim milk agarda proteolize sebep oldukları; ancak en yüksek süt agar besiyerinde olduğu belirlenmiştir. Bunun dışında kazein agar da sadece *P. aeruginosa* YH148A suşunun proteoliz yapabildiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.4.6. Ekstrasellüler proteaz deneyinde oluşturdukları zon görüntüleri

5. SONUÇ

Bu çalışmada Burdur ili ve ilçelerinden toplanmış olan süt örneklerinden 33 adet tür izole edilmiş ve MALDI-TOF MS ile tanımlanmıştır. Tanımlama sonucunda 15 adet *S. maltophilia* (YH6A, YH12A, YH12B, YH64, YH93, YH94A, YH97A, YH97B, YH99, YH100, YH101, YH103, YH129D, YH113, YH135B) tespit edilmiştir. Tanımlama da ayrıca 5 adet *P. aeruginosa* (YH6B1, YH27C, YH152B, YH138A, YH148A), 5 adet *E. coli* (YH175A, YH78A, YH131A, YH140B, YH126A), 3 adet *K. oxytoca* (YH152A, YH96, YH98B), 2 adet *C. gleum* (YH67B, YH69A), 1 adet *E. cloacae* (YH27A), 1 adet *H. alvei* (YH102A), 1 adet *A. baumannii* (YH138B) tespit edilmiştir. İzolatların antibiyotik aktiviteleri 2 farklı yöntemle araştırılmıştır. Disk difüzyon testi sonucunda seftazidimde (10 µg) 31 suş, seftazidimde (30 µg) 14 *S. maltophilia* suşu, sefpodaksimde (10 µg) 4 suş, seftrikasonda (5 µg) 9 suş, sefotaksimde (5 µg) 12 suş, amoksisilin/klavulanik asit (30 µg) antibiyotiğinde ise 30 suş zon oluşturmalarına rağmen CLSI'da zon çapı sınır değerleri olmadığı için bu suşların dirençli veya duyarlı olma durumları belirlenememiştir. Zon gelişimi olmayan suşlar incelendiğinde seftazidimde (10 µg) 2 suş, seftazidimde (30 µg) 1 suş, sefpodaksimde (10 µg) 22 suş, amoksisilin/klavulanik asitte (30 µg) 3 suş, seftriaksonda (5 µg) 15 suş, sefotaksimde (5 µg) 18 suş, sefotaksimde (30 µg) 2 suş ve sefepimde (5 µg) 4 suş olduğu tespit edilmiştir. 22 adet suşla en fazla zon gelişimi olmayan antibiyotiğin sefpodaksim (10 µg) antibiyotiği olduğu tespit edilmiştir. Disk difüzyon yönteminde tüm antibiyotikler genel olarak değerlendirildiğinde ise en duyarlı suşun *H. alvei* YH102A olduğu belirlenmiştir. *H. alvei* YH102A suşu seftazidim (30 µg), sefpodaksim (10 µg), sefotaksim (30 µg), sefepim (30 µg) ve sefepim (5 µg) antibiyotiklerine duyarlı olduğu belirlenmiştir. *H. alvei* YH102A suşu seftazidim (10 µg), amoksisilin/klavulanik asit (30 µg), seftriakson (5 µg) ve sefotaksim (5 µg) antibiyotiklerinde zon oluşturmalarına rağmen CLSI'da zon çapı sınır değerleri olmadığı için sonuçlar yorumlanamamıştır. 18 adet antibiyotikle yapılan VITEK® 2 Compact (bioMérieux) analizi sonucunda izolatlarımızın en dirençli olduğu antibiyotik seftiofur olurken, en duyarlı antibiyotiğin ise trimetoprim/SMZ olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda *E. coli* YH131A suşunun en yüksek antibiyotik direnç profiline sahip olduğu, çalışmada kullanılan 16 antibiyotiğin 13'ünde direnç oluşturduğu, sadece amoksisilin/klavulanik asit, tiroksilin/klavulanik asit ve imipenem antibiyotiklerine duyarlı olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada bu bakterilerin çoklu ilaç direncine sahip oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca özellikle *K. oxytoca*, *A. baumannii*, *C. gleum* ve *S.*

maltophilia türlerinin süt ve süt ürünlerinde araştırılması üzerine daha detaylı çalışmaların planlanması önemlidir. Antibiyogram aktivitelerin belirlenen izolatlar DNAz aktivite testi yapılmış ve incelenen tüm suşlar DNAz negatif olarak tespit edilmiştir. Jelatinaz üretim sonuçları incelendiğinde *S. maltophilia* (YH6A, YH100, YH101, YH103, YH129D), *E. coli* YH131A ve YH140B, *C. gleum* YH67B ve *A. boumannii* YH138B suşlarının jelatinaz üretimi pozitif bulunmuştur. Dekarboksilaz aktivite üretimi deneyi sonucunda histidin, ornitin ve lisin aminoasitlerinde izolatlardan hiçbirisi dekarboksilaz aktivite göstermezken, suşların en yüksek triptofan aminoasitini dekarboksile ettiği görülmektedir. Sonuçlara bakılarak tüm suşların biyojen amin üretimi açısından riskli oldukları belirtilebilir. Hemolitik aktivite sonuçları incelendiğinde; 4 adet *P. aeruginosa* (YH27C, YH152B, YH138A, YH148A), 4 adet *S. maltophilia* (YH101, YH103, YH113, YH135B) ve *E. cloacae* YH27A suşu beta hemoliz; *S. maltophilia* YH64 suşu ise alfa hemoliz özellik göstermiştir. 5 adet *S. maltophilia* (YH12A, YH94A, YH97B, YH99, YH129D), 2 adet *E. coli* (YH126A, YH131A), *K. oxytoca* YH98B, *H. alvei* YH102A zayıf alfa hemoliz gösterirken, diğer suşlarda hemoliz oluşmamıştır. Bu suşların büyük çoğunluğunun patojenite açısından riskli gruplar oldukları tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda sonucunda *S. maltophilia* YH6A ve *P. aeruginosa* YH27C suşlarının 0,64 değeri ile güçlü biyofilm üreticisi olduğu, diğer suşların ise 0,15 ile 0,38 arasında zayıf biyofilm üreticisi oldukları tespit edilmiştir. Ekstrasellüler proteaz üretimi deneyinde izolatların kazein agar, süt agar ve skim milk agarda zon oluşturma durumları incelenmiştir. Ekstrasellüler proteaz üretimi deneyinde izolatların kazein agar, süt agar ve skim milk agarda zon oluşturma durumları incelenmiştir. 33 suştan 17 tanesinin her üç besiyeri ortamında zon oluşturduğu, her üç besiyerinde de zon oluşturmayan tek suşun *E. coli* YH140B olduğu belirlenmiştir.

Araştırmamızda ortaya konan önemli sonuç, incelenen süt örneklerinin insan sağlığına zararlı olma potansiyeline sahip bakterilerle kontamine olduğu ve bu bakterilerde çoklu ilaç direncine de rastlanmış olmasıdır. Elde edilen bu sonuçlar çiftlikler, süt sağım üniteleri ve süt toplama merkezlerinde kaliteyi arttırmak için gerekli tedbirlerin alınması için hijyen koşullarının iyileştirilmesinin önemini göstermektedir. Ayrıca bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, ilimizdeki hasta ve antibiyotik tedavisi uygulanan hayvanlara verilecek antibiyotik çeşitleri ve dozlarının uygun seçilmesi konusunda veteriner hekimlerin ve yetiştiricilerin bilgilendirilmesinin önemini ortaya koymuştur.

KAYNAKLAR

- Abbott, S.L., 2007. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas*, and other *Enterobacteriaceae*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th ed. ASM Press, Washington, D.C, 710 s.
- Abdi, R.D., Gillespie, B.E., Ivey, S., Pighetti, G.M., Almeida, R.A., Kerro Dego, O., 2021. Antimicrobial resistance of major bacterial pathogens from dairy cows with high somatic cell count and clinical mastitis. *Animals*, 11; 131.
- Adamek, M., Linke, B., Schwartz, T., 2014. Virulence genes in clinical and environmental *Stenotrophomonas maltophilia* isolates: a genome sequencing and gene expression approach. *Microbial Pathogenesis*, 67(68), 0-30.
- Adegoke, A.A., Stenström, T.A., Okoh, A.I., 2017. *Stenotrophomonas maltophilia* as an emerging ubiquitous pathogen: looking beyond contemporary antibiotic therapy. *Frontiers in Microbiology*, 8(2276), 1-18.
- Ağca, H., 2011. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyetleri Dergisi*, 41(3), 107-110.
- Ahmed, W., Neubauer, H., Tomaso, H., El Hofy, F.I., Monecke, S., Abd El-Tawab, A.A., Hotzel, H., 2021. Characterization of Enterococci- and esbl-producing *Escherichia coli* isolated from milk of bovines with mastitis in Egypt. *Pathogens*, 10, 97.
- Akova, M., 1999. *Beta laktam direncinde bölgesel farklılıklar*. Birinci Net Care Toplantısının Metinleri, 12, Monte Carlo.
- Akova, M., 2004. *Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar ve Klinik Önemi, Önemli ve Sorunlu Gram Negatif Bakteri İnfeksiyonları*, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 480 s.
- Aktaş, A., Gönüllü, N., Schneider, I., Bal, Ç., Bauernfeind, A., 2005. Hastanede yatan bir hastanın idrar örneğinden izole edilen *Escherichia coli* suşunda ctx-m-15 tipi genişlemiş spektrumlu beta-laktamazın tanımlanması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 39, 421-429.
- Aktaş, Z., Satana, D., Kayacan, Ç., Can, B., Gönüllü, N., Küçükbaşmacı, Ö., 2012. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik duyarlılık oranları ve betalaktam direnç mekanizmalarının tiplendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 46(3), 386-97.
- Alcaraz, E., Garcia, C., Friedman, L., Passerini de Rossi, B.P., 2019. The rpf/DSF signalling system of *Stenotrophomonas maltophilia* positively regulates biofilm formation, production of virulence-associated factors and β -lactamase induction. *FEMS Microbiology Letters*, 366(6), 1-19.

- Allydice-Francis, K., Brown, P.D., 2012. Diversity of antimicrobial resistance and virulence determinants in *Pseudomonas aeruginosa* associated with fresh vegetables. *International Journal of Microbiology*, 1-7.
- Alışkan, H.E., Çolakoğlu, Ş., Turunç, T., Demiroğlu Y.Z., 2012. GSBL pozitif *Enterobacteriaceae* ve vankomisine dirençli enterokokların idrar kültürlerinden erken tespitinde ChromID ESBL agarın değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 46(1), 17-25.
- Ali, T., Rahman, S.U., Zhang, L., Shahid, M., Han, D., Gao, J., Zhang, S., Ruegg, P.L., Saddique, U., Han, B., 2017. Characteristics and genetic diversity of multi-drug resistant extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis. *Oncotarget*, 8, 90144–90163.
- Alper, N., Temiz, A., 2001. Gıdalardaki biyogen aminler ve önemi. *Türk Hijyen Biyoloji Dergisi*, 58(2), 71-80.
- Al-Shammary, A.H.A., 2015. Correlation of Biofilms-Pyocyanin producing *Pseudomonas aeruginosa* with the antibiotics resistant profiles A. *International Journal of Science Technology*, 10(1), 83-89.
- Altınkanat, G., Durpınar, B., Darka, O., Akgün, Y., Yayla, B., Gedikoğlu, S., Sinirtaş, M., Berktaş, M., Yaman, G., 2009. Antimicrobial resistance in Gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. *Journal of Chemotherapy*, 21(4), 383-389.
- Arouna, O., Deluca, F., Camara, M., Fall, B., Fall, B., Ba Diallo, A., Docquier, J.D., Mboup, S., 2017. *Chryseobacterium gleum* in a man with prostatectomy in Senegal: a case report and review of the literature. *Journal of Medical Case Reports*, 11(118), 1-5.
- Arpin, C., Labia, R., Dubois, V., Noury, P., Souquet, M., Quentin, C., 2002. TEM-80, a novel inhibitor-resistant -lactamase in a clinical isolate of *Enterobacter cloacae*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 46, 1183–1189.
- Arslan, S., Eyi, A., Özdemir, F., 2011. Spoilage potentials and antimicrobial resistance of *Pseudomonas* spp. isolated from cheeses. *Journal of Dairy Science*, 94, 5851–5856.
- Atilla, A., Eroğlu, C., Esen, Ğ., Sünbül, M., Leblebicioğlu, H., 2012. Hastane kaynaklı *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında PER-1 tipi beta-laktamaz sıklığının ve antibiyotiklere direnç oranlarının araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 46(1), 1- 8.
- Austin, J.W., Bergeron, G., 1995. Development of bacterial biofilms in dairy processing lines. *Journal of Dairy Resience*, 62, 509–519.
- Aydın F, Kahve H.İ., Ardiç M, Çakır M., 2020. Identification of enterococci by MALDI-TOF-MS & 16S rRNA sequencing isolated from squeezed cheeses and evaluation of antibiotic susceptibility and antibacterial activity. *Türk Hijyen Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 77(4), 399-412.

- Azevedo, P.A.A., Furlana, J.P.R., Oliveira-Silva, M., Nakamura-Silva, R., Gomes, C.N., Costab, K.R.C., Stehling, E.G., Pitondo-Silva, A., 2018. Detection of virulence and β -lactamase encoding genes in *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae* clinical isolates from Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 224–228.
- Ball, A.M., Ashby, A.M., Daniels, M.J., Ingram, D.S., Johnstone, K., 1991. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 38(2):147-161.
- Barreiro, J.R., Ferreira, C.R., Sanvido, G.B., Kostrzewa, M., Maier, T., Wegemann, B., Böttcher, V., Eberlin, M.N., Santos, M.V., 2010. Short communication: identification of subclinical cow mastitis pathogens in milk by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 93(12), 5661-5667.
- Barreiro, J.R., Gonçalves, J.L., Braga, P.A.C., Dibbern, A.G., Eberlin, M.N., Veiga dos Santos, M., 2017. Non-culture-based identification of mastitis-causing bacteria by MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal Dairy Science*, 100, 2928–2934.
- Bauer, A.U., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Tack, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Journal Clinical Pathology*, 45, 493-494.
- Baylis, C., Uyttendaele, M., Joosten, H., Davies, A., 2011. The *Enterobacteriaceae* and their significance to the food industry. ILSI Europe, Brussels. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20143006754> (08.08.2021).
- Ben Belgacem, Z., Abriouel, H., Ben Omar, N., Lucas, R., Martínez-Canamero, M., Gálvez, A., Manai, M., 2010. Antimicrobial activity safety aspects and some technological properties of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* from artisanal Tunisian fermented meat. *Food Control*, 21, 462-470.
- Ben-Gigirey, B., De Sousa, J.M.V.B., Villac, T.G., Barros-Velazquez, J. 2000. Characterization of biogenic amine-producing *Stenotrophomonas maltophilia* strains isolated from white muscle of fresh and frozen albacore tuna. *International Journal of Food Microbiology*, 57, 19–31.
- Bengtsson, B., Unnerstad, H.E., Ekman, T., Artursson, K., Nilsson-Öst, M., Waller, K.P., 2009. Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. *Veterinary Microbiology*, 136, 142- 149.
- Billström, H., Lund, B., Sullivan, A., Nord, C.E., 2008. Virulence and antimicrobial resistance in clinical *Enterococcus faecium*. *International Journal of Antimicrobiology Agents*, 32(5), 374-377.
- Bizzini, A., Greub, G., 2010. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. *Clinical Microbiology and Infection*. 16(11), 1614-1619.
- Blanc, V., Mesa, R., Saco, M., Lavilla, S., Prats, G., Mirò, E., Navarro, F., Cortés, P., Llastera, M., 2006. ESBL- and plasmidic β -lactamase-producing *E. coli* strains

- isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Veterinary Microbiology*, 118, 299–304.
- Bottone, E., Reitano, M., Janda, J., Troy, K., Cuttner, J., 1986. *Pseudomonas maltophilia* exoenzyme activity as correlate in pathogenesis of ecthyma gangrenosum. *Journal of Clinical Microbiology*, 24(6), 995–997.
- Bover-Cid, S., Hugas, M., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C., 2001. Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 66, 185–189.
- Bover-Cid, S., Torriani, S., Gatto, V., Tofalo, R., Suzzi, G., Belletti, N.V., Gardini, F., 2009. Relationships between microbial population dynamics and putrescine and cadaverine accumulation during dry fermented sausage ripening. *Journal of Applied Microbiology*, 106, 1397–1407.
- Bradford, P.A., 2001, Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 933–51.
- Bradley, A.J., 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *Veterinary Journal*, 163, 1–13.
- Braga, P.A.C., Gonçalves, J.L., Barreiro, J.R., Ferreira, C.R., Tomazi, T., Eberlin, M.N., Santos, M.V., 2018. Rapid identification of bovine mastitis pathogens by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(4), 586–594.
- Bratu, S., Quale, J., Cebular, S., Heddurshetti, R., Landman, D., 2005. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, New York: molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B. *Euopen Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases*, 24, 196–201.
- Briñas, L., Moreno, M.A., Teshager, T., Sáenz, Y., Porrero, M.C., Domínguez, L., Torres, C., 2005. Monitoring and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain in 2003. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 49, 1262–1264.
- Brooke, J.S., 2012. *Stenotrophomonas maltophilia*: An emerging global opportunistic pathogen. *Review Clinical Microbiology*, 25, 2–41.
- Brooks, J.D., Flint, S.H., 2008. Biofilms in the food industry: problems and potential solutions. *Internatinal Journal of Food Science Technology*, 43(12), 2163–2176
- Budiarti, S., Mübarik, N.R., 2007. Extracellular protease activity of enteropathogenic *Escherichia coli* on mucin substrate. *Hayati Journal of Biosciences*, 14(1), 36–38.
- Bush, K., 2010. Bench-to-bedside review: the role of β -lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Journal of Critical Care*, 14(224), 1–8.

- Bush, K., Palzkill, T., Jacoby, G., 2015. β -lactamase classification and amino acid sequences for TEM, SHV and OXA extended-spectrum and inhibitor resistant enzymes. Lahey Clinical. <http://www.lahey.org/Studies> (15.05.2015).
- Bogner, C., Miethke, T., Wantia, N., Gebhard, F., Busch, D., Hoffmann, R., 2016. Differences in ESBL genes between *E. coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterobacter cloacae* Strains. *International Journal of Clinical Medicine Microbiology*, 1(106), 1-7.
- Bostanghadiri, N., Ardebili, A., Ghalavand, Z., Teymouri, S., Mirzarazi, M., Goudarzi, M., Ghasemi, E., Hashemi, A., 2021. Antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-associated genes among *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *BMC Research Notes*, 14(151), 1-7.
- Boucher, H.W., Talbot, G.H., Bradley, J.S., Edwards, J.E., Gilbert, D., Rice, L.B., Scheld, M., Spellberg, B., Bartlett, J., 2009. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 48(1), 1–12.
- Boultifat, L., 2018. Application of MALDI- TOF MS technology to the identification and characterization of pathogens in dairy industry. *Internatinal Journal of Advanced Research*, 6(3), 185-192.
- Bradford, P.A., 2001. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Review*, 14, 933–951.
- Braga, P.A.C., Tata, A., Gonçalves dos Santos, V., Barreiro, J.R., Schwab, N.V., Veiga dos Santos, M., Eberlin, M.N., Ferreira, C.R., 2013. Bacterial identification: from the agar plate to the mass spectrometer. *Royal Society of Chemistry Advances*, 3(4), 994-1008.
- Caldera, L., Franzetti, L., Van Coillie, E., De Vos, P., Stragier, P., De Block, J., Heyndrickx, M., 2016. Identification, enzymatic spoilage characterization and proteolytic activity quantification of *Pseudomonas* spp. isolated from different foods. *Food Microbiology*, 54, 142–153.
- Cameron, M., Perry, J., Middleton, J.R., Chaffer, M., Lewis, J., Keefe, G.P., 2018. Short communication: Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry and a custom reference spectra expanded database for the identification of bovine-associated coagulase-negative staphylococci . *Journal of Dairy Science*, 101(1), 590-595.
- Cappucinno, J.G., Sherman, N., 2007. *Microbiology A Laboratory Manual*, Seventh Edition. TATA Art Printers, India, 173 s.
- Cariolato, D., Andrighetto, C., Lombardi, A., 2008. Occurrence of virulence factors and antibiotic resistances in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* collected from dairy and human samples in North Italy. *Food Control*, 19, 886-892.

- Carolis, E.D., Posteraro, B., Lass-Flo, C., Vella, A., Florio, A.R., Torelli, R., Girmenia, C., Colozza, C., Tortorano, A.M., Sanguinetti M., Fadda, G., 2012. Species identification of *Aspergillus*, *Fusarium* and *Mucorales* with direct surface analysis by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Microbiology and Infection*, 18, 475-484.
- Cerit, Z.G., Baloglu, M.C., Yilmaz, R., 2021. Beyaz peynir mikrobiyotasında kültüromik ve shotgun metagenomik teknolojilerin değerlendirilmesi. *Gıda The Journal Of Food*, 46(3), 566-582.
- Cevahir, N., Demir, M., Kaleli, I., Gürbüz, M., Tikveşli, S., 2008. Evaluation of biofilm production, gelatinase activity, and mannose-resistant hemagglutination in *Acinetobacter baumannii* strains. *Journal of Microbiology Immunology and Infection*, 41(6), 513-518.
- Chalupová, J., Raus, M., Sedlářová, M., Šebela, M., 2014. Identification of fungal microorganisms by MALDI-TOF mass spectrometry. *Biotechnology Advances*, 32, 230–241.
- Chauhan, S., Farooq, U., Singh, V., Kumar, A., 2013. Determination of prevalence and antibacterial activity of esbl (extended spectrum beta-lactamases) producing *Klebsiella* species isolated from raw milk of Doon Valley in India. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 4(1), 417-423.
- Cherif-Antar, A., Moussa-Boudjemâa, B., Didouh, N., Medjahdi, K., Mayo1, B., Flórez, A.B., 2016. Diversity and biofilm-forming capability of bacteria recovered from stainless steel pipes of a milk-processing dairy plant. *Dairy Science and Technology*, 96, 27–38.
- Chiu, C.W., Li, M.C., Ko, W.C., Li, C.W., Chen, P.L., Chang, C.M., Lee, N.Y., Lee, C.C., 2015. Clinical impact of Gram-negative nonfermenters on adults with community-onset bacteremia in the emergency department. *Journal of Microbiology Immunology Infection*, 48(1), 92-100.
- Cho, G.S., Li, B., Rostalsky, A., Fiedler, G., Rösch, N., Igbinsosa, E., Kabisch, J., Bockelmann, W., Hammer, P., Huys, G., Franz, C.M.A.P., 2018. Diversity and antibiotic susceptibility of *Acinetobacter* strains from milk powder produced in Germany. *Frontiers in Microbiology*, 9(536), 1-12.
- Clinical Laboratory Standards Institute, 2009. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 21st informational supplement. CLSI Document M100-S21*, CLSI, Wayne, PA.
- Clinical Laboratory Standards Institute, 2013. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 23rd informational supplement. CLSI Document M100- S23*, CLSI, Wayne, PA.
- Clinical Laboratory Standards Institute, 2014. *Performance standarts for antimicrobial susceptibility testing. 24th informational supplement. CLSI Document M100-S24*, CLSI, Wayne, PA.

- Collins, J.D., Noerrung, B., Budka, H., Andreoletti, O., Buncic, S., Griffin, J., Hald, T., Havelaar, A., Hope, J., Klein, G., Koutsoumanis, K., McLauchlin, J., MüllerGraf, C., Nguyen-The, C., Peixe, L., Maradona, M.P., Ricci, A., Sofos, J., Threlfall, J., Vagsholm, I., Vanopdenbosch, E., 2011. Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal*, 9 (10), 2393-2396.
- Cortés, P., Blanc, V., Mora, A., Dahbi, G., Blanco, J.E., Blanco, M., López, C., Andreu, A., Navarro, F., Alonso, M.P., Bou, G., Blanco, J., Llagostera, M., 2010. Isolation and characterization of potentially pathogenic antimicrobial-resistant *Escherichia coli* strains from chicken and pig farms in Spain. *Applied Environment Microbiology*, 76, 2799-2805.
- Costerton, J.W., Stewart, P.S., Greenberg, E.P., 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 284(5418), 1318-1322.
- Cöleri, A., Cökmüs, C., 2008. Molecular mechanisms of resistance to glycopeptide antibiotics in *Enterococcus* species and modes of gene transfer. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 65, 87–96.
- Crossman, L.C., Gould, V.C., Dow, J.M., Vernikos, G.S., Okazaki, A., Sebahia, M., Saunders, D., Arrowsmith, C., Carver, T., Peters, N., Adlem, E., Kerhornou, A., Lord, A., Murphy, L., Seeger, K., Squares, R., Rutter, S., Quail, M.A., Rajandream, M., Harris, D., Churcher, C., Bentley, S.D., Parkhill, J., Thomson, N.R., Avison, M. B., 2008. The complete genome, comparative and functional analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* reveals an organism heavily shielded by drug resistance determinants. *Genome Biology*, 9(R74), 1-13.
- Crowley, B., Ratcliffe, G., 2003. Extended-spectrum β -lactamases in *Enterobacter cloacae*: underestimated but clinically significant. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51, 1316-1317.
- Çakıcı, N., Numanoglu Çevik, Y., Süzük Yıldız, S., Akçalı, A., Demirel Zorba, N.N., 2021. Gıda çalışanlarından izole edilen *Enterobacteriaceae* Suşlarında antimikrobiyal direnç ve GSBL/karbapenemaz varlığının araştırılması. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 78(3), 351-362.
- Çetinkaya, E., Ayhan, K., 2012. Mikrobiyolojide kullanılan bazı moleküler teknikler. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 2(1), 53-62.
- Dahmen, S., Métayer, V., Gay, E., Madec, J.Y., Haenni, M., 2013. Characterization of ESBL- carrying plasmids and clones of *Enterobacteriaceae* causing cattle mastitis in France. *Veterinary Microbiology*, 162, 793-799.
- Davies, D., Parsek, M., Pearson, J., Iglewski, B., Costerton, J., Greenberg, E., 1998. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, 280, 295-298.
- Davies, S., 2013. *Annual Report of the Chief Medical Officer*, London.

- Dehkordi, F.S., Yazdani, F., Mozafari, J., Valizadeh, Y., 2014. Virulence factors, serogroups and antimicrobial resistance properties of *Escherichia coli* strains in fermented dairy products. *BMC Research Notes*, 2 (217), 1-8.
- De la Fuente-Nú- ez, C., Reffuveille, F., Fernández, L., Hancock, REW., 2013. Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation, antibiotic resistance and new therapeutic strategies. *Current Opinion in Microbiology*, 16(5), 580-589.
- De las Rivas, B., Marcobal, A., Munõz, R., 2007. Gene organization of the ornithine decarboxylase-encoding region in *Morganella morganii*. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 1551-1560.
- Demirtürk, N., Demirdal, T., Eldemir, H., İnce, R., Altındış, M., 2005. İdrar örneklerinden izole edilen bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 35, 275-8.
- Dent, L.L., Marshall, D.R., Pratap, S., Hulette, R.B., 2010. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: a descriptive study in a city hospital. *BMC Infectious Diseases*, 10(196), 1-7.
- De Vidipo, L.A., De Marques, E.A., Puchelle, E., Plotkowski, M.C., 2001. *Stenotrophomonas maltophilia* interaction with human epithelial respiratory cells in vitro. *Microbial Immunology*, 45, 563-569.
- Dijkshoorn, L., 2013. *Acinetobacter baumannii* molecular typing in bacterial infections (de Filippis I & McKee ML, ed.), Humana Press Inc., New York, 433-456.
- Dizbay, M., Güzel Tunçcan, Ö., Maral, I., Aktaş, F., Şenol, E., 2009. Five years surveillance of nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* infections in Gazi University Hospital. *Journal of Medicine Science*, 29(6), 1406-1411.
- Dobrančić, V., Kazazić, S., Filipović, I., Mikulec, N., Zdolec, N., 2016. Composition of raw cow's milk microbiota and identification of enterococci by MALDI-TOF MS-short communication. *The Journal Veterinarski Arhiv*, 86, 581-590.
- Dogan, B., Boor, K.J., 2003. Genetic diversity and spoilage potentials among *Pseudomonas* spp. isolated from fluid milk products and dairy processing plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 69,130–138.
- Doğan, S.Ğ., 2014. Koagülaz Pozitif ve Koagülaz Negatif Stafilokokların Glikopeptid Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Otomatize Yöntem, Disk Difüzyon ve E-Test Yöntemleriyle Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye.
- Doi, Y., Paterson, D.L., Egea, P., Pascual, A., Lopez-Cerero, L., Navarro, M.D., Adams-Haduch, J.M., Qureshi, Z.H., Sidjabat, H.E., Rodriguez-Bano, J., 2010. Extended-spectrum and CMY-type beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in clinical samples and retail meat from Pittsburgh, USA and Seville, Spain. *Clinical Microbiology Infection*, 16, 33-38.

- Driscoll, J.A., Steven, S.L., Kollef, M.H., 2007. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*, 67, 351–368.
- Duan, R.S., Sit, T.H., Wong, S.S., Wong, R.C., Chow, K.H., Mak, G.C., Yam, W.C., Ng, L.T., Yuen, K.Y., Ho, P.L., 2006. *Escherichia coli* producing CTX-M β -lactamases in food animals in Hong Kong. *Microbial Drug Resistance*, 12, 145-148.
- Dubin, G., 2002. Extracellular Proteases of *Staphylococcus* spp. *Biological Chemistry*, 383(7-8), 1075-1086.
- Dubois D., Leyssene D., Chacornac J.P., Kostrzewa M., Schmit P.O., Talon R., Bonnet R., Delmas J., 2010. Identification of a variety of *Staphylococcus* species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*. 48(3), 941-945.
- Dülger, D., Berktaş, M., Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Mısırlıgil, A., 2006. Nozokomiyal *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılığı. *Van Tıp Dergisi*, 13(2), 49-52.
- Edit, K., Sándor, S., Gyula, D., Júlia, R., Balázs, K., 2016. Pathogenic and phylogenetic features of 2 multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strains originated from remediated sites. *International Journal Occupational Medicine and Environmental Health*, 29, 503–516.
- Eigner, U., Holfelder, M., Oberdorfer, K., Betz-Wild, U., Bertsch, D., Fahr, A.M., 2009. Performance of a matrix- assisted laser desorption ionizationtime- of-flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory. *Clinical Laboratory*, 55, 289–296.
- El Fertas-Aissani, R., Messai, Y., Alouache, S., Bakour, R., 2013. Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. *Pathologie Biologie (Paris)*, 61(5), 209-216.
- Elhosseiny, N.M., Attia, A.S., 2018. *Acinetobacter*: An emerging pathogen with a versatile secretome. *Emerging Microbes and Infections*, 7, 1-15.
- El-Naker, Y.F., Sayed-Ahmed, M., Saad, Z., Reiad, E., Younis, E.E., 2015. Prevalence of buffalo mastitis in dakahlia governorate. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 61, 32-39.
- El-Leboudy, A.A., Amer, A.A., Nasief, M.E., Eltony, S.M., 2015. Occurrence and behavior of *Pseudomonas* organisms in white soft cheese. *Alexandria Journal of Veterinary Science*, 44, 74-79.
- Ercolini, D., Russo, F., Ferrocino, I., Villani, F., 2009. Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk. *Food Microbiology*, 26(2), 228-231.

- Escobar-Zepeda, A., Vera-Ponce De León, A., Sanchez-Flores, A., 2015. The road to metagenomics: from microbiology to dna sequencing technologies and bioinformatics. *Frontiers in Genetics*, 6(348), 1-15.
- Espinosa-Pesqueira, D., Roig-Sagués, A.X., Hernández-Herrero, M.M., 2018. Screening method to evaluate amino acid-decarboxylase activity of bacteria present in spanish artisanal ripened cheeses. *Foods*, 7(182), 1-15.
- EUCAST, 2013. Guideline on detection of resistance mechanisms. Document version 1.0, 2013, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.
- European Food Safety Authority, 2011. Scientific opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum beta-lactamases and/or AmpC-beta-lactamases in food and food-producing animals. *EFSA J* 2011; 9:2322, EFSA
- Fadhil, L., Al-Marzoqi, A.H., Zahraa, M.A., Shalan, A.A., 2016. Molecular and phenotypic study of virulence genes in a pathogenic strain of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from various clinical origins by PCR: profiles of genes and toxins. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological Chemical Sciences*, 7, 590–598.
- Falagas, M.E., Karageorgopoulos, D.E., 2009. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *Journal Hospital Infection*, 73(4), 345-354.
- Fihman, V., Le Monnier, A., Corvec, S., Jauregui, F., Tankovic, J., Jacquier, H., Carbonnelle, E., Bille, E., Illiaquer, M., Cattoir, V., Zahar, J.R., *Stenotrophomonas maltophilia*—the most worrisome threat among unusual non-fermentative Gram-negative bacilli from hospitalized patients: A prospective multicenter study. *Journal of Infection*, 64, 391–398.
- Fisher, K., Phillips, C., 2009. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 155(6), 1749-1757.
- Fleming, D., Rumbaugh, K.P., 2017. Approaches to dispersing medical biofilms. *Microorganisms*, 5(2), 1-16.
- Fleming, D., Rumbaugh, K., 2018. The consequences of biofilm dispersal on the host. *Scientific Reports*, 8, 10738-10745
- Fouhy, Y., Scanlon, K., Schouest, K., Spillane, C., Crossman, L., Avison, M.B., Ryan, R.P., Dow, J.M., 2007. Difusible signal factor-dependent cell-cell signaling and virulence in the nosocomial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Journal of Bacteriology*, 189(13), 4964–4968.
- Fusco, V., Chieffi, D., Fanelli, F., 2020. Microbial quality and safety of milk and milk products in the 21st century. *Comprehensive Reviews Food Science Food Safety*, 1-37.
- Gazin, M., Paasch, F., Goossens, H., Malhotra-Kumar, S., Mosar, W.P., Teams, S.W.S., 2012. Current trends in culture-based and molecular detection of extended-

spectrum-beta-lactamase-harboring and carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4), 1140-1146.

- Gençkal, H., 2004. Studies On Alkaline Protease Production from *Bacillus* sp. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Teknoloji Enstitüsü, Biyomühendislik ve Biyoteknoloji Bölümü, İzmir.
- Genç, S., DüNDAR, D., 2015. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında GSBL üretiminin saptanmasında VITEK- 2 otomatize sistemi ile çift disk sinerji testinin karşılaştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 45(1), 36-40.
- Ghaima, K.K., 2018. Distribution of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) genes among *Acinetobacter baumannii* isolated from burn infections. *MOJ Cell Science and Report*, 5(2), 42-46.
- Ghasemi, E., Ghalavand, Z., Goudarzi, H., Yeganeh, F., Hashemi, A., Dabiri, H., Mirsamadi, E.S., Foroumand, M., 2018. Phenotypic and genotypic investigation of biofilm formation in clinical and environmental isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Archives of Clinical Infectious Diseases*, 13(4), 12914-12920.
- Gharavi, M.J., Zarei, J., Roshani-Asl, P., Yazdanyar, Z., Sharif, M., Rashidi, N., 2021. Comprehensive study of antimicrobial susceptibility pattern and extended spectrum beta-lactamase (ESBL) prevalence in bacteria isolated from urine samples. *Scientific Reports*, 11, 578-589.
- Giamarellou, H., Poulakou, G., 2009. Multidrug-resistant Gram negative infections: what are the treatment options. *Drugs*, 69(14), 1879-1901.
- Giaouris, E., Heir, E., Hebraud, M., Chorianopoulos, N., Langsrud, S., Moretro, T., Habimana, O., Desvaux, M., Renier, S., Nychas, G.J., 2014. Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: Causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. *Meat Science*, 97, 298–309.
- Glück, C., Rentschler, E., Krewinkel, M., Merz, M., von Neubeck, M., Wenning, M., Scherer, S., Stoeckel, M., Hinrichs, J., Stressler, T., Fischer, L., 2016. Thermostability of peptidases secreted by microorganisms associated with raw milk. *International Dairy Journal*, 56, 186–197.
- Gomes, B.C., Esteves, C.T., Palazzo, I.C.V., Darini, A.L., Felis, G.E., Sechi, L.A., Franco, B.D., De Martinis, E.C., 2008. Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp. isolated from Brazilian foods. *Food Microbiology*, 25, 668-675.
- Görgeç, S., Kuzucu, Ç., Yetkin, F., Ersoy, Y., 2011. Kan kültürlerinden izole edilen genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten Gram negatif bakterilerde tigesiklin ve diğer antimikrobiyallerin in vitro etkinliği ve karbapenemaz aktivitesinin araştırılması. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 18(2), 106-110.

- Grupper, M., Sprecher, H., Mashiach, T., Finkelstein, R., 2007. Attributable mortality of nosocomial *Acinetobacter* bacteremia. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 28(3), 293-298.
- Gurung, M., Nam, H.M., Tamang, M.D., Chae, M.H., Jang, G.C., Jung, S.C., Lim, S.K., 2013. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* from raw bulk tank milk in Korea. *Journal of Dairy Science*, 96, 1997-2002.
- Gupta, R., Beg, Q.K., Lorenz, P., 2002. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. *Apply Microbiology Biotechnology*, 59, 15-32.
- Gupta, S., Anand, S., 2018. Induction of pitting corrosion on stainless steel (grades 304 and 316) used in dairy industry by biofilms of common sporeformers. *Internatinal Journal of Dairy Technology*, 71, 519-531.
- Gurung, M., Nam, H.M., Tamang, M.D., Chae, M.H., Jang, G.C., Jung, S.C., Lim, S.K., 2013. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* from raw bulk tank milk in Korea. *Journal of Dairy Science*, 96, 1997-2002.
- Gundogan, N., Citak, S., Turan, E., 2006. Slime production, DNase activity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk, pasteurised milk and ice cream samples. *Food Control*, 17, 389-392
- Gündoğan, N., Yakar, U.A., 2007. Siderophore production, serum resistance, hemolytic activity and extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella* species isolated from milk and milk products. *Gıda Güvenliği Dergisi*, 27 (3), 251-264.
- Gündüz, G.T., Tuncel, G., 2006. Biyofilm formation in an ice cream plant. *Antonie Van Leeuwenhock International Journal of General Molecular Microbiology*, 89, (3-4), 329-336.
- Güney, M., Bedir, O., Kılıç, A., Başustaoglu, A.C., 2011. GATA Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında hemokültür örneklerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç durumları. *Gülhane Tıp Dergisi*, 53(2): 119-22.
- Gür, D., 1997. Beta –laktamazlar. *Flora*, 2 (Ek 3), 3-18
- Gür, D., Hascelik, G., Aydın, N., Telli, M., Gültekin, M., Ögünç, D., Arikan, O.A., Uysal, S., Yaman, A., Kibar, F., Gülay, Z., Sumerkan, B., Esel, D., Kayacan, C.B., Aktas, Z., Soyletir, G., Altinkanat, G., Durupinar, B., Darka, O., Akgün, Y., Yayla, B., Gedikoglu, S., Sinirtas, M., Berktaş, M., Yaman, G., 2009. Antimicrobial resistance in Gram-Negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 surveillance study of 2007. *Journal of Chemotherapy*, 21(4), 383-389.
- Güven, Ö., Ünver, D., Özdemir, S., Gönüllü, N., Küçükbasmacı, Ö., Altaş, K., 2008. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin antibiyotiklere duyarlılıkları ve beta-laktam direnç fenotipleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 38(3-4), 112-116.

- Hallgren, A., Claesson, C., Saeedi, B., Monstein, H.J., Hanberger, H., Nilsson, L.E., 2009. Molecular detection of aggregation substance, enterococcal surface protein, and cytolysin genes and in vitro adhesion to urinary catheters of *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* of clinical origin. *International Journal of Medicine Microbiology*, 299(5), 323-32.
- Helgason, E., Økstad, O.A., Caugant, D.A., Johansen, H.A., Fouet, A., Mock, M., Hegna, I., BritkolstØ, A., 2000. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*. one species on the basis of genetic evidence. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 2627-2630.
- Hammad, A.M., Ahmed, A.M., Ishida, Y., Shimamoto, T., 2008. First characterization and emergence of SHV-60 in raw milk of a healthy cow in Japan. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 70, 1269-1272.
- Hammerum, A.M., Heuer, O.E., 2009. Human health hazards from antimicrobial resistant *Escherichia coli* of animal origin. *Clinical Infectious Diseases*, 48, 916-921.
- Hancock, L.E., Perego, M., 2004. Systematic inactivation and phenotypic characterization of two-component signal transduction systems of *Enterococcus faecalis* V583. *Journal of Bacteriology*, 186(23), 7951-7958.
- Hänsch, G.M., 2012. Host defence against bacterial biofilms: “Mission Impossible”? *ISRN Immunol*, 853123, 1-17.
- Henriksen, S.D., 1973. *Moraxella*, *Acinetobacter*, and the Mimeae. *Bacteriology Reviews*, 37, 522–561.
- Hilliam, Y., Kaye, S., Winstanley, C., 2020. *Pseudomonas aeruginosa* and microbial keratitis. *Journal of Medicine Microbiology*, 69, 3-13.
- Hogan, J.S., Smith, K.L, Hoblet, K.H., Todhunter, D.A., Schoenberger, P.S., Hueston, W.D., Pritchard, D.E., Bowman, G.L., Heider, L.E., Brockett, B.L., 1989. Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies. *Journal of Dairy Science*, 72, 250–258.
- Hogan, J. S., Todhunter, D. A., Smith, K. L., Schoenberger, P. S., 1989. Serum susceptibility of coliforms isolated from bovine intramammary infections. *Journal of Dairy Science*, 72(7), 1893–1899.
- Holmberg, O., 1973. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. Biochemical properties, phage sensitivity and pathogenicity for the udder. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 45, 1-44.
- Holmberg, O., 1973. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. *Acta veterinaria Scandinavica Supplementum*, 45, 1-144.
- Högenauer, C, Langner C, Beubler, E, Lippe, I.T., Schicho, R., Gorkiewicz Krause, R., Gerstgrasser, N., Krejs, G.J., Hinterleitner, T.A., 2006. *Klebsiella oxytoca* as a

- causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. *New England Journal of Medicine*, 355, 2418-26.
- Hsueh, P.R., Teng, L.J., Yang, P.C., Ho, S.W., Hsieh, W.C., Luh, K.T., 1996. Clinical and microbiological characteristics of *Flavobacterium indologenes* infections associated with indwelling devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 34, 1908-1913.
- Huang, T., Bogaerts, P., Berhin, C., Guisset, A., Glupczynski, Y., 2010. Evaluation of brilliance esbl agar, a novel chromogenic medium for detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(6), 2091–2096.
- Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Ramdani-Bouguessa, N., Lounes, S., Bakour, R., Arlet, G., 2008. Dissemination of ESBL and Qnr determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62, 133– 136.
- Ibrahim, D.R., Dodd, C.E.R., Stekel, D.J., Ramsden, S.J., Hobman, J.L., 2016. Multidrug resistant, extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from a dairy farm. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(4), 1-13.
- Inoğlu, Z.N., Tuncer, Y., 2013. Safety assessment of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from Turkish tulum cheese. *Journal of Food Safety*, 33, 369-377.
- Jacoby, G.A., Han, P., 1996. Detection of Extended-Spectrum b-Lactamases in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Journal Of Clinical Microbiology*, 34, 908–911.
- Jacoby, G., Bush, K., 2012. Lahey clinic page on amino acid sequence for TEM, SHV and OXA extended spectrum and inhibitor resistant beta-lactamases. <http://www.lahey.org/Studies>, (10.10.2021).
- Jacoby, G.A., Medeiros, A.A., 1991. More extended-spectrum- lactamases. *Antimicrobiol Agents Chemotherapy*, 35(9), 1697-1704.
- Jalasutram, V., Jetty, A., Anupoju, G. R., 2011. Fermentative conversion of raw glycerol into 1,3-propanediol by isolated *Klebsiella pneumoniae* 141B strain: Optimization of culture variables. *African Journal of Biotechnology*, 10(80), 18493-18502.
- JavadGharavi, M., Zarei, J., Roshani-Asl, P., Yazdanyar, Z., Sharif, M., Rashidi, N., 2021. Comprehensive study of antimicrobial susceptibility pattern and extended spectrum beta-lactamase (ESBL) prevalence in bacteria isolated from urine samples. *Scientific Reports*, 11(578), 1-11.
- Johnson, M., Sommer, D., 2020. Detecting and preventing *Pseudomonas* contamination in dairy plants and products. *Center for Dairy Research*, 32(3), 1-11.
- Jouini, A., Vinué, L., Slama, K.B., Sáenz, Y., Klibi, N., Hammami, S., Boudabous, A., Torres, C., 2007. Characterization of CTX-M and SHV extended-spectrum b-

- lactamases and associated resistance genes in *Escherichia coli* strains of food samples in Tunisia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, 1137-1141.
- Jones, H.C., Roth, I.L., Saunders, W.M., 1969. 3rd. Electron microscopic study of a slime layer. *Journal Bacteriology*, 99(1), 316-325.
- Joo, H.S., Chang, C.S., 2005. Production of protease from a new alkalophilic *Bacillus* sp. I-312 grown on soybean meal: Optimization and some properties. *Process Biochem*, 40, 1263-1270.
- Joosten, H.M.L.J., Northolt, M.D., 1989. Detection, growth and amine-producing capacity of *Lactobacilli* in cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 2356–2359.
- Juven, B., Gordin, S., Rosenthal, A., Laufer, A., 1981. Changes in refrigerated milk caused by *Enterobacteriaceae*. *Journal Dairy Science*, 64,1781–1784.
- Khattab, M.A., Nour, M.S., ElSheshtawy, N.M., 2015. Genetic identification of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes among different isolates. *Journal of Microbial Biochemical Technology*, 7, 274–277.
- Kalmus, P., Aasmäe, B., Kärssin, A., Orro, T., Kask, K., 2011. Udder pathogens and their resistance to antimicrobial agents in dairy cows in Estonia. *Acta Veterinaria Scandinavica* , 53, 1-7.
- Kaluźna, E., Zalas-Więcek, P., Gospodarek, E., 2014. Comparison of detection methods for extended- spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains. *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*, 68, 808-813.
- Kamaruzzaman, E.A., Aziz, S.A., Bitrus, A.A., Zakaria, Z., Hassan, L., 2020. Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* from dairy cattle, milk, and farm environments in peninsular Malaysia. *Pathogens*, 9(12), 1007-1017.
- Kang, H.M., Jung, B.Y., Moon, J.S., Kang, M.S., Kim, J.M., Chung, C.I., 2015. Distribution of Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) and van gene types in domestic animals. http://210.101.116.28/W_files/kiss3/0b700851_pv.pdf (12.02.2015).
- Kaneko, K., Okamoto, R., Nakano, R., Kawakami, S., Inoue, M., 2005. Gene mutations responsible for overexpression of AmpC -lactamase in some clinical isolates of *Enterobacter cloacae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43, 2955–2958.
- Karaayak Uzun, B., Güngör, S., Şerifhan İlğün, M., Özdemir, R., Baran, N., Yüksel Ergin, Ö., 2012. Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia Coli* ve *Klebsiella Pneumoniae* izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve in-vitro antibiyotiklere direnç paternleri. *Ankem Dergisi*, 26(4), 181-186.

- Katarina, G.M., Mirjana, Ž.G., Violeta, D.J., LJiljana, R.Č., 2020. Broth depending production of extracellular enzymes by enterobacteria isolated from dairy food (serbian cheese). *Kragujevac Journal of Science*, 42, 123-134.
- Keller, R., Pedroso, M.Z., Ritchmann, R., Silva, R.M., 1998. Occurrence of Virulence-Associated Properties in *Enterobacter cloacae*. *Infection and Immunity*, 66(2), 645-649.
- Kempf, M., Rolain, J.M., 2012. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: Clinical impact and therapeutic options. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(2), 105-114.
- Knothe, H., Shah, P., Krcmery, V., Antal, M., Mitsuhahi, S., 1983. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and defuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infectious*, 11, 315-317.
- Kıvanç, S.A., Kıvanç, M., Yiğit, T., 2016. Antibiotic susceptibility, antibacterial activity and characterisation of *Enterococcus Faecium* strains isolated from breast milk. *Experimental And Therapeutic Medicine*, 12, 1732-1740.
- Kim, H.R., Lee, D.S., Eom, Y.B., 2018. Anti-biofilm and anti-virulence efficacy of celastrol against *Stenotrophomonas maltophilia*. *International Journal of Medical Sciences*, 15(6), 617-627.
- Kimura, B, Konagaya, Y, Fujii, T., 2001. Histamine formation by *Tetragenococcus muriaticus*, a halophilic lactic acid bacterium isolated from fish sauce. *International Journal of Food Microbiology*, 70, 71-77.
- Klare, I., Werner, G., Witte, W., Enterococci. Habitats, infections, virulence factors, resistances to antibiotics, transfer of resistance determinants. *Contributions to microbiology*, 8, 108-122.
- Klibi, N., Ben Slama, K., Saenz, Y., Masmoudi, A., Zanetti, S., Sechi, L. A., Boudabous, A., Torres, C., 2007. Detection of virulence factors in high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates from a Tunisian hospital. *Canadian Journal of Microbiology*, 53(3), 372-379.
- Kobayashi, T., Kajiwar, M., Wahyuni, M., Kitakado T., Hamada-Sato, N., Imada, C., Watanabe, E., 2003. Isolation and characterization of halophilic lactic acid bacteria isolated from 'terasi' shrimp paste, A traditional fermented seafood product in Indonesia. *The Journal General and Applied Microbiology*, 49, 279-286.
- Koch, S., Hufnagel, M., Theilacker, C., Huebner, C., 2004. Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities. *Vaccine*, 22, 822-830.
- Kojima, A., Ishii, Y., Ishihara, K., Esaki, H., Asai, T., Oda, C., Tamura, Y., Takahashi, T., Yamaguchi, K., 2005. Extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* strains isolated from farm animals from 1999 to 2002: report from the japanes veterinary animal resistance monitoring program. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 49, 3533-3537.

- Kokare, C.R., Chakraborty, S., Khopade, A.N., Mahadik, K.R., 2009. Biofilm: importance and applications. *Indian Journal of Biotechnology*, 8(2),159–68.
- Konagaya, Y., Kimura, B., Ishida, M., Fujii, T., 2002. Purification and properties of a histidine decarboxylase from *Tetragenococcus muriaticus*, a halophilic lactic acid bacterium. *Journal Applied Microbiology*, 92, 1136-1142.
- Koneman, E.W., Win, W.C. Jr, Allen, S.D., Janda, W.M., Procop, G., Schreckenberger, P.C., Woods, G., 2006. In *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, Sixth Edition. Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia,1565 s.
- Ko, W., Paterson, D.L., Sagnimeni, A.J., Hansen, D.S., Von Gottberg, A., Mohapatra, S., Casellas, J.M., Goossens, H., Mulazimoglu, L., Trenholme, G., Klugman, K.P., McCormack, J.G., Yu, V.L., 2002. Community-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: global differences in clinical patterns. *Emerging Infectious Diseases*, 8, 160–166.
- Köhler-Sarnouilidis, G., 1984. Ein beitrag zur bedeutulig del' dk-ase-aktivilat tieriselier *Staphylokokken*. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift*, 91, 157- 158.
- Köksal, E., Tulek, N., Sönmezer, M.Ç., Temoçin, F., Bulut, C., Hatipoğlu, Ç., Erdinç, F.Ş., Ertem, G., 2019. Investigation of risk factors for community-acquired urinary tract infections caused by extended-spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* and *Klebsiella* species. *Investigative and Clinical Urology*, 60, 46–53.
- Kumar, S., Sharma, N.S., Saharan, M.R., Singh, R., 2005. Extracellular acid protease from *Rhizopus oryzae*: purification and characterization. *Process Biochemistry*, 40(5), 1701–1705.
- Kurt Azap, Ö., Timurkaynak, F., Arslan, H., Özbalıkçı Karaman, S., 2004. Hastane infeksiyon etkeni olarak izole edilen non-fermentatif Gram negatif bakterilerde siprofloksasin, ofloksasin ve levofloksasinin in-vitro etkinliğinin karşılaştırılması. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 57(4), 189-94.
- Kurtoğlu, M.G., Opuş, A., Kaya, M., Keşli, R., Güzelant, A., Yüksekaya, Ş., 2011. Bir eğitim ve araştırma hastanesinde klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibakteriyel direnç. *Ankem Dergisi*, 25(1), 35-41.
- Kuş, H., Arslan, U., Türk Dağı, H., Fındık, D., 2017. Hastane enfeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında çeşitli virülans faktörlerinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 51(4), 329-339.
- Kuzucu, Ç., Yetkin, F., Görgeç, S., Ersoy, Y., 2011. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarının ertapenem ve diğer karbapenemlere karşı duyarlılıklarının araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 45(1), 28-35.

- Küçükçetin, A., 2008. Antalya semt pazarlarında satışa sunulan süzme yoğurtların mikrobiyolojik özellikleri ile biyojen amin içeriklerinin belirlenmesi. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, Erzurum, 815-816.
- LaFayette, S. L., Hole, D., Beaudoin, T., Wojewodka, G., Radzioch, D., Hoffman, L.R., Burns, J.L., Dandekar, A.A., Smalley, N.E., Chandler, J.R., Zlosnik, J.E., Speert, D.P., Bernier, J., Matuk, E., Brochiero, E., Rousseau, S., Nguyen, D., 2015. Cystic fibrosis-adapted *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing lasR mutants cause hyperinflammatory responses. *Science Advances*, 1(6), 1-15.
- Laskowski, M., 1967. DNases and their use in the studies of primary structure of nucleic acids. *Advances in Enzymology*, 29, 165-220.
- Latorre, A.A., Van Kessel, J.S., Karns, J.S., Zurakowski, M.J., Pradhan, A.K., Boor, K.J., Jayarao, B.M., Houser, B.A., Daugherty, C.S., Schukken, Y.H., 2010. Biofilm in milking equipment on a dairy farm as a potential source of bulk tank milk contamination with *Listeria monocytogenes*. *Journal of Dairy Science*, 93(6), 2792-2802.
- Lauková, A., Strompfová, V., Kandričáková, A., Ščerbová, J., Semedo-Lemsaddek, T., Miltko, R., Belzecki, G., 2015. Virulence factors genes in enterococci isolated from beavers (Castor fiber). *Folia Microbiology*, 60, 151-154.
- Lautenbach, E., Strom, B.L., Bilker, W.B., Patel, J.B., Edelstein, P.H., Fishman, N.O., 2001. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Clinical Infectious Diseases*, 33(8), 1288-1294.
- Lehtolainen, T., Shwimmer, A., Shpigel, N.Y., Honkanen-Buzalski, T., Pyörälä, S., 2003. In vitro antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolates from clinical bovine mastitis in Finland and Israel. *Journal of Dairy Science*, 86(12), 3927-3932.
- Leid, J.G., 2009. Bacterial biofilms resist key host defenses. *Microbe*, 4, 66-70.
- Liaw, S.J., Lee, Y.L., Hsueh, P.R., 2010. Multidrug resistance in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*: roles of integrons, efflux pumps, phosphoglucosyltransferase (SpgM), and melanin and biofilm formation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35, 126-130.
- Linares, D.M., Martín, M.C., Ladero, V., Alvarez, M.A., Fernández, M., 2011. Biogenic amines in dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 691-703.
- Livermore, D.M., 1995. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 8, 557-584.
- Livermore, D.M., 2012. Current epidemiology and growing resistance of Gram-negative pathogens. *Korean Journal of Internal Medicine*, 27(2), 128-42.

- Locatelli, C., Caronte, I., Scaccabarozzi, L., Migliavacca, R., Pagani, L., Moroni, P., 2009. Extended-spectrum β lactamase production in *E. coli* strains isolated from clinical bovine mastitis. *Veterinary Research Communications*, 33, 141-144.
- Lorenzo, J.M., Cachaldora, A., Fonseca, S., Gómez, M., Franco, I., Carballo, J., 2010. Production of biogenic amines “in vitro” in relation to the growth phase by *Enterobacteriaceae* species isolated from traditional sausages. *Meat Science*, 86, 684–691.
- MacFaddin, J.F., 2000. Deoxyribonuclease (DNase) and Thermonuclease (Tnase) Tests. In Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. *Lippincott Williams & Wilkins*, Philadelphia, 136–159.
- MacKenzie, F.M., Miller, C.A., Gould, I.M., 2002. Comparison of screening methods for TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamase detection. *Clinical Microbiology of Infection*, 8(11), 715-724.
- Madi, H., Lukić, J., Vasiljević, Z., Biočanin, M., Kojić, M., Jovčić, B., Lozo, J., 2016. Genotypic and phenotypic characterization of *Stenotrophomonas maltophilia* strains from a pediatric tertiary care hospital in Serbia. *Plos One*, 11, 10.
- Maifreni, M., Frigo, F., Bartolomeoli, I., Innocente, N., Biasutti, M., Marino, M., 2013. Identification of the Enterobacteriaceae in Montasio cheese and assessment of their amino acid decarboxylase activity. *Journal of Dairy Research*, 80, 122–127.
- Maravić, A., Skočibušić, M., Šamanić, I., Puizina, J., 2013. Profile and multidrug resistance determinants of *Chryseobacterium indologenes* from seawater and marine fauna. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 29, 515–522.
- Marcinkiewicz, J., Strus, M., Pasich, E., 2013. Antibiotic resistance: a “dark side” of biofilm associated chronic infections. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, 123(6), 309-313.
- Marchand, S., De Block, J., Jonghe, V.D., Coorevits, A., Heyndrickx, M., Herman, L., 2012. Biofilm formation in milk production and processing environments; Influence on milk quality and safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 133-147.
- Marchand, S., Heylen, K., Messens, W., Coudijzer, K., De Vos, P., Dewettinck, K., Herman, L., De Block J., Heyndrickx, M., 2009. Seasonal influence on heat-resistant proteolytic capacity of *Pseudomonas lundensis* and *Pseudomonas fragi*, predominant milk spoilers isolated from Belgian raw milk samples. *Environment Microbiology*, 11, 467-482.
- Marino, M., Maifreni, M., Moret, S., Rondinini, G., 2000. The capacity of *Enterobacteriaceae* species to produce biogenic amines in cheese. *Letters in Applied Microbiology*, 31, 169-173.
- Marty, K.B., Williams, C.L., Guynn, L.J., Benedik, M.J., Blanke, S.R., 2002. Characterization of a cytotoxic factor in culture filtrates of *Serratia marcescens*. *Infection and Immunity*, 70 (3), 1121-1128.

- McDaniel, C.T., Panmanee, W., Hassett, D.J., 2015. An overview of infections in cystic fibrosis airways and the role of environmental conditions on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and viability. *Cystic Fibrosis in the Light of New Research*, 8, 171–198.
- Mellmann, A., Cloud, J., Maier, T., 2008. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of nonfermenting bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 46, 1946–1954.
- Meng, L., Zhang, Y., Liu, H., Zhao, S., Wang, J., Zheng, N., 2017. Characterization of *Pseudomonas* spp. and associated proteolytic properties in raw milk stored at low temperatures. *Frontiers Microbiology*, 8(2158), 1-7.
- Meunier, D., Jouy, E., Lazizzera, C., Kobisch, M., Madec, J.Y., 2006. CTX-M-1- and CTX-M-15-type β -lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28(5), 402–407.
- Mesa, R.J., Blanc, V., Blanch, A.R., Corte's, P., Gonza'lez, J.J., Lavilla, S., Miro', E., Muniesa, M., Saco, M., To'rtola, M.T., Mirelis, B., Coll, P., Llagostera, M., Prats, G., Navarro, F., 2006. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58, 211–215.
- Middleton, J.R., Fox, L.K., Pighetti, G., 2017. Laboratory Handbook On Bovine Mastitis, *National Mastitis Council*, New Prague, 147 s.
- Mielmann, A., 2006. Food spoilage characteristics of *Chryseobacterium* species, Master's Thesis. University of the Free State, Bloemfontein, South Africa.
- Mittelman, M.W., 1998, Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations. *Journal of Dairy Science*, 81(10), 2760–2764.
- Mody, R.M., Erwin, D.P., Summers, A.M., Carrero, H.A., Selby, E.B., Ewell, A.J., Moran, K.A., 2007. Ertapenem susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 6(6), 1-15.
- Mohamed, J.A., Murray, B.E., 2005, Lack of correlation of gelatinase production and biofilm formation in a large collection of *Enterococcus faecalis* isolates, *Journal of Clinical Microbiology*, 43(10), 5405-5407.
- Mohamed, J.A., Huang, D.B., 2007. Biofilm formation by enterococci. *Journal of Medicine Microbiology*, 56(12), 1581-1588.
- Moriceau, C., Eveillard, M., Lemarié, C., Chenouard, R., Pailhoriès, H., Kempf, M., 2020. *Stenotrophomonas maltophilia* susceptibility to ceftazidime-avibactam combination versus ceftazidime alone. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 50, 305-307.

- Morrissey, I., Bouchillon, S.K., Hackel, M., Biedenbach, D.J., Hawser, S., Hoban, D., Badal, R.E., 2014. Evaluation of the Clinical and Laboratory Standards Institute phenotypic confirmatory test to detect the presence of extended-spectrum β -lactamases from 4005 *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* isolates. *Journal of Medical Microbiology*, 63, 556-561.
- Morrissey, I., Hackel, M., Badal, R., Bouchillon, S., Hawser, S., Biedenbach, D., 2013. A review of ten years of the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART) from 2002 to 2011. *Pharmaceuticals (Basel)*, 6(11), 1335-1346.
- Mucherjee, A.K., Adhikari, H., Rai, S.K., 2008. Production of alkaline protease by a thermophilic *Bacillus subtilis* under solid state fermentation (SSF) condition using imperate *Cylindrica* gres and potato peel as low-cost medium, Characterization and application of enzyme in detergent formulation. *Journal Biochemical Engineering*, 39, 353-361.
- Mulcahy, H., Charron-Mazenod, L., Lewenza, S., 2010. *Pseudomonas aeruginosa* produces an extracellular deoxyribonuclease that is required for utilization of DNA as a nutrient source. *Environmental Microbiology*, 12(6), 1621-1629.
- Munoz, M.A., Welcome, F.L., Schukken, Y.H., Zadoks, R.N., 2008. Molecular epidemiology of two *Klebsiella pneumoniae* mastitis outbreaks on a dairy farm in New York State. *Journal of Clinical Microbiology*, 45, 3964-3971.
- Munsch-Alatossava, P., Alatossava, T., 2007. Antibiotic resistance of raw-milk-associated psychrotrophic bacteria. *Microbiological Research*, 162, 115-123.
- Navon-Venezia, S., Kondratyeva, K., Carattoli, A., 2017. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 41, 252–275.
- Neamah, A.A., 2017. Molecular detection of virulence factor genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from human and animals in Diwaniya province. *Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences*, 8(1), 218-230.
- Nikaido, H., 1994. Prevention of drug access to bacterial targets: Permeability barriers and active efflux. *Science*, 264, 382-388.
- Nonnemann, B., Lyhs, U., Svennesen, L., Kristensen, K.A., Klaas, I.C., Pedersen, K., 2019. Bovine mastitis bacteria resolved by MALDI-TOF mass spectrometry. *American Dairy Science Association*, 102, 2515-2524.
- Novella-Rodríguez, S., Veciana-Nogues, M.T., Vidal-Carou, M.C., 2000. Biogenic amines and polyamines in milks and cheeses by Ion-Pair High Performance Liquid Chromatography. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 48, 5117-5123.
- Nyenje, M.E., Green E., Ndip R.N., 2013. Evaluation of the effect of different growth media and temperature on the suitability of biofilm formation by *Enterobacter cloacae* strains isolated from food samples in South Africa. *Molecules*, 18, 9582-9593.

- Ohnishi, M., Sawada, T., Hirose, K., Sato, R., Hayashimoto, M., Hata, E., Yonezawa, C., Kato, H., 2011. Antimicrobial susceptibilities and bacteriological characteristics of bovine *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* isolates from mastitis. *Veterinary Microbiology*, 154, 202–207.
- Oliveira, L., Hulland, C., Ruegg, P.L., 2013. Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*, 96, 7538–7549.
- Oliver, S.P., Murinda, S.E., 2012. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. *The Veterinary Clinics Food Animal Practice*, 28(2), 165-185.
- Oliver, S.P., Jayarao, B.M., Almeida, R.A., 2005. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathogenic Diseases*, 2(2), 115-129.
- Olsen, I., 2015. Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *European Journal of Clinical Microbiology Infection Diseases*, 34, 877–886.
- O'Neill, J., 2015. Antimicrobials in agriculture and the environment: reducing unnecessary use and waste. *Review on Antimicrobial Resistance*, <http://amr-review.org/> (Date Last Accessed: 22 February 2016).
- Onishi, H., Mori, T., Takeuchi, S., Tani, K., Kobayashi, T., 1983. Halophilic nuclease of moderately halophilic *Bacillus* sp.: production purification and characteristics. *Applied Environmental Microbiology*, 45, 24–30.
- O'Toole, G., Kolter, R., 1998. Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology*, 30, 295-304.
- Öngüt, G., Özcan, A., Kandişer, A., Ögünç, D., Çolak, D., Gültekin, M., 2005. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının E test ile araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 19(4), 425-428.
- Özden Tuncer, B., Ay, Z., Tuncer, Y., 2013. Occurrence of enterocin genes, virulence factors, and antibiotic resistance 3 bacteriocin-producer *Enterococcus faecium* strains isolated from Turkish tulum cheese. *Türk Journal Biologie*, 37, 443-449.
- Özpınar, H., Tekiner, İ.H., Sarıcı, B., Çakmak, B., Gökalp, F., Özadam, A., 2017. Phenotypic characterization of ESBL- and AmpC- type beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* from chicken meat and dairy products. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 64, 267-272.
- Öztürk, C.E., Albayrak, H.T., Altınöz, A., Ankaralı, H., 2010. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotiklere direnç ve beta-laktamaz oranları. *Ankem Dergisi*, 24(3), 117-23.

- Öztürk, C.E., Çalışkan, E., Şahin, Ğ., 2011. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci ve metallo-beta-laktamaz sıklığı. *Ankem Dergisi*, 25(1), 42-7.
- Paköz, N.Ğ., Doğan, S.Ğ., Aral, M., 2011. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Ankem Dergisi*, 25(2), 73-78.
- Pakshir, K., Ravandeh, M., Khodadadi, H., Motamedifar, M., Zomorodian, K., Alipour, S., 2018. Evaluation of exoenzyme activities, biofilm formation, and co-hemolytic effect in clinical isolates of *Candida parapsilosis* species complex. *Journal of Global Infection Diseases*, 10, 163-165.
- Pant, R., Nirwal, S., Rai, N., 2013. Prevalence of antibiotic resistant bacteria and analysis of microbial quality of raw milk samples collected from different regions of dehradun. *International Journal of Pharmtech Research*, 5(2), 804-810.
- Paraje, M.G., Barnes, A.I., Albesa, I., 2005. An *Enterobacter cloacae* toxin able to generate oxidative stress and to provoke dose-dependent lysis of leukocytes. *International Journal of Medicine Microbiology*, 295, 109–116.
- Park, C.K., 1933. Studies on staphylococci isolated from bovine udder infections, II. Distribution and biochemical properties of coagulase-, negative staphylococci. *Korcan Journal Veterinary Research*, 23(2): 1G5-1n.
- Park, C.K., 1982. Studies on staphylococci isolated from bovine udder infections, Biochemical properties of *Staphylococcus aureus*. *Korcan Journal Veterinary Research*, 22(1), 15-21.
- Passerini de Rossi, B., Calenda, M., Vay, C., Franco, M., 2007. Biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from device-associated nosocomial infections. *Revista Argentina de Microbiologia*, 39, 204–212.
- Paterson, D.L., Bonomo, R.A., 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Review*, 18, 657-686.
- Paterson, D.L., 2006. Resistance in Gram Negative Bacteria: *Enterobacteriaceae*. *American Journal of Infection Control*, 34 (5), S20-S28.
- Pereira, R.S., Dias, V.C., Ferreira-Machado, A.B., Resende, J.A., Bastos, A.N., de Andrade Bastos, L.Q., de Andrade Bastos, V.Q., Bastos, R.V., da Silva, V.C., Diniz C.G., 2016. Physiological and molecular characteristics of carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter aerogenes*. *Journal of Infection in Developing Countries*, 10(6), 59-599.
- Pereira, S.F., Henriques, A.O., Pinho, M.G., de Lencastre, H., Tomas, Z., 2007. A Role of PBP1 in cell division of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*, 189(9), 3525-3531.

- Pfeifer, Y., Cullik, A., Witte, W., 2010. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *International Journal of Medicine Microbiology*, 300(6), 371-379.
- Pinna, A., Usai, D., Sechi, L.A., Mollicotti, P., Zanetti, S., Carta, A.M.D., 2008. Detection of virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from contact lens-associated corneal ulcers. *Cornea*, 27(3), 320-326.
- Pintado, A.I.E., Pinho, O., Ferreira, I.M.P.L.V.O., Pintado, M.M.E., Gomes, A.M.P., Malcata, F.X., 2008. Microbiological, biochemical and biogenic amine profiles of Terrincho cheese manufactured in several dairy farms. *International Dairy Journal*, 18(6), 631-640.
- Pircher, A., Bauer, F., Paulsen, P., 2007. Formation of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine by bacteria isolated from meat, fermented sausages and cheeses. *European Food Research Technology*, 226, 225–231.
- Pitout, J.D., Laupland, K.B., 2008. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *The Lancet Infectious Diseases*, 8(3), 159-166.
- Philippon, A., Arlet, G., Logrange, P.H., 1994. Origin and impact of plasmid mediated extended spectrum -laktamases. *European Journal of Clinical Microbiology and Infection Diseases*, 13(Suppl 1): 17.
- Philippon, A., Labia, R., Jacoby, G., 1989. Extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 33, 1131-1136.
- Pollack, M., 1995. *Pseudomonas aeruginosa* in: Principles and Practice of Infectious Diseases, New York, 1980-2003.
- Pompilio A., Crocetta V., Confalone P., Nicoletti M., Petrucca A., Guarnieri S., Fiscarelli E., Savini V., Piccolomini R., Di Bonaventura G., 2010. Adhesion to and biofilm formation on IB3-1 bronchial cells by *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cystic fibrosis patients. *BMC Microbiology*, 10(102), 1-15.
- Pompilio, A., Piccolomini, R., Picciani, C., D'Antonio, D., Savini, V., Di Bonaventura, G., 2008. Factors associated with adherence to and biofilm formation on polystyrene by *Stenotrophomonas maltophilia*: the role of cell surface hydrophobicity and motility. *FEMS Microbiology Letters*, 287(1), 41-47.
- Pompilio, S., Pomponio, V., Crocetta, V., Gherardi, G., Verginelli, F., Fiscarelli, E., Dicuonzo, G., Savini, V., D'Antonio, D., Di Bonaventura, G., 2011. Phenotypic and genotypic characterization of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from patients with cystic fibrosis: genome diversity, biofilm formation, and virulence. *BMC Microbiology*, 11(159), 1-16.
- Pompilio, A., Savini, V., Fiscarelli, E., Gherardi, G., Di Bonaventura, G., 2020. Clonal diversity, biofilm formation, and antimicrobial resistance among *Stenotrophomonas*

maltophilia strains from cystic fibrosis and non-cystic fibrosis patients. *Antibiotics (Basel)*, 9(15), 1-16.

- Prashanth, K., Badrinath, S., 2005. Epidemiological investigation of nosocomial *Acinetobacter* infections using arbitrarily primed PCR & pulse field gel electrophoresis. *Indian Journal of Medical Research*, 122(5), 408-418.
- Qin, X., Singh, K.V., Weinstock, G.M., Murray, B.E., 2000. Effects of *Enterococcus faecalis* *fsr* genes on production of gelatinase and a serine protease and virulence. *Infection and Immunity*, 68, 2579-2586.
- Qin, X., Singh, K.V., Weinstock, G.M., Murray, B.E., 2001. Characterization of *fsr*, a regulator controlling expression of gelatinase and serine protease in *Enterococcus faecalis* OG1RF. *Journal of Bacteriology*, 183, 3372-3382.
- Quale, J.M., Landman, D., Bradford, P.A., Visalli, M., Ravishankar, J., Flores, C., Mayorga, D., Vangala, K., Adedeji, A., 2002. Molecular epidemiology of a citywide outbreak of extended-spectrum beta-lactamase- producing *Klebsiella pneumoniae* infection. *Clinical Infectious Diseases*, 35, 834-841.
- Ramos-Hegazy, L., 2020. Biofilm and virulence regulation in the cystic fibrosis-associated pathogens, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Pseudomonas aeruginosa*, Master of Science. Purdue University, Indianapolis, Indiana.
- Rowbotham, R.F., Ruegg, P.L., 2016. Bacterial counts on teat skin and in new sand, recycled sand, and recycled manure solids used as bedding in freestalls. *Journal of Dairy Science*, 99, 6594-6608.
- Rice, L.B., 2009. The clinical consequences of antimicrobial resistance. *Current Opinion in Microbiology*, 12(5), 476-81.
- Robberts, F.J., Kohner, P.C., Patel, R., 2009. Unreliable extended-spectrum beta-lactamase detection in the presence of plasmid-mediated AmpC in *Escherichia coli* clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 47, 358-361.
- Rodríguez-Martínez, J.M., Ballesta, S., Pascual, A., 2007. Activity and penetration of fosfomycin, ciprofloxacin, amoxicillin/clavulanic acid and co-trimoxazole in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *International Journal of Antimicrobiol Agents*, 30(4), 366-368.
- Roig-Sagués, A., Molina, A., Hernández-Herrero, M., 2002. Histamine and tyramine-forming microorganisms in Spanish traditional cheeses. *European Food Research Technology*, 215, 96-100.
- Rossi, C., Chaves-López, C., Serio, A., Goffredo, A., Goga, B.T.C., Paparella, A., 2016. Influence of Incubation Conditions on Biofilm Formation by *Pseudomonas Fluorescens* Isolated from Dairy Products and Dairy Manufacturing Plants. *Italian Journal of Food Safety*, 5(5793), 154-157.

- Roy, C., Foz, A., Segura, C., Tirado, M., Fuster, C., Reig, R., 1983. Plasmid-determined identified in a group of 204 ampicillin-resistant *Enterobacteriaceae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 12, 507-10.
- Römling, U., Balsalobre, C., 2012. Biofilm infections, their resilience to therapy and innovative treatment strategies. *Journal of Internatinal Medicine*, 272(6), 541-561.
- Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F., 2004. Biogenic amines in meat and meat products. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 44, 489-499.
- Ryan, R.P., Monchy, S., Cardinale, M., Taghavi, S., Crossman, L., Avison, M.B., Berg, G., van der Lelie, D., Dow, J.M., 2009. The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*. *Natural Review in Microbiology*, 7, 514-525.
- Saad, N.M., Amin, W.F., Mostafa, S.M., 2018. Detection of *Acinetobacter* species in milk and some dairy products. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 64(156), 34-40.
- Sağlam D, Durmaz S, Kılıç H, Atalay, M.A., Erçal, B.D., Şarlı, Ş., Perçin, D., 2011. Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve antibiyotik direnç paternleri. *Ankem Dergisi*, 25(4), 250-5.
- Saltık, S., 2019. Gıda gıdalarında satın almanın endişe uyandırmak ve tercihleri belirlenenlerin olası sonuçları. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
- Sanders, C.C., Barry, A.L., Washington, J.A., Shubert, C., Moland, E.S., Traczewski, M.M., Knapp, C., Mulder, R., 1996. Detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing members of the family *Enterobacteriaceae* with Vitek ESBL test. *Journal of Clinical Microbiology*, 34, 2997-3001.
- Santana, E., Beloti, V., Müller, E., Ferreira, M., Moraes, L., Pereira, M., Gusmão, V., 2004. Milk contamination in different points of the dairy process: mesophilic, psychrotrophic and proteolytic microorganisms. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 25(4), 349-358.
- Saini, M., Raj, A., Bhattacharyya, S., Banik, A., Chattopadhyay, U.K., 2020. Prevalence of *Klebsiella oxytoca* in milk samples of metropolitan city Kolkata: A study. *Eastern Journal of Medical Sciences*, 5(1), 16-18.
- Saini, V., McClure, J.T., Leger, D., Keefe, G.P., School, D.T., Morck, D.W., Barkema, H.W., 2012. Antimicrobial resistance profiles of common mastitis pathogens on Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 95 :4319–4332.
- Sauer, K., Rickard, A.H., Davies, D.G., 2007. Biofilms and biocomplexity. *Microbe*, 2(7), 347–55.
- Scaccabarozzi, L., Leoni, L., Ballarini, A., Barberio, A., Locatelli, C., Casula, A., Bronzo, V., Pisoni, G., Jousson, O., Morandi, S., Rapetti, L., García-Fernández, A., Moroni, P., 2015. *Pseudomonas aeruginosa* in dairy goats: genotypic and phenotypic comparison of intramammary and environmental isolates. *Plos One*, 10(11), 1-23.

- Sechi, L.A., Karadenizli, A., Deriu, A., Zanetti, S., Kolaylı, F., Balıkçı, E., Vahaboğlu, H., 2004. PER-1 type beta-lactamase production in *Acinetobacter baumannii* is related to cell adhesion. *Medicine Science Monitor*, 10(6), 180-184.
- Seçkin, H., Dostbil, N., 2018. A research study on the identification, characterization, and gelatinase enzyme activities of the halotolerant bacteria isolated from salinized sheep skins. *Commagene Journal of Biology*, 2(1), 25-29.
- Seng, P., Drancourt, M., Gourié, F., 2009. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Infectious Diseases*, 49, 543–51.
- Seno, Y., Kariyama, R., Mitsuhashi, R., Monden, K., Kumon, H., 2005. Clinical implications of biofilm formation by *Enterococcus faecalis* in the urinary tract. *Acta Medica Okayama*, 59(3), 79-87.
- Shankar, N., Coburn, P., Pillar, C., Haas, W., Gilmore, M., 2004. Enterococcal cytolysin: activities and association with other virulence traits in a pathogenicity island. *International Journal of Medical Microbiology*, 293(7-8), 609-618.
- Shankar, V., Baghdadyan, A.S., Huycke, M.M., Lindahl, G., Gilmore, M.S., 1999. Infection-derived *Enterococcus faecalis* strains are enriched in esp, a gene encoding a novel surface protein. *Infection and Immunity*, 67(1), 193-200.
- Sharma, M., Anand, S.K., 2002. Characterization of constitutive microflora of biofilms in dairy processing lines. *Food Microbiology*, 19, 627–636.
- Sharma, A., Tiwari, R., 2005. Extracellular enzyme production by environmental strains *Serratia* spp. isolated from river Narmada. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 42 (3), 178-181.
- Shashwati, N., Kiran, T., Dhanvijay, A.G., 2014. Study of extended spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae* and antibiotic coreistance in a tertiary care teaching hospital. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 5, 30-35.
- Shircliff, M.E., Mader, J.T., Camper, A.K., 2002. Molecular interactions in biofilms. *Chemistry and Biology*, 9, 859-871.
- Silva Lopes, M.F., Simões, A.P., Tenreiro, P., Figueiredo Marques, J.J., Barreto Crespo M.T., 2006. Activity and expression of a virulence factor, gelatinase, in dairy *Enterococci*. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 208–214.
- Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P.K. Viridi, J.S., 2015. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology*, 6(791), 1-16.
- Singh, L., Cariappa, M.P., Kaur, M., 2016. *Klebsiella oxytoca*: An emerging pathogen. *Medical Journal of Armed Forces India*, 72, 59-61.

- Sirot, D., 1995. Extended-spectrum plasmid mediated beta-lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 36, 19-34.
- Smet, A., Martel, A., Persoons, D., Dewulf, J., Heyndrickx, M., Herman, L., Haesebrouck, F., Butaye, P., 2010. Broad-spectrum b-lactamases among *Enterobacteriaceae* of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiology Reviews*, 34, 295-316.
- Sogawa, K., Watanabe, M., Sato, K., Segawa, S., Ishii, C., Miyabe, A., Murata, S., Saito, T., Nomura, F., 2011. Use of the MALDI BioTyper system with MALDI-TOF mass spectrometry for rapid identification of microorganisms. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400(7), 1905-1911.
- Söğüt, M.Ü., Yıldırım, T., Birinci, A., Durupınar, B., 2011. Determination of PER-1 and OXA-10-like beta-lactamases in ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates by molecular methods. *Türkiye Klinikleri Journal Medicine Science*, 31(5), 1227-1235.
- Sömer, V.F., Başyigit Kılıç, G., 2012. Microbiological, physicochemical properties and biogenic amine contents of the strained yoghurts from Turkish local markets. *African Journal of Biotechnology*, 11(78), 14338-14343.
- Sönmez, U., Çalık, Ş., Çayıröz, M.U., Olut, A.I., Arı, A., Tosun, S., Yiş, R., 2018. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz salgılayan *Klebsiella Pneumoniae* ve *Escherichia coli*'ye bağlı bakteriyemilerde mortalite ile ilişkili risk faktörlerinin belirlenmesi ve ampirik piperasilintazobaktam ile karbapenem tedavisi sonuçlarının karşılaştırılması. *Ankem Dergisi*, 32(1), 1-8.
- Srinivasan, V., Gillespie, B.E., Lewis, M.J., Nguyen, L.T., Headrick, S.I., Schukken, Y.H., Oliver, S.P., 2007. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis. *Veterinary Microbiology*, 124, 319-328.
- Srinu, B., Vijaya Kumar, A., Shashi Kumar, M., Narayana, B.V.L., Madhava Rao, T., 2012. Assessment of microbiological quality and associated health risks of raw milk sold in and around Hyderabad city. *International Journal of Pharmacy Biological Sciences*, 3(4), 609-614.
- Stehling, E.G., Silveira, W.D., Leite, D.S., 2008. Study of biological characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with cystic fibrosis and from patients with extra-pulmonary infections. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 12(1), 86-88.
- Steensels D., Verhaegen J., Lagrou K., 2011. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for the identification of bacteria and yeasts in a clinical microbiological laboratory: a review. *Acta Clinica. Belgica*, 66(4), 267-273.
- Stewart, P.S., 2003. Diffusion in biofilms. *Journal of Bacteriology*, 185(5), 1485-1491.

- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W., 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Review of Microbiology*, 56, 187–209.
- Stürenburg, E., Mack, D., 2003. Extended-spectrum betalactamases, Implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *Journal of Infection*, 47(4), 273-295.
- Streeter, K., Katouli, M., 2016. Pseudomonas aeruginosa: a review of their pathogenesis and prevalence in clinical settings and the environment. *Infection Epidemiology Medicine*, 2, 25-32.
- Sudagidan, M., Aydin, A., 2009. Screening virulence properties of *Staphylococci* isolated from meat and meat products. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 96, 128-134.
- Sudagidan, M., Çavuşoğlu, C., Bacakoğlu, F., 2008. Biyomalzeme yüzeylerinden izole edilen metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarında virulans genlerinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 42(1), 29-39.
- Süzük Yıldız, S., Kaşkatepe, B., Altınok, S., Çetin, M., Karagöz, A., Savaş, S., 2017. Viridans grup streptokok tanımlamasında MALDI-TOF ve 16S rRNA yöntemlerinin karşılaştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 51(1), 1-9
- Szabo, D., Melan, M.A.A., Hujer, A.M., Bonomo, R.A., Hujer, K.M., Bethel, C.R., Kristof, K., Paterson, D.L., 2005. Molecular analysis of the simultaneous production of two SHV-type extended-spectrum betalactamases in a clinical isolate of *Enterobacter cloacae* by using single-nucleotide polymorphism genotyping. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 49, 4716-4720.
- Szramka, B., Kurlenda, J., Bielawski, K., 1998. Hemolytic activity of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca*. *Medycyna Doswiadczalna Mikrobiologia*, 50, 207-213.
- Şanal, L., Tümtürk, A., 2019. Sağlık bakımı ile ilişkili infeksiyonlardan izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu betalaktamaz sıklığı: 4 yıllık bir çalışma. *Flora*, 24(1), 32-36.
- Senbayrak, S., Boz, E.F., Cevan, S., İnan, A., Öztürk Engin, D., Doşoğlu, N., Çobanoğlu, N., Dağlı, Ö., Davarcı, İ., Aksaray, S., 2017. Antibiotic resistance trends and the ESBL prevalence of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp urinary isolates in in-and outpatients in a tertiary care hospital in Istanbul, 2004–2012. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 10(5), 1-8.
- Tang, X., Flint, S.H., Bennett, R.J., Brooks, J.D., Morton, R.H., 2009. Biofilm growth of individual and dual strains of *Klebsiella oxytoca* from the dairy industry on ultrafiltration membranes. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36, 1491-1497.
- Tark, D.S., Moon, D.C., Kang, H.Y., Kim, S.R., Nam, H.M., Lee, H.S., Jung, S.C., Lim, S.K., 2017. Antimicrobial susceptibility and characterization of extended spectrum

- β -lactamases in *Escherichia coli* isolated from bovine mastitic milk in South Korea from 2012 to 2015. *Journal of Dairy Science*, 100, 1-7.
- Teh, K.H., Flint, S., Palmer, J., Andrewes, P., Bremer, P., Lindsay, D., 2014. Biofilm—An unrecognised source of spoilage enzymes in dairy products. *International Dairy Journal*, 34, 32–40.
- Teh, K.H., Flint, S., Palmer, J., Lindsay, D., Andrewes, P., Bremer, P., 2011. Thermo-resistant enzyme-producing bacteria isolated from the internal surfaces of raw milk tankers. *International Dairy Journal*, 21, 742-747.
- Temiz, H., Akkoç, H., Gül, K., 2008. Laboratuvarımızda idrar kültürlerinden izole edilen Gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç. *Dicle Tıp Dergisi*, 35(4), 234-239.
- Temiz, H., Temiz, S., Kaya, Ş., Çelen, M.K., 2014. Kan kültürlerinden izole edilen Gram-negatif bakterilerde çeşitli antibiyotiklere direnç. *Klinik Dergisi*, 27(2), 62-68.
- Ten Brink, B., Damink, C., Joosten, H.M.L.J., Huis in't Veld, J.H.J., 1990. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 11, 73–84.
- Tham, J., Walder, M., Melander, E., Odenholt, I., 2012. Duration of colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in patients with travellers' diarrhoea. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 44, 573–577.
- Torkar, K.G., Teger S.G., 2008. The Microbiological quality of raw milk after introducing the two day's milk collecting system. *Acta Agriculturae Slovenica*, 92(1), 61–74.
- Torlak, E., 2011. Gıda mikrobiyolojisinde *Enterobacteriaceae* üyeleri için kromojenik ve florojenik besiyerleri, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68(1), 49-58.
- Torracca, B., Pedonese, F., Turchi, B., Fratini, F., Nuvoloni, R., 2018. Qualitative and quantitative evaluation of biogenic amines in vitro production by bacteria isolated from ewes' milk cheeses. *European Food Research Technology*, 244, 721–728.
- Towner, K., 2006. The genus *Acinetobacter* the Prokaryotes, Proteobacteria. *Gamma Subclass*, 6, 746-758.
- Travassos, L.H., Pinheiro, M.N., Coelho, F.S., Sampaio, J.L.M., Merquior, V.L.C., Marques, E.A., 2004. Phenotypic properties, drug susceptibility and genetic relatedness of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical strains from seven hospitals in Rio de Janeiro. *Brazil Journal of Applied Microbiology*, 96, 1143–1150.
- Trifonova, A., Strateva, T., 2019. *Stenotrophomonas maltophilia* – a low-grade pathogen with numerous virulence factors. *Infectious Diseases*, 51, 168-178.
- Tunçoğlu, E., Yenişehirli, G., Bulut, Y., 2009. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. *Ankem Dergisi*, 23(2), 54-8.

- Türk Dağı, H., Arslan, U., Fındık, D., Tuncer, İ., 2011. Kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları. *Ankem Dergisi*, 25(2), 107-110.
- Türk Dağı, H., Arslan, U., Fındık, D., Tuncer, İ., 2011. Kan kültürlerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarında antibiyotik direnci. *Ankem Dergisi*, 25(1), 22-26.
- Türkdağı, H., Arslan, U., Fındık, D., Tuncer, İ., 2011. Kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları. *Ankem Dergisi*, 25(2), 107-110.
- Thomas, R., Hamat, R.A., Neela, V., 2014. Extracellular enzyme profiling of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *Virulence*, 5(2), 326-330.
- Thomson, K.S., Weber, D.A., Sanders, C.C., Sanders, W.E., 1990. Beta-laktamase production in members of the family enterobacteriaceae and resistance to-laktam enzyme inhibitory combinations. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, 34(4), 622-627.
- Tian, G.B., Wang, H.N., Zou, L.K., Tang, J.N., Zhao, Y.W., Ye, M.Y., Tang, J.Y., Zhang, Y., Zhang, A.Y., Yang, X., Xu, C.W., Fu, Y.J., 2009. Detection of CTX-M-15, CTX-M-22, and SHV-2 extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in *Escherichia coli* fecal-sample isolates from pig farms in China. *Foodborne Pathogen Diseases*, 6, 297-304.
- Upadhyaya, P.M.G., Ravikumar, K.L., Umapathy, B.L., 2009. Review of virulence factors of *Enterococcus*: an emerging nosocomial pathogen. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 27, 301-305.
- Ustaçelebi, Ş., 1999. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*, 1.baskı. Güneş Kitabevi, Ankara, 1339 s.
- Uylaşer, V., Konak, A., 2004. Gıdalardaki biyojen aminler ve insan sağlık açısından önemi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi*, 6:26-33.
- Uzun, B., Güngör, S., Yurtsever, S.G., Afşar, Ğ., Demirci, M., 2012. Yoğun bakım hastalarının kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumları. *Ankem Dergisi*, 26(2), 55-60.
- Üstün, C., 2010. Hastane kökenli karbapenem dirençli ve duyarlı *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları. *Ankem Dergisi*, 24(1), 1-6.
- Vahaboğlu, H., Akhan, S., Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M., 2008. *Pseudomonas Aeruginosa* ve Diğer *Pseudomonas Türleri*, 3. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2175-2186.
- Valenzuela, A.S., Ben Omar, N., Abriouel, H., López, R.L., Veljovic, K., Cañamero, M.M., Topisirovic, M.K.L., Gálvez, A., 2008. Risk factors in enterococci isolated

- from foods in Morocco: determination of antimicrobial resistance and incidence of virulence traits. *Food Chemical Toxicology*, 46, 2648-2652.
- Vale, S., Gloria, M.B.A., 1998. Biogenic amines in Brazilian cheeses. *Food Chemistry*, 63, 343-348.
- Vandamme, P., Bernardet, J., Segers, P., Kersters, K., Holmes, B., 1994. New perspectives in the classification of the flavobacteria: Description of *Chryseobacterium* gen. nov. *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. rev. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44, 827-831.
- Vankerckhoven, V., Van Autgaerden, T., Vae, C., Lammens, C., Chapelle, S., Rossi, R., Jabes, D., Goossens, H., 2004. Development of a multiplex PCR for the detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of *Enterococcus faecium*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, 4473-4479.
- Van Veen S.Q., Claas E.C., Kuijper E.J., 2010. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(3), 900-907.
- Vásquez, L., Ramírez, N.F., Akineden, Ö., Fernández, J.A., 2017. Presence of extended-spectrum beta lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* in bulk-tank milk of bovine dairy farms in Antioquia, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 30, 85-100.
- Vergis, E.N., Shankar, N., Chow, J.W., Hayden, M.K., Snyderman, D.R., Zervos, M.J., Linden, P.K., Wagener, M.M., Muder, R.R., 2002. Association between the presence of enterococcal virulence factors gelatinase, hemolysin, and enterococcal surface protein and mortality among patients with bacteremia due to *Enterococcus faecalis*. *Clinical Infectious Diseases*, 35(5), 570-575.
- Verma, V., Raju, S.C., Kapley, A., Kalia, V.C., Dagainawala, H.F., Purohit, H.J., 2010. Evaluation of genetic and functional diversity of *Stenotrophomonas* isolates from diverse effluent treatment plants. *Bioresource Technology*, 101, 7744-7753.
- Vithanage, N.R., Yeager, T.R., Jadhav, S.R., Palombo, E.A., Datta, N., 2014. Comparison of identification systems for psychrotrophic bacteria isolated from raw bovine milk. *International Journal of Food Microbiology*, 189, 26-38.
- Ye, Q., Wu, Q., Zhang, S., 2018. Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* from retail food in China. *Frontiers in Microbiology*, 9(1709), 1-12.
- Yılmaz, S., Duyan, S., Artuk, C., Diktaş, H., 2014. Mikrobiyolojik tanımlamada MALDI-TOF MS uygulamaları. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 13(5), 421-426.

- Youn Y, Lee S.W., Cho H.H., Park, S., Chung, H.S., Seo, J.W., 2018. Antibiotics-associated hemorrhagic colitis caused by *Klebsiella oxytoca*: Two case reports. *Pediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*, 21, 141-146.
- Zadoks, R.N., Griffiths, H.M., Munoz, M.A., Ahlstrom, C., Bennett, G.J., Thomas, E., Schukken. Y.H., 2011. Sources of *Klebsiella* and *Raoultella* species on dairy farms: be careful where you walk. *Journal of Dairy Science*, 94, 1045-1051.
- Zdanowicz, M., Shelford, J.A., Tucker, C.B., Weary, D.M., von Keyserlingk. M.A., 2004. Bacterial populations on teat ends of dairy cows housed in free stalls and bedded with either sand or sawdust. *Journal of Dairy Science*, 87, 1694-1701.
- Zarakolu, P., Metan, G., Hasçelik, G., Akova, M., 2005. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının saptanmasında farklı fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 39(3), 265-272.
- Zhang, D., Palmer, J., Hoong Teh, K., Biggs, P., Flint, S., 2019. 16S rDNA high-throughput sequencing and MALDI-TOF MS are complementary when studying psychrotrophic bacterial diversity of raw cows' milk. *International Dairy Journal*, 97, 86-91.
- Zheng, L., Bae, Y.M., Jung, K.S., Heu, S., Lee, S.Y., 2013. Antimicrobial activity of natural antimicrobial substances against spoilage bacteria isolated from fresh produce. *Food Control*, 32, 665–672.
- Zeinhom, M.M.A., Hassan, G.M., Salem, H.A.M., Corke, H., 2021. Prevalence and Survival of *Stenotrophomonas* Species in Milk and Dairy Products in Egypt. *Foodborne Pathogens and Disease*, 18(5), 337-345.
- Walsh, C., Fanning, S., 2008. Antimicrobial resistance in foodborne pathogens a cause for concern. *Current Drug Targets*, 9(9), 808-815.
- Wang, A., Wang, Q., Kudinha, T., Xiao, S., Zhuo, C., 2016. Effects of fluoroquinolones and azithromycin on biofilm formation of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Scientific Reports*, 6(29701), 1-11.
- Wang, B., Tan, X., Du, R., Zhao, F., Zhang, L., Han, Y., Zhou, Z., 2019. Bacterial composition of biofilms formed on dairy-processing equipment. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 1532-2297.
- Weber, M., Liedtke, J., Plattes, S., Lipski, A., 2019. Bacterial community composition of biofilms in milking machines of two dairy farms assessed by a combination of culture-dependent and –independent methods. *Plos One*, 14(9), 1-21.
- Weiler, C., Ifland, A., Naumann, A., Kleta, S., Noll, M., 2013. Incorporation of *Listeria monocytogenes* strains in raw milk biofilms. *Internatinal Journal of Food Microbiology*. 161, 61–68.

- Welker, M., 2011. Proteomics for routine identification of microorganisms. *Proteomics* 11(15), 3143-3153.
- Wessels, D., Jooste, P.J., Mostert, J.F., 1989. Psychrotrophic, proteolytic and lipolytic properties of *Enterobacteriaceae* isolated from milk and dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 9, 79–83.
- Wiedmann, M., Weilmeier, D., Dineen, S.S., Ralyea, R., Boor, K.J., 2000. Molecular and phenotypic characterization of *Pseudomonas* spp. isolated from milk. *Applied Environment Microbiology*, 66, 2085–2095.
- Wieser, L., Schneider, J., Jung, S., Schubert, 2012. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics identification of microorganisms and beyond. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(3), 965-974.
- Willke, A., Azak, E., 2011. Kan kültüründen üreyen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları: üç yıllık sonuçlar [Özet]. *Ankem Dergisi*, 25(1), 1.
- Winn, W.C., Allen, S.D., Janda, W.M., Koneman, E.W., Procop, G.W., Schreckenberger, P.C., Woods, G.L., 2006. Konemans's Color Atlas And Textbook Of Diagnostic Microbiology, 6th Edn. Baltimore: Lippincott, Williams And Wilkins.
- Wittum, T.E., Mollenkopf, D.F., Daniels, J.B., Parkinson, A.E., Mathews, J.L., Fry, P.R., Abley, M.J., Gebreyes, W.A., 2010. CTX-M-type extended-spectrum β - lactamases present in *Escherichia coli* from the feces of cattle in Ohio, United States. *Foodborne Pathogen Diseases*, 7, 1575-1579.
- Wong, D., Nielsen, T.B., Bonomo, R.A., Pantapalangkoor, P., Luna, B., Spellberg, B., 2017. Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges. *Clinical Microbiology Reviews*, 30, 409-447.
- World Health Organization, 2001. Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. RevPanam Salud Pública vol.10 n.4, WHO, Washington.
- Worth, L.J., Slavin, M.A., Vankerckhoven, V., Goossens, H., Grabsch, E.A., Thursky, K.A., 2008. Virulence determinants in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* vanB: clonal distribution, prevalence and significance of esp and hyl in Australian patients with haematological disorders. *Journal of Hospital Infection*, 68(2), 137-44.

EKLER

EK 1-Tablo 1. Örneklerin Alındığı Yerler ve Kodları

ÖRNEK SAYISI	KODU	ALINAN YER
1	YH1	Göhlhisar
2	YH2	Burdur/Merkez
3	YH3	Yazıköy/Merkez
4	YH4	Kuruçay Köyü/Merkez
5	YH5	Kuruçay Köyü/Merkez
6	YH6	Kuruçay Köyü/Merkez
7	YH7	Kuruçay Köyü/Merkez
8	YH8	Kuruçay Köyü/Merkez
9	YH9	Kuruçay Köyü/Merkez
10	YH10	Kuruçay Köyü/Merkez
11	YH11	Ağlasun
12	YH12	Ağlasun
13	YH13	Ağlasun
14	YH14	Kurna Köyü/Merkez
15	YH15	Kurna Köyü/Merkez
16	YH16	Kurna Köyü/Merkez
17	YH17	Kurna Köyü/Merkez
18	YH18	Kurna Köyü/Merkez
19	YH19	Kurna Köyü/Merkez
20	YH20	Kurna Köyü/Merkez
21	YH21	Kurna Köyü/Merkez
22	YH22	Kurna Köyü/Merkez
23	YH23	Düğer Köyü/Merkez
24	YH24	Düğer Köyü/Merkez
25	YH25	Düğer Köyü/Merkez
26	YH26	Düğer Köyü/Merkez
27	YH27	Düğer Köyü/Merkez
28	YH28	Gökçebağ/Merkez
29	YH29	Gökçebağ/Merkez
30	YH30	Gökçebağ/Merkez
31	YH31	Gökçebağ/Merkez
32	YH32	Gökçebağ/Merkez
33	YH33	Gökçebağ/Merkez
34	YH34	Gökçebağ/Merkez
35	YH35	Yeşilbaş Köyü /Ağlasun
36	YH36	Yeşilbaş Köyü/Ağlasun
37	YH37	Yeşilbaş Köyü/Ağlasun
38	YH38	Karakent Köyü/Merkez
39	YH39	Karakent Köyü/Merkez
40	YH40	Karakent Köyü/Merkez
41	YH41	Karakent Köyü/Merkez
42	YH42	Karakent Köyü/Merkez
43	YH43	Sazak Köyü /Yeşilova

EK 1-Tablo 1. Örneklerin Alındığı Yerler ve Kodları Devamı

ÖRNEK SAYISI	KODU	ALINAN YER
44	YH44	Büğdüz/Merkez
45	YH45	Büğdüz/Merkez
46	YH46	Büğdüz/Merkez
47	YH47	Kurna Köyü/Merkez
48	YH48	Burdur/Merkez
49	YH49	Çaylı Köyü/Tefenni
50	YH50	Hasanpaşa/Tefenni
51	YH51	Karamusa Köyü/Tefenni
52	YH52	Karamusa Köyü/Tefenni
53	YH53	Ağlasun
54	YH54	Ağlasun
55	YH55	Ağlasun
56	YH56	Ağlasun
57	YH57	Ağlasun
58	YH58	Ağlasun
59	YH59	Ağlasun
60	YH60	Ağlasun
61	YH61	Yazıköy/Merkez
62	YH62	Çavdır
63	YH63	Çavdır
64	YH64	Çavdır
65	YH65	Çavdır
66	YH66	Çavdır
67	YH67	Düğer/Merkez
68	YH68	Düğer/Merkez
69	YH69	Düğer/Merkez
70	YH70	Düğer/Merkez
71	YH71	Düğer/Merkez
72	YH72	Düğer/Merkez
73	YH73	Çendik/Merkez
74	YH74	Çendik/Merkez
75	YH75	Düğer/Merkez
76	YH76	Yarıköy/Merkez
77	YH77	Burdur/Merkez
78	YH78	İlyas Köyü/Merkez
79	YH79	Sala Köyü/Merkez
80	YH80	Yazıköy/Merkez
81	YH81	Burdur/Merkez
82	YH82	Kökez/Merkez
83	YH83	Büğdüz/Merkez
84	YH84	Büğdüz/Merkez
85	YH85	Büğdüz/Merkez
86	YH86	Büğdüz/Merkez
87	YH87	Akyaka/Merkez
88	YH88	Akyaka/Merkez
89	YH89	Yaylabeli/Merkez

EK 1-Tablo 1. Örneklerin Alındığı Yerler ve Kodları Devamı

ÖRNEK SAYISI	KODU	ALINAN YER
90	YH90	Akyaka/Merkez
91	YH91	Çeltikçi
92	YH92	Susuz/Bucak
93	YH93	Susuz/Bucak
94	YH94	Susuz/Bucak
95	YH95	Susuz/Bucak
96	YH96	Susuz/Bucak
97	YH97	Susuz/Bucak
98	YH98	Susuz/Bucak
99	YH99	Kökez/Merkez
100	YH100	Kökez/Merkez
101	YH101	Kökez/Merkez
102	YH102	Kökez/Merkez
103	YH103	Kökez/Merkez
104	YH104	Kökez/Merkez
105	YH105	Göhlisar
106	YH106	Göhlisar
107	YH107	Göhlisar
108	YH108	Göhlisar
109	YH109	Göhlisar
110	YH110	Göhlisar
111	YH111	Göhlisar
112	YH112	Dirmil/Altınyayla
113	YH113	Dirmil/Altınyayla
114	YH114	Dirmil/Altınyayla
115	YH115	Dirmil/Altınyayla
116	YH116	Dirmil/Altınyayla
117	YH117	Kökez/Merkez
118	YH118	Bayındır/Çavdır
119	YH119	Yazıköy/Merkez
120	YH120	Burdur /Merkez
121	YH121	Çavdır
122	YH122	Çavdır
123	YH123	Çavdır
124	YH124	Çavdır
125	YH125	Çavdır
126	YH126	Çavdır
127	YH127	Kemer
128	YH128	Kemer
129	YH129	Kemer
130	YH130	Kemer
131	YH131	Kemer
132	YH132	Kemer
133	YH133	Tefenni
134	YH134	Tefenni
135	YH135	Tefenni

EK 1-Tablo 1. Örneklerin Alındığı Yerler ve Kodları Devamı

ÖRNEK SAYISI	KODU	ALINAN YER
136	YH136	Tefenni
137	YH137	Tefenni
138	YH138	Tefenni
139	YH139	Tefenni
140	YH140	Göhlhisar
141	YH141	Göhlhisar
142	YH142	Bucak
143	YH143	Bucak
144	YH144	Bucak
145	YH145	Bucak
146	YH146	Bucak
147	YH147	Bucak
148	YH148	Bucak
149	YH149	Bucak
150	YH150	Bucak
151	YH151	Bucak
152	YH152	Kemer

EK 2 -Tablo 2. Antibiyogram Aktivite Testi Sonuçları

BAKTERİ ADI	CAZ(10µg)	CAZ(30µg)	CPD(10 µg)	AMC(30µg)	CRO(5 µg)
<i>A. baumannii</i> YH138B	9,88±0,93 (*)	13,60±0,58 (R)	7,94±0,49(*)	11,48±0,23(*)	5,25±0,68(*)
<i>C. gleum</i> YH67B	19,12±0,53(*)	20,97±0,09 (S)	-	8,09±0,28(*)	2,25±0,09(*)
<i>C. gleum</i> YH69A	17,50±2,17(*)	20,77±0,29(S)	-	7,16±0,52(*)	-
<i>E. cloacae</i> YH27A	-	2,73±1,38(R)	-	3,71±1,11(*)	-
<i>E. coli</i> YH75A	5,53±1,29(*)	9,47±1,70(R)	0,85±0,26(R)	12,21±0,95(*)	1,12±0,01(*)
<i>E. coli</i> YH78A	11,10±0,38(*)	7,86±1,21(R)	-	14,48±0,13(*)	-
<i>E. coli</i> YH126A	1,87±0,98(*)	4,31±0,54(R)	-	11,47±1,14(*)	-
<i>E. coli</i> YH131A	15,15±0,00(*)	15,59±0,74(R)	2,39±1,34(R)	11,59±1,81(*)	2,58±0,25(*)
<i>E. coli</i> YH140B	13,48±1,84(*)	14,60±0,69(R)	1,04±0,84(R)	13,07±0,93(*)	3,11±0,52(*)
<i>H. alvei</i> YH102A	22,60±1,23(*)	24,39±0,86(S)	30,14±1,31(S)	35,94±2,46(*)	26,37±1,96(*)
<i>K. oxytoca</i> YH96	15,68±0,91(*)	11,15±0,66(R)	9,15±0,95(R)	15,87±1,08(*)	11,32±0,84(*)
<i>K. oxytoca</i> YH98B	12,94±0,31(*)	16,50±1,58(R)	10,08±0,34(R)	15,11±0,76(*)	11,25±0,74(*)
<i>K. oxytoca</i> YH152A	17,06±1,01(*)	20,80±0,06(R)	23,85±2,22(S)	15,85±0,77(*)	22,00±0,64(*)
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	21,20±2,58(*)	17,73±1,68(S)	-	3,31±0,09(*)	7,86±0,16(R)
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	18,90±1,37(*)	23,67±1,20(S)	-	2,99±0,59(*)	7,09±1,34(R)
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	11,69±1,12(*)	13,84±0,71(R)	7,28±1,63(*)	11,97±0,58(*)	3,62±0,08(R)
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	21,22±0,28(*)	22,39±1,40(R)	-	-	10,58±0,82(R)
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	19,51±0,17(*)	23,61±0,57(R)	-	-	5,70±1,13(R)
<i>S. maltophilia</i> YH6A	-	6,59±1,78(*)	-	5,00±0,33(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH12A	6,54±0,84(*)	10,56±0,42(*)	-	5,08±0,62(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH12B	5,51±2,08(*)	12,94±0,92(*)	-	5,83±0,75(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH64	17,14±0,82(*)	23,04±1,44(*)	-	7,58±1,58(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH93	11,34±0,48(*)	8,46±0,02(*)	-	6,02±0,51(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH94A	8,89±0,56(*)	12,04±0,52(*)	-	16,08±0,83(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH97A	6,27±0,58(*)	8,59±0,31(*)	-	12,1±1,04(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH97B	12,38±1,31(*)	9,79±1,13(*)	-	14,69±0,84(*)	1,95±0,55(R)
<i>S. maltophilia</i> YH99	6,20±0,06(*)	10,04±1,34(*)	-	12,68±0,10(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH100	11,90±1,27(*)	11,71±0,53(*)	11,87±1,00(*)	13,40±0,95(*)	9,65±0,71(R)
<i>S. maltophilia</i> YH101	13,23±0,83(*)	-	-	3,99±0,34(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH103	8,08±0,47(*)	10,76±1,25(*)	-	14,24±1,28(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH113	19,75±1,06(*)	20,87±0,22(*)	16,02±0,64(*)	3,83±0,69(*)	5,05±1,11(R)
<i>S. maltophilia</i> YH129D	2,88±0,40(*)	6,53±0,29(*)	-	10,73±0,86(*)	-
<i>S. maltophilia</i> YH135B	18,62±0,78(*)	19,93±1,26(*)	-	-	6,09±0,21(R)

Amoksisilin/klavulanik asit (AMC) (20/10 µg)

Seftazidim (CAZ) (10 µg)

Seftriakson (CRO) (5 µg)

-: Zon gelişimi yok

Seftodoksım (CPD) (10 µg)

Seftazidim (CAZ) (30 µg)

*: CLSI'da zon çapı sınır değerleri bulunmamaktadır

EK 2 -Tablo 2. Antibiyogram Aktivite Testi Sonuçları devamı

BAKTERİ ADI	CTX (30 µg)	CTX (5 µg)	FEP (30 µg)	FEP (5 µg)
<i>A. baumannii</i> YH138B	9,91±1,01(R)	6,91±0,35(*)	14,44±0,13(R)	10,30±1,65(R)
<i>C. gleum</i> YH67B	8,62±0,29(R)	-	26,36±0,09(S)	20,21±0,54(I)
<i>C. gleum</i> YH69A	6,96±1,01(R)	-	27,61±0,16(S)	20,94±0,69(I)
<i>E. cloacae</i> YH27A	2,60±0,96(R)	-	16,55±0,95(R)	10,78±0,79(R)
<i>E. coli</i> YH75A	4,46±0,23(R)	1,30±0,66(*)	10,30±0,66(R)	5,71±0,86(R)
<i>E. coli</i> YH78A	3,78±0,27(R)	-	8,13±0,18(R)	5,95±0,86(R)
<i>E. coli</i> YH126A	-	-	8,84±1,42(R)	4,64±0,57(R)
<i>E. coli</i> YH131A	1,70±0,92(R)	1,70±0,92(*)	9,66±0,98(R)	6,95±0,73(R)
<i>E. coli</i> YH140B	8,08±0,96(R)	8,08±0,96(*)	13,48±0,76(R)	5,73±0,78(R)
<i>H. alvei</i> YH102A	36,22±0,21(S)	27,10±1,87(*)	25,36±1,22(S)	25,64±0,65(S)
<i>K. oxytoca</i> YH96	16,28±0,85(R)	10,41±1,52(*)	20,20±1,14(I)	14,90±0,27(R)
<i>K. oxytoca</i> YH98B	9,90±0,32(R)	10,39±1,48(*)	15,92±1,01(R)	10,87±0,59(R)
<i>K. oxytoca</i> YH152A	25,84±0,81(S)	21,18±1,69(*)	23,29±0,40(I)	21,12±1,02(I)
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	14,81±0,57(R)	4,99±0,45(*)	21,21±0,19(S)	7,96±1,36(R)
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	14,66±0,84(R)	3,71±0,98(*)	16,73±6,60(R)	12,90±0,50(R)
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	12,43±1,28(R)	4,32±0,18(*)	16,04±1,20(R)	6,59±0,15(R)
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	14,61±0,83(R)	7,11±1,12(*)	25,02±1,47(S)	16,31±1,18(R)
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	15,33±1,44(R)	-	23,57±0,78(I)	10,20±1,28(R)
<i>S. maltophilia</i> YH6A	-	-	5,01±1,10(R)	-
<i>S. maltophilia</i> YH12A	3,43±0,62(R)	-	10,21±0,30(R)	-
<i>S. maltophilia</i> YH12B	5,15±0,14(R)	-	13,71±0,96(R)	-
<i>S. maltophilia</i> YH64	21,22±0,40(R)	-	19,68±0,78(I)	6,65±0,56(R)
<i>S. maltophilia</i> YH93	4,79±0,54(R)	-	9,07±0,27(R)	4,85±0,45(R)
<i>S. maltophilia</i> YH94A	4,26±0,38(R)	-	8,90±0,50(R)	4,85±0,76(R)
<i>S. maltophilia</i> YH97A	6,37±0,93(R)	-	11,58±0,86(R)	8,40±0,67(R)
<i>S. maltophilia</i> YH97B	7,85±1,10(R)	-	13,35±0,77(R)	5,11±0,25(R)
<i>S. maltophilia</i> YH99	8,56±0,15(R)	-	12,88±1,10(R)	7,44±0,18(R)
<i>S. maltophilia</i> YH100	17,01±0,03(R)	9,40±0,10(R)	18,49±1,23(R)	15,14±0,13(R)
<i>S. maltophilia</i> YH101	3,07±0,13(R)	-	15,40±1,10(R)	-
<i>S. maltophilia</i> YH103	4,14±0,52(R)	-	8,87±1,17(R)	4,77±0,36(R)
<i>S. maltophilia</i> YH113	12,75±0,84(R)	5,57±0,18(R)	15,65±0,84(R)	6,88±0,45(R)
<i>S. maltophilia</i> YH129D	1,70±0,92(R)	-	8,22±0,54(R)	4,36±0,15(R)
<i>S. maltophilia</i> YH135B	12,79±0,59(R)	4,70±0,29(R)	19,62±0,67(R)	14,66±0,91(R)

Sefepim (FEP) (5 µg)

Sefepim (FEP) (30 µg)

Sefotaksim (CTX) (5 µg)

Sefotaksim (CTX) (30 µg)

*: CLSI'da zon çapı sınır değerleri bulunmamaktadır

-: Zon gelişimi yok

EK 3-Tablo 3. Vitek Antibiyogram Sonuçları

Bakteri adı	GSBL	Ampisilin	Amoksisilin /Klavulanik Asit	Tikarsilin /Klavulanik Asit	Sefaleksim
<i>A. baumannii</i> YH138B	*	*	*	TRM	*
<i>C. gleum</i> YH67B	*	*	*	≥128 (R)	*
<i>E. cloacae</i> YH27A	*	≥32 (R)	≥32 (R)	≥128 (R)	*
<i>E. coli</i> YH131A	POZ	≥32 (R)	16 (I)	16 (S)	*
<i>H. alvei</i> YH102A	*	≥32 (R)	≥32 (R)	≥64 (I)	*
<i>K. oxytoca</i> YH96	*	≥32 (R)	8 (S)	≤8 (S)	*
<i>K. oxytoca</i> YH152A	NEG	≥32 (R)	≤2 (S)	16 (S)	*
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	*	TRM	TRM	TRM	TRM
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	*	*	*	32 (S)	*
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	*	*	*	≤8 (S)	*
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	*	*	*	32 (I)	*
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	*	*	*	32 (I)	*

NEG: Negatif

POZ: Pozitif

TRM: Yetersiz Üreme

*: VITEK' te tanımlı MİK aralığı bulunmamaktadır

EK 3-Tablo 3.Vitek Antibiyogram Sonuçları Devamı

Bakteri adı	Sefalotin	Sefoperazon	Seftiofur	Sefkuinom	İmipenem	Gentamisin	Neomisin
<i>A. baumannii</i> YH138B	*	*	≥8 (R)	*	≤0,25 (S)	4 (S)	*
<i>C. gleum</i> YH67B	*	32 (I)	≥8 (R)	*	≥16 (R)	≥16 (R)	*
<i>E. cloacae</i> YH27A	≥64 (R)	32 (I)	≥8 (R)	4 (I)	2 (S)	2 (S)	≤2 (S)
<i>E. coli</i> YH131A	≥64 (R)	≥64 (R)	≥8 (R)	≤8 (R)	≤0,25 (S)	≥16 (R)	≥64 (R)
<i>H. alvei</i> YH102A	≥64 (R)	16 (S)	≥8 (R)	≥8 (R)	≤0,25 (S)	≤1(S)	≤2 (S)
<i>K. oxytoca</i> YH96	TRM	TRM	≥8 (R)	TRM	TRM	TRM	TRM
<i>K. oxytoca</i> YH98B	≥64 (R)	≤4 (S)	≥8 (R)	2 (S)	≤0,25 (S)	8 (I)	≤2 (S)
<i>K. oxytoca</i> YH152A	≥64 (R)	≤4 (S)	4 (I)	≥8 (R)	≤0,25 (S)	≤1(S)	16 (I)
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	TRM	TRM	TRM	*	TRM	TRM	*
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	*	*	≥8 (R)	*	2 (S)	2 (S)	*
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	*	16 (S)	≥8 (R)	*	0,5(S)	≤1(S)	*
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	*	≤4 (S)	≥8 (R)	*	2 (S)	≤1(S)	*
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	*	≤4 (S)	4 (I)	*	2 (S)	4 (S)	*

NEG: Negatif

POZ: Pozitif

TRM: Yetersiz Üreme

*: VITEK' te tanımlı MİK aralığı bulunmamaktadır

EK 3- Tablo 3.Vitek Antibiyogram Sonuçları Devamı

Bakteri adı	Flume-kin	Enrofloksasin	Marbofloksasin	Tetrasiklin	Florfenisol	Polimiksin B	Trimetoprim/SMZ
<i>A. baumannii</i> YH138B	*	2 (I)	2 (I)	≤1 (S)	*	≤0,25	≤20 (S)
<i>C. gleum</i> YH67B	*	≤0,12 (S)	≤0,5 (S)	≥16 (R)	*	*	≤20 (S)
<i>E. cloacae</i> YH27A	≤1 (S)	0,25 (S)	1 (S)	≤1 (S)	8 (I)	*	≤20 (S)
<i>E. coli</i> YH131A	≥32 (R)	≥4(R)	≥4(R)	≥16 (R)	≥32 (R)	1	≥320 (R)
<i>H. alvei</i> YH102A	≤1(S)	≤0,12 (S)	≤0,5 (S)	4 (S)	16 (R)	-	≤20 (S)
<i>K. oxytoca</i> YH96	2 (S)	≤0,12 (S)	≤0,5 (S)	8 (I)	≥32 (R)	*	≤20 (S)
<i>K. oxytoca</i> YH152A	≥32 (R)	1 (I)	1 (S)	2 (S)	16 (R)	*	≤20 (S)
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	*	TRM	TRM	TRM	*	TRM	TRM
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	*	0,5(S)	≤0,5 (S)	*	*	1	*
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	*	≤0,12 (S)	≤0,5 (S)	≤1 (S)	*	0,5	≤20 (S)
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	*	2 (I)	≤0,5 (S)	≥16 (R)	*	1	≥320 (R)
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	*	0,5(S)	1 (S)	8 (I)	*	≥16	160 (R)

NEG: Negatif

POZ: Pozitif

TRM: Yetersiz Üreme

*: VITEK'te tanımlı MİK aralığı bulunmamaktadır

EK 4-Tablo 4. MALDI-TOF MS Sonuçları

BAKTERİ NUMARASI	BAKTERİ KODU	BAKTERİ ADI	GRAM ÖZELLİĞİ	MALDI-TOF DEĞERİ
1	YH6A	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.432
2	YH6B1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram negatif	2.355
3	YH12A	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.471
4	YH12B	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.459
5	YH27A	<i>Enterobacter cloacae</i>	Gram negatif	2.262
6	YH27C	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram negatif	2.403
7	YH64	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.236
8	YH67B	<i>Chryseobacterium gleum</i>	Gram negatif	1.879
9	YH69A	<i>Chryseobacterium gleum</i>	Gram negatif	1.926
10	YH75A	<i>Escherichia coli</i>	Gram negatif	2.471
11	YH78A	<i>Escherichia coli</i>	Gram negatif	2.458
12	YH93	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.229
13	YH94A	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.254
14	YH96	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Gram negatif	2.493
15	YH97A	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	1.836
16	YH97B	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.32
17	YH98B	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Gram negatif	2.468
18	YH99	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.045
19	YH100	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	1.87
20	YH101	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.284
21	YH102A	<i>Hafnia alvei</i>	Gram negatif	2.262
22	YH103	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.212
23	YH113	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.436
24	YH126A	<i>Escherichia coli</i>	Gram negatif	2.537
25	YH129D	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.363
26	YH131A	<i>Escherichia coli</i>	Gram negatif	2.475
27	YH135B	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Gram negatif	2.294
28	YH138A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram negatif	2.396
29	YH138B	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Gram negatif	2.505
30	YH140B	<i>Escherichia coli</i>	Gram negatif	2.342
31	YH148A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram negatif	2.385
32	YH152A	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Gram negatif	2.299
33	YH152B	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram negatif	2.341

Maldi tof değer aralığı	Tanım
2.300 ... 3.000	Büyük olasılıkla tür tanımlaması
2.000 ... 2.299	Güvenli cins tanımlaması, olası tür tanımlaması
1.700 ... 1.999	Olası cins tanımlaması
0.000 ... 1.699	Güvenilir olmayan tanımlama

EK 5- Tablo 5. Jelatinaz Üretimi Sonuçları

BAKTERİ ADI	ZON OLUŞUMU
<i>A. baumannii</i> YH138B	-
<i>C. gleum</i> YH67B	-
<i>C. gleum</i> YH69A	+
<i>E. cloacae</i> YH27A	+
<i>E. coli</i> YH75A	+
<i>E. coli</i> YH78A	+
<i>E. coli</i> YH126A	+
<i>E. coli</i> YH131A	-
<i>E. coli</i> YH140B	-
<i>H. alvei</i> YH102A	+
<i>K. oxytoca</i> YH96	+
<i>K. oxytoca</i> YH98B	+
<i>K. oxytoca</i> YH152A	+
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	+
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	+
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	+
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	+
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	+
<i>S. maltophilia</i> YH6A	-
<i>S. maltophilia</i> YH12A	+
<i>S. maltophilia</i> YH12B	+
<i>S. maltophilia</i> YH64	+
<i>S. maltophilia</i> YH93	+
<i>S. maltophilia</i> YH94A	+
<i>S. maltophilia</i> YH97A	+
<i>S. maltophilia</i> YH97B	+
<i>S. maltophilia</i> YH99	+
<i>S. maltophilia</i> YH100	-
<i>S. maltophilia</i> YH101	-
<i>S. maltophilia</i> YH103	-
<i>S. maltophilia</i> YH113	+
<i>S. maltophilia</i> YH129D	-
<i>S. maltophilia</i> YH135B	+

(+): Sıvı görüntü /jelatinaz pozitif

(-): Katı görüntü/ jelatinaz negatif

EK 6- Tablo 6. Dekarboksilaz Aktivite Sonuçları

BAKTERİ ADI	HİSTİDİN	TİROSİN	LİSİN
<i>A. baumannii</i> YH138B	Şeffaf zon	Şeffaf zon	-
<i>C. gleum</i> YH67B	-	+	-
<i>C. gleum</i> YH69A	-	-	-
<i>E. cloacae</i> YH27A	-	-	-
<i>E. coli</i> YH75A	-	-	-
<i>E. coli</i> YH78A	-	-	-
<i>E. coli</i> YH126A	-	-	-
<i>E. coli</i> YH131A	-	+	-
<i>E. coli</i> YH140B	Şeffaf zon	Şeffaf zon	-
<i>H. alvei</i> YH102A	-	-	-
<i>K. oxytoca</i> YH96	-	+	-
<i>K. oxytoca</i> YH98B	-	+	-
<i>K. oxytoca</i> YH152A	-	+	-
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	-	Şeffaf zon	-
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	-	Şeffaf zon	-
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	Şeffaf zon	Şeffaf zon	-
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	-	Şeffaf zon	Şeffaf zon
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	-	Şeffaf zon	-
<i>S. maltophilia</i> YH6A	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH12A	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH12B	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH64	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH93	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH94A	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH97A	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH97B	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH99	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH100	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH101	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH103	-	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH113	Şeffaf zon	Şeffaf zon	Şeffaf zon
<i>S. maltophilia</i> YH129D	-	Şeffaf zon	+
<i>S. maltophilia</i> YH135B	Şeffaf zon	-	Şeffaf zon

+: Pembe halka oluşumu (dekarboksilaz pozitif)

-: Pembe halka oluşumu yok (dekarboksilaz negatif)

EK 6-Tablo 6. Dekarboksilaz Aktivite Sonuçları Devamı

BAKTERİ ADI	ORNİTİN	FENİLALANİN	TRİPTOFAN
<i>A. baumannii</i> YH138B	-	+	-
<i>C. gleum</i> YH67B	-	-	+
<i>C. gleum</i> YH69A	-	-	+
<i>E. cloacae</i> YH27A	-	-	-
<i>E. coli</i> YH75A	-	-	+
<i>E. coli</i> YH78A	-	-	+
<i>E. coli</i> YH126A	-	Şeffaf zon	+
<i>E. coli</i> YH131A	-	Şeffaf zon	+
<i>E. coli</i> YH140B	-	+	-
<i>H. alvei</i> YH102A	-	Şeffaf zon	+
<i>K. oxytoca</i> YH96	-	+	+
<i>K. oxytoca</i> YH98B	-	Şeffaf zon	+
<i>K. oxytoca</i> YH152A	-	-	+
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	-	Şeffaf zon	+
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	-	Şeffaf zon	+
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	-	+	+
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	Şeffaf zon	+	Şeffaf zon
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	Şeffaf zon	-	-
<i>S. maltophilia</i> YH6A	-	-	+
<i>S. maltophilia</i> YH12A	-	-	+
<i>S. maltophilia</i> YH12B	-	-	+
<i>S. maltophilia</i> YH64	-	-	+
<i>S. maltophilia</i> YH93	-	-	+
<i>S. maltophilia</i> YH94A	-	-	+
<i>S. maltophilia</i> YH97A	-	-	+
<i>S. maltophilia</i> YH97B	-	-	+
<i>S. maltophilia</i> YH99	-	Şeffaf zon	+
<i>S. maltophilia</i> YH100	-	Şeffaf zon	+
<i>S. maltophilia</i> YH101	-	Şeffaf zon	+
<i>S. maltophilia</i> YH103	-	Şeffaf zon	-
<i>S. maltophilia</i> YH113	Şeffaf zon	+	-
<i>S. maltophilia</i> YH129D	-	Şeffaf zon	+
<i>S. maltophilia</i> YH135B	Şeffaf zon	-	Şeffaf zon

+: Pembe halka oluşumu (dekarboksilaz pozitif)

-: Pembe halka oluşumu yok (dekarboksilaz negatif)

EK 7-Tablo 7. Hemolitik Aktivite Sonuçları

BAKTERİ ADI	HEMOLİZ OLUŞUMU
<i>A. baumannii</i> YH138B	Gama hemoliz
<i>C. gleum</i> YH67B	Gama hemoliz
<i>C. gleum</i> YH69A	Gama hemoliz
<i>E. cloacae</i> YH27A	Beta hemoliz
<i>E. coli</i> YH75A	Gama hemoliz
<i>E. coli</i> YH78A	Gama hemoliz
<i>E. coli</i> YH126A	Zayıf alfa hemoliz
<i>E. coli</i> YH131A	Zayıf alfa hemoliz
<i>E. coli</i> YH140B	Gama hemoliz
<i>H. alvei</i> YH102A	Zayıf alfa hemoliz
<i>K. oxytoca</i> YH96	Gama hemoliz
<i>K. oxytoca</i> YH98B	Zayıf alfa hemoliz
<i>K. oxytoca</i> YH152A	Gama hemoliz
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	Gama hemoliz
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	Beta hemoliz
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	Gama hemoliz
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	Beta hemoliz
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	Beta hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH6A	Gama hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH12A	Zayıf alfa hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH12B	Gama hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH64	Alfa hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH93	Gama hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH94A	Zayıf alfa hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH97A	Gama hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH97B	Zayıf alfa hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH99	Zayıf alfa hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH100	Gama hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH101	Beta hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH103	Beta hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH113	Beta hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH129D	Zayıf alfa hemoliz
<i>S. maltophilia</i> YH135B	Beta hemoliz

EK 8- Tablo 8. Biyofilm Üretimi Sonuçları

BAKTERİ ADI	BİYOFİLM ÜRETİMİ
<i>A. baumannii</i> YH138B	0.35±0,05
<i>C. gleum</i> YH67B	0.25±0,01
<i>C. gleum</i> YH69A	0.20±0,01
<i>E. cloacae</i> YH27A	0.24±0,01
<i>E. coli</i> YH75A	0.23±0,01
<i>E. coli</i> YH78A	0.15±0,00
<i>E. coli</i> YH126A	0.21±0,02
<i>E. coli</i> YH131A	0.20±0,01
<i>E. coli</i> YH140B	0.28±0,03
<i>H. alvei</i> YH102A	0.22±0,02
<i>K. oxytoca</i> YH96	0.34±0,00
<i>K. oxytoca</i> YH98B	0.28±0,01
<i>K. oxytoca</i> YH152A	0.20±0,03
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	0.38±0,07
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	0.64±0,12
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	0.31±0,04
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	0.16±0,01
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	0.26±0,03
<i>S. maltophilia</i> YH6A	0.64±0,07
<i>S. maltophilia</i> YH12A	0.25±0,02
<i>S. maltophilia</i> YH12B	0.42±0,14
<i>S. maltophilia</i> YH64	0.35±0,01
<i>S. maltophilia</i> YH93	0.15±0,01
<i>S. maltophilia</i> YH94A	0.16±0,00
<i>S. maltophilia</i> YH97A	0.18±0,01
<i>S. maltophilia</i> YH97B	0.22±0,02
<i>S. maltophilia</i> YH99	0.19±0,01
<i>S. maltophilia</i> YH100	0.31±0,01
<i>S. maltophilia</i> YH101	0.26±0,01
<i>S. maltophilia</i> YH103	0.16±0,01
<i>S. maltophilia</i> YH113	0.28±0,02
<i>S. maltophilia</i> YH129D	0.28±0,02
<i>S. maltophilia</i> YH135B	0.25±0,05

EK 9- Tablo 9. Ekstrasellüler Proteaz Üretimi Sonuçları (mm)

BAKTERİ ADI	KAZEİN AGAR ZON OLUŞUMU	SÜT AGAR ZON OLUŞUMU	SKIM MILK AGAR ZON OLUŞUMU
<i>A. baumannii</i> YH138B	-	1,93±0,40	2,29±0,47
<i>C. gleum</i> YH67B	13,17±0,30	21,65±2,05	23,95±1,17
<i>C. gleum</i> YH69A	15,31±0,63	29,27±1,33	22,89±0,54
<i>E. cloacae</i> YH27A	14,10±0,28	9,31±0,53	12,66±1,10
<i>E. coli</i> YH75A	18,62±0,16	-	-
<i>E. coli</i> YH78A	17,63±0,11	-	12,37±1,25
<i>E. coli</i> YH126A	16,12±0,38	-	7,60±0,18
<i>E. coli</i> YH131A	16,85±1,17	-	-
<i>E. coli</i> YH140B	-	-	-
<i>H. alvei</i> YH102A	8,95±0,32	5,00±0,87	5,70±0,64
<i>K. oxytoca</i> YH96	11,54±0,58	2,97±0,17	14,83±0,16
<i>K. oxytoca</i> YH98B	13,70±0,20	1,51±0,13	-
<i>K. oxytoca</i> YH152A	-	-	9,12±0,83
<i>P. aeruginosa</i> YH6B1	-	26,58±1,20	9,87±0,76
<i>P. aeruginosa</i> YH27C	-	22,52±1,73	19,06±0,66
<i>P. aeruginosa</i> YH138A	-	17,08±1,17	19,88±1,23
<i>P. aeruginosa</i> YH148A	8,91±0,23	21,38±1,95	17,02±1,09
<i>P. aeruginosa</i> YH152B	-	21,21±0,45	15,32±1,42
<i>S. maltophilia</i> YH6A	-	20,81±1,32	16,07±1,96
<i>S. maltophilia</i> YH12A	10,57±0,45	18,39±0,32	12,41±1,92
<i>S. maltophilia</i> YH12B	15,10±0,50	10,50±0,56	18,57±1,67
<i>S. maltophilia</i> YH64	14,71±0,34	20,71±2,23	17,96±1,00
<i>S. maltophilia</i> YH93	13,20±0,13	15,69±0,37	12,63±0,35
<i>S. maltophilia</i> YH94A	17,87±0,67	16,82±1,43	9,19±0,97
<i>S. maltophilia</i> YH97A	14,97±0,25	16,48±0,67	10,58±1,21
<i>S. maltophilia</i> YH97B	2,93±0,13	13,18±0,35	3,65±0,09
<i>S. maltophilia</i> YH99	17,70±0,70	20,50±0,43	14,86±0,23
<i>S. maltophilia</i> YH100	-	14,12±1,28	12,32±0,81
<i>S. maltophilia</i> YH101	12,79±0,08	20,20±1,25	13,16±1,38
<i>S. maltophilia</i> YH103	-	13,40±1,12	14,98±0,02
<i>S. maltophilia</i> YH113	19,31±0,07	17,45±0,44	21,55±1,51
<i>S. maltophilia</i> YH129D	16,53±0,20	22,25±0,06	18,03±0,06
<i>S. maltophilia</i> YH135B	12,77±0,28	20,64±0,86	22,35±1,57

-: Zon oluşumu yok

