

Çeşitli Yörelere Sağlanan Çiğ Süt Örneklerinden *Pseudomonas*ların İzolasyonu ve Türlerinin Dağılımları Üzerine Bir Araştırma

Güven URAZ, Sumru ÇİTAK

Gazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Genel Biyoloji Ana Bilim Dalı, Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 18.03.1996

Özet: Bu çalışmada toplam 200 çiğ süt örneğinden 48 *Pseudomonas* izolasyonu gerçekleştirilmiştir. 48 *Pseudomonas* izolatlarından 20'si (%41.66) *P. fluorescens*, 11'i (%22.91) *P. aeruginosa*, 11'i (%22.91) *P. putida*, 2'si (%4.16) *P. aurefaciens*, 3'ü (%6.25) *P. pseudomallei*, 1'i (%2.08) *P. cepacia* türü olarak tanımlanmıştır. *Pseudomonas* izolasyonlarında *Pseudomonas* CN ve CFC Agar, *Pseudomonas* P (King A) ve *Pseudomonas* F (King B) Agar ve Kristal Viyole Tetrazolium (CVT) Agar kullanılmıştır.

Araştırmada, *Pseudomonas* türlerinin mevsimlere göre dağılımları değerlendirildiğinde, *P. fluorescens* biyotip I ve II yaz aylarında, *P. fluorescens* biyotip III kış ve ilkbahar aylarında tespit edilmiştir. *P. putida*, *P. aurefaciens*, *P. pseudomallei* ve *P. cepacia* türleri ilkbahar ve yaz aylarında izole edilirken, *P. aeruginosa* her mevsimde bulunmuştur.

An Investigation About the Distribution and Isolation of *Pseudomonas* from Raw Milk Samples Obtained from Different Areas

Abstract: In this research, a total of 48 *Pseudomonas* had been isolated using *Pseudomonas* CN and CFC Agar, *Pseudomonas* P(King A) and *Pseudomonas* F(King B) and Crystal Violet Tetrazolium Agar (CVT) from 200 raw milk samples. Of 48 isolated *Pseudomonas*, (41.66%) 20 have been named as *P. fluorescens*, (22.51%) 11 as *P. aeruginosa*, (22.91%) 11 as *P. putida*, (4.16%) 2 as *P. aurefaciens*, (6.25%) 3 as *P. pseudomallei*, (2.08%) 1 as *P. cepacia*.

When the distribution of *Pseudomonas* species has been evaluated according to the seasons, *P. fluorescens* biyotip I and II have been detected in summer seasons while *P. fluorescens* biyotip III has been detected in winter and spring. The species of *P. putida*, *P. aurefaciens*, *P. pseudomallei* and *P. cepacia* have been isolated in spring and summer seasons, on the other hand, the isolation of *P. aeruginosa* had been detected in all seasons.

Giriş

Süte mikroorganizmaların kontaminasyonları süt üretimi sırasındaki koşullara bağlıdır. Sütün sağım yapılan çiftliklerde uzun süre düşük sıcaklıkta bekletilmesi veya soğutulması, işletmelere getirilen tankların temizliği ve ısı, sütün bakteriyolojik özelliğini belirler (1).

Soğukta bekletilen sütlerde, *Pseudomonas* grubu bakterilerin salgıladıkları ısıya son derece dirençli esteraz (proteaz-lipaz) gibi enzimlerinin varlığı ve bu enzimlerin süt ürünlerinde pastörizasyon sonrası tekrar aktif hale geçmesi ürün bazında sorunlar yaratmaktadır. Örneğin, süt, peynir, krema ve tereyağlarda trigliseritlerin parçalanması sonucunda acılaşıma meydana gelmektedir. Bu enzimler, UHT sütte asitlik gelişmeksizin pıhtı oluşumuna sebep olmakta ve proteinleri daha küçük moleküllere ayırarak kabın dibinde bir sediment oluşturmaktadır (2-5).

Araştırmalarda Gram negatif psikrofil bakterilerin çiğ sütte bulunma oranlarının %10-50 arasında değişebileceği belirtilmiştir. Rached ve Baday'ı

Macaristan'da çiğ sütlerle yaptıkları çalışmada psikrofil popülasyonda %56.9 oranıyla *Pseudomonas*ları dominant olarak saptamışlardır (6). Boisen ve Christofferson, çiğ sütlerde yaptıkları çalışmada toplam 430 psikrofil bakteri izolasyonu gerçekleştirmişler ve gram negatif mikroorganizmalar içerisinde 104 izolatı *Pseudomonas* olarak belirlemişlerdir (7).

Candiotti ve ark. (8) çiğ sütlerdeki psikrofil flora üzerinde yaptıkları çalışmada en fazla %52.3 oranında *Pseudomonas* izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir. El-Bassiony ve ark. (9) çiğ sütlerde yaptığı psikrofil bakteri türlerinin içerisinde en fazla %25.21 oranında *Pseudomonas*ları saptamışlardır.

Süt ve süt ürünlerinde ekonomik kayıplara neden olan *Pseudomonas*lar insan ve hayvanlarda da çeşitli enfeksiyonlara sebep olmaktadır. İnsanlara süt ve süt ürünleri ile bulaşması halk sağlığı açısından da *Pseudomonas*ların önemi artırmıştır (3, 4). Bu düşüncelerden hareket edilerek Ankara ve yöresinden toplanan 200 çiğ süt örneğinde *Pseudomonas* ve türlerinin izolasyonu ve tanımlanması çalışmanın amacını oluşturmaktadır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

24.12.1990-25.08.1992 tarihleri arasında toplam 200 çiğ süt örneği ile çalışılmıştır. Örneklerin 151'i (%75.5) çeşitli yörelere (Ankara-Etimesgut, Polatlı, Bala, Afyon-Bolvadin, Antalya-Bozova, Burdur-Seydiköy, Burdur-Çelik, Denizli, Konya-Altınova, Kastamonu) süt işletmelerine getirilen, 49'u (%24.5) sokak sütçülerinden (Ayaş, Gölbaşı, Çubuk, Ankara, Dodurga) sağlanan süt örnekleridir (Tablo 1).

Tablo 1. Çiğ Süt Örneklerinin Alındığı Kaynaklara Göre Dağılımı

Çiğ süt örneklerinin alındığı kaynaklar	Örnek Sayısı	%
Çeşitli süt işletmelerinden alınan çiğ süt örnekleri	151	75.5
Sokak sütçülerinden alınan çiğ süt örnekleri	49	24.5
TOPLAM	200	

Metot

İzolasyon

Araştırmada Türk Standartları Enstitüsünce belirtilen esaslara (TSE 1018) göre çiğ süt örnekleri steril 200 ml'lik şişelerde laboratuvara getirilmiştir (10). Çiğ süt örneklerinin dilusyonunda %1'lik Peptonlu su kullanılmıştır (11). Daha sonra 10^{-3} dilusyon tüpünden *Pseudomonas* CN Agar (Oxoid SR 102) ve *Pseudomonas* CFC Agar (Oxoid SR 103)'lara ekim yapılmıştır (12).

Çiğ süt örneklerinden yukarıda adı geçen besiyerlerine ekim yapıldıktan sonra 30°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda üreyen koloniler UV ışığı (366 nm) altında incelenmiştir. UV ışığı altında pigmenti gözlenen *Pseudomonas* şüpheli kolonilerden yeniden Mac. Conkey Agara (MCA) ekim yapılmıştır. 30°C'de 48 saat inkübasyondan sonra MCA'da laktoz (-) olan kolonilerin biyokimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla çalışmaya devam edilmiştir (13).

İdentifikasyon

Pseudomonas tanısını koyabilmek için laktoz (-) kolonilere ilk olarak Oksidasyon-Fermentasyon (O/F-Glukoz) testi uygulanarak, 37°C'de 48 saatlik inkübasyon sonucunda *Pseudomonas*'larda oksidatif fermentasyon saptanmıştır. Aynı örneklere katalaz, oksidaz ve SIM besiyerinde (Oxoid CM 435) hareket testleri uygulanmıştır. Katalaz (+), oksidaz (+), hareket (+) ve oksidatif fermentasyon özelliği gösteren koloniler ayırt edilmiştir (14-16). Ayrıca bu kolonilerin CVT besiyerinde kırmızı renkli pigment oluşturma özellikleri test edilmiştir (17). Daha sonra diğer biyokimyasal testler üre, indol, sitrat, Triple Sugar Iron (TSI), metil-red (MR) ve voges-proskauer (VP)'dir (18).

Pseudomonas tür ayrımı için 4°C ve 41°C'deki üreme özellikleri esas alınmıştır. Bu amaçla 2 ayrı Yeast Extract besiyerine ekilen *Pseudomonas*'lar 4°C'de 7-10 gün, 41°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (19).

Çalışmada çiğ süt örneklerinden izole edilen *Pseudomonas* türlerinin adlandırılması amacı ile *Pseudomonas* P (King A), *Pseudomonas* F (King B), Cetrimide (CA) besiyerleri ve Seller's Differential Agar (SDA) kullanılmıştır. Özellikle pyocyanin pigmenti veren *Pseudomonas*'lar King A besiyerinde, pyoverdin ve fluorescein pigment özelliği gösteren *Pseudomonas*'lar King B besiyerinde değerlendirilmiştir. CA ve SDA'da ise bazı *Pseudomonas* türleri iyi ürerken bazı türlerin hiç üremediği tespit edilmiştir. Bu nedenle her iki besiyeri *Pseudomonas* türlerinin adlandırılmalarında kullanılmıştır (20).

Pseudomonas türlerinin adlandırılmasını kesinleştirebilmek amacı ile nitrat redüksiyonu ve sonucunda nitrat denitrifikasyonu değerlendirilmiştir. Nitrat denitrifikasyonu için *Pseudomonas* tanısı konulan kolonilerden nitrat besiyerine ekim yapılarak 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda gaz oluşumu gözlenerek nitrat denitrifikasyonu değerlendirilmiştir (21).

Çiğ süttten izole edilen *Pseudomonas*'ların adlandırılmasında Bergey's Manual of Systematic Bacteriology temel olarak alınmıştır (19).

Bulgular

Araştırmada 200 çiğ süt örneğinin 48(%24)'inde *Pseudomonas* izolatu gerçekleştirilmiştir. İzolasyonu gerçekleştirilen bütün *Pseudomonas* türleri *Pseudomonas* CN(Oxoid SR 102) ve *Pseudomonas* CFC (Oxoid SR 103) besiyerlerinde test edilmiştir. Tablo 2'de izolasyonu gerçekleştirilen 48 *Pseudomonas* ve türlerinin dağılımları verilmiştir.

Araştırmada çiğ süt örneklerinden 20'sinde (%41.66) *P. fluorescens*, 11'inde (%22.91) *P. aeruginosa*, 11'inde (%22.91) *P. putida* izole edilmiştir. Daha az sayıda ise 2'sinde (%4.16) *P. aurefaciens*, 3'ünde (%6.25) *P. pseudomallei*, 1'inde (%2.08) *P. cepacia* tespit edilmiştir. 20 *P. fluorescens* izolatlarının biyotiplerine göre ayırımlarında ise 10'u (%20.83) *P. fluorescens* biyotip I, 4'ü (%8.33) *P. fluorescens* biyotip II, 6'sı (%12.50) *P. fluorescens* biyotip III olarak adlandırılmıştır (Tablo 2).

Pseudomonas'ların 4°C ve 41°C'deki üremelerine göre tür ayrımları Yeast Extract besiyerinde test edilmiştir. Buna göre 41°C'de *P. aeruginosa*, *P. pseudomallei* ve *P. cepacia*, 4°C'de ise *P. fluorescens* biyotip, I, II, III, *P. puti-*

Çiğ süttten izole edilen <i>Pseudomonas</i> türleri	<i>Pseudomonas</i> CN ve CFC besiyerinde üreme 30°C	Yeast Extract besiyerinde 4°C ve 41°C'deki <i>Pseudomonas</i> izolasyonları 4°C 41°C	<i>Pseudomonas</i> izolasyon sayısı	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	11	22.91
<i>Pseudomonas putida</i>	+	+	11	22.91
<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotip I	+	+	10	20.83
biotip II	+	+	4	8.33
biotip III	+	+	6	12.50
<i>Pseudomonas aurefaciens</i>	+	+	2	4.16
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	+	+	3	6.25
<i>Pseudomonas cepacia</i>	+	+	1	2.08

Tablo 2. *Pseudomonas* CN ve CFC Besiyerinden İzole Edilen 48 *Pseudomonas* İzolatlarının Türlerine Göre Dağılımı

Tablo 3. *Pseudomonas* ve Türlerinin İzole Edildiği Kaynaklara Göre Dağılımı

Çiğ süt örneklerinin alındığı kaynaklar	İzole Edilen <i>Pseudomonas</i> Türleri							Toplam	
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. fluorescens</i>			<i>P. aurefaciens</i>	<i>P. pseudomallei</i>		<i>P. cepacia</i>
			biotip I	biotip II	biotip III				
Çeşitli süt işletmelerinden alınan çiğ süt örnekleri	11	11	10	4	3	2	3	1	45
Sokak sütçülerinden toplanan çiğ süt örnekleri	-	-	-	-	3	-	-	-	3

da, *P. aurefaciens* türleri üremiştir (Tablo 2). Ayrıca nişasta ve jelatin hidrolizi testleri çalışılmıştır. Jelatin hidrolizinde 22°C'de bir haftalık inkübasyon tercih edilmiştir. Arjinin dihidrolaz (Thornley), ornitin ve lizin dekarboksilaz (Moeller) testleri ile izole edilen *Pseudomonas* ların tür adları daha çok kesinlik kazanmıştır. Yukarıda adı geçen testlere ilave olarak glukonat oksidasyonu, sükröz'dan levan oluşumu, glikoz ve laktoz fermentasyonu ve penicillin hassasiyet testleri yapılmıştır (13). Çalışma sonucunda çiğ sütlerden *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens* biotip I, II, III, *P.*

aurefaciens, *P. pseudomallei* ve *P. cepacia* türlerinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Pseudomonas* türlerinin adlandırılmasında çeşitli besiyerlerinden ve biyokimyasal testlerden yararlanılmıştır (22). Özellikle CVT Agar, CA ve SDA'daki üremelerine göre *Pseudomonas* türleri değerlendirilmiştir. CVT'da bütün *Pseudomonas* türleri üremiştir. SDA'da bütün *P. aeruginosa* türleri ürerken, diğer *Pseudomonas* türleri ürememiştir. CA'da *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens* biotip I, II, III, *P. cepacia* türleri ürerken, *P. aurefaciens*, *P. pseudomallei* türleri ürememiştir.

Tablo 4. 200 Çiğ Süt Örneğinden İzole Edilen 48 *Pseudomonas* Türünün Mevsimlere Göre Dağılımı

Çiğ süt örneklerinin alındığı kaynaklar		<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. fluorescens</i>			<i>P. aurefaciens</i>	<i>P. pseudomallei</i>	<i>P. cepacia</i>	Toplam
Mevsimler	Aylar			biotip I	biotip II	biotip III				
KIŞ	Aralık	1		1						
	Ocak	2							7	
	Şubat					3				
ILKBAHAR	Mart		6			3				
	Nisan		1	1					14	
	Mayıs	2	1							
YAZ	Haziran	4	2	3	1		1		1	
	Temmuz	2	1	5	3		1		27	
	Ağustos							3		

Pseudomonas türlerinden *Pseudomonas fluorescens* biotip I, II, III, *P. aeruginosa* ve *P. putida* King B besiyerinde fluorescein pigmenti oluştururken, *P. aeruginosa*, *P. aurefaciens*, *P. cepacia* türleri ise King A besiyerlerinde phenazine pigmenti oluşturmuştur (23).

Çiğ süttten izolasyonu gerçekleştirilen *P. aeruginosa* ve *P. fluorescens* türlerinin kontrolünü yapmak amacı ile 585 nolu *P. fluorescens* (Switzerland) ve 588 nolu *P. aeruginosa* suşlarından yukarıda adı geçen tüm testler yapılarak biyokimyasal reaksiyonları kontrol edilmiştir.

Araştırmada 48 *Pseudomonas* izolatlarının 45'i çeşitli süt işletmelerinden, 3'ü sokak sütü örneğinden elde edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 4'de *Pseudomonas* izolatlarının mevsimlere göre dağılımı görülmektedir. Toplam 48 *Pseudomonas* izolatlarının 27'si yazın, 14'ü ilkbahar, 7'si kış mevsiminde gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre *Pseudomonas* türleri psikrofil olarak değerlendirilmesine rağmen en fazla yaz mevsiminde izole edilmiştir.

Tartışma

Türkiye'de çiğ sütlerden *Pseudomonas* izolasyon çalışmaları çok az sayıda olup, genus düzeyinde belirtilmiştir. Bu nedenle araştırmada izole edilen 48 *Pseudomonas*'ın türlerine göre tanımlanmaları yapılmıştır. 48 *Pseudomonas* izolatları içerisinde en fazla 20 izolat (%41.66) *P. fluorescens* tespit edilmiştir. Daha sonra 11'er izolat (%22.91) *P. aeruginosa* ve *P. putida*, 2 izolat (%4.16) *P. aurefaciens*, 3 izolat (%6.25) *P. pseudomallei*, 1 izolat (%2.08) *P. cepacia* olarak belirlenmiştir (Tablo 2).

Araştırmada en fazla izole edilen *P. fluorescens* 3 biotip olarak tanımlanmıştır. %20.83'ü biotip I, %8.33'ü biotip II, %12.50'si biotip III'dir. Richard'ın çiğ süt çalışmasında da araştırma sonuçlarına paralel olarak *Pseudomonas* izolasyonlarında en fazla *P. fluorescens* izole edilmiştir (24). Kroll ve ark. (25)'de bu araştırmanın bulguları doğrultusunda soğutulmuş sütlerin psikrofil florasında dominant olarak *P. fluorescens*'i izole etmişlerdir. İzole ettikleri bu türün %39'u biotip I, %13'ü biotip II, %45'i biotip III'dür (25). Kroll ve ark.'larının sonuçları, bu çalışmanın oranları ile karşılaştırıldığında *P. fluorescens* biotip I ve III, *P. fluorescens* biotip II'ye oranla daha fazladır. Bu araştırma sonuçlarına uygun olarak Kwan ve Skura'da (26) çiğ sütlerden *P. fluorescens* biotip A, biotip B, biotip C, *P. aurefaciens*, *P. pseudomallei* ve *P. cepacia* türlerini saptamışlardır.

İnsan organizmasında sıklıkla görülen ve önemsenen *P. aeruginosa* yapılan bu araştırmada *P. fluorescens*'den

daha az sayıda tespit edilmiştir. Jooste ve ark. (27) çiğ sütlerden izole ettiği 45 *Pseudomonas*'ın 26'sını *P. fluorescens* ve *P. putida*, 6'sını *P. cepacia*, 4'ünü de *P. aeruginosa* olarak belirlemiştir. Jooste'nin sonuçları bu araştırma sonuçlarının paralelinde olup *P. fluorescens* en fazla bulunmasına rağmen *P. aeruginosa* daha az sıklıkta izole edilmiştir.

Araştırmada *Pseudomonas* izolasyonlarında kullanılan *Pseudomonas* CN ve CFC besiyerleri, Kristiansen (12) tarafından da kullanılmıştır. Ayrıca King A ve King B besiyerlerinde pigment oluşumu, oksidaz, katalaz, hareket, O/F (Glukoz) fermentasyon testleri kullanılarak tür tayini yapılmıştır. Kristiansen (12)'de çalışmasında araştırmada uygulanan ve bu testlerle edilen *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida* ve *P. cepacia* türlerini tespit etmiştir.

Pseudomonas izolasyonlarında kullanılan *Pseudomonas* F agar, CA ve CVT Agar'lar, Mickova ve ark. (28)'nin çiğ sütlerle yaptıkları çalışmada *P. aeruginosa* izolasyonlarında kullanmaları, bu araştırmanın sonuçlarını desteklemektedir. Ayrıca bu araştırmacıların *P. aeruginosa*'nın tanımlanmasında 42°C'de üreme, oksidaz, arjinin dihidrolaz, ornitin ve lizin dekarboksilaz, pyoverdin oluşumu ve indol testlerinin uygulanması bu araştırma doğrultusundadır.

Araştırmada CA'da *P. aeruginosa*, *P. putida* ve *P. cepacia* türleri tanımlanmıştır. Aynı doğrultuda Szita ve Biro (29) çiğ süttten CA'da aynı *Pseudomonas* türlerinin izolasyonunu gerçekleştirmişlerdir.

Bu çalışmada örneklerin dilüsyonunda kullanılan %0.1'lik peptonlu su, Shelley ve ark. (11)'nin çiğ sütlerde yaptıkları *Pseudomonas* izolasyon çalışmasında da tercih edilmiştir. *P. fluorescens* ve *P. putida* türlerinin ayırımında kullanılan King A ve King B besiyerleri, oksidasyon-fermentasyon testi, orjinin dihidrolaz, nitrat redüksiyonu, oksidaz, jelatin hidrolizi ve karbonhidrat fermentasyon testleri Richard (24)'in yaptığı çalışmada da kullanılmıştır. Bu araştırmacı yaptığı bir başka çalışmasında (30) *Pseudomonas* izolasyonlarında araştırmada uygulanan penicillin'e dirençlik testini de yapmıştır. Bu çalışmada kullanılan katalaz, oksidaz, O/F (Glukoz) Fermentasyon Testi, King B besiyerinde fluorescein oluşumu ve diğer biyokimyasal testler Fischer'in (31) çiğ süt örneklerinde yaptığı çalışmasında uygulanmıştır.

İzole edilen 48 *Pseudomonas* türünün 45'i çeşitli süt işletmelerinden, 3'ü de sokak sütçülerinden toplanan çiğ süt örneklerinde belirlenmiştir. Bu sonuca göre sokak sütlerine herhangi bir soğutma işlemi uygulanmadığı için *Pseudomonas* cinsi bakterilerin sokak sütlerinde ortama hakim olmadığı görülmektedir. Buna karşılık ortamda mezofil mikroorganizmaların ürettiği düşünülmektedir.

Araştırmanın bulguları düşük sıcaklıklarda saklanan süt ve ürünlerinin *Pseudomonas*'lar tarafından kontamine olabileceğinin artabileceğini göstermektedir. Değişen kaynaklardan süte karışan *Pseudomonas*'lar sütte hızla çoğalıp, çeşitli fermentasyonlara, parçalanmalara sebep olmakta ve bu faaliyetler sonucunda sütün renginde, tadında, kokusunda, yapı ve kıvamında bir sürü değişiklikler göstermektedir. Sütte *Pseudomonas*'lar sütün tazeliğini bozduğu gibi, bazende çeşitli enfeksiyonlarda

neden olmaktadır. Özellikle fırsatçı patojen olarak bilinen *P. aeruginosa* en fazla sütün tüketildiği 0-3 yaş grubu çocuklarda süt kaplarında tedbir alınmadığında bulaşarak hastalıklara ve salgınlara yol açmaktadır. Bütün bu olasılıklar değerlendirildiğinde süt ve süt ürünlerinde *Pseudomonas*'ların bulunmaması için yeterli tedbirlerin tüketiciler ve işletmeciler tarafından alınması gerektiğini göstermiştir.

Kaynaklar

- Rowe, M., Gilmour, A., The Present and Future Importance of Psychrotrophic Bacteria. Dairy Industries International, 50(11), 14-29, 1985.
- Bigalke, D., Dairy Quality Dairy and Food Sanitation, October, 388-389, 1985.
- Suarez, B., Ferreiros, C.M., Psychrotrophic Flora of Raw Milk, Resistance to Several Common Disinfectans, Journal of Dairy Research, 98, 127-136, 1991.
- Stead, D., Microbial Lipases: Their Characteristics, Role in Food Spoilage and Industrial Uses, Journal of Dairy Research, 53, 481-505, 1986.
- Cousins, C.M., Bramley, A.J., The Microbiology of Raw Milk, Dairy Microbiology, Vol. I., London and New York, 119-164, 1983.
- Rached, A.M., Baday, F., Identification of Psychrotrophic Isolated from Cold-Stored Raw Milk and Investigation of Their Metabolic Activity, Dairy Science Abstracts, 45, 6506, 1983.
- Boisen, A.F., Christofferson, A.D., Psychrotrophic Bacteria in Milk, Dansk Vet. Tidsskr. 67(6), 224-231, 1984.
- Candioti, M.C., Reinheimer, J.A., Zalazar, C.A., Proteolytic and Lipolytic Activities of Psychrotrophic Bacteria, at 5°C and 25°C, Latte Vol. X, Luglio-Agosto, 628-632, 1985.
- El-Bassiony, T.A., Aboul Khier, F., Saad, N.M., Evaluation of Various Plating Media for Enumeration of Psychrotrophic Bacteria in Milk, Assiut Vet. Med. J., 5 (29), 93-99, 1985.
- Türk Standartları Enstitüsü, Çiğ Süt TS 1018, 1981.
- Shelley, A.W., Deeth, H.C., Mac Rae, I.C., Growth of Lipolytic Psychrotrophic Pseudomonas in Raw and Ultra-Heated Treated Milk, Journal of Applied Bacteriology, 61, 395-400, 1986.
- Kristiansen, A.K., Evaluation of Two Selective Media for Rapid Isolation of Pseudomonas Strains, Dansk Veterinærtidsskrift, 66(3), 83-91, 1983.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 4th ed. J.B. Lippincott, Philadelphia, 209, 1992.
- Kovacs, N., Identification of Pseudomonas pyocyanea by the Oxidase Reaction, Nature, London, 178, 703, 1956.
- Kleeberger, A., Busse, M., Keinzahl und Florazus Ammensetzung Bei Hackfleisch Unterbesonderer Berücksichtigung von Enterobakterien und Pseudomonaden, Z. Lebensm. Unter s. Forsch., 158, 321-331, 1975.
- Costin, I.D., Die Biochemische Identifizierung der Enterobacteriaceen, Kritische Bemerkungen zu Prinzipien und Methoden, Zbl. Bakt. 1. Ref. 219, 83-151, 1969.
- Gilliland, S.E., Busto, F.F., Brinda, J.J., Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Ed. Speck, M.L., 2nd ed., Am. Publ. Health Assoc. Inc, Washington, D.C., 1984.
- Baron, E.I., Fingold, S.M., Diagnostic Microbiology, 8th. edition, St. Louis Baltimore, Philadelphia, Toronto, 387-407, 1990.
- Palleroni, n.J., Pseudomonadaceae, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1, Ed. Kriger, N.R., Holt, J.G., et al., 9th ed. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 114-199, 1984.
- Seller's, W., Medium for Differentiating the Gram Negative Non-Fermenting Bacilli of Medical Interest, J. Bacteriol. 87, (46), 1964.
- Fahy, P.C., Hayward, A.C., Media and Methods for Isolation and Diagnostic Tests, Plant Bacterial Diseases a Diagnostic Guide, Ed. Fahy, P.C., Persley, G.G., Academic Press Australia, 355, 1983.
- Gilardi, G., "Pseudomonas and Related Genera" Chapter 41, Manual of Clinical Microbiology, Fifth Edition. Ed. Balows, A., Hausler, W.F. Hermann, K.L., Isenberg, H.D., Shadomy, H.J., Washington, 429-441, 1991.
- Faddin, J.F., Biochemical Tests For Identification of Medical Bacteria, 2nd ed. Williams and Wilkins, Baltimore, London, 1980.

24. Richard, J., Adonsonian Classification and Identification of Psychrotrophic *Pseudomonas* from Raw Milk Held at Low temperature, *Ann. Microbiol.*, 132 A, 171-182, 1981.
25. Kroll, V.S., Kellerer, B., Busse, M., Klustermeyer, H., Proteolytic Active Psychrotrophs of Raw Milk I. Identification on the Basis of Physiological Characteristics, *Milchwissenschaft*, 39, (9), 538-540, 1984.
26. Kwan, K.K., Skura, B.J., Identification of Proteolytic *Pseudomonas* Isolated from Raw Milk, *J. Dairy Science*, 68, 1902-1909, 1985.
27. Jooste, P.J., Britz, T.J., Lategan, P.M., Screening for the Presence of *Flavobacterium* Strains in Dairy Sources, *S. Afr. J. Dairy. Sci.*, 18(2), 1986.
28. Mickova, V., Lukasova, J., Konecny, S., *P. aeruginosa* in Raw and Pasteurized Milk, *Veter. Med. (Praha)*, (7), 34, 411-419, 1989.
29. Szita, G., Biro, G., A Synthetic Selective Culture Medium for *P. aeruginosa*, *Acta Veterinaria Hungarica*, 38 (3), 187-194, 1990.
30. Richard, J., Multiplication of *Pseudomonads* in Milk at Low Temperature, *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungs Berichte*, 33, 343-346, 1981.
31. Fischer, P.L., Jooste, P.J., Novello, J.C., The Seasonal Distribution of Psychrotrophic Bacteria in Bloemfontein Raw Milk Supplies, *S. Afr. J. Dairy. Sci.*, 19(3) 73-76, 1987.