SETSCI Conference Indexing System,
Volume 3 (2018), 929-932

ISAS 2018-Winter
2nd International Symposium on Innovative Approaches in Scientific Studies
November 30 – December 2, 2018, Samsun, Turkey

Antibiotic Resistance Properties of Chicken meat and Ground Beef Origin *Pseudomonas aeruginosa*

Belgin Sırıken[1*+] Ceren Başkan[2]

[1]Ondokuz Mayis University, Faculty of Veterinary Medicine, Aquatic Animal Diseases, Kurupelit Campüs, Samsun, Turkey
[2]Amasya University, Sabuncuoğlu Şerefeddin Health Services Vocational School, Amasya, Turkey
*Corresponding author: bsiriken@omu.edu.tr
+Speaker: bsiriken@omu.edu.tr
Presentation/Paper Type: Oral / Full Paper

Abstract **–**Chicken and ground beef samples collected from Samsun province of Turkey were analyzed for *P. aeruginosa*. The isolates were obtained from classic culture technique using Pseudomonas Agar base (Oxoid CM 0559, suppl. SR 102E). After isolation, Gram staining, oxidase and catalase test and Endo Agar Base were used for the confirmation of the isolates. Catalase and oxidase positive, Gram negative and colorless colonies (up to 5) on the Endo Agar base were chosen as a *presumptive P. aeruginosa*. Then, for the confirmation of the isolates based on molecular level, *oprL* gene (species-specific) was detected in the isolates using PCR assay. The oprL gene present isolates were evaluated as *P. aeroginosa*. In this way, 23 *P.aeruginosa* isolates were obtained. Then, antibiotic resistance properties of the isolates were investigated using disk diffusion test. For this, a total 8 antibiotics- ceftazidime (30 µg), colistin (10 µg), fluoroquinolones (levofloxacin) (5 µg), tobramycin (10 µg), gentamicin (10 µg), meropenem (10 µg), imipenem (10 µg) and piperacillin-tazobactam (100/10 µg)- were used as antibiotics. For determination of antibiotic resistance properties of the isolates, Mueller Hinton Agar was used. According to analyzed results; 5 out of 23 isolates (21.73%) were resistance to one or two antibiotics. One isolate was resistance against gentamycin, 4 (17.39%) isolates resistance to colistin. On the other hand, one of them was resistance to both gentamycin and tobramycin, too. So, 1 of 23 (4.34%) isolate resistance to aminoglycoside group antibiotics (gentamicin and tobramycin). However, 18 isolates were sensitive to all tested antibiotics. No multi antibiotic resistance isolates were present.
Keywords **–** *Chicken meat, ground beef, Pseudomonas aeruginosa, oprL gene, antibiotic resistance*

I. Introduction

P. aeruginosa toksonomide Pseudomonadaceae ailesi içinde *Pseudomonas* spp. cinsi içinde yer alan, Gram negatif, aerobik bir mikroorganizma olup, 2-4 µm uzunluğunda basil formlu, tek polar flagellası ile hareketli, oksidaz pozitif, değişik pigment üretebilme yeteneğine sahip, toprak ve bitki dahil çeşitli çevre koşullarında yaygın olarak bulunan, ubiquiter özellikte bir bakteridir. Etken kolay üreyebilme yeteneği nedeniyle de dünyanın her kesiminde büyük sorun oluşturmaktadır [1]. *Pseudomonas* spp. genel olarak nemli ortamlarda kolaylıkla çoğalabilen, zorunlu aerob bir bakteri olmakla beraber, bu cins içinde bulunan diğer türlerin aksine *P. aeruginosa* terminal elektron alıcı olarak nitratı (NO_3) kullanabilme özelliği nedeniyle anaerobik koşullarda da varlığını sürdürebilmektedir. Bu durumun başlıca nedeni, etkenin sulu ortamlarda planktonik bir şekilde ve bulunduğu sisteme yapışık bir ekzopolisakkarit matriksin içinde mikrokoloniler halinde yani "biyofilm" oluşturak da üreyebilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu özelliklerinin yanı sıra etkenin sahip olduğu beslenme gereksinimlerinin oldukça basit oluşu, çoğalabilmesi için geniş bir ısı aralığına ihtiyaç göstermesi (20-42°C), farklı çevre koşullarına ve özelliklede yüksek tuz konsantrasyonununa dayanıklı oluşu, zayıf antiseptikler ve çoğu antibiyotiklere karşı dirençli oluşu, nemli ortamlarda kolaylıkla üreyebilmesi gibi sahip oldukları önemli fizyolojik özellikleri nedeniyle de farklı ekolojik ortamlarda fırsatçı bir patojen olarak da karşımıza çıkmakta ve bütün dünya da çeşitli gıda endüstrilerinde, ilaç ve hastane ortamında sorun oluşturmaktadır. *P. aeruginosa* enfeksiyonları konakçının immun sisteminin zayıflamasının yanısıra bakteriye ait çok çeşitli virulans faktörlerinin de katkısı ile ortaya çıkar. *P. aeruginosa* enfeksiyonları konakçının immun sisteminin zayıflamasının yanısıra bakteriye ait çok çeşitli virulans faktörlerinin de katkısı ile ortaya çıkar. Bu faktörlerin üretimi ve kontrolü büyük oranda Quorum Sensing (QS) olarak adlandırılan "açil homoserin lakton" sinyal moleküllerinin kullanıldığı hücrelerarası iletişim sistemlerine bağlıdır [2,3].

P. aeruginosa biyofilm oluşturabilme özelliğine sahip bir bakteridir. Biyofilm matriksinde bulunan ve enfeksiyona neden olan mikroorganizmaların antibiyotik dirençlilik problemi, tıp dünyasının yüz yüze kaldığı büyük problemlerden birisidir. Hastane kökenli enfeksiyonlarla ilişkili bakterilerin yaklaşık %70'i, onların neden olduğu enfeksiyonların tevdisinde kullanılan ilaçların en az birine dirençlidir [4]. Biyofilm içinde bakteri genetik materyalinin konjugasyon yoluyla aktarımı veya değişimi sonucu kazanılan dirençlilik, bakterinin planktonik formuna kıyasla 1000 kat daha yüksek olduğu bilinmektedir. Biyofilm içinde bulunan bakteri, antibiyotik kullanımı gibi strese maruz kaldığı zaman da yüksek mutasyona (hypermutation) uğrar [5,6]. Yapılan literatür çalışmaları bilinçsiz antibiyotik kullanımının ve bakterilerde direnç genlerinin aktarımının üst kuşak antibiyotiklerin çıkmasına neden olduğunu ve direnç kazanan bu bakterilerle mücadelenin her geçen gün giderek zorlaştığını göstermektedir. Üstelik biyofilm oluşumunun antibiyotik penetrasyonunu önlediği ayrıca biyofilm oluşumunun bariyer olarak görev yapan epitelyal hücrelerde yapısal ve fonksiyonel değişimlere neden olduğu görülmüştür.

Yapılan bu çalışmada tavuk eti ve sığır kıyma örneklerinden izole edilen toplam 23 *P. aeuroginosa* izolatı materyal olarak kullanıldı. Elde edilen *P. aeuroginosa* izolatlarının 8 farklı antibiyotiğe (kolistin, florokinolon (levofloksasin), tobramisin, gentamisin, meropenem, imipenem, piperasillin-tazobaktam ve seftazidim) karşı antibiyotik duyarlılık özellikleri fenotipik olarak disk diffüzyon yöntemi kullanılarak belirlendi.

II. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

Bu amaçla, Samsun ilinde süpermarket ve kasaplardan satın alınan tavuk parça etleri ile kıyma örnekleri satın alınan termoslu kaplar içerisinde soğuk zincir altında laboratuvara getirildi ve *P. aeruginosa* varlığı yönünden analiz edildi. Çalışmada satın alınan tavuk eti ve kıyma *örneklerinden P. aeruginosa* izolasyonunda klasik kültür tekniği uygulandı. İzolasyon için Pseudomonas CN Selective Agar supplementi (Oxoid SR 102E) ilave edilmiş Pseudomonas Agar base (Oxoid CM 0559) (EN ISO 13720) besiyeri kullanıdı. İnkübasyonu takiben plaklarda üreyen şüpheli kolonilere Gram boyama, oksidaz ve katalaz testleri yapıldı. Gram negatif, katalaz ve oksidaz pozitif koloniler seçilerek, Endo Agar Base (Oxoid, CM0479, suppl. BR0050) plaklarına öze le geçildi. Bu plaklarda üreyen renksiz koloniler şüpheli *P. aeroginosa* olarak değerlendirildi. Daha sonra bu şüpheli izolatlara PZR tekniği ile *P. aeruginosa* türüne özgü (tür spesifk) *oprL* gen bölgesi saptandı. oprL gen bölgesi pozitif olan izolatlar moleküler olarak *P. aeruginosa* olduğu doğrulanmış oldu. Bu çalışmamızda, moleküler olarak doğrulanan 22 tavuk eti kökenli ve 1'i kıyma kökenli olmak üzere toplam 23 *P. aeruginosa* izolatı materyal olarak kullanıldı. Daha sonra izolatlar Tripticase Say Agarda (TSA-Oxoid) subkültüre edildi.

2.2 Metod

Antibiyotik Duyarlılıklarının Değerlendirilmesi

İzolatların antibiyotik duyarlılık profilleri disk difüzyon yöntemi uygulanarak ve duyarlılıkları CLSI [7] kriterleri doğrultusunda değerlendirildi. Bu kapsamda izolatlar, toplam 8 antibiyotiğe karşı [seftazidim (30 µg), kolitsin (10 µg), florokinolon (levofloksasin) (5 µg), tobramisin (10 µg), gentamisin (10 µg), meropenem (10 µg), imipenem (10 µg) ve piperasillin-tazobaktam (100/10 µg)] duyarlılıkları belirlendi. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları TSA'daki 18-24 saatlik kültürlerinde üreyen kolonilerden inokülüm yoğunluğu 0.5 McFarland bulanıklık derecesine eşdeğer olacak şekilde hazırlandı, steril bir eküvyonla Müller Hinton Agar (MHA, Oxoid, CM 0337) besiyerinin tüm yüzeyine homojen bir şekilde inoküle edildi. Referans suş olarak P. aeruginosa (ATCC-27853) suşu kontrol amacıyla kullanıldı. MHA içeren plakların 18-24 saatlik inkübasyondan sonra disklerin inhibisyon zon çapları ölçülerek CLSI (2013) sınır değerlerine göre yorumlandı (Tablo 1).

Tablo 1. Disk difüzyon için test edilen antibiyotikler ve sınır değerleri

Test Grupları	Antimikrobiyal Ajan	Disk İçeriği	Zon Çapları		
			S	İ	R
GrupA	Gentamisin (Aminoninoglikozit)	10 µg	?15	13-14	?12
GrupA	Tobramisin (Aminoninoglikozit)	10 µg	?15	13-14	?12
GrupB	Levofloksasin (Florokinolon)	5 µg	?17	14-16	?13
GrupA	Seftazidim (Sefalosporin)	30 µg	?18	15-17	?14
GrupB	Piperasilin-Tazobaktam (β-Laktam/β-Laktamaz inhibitör konsantrasyonu)	100/10 µg	?21	15-20	?14
GrupB	İmipenem (Karbapenemler)	10 µg	?19	16-18	?15
GrupB	Meropenem (Karbapenemler)	10 µg	?19	16-18	?15
GrupO	Kolitsin (Lipopeptit)	10 µg	?11	-	?10

S: Duyarlı, İ: Orta derecede duyarlı, R: Dirençli grup, A: Spesifik organizma grupları için rutin kullanılan ajanlardır. Grup B: Öncelikli olarak dirençli organizmalar için kullanılan ajanlardır. Grup O: Organizma grupları için klinik belirteçlere sahip antimikrobiyal ajanlardır.

III. BULGULAR

Çalışmamızda, *P.aeruginosa* olduğu doğrulanan 23 izolatın antibiyogram sonuçları Tablo 2'de gösterilmiştir. Tablo incelendiğinde; 1 (%4,34) gentamisine, 1(%4,34) izolatın topramisine, 4 (%17,39) izolatın ise kolitsin antibiyotiğine karşı dirençli olduğu görüldü. Sonuçlar çoklu antibiyotik dirençlilik yönünden değerlendirildiğinde ise 1 (%4,34) tavuk kökenli izolatın gentamisin ve kolitsin antibiyotiklerinin her ikise karşı dirençli bulundu. Sonuç olarak, 23 izolatın 5 (%21,73)'i 8 antibiyotikten en az birine karşı dirençli iken, geriye kalan 18 (%78,27) izolat ise 8 antibiyotiğe karşı duyarlı idi. Dirençli olan 5 izolattan 3'ü yalnız kolitsine karşı, 1 izolat yalnız gentamine karşı dirençli iken, 1 izolat ise kolitsin ve tobramisin antibiyotiklerinin her ikisine birden dirençli olduğu saptandı.

Tablo 2. Tavuk (n=22) ve sığır kıyması (n=1) kökenli *P. aerugnosa* izolatlarının antbiyogram sonuçları

P.aeruginosa (n=23)	IPM (10 µg)	CT (10 µg)	TPZ (110 µg)	CAZ (30 µg)	CN (10 µg)	TOP (10 µg)	LEV (5 µg)	MEM (10 µg)
1-Tavuk kökenli	S	S	S	S	**R**	S	S	S
2-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
3-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
4-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
5-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
6-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
7-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
8-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
9-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
10-Kıyma kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
11-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
12-Tavuk kökenli	S	**R**	S	S	S	S	S	S
13-Tavuk kökenli	S	**R**	S	S	S	S	S	S
14-Tavuk kökenli	S	**R**	S	S	S	**R**	S	S
15-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
16-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
17-Tavuk kökenli	S	**R**	S	S	S	S	S	S
18-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
19-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
20-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
21-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
22-Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
23- Tavuk kökenli	S	S	S	S	S	S	S	S
Toplam Direnç (n=5, %21,73)	**0**	**4 (%17,39)**	**0**	**0**	**1 (%4,34)**	**1 (%4,34)**	**0**	**0**

TPZ: Piperacillin/tazobactam; MEM: Meropenem; CAZ: Ceftazidime; CT: Colistin; TOB: Tobramycin; LEV: Levofloxacin; IPM: Imipenem; CN: Gentamisin; S:Duyarlı, R: Dirençli

IV.TARTIŞMA

P.aeruginosa, en önemli fırsatçı mikroorganizmalardan biri olup, özellikle de insanlarda hayvanların yanı sıra dünyada öldürücü nasokomiyal ile kronik enfeksiyonların en büyük nedenlerinin başında gelmektedir [8,9]. Etkene karşı tedavi seçeneği antimikrobiyal dirençlilik ve bu mikroorganizmanın çeşitli büyük genomları nedeniyle önemli ölçüde azalmaktadır [8]. Etkenin dirençlilik kazanımı, AmpC'nin aşırı salınımına (sefdazidim) neden olan çoklu mutasyon, kinolon dirençli-saptanan bölge (QRDR) mutasyonu (siprofloksasin), oprD inaktivasyonu (meropenem) ve efflux pompalama aşırı salınımı (siprofloksasin ve meropenem) gibi nedenlerden ileri gelmektedir. Bu özellikler etkenin kolay dirençlik kazanmasına neden olmaktadır. Çığır aşan bulgular sonucu da,

AmpC'nin yapısal modifikasyonuna neden olan fonksiyon kazanım mutasyonu (seftazidim), güncel DNA giraz (GyrA) modifikasyonu (siprofloksasin) ve Pensilin Bağlayan Protein 3 (PBP3)'ün –laktam bağlayan kısmının modifikasyonu (meropenem) sonucu antibiyotik dirençlilik geliştirdiği şeklinde direnç mekanizmaları aydınlatılmıştır [9].

Klinik izolatlarla ilgili çalışmalar yapılmış olmakla beraber, tavuk eti veya kıyma gibi sığır eti kökenli *P.aeruginosa* izolatlarının antibiyotik dirençlilik özelliği ile ilgili çok sınırlı çalışmalara rastlanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalardan biri Benie ve ark. [10] tarafından bildirilmiştir. Araştırmacılar *rpo* gen bölgesi doğruladıkları toplam 205 *P.aeruginosa* izolatından %47,8'inin sığır eti, %33,1'inin taze balık ve %20,0'ın ise dumanlanmış balıktan izole ettiklerini bildirmişlerdir. İzole ettikleri 205 izolatın 181'inin çoklu antibiyotik direnç özelliği gösterdiklerini bildirmişlerdir. İzolatların %98,4'ünün aztreonama, %51,4'ünün tikarsilin+klavulanik aside karşı, %7,2'sinin imipeneme, %4,5'inin kolitsine karşı dirençli olduklarını, fosfomisine karşı ise tüm izolatların duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Sığır eti kökenli *P. aeruginosa* izolatlarının çoklu antibiyotik direnç açısından oranı %47,8 olarak bildirilmiş ve bu oranın balıklardan (taze balık:%33,1, dumanlanmış balık%%20) izole edilen izolatlara oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise kolitsine dirençli oran %17,39 olup, bu izolatların tümü tavuk kökenli izolat idi. Sığır kökenli izolat sayısı 1 olup, o izolatta kolitsine karşı duyarlı idi. Bizim çalışmamızda 1 (% 4,34) gibi düşük oranda iki antibiyotiğe karşı (kolitsin ve tobramisin) dirençlik saptanmıştır. İki çalışma bulguları kıyaslandığında, tavuk ve kıyma kökenli *P. aeruginosa* izolatlarının literatürlerde bildirilen bulguların aksine düşük oranda antibiyotik dirençlilik gösterdiği, test edilen 8 antibiyotiğin sadece 3'üne karşı 1 ila 4 izolat arasında dirençlilik gösterdiği, çoklu antibiyotik dirençlilik ise göstermediği bulunmuştur. Bu durum araştırmacılar arasında test edilen antibiyotik çeşitliliğinden de kaynaklanmış olabilir. Nitekim Serrano ve ark. [8] yaptıkları çalışma sonuçları da bizim bulgularımızı kısmen destekler niteliktedir. Araştırmacılar Portekiz'de hayvanat bahçesinden, vahşi doğadan ve çiftliklerdeki hayvanlardan izole ettikleri *P. aeruginosa* izolatlarının %46,6'sının antibiyotiklere karşı duyarlı olduklarını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, izolatların %86,3'ünün çoklu antibiyotik (≥3 antibiyotik) dirençlilik özellik göstermediği, sadece %11 izolatın çoklu antibiyotik dirençlilik gösterdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar, izolatların dirençlilik oranlarını amikasin ve kolistin (%0), imipenem ve meropenem (%1,4), sefepim (%9,6), gentamisin (%12,3), siprofloksasin (%15,1), piperasilin + tazobaktam (%12,3), tikarsilin (%16,4), tikarsilin + klavulanik asid (%17,8), tobramisin (%1,4) ve aztreonam (%41,1%) olarak bildirilmiştir. Bizim bulgularımızla kıyaslandığında, araştırmacıların çalışmalarında da karbapenem grubu antibiyotiklere (imipenem, meropenem) ve tobramisine karşı oldukça düşük oranda dirençlilik gösterirken, bizim çalışmamızda karbapenem grubu antibiyotiklere karşı tüm izolatlar duyarlı iken, tobramisine karşı dirençlilik ise benzer şekildedir. Bu çalışmada da etkenin çoklu dirençlilik oranı genelde bildirilen orandan oldukça düşük olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda izolatlar özellikle 22 tavuk kökenli izolattan 4'ü kolitsin karşı direnç göstermiştir. Bu durum çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir. Kolitsin (Polymixin E), insan ve veteriner hekimlikte ticari olarak kullanılan çok az katyonik antimikrobiyal etkenlerden biridir. Şu ana kadar birkaç yıldır, kolitsin başlıca *Acinetobacter baumannii, P. aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi çoklu antibiyotik direnç gösteren Gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı son savuna mekanizması başka bir deyişle son alternatif antibiyotik olarak kullanılmaktadır. Kolitsin 1960'lı yıllardan beri gıda olarak tüketilen kasaplık hayvanların Enterobacteriaceae kaynaklı enfeksiyonlarının tedavisinde de aşırı miktarda kullanılmaktadır. Ancak, son yıllarda *mcr-1* geni tarafından kodlanan plasmid- aracılı kolitsin dirençliliği keşfedilmesiyle ve doğal dirençlilik ayrı tutulduğunda diğer kökenlerle kıyaslandığında hayvan kökenli izolatlarda bu gen yüksek oranda bulunmuştur. Bu antibiyotik şu an kullanımı yasaklanmış olmasına rağmen, özellikle domuz yetiştirildiğinde büyümeyi destekleyici ve koruyu amaçlarla kullanımı bu antibiyotiğe karşı direncin artışına neden olmuş ve etkisi hala sürmektedir [11]. Ülkemizde de antibiyotiklerin hayvan yetiştiriciliğinde büyümeyi destekleyici veya koruyucu amaçlarla kullanımı yasaklanmıştır. Fakat özellikle tavuk kökenli etlerden elde edilen izolatlarda bu antibiyotiğe direnç gösteren *P. aeruginosa* izolatlarının varlığı bir zamanlar bu antibiyotiğin söylenilen amaçlarla kanatlı sektöründe yaygın kullanılması nedeniyle etkisi günümüzde de görlebilir. Bir diğer nedeni ise insan ve veteriner hekimlikte çok yaygın olarak Enterobacteriaceae familyasına ait türlerin neden olduğu enfeksiyonların yanı sıra *P. aeruginosa* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde de yaygın olarak kullanılması ve dirençliliğin hareketli genetik elementlerde biri olan plazmid aracılığıyla çevreye kolaylıkla yayılması sonucu türler arası dirençlilik geninin aktarılmasından da kaynaklanabilir. Bizim çalışma bulgularımız bu görüşleri destekler niteliktedir.

IV. SONUÇ:

Antibiyotiklerin insan ve hayvanlarda yaygın ve bazen bilinçsiz kullanılması ve dirençlilik genlerinin çevrede (insan-hayvan-çavre) hareketli genetik elementlerle türler arasında aktarımı beraberinde mikroorganizmaların antibiyotik dirençlilik sorununu getirmektedir. P. aeruginosa'nın da sahip oldukları özellikleri nedeniyle kolaylıkla antibiyotiklere karşı dirençlik kazanmakta, fırsatçı ve ubiquiter özellik taşması nedeniyle de tüm dünyada ölümcül nazokomiyal ve bazı kronik hastalıklara neden olan etkenler arasında yer almaktadır. Bizim çalışma bulgularımız, diğer çalışma bulgularından farklı olarak antibiyotiklere karşı düşük oranda dirençlilik özellik gösteren izolatlar elde edilmiştir. Bu durum sınırlı izolat sayısından kaynaklanabileceği, antibiyotik kullanımının sınırlandırılmasından, büyümeyi destekleyici ve koruyucu amaçla antibiyotiklerin çiftlik hayvanlarında kullanımının yasaklanmasından da kaynaklanabilir.

EK BİLGİ

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No: PYO.VET.1901.17.021) tarfından desteklenen projenin bir kısmını oluşturmaktadır.

REFERENCES

[1] I. Erol , "*Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi",* Pozitif Matbacılık Ltd. Şti. Ankara, 2007.

[2] B. Erdem, " *Pseudomonaslar"*. Editör: Ustaçelebi Ş ve ark, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999: 551-566.

[3] H. Bilgehan, "*Non-fermentatif gram olumsuz basiller*". Editör: Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji. İzmir: Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, 2000: 175-197.

[4] Costerton JW. The role of electron microscopy in the elucidation of bacterial structure and function. *Annu Rev Microbiol* ,vol.33,pp. 459-479, 1979..

[5]]K.C. Marshall, "*Interfaces in Microbial Ecology*", Harvard University Press, Cambridge, MA. 1976; pp. 44-47.

[6] W.M. Dunne Jr, "Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?" *Clin Microbiol Rev*,vol. 15, pp.155-166, 2002

[7] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2013), "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing," Twentieth Informational Supplement, M100-S20, Vol:30 No: 1.

[8] I. Serrano, M. Oliveira, J.P. Santos , F. Bilocq, A. Leitão, L.Tavares, J.P. Pirnay, D. De Vos, " Antimicrobial resistance and genomic rep-PCR fingerprints of *Pseudomonas aeruginosa* strains from animals on the background of the global population structure," *BMC Vet Res*, vol.13 (1), pp. 58, 2017.

[9] G. Cabot,L. Zamorano,B.Moyà,C. Juan, A. Navas,J. Blázquez, A. Olivera, "Evolution of Pseudomonas aeruginosa Antimicrobial Resistance and Fitness under Low and High Mutation Rates" *Antimicrob Agents Chemother*, vol.60 (3), pp. 1767-1778.

[10] C.K.D. Benie, G. Nathalie G,D. Adjéhi,A. Solange,K. Fernique, K. Desire, B. Bourahima, D.K. Marcellin, D. Mireille, "Prevalence and Antibiotic Resistance of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Bovine Meat, Fresh Fish and Smoked Fish" *Arc Clin Microiol*, ,vol. 8 (3),p. 40

[11] M. Rhouma, F. Beaudry, W. Thériault , A. Letellier, "Colistin in Pig Production: Chemistry, Mechanism of Antibacterial Action, Microbial ResistanceEmergence, and One Health Perspectives", Front Microbiol, vol. 11 (7), pp. 1789e, 2016.