



T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GIDA BAŞLANGIÇ KÜLTÜRLERİNİN  
ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN MOLEKÜLER  
OLARAK BELİRLENMESİ**

**FİLİZ DOĞAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**KAHRAMANMARAŞ 2016**

T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GIDA BAŞLANGIÇ KÜLTÜRLERİNİN  
ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN MOLEKÜLER  
OLARAK BELİRLENMESİ**

**FİLİZ DOĞAN**

**Bu tez,  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS  
derecesi için hazırlanmıştır.**

**KAHRAMANMARAŞ 2016**

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Filiz DOĞAN tarafından hazırlanan “GIDA BAŞLANGIÇ KÜLTÜRLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN MOLEKÜLER OLARAK BELİRLENMESİ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 04/02/2016 tarihinde oy birliği ile Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Yekta GEZGİNÇ (DANIŞMAN) .....

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı,  
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. Özlem TURGAY (ÜYE) .....

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı,  
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Doç. Dr. İsmail AKYOL (ÜYE) .....

Tarımsal Biyotekn. Anabilim Dalı,  
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Doç. Dr. Mustafa ŞEKKELİ .....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

**Filiz DOĞAN**

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2014/3-3 YLS

Bu çalışma Türkiye Bilimsel Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir.

Proje No. 1649B021412580; Başvuru Dönemi.2014/3

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

# GIDA BAŞLANGIÇ KÜLTÜRLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN MOLEKÜLER OLARAK BELİRLENMESİ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

FİLİZ DOĞAN

## ÖZET

Laktik asit bakterileri (LAB) fermentatif, fakültatif anaerob, aerotolerant mikroorganizmalardan oluşan geniş bir gruptur. Bu kommensal bakteriler gıda zinciri yoluyla tüketicilerde antibiyotik direnç belirleyicilerinin yayılması için bir vektör olabilmektedirler. Bu sebeple LAB' de antibiyotik direnciyle ilgili çalışmalar son yıllarda önem kazanmıştır. Bu çalışmada, *Streptococcus thermophilus* (n=68) ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (n=5) ve izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılmıştır. LAB izolatlarında en yüksek direnç kanamisin (% 51) antibiyotiğine karşı bulunmuştur. Bu değeri sırasıyla streptomisin (% 16), kloramfenikol (% 10) ve vankomisin (%14) antibiyotikleri izlemektedir. Antibiyotik direnç genlerini araştırmak için yapılan PCR denemeleri sonucunda, *aph(3')-IIIa* (% 95), *blaZ* (%100), *van (E)* (%67) ve *str (B)* (%36) genleri bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda gıda kökenli bakterilerin bazı antibiyotik direnç genleri açısından rezervuar oluşturduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik Dirençlilik, Laktik Asit Bakterileri, Başlangıç Kültürleri, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, Moleküler Tanımlama.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ocak / 2016

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Yekta GEZGİNÇ

Sayfa sayısı: 67

**DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN FOOD STARTER  
CULTURE BY MOLECULARS METHODS**

**(M.Sc. THESIS)**

**Filiz DOĞAN**

**ABSTRACT**

Lactic acid bacteria (LAB) are a large group of fermentative, anaerobe facultative, aerotolerant microorganisms. These commensal bacteria may function as vectors for the dissemination of antibiotic resistance (AR) determinants via the food chain to the consumer. Because of this, researchs on antibiotic resistance in LAB has gained more attention in recent years. In this study, *Streptococcus thermophilus* (n=68) and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (n=5) species antibiotic resistance of isolates evaluated by phenotypic and genotypic methods. Among the isolated LAB, the most prevalent antibiotic resistance was against the kanamycin (51%), following with streptomycin (16%), chloramphenicol (10%) and vancomycin (14%). Positive amplicons were obtained for resistance genes *aph(3')-IIIa* (95%), *blaZ* (100%), *van (E)* (67%) and *str(B)* (36%) from isolates. As a result of study, it can be concluded that food borne bacteria may be a reservoir for some antibiotic resistance genes.

**Key words:** Antibiotic Resistance, Lactic Acid Bacteria, Starter Cultures, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, Molecular Identification.

University of Kahramanmaraş Sütçü İmam

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering , January / 2016

Supervisor: Assistant Professor Yekta GEZGİNÇ

Page Numbers: 67

## TEŞEKKÜR

Araştırmanın planlanmasından tezin basımına kadar bütün aşamalarda değerli görüşlerini, yardımlarını ve katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen, tezim dışında da her konuda desteğini aldığım, anlayışla ve sabırla hep yanımda olan kıymetli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Yekta GEZGİNÇ' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması süresince engin bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve çalışmamın her aşamasında sağladığı bilimsel katkılardan dolayı değerli hocam Doç. Dr. İsmail AKYOL' a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen, maddi manevi her türlü desteklerinden dolayı yakın arkadaşlarım Şerife Nur AKYAR'a, Gamze ÜTÜK'e, Recep AYTUNÇ' a ve araştırma görevlisi Fatma Gül ÖZÇELİK' e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın yürütülmesinde 2014/3-3 YLS no.lu proje ile çalışmamızı destekleyen Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın yürütülmesinde 2014/3 dönemi 1649B021412580 başvuru no.lu proje ile çalışmamızı destekleyen Türkiye Bilimsel Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, bu günlere gelmemde her türlü maddi ve manevi desteklerini gördüğüm aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|   |      |
|---|------|
| ÖZET .....  | i    |
| ABSTRACT .....  | ii   |
| TEŞEKKÜR.....   | iii  |
| İÇİNDEKİLER.....  | iv   |
| ÇİZELGELER LİSTESİ.....   | vi   |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....   | vii  |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....   | viii |
| 1. GİRİŞ.....   | 1    |
| 1.1. Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri ve İnsan Sağlığına Etkileri.....  | 2    |
| 1.1.1. Gıda endüstrisinde laktik asit bakterilerinin başlangıç kültürü olarak kullanımı.....  | 4    |
| 1.1.2. Fermente süt ürünlerinde başlangıç kültürü olarak laktik asit bakterileri.....   | 5    |
| 1.1.2.1. Yoğurt fermantasyonunda başlangıç kültürü olarak <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> ve <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> ..... | 6    |
| 1.2. Antibiyotikler .....   | 7    |
| 1.2.1. Antibiyotiklerin tanımı ve sınıflandırılması.....  | 7    |
| 1.2.1.1. Hedef hücreye etkilerine göre antibiyotikler.....  | 8    |
| 1.2.1.2. Etki Mekanizmalarına Göre Antibiyotikler.....  | 8    |
| 1.2.1.3. Etki Spektrumuna göre antibiyotikler.....  | 10   |
| 1.2.1.4. Etki ettikleri mikroorganizma grubuna göre antibiyotikler.....   | 10   |
| 1.2.1.5. İmmunmodülatör etkilerine göre antibiyotikler .....  | 10   |
| 1.2.4. Bakterilerin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları.....   | 10   |
| 1.2.5. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Profili.....   | 13   |
| 1.2.5.1. Doğal (Fenotipik) direnç.....  | 13   |
| 1.2.5.2. Kazanılmış direnç .....  | 14   |
| 1.2.5.3. Mutasyon.....  | 14   |
| 1.2.6. Antibiyotik duyarlılık ve dirençliliğini belirlemede kullanılan disk difüzyon yöntemi ve moleküler-genotipik yöntemler.....  | 14   |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....   | 16   |
| 2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlerinin Fenotipik Yöntemlerle Belirlesine Yönelik Yapılan Çalışmalar.....   | 16   |
| 2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlerinin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesine Yönelik Yapılan Çalışmalar .....   | 17   |
| 3. MATERYAL VE METOT.....   | 20   |
| 3.1. Materyal .....   | 20   |
| 3.1.1. Materyal örnekleri.....  | 20   |

|   |    |
|---|----|
| 3.1.2. Kimyasallar.....   | 23 |
| 3.1.3. Bakteri türleri için kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları.....                           | 23 |
| 3.1.4. Antibiyotik diskler .....  | 24 |
| 3.1.5. DNA izolasyon kitleri .....  | 25 |
| 3.2. METOT.....   | 25 |
| 3.2.1. Bakteri Stoklarının Canlandırılması .....  | 25 |
| 3.2.2. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin fenotipik olarak belirlenmesi.....       | 25 |
| 3.2.3. Laktik Asit Bakterilerinden DNA İzolasyonu.....  | 26 |
| 3.2.4. DNA'nın jel elektroforezi .....  | 27 |
| 3.2.5. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin genotipik olarak belirlenmesi.....       | 27 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....  | 29 |
| 4.1. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Duyarlılıklarının Disk Difüzyon Yöntemi İle Belirlenmesi..... | 29 |
| 4.2. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençliliklerinin Genotipik Olarak Belirlenmesi.....         | 35 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....   | 39 |
| KAYNAKLAR.....  | 42 |
| ÖZ GEÇMİŞ.....  | 53 |

## ÇİZELGELER LİSTESİ

### Sayfa No

|   |    |
|---|----|
| Çizelge 1.1. Etki mekanizmalarına göre antibiyotiklerin sınıflandırılması .....   | 9  |
| Çizelge 3.1. Suşların içeriği ve temin edildikleri kaynaklar .....  | 20 |
| Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılan besiyerleri .....   | 23 |
| Çizelge 3.3. <i>S. thermophilus</i> türleri ve <i>L. d. bulgaricus</i> türleri için kullanılan M17 ve MRS besi ortamlarının kompozisyonu..... | 24 |
| Çizelge 3.4. PCR işleminde kullanılan antibiyotik direnç primerleri, amplikon uzunlukları ve yapışma sıcaklıkları.....                        | 27 |
| Çizelge 3.5. Antibiyotik direnç genleri için kullanılan PCR reaksiyon karışımı .....  | 28 |
| Çizelge 4.1. CLSI kriterlerine göre antibiyotik duyarlılık-dirençliliğin değerlendirilmesi .  | 31 |
| Çizelge 4.2. <i>S. thermophilus</i> izolatlarının antibiyotiklere duyarlılık testleri .....   | 31 |
| Çizelge 4.3. <i>L. bulgaricus</i> izolatlarının antibiyotiklere duyarlılık testleri.....  | 34 |
| Çizelge 4.4. <i>S. thermophilus</i> izolatlarının antibiyotiklere gösterdiği % duyarlılık oranları  | 34 |
| Çizelge 4.5. <i>L. d. bulgaricus</i> izolatlarının antibiyotiklere gösterdiği % duyarlılık oranları   | 35 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa No

|   |    |
|---|----|
| <b>Şekil 1.1.</b> Antibiyotiğe dirençli bakterilerin hayvanlardan insanlara muhtemel geçiş yolları (Korhonen 2010).....   | 12 |
| <b>Şekil 4.1.</b> Streptococcus thermophilus izolatlarının antibiyotik direnç özelliklerinin disk difüzyon yöntemi ile belirlenmesi sonucu elde edilen zon görüntüleri..... | 31 |
| <b>Şekil 4.2.</b> İzolatlarda saptanan <i>aph(3')-IIIa</i> geninin jel görüntüsü.....   | 36 |
| <b>Şekil 4.3.</b> İzolatlarda saptanan <i>aph(3')-IIIa</i> geninin jel görüntüsü.....   | 36 |
| <b>Şekil 4.4.</b> İzolatlarda saptanan <i>str(B)</i> genlerinin jel görüntüleri .....   | 37 |
| <b>Şekil 4.5.</b> İzolatlarda saptanan <i>van (E)</i> genlerinin jel görüntüleri.....   | 37 |
| <b>Şekil 4.6.</b> İzolatlarda saptanan <i>blaZ</i> genlerinin jel görüntüleri .....   | 38 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                      |  |
|----------------------|--|
| ABD                  | :Amerika Birleşik Devletleri                 |
| AMP                  | :Amfisilin                                   |
| <i>aph (3')-IIIa</i> | :Aminoglycoside-3'-phosphotransferase        |
| Bç                   | :Baz Çifti                                   |
| <i>blaZ</i>          | :Beta laktamaz induksiyon gen Z              |
| bp                   | :Base Pair                                   |
| C                    | :Kloramfenikol                               |
| CN                   | :Gentamisin                                  |
| CLSI                 | :Clinical and Laboratory Standards Institute |
| DNA                  | :Deoksiribonükleik Asit                      |
| EDTA                 | :Etilendiamin Tetra Asetik Asit              |
| EtBr                 | :Etidyum Bromür                              |
| G+C                  | :Guanin+Sitozin                              |
| GRAS                 | :Generally Regarded As Safe                  |
| K                    | :Kanamisin                                   |
| kb                   | :Kilobase                                    |
| Kob                  | :Koloni Oluşturan Birim                      |
| LAB                  | :Laktik Asit Bakterileri                     |
| mcg                  | :Mikrogram                                   |
| µL                   | :Mikrolitre                                  |
| mg                   | :Miligram                                    |
| mL                   | :Mililitre                                   |
| MRS                  | :De Man, Rogosa and Sharpe                   |
| OD                   | :Optical Density                             |
| P                    | :Penisilin                                   |
| PCR                  | :Polymerase Chain Reaction                   |
| pH                   | :Power of Hydrogen                           |
| Primer F             | :Primer Forward                              |
| Primer R             | :Primer Reverse                              |
| R                    | :Rifampisin                                  |
| RNA                  | :Ribonükleik Asit                            |

|                |   |
|----------------|---|
| rpm            | :Revolutions per minute   |
| S              | :Streptomisin   |
| <i>Str (B)</i> | :Streptomisin resistans gen B   |
| TBE            | :Tris-Borik Asit EDTA   |
| TE             | :Tetrasiklin  |
| U              | :Ünite  |
| UV             | :Ultraviole   |
| ÜSKİM          | :Üniversite Sanayi Kurumu İşbirliği Geliştirme<br>Uygulama ve Araştırma Merkezi |
| VA             | :Vankomisin   |
| <i>Van (E)</i> | :Vankomisin resistans gen E   |

## 1. GİRİŞ

Günümüzde modern üretim teknolojilerinin geliştirilmiş olmasına rağmen, gıdaların korunması, raf ömrünün uzatılması konusunda gerek gelişmekte olan ülkeler gerekse endüstriyel ülkelerde sorunlar ortaya çıkmaktadır. ABD’de yılda yaklaşık olarak 76 milyon kişinin gıda kökenli hastalıklara maruz kaldığı belirlenmiştir (Mead ve ark., 1999). Türkiye’de, nüfus yılda ortalama %2.5 oranında artış gösterirken gıda üretimindeki artış yaklaşık %1 civarındadır (Topal, 1996).

Şehir ve kasabalarda nüfusun artışı, büyük marketlerin açılması ve raf ömrü uzun olan gıdalara ihtiyacın artması bu gıdaların üretim sürecine olan ilgiyi arttırmıştır (Mead ve ark., 1999). Gıdalarda meydana gelen bozulmalar endüstriyel anlamda da büyük kayıplara sebep olmaktadır (Ross ve ark., 2002; Soomro ve ark., 2002). Mikrobiyel bozulmalara karşı ekonomik kayıpların önlenmesi, gıda kaynaklı hastalıkların azaltılması ve hızla artan dünya nüfusunun gıda ihtiyaçlarının karşılanmasında, endüstride kullanılan koruma yöntemlerine duyulan ilgi artmaktadır (Galvez ve ark., 2008). Günümüzde gıdaların güvenilirliğinin uluslar arası boyutta önem kazanmasıyla birlikte, en uygun doğal gıda koruyucularının belirlenmesi ve sektörde yer edinmesi ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır (Ross ve ark., 2002; Soomro ve ark., 2002). Laktik asit bakterileri (LAB), gıdaların muhafazasında önemli bir alternatif olmuş ve gıda katkıları konusunda tüketicilerin endişeleri, onların ilgilerini kimyasal koruyucu eklenmeden üretilen doğal ve geleneksel gıdalara yönlendirmiştir (Settanni ve Corsetti, 2008).

Antibiyotiklerin yaygın kullanımına bağlı olarak probiyotik bakteriler ya da fermente ürünlerde rol alan LAB gibi, gıda zinciri açısından önem taşıyan bakteriler, insan ve hayvanlarda tedavi amaçlı kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli hale gelebilmektedir (Ammor ve ark., 2007). LAB, 'Generally Regarded As Safe' (GRAS) listesinde olmakla beraber antibiyotik direnç özelliği taşıma ihtimallerinden dolayı, potansiyel bir sağlık riski taşıyabilmektedirler (Mathur ve Singh, 2005; Ammor ve ark., 2007).

Bu çalışma ile doğal izolatlardan elde edilmiş olan *S. thermophilus* (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*) ve *L. bulgaricus* (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) bakterilerinin antibiyotik dirençlilik profilinin disk difüzyon yöntemi ve moleküler olarak belirlenmesi toplum sağlığı açısından tehdit oluşturan ve ekonomik açıdan kayıplara yol

açan antibiyotik dirençliliği bulunan başlangıç kültürlerinin tespit edilerek, bu kültürlerin başlangıç kültürü olarak kullanımının önlenmesi amaçlanmıştır.

### **1.1. Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri ve İnsan Sağlığına Etkileri**

LAB, taksonomik olarak, laktik asit üretiminin konfigürasyonuna, gelişme sıcaklıklarına (10–60 °C), glikoz fermantasyonuna (homo-ve hetero- fermantasyon) morfolojik yapılarına (kok, çubuk veya tetrat formasyon) , tuz asit ve alkali toleranslarına, yağ asitleri kompozisyonuna ve DNA baz dizisi gibi genetik kriterlere bağlı olarak sınıflandırılmaktadır (Erginkaya ve Hayaloğlu, 2001; Palalı, 2007).

Homofermentatif LAB, fermentasyon prosesinin son aşamasında pirüvik asitin laktik asite indirgenmesi için NADH+H kullanmaktadır. Ortamdaki oksijenin varlığına da bağlı olarak pirüvatın yalnızca küçük bir kısmını dekarboksile ederek asetat, etil alkol, karbondioksit ve belki asetoine dönüştürülebilmektedir. Zorunlu heterofermentatif LAB, pentoz şekerleri ise laktik asit ve asetik aside, heksoz ve şekerleri laktik asit, asetik asit (veya etanol) ve CO<sub>2</sub>' e, fermente etmektedirler. Fakültatif heterofermentatif laktik asit bakterileri ise heksoz şekerleri laktik aside fermente ederken, pentoz şekerleri laktik asit ve asetik asite fermente etmektedirler. (Salminen ve ark., 2004).

LAB, laktozu fermente ederek temelde laktik asit oluşturmalarıyla karakterize edilmiş katalaz negatif, bir iki ayrıcalık gösteren üye dışında hareketsiz, sitokromdan yoksun, Sporolactobacillus inulinus dışında spor oluşturmayan bakteriler olarak bilinmektedir (Hofvendahl ve Hahn-Hägerdal, 2000). Gram pozitif bakteriler arasında düşük düzeyde guanin ve sitozin (G+C) oranına sahip olmasının yanında (Ludwig ve ark., 1993) genom büyüklükleri genel olarak 1.8-3.4 Mbp arasında değişmektedir (Davidson ve ark., 1996).

LAB protein kılıftan oluşan hücre (protein parçalanmasını başlatan), taşıma sistemi ve birçok hücre içi peptidazlardan meydana gelen etkili bir proteolitik sisteme sahiptir. Bu konuda laktik asit bakterileri süt proteinlerini geride bırakır (Hebert ark., 2008; Do Carmo ark., 2011).

Bu bakteriler; kok, çomak, tetra formasyon ve ovoid şeklinde bulunabilmekte, gelişme sıcaklıkları bakımından termofil ve mezofil özellik göstermektedirler. Ayrıca laktik asit bakterileri yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme ve asit veya alkali tolere etme yeteneklerine de sahiptirler (Şahin, 1995; Yüksekdağ, 2005; Etöz, 2006).

Laktik asit fermentasyonuna dayalı fermente ürün üretiminde LAB bağıışıklık sistemini güçlendirerek fırsatçı patojenlerin gelişimini inhibe eden laktik asit, asetik asit ve bakteriyosin gibi antibakteriyel maddeler üretmede önemli rol oynamaktadır ve bu özelliklerden dolayı laktik asit bakterilerine olan ilgi son yıllarda artmakta ve bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar derinlik kazanmaktadır (Yousefian ve Amiri, 2009; O'shea ve ark., 2012; Ige, 2013; Maeda ark., 2014).

Son yıllarda yapılan çalışmalardan elde edilen veriler sonucunda, laktik asit bakterilerinin küf gelişimini engellediği ve bazılarının ise mikotoksinlerle etkileşime girme potansiyeline sahip olduğu ortaya konmuştur (Dalie ark., 2010). Tür özelliklerine bağlı olarak, laktik asit, asetik asit ve bakteriyosinin yanı sıra karbondioksit, etil alkol, tat ve aroma bileşikleri de üretebilmektedirler. Bu etkenlerden dolayı, gıda kaynaklı mikrobiyel hastalıklar düşünöldüğünde LAB'lerin faaliyetiyle üretilen fermente gıdalar insan sağlığı açısından daha güvenilir gıdalar olarak kabul edilmektedir (Degeest ve ark., 2001; Duboc ve Mollet, 2001; Jolly ve Stingle, 2001; Turantaş, 2003; Leroy ve De Vuyst, 2004; Turhan, 2012).

LAB, insan ve hayvanların sindirim sisteminde bifidobakterilerle birlikte bulunabilmekte, bu birliktelik probiyotik özelliği ortaya çıkarmakta ve canlının sağlığını korunmasında simbiyotik etki göstermektedir (Ammor ve ark., 2008). Ayrıca LAB tarafından fermentasyona uğratılan süt ürünlerinin antihipertansif etkileri son 20 yıldır dikkat çekmektedir. Bununla berabere ilk etapta laboratuvar ve hayvan deneyleri yapılmış, son yıllarda ise insanlar üzerinde yapılan çalışmalar da yayımlanmıştır (Usinger ve ark., 2009; Ehlers ve ark.,2011).

LAB, “güvenli bakteriler” olarak kabul edilmekte ve koruyucu kültürlerin özelliklerini taşımaktadırlar. Gıdalarda sadece gıda kaynaklı patojen ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaları inhibe etmek ve/veya raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadırlar. Ayrıca gıdanın duyuşal özelliklerinde olumlu değişime neden olmasının yanında antogonistik özelliklerinden dolayı birçok üründe başlangıç kültürü olarak tercih edilmektedirler (Aslım ve Beyatlı, 1997; Çakır, 2003; İşleroğlu ve ark. 2008; Bergamini, ve ark., 2009).

LAB taksonomik olarak 20 cinsten oluşmasının yanında bilinen başlıca cinsler; *Aerococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*,

*Leuconostoc*, *Melisococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weisella* olarak sıralanabilmektedir (Axelsson, 2004).

### **1.1.1. Gıda endüstrisinde laktik asit bakterilerinin başlangıç kültürü olarak kullanımı**

Başlangıç kültürü (starter kültür); fermente gıdaların üretiminde, fermentasyon işleminin yönlendirilmesi ve belli bir ivme kazanmasında görev almak üzere, ham gıda materyaline en az bir mikroorganizmanın çok fazla sayıda hücrelerinin ilave edildiği mikrobiyel bir preparat olarak tanımlanabilir (Leroy ve de Vuyst, 2004).

Başlangıç kültürü olarak kullanılacak bakteri suşlarının seçimi ve bu bakterilerin önemli özelliklerinin belirlenmesi sanayide kullanımlarının yaygınlaşmasından dolayı oldukça önemli hale gelmiştir. Günümüzde tarım ve gıda endüstrisinde kullanılan başlangıç kültürlerinin gıda ürünlerinde uzun süre varlıklarını muhafaza etmesi ve bu çevresel koşullar altında karşılaştıkları stres ortamlarında yaşama adapte olmaları beklenmektedir (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2013).

Fermente gıdaların üretim ve tüketim geçmişinin oldukça uzun, geleneksel ve güvenli olması, bu alanda yapılan ve yapılacak çalışmalar üzerinde belirleyici role sahiptir (Leroy ve de Vuyst, 2004).

Koruyucu kültür ilavesi ile ürünlerin raf ömrünün yanın sıra güvenilirliğinin artırılması yönündeki stratejiler et, süt ve balık ürünlerinde uygulanmaktadır (Devlieghere ve ark., 2004).

19. yüzyılın sonlarında fermente süt ürünlerinin mikrobiyolojik kompozisyonu üzerinde çalışmalar yapılmış ve daha sonra bu türlerden, fermente süt ürünlerinde ticari başlangıç kültürleri olarak kullanılmak üzere saf kültür üretimleri gerçekleştirilmiştir (Zamfir ve ark. 2005).

Fermentatif özelliklerinin iyi bilinmesi ve pek çok alanı ilgilendiren iddialı özellikleri ile LAB, fermente süt ürünleri, fermente sebze ürünleri, fermente et ürünleri ve fermente hububat ürünleri gibi birçok fermente ürün eldesinde starter kültür olarak kullanılmakta, gıda endüstrisinde önemli bir rol oynamaktadır (Steinkraus, 1997; Wouters ve ark., 2002). Fermente ürünlerin laktik asit bakterileri açısından zengin oldukları birçok araştırmacı tarafından ispatlanmış olup (Yücel Şengün, 2011), fermente et, süt ve hububat ürünleri için başlangıç kültürü geliştirilmesini konu alan derleme çalışmaları bulunmaktadır (Leroy ark., 2006; Cogan ark., 2007; Gänzle ark., 2007).

Etin fermentasyonu sırasında baş rolü alan LAB'lerin başlangıç kültürü olarak duyuusal kaliteyi geliştirirken aynı zamanda biyokoruyucu ajanlar olarak da davrandıkları ortaya konulmuştur (Fadda ark., 2010). Et ürünlerinden izole edilip daha sonra fermente et üretiminde başlangıç kültürü olarak kullanılan LAB, fermentasyon sırasında doğal LAB'lerinin gelişimini engelleyerek, fermentasyon ve olgunlaşma aşamalarını kontrol etmektedirler (Hugas ve Monfort, 1997). Bununla birlikte spontan LAB'ler tarafından gerçekleştirilen fermentasyon sonucunda elde edilen bazı et ürünlerinin, duyuusal açıdan daha çok tercih edilebildiği bazı araştırmacılar tarafından saptanmıştır (Samelis ark., 1998).

Sebze ürünlerinin fermentasyonunda starter kültür kullanımı oldukça sınırlıdır. Özellikle son yıllarda salatalık, lahana ve zeytin gibi sebzelerin laktik asit fermentasyonu uygulanarak güvenlik, besin içeriği, raf ömrü ve duyuusal özellikleri artırılmakta bundan dolayı endüstriyel açıdan önemi günden güne artmaktadır (Rodríguez ark., 2009). Taze sebzelerin içerdiği LAB doğal floranın sadece % 0,15–1,5'ini teşkil etmektedir (Buckenhüskes, 1997). Doğal fermentasyon, ortamdaki doğal flora ile kontamine mikroorganizmalar arasındaki rekabet sonucu gerçekleşmektedir ki burada fermentasyon işleminin başlaması uzun zaman almakta işlemin başarısız olma riski de artmaktadır. Bu nedendir ki hızlı asit oluşumunun gerçekleşmesi, ve bozulma yapan ve patojenlerin gelişiminin engellenerek yüksek kalite ve güvenliğe sahip ürün elde edilebilmesi için sebze fermentasyonunda starter kültür kullanılması önerilmektedir (Rodríguez ark., 2009).

Hububat ürünlerinin, günlük protein, karbonhidrat, vitamin, mineral ve diyet lifi ihtiyacını karşılama açısından önemli kaynaklar olmasının yanı sıra besinsel kalitesi ve duyuusal özellikleri, süt ve süt ürünleri ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu görülmektedir. Bu ürünlerin hem besin kalitesinde hem de duyuusal özelliklerinde önemli artışlar sağlanması ancak fermentasyonla mümkün olabilmektedir (Blandino ark., 2003).

### **1.1.2. Fermente süt ürünlerinde başlangıç kültürü olarak laktik asit bakterileri**

Beğenilen tatları ve insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı fermente süt ürünlerinin popülaritesi gittikçe artmaktadır. (Daly ark., 1998).

Dünyada farklı adlar altında bilinen ancak temelde birbirine yakın özellikler gösteren 400'den fazla süt ürünü bulunmaktadır. (Ender ve ark., 2006). Süt ürünleri içerisinde yoğurt, peynir, tereyağı ve krema yaygın olarak tüketilenler arasında yer almaktadır (De Vuyst, 2000). Genel olarak fermente süt ürünlerinin üretimi, bakterileri

öldürmek için sütün kaynama noktasına kadar ısıtılması, vücut sıcaklığına soğutulması ve başlangıç kültürü olarak görev görmesi için az bir miktar fermente süt ilavesi gibi aşamaları içermektedir (Ender ve ark., 2006).

Fermente süt ürünleri üretiminde kullanılan başlangıç kültürleri saf ve aktif olmalı, elde edilmelerinde kullanılan süt ve diğer üretim ortamlarından kontamine inhibitör içermemeli, maksimum sayıda canlı bakteri içermelidir. Kültür aktivitesinin korunmasında, metabolik aktivitenin düşürülmesi veya kontrol altında tutulması, mikroorganizmaların, ürettikleri metabolik ürünlerden uzaklaştırılması gerekmektedir (Akın, 2006).

Süt ürünlerinde yaygın olarak kullanılan ticari başlangıç kültürlerinin başında; *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Lactobacillus* gelmektedir. Bazı ülkelerde probiyotik amaçlı yaygın olarak kullanılan türleri ise; *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. delbrueckii* ve *L. johnsonii*'dir (Zamfir ve ark. 2005).

Fermente süt ürünlerinin yapımında kullanılan başlangıç kültürleri; mezofilik ve termofilik kültürler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Yaygın ve Kılıç, 1993; Mayra-Makinen ve Birget, 1998). *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*; *L. lactis* subsp. *cremoris*; *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetilactis* gibi türler süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılan mezofilik kültürlerdir. Yoğurt ve bazı sert ve pişmiş peynirler termofilik LAB'leri ihtiva etmektedir. Birçok LAB'nin gelişim gösteremeyeceği sıcaklıklarda gelişebilen *S. thermophilus*; *L. helveticus*; *L. bulgaricus* veya *lactis* (Cogan ve Hill, 1993; Delcour ark., 2000) gibi türler, süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılan termofilik başlangıç kültürleridir. Bunun dışında *Enterococcus faecalis* ve *E. faecium* (Cheddar peyniri, yumuşak İtalyan peynirleri, bazı İsviçre peynirlerinde); *Propionibacterium freudenreichii* (Emmental ve Gruyere peynirlerinde); *Leuconostoc cremoris* (Ekşi krema ve kültüre edilmiş yayık altında) gibi diğer LAB'ler de fermente ürün üretiminde başlangıç kültürü olarak kullanılabilir (Turantaş, 2000).

#### **1.1.2.1. Yoğurt fermentasyonunda başlangıç kültürü olarak *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus***

Türk standartlarına göre yoğurt (TS 1330); TS 1018 ve/veya TS 1019 standartlarına uygun, tercihen homojenize edilmiş sütlerin *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* bakterilerinin etkisiyle laktik asit fermentasyonuna uğraması sonucu elde edilen ve yoğurt kültürlerini canlı olarak ihtiva eden fermente bir süt ürünü' olarak

tanımlanmaktadır. Yoğurt starter bakterileri olarak kullanılan ve yoğurt üretiminden sorumlu olan LAB genellikle *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*'tur (Giraffa ve ark., 2003).

## **1.2. Antibiyotikler**

### **1.2.1. Antibiyotiklerin tanımı ve sınıflandırılması**

Genel olarak, dünyada globalleşme ve sanayileşmeye bağlı olarak hem gelişmiş, hem de gelişmekte olan ülkelerde özellikle çocuklarda gıda kaynaklı enfeksiyonlar ve kronik hastalıklarda artış olduğu belirtilmektedir (Taş, 2008).

Enfeksiyon etkeni olan mikroorganizmalara karşı etkili mücadelenin yapılması, eski çağlardan beri tıpta önemli çalışmalar arasında yer almıştır. Bu amaçla, 17. yüzyıldan itibaren bazı boyalar ve kimyasal maddeler tedavi amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (Yurdakul, 2008).

Antibiyotikler başta küf, bakteri ve bitkiler tarafından üretilen ve bazı mikroorganizmalar üzerinde durdurucu veya tahrip edici etkiye sahip, bulaşı etkenlerinden korunmada faydalanılan, aynı zamanda konakçıya az oranda zarar veren sentetik, yarı sentetik veya doğal yapılar şeklinde bulunan kimyasal madde olarak tanımlanabilmektedir (Çetinkaya ve ark 2000; Aarestrup ve Jensen, 2007).

Son 50 yıl içerisinde insanların yaşam biçimleri ve yaşam koşullarındaki değişikliğe bağlı olarak, birçok hastalığa karşı direnç azalmış ve bu durumun bir sonucu olarak tedavi amaçlı antibiyotik kullanımı artmıştır. Antibiyotiklerin kullanımı hayvan ve bitki hastalıkları ile mücadelede, hayvansal gıda üretiminde, enfeksiyona karşı koruma ve gelişimlerini destekleyip verimliliği artırma amaçlı kullanılmaktadır (Barton 2000; Singer ve ark., 2003; Ammor ve ark., 2007). Makrolidler (bitkilerde, özellikle küf mantarlarında bulunan veya sentezle elde edilen, birçok mikroba karşı kullanılan, penisilin, streptomisin vb. maddelerin ortak adı) başta olmak üzere birçok antibiyotik çeşidi tıpta hastalıkların tedavisinde kanıtlanmış yararlarından dolayı kullanılmaktadır (Bailey et al. 2008)

Antibiyotikler etki mekanizmalarına, etki ettikleri mikroorganizma grubuna, etki spektrumuna, hedef hücreye etkilerine ve bağışıklık sistemine etkilerine göre 5 ana grupta incelenebilmektedir (Sáenz ve ark., 2001, Wegener 2003, Erol 2007, Kohenski ve ark., 2007).

### **1.2.1.1. Hedef hücreye etkilerine göre antibiyotikler**

Antibiyotikler, hedef hücreye etkilerine göre bakteriyostatik ve bakteriyositik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Bakteriyositik etki gösteren antibiyotikler (örn., penisilinler, aminoglikozidler, vankomisin, rifampisin), bakterilerin yıkımlanmasını sağlamak amacıyla kullanılmakta olup bakteriyostatik grupta yer alan antibiyotikler (örn., tetrasiklinler, kloramfenikol, eritromisin) ise ribozom aktivitesini engelleyerek bakterilerin üremesini inhibe etme ve/veya durdurma etkisini göstermektedirler. (Pankey ve Sabath 2004, Kohenski ve ark., 2007; Anonim, 2016).

### **1.2.1.2. Etki Mekanizmalarına Göre Antibiyotikler**

Antibiyotikler etki mekanizmalarına göre hücre duvarı sentezini inhibe edenler, protein-DNA-RNA sentezini inhibe edenler, para amino benzoik asit sentezini inhibe edenler ve membran geçirgenliği durduranlar olmak üzere 4 grupta incelenmektedir. Çizelge 1.1.'de etki mekanizmalarına göre antibiyotik grupları gösterilmektedir (Mc Dermott ve ark., 2002, Alanis 2005).

Çizelge 1.1. Etki mekanizmalarına göre antibiyotiklerin sınıflandırılması

| <b>Antibiyotik Grubu</b>                              | <b>Antibiyotik İsmi</b>  |
|---|--|
| <b>Hücre Duvarı Sentezi İnhibisyonu</b>               |  |
| Penisilinler  | Amoksisilin, amfisilin, kloksasilin, mezlosilin, oksasilin, penisilin G, piperasilin, tikarsilin     |
| Sefalosporinler                                       | Sefadroksil, sefalekssin, sefazolin, sefiksim, sefoperazon, seftazidim, seftriakson, sefuroksim      |
| $\beta$ -Laktam inhibitörleri                         | Amoksisilin-klavulanik asit, amfisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, tikarsilin-klavulanik asit |
| Glikopeptidler  | Teikoplanin, vankomisin  |
| Diğer antibiyotikler                                  | İmipenem, basitrasin   |
| <b>Protein Sentezi İnhibisyonu</b>                    |  |
| Tetrasiklinler  | Doksisiklin, minosiklin, tetrasiklin   |
| Aminoglikozidler                                      | Gentamisin, neomisin, streptomisin, gentamisin, kanamisin, amikasin                                  |
| Linkozamidler   | Klindamisin, linkomisin  |
| Diğer antibiyotikler                                  | Kloramfenikol, siprofloksasin, siprofloksasin,   |
| <b>Nükleik Asit Sentezinin İnhibisyonu</b>            |  |
| Rifamisinler  | Rifampisin   |
| Yeni Kinolonlar                                       | Enoksasin, ofloksasin, pefloksasin   |
| <b>Para Amino Benzoik Asit Sentezinin İnhibisyonu</b> |  |
| Sülfanomitler   | Trimethoprim   |
| <b>Membran Geçirgenliğinin İnhibisyonu</b>            |  |
| Polimiksinler   | Kolistin, polimiksin-B   |

### **1.2.1.3. Etki Spektrumuna göre antibiyotikler**

Antibiyotiğe duyarlı bakteri türlerinin tamamına o antibiyotiğin etki spektrumu adı verilir. Etki spektrumuna göre antibiyotikler; dar spektrumlu (makrolidler, polimiksin), orta derecede geniş spektrumlu (sulfonamidler, aminoglikozidler, B- laktamlar), geniş spektrumlu (kloramfenikol, tetrasiklinler) olarak üç gruba ayrılmaktadırlar (Anonim, 2016).

### **1.2.1.4. Etki ettikleri mikroorganizma grubuna göre antibiyotikler**

Antibiyotikler etki ettikleri mikroorganizma grubuna göre antibakteriyel, antiviral, antifungal, antiparaziter, antimikobakteriyel olarak beş grupta incelenirler (Anonim, 2016).

### **1.2.1.5. İmmunmodülatör etkilerine göre antibiyotikler**

Antibiyotikler immünmodülatör etkilerine göre, konak immün savunmasına belirgin etkileri olmayanlar (B- laktamlar, vankomisin), immün sistemle sinerjik davrananlar (Kinolonlar), immün fonksiyonları deprese edenler (Tetrasiklinler, kloramfenikol), immün fonksiyonları şiddetlendirenler (Sefozidim) dört gruba ayrılmaktadır (Anonim, 2016).

## **1.2.2. Bakterilerin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları**

Direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneği olarak tanımlanabilir (Durupınar, 2001).

Modern tıpta, bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmada antibiyotikler başta gelir. Fakat son zamanlarda direnç gelişimi endişe verici bir hızla artmaktadır. Antibiyotik direnci dünyanın her yerinde halk sağlığı problemlerinin başında gelmekte ve sağlık ve araştırma uzmanlarının ilgi odağı olmaktadır. En önemli problem patojen bakterilerin antibiyotik direnç ve potansiyel direnç genlerinin artmasıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar kısa dönem antibiyotik kullanımının bile insan bağırsağında uzun yıllar direnç oluşumuna neden olabileceğini ortaya koymaktadır (Lo'fmark ve ark., 2006; Jernberg ve ark., 2007; Jacobson ark., 2010).

Bazı bakteri türlerinin, genetik özelliği açısından antibiyotiğin hedefi olan yapıyı içermediği, ya da antibiyotiğin hedefe ulaşmasını engelleyecek ve antibiyotiği inaktive edecek enzimler taşıdığından dolayı o antibiyotiğe karşı dirençli olabilmektedir. Bu nedenle duyarlılık test sonuçları mutlaka identifikasyon sonuçlarıyla beraber

değerlendirilmektedir (Ammor ve ark., 2007). Ayrıca organizmaya alınan antibiyotik miktarı ile direnç mekanizması arasında yakın bir ilişki vardır (Singer ve ark., 2003; Korhonen, 2010).

Yapılan bazı araştırmalarla, antibiyotik direnç genlerinin artış nedenine gıdaların aracılık yaptığı düşünülmektedir (Kushiro, 2009).

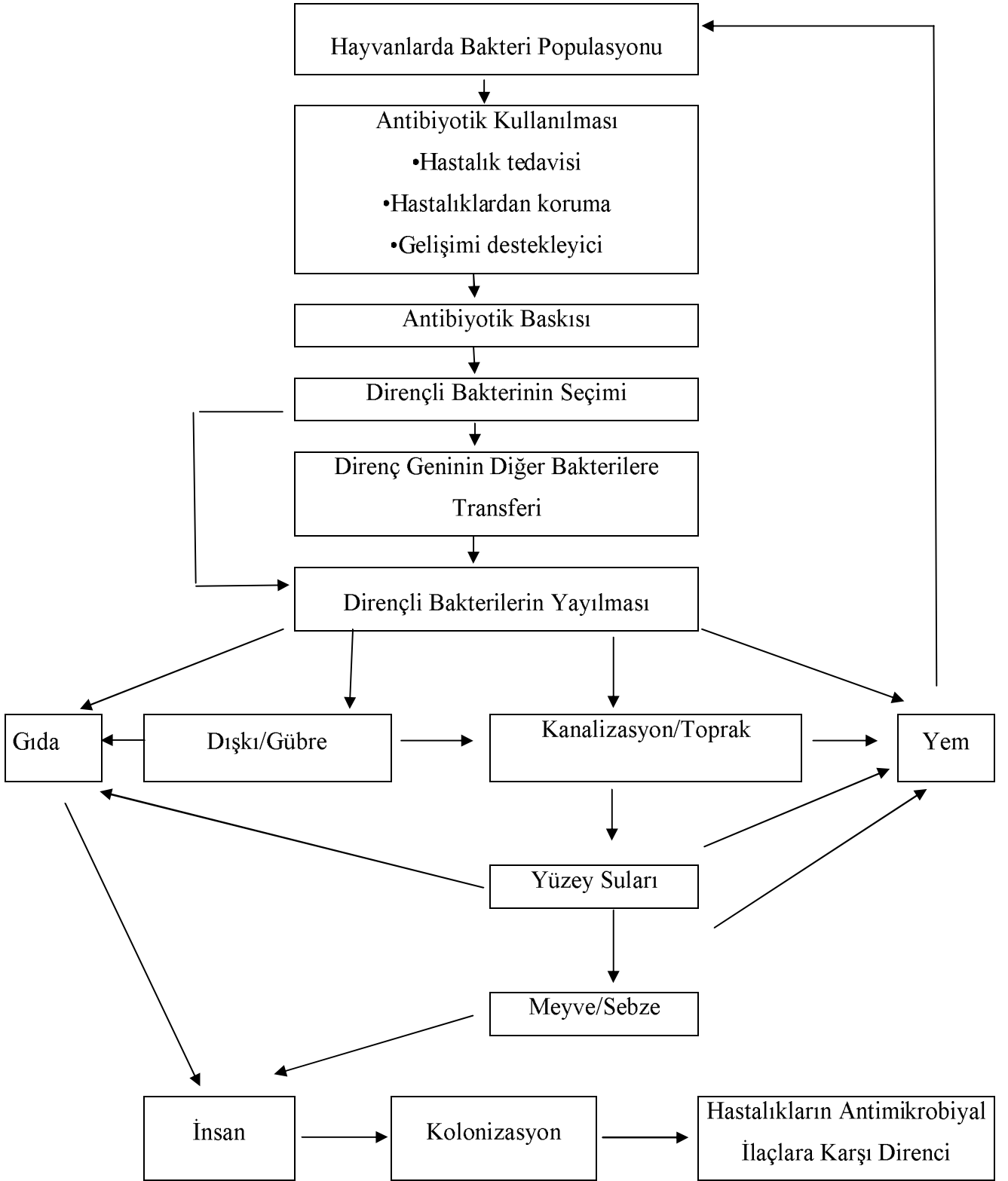
Ayrıca tarım ve hayvancılıkta antimikrobiyel maddelerin aşırı kullanımı (Teale, 2002; Egervarn ve ark., 2010), ilaç uygulamadan sonra önerilen bekleme süresine uyulmaması, ilaçlı yemlerin fazla miktarda ve sıkça kullanılması, tedavi kayıtlarının iyi tutulmaması, yem fabrikalarının yemlerdeki karıştırma ve ambalaj hataları, farklı yemlerin koyulduğu depoların kirli olması, önceden antibiyotik kalıntısıyla kontamine olmuş alet ekipmanının kullanılması, tedavinin yetkisi olmayan kişilerce yapılması durumunda sütte antibiyotik kalıntılarının oluşuma bağlı olarak gıda zincirinde dirençli bakterilerin bulunmasının (Bakırcı ve Akyüz, 1996; Avcı, 2010), antibiyotik dirençli mikroorganizmaların gıda üretim sürecinde sürekli büyüyen bir tehdit haline gelmekte olduğu (Doyle ark., 2013) ve gıda zinciri aracılığı ile insanları da etkileyebileceği tahmin edilmektedir (Peters ve ark., 2003).

Dünya çapında gittikçe büyüyen bir sorun haline gelmekte olan hem insan hem de hayvan tedavisinde antibiyotiğin yaygın kullanımı sonucu gıda yoluyla antimikrobiyal direnç kazanına yol açan gıda kaynaklı patojenlerin gelişimi üzerine geniş ölçüde çalışmalar yapılmaktadır (Zhao ark., 2006; Rahimi ark., 2010; Gousia ark., 2011).

Son 60 yılda 10 milyon ton antibiyotiğin biyosfere yayıldığı tahmin edilmektedir (European Commission, 2005).

Patojen bakterilerde direnç gelişimine antimikrobiyel maddelerin gereksiz ve hatalı şekilde kullanımının neden olmasının yanı sıra (Demirtürk ve Demirdal, 2004; Mathur ve Rameshwar, 2005) bakterilerinin olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürmek için kullandığı savunma mekanizmasının da direnç gelişimine etkili olduğu belirtilmektedir (Yüce, 2001; Andersson ve Hughes, 2010).

Antibiyotiğe dirençli bakterilerin hayvanlardan insanlara muhtemel geçiş rotaları **Şekil 1.1.**' de gösterilmiştir. Süreçte olabilecek yetersiz ısıtma işlemi, fekal veya çapraz kontaminasyon gibi hatalar sonucu, gıdanın tüketimi ile dirençli bakteri sindirim kanalında çoğalabilir (Singer ve ark., 2003; Duskova ve Karpiskova, 2013).



Şekil 1.1. Antibiyotiğe dirençli bakterilerin hayvanlardan insanlara muhtemel geçiş yolları (Korhonen 2010).

### **1.2.3. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Profili**

Bakteriler direnç unsurlarını paylaşmak ve yaymak için karmaşık mekanizmalar kullanmakta, yatay gen transferindeki mekanizmaların, konjugasyon, transformasyon ve bakteriofajlar ile gerçekleşen transdüksiyon olduğu belirtilmektedir (Aleksun ve Levy, 2007; Egervarn, 2009).

Antibiyotik dirençlilik genlerinin, yatay gen transfer mekanizması ile taşınması patojen bakteriler ve ticari kültürler arasında görülmesinin yanı sıra, starter ve probiyotikleri içeren yararlı bakteriler arasında da gözlenmektedir (Sharma ve ark., 2014).

Uzun zaman boyunca probiyotiklerin antibiyotik direnci gibi kötü özellikleri taşımadıkları düşünülmüş, fakat mikrobiyel genom dizilim çalışmaları, birçok antibiyotik direnç geninin, çeşitli LAB'lerin kromozomlarına entegre olduklarını ortaya koymaktadır (Makarova ve ark., 2006; Ammor ve ark., 2008, Sharma ve ark., 2014).

Son zamanlarda patojen bakterilerin yanı sıra LAB gibi kommensal bakterilerin de, patojenler için direnç genlerinin rezervuarındaki rolünü inceleyen birçok çalışma yapılmaktadır (Lukasova ve Sustackova, 2003; Salyers ark., 2004; Toomey ark., 2010), LAB patojen özellik göstermez, ama antibiyotik direnç genlerini patojen bakterilere transfer ederek insan ve hayvanlarda sağlık sorunlarına neden olabilir (Hereros ve ark., 2005).

LAB'nin antibiyotik direnci ancak son yılda araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir (Belletti ark., 2009).

LAB arasında doğal (fenotipik, içgüdüsel, doğuştan), kazanılmış ve mutasyonel olmak üzere üç tip direnç tanımlanmaktadır (Sharma ve ark., 2014).

#### **1.2.3.1. Doğal (Fenotipik) direnç**

Bu direnç mikroorganizma cinsi veya türünün antimikrobiyel maddeleri algılaması durumunda dayanabilme kabiliyetidir ve mikroorganizmanın kalıtsal karakterinden kaynaklanmaktadır. (Mathur ve Singh, 2005). İlacın hedefi olan yapıyı taşınamalarının veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşamamasının bir sonucu olarak mikroorganizmalar bu dirence sahip olabilmektedirler (Yüce, 2001). Bakterilerin verilen antibiyotiğe doğal direnç göstermesinde; enzimatik inaktivasyon, aktif pompa sistemi ve dış membran geçirgenliğinde değişim, bakterinin hedef bölgesinde değişim, hücre içi

metabolik düzenleme olmak üzere dört farklı mekanizma vardır (Meral ve Korukluođlu, 2014).

### **1.2.3.2. Kazanılmış direnç**

Bakteriler ‘Yatay Gen Transferi’ ile antibiyotik direnç kazanabilmekte, bakterinin sahip olduğu genetik materyal aynı türe ait başka bir bakteriye hatta farklı türdeki bakterilere bile taşınabilmektedir (Madhavan ve Sowmiya, 2011). Genetik kaynaklı direnç kromozomal veya kromozom dışı maddelere bağlı olabilmektedir. Kromozomal direncin, bakteri kromozomunda kendiliğinden oluşan (spontan) mutasyonlar sonucu ortaya çıkması, bakteri hücresinde yapısal değişimlere sebep olmakta, bundan dolayı hücrenin ilaca karşı geçirgenliği azalmakta veya hücre içinde ilacın hedefinde değişiklikler olmaktadır. Ekstrakromozomal direnci, çeşitli yollarla aktarılan plazmit, transpozon ve integron adı verilen genetik elemanlara bağlı olduğu bilinmektedir (Yüce, 2001, Shao ve ark., 2015).

Starter ve probiyotik özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde büyük öneme sahip olan LAB’nin, direnç genlerini taşımaları ilk aşamada istenilen bir özellik gibi dursa da bu genlerini patojenlere aktarabildiği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Gevers ve ark., 2003; Courvalin, 2006).

### **1.2.3.3. Mutasyon**

Mutasyonlar genomda bulunan birçok bölgede genetik değişikliklere neden olmalarına rağmen direnç gelişiminde sadece küçük bir rol oynamaktadırlar (Howden ve ark., 2006; Sharma ve ark., 2014).

### **1.2.4. Antibiyotik duyarlılık ve dirençliliğini belirlemede kullanılan disk difüzyon yöntemi ve moleküler-genotipik yöntemler**

Günümüzde bakterilerin antibiyotik duyarlılık ve dirençliliğini belirlemeye yönelik birçok analiz yöntemi uygulanmakta olup, her yöntemin kendine özgü bir değerlendirme sistemi bulunmaktadır. Antibiyotik duyarlılık ve dirençliliği belirlemede kullanılan yöntemler dilüsyon (örn., sıvı besiyeri ve katı besiyeri), disk difüzyon (örn., Kirby-Bauer), epsilometre (E-Test), otomatize, spesifik mekanizma testleri ve moleküler-genotipik yöntemler (örn., PCR, DNA hibridizasyon) olmak üzere 6 ana grupta incelenebilmektedir (Richter ve Ferrano, 2007; Jorgensen ve Ferrano, 2009).

Disk difüzyon yöntemi, temelde  $1-2 \times 10^8$  kob/g düzeyinde standardizasyonu yapılmış bakteri süspansiyonunun hazırlanan besiyere inkübasyonunun yapılması ve belirli konsantrasyonlarda antibiyotik türevi içeren disklerin belirli prosedürler çerçevesinde inkübasyonun gerçekleştirilmesi ve sonuçların değerlendirilmesi temeline dayanmaktadır (Jorgensen ve Turnidge, 2007; Anonim 2009).

Genotipik ve moleküler yöntemler, antibiyotik dirençlilik konusunda bakterinin sahip olduğu DNA, RNA gibi genetik materyallerde var olan türe özgü direnç genlerinin veya gen bölgelerinin tespit edilmesi amacıyla dayanmaktadır. Böylece plazmid, transpozon gibi farklı materyaller üzerinde karmaşık dirençlilik ajanları ve mekanizmalarının ortaya çıkarılabilmesi ve özelleştirilebilmesinin yanında bakteriler arasında dirençlilik materyallerinin sahip olduğu mutajenik özellikleri de ortaya çıkarılabilmektedir (Fluit ve Schmitz, 2001; Ledeböer ve Hodinka, 2011). Bu yöntemlerin başında tekli veya çoklu antibiyotik direnç genleri için türe özgü primerlerin çoğaltılmasını sağlayan PCR (Strommenger ark., 2003) ve real time PCR (Volkman ark., 2004) söylenebilir.

PCR tekniği, bir mikroorganizmaya ait genomik DNA' daki spesifik bölgelerin primerler aracılığı ile çoğaltılmasını (amplifikasyon) sağlayan basit ama çok başarılı bir *in vitro* DNA sentezi yöntemi olarak bilinmektedir (Berthier ve ark., 2001; Baruzzi ve ark., 2002; Bouton ve ark., 2002).

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlerinin Fenotipik Yöntemlerle Belirlesine Yönelik Yapılan Çalışmalar

Temmerman ve ark. (2003), tarafından Avrupa'da üretimi gerçekleştirilen toplam 55 probiyotik üründen izole edilen bazı bakterilerin antibiyotik direnci araştırılmış, disk difüzyon metodu kullanılarak 187 izolattan %79 kanamisine, %65 vankomisine, %26 tetrasikline %23 penisilin G' ye, %16 eritrosmisine ve %11 kloramfenikole dirençli bulunmuştur. Toplam izolatların %68.4'ü doğal direnç içeren çeşitli antibiyotiğe karşı direnç gösterdikleri tespit edilmiştir.

Aslım ve Beyatlı (2004), yoğurtlardan izole edilen *S. thermophilus* türlerinde plazmid taşıyıcılığı ve bu türlerin antibiyotik dirençlerini incelemişler ve *S. thermophilus*'un at suşların büyük bir çoğunluğunun gentamisine (%79) penisilin G'ye (%64) dirençli, kloramfenikole (%94) ve tetrasikline (%88) ise duyarlı olduklarını söylemişleridir.

Coppola ve ark. (2005), ve Zhou ve arkadaşları (2000) tarafından farklı zamanlarda yapılmış çalışmalarda laktobasillerin genellikle kloramfenikol, eritromisin, klindamisin ve tetrasiklin gibi protein sentezine engel olan antibiyotiklere karşı duyarlı oldukları aminoglikozidazlara (neomisin, kanamisin, streptomisin, tetrasiklin ve gentamisin) karşı dirençli oldukları tespit edilmiştir.

Mathur ve Singh (2005), tarafından yapılan çalışmada yoğurdun starter kültürlerinden *L. bulgaricus*'un 31 suşunun sulfonamides, sulfametozaksol, kolimksin, trihorpim, polimiksin B, neomisin nalidiksik asid, mikosatin'e karşı gerçek direnç gösterdikleri, streptomisin, oksasilin, oleandomisin, novabiosin, furadantin ve kloksasiline karşı önemli derecede duyarlı oldukları, kanamisin ve streptomisin duyarlılıklarının suşlara göre değişkenlik gösterdiklerini, *L. plantarum*, *L. vasei*, *L. salivarius*, *L. leismannii*, *L. acidophilus* gibi çoğu türün vankomisine karşı direnç taşıdıkları belirtilmiştir.

Hummel ve ark. (2007), LAB'nin antibiyotik dirençliliği üzerine yaptıkları araştırmada, 40'ı fermente gıdalarda starter kültür olarak kullanılan, 3'ü probiyotik 2' si ise ticari olarak kullanılan türlerden seçilen *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* cinslerine ait toplam 45 izolat üzerinde çalışmışlardır.

Sonuç olarak, suşların eritromisin, kloramfenikol, tetrasiklin ya da  $\beta$ -laktamaz dirençlerinin %7 gibi çok düşük oranda, aminoglikosid (gentamisin ve streptomisin) ve siprofloksasin dirençlerinin ise %70 gibi yüksek oranda direnç oluşturduğunu bulmuşlardır.

Rosaria ve ark. (2007), tarafından yoğurttan izole ettikleri *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait 21 türün antibiyotik dirençliliği üzerine bir çalışmada 24 çeşit antibiyotik kullanmışlardır. Sonuç olarak, suşların ampisilin, basitrasin, klindamisin, dikloksasilin, eritromisin, novamisin, penisilin G, rifampisin antibiyotiklerine karşı hassas; aztreonam, kanamisin, nalidiksik asit, cefalotin, kloramfenikol, gentamisin, linkomisin, metronidazole, neomisin, paromomisin, streptomisin, tetrasiklin ve vankomisin gibi antibiyotiklere karşı dirençli oldukları bulunmuştur.

Korhonen ve ark. (2008), tarafından tetrasiklin direncinin *Lactobacillus* türleri arasında sık görüldüğü bu direncin geniş aralıklı minimum inhibitör konsantrasyonuna sahip olduğu saptanmıştır.

Nawaz ve ark. (2011), fermente gıdalardan elde edilen LAB'nin fenotipik ve genotipik dirençlerini araştırmışlar ve tüm suşların ampisilin, basitrasin ve sefsulodin'e duyarlı; nalidiksik asit, kanamisin ve vankomisine ise doğal olarak dirençli olduklarını bulmuşlardır.

## **2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlerinin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesine Yönelik Yapılan Çalışmalar**

Pan ve ark. (2011), 11 adet Çin fermente gıdasından LAB izolasyonu yaparak klinik açıdan önemli yedi antibiyotiğe (kloramfenikol, kanamisin, tetrasiklin, siprofloksasin, ampisilin, klindamisin ve eritromisin) dirençlerini tespit etmeye yönelik yaptıkları çalışmada, antibiyotiğe dirençli 202 LAB izolatu içinde 14' nün 7 antibiyotiğe karşı minimum inhibisyon konsantrasyonlarını araştırmışlardır. Birden çok direnç gözlenen bu 14 suшта PCR yöntemi ile *tet* (M) ve *erm* (B) genlerinin her ikisinde plazmidik ya da kromozomalken, *aph* (A3) geni sadece plazmidik, *mef* (A) geni ise sadece kromozomal olarak bulmuşlardır.

Nawaz ve ark. (2011), tarafından Çin Xi' da fermente gıdalardan izole ettikleri LAB' nde fenotipik ve moleküler analizlerle antibiyotik dirençlilik analizi yapılmıştır. Bütün suşlar ampisilin, basitrasin ve sefsulodine duyarlı ve nalidiksik asit, kanamisin ve vankomisine (*L. bulgaricus*, *L. acidophilus* ve *S. thermophilus* dışındakiler) karşı doğal

dirençli olduğu saptanmıştır. *Erm* (B) geni varlığı *L. fermentum*, *L. vaginalis*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. animalis* ve *S. thermophilus* suşlarının her birinde gözlenmiş, *tet* geni geleneksel gıdalardaki 12 laktobasil suşunda bulunmuştur.

Adimpong ve ark. (2012), tarafından yapılan çalışmada, daha önceden Afrika'daki üç farklı fermente gıda ürününden izole edilen 33 LAB izolatlarının broth dilisyon yöntemi ile antibiyotik dirençlilik profilleri çıkartılmıştır. Bu bakterilerin ampisilin, kloramfenikol, klindamisin ve eritromisine duyarlı olmasının fakat vankomisin, kanamisin ve streptomisine dirençli oldukları belirlenmiştir. Tetrasiklin ve gentamisin antibiyotiklerine duyarlılıkları türe bağlı değişkenlik gözlenmiştir. *Lb. plantarum*, *Lb. salivarius*, *W. confusa* (SK9-5 suşu hariç) ve *Lb. fermentum* suşları tetrasikline duyarlıyken, *Pediococcus* ve *Lb. ghanensis* suşları dirençli bulunmuştur.

Thumu ve Halami (2012), farklı gıda örneklerinden eritromisine dirençli LAB'leri seçici besiyeri kullanarak izole edilen 60 izolatın %88' in de *erm* (B) geni tespit etmişlerdir. *Lactobacillus* türlerinde tetrasiklin direnci *tet* (M), *tet* (W), *tet* (O), *tet* (K) ve *tet* (L) genlerinin biri ya da bunların kombinasyonu ile oluştuklarını belirtmişleridir.

Zhou ve ark. (2012), tarafından yapılan çalışmada Çin'de farklı coğrafyalardan alınan yoğurtlardan, ampisilin, penisilin G, roksitromisin, kloramfenikol, tetrasiklin, klortetrasiklin, linkomisin, kanamisin, streptomisin, neomisin ve gentamisine duyarlı 43 LAB izole edilmiştir (18 *L. bulgaricus* ve 25 *S. thermophilus*). Antibiyotik dirençliliği test edilen bakterilerden 35 suşta ampisilin, kloramfenikol, klortetrasiklin, tetrasiklin, linkomisin, streptomisin, neomisin ve gentamisin direnci tespit edilmiştir. Test edilen bütün *S. thermophilus* suşlarının penisilin G ve roksitromisine duyarlı olduğu bulunmuş, buna karşın *L. bulgaricus* suşlarının penisilin G ve roksitromisine sırasıyla % 23,5 ve % 64,7 oranında dirençli olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bütün *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* suşları kanamisine dirençli olduğu görülmüştür. PCR yöntemi ile aranan direnç genleri sonucunda, 1 *L. bulgaricus* ve 2 *S. thermophilus* izolatında *tet* (M), 2 *L. bulgaricus* ve 2 *S. thermophilus* izolatında *ant* (6), 5 *L. bulgaricus* ve 2 *S. thermophilus* izolatında *aph* (3')-IIIa genleri saptanmıştır. *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* suşlarında ilk kez *aph* (3')-IIIa ve *ant* (6) genlerine rastlanmıştır.

Özteber (2013), Aydın Merkez'de yer alan mandıralardan, marketlerden, halk pazarlarından ve ev yapımı şeklinde alınan fermente süt ürünlerinden 168 adet LAB izole etmiş ve izolatların antibiyotik dirençlilikleri fenotipik ve genotipik yöntemlerle

araştırmıştır. Yaptığı çalışmalar sonucunda LAB izolatlarında linkomisine (% 25,59), tetrasikline (% 19,04), meropeneme (% 16,66), ampisiline (% 16,16), gentamisine (% 7,14), eritromisine (% 5,35), siprofloksasine (% 5,35), kloramfenikole (% 4,16) ve vankomisine (% 3,06) karşı dirençli olduğunu tespit etmiştir. Antibiyotik direnç genlerini araştırmak için yaptığı PCR denemeleri sonucunda ise *erm* (B) (% 4,76), *erm* (C) (%0,59), *tet* (M) (%7,14), *tet* (L) (%2,38), *tet* (K) (%0,59), *aac* (6')-*aph* (2'') (%5,95) ve *van* (C) (%1,19) genleri bulmuştur.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Materyal örnekleri

Bu çalışmada 2006- 2008 yıllarında ülkemizin farklı ve bu illere bağlı bazı köylerden geleneksel olarak yoğurt yapan aile ve işletmelerden tesadüfi olarak toplanan yoğurt örneklerinden izolasyonu ve genetik tanımlaması yapılmış starter kültür olarak kullanılması uygun olan yoğurt örneklerinin izolasyon numaraları içerecek şekilde adlandırılmış % 30'luk gliserol çözeltisinde -80 °C' de saklanan bakteri stoklarından 5 adet *L.bulgaricus*, 68 adet *S. thermophilus* bakterilerine ait olmak üzere toplam 73 izolat canlandırılarak antibiyotik direnç özelliklerinin belirlenmesi için kullanılmıştır. *S. thermophilus* tek başına denendiğinde antibiyotiklere çok duyarlı bir bakteri olduğundan bir çok araştırmacı tarafından süt ürünlerinde antibiyotik duyarlılık belirleme amacıyla uygulanan çalışmalarda test mikroorganizması olarak kullanılmaktadır (Temiz, 1985).

Çalışmada kullanılan suşlar Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Laboratuvarı kültür stoklarından, temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan suşların içeriği ve temin edildikleri kaynaklar Çizelge 3. 1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Suşların içeriği ve temin edildikleri kaynaklar (Gezginç, 2010).

| İzolat Adı | Alındığı Tarih | Örnek Yeri                        |
|------------|----------------|-----------------------------------|
| YGSt 1     | Ocak 2008      | Kahramanmaraş (Elbistan)          |
| YGSt 3     | Temmuz 2006    | Kahramanmaraş (Fatmalı Köyü)      |
| YGSt 4     | Temmuz 2006    | Kahramanmaraş (Çakallı Hasan Ağa) |
| YGSt 5     | Temmuz 2006    | Kahramanmaraş (Çakallı Hasan Ağa) |
| YGSt 6     | Temmuz 2006    | Kahramanmaraş (Çakallı Hasan Ağa) |
| YGSt 7     | Temmuz 2006    | Kahramanmaraş (Çakallı Hasan Ağa) |
| YGSt 8     | Aralık 2007    | Elazığ (Altınçevre)               |
| YGSt 12    | Aralık 2007    | Malatya (Sürgü)                   |
| YGSt 13    | Aralık 2007    | Ankara (Gölbaşı)                  |
| YGSt 14    | Ağustos 2006   | Kahramanmaraş (Göksun 1)          |

Çizelge 3.1. Suşların içeriği ve temin edildikleri kaynaklar (Devamı)

|         |              |                                     |
|---------|--------------|-------------------------------------|
| YGSt 15 | Ağustos 2006 | Kahramanmaraş (Göksun 2)            |
| YGSt 16 | Ağustos 2006 | Kahramanmaraş (Güzelyurt)           |
| YGSt 17 | Ağustos 2006 | Kahramanmaraş (Döngöle 1)           |
| YGSt 18 | Haziran 2007 | Kahramanmaraş (Bulanık 1)           |
| YGSt 19 | Haziran 2007 | Kahramanmaraş (Ferhuğ)              |
| YGSt 20 | Haziran 2007 | Kahramanmaraş (Bertiz)              |
| YGSt 21 | Haziran 2007 | Kahramanmaraş (Bulanık 2)           |
| YGSt 22 | Haziran 2007 | Kahramanmaraş (H. Mustafa Çiftliği) |
| YGSt 24 | Temmuz 2006  | Kahramanmaraş (Türkoğlu 1)          |
| YGSt 25 | Temmuz 2007  | Kahramanmaraş (Ayvalar 1)           |
| YGSt 26 | Temmuz 2007  | Kahramanmaraş (Ayvalar 2)           |
| YGSt 27 | Temmuz 2007  | Kahramanmaraş (Önsen)               |
| YGSt 28 | Ağustos 2006 | Kahramanmaraş (Göksun 3)            |
| YGSt 29 | Ağustos 2006 | Kahramanmaraş (Göksun 4)            |
| YGSt 33 | Aralık 2007  | Kahramanmaraş (Türkoğlu 3)          |
| YGSt 34 | Ocak 2008    | Kahramanmaraş (Çağlayancerit 1)     |
| YGSt 35 | Ocak 2008    | Kahramanmaraş (Çağlayancerit 2)     |
| YGSt 36 | Ocak 2008    | Kahramanmaraş (Kürtül)              |
| YGSt 37 | Ocak 2008    | Kahramanmaraş (Türkoğlu 4)          |
| YGSt 41 | Mart 2008    | Kırıkkale                           |
| YGSt 42 | Mart 2008    | Kırıkkale (Hasandede)               |
| YGSt 43 | Mart 2008    | Kırşehir (Kaman)                    |
| YGSt 44 | Mart 2008    | Akpınar (Kırşehir)                  |
| YGSt 45 | Mart 2008    | Kayseri (Sarız)                     |
| YGSt 46 | Mart 2008    | Kırıkkale (Keskin)                  |
| YGSt 47 | Mart 2008    | Kayseri (Pınarbaşı )                |
| YGSt 48 | Mart 2008    | Kırşehir 1                          |
| YGSt 49 | Mart 2008    | Kırşehir 2                          |
| YGSt 50 | Mart 2008    | Adapazarı (Akyazı)                  |
| YGSt 53 | Nisan 2008   | Hatay 1                             |
| YGSt 54 | Nisan 2008   | Hatay 2                             |

Çizelge 3.1. Suşların içeriği ve temin edildikleri kaynaklar (Devamı)

|         |              |                                |
|---------|--------------|--------------------------------|
| YGSt 55 | Nisan 2008   | Hatay 3                        |
| YGSt 56 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Döngöle 3)      |
| YGSt 58 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Saygılı)        |
| YGSt 59 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Elmalar)        |
| YGSt 60 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Muratlı)        |
| YGSt 61 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Kumarlı)        |
| YGSt 63 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Kerimli)        |
| YGSt 64 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Çevrepınar)     |
| YGSt 66 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Çağlayan)       |
| YGSt 68 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Mimarsinan)     |
| YGSt 69 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Döngöle 4)      |
| YGSt 70 | Nisan 2008   | Kahramanmaraş (Döngöle 5)      |
| YGSt 71 | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Gaybi köyü 1)    |
| YGSt 72 | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Büyükdede 1)     |
| YGLb 73 | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Büyükdede 1)     |
| YGSt 74 | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Gaybi köyü 2)    |
| YGSt 75 | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Gaybi köyü 3)    |
| YGLb 76 | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Gaybi Köyü 3)    |
| YGSt 77 | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Büyükdede 2)     |
| YGSt 78 | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Gaybi köyü 4)    |
| YGLb 79 | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Gaybi köyü 4)    |
| YGS 80  | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Gaybi köyü 5)    |
| YGSt 81 | Nisan 2008   | Konya (Ereğli Gaybi köyü 6)    |
| YGLb 86 | Mayıs 2008   | Kütahya 3                      |
| YGLb 87 | Mayıs 2008   | Kütahya 4                      |
| YGSt 88 | Temmuz 2008  | Kahramanmaraş (Dereli köyü)    |
| YGSt 90 | Temmuz 2008  | Kahramanmaraş (Gedemenli köyü) |
| YGSt 91 | Temmuz 2008  | Elazığ (Kuyulu köyü)           |
| YGLb 92 | Temmuz 2008  | Elazığ (Kuyulu köyü)           |
| YGSt 93 | Ağustos 2008 | Giresun                        |
| YGSt 95 | Ağustos 2008 | Konya                          |

Çizelge 3.1. Suşların içeriği ve temin edildikleri kaynaklar (Devamı)

|          |              |                               |
|----------|--------------|-------------------------------|
| YGSt 97  | Ağustos 2008 | Kahramanmaraş (İnceler)       |
| YGSt 99  | Ağustos 2008 | Kahramanmaraş (Döngüle 6)     |
| YGSt 100 | Ağustos 2008 | Kahramanmaraş (Büyüksır köyü) |

### 3.1.2. Kimyasallar

Tez çalışması Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Laboratuvarlarında ve Üniversite Sanayi Kurumu İşbirliği Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (ÜSKİM) Laboratuvarlarında yapılmıştır. Çalışmanın temel kimyasalları farklı firma belirtilmedikçe, Merck (Almanya) ve Sigma (Almanya) grubundan; moleküler biyoloji sarf malzemeleri Solis BioDyne (Estonya) ve Vivantis'ten (Malezya) temin edilmiştir.

### 3.1.3. Bakteri türleri için kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları

Araştırmada örneklerde bulunan mikroorganizmaları canlandırma saflaştırma ve antibiyotik dirençliliklerini belirleme amacıyla kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları Çizelge 3.1.' de; besi ortamlarının kimyasal kompozisyonları ise Çizelge 3.2' de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan besiyerleri

| Besiyerleri       | Kullanım Amacı                                       | İnkübasyon koşulları        |
|-------------------|--|-----------------------------|
| MRS agar- Merck   | <i>L. bulgaricus</i> suşlarını stoktan canlandırma   | 37 °C 'de, 48 saat, anaerob |
| SM17 Agar- Merck  | <i>S. thermophilus</i> suşlarını stoktan canlandırma | 42 °C 'de, 24 saat, aerob   |
| MRS Broth -Merck  | Kültürlerin aktivasyonu ve antibiyogramı             | 37 °C 'de, 48 saat, anaerob |
| SM17 Broth- Merck | Kültürlerin aktivasyonu ve antibiyogramı             | 42 °C 'de, 24 saat, aerob   |

Çizelge 3.2. *S. thermophilus* türleri ve *L. bulgaricus* türleri için kullanılan M17 ve MRS besi ortamlarının kompozisyonu

| <b>M17 broth (Merck)</b> | <b>Kimyasallar</b>        | <b>Miktar (g/L)</b> |
|--------------------------|---------------------------|---------------------|
|                          | Bacto tripton             | 5                   |
|                          | Bacto soyton              | 5                   |
|                          | Et özütü                  | 5                   |
|                          | Maya özütü                | 2.50                |
|                          | Askorbik asit             | 0.50                |
|                          | Magnezyum sülfat          | 0.25                |
| <b>MRS Broth(Merck)</b>  |                           |                     |
|                          | Pepton                    | 10                  |
|                          | Et özütü                  | 8                   |
|                          | Maya özütü                | 4                   |
|                          | Glikoz                    | 20                  |
|                          | Potasyum hidrojen fosfat  | 2                   |
|                          | Diamonyum hidrojen fosfat | 2                   |
|                          | Sodyum asetat             | 5                   |
|                          | Magnezyum sülfat          | 0.2                 |
|                          | Mangan sülfat             | 0.04                |

Sıvı SM17 besi ortamı, hazır olarak alınan M17'ye % 1 (w/v) sukroz ilave (SM17) edilerek hazır hale getirilmiştir. Katı SM17 hazırlamak için SM17 besi ortamına % 1.5 (w/v) agar eklenmiştir. MRS besi ortamı ise; MRS agar hazırlamak için de MRS broth besi ortamına % 1.5 (w/v) agar eklenmiştir. SM17 ve MRS besiyerleri otoklav ile 121 °C' de 15 dakika sterilize edilmiştir.

#### **3.1.4. Antibiyotik diskler**

Geleneksel süt ürünlerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlerini belirlemek amacıyla, vankomisin (30 mcg), kloramfenikol (30 mcg), streptomisin (10 mcg), rifampisin (5 mcg), tetrasiklin (30 µg), kanamisin (2 mcg), ampisilin (10 mcg), gentamisin (10 mcg) ve penisilin (10 U) antibiyogram diskleri (bioanalyse) kullanılmıştır. Ayrıca antibiyotik direnç testleri için MRS agar (Merck) ve sukrozlu M17 agar (Merck) besiyerleri kullanılmıştır.

### 3.1.5. DNA izolasyon kitleri

Çalışmada kullanılacak saflaştırılmış bakteri izolatlarının genomik DNA izolasyonları için Vivantis GF-1 Bacterial DNA Extraction Kitleri kullanılmıştır.

## 3.2. METOT

### 3.2.1. Bakteri Stoklarının Canlandırılması

Araştırmada LAB bakteri olarak *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* cinsine dahil olan bazı türler kullanılmıştır. Kültürler uygun besiyerlerine inoküle edilerek, uygun sıcaklıkta 37 ve 42° C derecelerde 24 - 48 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. İnkübe edilen kültürlerden koloniler seçilerek saflaştırılmıştır

### 3.2.2. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin fenotipik olarak belirlenmesi

Geleneksel süt ürünlerinden izole edilen LAB'lerin antibiyotiklere karşı direncini saptamak için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Gülay, 2003; Mayrhofer ve ark., 2008).

LAB suşları, aktive edildikten sonra (*L. bulgaricus* MRS broth, *S. thermophilus* sukrozlu M17 broth'da) antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek amacıyla, Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile CLSI yöntemi dikkate alınarak, dokuz farklı antibiyotiğe ait [vankomisin (30 mcg), kloramfenikol (30 mcg), streptomisin (10 mcg), rifampisin (5 mcg), tetrasiklin (30 µg), kanamisin (2 mcg), ampicilin (10 mcg), gentamisin (10 mcg) ve penisilin (10 U)] kağıt diskleri kullanılmıştır. Çalışmalar iki paralel olarak yürütülmüş ve sonuçlar ortalama değerler olarak alınmıştır.

Antibiyotik direnç testi uygulanacak suşlar, 10 ml' lik MRS agar ve SM17 agar besi ortamları otoklavda sterilize edildikten sonra 50 °C' ye kadar soğutulmuş ve OD<sub>600</sub> = 1.5 olacak şekilde bir gece büyütülmüş bakteri kültüründen inokülasyon yapılarak homojen dağılımı sağlamak için karıştırılmış, petrilere dökülmüştür (Anonim, 1999). Katılaştıran agar üzerine bir tanesi kontrol olmak üzere 5 adet kağıt diskler yerleştirilmiştir. 24 saatlik 37 °C ve 42 °C'lerde inkübasyonu takiben antibiyotik diskleri etrafında oluşan inhibisyon zon çapları elektronik kumpas yardımıyla tespit edilmiştir. İnkübasyonun ardından oluşan inhibisyon zonlarının çapları milimetrik olarak ölçülmüştür (Çetin ve Güller, 1989).

### 3.2.3. Laktik Asit Bakterilerinden DNA İzolasyonu

Öncelikle izolatların, MRS (*L. bulgaricus*) ve SM17 (*S. thermophilus*) agar ortamında 37 ve 42°C'lerde 48 saatlik kültürleri hazırlanmıştır. Bu kültürlerden, steril plastik öze yardımıyla koloni alınarak MRS/ SM17 5 mL'lik sıvı besiyerlerine inoküle edilip saflaştırma yapılmıştır. Tek koloni sıvı besiyerleri 3500 rpm' de 10 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı atılmış ve tüplerdeki pellet üzerine 2'şer ml steril distile su eklenip 3500 rpm'de tekrar santrifüj edilmiştir.

İkinci kez tüplerdeki süpernatant kısmı atılmış ve pellet üzerine 100'er µL Buffer R1 eklenip süspansiyon edilmiştir. Daha sonra karışım steril eppendorf tüplerine aktarılmış, eppendorflara 20'şer µL lizozim çözeltisi (20 mg/mL) ilave edilip alt-üst edilerek karıştırılmış ve 37 °C su banyosunda 20 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 10000 rpm 3 dk santrifüj edildikten sonra eppendorflardaki süpernatant dökülmüştür. Pelletler 180'er µL Buffer R2 ve 20'şer µL Proteinaz K karışımı ile muamele edildikten sonra örnekler 60 °C su banyosunda 20 dakika inkübe edilmiştir. Bu işlemin ardından eppendorflara 20'şer µL Ribonükleaz eklenerek 37 °C' su banyosunda 5 dakika daha inkübe edilmiştir.

İnkübasyonun ardından Buffer BG'den karışımların bulunduğu eppendorfların her birine 440 µL ilave edilip tüpler alt- üst edildikten sonra 65 °C su banyosunda 5 dakika inkübasyonu sağlanmıştır.

Tüplerdeki karışımlara 200'er µL % 100 'lük etanol eklenerek bekletilmeden alt-üst edilerek karıştırılmış, son aşamada DNA izolasyon hazır kitlerine eppendorflarda hazırlanan karışımlar ilave edilip 10000 rpm 1 dk santrifüj edilmiştir. Kitlerdeki süpernatant döküldükten sonra 40 mL %100'lük etanol eklenmiş yıkama suyundan 750'şer µL kitlere ilave edilmiş, 10000 rpm' de 1 dk daha santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant tekrar dökülmüş ve kurutma amaçlı 10000 devirde 1 dk daha tüpler santrifüj edilmiştir.

En son aşamada kitlerdeki filtreler, steril eppendorflara yerleştirilmiş ve 50'şer µL steril distile su filtreli eppendorflara eklenerek 10-15 dakika oda sıcaklığında DNA'nın çözünmesi için inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından filtreli eppendorf tüpleri 10000 rpm' de 2 dakika son kez santrifüj edilmiş daha sonra filtre atılarak Genomik DNA'lar kullanılabilecek kadar -20 °C'de steril eppendorflarda muhafaza edilmiştir.

İzole edilen DNA' lar antibiyotik direnç genlerinin taranmasında kullanılmıştır.

### 3.2.4. DNA'nın jel elektroforezi

İzole edilen genomik DNA ve PCR ürünleri %1' lik Agaroz jelde koşturulmuştur. Agaroz 1X TBE (90 mM Tris Base; 90mM Borik Asit; 2 mM EDTA; pH 8.0) tamponu içerisinde uygun konsantrasyonlarda eritilerek tanklara dökülmüştür. Analiz edilecek örneklerin uygun dilüsyonlarından genellikle 5 µL alınarak, 1 µL 6X yükleme ile karıştırılmıştır. DNA 100 baz çiftlik ya da 1000 baz çiftlik DNA markörleri (Vivantis) kullanılmıştır. Agaroz jel EtBr (0.5 µg/mL) ile 30 dakika boyanarak UV ışığında görüntülenmiştir.

### 3.2.5. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin genotipik olarak belirlenmesi

Çalışmamızda disk difüzyon yöntemiyle LAB izolatlarının direnç gösterdiği antibiyotik türleri saptanmış ve antibiyotik direnç genlerinin varlığı PCR yöntemiyle araştırılmıştır. PCR için kullanılan antibiyotik direnç primerleri, amplicon uzunlukları ve yapışma sıcaklıkları Çizelge 3.3.' de verilmiştir.

Çizelge 3.3. PCR işleminde kullanılan antibiyotik direnç primerleri, amplicon uzunlukları ve yapışma sıcaklıkları

| Antibiyotik                      | Primer Dizisi (5'→3')                            | Yapışma Sıcaklığı (°C) | Gen Amplifikasyonu (bp) | Referans                      |
|----------------------------------|--|------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Vankomisin<br><i>van (E)</i>     | F:TGTGGTATCGGAGCTGCAG<br>R:GTCGATTCTCGCTAATCC    | 52                     | 513                     | Fines ve ark.,<br>1999        |
| Streptomisin<br><i>str(B)</i>    | F:ATCGTCAAGGGATTGAAACC<br>R:GGATCGTAGAACATATTGGC | 56                     | 509                     | Ouoba ve ark.,<br>2008        |
| Penisilin<br><i>blaZ</i>         | F:CAGTTCACATGCCAAAGAG<br>R:TACACTCTTGCGGGTTTC    | 53                     | 772                     | Schnellmann ve<br>ark., 2006  |
| Kanamisin<br><i>aph(3')-IIIa</i> | F:GCCGATGTGGATTGCGAAAA<br>R:GCTTGATCCCCAGTAAGTCA | 60                     | 292                     | Rojo-berares ve<br>ark., 2006 |

Antibiyotik direnç genlerini aramada kullanılan PCR reaksiyon karışımı Çizelge 3.4.'de belirtilmiştir. PCR reaksiyonları 0.2 mL'lik tüplerde hazırlanarak her bir direnç geni için belirtilen PCR koşullarında muamele edilmiştir. PCR işleminde, 94°C DNA'nın denatürasyonu, değişken yapışma, 72°C de uzama sıcaklığı olarak ayarlanmıştır ve PCR 30 döngü olarak yapılmıştır.

Çizelge 3.4. Antibiyotik direnç genleri için kullanılan PCR reaksiyon karışımı

| <b>Reaktifler (Konsantrasyon)</b> | <b>Hacim</b> |
|-----------------------------------|--------------|
| 5X PCR reaksiyon miksi            | 4 µL         |
| Primer F                          | 1 µL         |
| Primer R                          | 1 µL         |
| DNA                               | 1 µL         |
| Steril distile su                 | 13 µL        |

PCR ürünlerinden, 5µL alınarak üzerine 1µL 6X yükleme tamponu eklenmiş ve örnekler, % 1'lik agoroz jelde, 120 volt, 60 miliamperde 45 – 60 dakika yürütülmüştür. Baz büyüklüğü tespiti için, 1 kb'lık ve 100 bp'lık markörler (Vivantis) kullanılmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Fermente gıda üretimi için başlangıç kültürü olarak kullanılan bakteriler, antibiyotik direnç geni içerebilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalar, tıbbi çalışmalarla ilgili bakteri türleri arasında antibiyotik dirençliliğin yayılması ve seçilmesi üzerine yoğunlaşmakla birlikte, antibiyotik direnç genlerinin gıda üretiminde kullanılan bakteriler üzerinde toplandığı da belirtilmektedir. Bu yüzden biyoteknolojik çalışmalarda kullanılan ve insan vücuduna fermente gıdalar yoluyla alınan bakteriler, antibiyotik dirençliliği konakçı ya da patojen bakterilere taşıyabilme risklerinden dolayı önemlidir. (Hummel ve ark., 2007b).

Bazı LAB türleri antibiyotiklere karşı dirençlilik özelliği göstermekte, bu özellik doğal olarak bulunabildiği gibi sonradan kazanılmış da olabilmektedir. Bununla birlikte, doğal olarak (kendiliğinden, spontan) antibiyotik dirençli suşlar, çeşitli antimikrobiyel etkilerin azalmış olması ya da sindirim sistemi mikroflorasının bozulması durumunda hastalar için yararlı olabilmektedir (Zhou ve ark., 2005).

Bu çalışmada yoğurt örneklerinden izole edilmiş ve genetik tanımlaması yapılmış % 30'luk gliserol çözeltisinde -80 °C' de saklanan bakteri stoklarından 5 adet *L. bulgaricus*, 68 adet *S. thermophilus* bakterilerine ait olmak üzere toplam 73 izolat canlandırılarak antibiyotik direnç özellikleri belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Daha sonra disk difüzyon yöntemi ile vankomisin (30 mcg), kloramfenikol (30 mcg), streptomisin (10 mcg), rifampisin (5 mcg), tetrasiklin (30 mcg), kanamisin (2 mcg), ampisilin (10 mcg), gentamisin (10 mcg) ve penisilin G (10 U) antibiyotiklerine karşı dirençlilikleri belirlenmiştir.

##### 4.1. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Duyarlılıklarının Disk Difüzyon Yöntemi İle Belirlenmesi

LAB'nin nükleik asit sentezini inhibe eden rifampisin, hücre duvarı sentezini inhibe eden penisilin, vankomisin ve ampisilin; protein sentezini inhibe eden tetrasiklin, streptomisin, gentamisin, kloramfenikol ve kanamisin antibiyotiklerine duyarlılıkları disk difüzyon yöntemine göre bölüm 3.2.2.' de anlatıldığı gibi belirlenmiştir. Antibiyotik duyarlılıkların saptanmasında Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI)

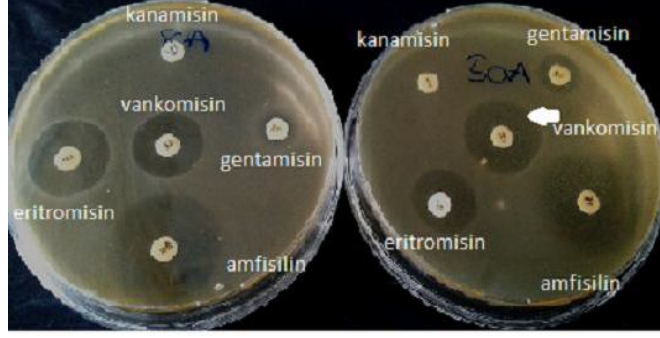
uygulanmış (Gülay, 2002) ve sonuçlar (Çizelge 4.2. ve Çizelge 4.3.) Çizelge 4.1.' e göre değerlendirilmiştir.

Bu bakterileri izolatlarının antibiyotiklere göstermiş oldukları yüzde duyarlılık oranları Çizelge 4.3.' te verilmiştir.

Araştırılan izolatlardan *S. thermophilus*'a ait olanların tümü tüm antibiyotiklere % 43 ile % 97 oranında yüksek duyarlılık gösterdikleri tespit edilmiştir. Rifampisin (%97), tetrasiklin (%97) ve penisilin (%97) antibiyotikleri en yüksek duyarlılık gösteren antibiyotikler olarak belirlenmiştir. Suşların kullanılan antibiyotiklerden kanamisin antibiyotiklerine genel olarak dirençli (%57) olduğu görülmüştür. *S. thermophilus*' un nükleik asit sentezini inhibe eden rifampisin (%3), hücre duvarı sentezini inhibe eden penisilin (%3), vankomisin (%7) ve amfisilin (%6) ve protein sentezini inhibe eden tetrasiklin (%3), streptomisin (%10), gentamisin (%18), kloramfenikol (%6) antibiyotiklerine düşük seviyede dirençli oldukları bulunmuştur. En yüksek dirençlilik protein sentezini inhibe eden kanamisin (%57) antibiyotiğine karşı tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.).

*S. thermophilus* suşlarının kanamisin ve gentamisin antibiyotik disklerine karşı gösterdiği dirençlilik; vankomisin, eritromisin ve amfisilin antibiyotik disklerine karşı oluşturduğu inhibisyon zonu Şekil 4.1.' de gösterilmiştir.

Araştırmadaki *L. bulgaricus* izolatlarının tümü vankomisine, streptomisine ve kanamisine dirençli bulunmuştur. Suşların tümünün tüm antibiyotiklere % 40 ile % 100 oranında dirençli oldukları saptanmıştır. Suşların kullanılan antibiyotiklerden amfisiline genel olarak duyarlı (%60) olduğu görülmüştür. Gentamisine (%20) düşük seviyede duyarlı oldukları görülmüştür. En yüksek dirençliliğin vankomisin (%100), streptomisin (%100) ve kanamisin (%100) antibiyotiklerine karşı olduğu belirlenmiş, en düşük dirençlilik % 40 oranında amfisilin antibiyotiğinde gözlenmiştir (Çizelge 4.5.).



Şekil 4.1. *Streptococcus thermophilus* izolatlarının antibiyotik direnç özelliklerinin disk difüzyon yöntemi ile belirlenmesi sonucu elde edilen zon görüntüleri.

Çizelge 4.1. CLSI kriterlerine göre antibiyotik duyarlılık-dirençliliğin değerlendirilmesi

| Antibiyotik  | Dirençli | Orta derecede duyarlı | Duyarlı |
|--------------|----------|-----------------------|---------|
| Streptomisin | ≤11      | 12-14                 | ≥15     |
| Vankomisin   | ≤14      | 15-16                 | ≥17     |
| Kanamisin    | ≤13      | 14-17                 | ≥18     |
| Penisilin G  | ≤19      | 20-27                 | ≥28     |

Çizelge 4.2. *S. thermophilus* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılık testleri

| İzolat No | Antibiyotikler |    |    |    |    |      |      |    |       |
|-----------|----------------|----|----|----|----|------|------|----|-------|
|           | RA             | C  | S  | TE | P  | VA30 | CN10 | K2 | AMP10 |
| YGSt1     | ++             | ++ | ++ | ++ | ++ | ++   | ++   | ++ | ++    |
| YGSt3     | ++             | ++ | ++ | ++ | ++ | ++   | ++   | ++ | ++    |
| YGSt4     | ++             | ++ | +  | ++ | ++ | ++   | ++   | ++ | ++    |
| YGSt5     | ++             | ++ | ++ | ++ | ++ | ++   | ++   | ++ | ++    |
| YGSt6     | ++             | ++ | +  | ++ | ++ | ++   | -    | -  | ++    |
| YGSt7     | ++             | ++ | ++ | ++ | ++ | ++   | ++   | +  | -     |
| YGSt8     | ++             | ++ | +  | ++ | +  | ++   | ++   | -  | ++    |
| YGSt12    | ++             | ++ | ++ | ++ | ++ | -    | ++   | ++ | ++    |
| YGSt13    | ++             | ++ | +  | ++ | ++ | ++   | -    | -  | ++    |
| YGSt14    | ++             | ++ | ++ | ++ | ++ | ++   | ++   | ++ | ++    |
| YGSt15    | ++             | ++ | ++ | ++ | ++ | ++   | -    | +  | ++    |

Çizelge 4.2. *S. thermophilus* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılık testleri (Devamı)

|        |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|--------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| YGSt16 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | +  | ++ |
| YGSt17 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt18 | ++ | ++ | ++ | ++ | +  | ++ | -  | -  | ++ |
| YGSt19 | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | +  | ++ |
| YGSt20 | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | -  | -  | ++ |
| YGSt21 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt22 | ++ | ++ | -  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt24 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt25 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt26 | ++ | ++ | -  | ++ | +  | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt27 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt28 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt29 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt33 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt34 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | -  | -  | -  |
| YGSt35 | ++ | ++ | -  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt36 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt37 | ++ | ++ | -  | ++ | ++ | ++ | -  | -  | ++ |
| YGSt41 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt42 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt43 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt45 | ++ | +  | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGS46  | ++ | -  | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt47 | ++ | -  | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt48 | +  | +  | +  | +  | ++ | -  | ++ | ++ | ++ |
| YGSt49 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt50 | ++ | ++ | -  | ++ | ++ | ++ | -  | -  | ++ |
| YGSt53 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | -  | ++ |
| YGS54  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt55 | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |

Çizelge 4.2. *S. thermophilus* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılık testleri (Devamı)

|         |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|---------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| YGSt56  | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | -  | -  | ++ |
| YGSt58  | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt59  | ++ | ++ | +  | ++ | +  | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt60  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt61  | ++ | ++ | +  | ++ | +  | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt63  | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt64  | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt66  | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt68  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt69  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt70  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt71  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt72  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt74  | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt75  | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt77  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | -  | -  | -  |
| YGSt78  | -  | -  | -  | -  | -  | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt80  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt81  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt88  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt90  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  |
| YGSt91  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| YGSt93  | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt95  | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt97  | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt99  | ++ | ++ | +  | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |
| YGSt100 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | -  | ++ |

RA: Rifampisin, C: Kloramfenikol, S: Streptomisin, TE: Tetrasiklin, P: Penisilin, VA30: Vankomisin, CN10: Gentamisin, K: Kanamisin, AMP10: Amfisilin;

(+ +) : Duyarlı, (+) : Orta Derece Duyarlı, (-) : Dirençli.

Çizelge 4.3. *L. bulgaricus* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılık testleri

| İzolatNo | Antibiyotikler |    |   |    |   |      |      |    |       |
|----------|----------------|----|---|----|---|------|------|----|-------|
|          | RA             | C  | S | TE | P | VA30 | CN10 | K2 | AMP10 |
| YGLb73   | ++             | ++ | - | ++ | + | -    | -    | -  | ++    |
| YGLb79   | -              | -  | - | -  | - | -    | -    | -  | -     |
| YGLb86   | ++             | ++ | - | +  | + | -    | -    | -  | ++    |
| YGLb87   | -              | -  | - | -  | - | -    | ++   | -  | ++    |
| YGLb92   | -              | -  | - | -  | - | -    | -    | -  | -     |

RA: Rifampisin, C: Kloramfenikol, S: Streptomisin, TE: Tetrasiklin, P: Penisilin, VA30: Vankomisin, CN10: Gentamisin, K: Kanamisin, AMP10: Amfisilin;

(+ +) : Duyarlı, (+) : Orta Derece Duyarlı, (-) : Dirençli

Çizelge 4.4. *S. thermophilus* izolatlarının antibiyotiklere gösterdiği % duyarlılık oranları

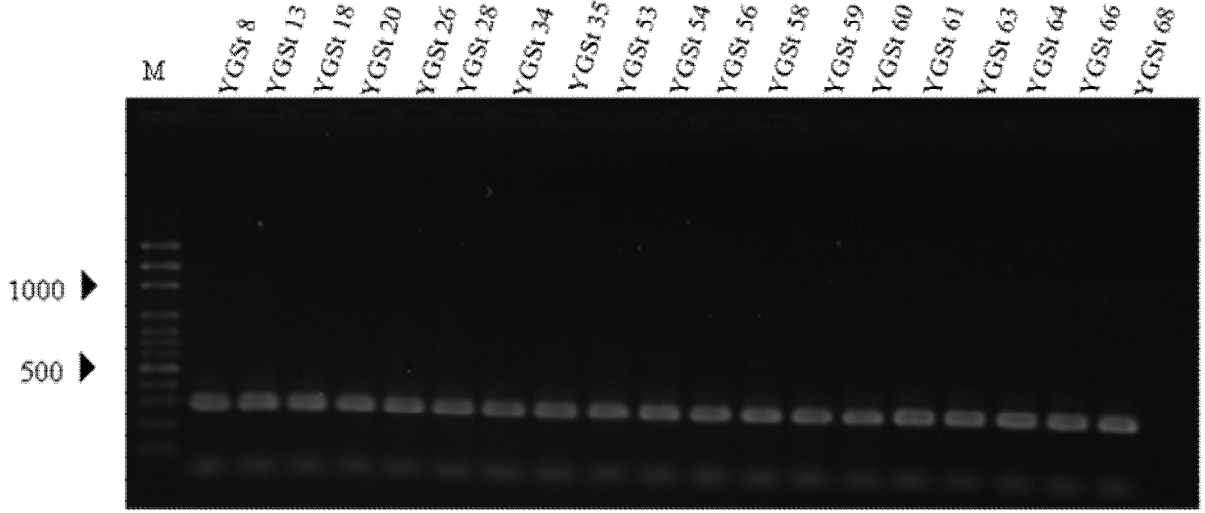
| Antibiyotikler | Dirençli<br>(-) | Orta Derece<br>Duyarlı (+) | Duyarlı<br>(++) | Toplam<br>(%) |
|----------------|-----------------|----------------------------|-----------------|---------------|
| Tetrasiklin    | 3               | 4                          | 93              | 100           |
| Gentamisin     | 18              | 0                          | 82              | 100           |
| Streptomisin   | 10              | 31                         | 59              | 100           |
| Amfisilin      | 6               | 0                          | 94              | 100           |
| Kloramfenikol  | 6               | 3                          | 91              | 100           |
| Vankomisin     | 7               | 0                          | 93              | 100           |
| Rifampisin     | 3               | 1                          | 96              | 100           |
| Kanamisin      | 57              | 6                          | 37              | 100           |
| Penisilin G    | 3               | 7                          | 90              | 100           |

Çizelge 4.5. *L. bulgaricus* izolatlarının antibiyotiklere gösterdiği % duyarlılık oranları

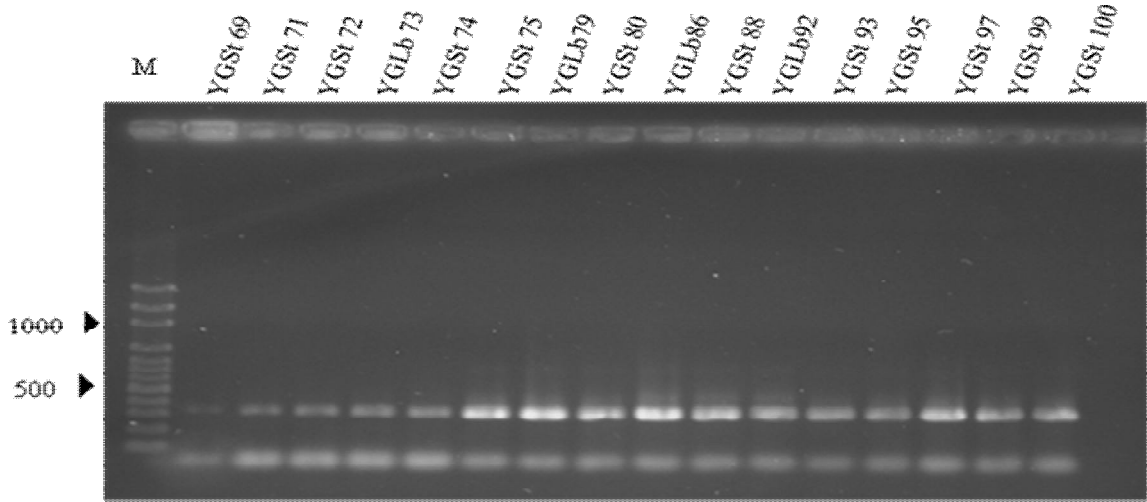
| <b>Antibiyotikler</b> | <b>Dirençli<br/>(-)</b> | <b>Orta Derece<br/>Duyarlı (+)</b> | <b>Duyarlı<br/>(++)</b> | <b>Toplam<br/>(%)</b> |
|-----------------------|-------------------------|------------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| Tetrasiklin           | 60                      | 20                                 | 20                      | 100                   |
| Gentamisin            | 80                      | 0                                  | 20                      | 100                   |
| Streptomisin          | 100                     | 0                                  | 0                       | 100                   |
| Amfisilin             | 40                      | 0                                  | 60                      | 100                   |
| Kloramfenikol         | 60                      | 0                                  | 40                      | 100                   |
| Vankomisin            | 100                     | 0                                  | 0                       | 100                   |
| Rifampisin            | 60                      | 0                                  | 40                      | 100                   |
| Kanamisin             | 100                     | 0                                  | 0                       | 100                   |
| Penisilin G           | 60                      | 0                                  | 40                      | 100                   |

#### **4.2. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençliliklerinin Genotipik Olarak Belirlenmesi**

*Aph(3')-IIIa* primerleri kullanılarak yapılan taramada, disk difüzyon yönteminde kanamisine dirençli olduğu saptanan 44 adet izolatın 37 tanesinin DNA izolasyonu yapılmış olup izole DNA'ların 35'inde (32 adet *S. thermophilus*, 3 adet *L. bulgaricus*) *aph(3')-IIIa* bölgesi saptanmıştır. Kanamisine fenotipik direnç gösteren *S. thermophilus* izolatlarından YGSt70 ve *L. bulgaricus* izolatlarından YGLb86'da istenen gen bölgesi bulunamamıştır. *aph(3')-IIIa* fragmanı yaklaşık 292 bç uzunluğundadır. PCR sonucu elde edilen jel görüntüsü Şekil 4.2.' te ve Şekil 4.3.'te verilmiştir.



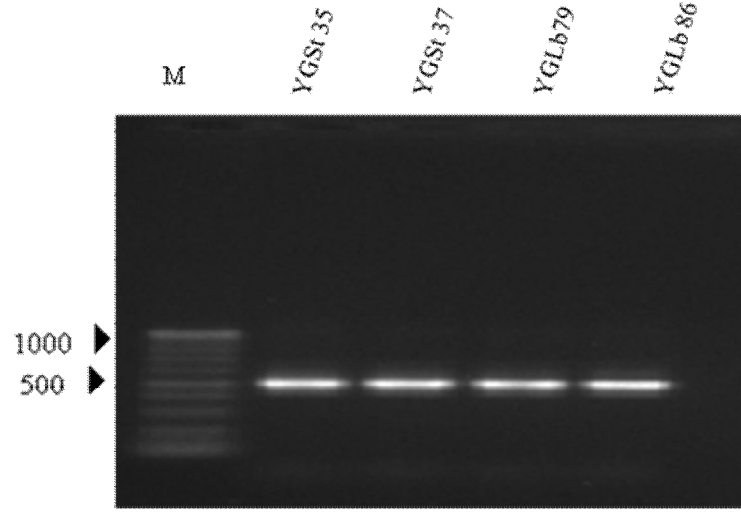
Şekil 4.2. İzolatlarda saptanan *aph(3')-IIIa* geninin jel görüntüsü



Şekil 4.3. İzolatlarda saptanan *aph(3')-IIIa* geninin jel görüntüsü.

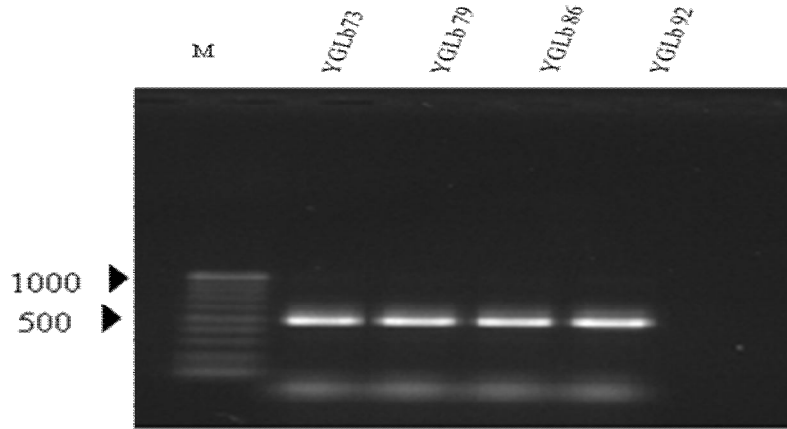
*Str(B)* primerleri kullanılarak yapılan taramada, streptomisine dirençli 11 izolatın DNA izolasyonu yapılmış olup olup izole DNA'ların 4 adedinde *str(B)* bölgesi saptanmıştır. Streptomisine fenotipik direnç gösteren 5 *L. bulgaricus* izolatından YGLb79 ve YGLb86 hariç diğerlerinde *str (B)* gen bölgesine rastlanmamıştır. 3 *S. thermophilus* izolatından YGSt22 hariç diğer iki izolatta istenen gen bölgesi tespit edilmiştir. *Str (B)*

fragmanı yaklaşık 509 bç uzunluğundadır PCR sonucu elde edilen jel görüntüsü Şekil 4.4.’ te verilmiştir.



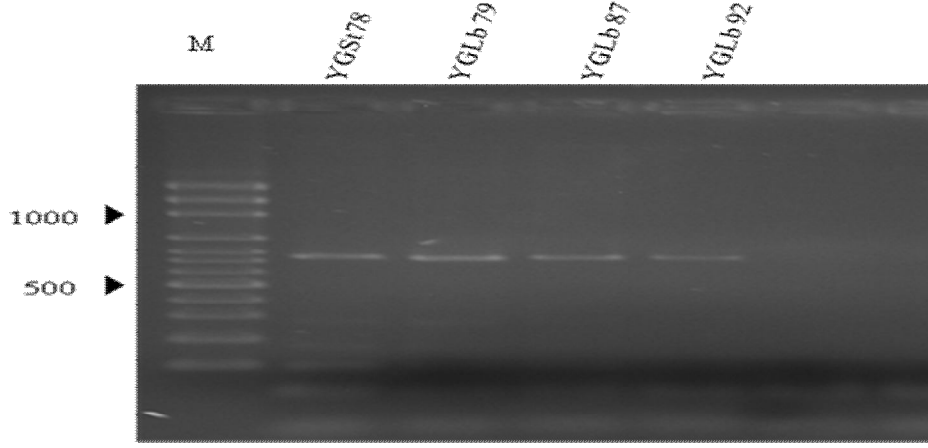
Şekil 4.4. İzolatlarda saptanan *Str(B)* genlerinin jel görüntüleri

*Van (E)* primerleri kullanılarak yapılan taramada vankomisine dirençli 9 izolatin 6 tanesinin DNA izolasyonu yapılmış olup olup izole DNA’ların 4 tanesinde *van (E)* bölgesi saptanmıştır. Vankomisine dirençli 1 *S. thermophilus* izolatu (YGSt8) bulunmasına rağmen ilgili direnç geni gözlenememiştir. Fenotipik direnç gösteren 5 *L. bulgaricus* izolatlarından YGLb87 hariç diğerlerinde ilgili gen bölgesi bulunmuştur. *Van (E)* fragmanı yaklaşık 513 bç uzunluğundadır. PCR sonucu elde edilen jel görüntüsü Şekil 4.5.’ te verilmiştir.



Şekil 4.5. İzolatlarda saptanan *van (E)* genlerinin jel görüntüleri

*BlaZ* primerleri kullanılarak yapılan taramada ise penisiline dirençli 4 izolatın DNA izolasyonu yapılmış olup izole DNA'ların tümünde *BlaZ* bölgesine rastlanmıştır. *BlaZ* fragmanı yaklaşık 772 bp uzunluğundadır. PCR sonucu elde edilen jel görüntüsü Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.6. İzolatlarda saptanan *BlaZ* genlerinin jel görüntüleri

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Temmerman ve ark. (2003), tarafından Avrupa’da üretilen toplam 55 probiyotik üründen izole edilen bazı bakterilerin antibiyotik direnci araştırılmış, disk difüzyon metodu kullanılarak 187 izolattan %79 kanamisine, %65 vankomisine, %26 tetrasikline %23 penisilin G’ ye, %16 eritrosisine ve %11 kloramfenikole direnci tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki toplam suşların (*L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*) kanamisine %51 oranına direnç göstermesi Temmerman ve ark., (2003) çalışması ile paralellik göstermektedir. Buna karşın kloramfenikole %90, vankomisine %86, tetrasikline %92 penisiline %93 oranlarında duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Aslım ve Beyatlı (2004), Türk yoğurtlarından izole edilen *S. thermophilus* suşları plazmid taşıyıcılığı ve bu türlerin antibiyotik dirençlilikleri ile ilgili yaptıkları araştırmada, *S. thermophilus*’un çoğu türlerinin gentamisine (%79) penisillin G’ ye (%64) dirençli ve kloramfenikole (% 94) ve tetrasikline (%88) duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşın yaptığımız araştırmada, *S. thermophilus* ‘un çoğu türleri gentamisine (%82), penisiline (%97) oldukça duyarlı bulunmuştur. Yapılan çalışmaya paralel olarak kloramfenikole (% 94) ve tetrasikline (%97) duyarlı olduğu saptanmıştır.

Kirtzalidou ve ark. (2011), tarafından yapılan bir çalışmada izole edilen laktobasillerin büyük çoğunluğunun, amfisilin, amoksisilin / klavulanik asit, tetrasiklin, eritromisin, sefalotin, kloramfenikol ve rifampisin antibiyotiklerine karşı duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Suşların %34’ünün ise vankomisine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise *Lactobacillus* türlerinde önemli oranda amfisilin, tetrasiklin, rifampisin ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı duyarlılık gözlenmiştir. *L. bulgaricus* suşlarının vankomisin antibiyotiğine dirençliliği ise %100 olarak bulunmuştur. *Lactobacilli*, *Pediococci*, *Leuconostoc* ve bazı diğer gram pozitif bakteriler doğal olarak vankomisine yüksek direnç göstermektedir (Hamilton-Miller ve Shah, 1998).

*Lactobacillus spp.* genellikle kloramfenikol, tetrasiklin ve eritromisine duyarlıdır (Rojo-Bezares ve ark., 2006; D’ Aimmo ve ark., 2007; Zhou ve ark., 2005). *S. thermophilus* genellikle aminoglikozidlere (streptomisin, gentamisin, kanamisin, tetrasiklin vb.), trimetoprim ve sülfadiazin antibiyotiklerine karşı orta seviyede dirençlidir (Katla ve ark., 2001; Temmerman ve ark., 2003; D’Aimmo ve ark., 2007).

PCR denemeleri sonucu en fazla gözlenen direnç genleri *aph(3')-IIIa* (%96) olarak belirlenmiştir ve bu genler LAB'de en sık bulunan direnç genleridir.

Özteber (2013), Aydın Merkez'de yer alan mandıralardan, marketlerden, halk pazarlarından ve ev yapımı şeklinde alınan fermente süt ürünlerinden 168 adet LAB izole etmiş ve izolatların antibiyotik dirençlilikleri fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırmış, eritromisin (*erm*), tetrasiklin (*tet*) ve aminoglikozid direncini kodlayan *aac (6')-aph (2'')* primerleri ile yaptığı PCR denemeleri sonucunda *erm (B)* (% 4,76), *erm (C)* (%0,59), *tet (M)* (%7,14), *tet (L)* (%2,38), *tet (K)* (%0,59), *aac (6')-aph (2'')* (%5,95) ve *van (C)* (%1,19) genleri bulmuştur. Tez çalışmamızda ise PCR denemeleri sonucunda *van (E)* (%67), aminoglikozid grubu antibiyotiklerinden ise *aph(3')-IIIa* (%95), *str (B)* (%36) genleri bulunmuştur. Bu sonuçlar Özteber (2013), tarafından yapılan çalışma ile paralellik göstermektedir.

Zhou ve ark. (2012), tarafından yapılan çalışmada Çin'de farklı coğrafyalardan alınan yoğurtlardan, antibiyotik dirençliliği test edilen bakterilerden 35 suşta amfisilin, kloramfenikol, klortetrasiklin, tetrasiklin, linkomisin, streptomisin, neomisin ve gentamisin direnci tespit edilmiştir. Test edilen bütün *S. thermophilus* suşlarının penisilin G ve roksitromisine duyarlı olduğu bulunmuş, buna karşın *L. bulgaricus* suşlarının penisilin G ve roksitromisine sırasıyla % 23,5 ve % 64,7 oranında dirençli olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bütün *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* suşları kanamisine dirençli olduğu görülmüştür. PCR yöntemi ile aranan direnç genleri sonucunda, 1 *L. bulgaricus* ve 2 *S. thermophilus* izolatında *tet (M)*, 2 *L. bulgaricus* ve 2 *S. thermophilus* izolatında *ant (6)*, 5 *L. bulgaricus* ve 2 *S. thermophilus* izolatında *aph (3')-IIIa* genleri saptanmıştır. *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* suşlarında ilk kez *aph (3')-IIIa* ve *ant (6)* genlerine rastlanmıştır. Yaptığımız çalışmada ise, *S. thermophilus* izolatlarında penisilin, kloramfenikol, tetrasiklin, streptomisin ve gentamisin duyarlılığı sırasıyla %97, %94, %97, %90 ve %82 olarak bulunmuştur. Buna karşın *L. bulgaricus* izolatlarında penisilin, kloramfenikol, tetrasiklin, streptomisin ve gentamisin antibiyotiklerine sırasıyla %60, %60, %60, %100 ve %80 oranlarında direnç gözlenmiştir. PCR yöntemiyle taranan direnç genleri sonucunda ise 32 adet *S. thermophilus*, 3 adet *L. d. bulgaricus* izolatında *aph (3')-IIIa* gen bölgesine, 2 adet *S. thermophilus*, 2 adet *L. bulgaricus* izolatında *str(B)* gen bölgesine, 4 adet *L. bulgaricus* izolatında *van (E)* gen bölgesine, 1 adet *S. thermophilus*, 3 adet *L. bulgaricus* izolatında ise *blaZ* gen bölgesine rastlanmıştır.

Sonuç olarak, günümüzde tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirilmekte, buna karşın, süratle direnç kazanan mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar günden güne artış göstermektedir. İnsan ve hayvan sağlık sorunlarının çözülmesinde pratik olarak antibiyotiklere başvurulması antibiyotiklerin laktik asit bakterileri aracılığıyla çeşitli yollarla direnç kazanması önemli sorunlar doğurmaktadır. Fermente gıda üretiminde kullanılan laktik asit bakterilerinin genellikle güvenli mikroorganizmalar oldukları düşünülmekte ve bağırsak florasındaki patojenleri baskılaması beklenmektedir. Ancak, sahip oldukları antibiyotik direnç genini patojenlere aktarma olasılığı önemli bir tehdit olduğu düşünülmektedir. Gerek bu elde ettiğimiz, gerekse farklı çalışmalardan elde edilen bulgular, gıda zincirinde önemli bir yeri olan fermente süt ürünlerinin, insan ve hayvan popülasyonu arasındaki antibiyotik dirençlilik gösteren bakterilerin taşınmasının bir aracı ve gıda kaynaklı bakterilerin antibiyotik direnç genlerinin kaynaklarından biri olduğu konusunda yapılan tahminleri desteklemektedir.

Çalışmamızda fenotipik direnç gösteren izolatların bir kısmı değişken olarak test antibiyotiklerinin bazılarının dirençlilik genlerini [*str(B)*, *van (E)*, *blaZ* ve *aph (3')-IIIa*] taşımaktadır. Bu durum mutasyon gibi evrimsel olaylarla açıklanabilir ve izolatlar dirençlilik geni kazanmış olabilir ya da uygulanan metotlarla dirençli gen tespit edilememiş olabilir (Liu ve ark., 2009).

Önceki çalışmalar ve bu çalışmalarda elde edilen bulgular sonucunda, antibiyotiklerin kullanımı ve seçimi konusunda çeşitli tedbirler alınmalı ve fermente gıdalar için kullanılan laktik asit bakterilerinin gıdalarda kullanımına izin verilmeden önce antibiyotik direnç riskine karşı sürekli olarak denetlenmeli, gıda sanayiinde kullanılacak laktik asit bakterilerinin direnç genlerini taşımamalarına özen gösterilmelidir.

## KAYNAKLAR

- Aaerstrup, F.M., Jenser, L.B., 2007. Use of Antimicrobials in Food Animal Production. Foodborne Diseases. Totowa, New Jersey: Humana Press. (Editör: Simjee, S.). s.405-417.
- Adimpong, D. B., Nielsen, D. S., Sørensen, K. I., Derkx, P. Mf., Jespersen, L., 2012. Genotypic Characterization and Safety Assessment of Lactic Acid Bacteria from Indigenous African Fermented Food Products. *Bmc Microbiology*, 12: 75.
- Akın, N., 2006. Modern Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi, Damla Ofset, Konya.
- Alanis, A.J., 2005. Resistance to Antibiotics: Are We In the Post-Antibiotic Era?. Archives of Medical Research, 36: 697-705.
- Alekshun, M. N., Levy, S. B.. 2007. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell*, 128 (6): 1037-1050.
- Ammor, M. S., Şorez, A.B., Mayo, B., 2007. Antibiotic Resistance in Nonenterococcal Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *Food Microbiology*, 24: 559-570.
- Ammor, M., S., Belen Florez, A,B., Van Hoek, A.H.A.M., Los Reyes-Gavilán,C.G.A., Aarts, H.J.M., Margolles, A., Mayo, B., 2008. Molecular Characterization of Intrinsic and Acquired Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology and Biotechnology*, 14: 6-15.
- Andersson, D.I., ve Hughes, D., 2010. Antibiotic Resistance and its Cost: Is It Possible Toreverse Resistance?. Nature Reviews. *Microbiology*, 8: 260–271.
- Anonim, 1999. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, the 9th International Supplement; M100-S9, Villanova, PA.
- Anonim, 2009. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards For Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard M2–A10. Wayne, Pa: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Anonim., 2016. Antibiyotik Sınıflandırması Ve Etki Mekanizması [Http://Www.Dicle.Edu.Tr/Contents/1847d747-6909-48e9-86cd-357b541e8ed4.Pdf](http://Www.Dicle.Edu.Tr/Contents/1847d747-6909-48e9-86cd-357b541e8ed4.Pdf) (Erişim Tarihi: 30.01.2016)
- Aslım, B., Beyatlı, Y., 1997. Köy Ve Kasaba Yoğurtlarından İzole Edilen *Lactobacillus bulgaricus* Suşlarının Metabolik ve Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bir Araştırma. *Gıda Dergisi*, 22(6):441-447.
- Aslım, B., Beyatlı, Y., 2004. Antibiotic Resistance and Plasmid DNA Contents of *Streptococcus thermophilus* Strains Isolated from Turkish Yoghurts. *Journal of Food Science and Technology*, 41: 18- 22.

- Axelsson, L., 2004. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. (Editörler: Salminen, S., Von Wright, A. and Ouwehand, A.). 3rd Rev. and Exp. Ed. Marcel Dekker, Inc., New York, s.1-66.
- Avcı, T., 2010. Sığırlara Parentenal Yolla Uygulanan Bazı Makrolid Grubu Antibiyotiklerin Sütteki Seviyelerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Konya Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya.
- Bailey, M., Chettiah, T., Maikin, A.S., 2008. Induction of Ermc Expression by Noninducing Antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52: 866-874.
- Bakırcı, İ., Akyüz, N., 1996. Süt ve mamüllerinde antibiyotik kalıntı problemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6(19): 119-131.
- Barton, M.D., 2000. Antibiotic Use in Animal Feed and its Impact On Human Health. *Nutr. Res. Rev.* 13. 279-299.
- Baruzzi, F., Matarante, A., Morea, M., ve Cocconcelli, P.S., 2002. Microbial Community Dynamics During the Scmorza Altamura Cheese Natural Fermentation. *American Dairy Science Association*, 85: 1390-1397.
- Belletti, N., Gatti, M., Bottari, B., Neviani, E., Tabanelli, G., And Gardini, F., 2009. Antibiotic Resistance of Lactobacilli Isolated from Two Italian Hard Cheeses. *Journal of Food Protection*, 72: 2162-2169.
- Berthier, F., Beuvier, E., Dasen, A., ve Grappin, R., 2001. Origin and Diversity of Mesophilic *Lactobacilli* in Comte Cheese, As Revealed by Pcr With Repetitive and Species-Specific Primers. *International Dairy Journal*, 11: 293-305.
- Bergamini, C.V., Hynes, E.R., Palma, S.B., Sabbag, N.G., Zalazar, C.A., 2009. Proteolytic Activity of Three Probiotic Strains in Semi-Hard Cheese As Single and Mixed Cultures: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium lactis*. *International Dairy Journal*, 8: 467-475.
- Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D., Webb, C., 2003. Cereal-Based Fermented Foods and Beverages. *Food Research International*. 36 (6): 527-543.
- Bouton, Y., Guyot, P., Beuvier, E., Tailliez, P., and Grappin, R., 2002. Use of Pcr-Based Methods and Pffe for Typing And Monitoring *Homofermentative Lactobacilli* During Comte Cheese Ripening. *International Journal Food Microbiology*, 76 (1-2,5): 27-38.
- Buckenhüskes, H.J., 1997. Fermented Vegetables. In: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (Editörler: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J.). Asm Press. Washington D.C. s.595-609.
- Chang L., Zhuo-Yang Z., Ke D., Jian-Ping Y., and Xiao-Kui G., 2009. Antibiotic Resistance of Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria Isolated from Marketed Foods and Drugs. *Biomedical and Environmental Sciences* 22: 401-412.

- Cogan, T.M., Hill, C., 1993. Cheese Starter Cultures. In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Volume 1, 2nd Edition (Editör: Fox, P.F.). Chapman-Hall, London. s.193–255.
- Cogan, T.M., Beresford, T.P., Steele, J., Broadbent, J., Shah, N.P., Ustunol, Z., 2007. Advances In Starter Cultures and Cultured Foods. *Journal of Dairy Science*, 90(9): 4005–4021.
- Coppola, R., Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Salzano, G., Sorrentino, E., 2005. Antibiotic Susceptibility of *Lactobacillus Rhamnosus* Strains Isolated from Parmigiano Reggiano Cheese. *Lait Dairy Science and Technology*, 85 (3): 193-204.
- Courvalin, P., 2006. Antibiotic Resistance: the Pros and Cons of Probiotics. *Digestive And Liver Disease*, 38 (2): 261-265.
- Çakır, 2003. Laktobasillus ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 84s.
- Çetin, E.T., Güller, N., 1989. Bakterilerin Antibiyotik Duyarlık Deneyinin Yapılması, *Kökem Dergisi*, 12(2): 97-105
- Çetinkaya, Y., Falk, P., Mayhall, C.G., 2000. Vancomycin Resistant Enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(4): 686-707.
- D'Aimmo, M. R., Modesto, M., Biavati, B., *et al.* 2007. Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria and *Bifidobacterium spp.* Isolated from Dairy and Pharmaceutical Products. *International Journal of Food Microbiology*, 115 (1): 35-42.
- Dalie, D.K.D., Deschamps, A.M., Richard-Forget, F., 2010. Lactic Acid Bacteria – Potential For Control of Mould Growth and Mycotoxins: A Review. *Food Control*, 21 (4): 370-380.
- Daly, C., Fitzgerald, G.F., O' Connor, L., Davis, R., 1998. Technological and Health Benefits of Dairy Starter Cultures. *International Dairy Journal*, 8 (3). 195-205.
- Davidson, B.E., Kordias, N., Dobos, M., Hillier, A.J., 1996, Genomic Organization of Lactic Acid Bacteria, Antonie Van Leeuwenhoek. *International Journal of General And Molecular Microbiology*, 70(2-4): 161-183.
- De Vuyst, L., 2000. Technology Aspects Related To the Application of Functional Starter Cultures. *Food Technology And Biotechnology*, 38(2): 105-112.
- Degeest, B., Vaniengelgem, F., De Vuyst, L., 2001. Microbial Physiology, Fermentation Kinetics, and Process Engineering of Heteropolysaccharide Production by Lactic Acid Bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9): 747-757.
- Delcour, J., Ferain, T., Hols, P., 2000. Advances in the Genetics of Thermophilic Lactic Acid Bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 11(5): 497-504.
- Demirtürk, N., Demirdal, T., 2004. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5: 17-21.

- Devlieghere, F., Vermeiren, L., Debevere, J., 2004. New Preservation Technologies: Possibilities and Limitations. *International Dairy Journal*, 14(4): 273-285.
- Do Carmo, A., Da Silva, D., De Oliveira, M., Borges, A., De Carvalho, A., and De Moraes, C. 2011. Genes Involved In Protein Metabolism of the Probiotic Lactic Acid Bacterium *Lactobacillus delbrueckii* Ufv H2b20. *Beneficial Microbes*, 2(3):209–220.
- Doyle, M.P., Guy, H., Loneragan, H., Scott, M., Randall, S., And Singer, R.S., 2013. Antimicrobial Resistance: Challenges And Perspectives. *Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety*
- Duboc, P., Mollet, B., 2001. Applications of Exopolysaccharides In the Dairy Industry. *International Dairy Journal*, 11(9): 759-768.
- Durupınar, B., 2001. Antibiyotiklere Dirençlerde Yeni Eğilimler. *Klinik Dergisi*, 14(2): 47-55.
- Duskova, M., Karpiskova, R.. 2013. Antimicrobial Resistance of Lactobacilli Isolated from Food. *Czech Journal of Food Science*, 31(1): 27-32.
- Egervarn, M., Lindmark, H., Olsson, J., Roos S., 2010. Transferability of Tetracycline Resistance Gene from Probiotic *Lactobacillus Reuteri* To Bacteria In the Gastrointestinal Tract of Humans. *Antonie Van Leeuwenhoek*, doi: 10.1007/s10482-009-9401-0 97(2): 189-200.
- Ehlers, P.L., Kivimäki, A.S., Turpeinen, A.M., Korpela, R., and Vapaatalo. H., 2011. High Blood Pressurelowering and Vasoprotective Effects of Milk Products In Experimental Hypertension *British Journal of Nutrition*, 106(9):1353-63.
- Ender, G., Karagözlü, C., Yerlikaya, O., ve Akbulut, N., 2006. Dünyada Ve Türkiye’de Tüketimi Artan Fermente Süt İçecekleri. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu.
- Erginkaya, Z., Hayaloğlu, A.A., 2001. Gıda Endüstrisinde Kullanılan Laktik Asit Bakterileri. *Gıda Teknolojisi Derneği*, Yayın No: 23, Adana.
- Erol, İ., 2007. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Ankara: Pozitif Yayıncılık. 1. Baskı.. s.299-302.
- Etöz, D., 2006. Kefirden İzole Edilen Maya ve Bakterilerin Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerine İnhibitör Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 91 s.
- European Commission., 2005. Opinion of the Scientific Panel On Additives And Products Or Substances Used In Animal Feed On the Updating of the Criteria Used In the Assessment of Bacteria For Resistance To Antibiotics of Human Or Veterinary Importance. *Efsa Journal*, doi: 10.2903/j.efsa.2005.223.
- Fadda, S., López, C., Vignolo, G., 2010. Role of Lactic Acid Bacteria During Meat Conditioning And Fermentation: Peptides Generated As Sensorial and Hygienic Biomarkers. *Meat Science*, 86(1): 66-79.

- Fines, M., Perichon, B., Reynolds, P., Sahm, D., Courvalin, P., 1999 VanE A New Type of Acquired Glycopeptide Resistance In Enterococci Faecalis BM4405. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 43(9):2161-4.
- Fluit, Ac., Schmitz, Jf., 2001. The Use of Molecular Techniques To Detect Antimicrobial Resistance In Clinical Bacterial Isolates. *Microbiology Today*, 28(1): 14-15.
- Galvez, A., Lucas Lopez, R., Abriouel, H., 2008. Application of Bacteriocins In the Control of Foodborne Pathogenic and Spoilage Bacteria, *Critical Reviews Biotechnology*, 28(2): 125-152.
- Gänzle, G.M., Vermeulen, N., Vogel, R.F., 2007. Carbohydrate, Peptide and Lipid Metabolism of Lactobacilli In Sourdough. *Food Microbiology*, 24(2): 128–138.
- Gevers, D., Huys, G., Swings, J., 2003. In Vitro Conjugal Transfers of Tetracycline Resistance from Lactobacillus Isolates To Other Gram-Positive Bacteria. *EMS Microbiology Letters*. 225(1): 125-130.
- Graffa, G., 2003. Functionality of Enterococci In Dairy Products. *International Journal of Food Microbiology*. 88(2-3): 215- 222.
- Gousia, P., Economou, V., Sakkas, H., Leveidiotou, S. ve Papadopoulou, C., 2011. Antimicrobial Resistance of Major Foodborne Pathogens from Major Meat Products. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(1): 27–38.
- Gülay, Z., 2003. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Yorumu. *Toraks Dergisi*, 1(3): 75-85.
- Hamilton-Miller, J.M.T., Shah, S., 1998. Vancomycin Susceptibility As an Aid to the Identification of *Lactobacilli*. *Letters In Applied Microbiology*, 26 (2): 153-154.
- Hebert, E. M., Mamone, G., Picariello, G., Raya, R. R., Savoy, G., Ferranti, P., et al., 2008. Characterization of the Pattern of As1- And B-Casein Breakdown And Release of A Bioactive Peptide by A Cell Envelope Proteinase from *Lactobacillus Delbrueckii* Subsp. *Lactis* Crl 581. *Applied And Environmental Microbiology*, 74: 3682–3689.
- Hofvendahl, K, Hahn-Hägerdal, B., 2000. Factors Affecting the Fermentative Lactic Acid Production from Renewable Resources. *Enzyme Microbial Technology*, 26(2-4): 87–107.
- Howden, B. P., Johnson, P. D., Ward, P. B., 2006. Isolates With Low-Level Vancomycin Resistance Associated With Persistent Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Bacteremia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 50: 3039-3047.
- Hugas, M., Monfort, J.M., 1997. Bacterial Starter Cultures For Meat Fermentation. *Food Chemistry*, 59(4): 547-554.
- Hummel, A.S., Hertel C., Holzapfel, W. H., ve Franz, C. M. A. P. 2007b. Antibiotic Resistances of Starter and Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria. *Applied And Environmental Microbiology*, 73: 730-739.
- Ige, B.A., 2013. Probiotics Use In Intensive Fish Farming. *African Journal of Microbiology Research* 7: 2701–2711.

- İşleröğlü, H., Yıldırım, Z., Demirpençe, Y., Yıldırım, M., 2008. Enterekoklar: Biyokimyasal, Fizyolojik Ve Fonksiyonel Özellikleri İle Patojenitesi. *Akademik Gıda Bilimi Ve Teknolojisi Dergisi*, 6(3): 16-26.
- Jacobson, H. E., Jernberg, C., Andersson, A. F., SjöLund-Karlsson, M., Jansson, J. K., & Engstrand, L., 2010. Short-Term Antibiotic Treatment Has Differing Long-Term Impacts On The Human Throat and Gut Microbiome. *Plos One*, 24(5): 9836.
- Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C., And Jansson, J. K., 2007. Long-Term Ecological Impacts of Antibiotic Administration On The Human Intestinal Microbiota. *The ISME Journal*, 1(1): 56-66.
- Jolly, L., Stingle, F., 2001. Molecular Organization and Functionality of Exopolysaccharide Gene Clusters In Lactic Acid Bacteria. *International Dairy Journal*, 11. 733-745.
- Jorgensen, J.H., Ferrano, M.J., 2009. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles And Contemporary Practices. *Clinical Infectious Disease*, 49: 1749-1755.
- Katla, A K, Kruse H, Johnsen G, *et al.* 2001. Antimicrobial Susceptibility of Starter Culture Bacteria Used In Norwegian Dairy Products. *International Journal of Food Microbiology*, 67(1-2): 147-152.
- Kıran, F., Osmanağaoğlu, Ö., 2013. Laktik Asit Bakterilerinde Proteomik Çalışmalar. Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Tandoğan, Ankara. 38 (1): 55-62.
- Kirtzalidou, E., Pramateftaki, P., Kotsou, M., . Kyriacou, A., 2011. Screening For Lactobacilli With Probiotic Properties In The Infant Gut Microbiota, *Science Direct*, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1075996411000928>.
- Kohenski, M.A., Dwyer D.J., Hayete, B., Lawrence, C.A., Collins, J.J.A., 2007. Common Mechanism of Cellular Death Induced by Bactericidal Antibiotics. *Cell*, 130 (5): 797-810.
- Korhonen, J., 2010. Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria. Publication of The University of Eastern Finland, Dissertations In Forestry And Natural Sciences, Department of Biosciences.
- Kushiro, A., Chervaux, C., Cool-Portier, S., Perony, A., Legrainraspaud, S., Obis, D., Onoune, M., and Moer, A., 2009. Antimicrobial Susceptibility Testing of Lactic Acid Bacteria And Bifidobacteria by Broth Microdilution Method and Etest. *International Journal of Microbiology* 1.
- Ledeboer, Na., Hodinka, Rl., 2011 Molecular Detection of Resistance Determinants. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(9): 20-24.
- Leroy, F., De Vuyst, L., 2004. Lactic Acid Bacteria As Functional Starter Cultures For The Food Fermentation Industry. *Trends In Food Science And Technology*. 15. 67-78.

- Leroy, F., Verleyten, J., De Vuyst, L., 2006. Functional Meat Starter Cultures For Improved Sausage Fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 106. 270–285.
- Lofmark, S., Jernberg, C., Jansson, J.K., And Edlund, C., 2006. Clindamycin-Induced Enrichment and Long-Term Persistence of Resistant *Bacteroides* Spp. and Resistance Genes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58, 1160–1167.
- Ludwig, W., Neumaier, J., Klugbauer, N., Brockmann, E., Roller, C., Jilg, S., Reetz, K., Schachtner, I., Ludwigsen, A., Wallner, G., Bachleitner, M., Fischer, U., Scheleifer, K.H., 1993. Phylogenetic Relationships of Bacteria, Antonie Van Leeuwenhoek. 64, 285-304.
- Lukasova, J., Sustackova, A., 2003. Enterococci And Antibiotic Resistance. *Acta Veterinaria Brno*, 72: 315-323.
- Madhavan, H.N., Sowmiya, M., 2011. Mechanisms of Development of Antibiotic Resistance In Bacteria Among Clinical Specimens. *Journal of Clinical and Biomedical Sciences*. 1. 42-48.
- Maeda, M., Shibata, A., Biswas, G., Korenaga, H., Kono, T., Itami, T., Sakai, M., 2014. Isolation of Lactic Acid Bacteria from Kuruma Shrimp (*Marsupenaeus Japonicus*) Intestine and Assessment of Immunomodulatory Role of A Selected Strain As Probiotic. *Mar. Biotechnol.* 16(2): 181–192.
- Makarova, K. S., Slesarev, A., Wolf, Y., Sorokin, A., Mirkin, B., Koonin, E., Pavlov, A., Pavlova, N., Karamychev, V., Polouchine, N., Shakhova, V., Grigoriev, I., Lou, Y., Rohksar, D., Lucas, S., Huang, K., et al. 2006. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceeding of National Academy of Science. USA*. 103:15611–15616.
- Mathur, S., Singh, R., 2005. Antibiotic Resistance In Food Lactic Acid Bacteria-A Review. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3): 281-295.
- Mayra-Makinen, A., Birget, M., 1998. Industrial Use And Production of Lactic Acid Bacteria. In: *Lactic Acid Bacteria, Microbiology And Functional Aspects* (Editörler: Salmien, S., Von Wirgth, A.). Marcel Dekker, Inc., New York. s.73-103.
- Mayrhofer, S., Domig, K. J., Mair, C., Zitz, U., Huys, G., Kneifel, W., 2008. Comparison of Broth Microdilution, Etest, and Agar Disk Diffusion Methods For Antimicrobial Susceptibility Testing of *L. Acidophilus* Group Members. *Applied And Environmental Microbiology*, 74(12): 3745– 3748.
- Mc Dermott, P.F., Zhao, S., Wagner, D.D., Simjee, S., Walker, R.D., White, D.G., 2002. The Food Safety Perspective of Antibiotic Resistance. *Animal Biotechnology*. 13(1): 71-84.
- Mead, P.S., Slutsker, L., Dietez, V., Mccaig, L.F., Bresee, J.F., Shapiro, C., Griffin, P.M., Tauxe, R.V., 1999. Food Related Illness And Death In The United States. *The Journal of Infectious Disease*, 5 (5): 607-625.

- Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., Moore, J.E., Millar, B.C., Xu, J., 2011. Characterization And Transfer of Antibiotic Resistance In Lactic Acid Bacteria from Fermented Food Products. *Current Microbiology*, 62: 1081–1089.
- O'shea, E. F., Cotter, P. D., Stanton, C., Ross, R. P., Hill, C., 2012, Production of Bioactive Substances by Intestinal Bacteria As A Basis For Explaining Probiotic Mechanisms: Bacteriocins And Conjugated Linoleic Acid. *International Journal of Food Microbiology*, 152: 189-205p.
- Ouoba, L.I.I., Lei, V., Jensen, L.B. 2008. Resistance of Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria And Bifidobacteria of African and European Origin To Antimicrobials: Determination And Transferability of The Resistance Genes To Other Bacteria. *International Journal of Microbiology*, 121, 217e224.
- Özteber, M., 2013. Fermente Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençliliklerinin Fenotipik Ve Genotipik Yöntemlerle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.136s.
- Palalı, H.,2007. Laktik Asit Bakterilerinde Transkripsiyon Regülasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 35s.
- Pan, L., Hu, X., Wang, X. 2011. Assessment of Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria In Chinese Fermented Foods, *Food Control*, 22: 1316-1321.
- Pankey, G.A., Sabath, L.D., 2004. Clinical Relevance of Bacteriostatic Versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram-Positive Bacterial Infections. *Clinical Infectious Diseases*, 38(6):864-870.
- Peters, J., Mac, K., Wichmann-Schauer, H., Klein, G., Ellerbroek, L., 2003. Species Distribution And Antibiotic Resistance Patterns of Enterococci Isolated from Food of Animal Origin In Germany. *International Journal of Food Microbiology*, 88(2-3): 311-314.
- Rahimi, E., M. Ameri, And H. R. Kazemeini., 2010. Prevalence And Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* Species Isolated from Raw Camel, Beef, Lamb, and Goat Meat In Iran. *Food Borne Pathogens Diseases*, 7(4):443-447.
- Richter, S., Ferraro M., 2007. Susceptibility Testing Instrumentation and Computerized Expert Systems For Data Analysis and Interpretation. (Editörler: Murray, P., Baron, E., Jorgensen J., Landry, M., Pfaller, M.). *Manual of Clinical Microbiology*. 9th Edition. Washington Dc: American Society For Microbiology. s. 245-256.
- Rodríguez, H., Curiel, J.A., Landete, J.M., De Las Rivas, B., De Felipe, F.L., Gómez-Cordovés, C., Mancheño, J.M., Muñoz, R., 2009. Food Phenolics and Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132 (2-3). 79-90.
- Rajo-Bezares, B., Saenz, B., Poeta, Y., *et al.* 2006. Assessment of Antibiotic Susceptibility Within Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Wine. *International Journal of Microbiology*, 111(3): 234-240.

- Ross ,R.P., Morgan, S., Hill, C., 2002. Preservation and Fermentation: Past, Present and Future. *International Journal of Food Microbiology*, 79(1-2): 3-16.
- Rosaria, M., Modesto, M., Biavati, B., 2007. Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria and *Bifidobacterium* Spp. Isolated from Dairy And Pharmaceutical Products. *International Journal of Microbiology*, 115(1): 35-42.
- Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Wright, A., 2004. Lactic Acid Bacteria, Microbial and Functional Aspects. *Food Science and Technology*, 3: 1-53.
- Sáenz, Y., Zarazaga, M., Brinas, L., Lantero, M., Ruiz-Larrea, F., Torres, C., 2001. Antibiotic Resistance In *Escherichia coli* Isolates Obtained from Animals, Foods and Humans in Spain. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 18(4): 353-358.
- Salyers, A.A., Gupta, A., Wang, Y., 2004. Human Intestinal Bacteria As Reservior For Antibiotic Resistance Genes. *Trends In Microbiology*. 12(9): 412-416.
- Samelis, J., Metaxopoulos, J., Vlassi, M., Pappa, A., 1998. Stability and Safety of Traditional Greek Salami-A Microbiological Ecology Study. *International Journal of Food Microbiology*, 44(1-2): 69-82.
- Settanni, L., And Corsetti, A., 2008. Application of Bacteriocins In Vegetable Food Biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 121 (2): 123-138.
- Shao, Y., Zhang, W., Gou, H., Pan, L., Zhang, H., Sun, T., 2015. Comparative Studies On Antibiotic Resistance In *Lactobacillus Casei* and *Lactobacillus Plantarum*. *Food Control*, 50: 250-258.
- Sharma, P., Tomar, S.K., Goswami, P., Sangwan, V., Singh, R., 2014. Antibiotic Resistance Among Commercially Available Probiotics- A Review. *Food Research International*, 57: 176-195.
- Schnellmann, C., Gerber, V., Rossano, A., Jaquier, V., Panchaud, Y., Doherr, M.G., Thomann, A., Straub, R., Perreten, V., 2006. Presence of New *MecA* and *Mph* (C) Variants Conferring Antibiotic Resistance In *Staphylococcus* spp. Isolated from The Skin of Horses Before and After Clinic Admission. *Journal of Clinical Microbiology*, 44: 4444-4454. 10.1128/JCM.00868-06.
- Singer, R.S., Finch, R., Wegener, H.C., Bywater, R., Walters, J., Lipstich, M., 2003. Antibiotic Resistance-The Interplay Between Antibiotic Use In Animals and Human Beings. *Lancet Infectious Diseases*, 3(1): 47-51.
- Soomro, A.H., Anwaar, M., Anwar, K., 2002. Role of Lactic Acid Bacteria (Lab) In Food Preservation and Human Health. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1 (1): 20-24.
- Steinkraus, K.H., 1997. Classification of Fermented Foods: Worldwide Review of Household Fermentation Techniques. *Food Control*. 8(5-6): 311-317.
- Strommenger, B., Kettlitz, C., Werner, G., Witte, W., 2003. Multiplex Pcr Assay For Simultaneous Detection of Nine Clinically Relevant Antibiotic Resistance Genes In *Staphylococcus Aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(9): 4089-4094.

- Şahin, İ., 1995. Endüstriyel Mikrobiyoloji. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bursa.151s.
- Taş, E., 2008. Probiyotik Laktik Asit Bakterileri ve Baharatların Bazı Gıda Patojenleri Üzerine İnhibisyon Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana. 84s.
- Teale, C.J., 2002. Antimicrobial Resistance and the Food Chain. *Journal of Applied Microbiology*, 92 Suppl. 92 (s1): 85-89.
- Temiz, A., Bazı Bakterilerin Yoğurt Bakterilerinin Asit Geliştirme Özellikleri Üzerine Etkisi. (6): 377-388.
- Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., Swings, J., 2003. Identification and Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates from Probiotic Products. *International Journal of Food Microbiology*, 25; 81(1): 1-10.
- Thumu, S.C.R., Halami, P.M., 2012. Presence of Erythromycin and Tetracycline Resistance Genes in Lactic Acid Bacteria from Fermented Foods Indian Origin. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 102 (4): 541-551.
- Toomey, N., Bolton, D., Fanning, S., 2010. Characterization of Antibiotic Resistance Genes from Lactic Acid Bacteria Isolated from Irish Pork and Beef Abattoirs. *Research in Microbiology*. 161(2): 127-135.
- Topal, Ş., 1996. Gıda Güvenliği ve Kalite Yönetim Sistemleri, TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Matbaası Basımı, Kocaeli. 225s.
- Turantaş, F., 2000. Fermantasyon Mikrobiyolojisi ve Fermente Gıdalar. Gıda Mikrobiyolojisi, İzmir. s.423-474.
- Turantaş, F., 2003. Fermantasyonda Rol Oynayan Mikroorganizmalar. Gıda Mikrobiyolojisi. (Baş Editör: Ünlütürk, A.). Mengi Tan Basımevi. Çınarlı, İzmir, Türkiye. s.425-430.
- Turhan, İ., 2012. Kaşar Peyniri Üretimi İçin Starter Kültür İzolasyonu ve İzolatların FTIR Spektroskopisi ile Tanısının Yapılması. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Isparta. 143s.
- Usinger, L., Ibsen, H., and Jensen, L.T., 2009. Does Fermented Milk Possess Antihypertensive Effect in Humans?. *Journal of Hypertension*. 27(6):1115-20.
- Volkman, H., Schwartz, T., Bischoff, P., Kirchen, S., Obst, U., 2004. Detection of Clinically Relevant Antibiotic-Resistance Genes in Municipal Wastewater Using Real-Time Pcr (Taqman). *Journal of Microbiology Methods*, 56(2): 277-286.
- Wegener, H.C., 2003. Antibiotics in Animal Feed and Their Role in Resistance Development. *Current Opinion in Microbiology*, 6(5): 439-445.
- Wouters, J.T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J., Smit, G., 2002. Microbes from Raw Milk for Fermented Dairy Products. *International Dairy Journal*, 12(2-3): 91-109.

- Yaygın, H., Kılıç, S., 1993. Süt Endüstrisinde Saf Kültür. Altındağ Matb. İzmir.
- Yousefian, M., Amiri, M.S., 2009. A Review of the Use of Prebiotic in Aquaculture for Fish And Shrimp. *African Journal of Biotechnology*, 25(8): 7313–7318.
- Yurdakul, N.E., 2008. Tavuk Etlerinden Gram Pozitif Kokların İzolasyonu ve Antibiyotiklere Karşı Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana. 72s.
- Yüce, A., 2001. Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. *Klinik Dergisi*, 14(2): 41-46.
- Yücel, Ş.İ., 2011. Lactic Acid Bacteria Used In The Production of Fermented Foods. *Biological Diversity and Conservation*, 4 (1): 42-53.
- Yüksekdağ, Z. N., 2005. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Fizyolojik, Biyokimyasal Plazmid DNA ve Protein Profil Özelliklerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 179s.
- Gezginç, Y., 2010. Geleneksel Yoğurtlardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Plazmit İçeriği ve Biyojenik Amin Üretimi Bakımından Gıda Endüstrisinde Kullanılabilirliğinin Araştırılması. Dalı Doktora Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kahramanmaraş. 259s.
- Zamfir, M., Vancanneyt, M., Makras, L., Vaningegem, F., Lefebvre, K., Pot, B., Swings, J. V.L., 2005. Biodiversity of Lactic Acid Bacteria in Romanian Dairy Products. *Systematic and Applied Microbiology*, 29 (6): 487-495.
- Zhao, S., Mcdermott, P.F., Friedman, S.J., Abbott, S., Ayers, A., Glenn, E., Hall-Robinson, S.K., Hubert, H., Harbottle, R.D., Walker, T., Chiller, M., and White, D.G., 2006. Antimicrobial Resistance and Genetic Relatedness Among *Salmonella* from Retail Foods of Animal Origin: Narms Retail Meat Surveillance. *Foodborne Pathogens Disease*, 3 (1): 106–117.
- Zhou, N., Zhang, J.X., Fan, M.T., Wang, J., Guo, G., Wei, X.Y., 2012. Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria Isolated from Chinese Yogurts. *Journal of Dairy Science*, 95 (9): 4775-4783.

## ÖZ GEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Filiz DOĞAN  
Uyruğu : T.C.  
Doğum tarihi ve yeri : 20.01.1991, ADIYAMAN  
Medeni hali : Bekar  
Telefon : 0 (538) 623 42 94  
e-posta : filizdogan.02@hotmail.com

### Eğitim

| Derece        | Eğitim Birimi                          | Mezuniyet tarihi |
|---------------|--|------------------|
| Yüksek lisans | KSÜ /Gıda Müh. Bölümü                  | 2016             |
| Lisans        | KSÜ/ Gıda Müh. Bölümü                  | 2012             |
| Lise          | İstanbul Samiha Ayverdi Anadolu Lisesi | 2008             |

### İş Deneyimi

| Yıl   | Yer   | Görev                |
|-------|---|----------------------|
| 2015- | İstanbul Bağcılar Mesleki ve<br>Teknik Anadolu Lisesi | Gıda Tekn. Öğretmeni |

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

1. Doğan, F. ve G. Yıldız Tiryaki. Geleneksel Susamlı Çörek Helvasının Gravimetrik-Boyutsal Özelliklerinin Araştırılması ve Sanayiye Aktarımının Özendirilmesi. Poster Bildiri (2. Oturum, P 8). 4. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu Bildiri Kitabı, ISBN: 978-

605-01-0603-9, ss.454, 1102 s., Gökçe Ofset Matbaacılık Yayıncılık Amb. Tur. Org. San. ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 17-19 Nisan, Adana (2014).

### **Hobiler**

Mühendislik bilimleri, Kitap okuma