

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Demet TATLI

GELENEKSEL SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN ANTİBYOTİK DİRENÇLERİNİN BELİRLENMESİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2009

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GELENEKSEL SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Demet TATLI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez 07/12/2009 Tarihinde Aşağıdaki Juri Üyeleri Tarafından Oybirliği/
Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

İmza.....	İmza.....	İmza.....
Prof.Dr.Zerrin ERGİNKAYA	Prof.Dr.Mehmet GÜVEN	Prof.Dr. Sadık DİNÇER
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof.Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: ZF2007YL57

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.

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**GELENEKSEL SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLERİNİN BELİRLENMESİ**

Demet TATLI

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman: Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA

Yıl: 2009, Sayfa:69

Juri: Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA

Prof. Dr. Mehmet GÜVEN

Prof. Dr. Sadık DİNÇER

Bu çalışmada, laktik asit bakterilerinin (LAB) izolasyonunu gerçekleştirmek amacıyla geleneksel olarak üretilen çeşitli süt ürünleri piyasadan temin edilmiştir. Analize alınan 15 beyaz peynir örneğinden, 23 LAB izole edilmiş ve bu suşların %53'ü vankomisine, 21'i gentamisine %31'i, siprofloksasine, %12'si eritromisine, %3'ü kloramfenikole ve %3'ü rifampisine dirençli, %28'i ise test edilen tüm antibiyotiklere karşı duyarlı olarak belirlenmiştir. 20 yoğurt örneğinden 23 LAB izole edilmiş olup, suşların %52'si vankomisine, %22'si siprofloksasine, %22'si gentamisine, %4'ü eritromisine ve tetrasikline dirençli olarak bulunmuş ve bu suşların %30'unun tüm antibiyotiklere duyarlı oldukları belirlenmiştir. 10 tulum peyniri örneğinden ise, 18 LAB izole edilmiş olup suşlardan %58'i vankomisine, %37'si siprofloksasine, %26'sı gentamisine, %11'i eritromisine ve %5'i tetrasikline dirençli olarak bulunurken, %28 'i tüm antibiyotiklere duyarlılık göstermiştir. 3 çökelek örneğinden izole edilen 5 LAB'a ait suşlardan %80'i vankomisine, %40'ı gentamisine ve siprofloksasine, %20'si ise eritromisine dirençli olarak bulunmuştur. Araştırmada 1 kefir örneğinden izole edilen 2 LAB suşlarının her ikisi de vankomisine dirençli bulunurken, suşlardan biri gentamisine, diğeri eritromisine dirençli olarak bulunmuştur. Analize alınan bir kaymak örneğinden tek bir laktik asit bakterisi izole edilmiş ve test edilen tüm antibiyotiklere karşı duyarlılık gösterdiği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Laktik asit bakterileri, geleneksel süt ürünleri, antibiyotik direnci

ABSTRACT

MSc THESIS

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF LACTIC ACID BACTERIA WHICH ISOLATED FROM TRADITIONAL DAIRY PRODUCT

Demet TATLI

**DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF CUKUROVA**

Süpervisor: Doç.Dr. Zerrin ERGİNKAYA
Year: 2009, Pages:69

Jury: Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA

Prof. Dr. Mehmet GÜVEN

Prof.Dr. Sadık DİNÇER

In this project, strains which related to 23 lactic acid bacteria that insulated from 15 white cheese samples have been found resistant despite of 53% vancomycin, 21% gentamycin, 31% siprofloxacın, 12% erythromycin, 3% chloramphenicol and 3% rifampicin. It is determined that %28 of lactic acid bacteria are sensible despite of all antibiotics which are tested. Strains which related to 23 lactic acid bacteria, that insulated from 20 yoghurt samples have been found resistant despite of 52% vancomycin, 22% gentamycin, 22% siprofloxacın, 4% erythromycin and tetracycline . It is determined that strains of 30% are sensible despite of all antibiotics. Strains which related to 18 lactic acid bacteria that isolated from 10 cheese encased in a skin samples have been found resistant despite of 58% vancomycin, 26% gentamycin, 37% siprofloxacın, 11% erythromycin and 5% tetracycline. It is determined that strains of 28% are sensible despite of all antibiotics. Strains which related to 5 lactic acid bacteria that isolated from 3 curd samples have been found resistant despite of 80% vancomycin, 40% gentamycin and siprofloxacın, 20% erythromycin. When both of two strains which related to 2 lactic acid bacteria that isolated from 1 kephir sample have been found resistant despite of vancomycin, they are found resistant %50 despite of gentamycin and erythromycin. From an analysed cream sample only one lactic acid bacteria is insulated and it is found that this lactic acid bacteria strain is sensible despite of all antibiotics which are tested.

Key Words: Lactic acid bacteria, traditionaly dairy product, antibiotic resistance

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince ve çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle yol gösterip, sabrı ve anlayışıyla bana örnek olan çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA' ya,

Jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet GÜVEN'e, ve Prof. Dr. Sadık DİNÇER'e,

Tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Ruksan ANARAT'a,

Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji ve Biyoteknoloji Anabilim dalındaki yüksek lisans yapan arkadaşlarıma,

Maddi desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu' na,

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli annem Nadide TATLI ve babam Cumali TATLI'ya, ailemin diğer fertlerine, ayrıca Önder ELBİSTANLI'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
RESİMLER DİZİNİ	X
KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1.Geleneksel Süt Ürünleri.....	4
2.1.1.Beyaz Peynir.....	4
2.1.2. Yoğurt.....	5
2.1.3.Tulum peyniri.....	5
2.1.4.Kefir.....	6
2.1.5.Çökelek.....	7
2.1.6.Tereyağı ve Kaymak.....	7
2.2.Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri.....	8
2.2.1. <i>Lactobacillus</i> spp.....	10
2.2.2. <i>Enterococcus</i> spp.....	11
2.2.3. <i>Streptococcus</i> spp.....	12
2.2.4. <i>Bifidobacterium</i> spp.....	13
2.3.Bakterilerin Antibiyotik Direnç Özellikleri.....	13
2.4.Laktik Asit Bakterilerinin Süt Ürünlerinden İzolasyonu İle İlgili Çalışmalar.....	18
2.5.Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri İle İlgili Çalışmalar.....	21

3.MATERYAL VE METOT.....	25
3.1.Materyal.....	25
3.1.1 Kullanılan Besi Yerleri ve Kimyasallar.....	25
3.1.2.Referans Suşlar.....	25
3.2.Metot.....	27
3.2.1. Örneklerin Hazırlanması.....	27
3.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu.....	27
3.2.3. Stok Kültür Hazırlama.....	27
3.2.4.Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması.....	28
3.2.4.1. <i>Enterococcus spp.</i> 'nin Tanımlanması.....	31
3.2.5. Morfolojik ve Biyokimyasal Testler.....	32
3.2.5.1. Gram Boyama.....	32
3.2.5.2. Katalaz Testi.....	32
3.2.5.3. Tuz Toleranslarının Belirlenmesi.....	32
3.2.5.4. Sıcaklık Toleranslarının Belirlenmesi.....	32
3.2.5.5.Glikozdan Gaz Üretimi	33
3.2.6. LAB'ın Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi.....	33
3.2.7. Laktik Asit Bakterilerinin Multiple Antibiyotik Direnç İndeksinin Hesaplanması.....	35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	36
4.1. Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri.....	36
4.2. Laktik asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri.....	44
4.2.1. Beyaz Peynir Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri....	44
4.2.2. Yoğurt Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri.....	45

4.2.3. Tulum peyniri Örneklerinden İzole Edilen	
Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri....	47
4.2.4. Çökelek Örneklerinden İzole Edilen	
Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri.....	48
4.2.5. Kefir ve Kaymak Örneklerinden İzole Edilen	
Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikler.....	48
4.3. Multiple Antibiyotik Direnç İndeksi.....	51
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	57
KAYNAKLAR.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	69

ÇİZELGELER DİZİNİ	SAYFA
Çizelge 3.1. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri.....	26
Çizelge 3.2. Araştırmada Kullanılan Kimyasallar, Çözeltiler.....	26
Çizelge 3.3. <i>Staphylococcus</i> spp. İçin NCCLS Doküman M2-A9 Zon Çapı Yorumlama Standartları.....	34
Çizelge 3.4. <i>Enterococcus</i> spp. İçin NCCLS Doküman M2-A9 Zon Çapı Yorumlama Standartları.....	35
Çizelge 4.1. İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Özellikleri.....	36
Çizelge 4.2. Laktik Asit Bakterileri ve İzole Edildiği Süt Ürünleri.....	39
Çizelge 4.3. Beyaz Peynir Örneklerinden İzole Edilen LAB'ların Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları.....	45
Çizelge 4.4. Yoğurt Örneklerinden İzole Edilen LAB'ların Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları.....	46
Çizelge 4.5. Tulum Peynirlerinden İzole Edilen LAB'ların Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları.....	47
Çizelge 4.6. Çökelek Örneklerinden İzole Edilen LAB'ların Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları.....	48
Çizelge 4.7. Kefirden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları.....	48
Çizelge 4.8. Kaymaktan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları	49
Çizelge 4.9. Beyaz Peynir Örneklerinden İzole Edilen LAB'ın Multiple Antibiyotik Direnç İndeksi sonuçları.....	52
Çizelge 4.10. Yoğurt Örneklerinden İzole Edilen LAB'nin Multiple Antibiyotik Direnç İndeksi Sonuçları.....	53
Çizelge 4.11. Tulum Peyniri Örneklerinden İzole Edilen LAB'nin Multiple Antibiyotik Direnç İndeksi Sonuçları.....	54

Çizelge 4.12. Çökelek Örneklerinden İzole Edilen LAB'nin	
Multiple Antibiyotik Direnç İndeksi Sonuçları.....	55
Çizelge 4.13. Kefirden İzole Edilen LAB'nin	
Multiple Antibiyotik Direnç İndeksi Sonuçları.....	55
Çizelge 4.14. Kaymaktan İzole Edilen LAB'nin	
Multiple Antibiyotik Direnç İndeksi Sonuçları	55

ŞEKİLLER DİZİNİ	SAYFA
Şekil 3.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Cins Düzeyinde Tanımlanması	30
Şekil 3.3. <i>Enterococcus spp.</i> ’nin Tanımlanması.....	31

RESİMLER DİZİNİ	SAYFA
Resim 4.1. 2 No’lu Süt ürünü Örneğinin (Antep Sıkma Keçi Peyniri) Görünüşü.....	42
Resim 4.2. 21 Suş No’lu <i>Streptococcus</i> spp’nin Koloni Görünüşü.....	42
Resim 4.3. 67 Suş No’lu <i>Bifidobacterium</i> spp.’nin Koloni Görünüşü.....	43
Resim 4.4 33 Suş No’lu <i>Lactobacillus</i> spp’nin Koloni Görünüşü.....	43
Resim 4.5 8 Suş No’lu <i>Streptococcus</i> spp’nin Vankomisin, sipprofloksasin ve Gentamisin Direnci.....	50
Resim 4.6 15 Suş No’lu <i>Lactobacillus</i> spp’nin Vankomisin ve Eritromisin Direnci.....	50

KISALTMALAR DİZİNİ

dk	: Dakika
GRAS	: Generally Recognized as Safe
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
MRS	: Man, Rogosa and Sharpe Agar
PCR	: Polymerase Chain Reaction
rpm	: Round per minute
rDNA	: Ribozomal DNA
rRNA	: Ribozomal RNA
ssp.	: Subspecies

1. GİRİŞ

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

Enfeksiyon etkeni olan mikroorganizmalara karşı etkin mücadele yapılması, eski çağlardan beri tıpta önemli çalışmalar arasında yer almıştır. Bu amaçla, bazı boyaların ve kimyasal maddelerin tedavi amacıyla kullanılması, 17. yüzyıldan itibaren başlamıştır (Yurdakul, 2008). Son 50 yıl içerisinde de insanların yaşam koşulları ve yaşam biçimlerindeki değişikliğe bağlı olarak, birçok hastalığa karşı dirençleri azalmış ve bu nedenle de tedavi amaçlı antibiyotik kullanımı artmıştır (Ammor ve ark., 2007).

Antibiyotikler, ilk kez 55 yıl önce mikrobiyal hastalıkların tedavisi için kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonraki yıllarda da, antibiyotiklerin klinikte kullanımının yararları görülmüş ve antibiyotik kullanımına bağlı olarak enfeksiyon hastalıkları kaynaklı ölüm vakalarında önemli bir azalma sağlanmıştır. Bu olumlu gelişmeler nedeni ile antibiyotikler bakteriyel enfeksiyonlarla savaşmak için tıpta önemli ölçüde çeşitli hastalıkların tedavisinin yanı sıra cerrahi mücadele ve kanser tedavisinde yoğun kullanımı yaygınlaşmıştır. Ayrıca Antibiyotiklerin kullanımı hayvansal gıda üretiminde, hayvan ve bitki hastalıkları ile mücadelede, koruyucu ve iyileştirici amaçlı kullanılmaktadır (Ammor ve ark., 2007).

Bununla birlikte bakteriler, antibiyotik direnç yeteneğine sahip ve çok iyi uyum sağlayan canlılardır. Antibiyotiklerin, son on yılda yanlış kullanımları nedeniyle, özellikle yoğun bakım hastalarında ve bebeklerde hastane enfeksiyonlarına bağlı ölüm olaylarına rastlanmaktadır. Son 20-30 yıldır, antibiyotiklerin seçimi ve dirençlerinin yayılması üzerine yapılan çalışmalar başta klinikte akraba türler üzerine odaklanılmıştır (Mathur ve Singh, 2005).

Birçok araştırmacı laktik asit bakterilerinin, insan vücudunda yaşayan diğer patojen veya benzeri bakteriler için antibiyotik direnç genleri açısından bir rezervuar olduğunu tahmin etmektedirler. Bu bakterilerin patojen bakterilere antibiyotik direnç

genlerini transfer etme yetenekleri, insan ve hayvan sağığı açısından önemli bir sorun olup, bakteri populasyonlarında antibiyotik direnç genlerinin nasıl yayıldığıının anlaşılması açısından önemlidir (Mathur ve Singh, 2005).

Antibiyotiklerin yukarıda belirtilen amaçlar için yaygın olarak kullanılması ile diğere yararlı olarak bilinen bakteriler ve probiyotik bakteriler ya da fermente ürünlerde rol alan laktik asit bakterileri gibi, gıda zinciri aşısından önem taşıyan bakterilerin insan ve hayvanlarda tedavi amaçlı kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli hale gelmesine neden olmaktadır. Söz konusu laktik asit bakterilerinde en çok tetrasiklin ve eritromisin dirençliliğine rastlandığı belirtilmektedir. Taşınan bu antibiyotik direnç genlerinin, çoğunun horizontal taşınma ile yayıldığı düşünülmektedir. Yapılan birçok araştırmada, insan ve hayvan bağırsağındaki bakterilerin hemen hemen aynı antibiyotiklere karşı direnç göstermeleri de organizmalar arasında direncin geninin transfer olasılığını ve yayılmasını doğrulamıştır (Ammor ve ark., 2007).

19. yüzyılın sonlarında fermente süt ürünlerinin mikrobiyolojik kompozisyonu üzerinde çalışmalar yapılmış ve daha sonra da bu türlerden, fermente süt ürünlerinde ticari olarak kullanılmak üzere saf kültür üretimleri gerçekleştirilmiştir. Süt ürünlerinde en yaygın olarak kullanılan ticari starter kültürlerin başında; *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leconostoc*, *Lactococcus* ve *Lactobacillus* gelmektedir. Bazı ülkelerde probiyotik amaçlı en sık kullanılan türleri ise; *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. delbrueckii* ve *L. jonhsonii*'dir (Zamfir ve ark. 2005) .

Gıda zincirinin, insan ve hayvan populasyonu arasında antibiyotik dirençli bakterilerin asıl taşınma yolu olarak dikkate alınması gereken bir nokta olduğu vurgulanmakta ve belirtilmektedir. Dirençliliğin, hastalıkların tedavisini engelleyen fırsatçı bakteriler ve insan patojeni olan bakterilere transfer edilebileceğı diğere bir ifadeyle antibiyotik direnç genleri laktik asit bakterileri aracılığıyla ya bağırsak sisteminden geçiş esnasında ya da gıdaların üretimi esnasında insan patojenlerine taşınabildiğı belirtilmektedir (Mathur ve Singh, 2005).

Tetrasiklin, eritromisin ve vankomisine dirençlilik genleri, fermente et ve süt ürünlerinde izole edilen, *Enterecoccus* ve *Lactobacillus lactis* türlerinde tanımlanmış

ve ortaya çıkartılmıştır. Son zamanlarda atılan ilk adımlardan biri de probiyotik mikroorganizmalar ve starter kültürlerin biyogvenliği konusu olup çalışmaların bu yöne kaydırılmasıdır (Mathur ve Singh, 2005).

Laktik asit bakterilerine ait birçok tür, gıda maddeleri ve geleneksel fermente gıdalarının üretiminde starter kültür olarak kullanılmakta veya doğal fermentasyonlarda indigen (doğal) flora olarak bulunmaktadır. Bu bakteriler, ‘‘Generally regarded as safe (GRAS) listesinde olmakla beraber, yukarıda belirtilen antibiyotik direnç özelliği taşıma olasılıklarından dolayı, potansiyel bir sağlık riski taşıyabilmektedirler (Mathur ve Singh, 2005; Ammor ve ark., 2007).

Özellikle tüketimden önce ısıl işlem görmemiş olan fermente et ve süt ürünleri aracılığı ile vcoda alınan ve direnç geni taşıyan laktik asit bakterileri, insan ve hayvan bağırsak florasında lokalize olabilme özelliğine sahiptirler (Mathur ve Singh, 2005; Ammor ve ark., 2008).

Bu araştırmada, farklı firmalar tarafından piyasada satılan geleneksel fermente süt ürünlerinden laktik asit bakterileri izole edilerek, özellikle insan tedavisinde de kullanılan eritromisin, tetrasiklin, vankomisin, ampisilin, rifampisin, gentamisin, nitrofurantoin, kloramfenikol ve siprofloksasin gibi antibiyotiklere karşı dirençlilikleri araştırılmış ve söz konusu suşların gıda kaynaklı risk taşıyıp taşımadıkları tartışılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bu bölümde, laktik asit bakterilerinin izole edildiği geleneksel süt ürünleri, süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri ve bakterilerin antibiyotik dirençleri ile ilgili genel bilgilerin yanı sıra, laktik asit bakterilerinin geleneksel süt ürünlerinden izolasyonu ve antibiyotik dirençlilikleri ile ilgili yapılan çalışmalar özetlenmiştir.

2.1. Geleneksel Süt Ürünleri

Ülkemizde ve dünyanın çeşitli yerlerinde üretilen fermente gıdaların çoğunun üretimi farklı olabilmekte ve bazıları üretildikleri yöreye göre farklı isimlerle bilinmektedir. Laktik asit bakterileri ise söz konusu fermente ürünlerin kalitesini ve niteliğini belirlemede önemli faktör olarak rol oynamaktadır (Erginkaya ve Hayaloğlu, 2001).

2.1.1. Beyaz peynir

Çeşitli peynir türleri içerisinde, Türkiye’de en fazla tüketilen peynirlerin başında beyaz peynir gelmektedir. Bu peynir türü, yurdumuzun daha çok Marmara ve Ege Bölgeleri’nde üretilmesine rağmen, diğer tüm bölgelerimizde de yaygın üretimi ve tüketimi görülmektedir (Kara ve ark., 1998).

Fermente süt ürünlerinin büyük bir çoğunluğunda rol alan laktik asit bakterileri, ya doğal olarak bulunmakta ya da starter kültür olarak ilave edilmektedir (Lombardi ve ark., 2004). Peynir olgunlaştırılmasının ilk aşaması olan üründeki laktozun laktik asite dönüşümünde, söz konusu bakteriler önemli bir rol almaktadırlar. Ürettikleri laktik asit ile peynir pıhtısına asit tadı vermekte, pıhtılaşmaya yardımcı olmakta ve karakteristik tekstür oluşumuna yardımcı olmaktadır. Ayrıca bozulmaya neden olabilecek bakterilerin gelişimini inhibe etme ve çeşitli aroma bileşiklerini üretme özellikleri de söz konusudur (Duan ve ark., 2007).

Peynir üretiminde en yaygın şekilde starter olarak kullanılan bakteri türleri *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Lc.lactis* subs. *diacetilactis* ve *Str. thermophilus*'tur. Homofermentatif karakterli bu bakteriler, glukoz fermentasyonu sonucu, laktik asit üretmektedirler (Erginkaya ve Hayaloğlu, 2001).

2.1.1. Yoğurt

Ülkemizde yoğurt geleneksel beslenme alışkanlıklarımızın önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Türkiye'de ev koşullarında yoğurt üretimi son derece yaygın bir uygulamadır. Yoğurdun karakteristik tat/aroma ve tekstürel özelliklerinin oluşumu, üretimde kullanılan yoğurt bakterilerinin metabolik aktivitelerinin bir sonucudur. Yoğurtta tüm fermentasyon metabolizması starter kültürler tarafından düzenlenmektedir. Yoğurt üretiminde starter kültür olarak *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kullanılmaktadır. Bu iki bakteri arasında simbiyotik bir ilişki vardır. *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* tarafından açığa çıkarılan serbest aminoasitleri içeren oligopeptitler *Str. thermophilus* gelişimini teşvik etmektedir. *Str.thermophilus*'un tarafından üretilen peptitler, pürin ve pürimidinler oksalik asit , fumarik asit, formik asit, pirüvik asit ve CO₂ gibi metabolitler ise *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un gelişimine yardımcı olmaktadır (Özer, 2006).

2.1.3. Tulum peyniri

Dünyada yaklaşık olarak 2000 kadar peynir çeşidinin bulunduğu, ülkemizde ise bu sayının 50'ye yakın olduğu bilinmektedir. Bunlar arasında en fazla salamura beyaz peynir, kaşar peyniri, tulum peyniri ve mihaliç peyniri üretilmektedir. Tulum peyniri, diğer peynir çeşitlerine göre besin değerinin yüksek olması ve daha değişik lezzet ve aromaya sahip olması nedeniyle ayrı bir öneme sahiptir. Türkiye' de kuru ve salamuralı olmak üzere 2 şekilde yapılmaktadır. Yapımında standart bir teknik uygulanmadığı için genellikle tüketime sunulan tulum peynirlerinin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kaliteleri oldukça farklı olmaktadır (Ateş ve Patır, 2001).

Tulum peyniri, üretim bölgelerine göre Şavak, Dilve ve Çimi Tulum peynirleri gibi değişik isimler almaktadır. Peynirlerin olgunlaştırılmasında, koyun derisine göre daha dayanıklı olan keçi derisinden yapılan tulumlar yaygın olarak kullanılmakta, ayrıca plastik bidonlarda da üretim yapılmaktadır (Tarakçı ve ark. 2005).

Tulum peyniri, sütün mayalanması sonucu oluşan pıhtının usulüne göre işlenmesi ve tulumlara ya da plastik bidonlara basılıp belli bir süre olgunlaştırılması ile elde edilmektedir. Ticari ya da deneysel olarak üretilen tulum peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi üzerine birçok araştırma yapılmıştır. Yapılan birçok çalışmada tulum peynirinin olgunlaşmasında rol alan ve karakteristik tat oluşumunda etkili olan *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lb. plantarum*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Lc. casei* subsp. *casei* ile, *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Leu. mesenteroides* subsp. *dextranicum* ve *Lc. lactis* türlerinin olgunlaşmada etkili olduğu bulunmuştur (Ateş ve Patır , 2001).

2.1.4. Kefir

Kefir, hem laktik asit hem de alkol fermentasyonun etkin olduğu fermente bir süt ürünüdür. Kefir fermentasyonunda laktik asit bakterileri laktik asit, mayalar ise alkol ve CO₂ üretmektedirler.

Kefir üretiminde, değişik mikroorganizmalar içeren kefir taneleri kullanılmaktadır. Ticari kefir kültürü genellikle, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ve laktozu fermente edebilen bazı mayalar kullanılmaktadır. Kefir üretiminde laktik asit, alkol ve CO₂ üreten değişik cins laktik asit bakterileri ve maya kombinasyonları kullanılmaktadır. Ancak yapılan bazı çalışmalarda kefir taneleri *Lb. bulgaricus*, *Lb. brevis*, *Lc. subsp. lactis diacetilactis* gibi laktik bakterilerine ve laktozu fermente edebilen mayalara rastlanmıştır (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

Kefir yapımı sırasında laktik fermentasyona ve alkol fermentasyonuna bağlı olarak laktozdan uçucu olmayan asitler ve bazı uçucu maddelerin yanı sıra alkol ve karbondioksit meydana gelmektedir. Kefirin yapısında bulunan laktik asit, oksalik asit ve α -ketoglutarik asit kefire ekşimsi ve ferahlatıcı tadı vermektedir. Kefirin tipik

aromasında ise, uçucu yağ asitleri ile alkoller ve karbonil bileşikleri rol oynamaktadır (Erginkaya ve Hayaloğlu , 2001).

2.1.5. Çökelek

Çökelek peynirine Batı Anadolu ve Trakya’da “ekşimik”, Bolu ve Akdeniz’ de “keş”, bazı yörelerde “ak katık”, “kesik” ya da “urda” adı verilmektedir. Trabzon’un Of ilçesinde yayık artığı ayranın ısıtılmasıyla elde edilen çökeleğe “minci” ya da “minzi” (Trabzon ve Giresun tuzlu ve kokulu çökelek peyniri) veya “yağlı” ve çerkezler tarafından “beğirim” olarak da adlandırılmaktadır. Doğu Anadolu da bazı bölgelerde “jaji, jajik, cacık, torak veya çotran” da denilmektedir. Çökelek peyniri üretiminde süt, yoğurt ve peynir altı suyu karışımı olmak üzere üç farklı hammadde kullanılabilir. Üretimi, yoğurdun sulandırılıp yayıklama işlemiyle yağı alındıktan sonra, geriye kalan ayranın karıştırılarak bir süre kaynatılması sonucu oluşan pıhtının bez torbalara alınarak suyunun süzülmesi esasına dayanmaktadır (Karaca ve Güven, 2005). Çökelek, Türkiye’de sevilerek tüketilen kahvaltıda, bazı yöresel yemeklerin yapımında ve otlu peynir kalıplarının arasına konulması gibi değişik amaçlarla kullanılmaktadır (Ağaoğlu ve ark., 1996, Kırdar, 2002).

2.1.6. Tereyağı ve Kaymak

Tereyağı, spontan fermentasyon veya genellikle starter kültür kullanılarak kontrollü fermentasyonla olgunlaştırılmış ekşi kremadan üretilen bir süt ürünüdür. Bu şekilde ekşi kremadan üretilen tereyağlarına “kültüre edilmiş tereyağı” adı verilmektedir. Dünyanın birçok bölgesinde “ekşi krema” adı altında farklı türlerde kaymak bulunmaktadır (Goddik, 2000). Olgunlaşmış veya tatlı kremadan üretilen tereyağı ise İngilizce olarak “sweet cream butter” olarak bilinmektedir. Son zamanlarda spesifik starter kültürlerin kullanımıyla kontrollü koşullar altında tereyağı üretimi yaygınlaşmıştır. Tereyağı üretiminde sağımdan hemen sonra soğutulan sütün kreması ayrılmaktadır (Erginkaya ve Hayaloğlu, 2001).

Krema; Türk Gıda Kodeksi ve Kaymak Tebliğine göre, ağırlıkça en az %60 oranında süt yağı içeren krema olarak ifade edilmiştir ve genellikle %30 - 33 yağ içerecek şekilde standardize ve 73 °C’ de 25 saniye (HTST) pastörize edildiği daha sonra kremanın 16 – 21°C’ ye soğutulurak %4 oranında karışık kültür inoküle edildiği belirtilmiştir (Anonymous, 2009). Genellikle tereyağı üretiminde asit üreten *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve/veya *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* kültürleri, tat ve krema üreten türler olarak da *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* ve/veya *Leuconostoc dextranicum* ve *Lactococcus lactis* subsp. *diacetilactis* kullanılmaktadır.

Kremanın geleneksel üretimi ise; süt sağılıp eve getirildikten sonra ocakta iyice kaynatıldıktan sonra, süt yukarıdan aşağıya doğru savrulurak tepsilere doldurulmaktadır. Tepsiler, ateşte 5-6 saat bekletildikten sonra sütün yüzünde oluşan kaymak daha sonra alınarak kaymak süpürgesi denilen otun üzerine serilmekte ve bu şekilde kurumaya bırakılmaktadır. Gevrek bir şekle gelene kadar bekletilen kaymak, daha sonra ince tülbentlere sarılarak kaldırılmaktadır (Anonymous, 2009).

2.2. Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri

Laktik asit bakterileri (LAB), uzun yıllardır gıda ve süt fermantasyonunda çok önemli role sahip olan, laktik asit üreten, şekeri fermente edebilen, gram pozitif, spor oluşturmeyen, çubuk ve kok biçiminde olan bakterilerdir (Yıldırım, 2001; Mathur ve Singh, 2005; Kayagil, 2006; Kushiro, 2009). Dayanıklılık gösterdiği sıcaklık değer aralığı 5-50 °C arası, optimal faaliyet gösterdiği sıcaklık 30 °C civarındadır (Rees, 1997). LAB, süt ürünleri üretiminde kültür olarak kullanılan türler de dahil olmak üzere çok sayıda bakteri cinsini kapsamaktadır. LAB’nin en önemli cinslerinden birisi *Lactobacillus*’dur. Bu cins içindeki bakteriler, gastrointestinal sistemden başka fermente gıdalarda da bulunabilmektedirler (Teuber ve ark, 1999; Gürsoy ve Kınık, 2004).

LAB içerisinde, biyokimyasal ve ekolojik özellikleriyle birlikte filogenetik olarak birbirine yakın olan “*Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*” cinsleri yer almaktadır. Bu bakteriler, zorunlu homofermentatif ve zorunlu heterofermentatif olarak iki ana gruba ayrılmaktadır. Ancak *Lactobacillus* cinsi için üçüncü bir grup olarak fakültatif grup da bulunmaktadır (Axelsson, 2004). LAB, taksonomik olarak, morfolojik yapılarına, tuz asit ve alkali toleranslarına, yağ asitleri bileşimine ve DNA baz dizisi gibi genetik kriterlere bağlı olarak sınıflandırılmaktadır (Erginkaya ve Hayaloğlu, 2001; Palalı, 2007).

Bifidobacterium cinsi bakteriler, filogenetik olarak diğer laktik asit bakterilerine benzememesine rağmen, biyokimyasal, fizyolojik ve ekolojik özelliklerinden dolayı genellikle laktik asit bakterileri terimi içerisinde yer almaktadır (Adams, 1999).

LAB, “güvenli bakteriler” olarak kabul edilirler ve koruyucu kültürlerin özelliklerini taşırlar. Gıdalarda sadece gıda kaynaklı patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmaları inhibe etmek ve/veya raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadır. Ayrıca gıdanın duyu özelliklerinde olumlu değişime neden olmasının yanı sıra antagonistik özelliklerinden dolayı birçok üründe starter kültür olarak kullanılmaktadır (Aslım ve Beyatlı, 1997; İşleroğlu ve ark. 2008; Çakır, 2003; Bergamini, ve ark., 2009).

Bazı laktik asit bakterileri ise, insanların ağız boşluğunda, intestinal bölgesinde ve vajinada, insan ekosistemine katkıda bulunmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı, son yıllarda bazı laktik asit bakterileri birçok ürünlerde ve hayvan yemlerinde probiyotik olarak kullanılmaktadır (Schleifer ve Ludwig, 2002; Jansson, 2005). Birçok araştırmacı probiyotik ürünler ve diğer laktik asit fermentasyonu sonucu elde edilen geleneksel ve ticari ürünlerin tüketimindeki potansiyel artışlar, beraberinde laktik asit bakterilerinin patojen bakterilere

“antibiyotik dirençlilik” özelliğini transfer etme tehlikesine dikkat çekmektedirler (Ammor ve ark., 2008).

2.2.1. *Lactobacillus* spp.

Çubuk şeklinde olan bu bakterilerin bazı türleri, kokobasil veya uzun zincir oluşturma özelliğindedir. Çok az tür veya suşun dışında, hareketsizdirler. *Laktobacillus*’lar doğada ve gıdalarda sık rastlanan yaygın bakteriler arasındadır. Normal süt florasında bulunurlar. Genellikle nitratı redükte etmezler ve 5-53 °C ile pH 5,5-5,8 arasında gelişebilirler. Patojen özellik göstermezler. Aksine oluşturdıkları bakteriyel özellikteki maddeler sayesinde saprofit ve patojen bakterilerin gelişmesini engellerler. Proteini parçalama özellikleri tür ve suşlara göre değişiklik göstermektedirler. Hücre içi peptidazlarla peptidleri aminoasitlere kadar parçalarlar. Bu özellikleri nedeniyle, yoğurt ve benzeri ürünlerin yapımında ve sert peynirlerin olgunlaştırılmasında starter kültür olarak kullanılırlar (Kılıç, 2001; Rosaria D’Aimmo ve ark., 2006)

Laktobasiller, insan ve hayvanların doğal florasının bir parçasıdır ve birçok üründe güvenilir olarak tanımlandığı için teknolojik olarak kullanılmaktadır (Rosaria D’Aimmo ve ark., 2006; Xiaodong ve ark, 2008).

Lactobacillus cinsine ait 3 farklı grup vardır. Birinci grup: *Thermobacterium*, ikinci grup: *Streptobacterium* ve üçüncü grup: *Betabacterium*’dur.

Birinci grup olan *Thermobacterium*’lara ait 15 tür bulunmakta olup, homofermentatif özelliktedir. Pentozlar ve glukonatları fermente edemezler ve glukoz ve glukonattan gaz oluşturmazlar ve 15-45 °C’de gelişirler.

İkinci grup laktobasiller olan *Streptobacterium*’da fakültatif heterofermentatif laktobasil türleri yer almaktadır. Bunlar heksozların hemen hemen tümünü laktik asite fermente etmelerinin yanı sıra, pentozlardan laktik asit ve asetik asit oluşturma özelliklerine sahiptirler ve 23-35 °C’de gelişirler.

Üçüncü grup olan *Betabacterium*’lar ise heterofermentatif laktobasil türlerini kapsar. Bunlar heksozları %50 oranında laktik asit, etanol ve CO₂ ‘e fermente

ederler. Glukozlardan gaz, fruktozdan mannitol oluşturular. 15 °C ve 45 °C’de gelişimleri türlere göre değişiklik gösterirler (Kılıç, 2001).

2.2.2. *Enterococcus* spp.

Enterokoklar, hayvanların sindirim atıklarında, toprakta, kirli suda hayvansal gıdalarda bulunabilen bakterilerdir. Bu bakteriler primer patojen olarak bilinmezler, fakat genellikle ikincil patojen olarak özellikle insan bağışıklığını tehlikeye atan bakteriler içinde tanımlanmaktadır. Ayrıca Enterokoklar, ciddi insan patojeni olan diğer bakteriler için düz(yatay) transfer edilebilen antibiyotik direnç genlerinin rezervuarı olarak dikkate alınmaktadır (Larson ve ark., 2007).

Enterokoklar, fonksiyonel özelliklerinden dolayı yani asitlik, proteoliz ve lipolitik aktiviteleri, sitrat metabolizması, probiyotik özellikleri ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip proteinleri sentezleme yeteneklerinden dolayı fermente gıda endüstrisinde önemli yer tutan laktik asit bakterilerinden birisidir (Andrighetto ve ark., 2001; Sarantinopoulos ve ark., 2001; Giraffa 2003; Franz ve ark., 2003; Foulquie Moreno ve ark., 2006; Ogier ve ark. 2008). Başlangıçta *Streptococcus* cinsi içinde yer alan enterokoklar, “fekal streptokoklar” veya “Lancefield serolojik D grubu streptokoklar” olarak bilinmekteydi. 1984 yılında streptokoklardan farklılığı ortaya konarak *Enterococcus* adı altında ayrı bir cins olarak kabul edilmiştir. *Enterococcus* cinsine ait türler, ikili ya da kısa zincirler halinde bulunan fakültatif anaerob koklardır. Bunlar kemoorganotrofikler ve homofermantatif laktik asit fermentasyonu ile heksozlardan L-laktik asit oluşturular. Optimum gelişme sıcaklıkları 35 °C olan enterokoklar, 60 °C’de 30 dakika uygulanan ısıl işlemle canlılıklarını koruyabilme özelliğine sahiptirler (İşleroğlu, 2008).

Enterokoklar, çok iyi fırsatçı patojen olarak bilinmekte ve özellikle de hastane enfeksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Bu bakteriler, hastane enfeksiyonlarından olan, bakteriemi üriner sistem enfeksiyonu ve endokarditis olarak bilinen enfeksiyonlardan sorumludurlar (Lukasova ve Sustackova, 2003).

Bununla birlikte enterokoklar bazı geleneksel fermente gıdalarda dominant mikroflora olarak rol oynarlar. Laktik asit bakterilerinden olan enterokoklar fermente

gıdaların tat, aroma ya da sertlik yumuşaklık gibi özelliklerinde olumlu katkıda bulunurlar (İşleroğlu, 2008).

Enterococcus cinsi bakteriler her yerde bulunabilme özelliğine sahiptirler. Bu bakteriler insan ve hayvan bağırsaklarında normal floranın bir parçasıdır ve memelilerin gastrointestinal yolundaki bakterilerin büyük bir kısmını oluştururlar (Erginkaya ve ark., 2007).

Enterokokların pastörizasyon sıcaklıklarına dirençli olmalarının yanı sıra, farklı substrat ile düşük ve yüksek sıcaklık, ekstrem pH ve tuz konsantrasyonları gibi gelişme koşullarına adapte olma yetenekleri sayesinde, süt ve et gibi içi materyallerden üretilen gıda ürünleri ile ısıtma işlemi uygulanan gıda ürünlerinden çok sık izole edilirler. Ayrıca enterokoklar, ürün işleme süresince son ürünü kontamine edebildikleri için özellikle peynir ve fermente etlerde gıda florasının önemli bir bölümünü oluştururlar (Franz ve ark., 2003, Giraffa, 2003).

Enterokoklar, süt endüstrisinde önemli bir yere sahiptir. Bazı peynirlerin olgunlaşması sırasında duyu özelliklerinin gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Ayrıca peynir starter kültürlerinin bir bileşeni olarak da kullanılmaktadır. İngiltere’de ”Advisory Committee on Novel and Processes” Komitesi”fermente süt ürünlerinde *E.faecium* k77D suşunun starter kültür olarak kullanımını kabul etmiştir (Franz ve ark., 2003; Sarantinopoulos ve ark., 2001).

2.2.3. *Streptococcus* spp.

Laktik asit üreten *Streptococcus*’lar, peynir ve bazı fermente süt ürünlerinin üretiminde önemli rol oynamakta olup en önemli türleri *Str. thermophilus*, *Str. lactis*, *Str. cremoris* ve *Str. raffinolactis*’tir. Ancak, yeni sınıflandırmada *Str. lactis* ve *Str. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* olarak, sınıflandırılmaktadır. *Str. lactis*, doğal olarak, çiğ süt, süt ürünleri ve bitkilerde bulunan homofermentatif bir bakteri türüdür. *Str. raffinolactis*, ise genelde asitliği gelişmiş sütlerden izole edilmektedir.

Laktik streptokoklar, laktoz fermentasyonunda, laktozu önce glukoz ve galaktoz 6-fosfata dönüştürdükten sonra, son ürün olarak laktik asit meydana

getirirler. Bu durum, süt ve süt ürünlerinde karakteristik aroma oluşumu açısından oldukça önemlidir. Ancak proteolitik enzim sistemi zayıftır, *Lactobacillus*'un sağladığı peptitlerle sütte simbiyotik gelişme göstermektedir (Erginkaya ve Hayaloğlu, 2001).

2.2.4. *Bifidobacterium* spp.

İlk kez 1899 yılında Tissier tarafından izole edilen *Bifidobacterium*'lar *Actinomycetaceae* familyasına dahildir. *Bifidobacterium*'ların 15'i hayvansal kaynaklı 9'u insan bağırsak florası kökenli olmak üzere 24 suşu bulunmaktadır. *Bifidobacterium*'lar çubuk şeklinde anaerob olup, O₂ toleransı suşa göre değişkenlik göstermektedir. *Bifidobacterium bifidum* H₂O₂ eksikliğinde O₂'ye nispeten daha fazla tolerans göstermektedir. İnce bağırsak florasında yer alan *Bifidobacterium bifidum* suşlarının optimum gelişme sıcaklığı 36-38 °C arasında değişmektedir. Hayvansal kökenli suşlar ise 41-43 °C gibi yüksek sıcaklıklarda gelişim göstermektedir. Hiçbir suş 20 °C'nin altında ya da 46 °C'nin üzerinde gelişim gösterememektedir. Optimum gelişim gösterdikleri pH aralığı 5.0 ile 8.0'dir (Özer, 2006).

Bifidobakterler, bağırsak sisteminin doğal mikroflorasında patojen bakterilere karşı koruyucu bir rol oynayarak insan bağırsak florasındaki dengeyi sağlamaktadır. Bu nedenle bifidobakterler probiyotik grup içerisine dahil edilmektedir. Bifidobakterler, beslenme ve özellikle sağlık üzerindeki yararlarından ötürü süt endüstrisinde kullanılan önemli probiyotik mikroorganizmalardır (Fenderya ve Akalın, 2003). Bifidobakterler, bağırsak ve mide sistemi enfeksiyonlarında nadiren görülmesine rağmen, yalnızca *B.dentium* insanlar için patojen olarak dikkate alınmaktadır (D'Aimmo ve ark ., 2006).

2.3. Bakterilerin Antibiyotik Direnç Özellikleri

Direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneğidir (Durupınar, 2001). Direnç gelişimi ve yayılımı genellikle gereksiz ve uygunsuz antibiyotik kullanımına bağlanmakla birlikte 1940'lı yıllarda antibiyotiklerin kullanılmadığı bazı adalarda toprak ve dışkı

örneklerinde tetrasiklin ve streptomisine dirençli bakteriler bulunduğu; antibiyotik direncinin yalnızca yaygın antibiyotik kullanımı sonucu ortaya çıkmadığı, bakterilerinin olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürmek için kullandığı savunma sürecinin bir parçası olduğu da belirtilmektedir. Ancak antibiyotiklerin yoğun şekilde kullanıma girmesiyle birlikte yıllar içinde farklı ve gittikçe artan sayıda dirençli mikroorganizmalar ortaya çıkmış ve bunlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde büyük sorunlar yaşanmaya başlanmıştır. Günümüzde tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirilmekte, diğer yandan bunlara süratle direnç kazanan mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlar artmakta ve sorunun boyutları giderek büyümektedir (Ammor ve ark., 2007).

Antibiyotik direnci, gerek toplum gerekse hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde halen sorun oluşturan ve halen giderek büyüyen bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Gülay, 2002; Demirtürk ve Demirdal, 2004). Son 15-20 yıl içinde klinik açıdan önemli bakteri türlerinin çoğu, enfeksiyonların tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirmiştir. Genellikle antibiyotiklerin kapsamlı kullanımı antibiyotik dirençliliklerinin artışı için temel bir risk faktörü olarak kabul edilir. Bu durum, insan ve hayvanda direnç genlerinin yayılması bakteri direncinin ortaya çıkması ve yayılmasına kılavuzluk etmektedir. Antimikrobiyal özellikli ilaç kullanılan hayvanlarda sadece hayvanda bulunan patojenlerin direnç kazanmasını değil, ayrıca bu direncin hayvanlardan insana transfer edilmesi açısından risk taşımaktadır (Gülay, 2002).

Çoğu çalışmalar sadece patojen bakterilerin değil ayrıca kommensal bakterilerinde antibiyotik direncinin yayılmasında risk taşıdığını göstermektedir. Laktik asit bakterileri gibi kommensal bakteriler, patojenler için direnç genlerinin rezervuarı olarak rol almaktadır (Lukasova ve Sustackova, 2003).

Antimikrobiyal özellikli ilaçlara karşı duyarlılık, birçok yöntem ile saptanabilmektedir. Rutin laboratuvarlarda uygulanan testlerde, genellikle ilaçların inhibitör (bakteriyostatik) aktivitesi değerlendirilir.

Bu amaçla uygulanan yöntemler :

- 1-Katı veya sıvı besiyerlerinde seyreltme (dilüsyon) yöntemleri,
- 2-Disk difüzyon yöntemi,
- 3-Gradyent difüzyon (Etest) yöntemi ve
- 4-Antimikrobiyal maddeleri inaktive eden enzimlerin saptanması olarak sıralanabilir (Gülay, 2002).

Dirençler doğal (intrensek) direnç, kazanılmış direnç ve çapraz direnç olmak üzere üç çeşittir.

Doğal Direnç: Bazı bakteriler, antibiyotiklere doğal olarak dirençli olabilir. Bu tür direnç bakterinin temel özelliğidir ve ilaç kullanımı ile ilişkisi yoktur kalıtsal değildir. Doğal direnç, bu mikroorganizmaların tür özelliği olarak ilacın hedefi olan yapıyı taşımamalarının veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşmamasının bir sonucudur. Örneğin ilacın dış membrandan geçmemesi nedeniyle gr (-) bakteriler, vankomisine doğal olarak dirençlidir.

Kazanılmış Direnç: Bir bakteri genetik özelliklerindeki değişimlere bağlı olarak eskiden duyarlı olduğu bir antibakteriyel ajandan etkilenmeyebilir. Bu durumda o bakteri direnç kazanmış olur. Genetik kaynaklı direnç kromozomal veya kromozom dışı maddelere bağlı olabilir. Kromozomal direncin dışında, ektrakromozomal direnç, plazmidler, transpozonlar, konjugasyon, transformasyon ile direnç genleri aktarılabilir.

Çapraz Direnç: Belli bir ilaca karşı dirençli olan bazı mikroorganizmaların, aynı veya benzer mekanizma ile etki eden diğer ilaçlara karşı da dirençli olma halidir. Bu durum genellikle yapıları benzer ilaçlar arasında gözlenmektedir. Eritromisin, neomisin, kanamisin gibi. Ancak bazen tümüyle ilgisiz ilaçlar arasında görülebilir (Yüce, 2001).

İnsan tedavisinde ve hayvanlarda gelişim arttırıcı olarak kullanılan antibiyotikler arasında çapraz direnç bulunmaktadır. Çapraz direnç sonucunda

hayvan gelişiminde kullanılan antimikrobiyellere direnç, insanlarda tedavi amacıyla kullanılan ilaçlara dirençle sonuçlanmaktadır (Emborg ve ark., 2003).

1990 yılında Hollanda’da antibiyotiklerin 80 bin kg insanda kullanılmış, 300 bin kg ise hayvanlarda veteriner reçetelerinde kullanılmıştır. Antibiyotik kullanımı vücut ağırlığı yaşı ve aktif madde açısından hesaplandığında her iki populasyonda da eşdeğerdir (Van den Bogaard ve ark., 2002). Son 60 yıldır biyosfere 1-10 milyon ton antibiyotik bırakılmış olduğu tahmin edilmektedir (European Commision, 2005). Bu durum, dirençli suşların ortaya çıkmasında güçlü bir baskı oluşturmaktadır. Dünyada, antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların direnci insanda ve veteriner ilaçlarında önemli bir problemdir. Genellikle, antibiyotik kullanımının yayılımı antibiyotik dirençlerindeki artış için temel risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. Bu durum insan ve hayvanlarda direnç genlerinin ve bakteri dirençlerinin ortaya çıkması ve yayılımı için öncülük etmektedir (Lukasova ve Sustackova, 2003). Dirençlilik, bir bakteri türü için doğal ya da kazanılmış, başka bir bakteriden diğerine geçmiş veya bir çok ardışık mutasyonlar ya da genlerin birleşmesiyle oluşmuş olabilir (Ammor ve ark.,2008).

Duyarlılık test sonuçları mutlaka identifikasyon sonuçları ile beraber değerlendirilir. Bazı bakteri türleri genetik özellikleri açısından bir antibiyotik hedefi olan ya hiç içermediği ya da antibiyotik hedefe ulaşmasını engelleyecek bir yapıyı veya antibiyotiği inaktive edebilecek enzimleri taşıdığı için o antibiyotiğe dirençlidir.

Bazı bakteri türleri, genetik özelliği açısından antibiyotik hedefi olan yapıyı içermediği, ya da antibiyotik hedefe ulaşmasını engelleyecek ve antibiyotiği inaktive edecek enzimler taşıdığı için o antibiyotiğe karşı dirençlidir. Bu yüzden duyarlılık test sonuçları mutlaka identifikasyon sonuçlarıyla beraber değerlendirilmektedir (Ammor ve ark., 2007).

Yapılan bazı araştırmalarla, antibiyotik direnç genlerinin artış nedenine gıdaların aracılık yaptığı tahmin edilmektedir (Kushiro, 2009). Gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliğine yönelik *Lactococcus*,

Lactobacillus ve *Bifidobacterium*'la ilgili yapılan araştırmalar sınırlı iken, en fazla araştırma fırsatçı patojen olan *Enterococcus* cinsi bakteriler üzerine yapılmıştır. Akdeniz bölgesinde üretilen geleneksel peynirlerin büyük bir kısmında rastlanan *Enterococcus*'lar çiğ ve pastörize sütlerde de sık rastlanmaktadır (Suzu ve ark., 2000; Morandi ve ark., 2006). Bu bakterilerden bir kısmının da bazı antibiyotiklere karşı dirençli oldukları yapılan araştırmalarla belirlenmiştir. Söz konusu dirençli suşların gıda zinciri ile yayılması büyük bir risk olarak karşımıza çıkmaktadır (Bertrand ve ark., 2000, Ammorve ark., 2008).

Antibiyotiklerin uygunsuz bir şekilde hayvan beslenmesinde gelişim arttırıcı olarak kullanılması, dirençli *Enterococcus* türlerinin ortaya çıkmasında selektif ajan rolü taşımaktadır (Butaye ve ark., 2000; Giraffa, 2002; Cocconcelli ve ark., 2003). *Enterococcus* spp.'lerde en sık görülen antibiyotik dirençleri genellikle doğal ve kazanılmış direnç tipleridir. Doğal dirence örnek vankomisin (VanCtip) direnci *E.gallinarum*, Striptogramisin *E. faecalis*'de *E. Faecium*'da özellikle ampisilin tetrasiklin, aminoglikosidaz, kloramfenikol kazanılmış dirençtir (Foulquie Mreno ve ark., 2006).

Enterokokların patojenitesine katkıda bulunan faktörlerden birisi de, bunların çok fazla çeşitte antibiyotiklere olan dirençleridir. Antibiyotik direnci doğal (iç) direnç ve kazanılmış (transfer edilebilen) direncin her ikisini de kapsamaktadır. Vankomisin direnci önemlidir. Çünkü bu antibiyotik çok yönlü enterokokal enfeksiyonların tedavisinde en son başvurulacak çok kuvvetli bir antibiyotiktir. Vankomisin dirençli enterokokların(VRE), hastanelerde ortaya çıkması, enfeksiyonların geleneksel antibiyotik terapileri ile tedavi edilemez duruma getirmektedir (İşleroğlu ve ark., 2008).

Hücre duvarı sentez inhibitörü yönüyle *Lactobacillus*'lar genellikle penisilinlere (piperasilin ve ampisilin) ve β -laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır, fakat oksasilin ve sefalosporin (sefoksitin ve seftriakson) için dirençlidir. Çoğu laktobasiller genel olarak aminoglikosid'lere (neomisin, kanamisin, streptomisin ve gentamisin) oldukça dirençli, tetrasiklin klindamisin, eritromisin, kloramfenikol gibi

protein sentezini inhibe eden antibiyotiklere duyarlıdır. Laktobasiller genellikle nükleik asit sentezini engelleyen enozasin, pefloksasin, norfloksasin, nalidiksik asid, sulphamethaksazol, trimethoprin, co-trimoksazol ve metronidazole dirençlidir (Ammor ve ark., 2008).

Bifidobakteriler; genellikle, gr(+), spektrumlu antibiyotiklere (makrolides, basitrasin, eritromisin, lincomisin, novobiosin, teikoplanin ve vankomisine), geniş spektrumlu antibiyotiklere (rifampisin, spektinomisin ve kloramfenikol) ve β -laktamlara (penisilin, ampisilin, amoksisilin, piperasilin, ticarsilin ve imipenem) karşı duyarlıdır. Tetrasiklin, sephalotin ve sefatetana karşı duyarlılıkları değişkendir. Sonuç olarak *Bifidobacterium* türleri metronidazole gr(-) spektrumlu antibiyotiklere (fusidik asid, nalidiksik asid ve polimiksin B) ve aminoglikozidlere (neomisin, gentamisin, kanamisin ve streptomisin) karşı dirençlidir. Bazı *Bifidobacterium*'lar vankomisin ve eritromisin, klindamisin ve tetrasikline dirençli olduğu düşünülmektedir (Özer, 2006).

2.4. Laktik Asit Bakterilerinin Süt Ürünlerinden İzolasyonu İle İlgili Çalışmalar

Cogan ve ark. (1997), İspanya piyasasından toplanan toplam 35 peynir örneğini incelemişlerdir. İzolatların %38'i *Lactococcus*, %17'si *Enterococcus*, %14'ü *Streptococcus thermophilus*, %12'si mezofilik *Lactobacillus*, %10'u *Leuconoctoc*, %9'u termofilik *Lactobacillus* olduğunu belirtmişlerdir.

Mannu ve ark. (1999), sığır sütünden üretilen ve üretiminde starter kültür kullanılmayan Pecorino Sardo peynirlerinin mikroflorasını incelemişler ve bu peynirlerde sadece *Enterococcus* ve *Lactococcus* türlerinin bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Gelsomino ve ark. (2001), enterokokların sütlere direkt hayvan veya insan dışkısı ya da kontamine su kaynakları, ekipmanlar veya depolama tanklarından bulaştıklarını bildirmişlerdir. Cheddar peynirinin üretimi sırasında çeşitli kaynaklardan izole ettikleri *Enterococcus* türlerini tanımlamışlar ve sığırlarda izole edilen türler içinde *Enterococcus faecium* baskın iken; insan dışkısı, süt ve peynirlerde ise *Enterococcus casseliflavus* ve daha sonra da *Enterococcus faecalis*'in

en sık izole edilen tür olduğunu bildirmişlerdir. Süt depolama tankları ve ekipmanlarda ise izole edilen türlerin sadece *Enterococcus casseliflavus* ve *Enterococcus faecalis* olduğunu belirtmişlerdir.

Erdoğrul ve Dığrak, (2001) Kahramanmaraş'ta satışa sunulan pastörize süttten yapılmış beyaz peynirler üzerine yapmış oldukları çalışmada 22 adet beyaz peynir örneğinin tamamında starter kültür olarak kullanılan *Streptococcus faecalis* tespit etmişlerdir.

El-Din ve ark. (2002), *Enterococcus faecium*'un çiğ sütteki dominant flora olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca peynirlerde sık rastlanma nedenlerinin başında, bu bakterilerin yüksek sıcaklık, tuz ve aside olan toleranslarından ileri geldiğini belirtmişlerdir.

Manopoulou ve ark. (2003), Feta peynirlerinden elde edilen 146 izolatın 29 tanesinin *Enterococcus faecium* olduğunu ve bu türlerin peynir üretiminden olgunlaştırma sonuna kadar varlığını sürdürdüğünü tespit etmişlerdir.

Savadoga ve ark. (2003), Batı Afrika'da bulunan Burkina Faso ülkesinden temin ettikleri fermente süt ürünleri üzerine yapılan bir çalışmada PCR yöntemi kullanılarak toplam 13 adet laktik asit bakteri suşu tanımlamışlardır. Örneklerden en fazla *Lactobacillus* spp. izole ettiklerini belirtmişlerdir.

Giraffa (2003), pastörizasyondan sonra oluşan çevresel kontaminasyonun, *Enterococcus faecium*'un pastörize sütlerden üretilen peynirlerde doğal mikrofloralar olarak ortaya çıkması ile sonuçlandığını belirtmiştir.

Saavedra ve ark. (2003), Arjantin'de geleneksel yöntemle üretilmiş tafi peynirlerinden izole ettikleri *Enterococcus* türlerinin 122 tanesini *Enterococcus faecium* olarak tanımlamışlardır.

Öksüztepe ve ark. (2005), Şavak tulum peynirinin olgunlaşması sırasında laktik asit bakterilerinin dağılımı ve identifikasyonu üzerine yapmış oldukları çalışmada plastik bidonlarda 4 °C'de 90 gün de olgunlaştırdıkları tulum peyniri örneklerinde toplam 783 laktik asit bakterisi izole etmişlerdir.

Zamfir ve ark. (2005), Romanya piyasasından temin ettikleri süt ürünlerinden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin biyolojik farklılıklarını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak en fazla *Lactobacillus lactis* *Leucanostoc* spp. ve *Enterococcus* spp. ve yeni bir tür olarak *E. saccharominimus* tanımlamışlardır.

Karakaş (2005), yapmış olduğu çalışmada Adana'daki çeşitli marketlerden 20 adet sucuk ve 30 adet peynir örneği toplayarak, *Enterococcus* spp izole etmiş ve bu izolatları, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus avium* olarak tanımlamıştır.

Erduğrul ve Erbilir (2005), piyasadan temin ettikleri yoğurt, değişik tür peynirleri ve tarhanadan laktik asit bakteri suşları izole etmişlerdir. İdentifikasyonu testleri sonucunda peynirden ve yoğurttan izole edilen suşları *Lactobacillus* spp. olarak tanımlanmıştır.

Rosaria D'Aimmo ve ark. (2006), farmakolojik ürünler ve süt ürünlerindeki laktik asit bakterilerinin antibiyotik direncini değerlendirmek için yapmış oldukları çalışmada probiyotik olarak bilinen *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus*'tan 34 suş starter kültür olarak bilinen 21 suş izole etmişlerdir.

Erkuş (2007), yoğurt kültürlerinin, fenotipik ve genotipik karakterizasyonunu belirlemek amacıyla Anadolu'da geleneksel yöntemlerle yapılmış yoğurt örneklerinden toplam 66 kok ve 71 basil izolatu elde etmiştir. Biyokimyasal tanımlama sonuçlarına göre bütün basil izolatları *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* olarak belirlenmiştir. Kok izolatlarının 7 tanesi tam olarak *S. thermophilus* olarak tanımlamıştır.

İşleroğlu ve ark. (2008), yapmış oldukları bir çalışmada yöresel peynirlerde antimikrobiyal aktiviteye sahip Laktik asit bakterileri izole ederek tanımlamışlardır. Yapılan testler sonucunda bakterinin *Enterococcus* spp. olduğu belirlenmiştir.

2.5. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Charteris ve ark. (1998), *Bifidobacterium*'un direnç spektrumunu belirlemişler ve buna göre *Bifidobacterium* suşlarını, ampisilin G, penisilin, cephalosporin, basitrasin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin, nitrofurantoin ve tetrasikline duyarlı bulmuşlardır.

Bertland ve ark. (2000), Avrupa'da üretimi yapılan peynirler üzerine yaptıkları araştırmada, *Enterococcus* türleri olan *E. faecalis* ve *E. faecium*'ların penisilin, tetrasiklin, kloramfenikol eritromisin, rifampisin, gentamisin ve vankomisine dirençleri belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada, kanamisin ve gentamisine yüksek düzeyde dirençli türlerin son yıllarda Fransız çiğ süt ve pişmemiş peynirlerinden ve hastaneye yatırılmış hastalardan izole edildiğini belirtmişlerdir.

Barton ve Wilksin (2001), toplam 1286 kümes hayvanı örneğinden *Enterococcus* cinsine ait bakteriler izole ederek, antibiyotik dirençlerini tespit etmişlerdir. 160 izolat vankomisin için oldukça duyarlı bulunurken, 109 izolatın vancomisin'e dirençli, 92 izolat ise yüksek seviyede dirençli bulunmuştur. Diğer 17 izolat ise düşük seviyede direnç göstermiştir. *Enterococcus faecium* ise en çok izole edilen tür olarak bulunmuştur.

Temmerman ve ark. (2003), Avrupa'da üretimi gerçekleştirilen toplam 55 probiyotik üründen izole edilen bazı bakterilerin antibiyotik direncini araştırmıştır. Disk difüzyon metodu kullanılarak antibiyotik direnç özellikleri araştırılan 187 izolattan %79 kanamisine, %65 vankomisine, %26 tetrasikline %23 penisilin G'ye, %16 eritromisine ve %11 kloramfenikole dirençli bulunmuştur. Toplam izolatların %68.4'ü doğal direnç içeren çeşitli antibiyotiğe karşı direnç göstermiştir.

Clak ve ark. (2004), *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. mundtii* ve *E. hirae* türlerine ait 101 izolatın 13 farklı antibiyotiğe karşı dirençlerini Kirby- Bover disk testi ile saptamışlar. Sonuç olarak, izolatların çoğununun streptomisin, oksasilin, eritromisin ve vankomisine karşı yüksek direnç gösterdiklerini ve beyaz peynirden

izole edilen suşların %89.1 streptomisine, %88.1 oksasiline, %93 eritromisin ve %86.1 vankomisine dirençli oldukları bulunmuştur.

Huys ve Cowokers (2004), Avrupa'nın çeşitli ülkelerinde üretilen peynirlerden izole edilen *Enterococcus*'larda tetrasiklin direnci ve bu direncin fenotipik ve genotipik özelliklerini araştırmışlardır. Tetrasiklin direncinin *Enterococcus* izolatlarında tet M genlerine bağlı olduğunu saptamışlardır.

Aslım ve Bayatlı (2004), yoğurtlardan izole edilen *S. thermophilus* türlerinde plazmid taşıyıcılığı ve bu türlerin antibiyotik dirençlerini incelemişlerdir. *S. thermophilus*'un at suşların büyük bir çoğunluğunun gentamisine (%79) penisiline G(%64) dirençli, kloramfenikole (%94) ve tetrasikline (%88) ise hassas olduklarını bulunmuşlardır.

Herreros ve ark. (2004), İspanyol keçi sütlerinden yapılan armada peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnci ve antimikrobiyal aktivitesi araştırmışlardır. Çalışmada, önce İspanya'da keçi sütünden yapılan armada peynirinden 31 laktik asit bakterisi izole edilmiş ve teknolojik nitelikler açısından uygun olanlar önceden seçilmiştir. Dört tür, diğer on dört suşa göre hidrojen peroksit, organik asit etkisi testleriyle elimine edildikten sonra uygun difüzyon metodu ile test edilmişlerdir. Pepsin ya da α -kimotripsin, tripsin proteinaz K gibi maddelerin türler üzerine inhibisyon etkileri görülmemiştir. Ayrıca, türlerin hiçbirinin bazı patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite göstermedikleri belirlenmiştir. 18 izolatın ise antibiyotik dirençleri belirlenmeye çalışılmış ve izolatların hiçbirinin tüm antibiyotiklere karşı hassas olmadıkları, sefotoksin, oksasilin, vankomisin, teikoplanin, nitrofurantoin ve trimethoprim karşı dirençli oldukları belirlenmiştir.

Strampfova ve Laukova (2004), yaşları 3 ay 6 yıl arasında değişen sağlıklı 7 dişi 9 erkek ve antibiyotik kullanan toplam 16 köpek dışkılarından aldıkları örneklerde *Staphylococcus* spp, *Lactobacillus* spp, *Enterococcus* spp cinsine ait türlerde disk difüzyon metodu kullanarak antibiyotik dirençlerini belirlemişlerdir. İzolatlarda en yüksek direnç Penisilin G için bulunmuştur. En etkili antimikrobiyal

ajanlar *Staphylococcus*'lar için gentamisin ve vankomisin olduğu saptanmıştır. Ampisilin ve kloramfenikol ise *Enterococcus* ve *Lactobacillus*'a karşı etkili olmuştur.

Mathur ve Singh (2005), yoğurt kültürü bileşeni olarak *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un 31 soyu sulfonamides, sulfametozaksol, kolimksin, trihorpim, polimiksin B, neomisin nalidiksik asid, mikosatin'e karşı gerçek direnç göstermiştir. Streptomisin, oksasilin, oleandomisin, novabiosin, furadantin ve kloksasiline karşı duyarlılıkları önemlidir. Kanamisin ve streptomisin duyarlılıkları değişken *Lb. plantarum* *Lb. vasei*, *Lb. salivarius*, *L. leismannii*, *Lb. acidophilus* gibi çoğu soy vankomisine karşı direnç taşımaktadır.

Rosaria ve ark. (2006), bazı probiotik mikroorganizmaların antibiyotik dirençleri üzerine çalışmışlardır. Bu çalışmada, ticari süt ürünlerinden ve farmasetikal ürünlerden *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait probiotik olarak 34 ve starter kültür olarak 21 suş izole edilmiştir. Tüm izolatların ampisilin, basitrasin, klindamisin, dikloksasilin, eritromisin novabiosin, penisilin G, rifampisine karşı hassas, aztreonam, sikloserin, kanamisin, nalidiksik asid, polymksin B spektinomisine dirençli oldukları bulunmuştur. sepalothin, kloramfenikol, gentamisin, linkomisin, metronidazole neomisin, paromomisin, streptomisin, tetrasiklin vankomisin duyarlılığı ise türlere göre değişkenlik göstermiştir.

Hummel ve ark. (2007), endüstriyel starter kültürlerin antibiyotik dirençlerini saptamak amacıyla yapmış oldukları araştırmada *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* spp., *Pediococcus* spp. ve *Leuconastoc* spp. ait 45 laktik asit bakterisinin antibiyotik direncini araştırmışlardır. Bu çalışmada genellikle eritromisin, kloramfenikol, tetrasiklin ya da β -laktam dirençleri %7 gibi çok düşük bulunmuştur. Buna karşılık aminglikosid (gentamisin ve streptomisin)ve siprofloksasin dirençleri %70'den daha fazla olarak saptanmıştır.

Karakaş ve ark.(2007), 20 adet sucuk ve 30 adet peynir örneği toplanarak izole edilen *Enterococcus* spp.'nin hemoliz varlığı ve vancomisine direnç özellikleri

araştırılmıştır. İzole edilen *Enterococcus* spp.'nin vankomisine dirençleri araştırılmış ve bu suşların vankomisine karşı direnç göstermedikleri tespit edilmiştir.

Zeb Larson ve ark. (2007), Orta-batı Amerika'da bulunan 6 farklı gıda imalathanelerinden topladıkları 9 depo-ürün böcekleri üzerinde yaşayan enterekokların 9 farklı antibyotiğe, (tetrasiklin, ampisilin, eritromisin, vankomisin, kloramfenikol, siprofloksasin, streptomisin ve neomisine) karşı dirençleri incelenmiştir ve 6 tanesinde enterekok izole edilmiştir. Hemen hemen aynı sayıda böcekten oluşan kolonilerden izole edilen bakteriler *E.faceum*, *E.gallinarum* ve *A.viridans*'tır. *E.faceum*'un 3 izolatu eritromisin neomisin ve tetrasikline karşı yarı direnç ya da tam direnç göstermedir. Çoğu *E.faceum* izolatları vankomisine orta direnç göstermektedir. *E.gallinarum* neomisine direnç gösterirken, *A.viridans*'ın 3 izolatından daha fazlası tüm antibiyotiklere karşı duyarlıdır.

Hummel ve ark. (2008), yine peynirden izole ettikleri *E. faecalis*'e ait 38 izolatın kazanılmış direnç türünde önemli antibiyotikler olan kloramfenikol, eritromisin ve tetrasikline karşı sorumlu direnç genlerini saptamışlardır. İzolatlarda, tet O ve tet S genleri bulunmazken, tetr L genellikle tetrasiklin dirençli *Enterococcus*'larda (%94) tet M geni %63'ünde ve tet K ise %56'sında belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Adana ve çevresinde evde ve küçük mandıralarda üretilen geleneksel süt ürünlerinden , üretimden önce ısıl işlem görmüş süttten elde edilen örneklerden; beyaz peynir, yoğurt, tulum peyniri, çökelek, kefir ve camız kaymağı olmak üzere toplam 50 geleneksel süt ürünü materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler aseptik koşullarda alınarak Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiştir. Örnekler mikroorganizmaların izolasyon işlemleri tamamlanıncaya kadar +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.1.1. Besi Yerleri ve Kimyasallar

Araştırmada örneklerde bulunan mikroorganizmaların, izolasyon, tanımlama ve antibiyotik dirençliliklerini belirlemek amacıyla kullanılan besiyerleri Çizelge 3.1’de kimyasallar ise Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Geleneksel süt ürünlerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlerini belirlemek amacıyla, vankomisin (30 µg), kloramfenikol (30 µg), rifampisin (5 µg), tetrasiklin (30 µg), eritromisin (15 µg), nitrofurantoin (300 µg), ampisilin (10 µg), gentamisin (10 µg) ve siprofloksasin (5 µg) antibiyogram diskleri (bioanalyse) kullanılmıştır.

Ayrıca antibiyotik direnç testleri için MRS agar (Merck) ve Müller Hilton agar (Merck) besiyerleri kullanılmıştır.

3.1.2. Referans Suşlar

Araştırmada, tanımlama ve antibiyotik direnç testleri için referans suş olarak *Enterococcus fecalis* (ATCC 29212) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan besiyerleri

Besiyeri	Kullanım Amacı	İnkübasyon koşulları
MRS agar- Merck	<i>Lactobacillus</i> izolasyonu	37 °C 'de, 48 saat, anaerob
MSR-NNPL Agar- Merck	<i>Bifidobacterium</i> izolasyonu	37 °C'de, 48 saat, anaerob
M17 Agar- Merck	<i>Streptococcus</i> izolasyonu	37 °C'de 48 saat aerob
KAA Agar- Merck	<i>Enterococcus</i> izolasyonu	37 °C' de ,48 saat, anaerob
MSR-D-Sorbitol Agar- Merck	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ve <i>Lactobacillus casei</i> izolasyonu	37 °C'de, 48 saat, anaerob
MRS Broth -Merck	Kültürlerin aktivasyonu	37 °C'de, 48 saat, anaerob
Müller Hilton Agar- Merck	Kültürlerin antibiyogramı	37 °C'de, 48 saat, anaerob

Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

<u>Kimyasallar ve Çözeltiler</u>	<u>Kullanım amacı</u>
Glukoz- Merck	Laktik asit bakterilerinin cins düzeyinde tanımlanması
NaCl- Merck	Seyreltme sıvısı*
H ₂ O ₂ - Merck	Katalaz testi

*1 litre seyreltme sıvısı hazırlamak için 1 litre distile su içerisine 8,5 gr NaCl ve 1 gr pepton ilave edilerek karıştırılır.

3.2. Metot

3.2.1. Örneklerin Hazırlanması

Gıda örneklerinden aseptik koşullarda 10 gr örnek tartılarak homojenize edilmiş ve 1/10'luk seyreltmeleri hazırlandıktan sonra 10 dk bekletilmiştir. Daha sonra hazırlanan örnekler 10^{-2} ve 10^{-4} 'lik seyreltmeler yapılarak analize alınmıştır.

3.2.2. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

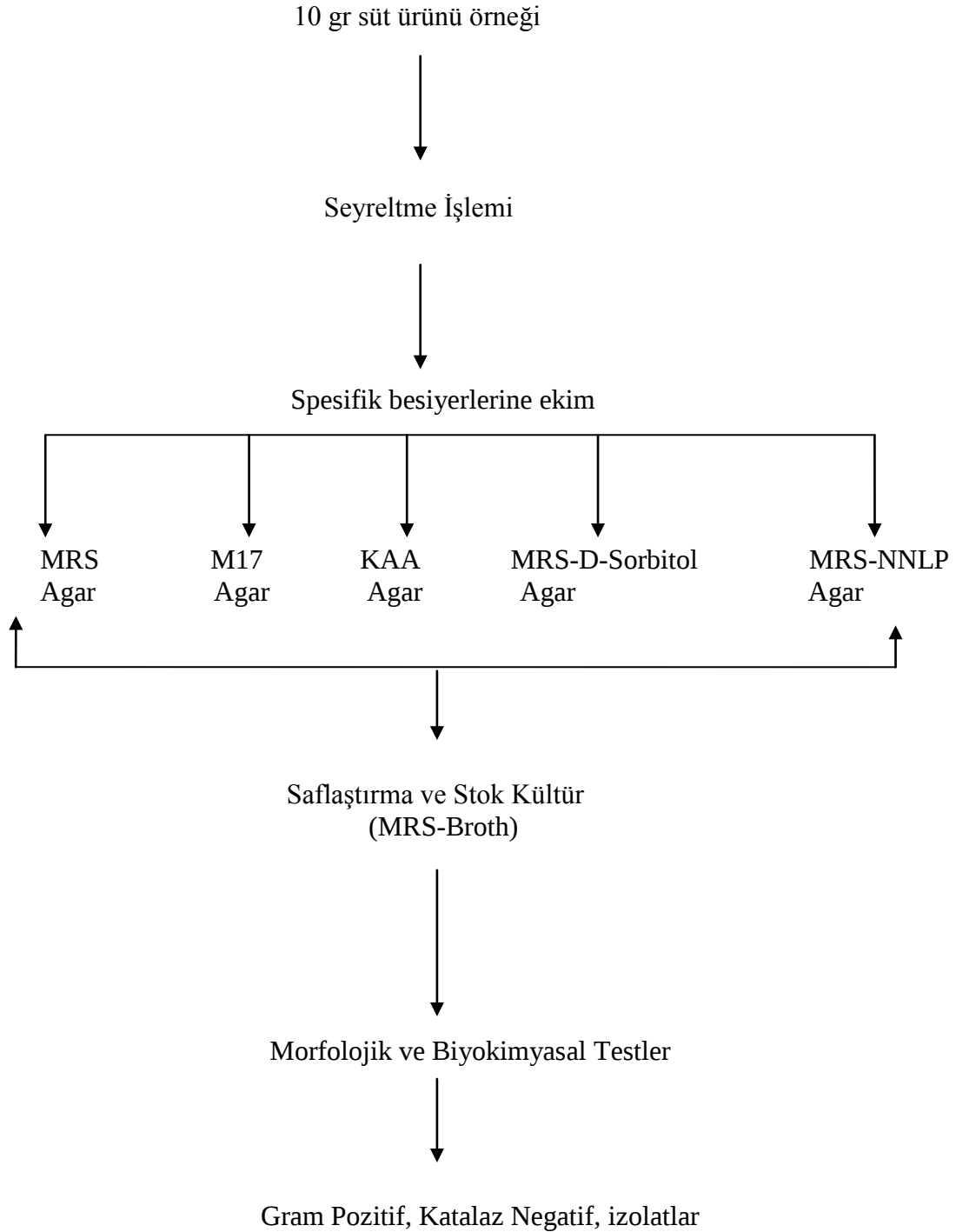
Gerekli seyreltmeleri yapılan tüm örnekler Çizelge 3.1'de belirtilen *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *L. acidophilus* ve *L. casei* bakterileri spesifik besiyerlerine yayma ekim yöntemiyle ekimleri yapılmıştır. Besiyerlerine ekilen bakteri kültürleri, 24-48 saat 37 °C'de anaerob /aerob ortamda inkübasyona bırakıldıktan sonra petride üreyen tüm farklı koloniler değerlendirilmiştir (Zamfir, 2005; Rosaria, 2006; Klein, 2003).

3.2.3. Stok Kültür Hazırlama

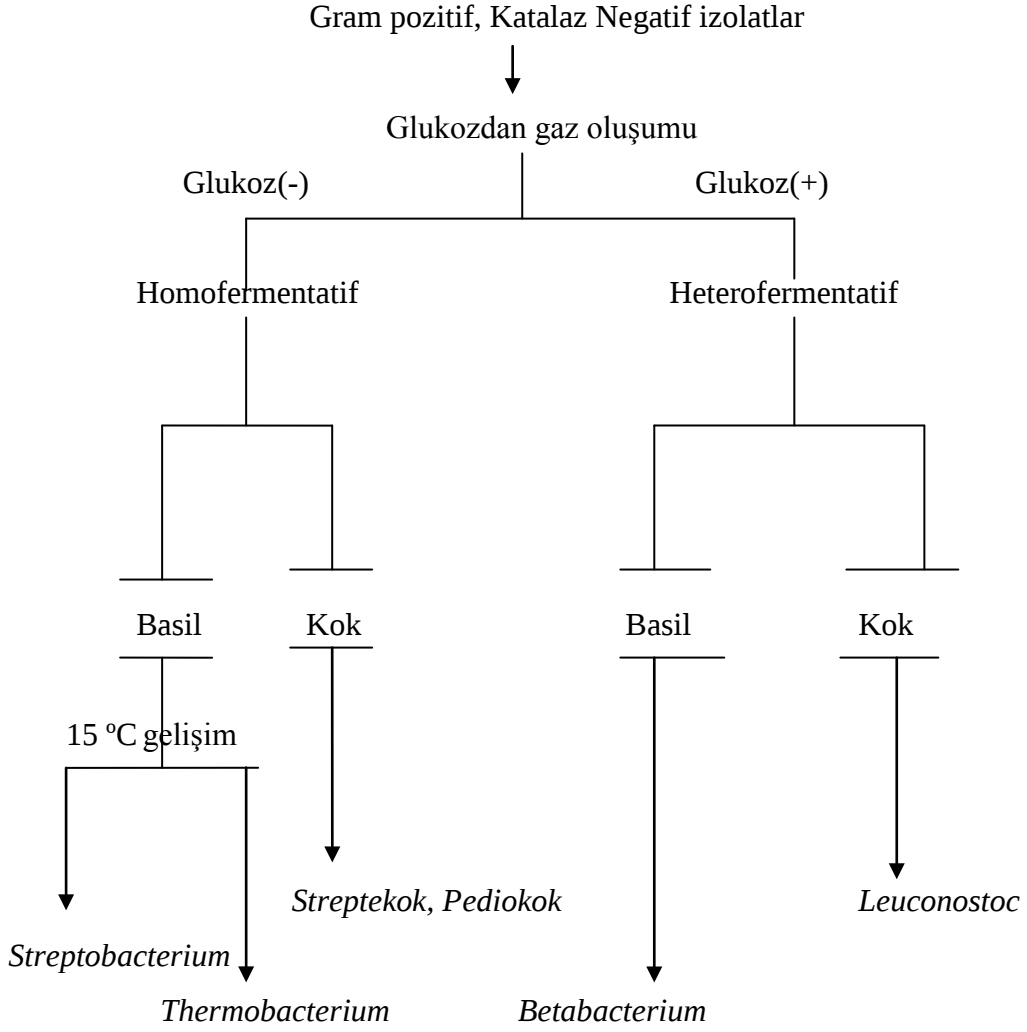
Spesifik besiyerlerinde gelişen farklı kolonilerden öze yardımıyla alınarak her biri ayrı ayrı 10 ml'lik MRS brotlara inokule edilmiştir. Daha sonra, tüm bakteri kültürleri 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen bakteri kültürleri 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek, süpernatant dökülmüştür. 5 ml'lik eppendorf tüpleri içerisine 1ml MRS broth, 1ml laktik asit bakteri kültürleri, 1 ml steril sıvı gliserin ilave edilmiş ve -18 °C'de saklanmıştır.

3.2.4. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması

Spesifik besiyerlerinden seçilen ve saflaştırılan LAB stok kültürler gram boyamaya tabi tutulmuş ve gram (+) izolatlar belirlenerek, katalaz testi yapılmıştır. Katalaz (-) olan suşların ise glukozdan gaz üretme özellikleri belirlenmiştir. Şekil 3.1’de Laktik Asit Bakterilerinin izolasyonu ve cins düzeyinde tanımlanması özetlenmektedir.



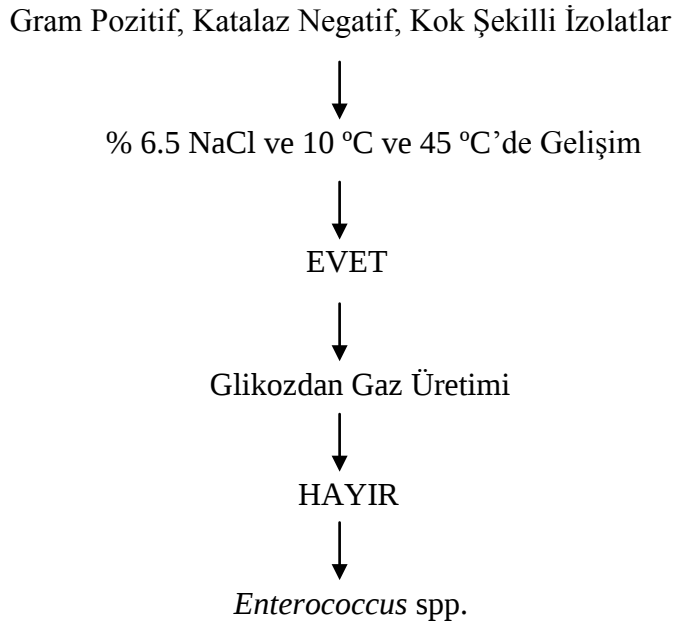
şekil 3.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Cins Düzeyinde Tanımlanması (Facklam ve ark., 2002).



Şekil 3.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Cins Düzeyinde Tanımlanması (devamı)(Facklam ve ark., 2002).

3.2.5. *Enterococcus spp.*'nin Tanımlanması

Enterococcus spp.'nin tanımlanması için yapılan analizler ve işlemler ve izlenen yol Şekil 3.2 'de özetlenmiştir. KAA besiyerinden seçilen stok kültürden gram boyamaya tabi tutulmuş ve gram (+) koklar belirlenerek, katalaz testi yapılmıştır. Katalaz (-) olan suşların 10 °C, 37 °C, 45 °C sıcaklıklardaki ve %6,5 NaCl tuzdaki gelişmelerinin yanı sıra glukozdan gaz üretme gibi özellikleri belirlenmiştir. Şekil 3.2'de, KAA besiyerinden izole edilen kolonilerin tanımlanmasındaki aşamalar özetlenmiştir.



Şekil 3.2. *Enterococcus spp.*'nin Tanımlanması (Klein, 2003).

3.2.5. Morfolojik ve Biyokimyasal Testler

3.2.5.1. Gram Boyama

Süt ürünleri örneklerinden izole edilen bakterilerine uygulanan gram boyama işlemi, Temiz (2000), tarafından belirtilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.2. Katalaz Testi

MRS agar besiyerinde 24 saat 37 °C’de inkübe edilerek gelişimi sağlanan bakteri kolonileri üzerine, %3’lük H₂O₂ damlatılarak gaz çıkışı olup olmadığı gözlenmiştir. Gaz çıkışı katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Temiz, 2000).

3.2.5.3. Tuz Toleranslarının Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının tuz toleranslarını belirlemek amacıyla % 6,5 NaCl içeren KAA besiyeri kullanılmıştır. Saflaştırılarak stoklanan kültürler KAA agar besiyerine ekilmiştir. Kültürlerin 37 °C’de 48 saat inkübasyondan sonra gelişimleri incelenmiştir (Facklam ve ark., 2002).

3.2.5.4. Sıcaklık Toleranslarının Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının sıcaklık toleranslarının belirlenmesi için, KAA besiyerine hazırlanmıştır. 48 saat inkübasyondan sonra suşların 10 °C ve 45 °C’deki gelişimleri incelenmiştir (Facklam ve ark., 2002).

3.2.5.5. Glikozdan Gaz Üretimi

LAB'ın heterofermentatif veya homofermentatif olup olmadıklarını belirlemek amacıyla glukozdan gaz üretim özellikleri araştırılmıştır. Bu amaçla stok kültürdeki bakteri örneklerinden öze yardımıyla alınan örnekler 9 ml'lik MRS broth'lara inokulum yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek, süpernatant döküldükten sonra tüpte kalan bakteri kültürlerinden 1 ml alınıp içerisinde durham tüpü bulunan glukoz fosfat broth içeren tüplere ilave edilmiştir. 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiş ve durham tüpü içerisindeki gaz oluşumu değerlendirilmiştir (Facklam ve ark., 2002).

3.2.6. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi

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

LAB suşları, MRS broth'da aktive edildikten sonra antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek amacıyla, Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile NCCLS doküman M2-A9 önerileri dikkate alınarak, dokuz farklı antibiyotiğe ait (vankomisin, kloramfenikol, rifampisin, tetrasiklin, erithromisin, nitrofurantoin, ampicilin, gentamisin ve siprofloksasin) kağıt diskleri kullanılmıştır.

Antibiyotik direnç testi uygulanacak suşlar, MRS agara (Merck) yayma kültürel ekim yöntemi ile ekimleri yapılmış ve besiyeri yüzeyine dispenser aracılığı ile antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. 24 saatlik 37 °C' de inkübasyonu takiben antibiyotik diskleri etrafında oluşan inhibisyon zon çapları NCCLS doküman M2-A9 kriterlerine göre bakteri suşlarını; dirençli, orta derecede duyarlı ve duyarlı olarak değerlendirilmiştir. *Staphylococcus* spp. ve *Enterococcus* spp.

için NCCLS doküman M2-A9 zon çapı yorumlama standartları Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. *Staphylococcus* spp. için NCCLS doküman M2-A9 Zon Çapı Yorumlama Standartları (Gür, 2007).

Antimikrobik İlaç	Disk İçeriği	Zon Çapı Yaklaşık mm		
		R	I	S
Eritromisin	15 µg	≤13	14-22	≥23
Tetrasiklin	30 µg	≤14	15-18	≥19
Teikoplanin	30 µg	≤10	11-13	≥14
Vankomisin	30 µg	-	-	≥15
Siprofloksasin	5 µg	≤15	16-20	≥21
Kloramfenikol	30 µg	≤12	13-17	≥18

* R: dirençli, I: orta duyarlı, S: duyarlı

Çizelge 3.4. *Enterococcus* spp. için NCCLS doküman M2-A9 Zon Çapı Yorumlama Standartları (Gür, 2007).

Antimikrobik İlaç	Disk İçeriği	Zon Çapı Yaklaşık mm		
		R	I	S
Eritromisin	15 µg	≤13	14-22	≥23
Tetrasiklin	30 µg	≤14	15-18	≥19
Vankomisin	30 µg	≤14	15-16	≥17
Siprofloksasin	5 µg	≤15	16-20	≥21
Kloramfenikol	30 µg	≤12	13-17	≥18
Gentamisin	120 µg	6	7-9	≥10
Nitrofurantoin	300 µg	≤14	15-16	≥17
Rifampisin	5 µg	≤16	17-19	≥20
Ampisilin	10 µg	≤16	-	≥17

* R: dirençli, I: orta duyarlı, S: duyarlı

3.2.7. Laktik Asit Bakterilerinin Multiple Antibiyotik Direnç İndeksinin Hesaplanması

Multiple antibiyotik direnci, dirençli izolatların sayısının, değerlendirilen antibiyotik sayısına bölümüyle hesaplanmıştır. Multiple antibiyotik direnç indeksi (MARI) 0,20'den büyük ise sıklıkla antibiyotik kullanılan kontaminasyon kaynağı yüksek riskli organizmalar olarak tanımlanırken, multiple antibiyotik direnç indeksi 0,20 ve 0,20'den küçük olanlar ise nadiren antibiyotik kullanılan ya da kullanılmayan organizmalar olarak tanımlanmaktadır (Matyar ve ark. 2007).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Araştırmada 20 yoğurt, 15 beyaz peynir, 10 tulum peyniri, 3 çökelek, 1 kaymak ve 1 kefir olmak üzere toplam 50 örnek analize alınmış olup bu örneklerden toplam 72 adet laktik asit bakterisi izole edilmiştir. Cins bazında tanımlamaları gerçekleştirilen izolatların, daha sonra disk difüzyon yöntemi ile eritromisin (E 15), tetrasiklin (TE 30), vankomisin (VA 30), kloramfenikol (C 30), nitrofurantoin (F 300), ampisilin (AMP 10), rifampisin (RD5) gentamisin (CN10) ve siprofloksasin (CIP 5), antibiyotiklerine karşı dirençlilikleri belirlenmiştir.

4.1. Süt ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri

Geleneksel süt ürünlerinden 72 LAB izole edilmiştir. Resim 4.1’de geleneksel süt ürünlerinden 2 no’lu örnek gösterilmiştir. Ayrıca bu suşların belirlenen özellikleri çizelge 4.1’de izole edildiği süt ürünü örnekleri ise Çizelge 4.2 de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. İzole edilen Laktik Asit Bakterilerinin bazı özellikleri

Suş no	Koloni morfolojisi	Hücre morfolojisi	37°C’de Glukoz’dan gaz oluşumu
1	Orta, parlak, beyaz	Basil	(-)
2	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
3	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
4	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
5	Orta, mat, beyaz	Kok	(-)
6	Orta, parlak, beyaz	Basil	(-)
7	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
8	Büyük, ve orta, mat, beyaz	Kok	(-)
9	Küçük, mat beyaz	Basil	(-)
10	Küçük, mat beyaz	Kok	(-)
11	Küçük, mat, beyaz	Kok	(-)
12	Orta, krem, beyaz	Basil	(+)

13	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
14	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
15	Büyük, mat, beyaz	Basil	(-)
16	Orta, mat, beyaz	Kok	(-)
17	Büyük, mat, beyaz	Kok	(+)
18	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
19	Küçük, krem, beyaz	Kok	(-)
20	Büyük ve orta, krem beyaz	Basil	(+)
21	Büyük, mat, beyaz	Kok	(-)
22	Orta, krem beyaz, mukuslu	Basil	(-)
23	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
24	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
25	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
26	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
27	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
28	Orta, beyaz, bombeli	Basil	(-)
29	Küçük, mat, beyaz	Basil	(+)
30	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
31	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
32	Orta, parlak, beyaz	Basil	(-)
33	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
34	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
35	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
36	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
37	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
38	Büyük, beyaz	Basil	(-)
39	Büyük ve Orta, beyaz	Basil	(-)
40	Orta, beyaz	Basil	(-)
41	Orta, mat, beyaz	Basil	(+)
42	Küçük, mat, beyaz	Kok	(-)
43	Büyük ve orta, beyaz	Basil	(-)
44	Orta ve küçük, beyaz	Basil	(+)
45	Beyaz, orta	Basil	(+)
46	Orta ve küçük, beyaz	Basil	(-)
47	Küçük, parlak, beyaz	Basil	(-)

48	Küçük, beyaz, mukuslu	Kok	(-)
49	Orta ve küçük, krem	Basil	(-)
50	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
51	Orta, parlak, beyaz	Basil	(-)
52	Orta, krem beyaz, mukuslu	Basil	(-)
53	Orta, parlak beyaz	Basil	(-)
54	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
55	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)
56	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
57	Orta, krem beyaz	Basil	(-)
58	Orta ve küçük, krem beyaz	Basil	(-)
59	Küçük, parlak, beyaz	Basil	(-)
60	Orta ve küçük, beyaz	Basil	(-)
61	Büyük, beyaz	Basil	(-)
62	Orta, krem beyaz, bombeli	Basil	(-)
63	Orta, krem beyaz, bombeli	Basil	(-)
64	Küçük, krem beyaz	Kok	(-)
65	Orta, beyaz, mukuslu	Basil	(-)
66	Orta, mat, beyaz	Basil	(+)
67	Orta ve küçük, krem beyaz	Basil	(+)
68	Orta, mat, beyaz	Basil	(+)
69	Büyük, mat, beyaz	Basil	(-)
70	Küçük, mat, beyaz	Basil	(-)
71	Küçük, beyaz	Basil	(-)
72	Orta, mat, beyaz	Basil	(-)

*Küçük çap:1-2mm, orta çap:3-4mm, büyük çap: < 4mm

Çizelge 4.2. Laktik Asit Bakterileri ve izole edildiği süt ürünleri

SUŞ NO	ÜRÜN NO	ÜRÜN	CİNS
1	1	Hatay Beyaz Peynir	<i>Lactobacillus</i> spp.
2	1	Hatay Beyaz Peynir	<i>Lactobacillus</i> spp.
3	2	Antep Sıkma Keçi Beyaz Peyniri	<i>Lactobacillus</i> spp..
4	3	Hatay Künefe Beyaz Peynir	<i>Lactobacillus</i> spp.
5	3	Hatay Künefe Beyaz Peyniri	<i>Streptococcus</i> spp.
6	4	Ezine Beyaz Peynir	<i>Lactobacillus</i> spp.
7	4	Ezine Beyaz Peynir	<i>Bifidobacterium</i> spp.
8	5	Beyaz Peynir	<i>Streptococcus</i> spp.
9	6	Hatay çoban Beyaz Peyniri	<i>Lactobacillus</i> spp.
10	6	Hatay çoban Beyaz Peyniri	<i>Streptococcus</i> spp.
11	7	Beyaz Peynir	<i>Streptococcus</i> spp.
12	7	Beyaz Peynir	<i>Lactobacillus</i> spp.
13	10	Beyaz Peynir	<i>Lactobacillus</i> spp.
14	11	Beyaz Peynir	<i>Bifidobacterium</i> spp.
15	13	Urfa Birecik Beyaz Peyniri	<i>Lactobacillus</i> spp.
16	15	Beyaz Peynir	<i>Streptococcus</i> spp.
17	16	Andırın köy Beyaz Peyniri	<i>Streptococcus</i> spp.
18	16	Andırın köy Beyaz Peyniri	<i>Bifidobacterium</i> spp.
19	18	Urfa koyun Beyaz Peyniri	<i>Enterococcus</i> spp.
20	18	Urfa koyun Beyaz Peyniri	<i>Lactobacillus</i> spp.
21	20	Beyaz Peynir	<i>Streptococcus</i> spp.
22	20	Beyaz Peynir	<i>Bifidobacterium</i> spp
23	15	Beyaz Peynir	<i>Lactobacillus</i> spp.
24	14	Hatay Tuzlu Yoğurt	<i>Lactobacillus</i> spp.
25	29	Yoğurt	<i>Lactobacillus</i> spp.
26	29	Yoğurt	<i>Lactobacillus</i> spp.
27	30	Yoğurt	<i>Lactobacillus</i> spp.
28	31	Yoğurt	<i>Lactobacillus</i> spp.
29	33	Yoğurt	<i>Lactobacillus</i> spp.
30	34	Yoğurt	<i>Lactobacillus</i> spp.
31	35	Yoğurt	<i>Bifidobacterium</i> spp
32	35	Yoğurt	<i>Lactobacillus</i> spp.

33	36	Yoğurt	<i>Lactobacillus spp.</i>
34	42	Yoğurt (ev üretimi)	<i>Lactobacillus spp.</i>
35	43	Yoğurt	<i>Lactobacillus spp.</i>
36	43	Yoğurt	<i>Lactobacillus spp.</i>
37	44	Yoğurt (ev üretimi)	<i>Lactobacillus spp.</i>
38	45	Yoğurt	<i>Lactobacillus spp.</i>
39	45	Yoğurt	<i>Lactobacillus spp.</i>
40	46	Yoğurt	<i>Lactobacillus spp.</i>
41	49	Süzme Yoğurt	<i>Lactobacillus spp.</i>
42	49	SüzmeYoğurt	<i>Streptococcus spp.</i>
43	50	Yoğurt (ev üretimi)	<i>Lactobacillus spp.</i>
44	51	Yoğurt (ev üretimi)	<i>Lactobacillus spp.</i>
45	52	Yoğurt	<i>Lactobacillus spp.</i>
46	53	Yoğurt (ev üretimi)	<i>Lactobacillus spp.</i>
47	9	Tulum Peynir	<i>Bifidobacterium spp</i>
48	12	Erzincan Tulum Peynir	<i>Streptococcus spp.</i>
49	12	Erzincan Tulum Peynir	<i>Bifidobacterium spp</i>
50	12	Erzincan Tulum Peynir	<i>Bifidobacterium spp</i>
51	12	Erzincan Tulum Peynir	<i>Lactobacillus spp.</i>
52	19	Divle deri tulum Peynir	<i>Lactobacillus spp.</i>
53	21	Bez Tulum Peynir	<i>Bifidobacterium spp</i>
54	21	Bez Tulum Peynir	<i>Lactobacillus spp.</i>
55	22	Deri Tulum Peynir	<i>Lactobacillus spp.</i>
56	23	Bez Tulum Peynir	<i>Lactobacillus spp.</i>
57	23	Bez Tulum Peynir	<i>Lactobacillus spp.</i>
58	24	Divle deri Tulum Peynir	<i>Bifidobacterium spp</i>
59	25	Divle Tulum Peynir	<i>Lactobacillus spp.</i>
60	25	Divle Tulum Peynir	<i>Lactobacillus spp.</i>
61	26	Deri tulum Peynir	<i>Lactobacillus spp.</i>
62	26	Deri tulum Peynir	<i>Bifidobacterium spp.</i>
63	27	Deri tulum Peynir	<i>Lactobacillus spp.</i>
64	27	Deri tulum Peynir	<i>Streptococcus spp.</i>
65	40	Çökelek	<i>Lactobacillus spp.</i>
66	38	Köy çökeleği	<i>Bifidobacterium spp.</i>
67	40	Çökelek	<i>Bifidobacterium spp.</i>

68	47	Çökelek	<i>Bifidobacterium spp.</i>
69	47	Çökelek	<i>Lactobacillus spp.</i>
70	32	Kefir	<i>Lactobacillus spp.</i>
71	32	Kefir	<i>Bifidobacterium spp.</i>
72	39	Camız Kaymağı	<i>Lactobacillus spp.</i>

Analize alınan 15 beyaz peynir örneğinden toplam 23 izolat elde edilmiştir. Bunun 11 tanesi *Lactobacillus spp.*, 7 tanesi *Streptococcus spp.*, 4 tanesi *Bifidobacterium spp.*, 1 tanesi ise *Enterococcus spp.* olarak belirlenmiştir. 20 yoğurt örneğinden 23 izolat elde edilmiştir. Bu izolatların ise, 21 tanesi *Lactobacillus spp.*, 1 tanesi *Streptococcus spp.*, 1 tanesi *Bifidobacterium spp.* olarak belirlenmiştir. Çalışılan 10 adet tulum peyniri örneğinden elde edilen 18 izolatın 10 tanesi *Lactobacillus spp.*, 6 tanesi *Bifidobacterium spp.* ve 2 tanesi ise *Streptococcus spp.* olarak bulunmuştur. 3 Çökelek örneğinden 5 adet izolat elde edilmiş olup bunlardan 3 tanesi *Bifidobacterium spp.* ve 2 tanesi *Lactobacillus spp.* olarak izole edilmiştir. 1 kefir örneğinden ise 1 adet *Lactobacillus spp.* 1 adet *Bifidobacterium spp.* olmak üzere 2 izolat elde edilmiştir. Son olarak çalışılan 1 kaymak örneğinden ise 1 adet *Lactobacillus spp.* izole edilmiştir.

Erkuş (2007), yoğurt üzerine yapmış olduğu çalışmada 66 kok ve 71 basil izole etmiştir. Basil izolatları *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* olarak, kok izolatların 7 tanesi ise *S. thermophilus* olarak tanımlanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada yoğurt örneğinden elde ettiğimiz sonuçlar Erkuş'un 2007 yılında yapmış olduğu çalışmaya göre yoğurtta izole edilen *Lactobacillus spp.* yoğunluğu paralellik göstermektedir.

Yine benzer bir çalışmayı Karakaş (2007), yaptığı çalışmada 30 süt ürünü örneğinden 3 tanesi *Enterococcus faecium*, 1 tane *Enterococcus durans* ve 1 tane de *Enterococcus avium* izole etmiştir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada ise sadece 1 tane cins bazında enterokok izole edilmiş olması Karakaş'ın 2007'de yaptığı çalışmasına benzerlik göstermektedir.

Analize alınan süt ürünü örneklerinden elde edilen 21, 67, 33 nolu laktik asit bakteri suşlarının koloni görüntüleri resim 4.2, resim 4.3, ve resim 4.4 ‘de gösterilmektedir.



Resim 4.1. 2 no’lu süt ürünü örneğinin (Antep sıkma keçi peyniri) görünüşü



Resim 4.2. 21suş no’lu *Streptococcus spp.*’ nin koloni görünüşü (besiyeri M17 Agar)



Resim 4.3. 67 suş no'lu *Bifidobacterium spp.*'nin koloni görünüşü (MRS-NNLP Agar)



Resim 4.4. 33 suş no'lu *Lactobacillus spp.*'nin koloni görünüşü (MRS Agar)

Yapılan bu çalışmanın sonucunda süt ürünlerinden, beyaz peynir, yoğurt, tulum peyniri, çökelek, kefir ve kaymak olmak üzere 50 geleneksel süt ürünü örneğinden izole edilen 72 izolattan %64 *Lactobacillus* spp, %21 *Bifidobacterium* spp., %14 *Streptococcus* spp. ve %1 oranında *Enterococcus* spp. saptanmış olup, antibiyotik dirençliliklerini değerlendirme aşamasına geçilmiştir.

4.2. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri

Eritromisin (E 15), tetrasiklin (TE 30), vankomisin (VA 30), kloramfenikol (C 30), nitrofurantoin (F 300), ampisilin (AMP 10), rifampisin (RD5) gentamisin (CN10) ve siprofloksasin (CIP 5), direncini tespit etmek amacıyla Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile NCCLS doküman M2-A9 önerileri dikkate alınarak Mueller Hilton Agar besiyerine ve MRS agar besiyerindeki antibiyotik diskleri etrafında oluşan zon çaplarının milimetrik ölçülmesiyle değerlendirilmiştir.

4.2.1. Beyaz Peynir Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri

Çalışılan 15 adet beyaz peynir örneğinden elde edilen 23 LAB izolatlarından 12 tanesinin vankomisine, 7 tanesinin siprofloksasin, 5 tanesinin gentamisine, 3 tanesinin eritromisine, 1 tanesinin rifampisine ve 1 tanesinin kloramfenikole dirençli olduğu saptanmıştır. Çizelge 4.3'te geleneksel süt ürünlerinden beyaz peynirde bulunan LAB'ların antibiyotik duyarlılık testi sonuçları görülmektedir.

Clak ve ark. (2004), yapmış oldukları çalışmada beyaz peynirlerden izole ettiği suşların eritromisine %93 ve vankomisine %86 dirençli olduğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise suşlar, eritromisine %4 ve vankomisine %54 dirençli bulunmuştur. Clak ve arkadaşlarının çalışmasıyla bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar arasında, eritromisin direnci önemli düzeyde farklılıklar içermekte olup, vankomisin direnci paralellik göstermektedir.

Çizelge 4.3. Beyaz peynir örneklerinden izole edilen LAB'nin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Suş No	VA30	E15	TE30	AMP10	C30	CN10	RD5	CIP5	F300
1	R	S	S	S	S	S	S	S	S
2	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	S	S	S	S	S	R	S	S	S
4	R	S	S	S	S	S	S	S	S
5	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	R	S	S	S	S	R	S	S	S
7	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	R	S	S	S	S	R	S	R	S
9	R	S	S	S	S	S	S	R	S
10	S	S	S	S	S	R	S	S	S
11	S	R	S	S	S	S	S	R	S
12	S	S	S	S	S	S	S	S	S
13	R	S	S	S	S	S	S	R	S
14	R	S	S	S	S	S	S	R	S
15	R	R	S	S	S	S	S	S	S
16	R	S	S	S	S	S	S	S	S
17	S	S	S	S	R	S	S	S	S
18	R	S	S	S	S	R	S	S	S
19	R	R	S	S	S	S	R	R	S
20	S	S	S	S	S	S	S	S	S
21	R	S	S	S	S	S	S	S	S
22	S	S	S	S	S	S	S	S	S
23	S	S	S	S	S	S	S	R	S

* R: dirençli, I:orta duyarlı, S: duyarlı

4.2.2. Yoğurt Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri

Çalışılan 20 adet yoğurt örneğinden elde edilen 23 LABi izolatlarından 12 tanesinin vankomisine, 5 tanesinin siprofloksasine, 5 tanesinin gentamisine, 1 tanesinin eritromisine ve 1 tanesinin tetrasikline dirençli olduğu saptanmıştır. Çizelge

4.4’de geleneksel süt ürünlerinden yoğurtta bulunan LAB’nin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları görülmektedir.

Mathur ve Singh (2005), yapmış oldukları çalışmada yoğurt ve fermente süt ürünleri örneklerinden laktobasillus ve enterekok’ların vankomisin ve gentamisin dirençlilikleri bizim çalışmamızla benzerlik gösterirken kloramfenikol dirençliliği farklılık göstermektedir.

Çizelge 4.4. Yoğurt örneklerinden izole edilen LAB’nin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Suş No	VA30	E15	TE30	AMP10	C30	CN10	RD5	CIP5	F300
24	R	R	S	S	S	S	S	S	S
25	R	S	S	S	S	S	S	R	S
26	S	S	S	S	S	S	S	S	S
27	S	S	S	S	S	S	S	S	S
28	R	S	S	S	S	S	S	S	S
29	R	S	S	S	S	R	S	R	S
30	R	S	R	S	S	S	S	S	S
31	R	S	S	S	S	S	S	S	S
32	S	S	S	S	S	S	S	S	S
33	R	S	S	S	S	S	S	S	S
34	R	S	S	S	S	S	S	S	S
35	R	S	S	S	S	S	S	S	S
36	S	S	S	S	S	S	S	S	S
37	S	S	S	S	S	S	S	S	S
38	S	S	S	S	S	R	S	R	S
39	S	S	S	S	S	R	S	S	S
40	S	S	S	S	S	R	S	S	S
41	S	S	S	S	S	R	S	S	S
42	S	S	S	S	S	S	S	S	S
43	S	S	S	S	S	S	S	S	S
44	R	S	S	S	S	S	S	R	S
45	R	S	S	S	S	S	S	S	S
46	R	S	S	S	S	S	S	R	S

4.2.3. Tulum peyniri Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri

10 adet tulum peyniri örneğinden toplam 18 adet LAB izolatu elde edilmiş ve bu izolatlardan 10 tanesinin vankomisine, 6 tanesinin siprofloksasine, 5 tanesinin gentamisine, 2 tanesinin eritromisine, 1 tanesinin tetrasikline dirençli olduğu saptanmıştır. Çizelge. 4.5'te tulum peynirlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları görülmektedir.

Çizelge 4.5. Tulum peynirlerinden izole edilen Laktik Asit Bakterilerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Suş No	VA30	E15	TE30	AMP10	C30	CN10	RD5	CIP5	F300
47	R	S	S	S	S	S	S	R	S
48	S	S	S	S	S	S	S	R	S
49	R	S	S	S	S	S	S	R	S
50	S	S	S	S	S	S	S	S	S
51	S	S	S	S	S	S	S	S	S
52	S	S	S	S	S	S	S	R	S
53	R	S	S	S	S	R	S	R	S
54	R	R	S	S	S	R	S	S	S
55	R	S	S	S	S	S	S	S	S
56	R	S	S	S	S	R	S	S	S
57	R	R	S	S	S	R	S	S	S
58	S	S	S	S	S	S	S	S	S
59	R	S	S	S	S	S	S	S	S
60	R	S	S	S	S	R	S	R	S
61	R	S	S	S	S	S	S	R	S
62	S	S	S	S	S	S	S	S	S
63	S	S	R	S	S	S	S	S	S
64	R	S	S	S	S	S	S	S	S

4.2.4. Çökelek Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri

Çalışılan 3 adet çökelek örneğinden izole edilen 5 LAB izolatının 4 tanesi vankomisine, 2 tanesi gentamisine, 2 tanesi siprofloksasine ve 1 tanesi de eritromisine dirençli olduğu saptanmıştır. Çizelge 4.6 çökelek örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları görülmektedir.

Çizelge 4.6. Çökelek örneklerinden izole edilen Laktik Asit Bakterilerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Suş No	VA30	E15	TE30	AMP10	C30	CN10	RD5	CIP5	F300
65	R	S	S	S	S	R	S	R	S
66	S	R	S	S	S	R	S	S	S
67	R	S	S	S	S	S	S	S	S
68	R	S	S	S	S	S	S	R	S
69	R	S	S	S	S	S	S	S	S

4.2.5. Kefir ve Kaymak Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri

Çalışma sonucu 1 kefir örneğinden 2 adet LAB izole edilmiştir ve her ikisinde de vankomisin direnci saptanırken, izolatlardan birinde eritromisin diğerinde ise gentamisin direnci saptanmıştır.

Son olarak çalışılan, 1 adet kaymak örneğinden izole edilen 1 adet laktik asit bakteri izolatının tüm antibiyotiklere karşı duyarlılık gösterdiği saptanmıştır. Çizelge 4.7 'de kefirden, Çizelge 4.8'de kaymaktan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları görülmektedir.

Çizelge 4.7. Kefirden izole edilen Laktik Asit Bakterilerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Suş No	VA30	E15	TE30	AMP10	C30	CN10	RD5	CİP5	F300
70	R	R	S	S	S	R	S	S	S
71	R	S	S	S	S	S	S	S	S

Çizelge 4.8. Kaymaktan izole edilen Laktik Asit Bakterilerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

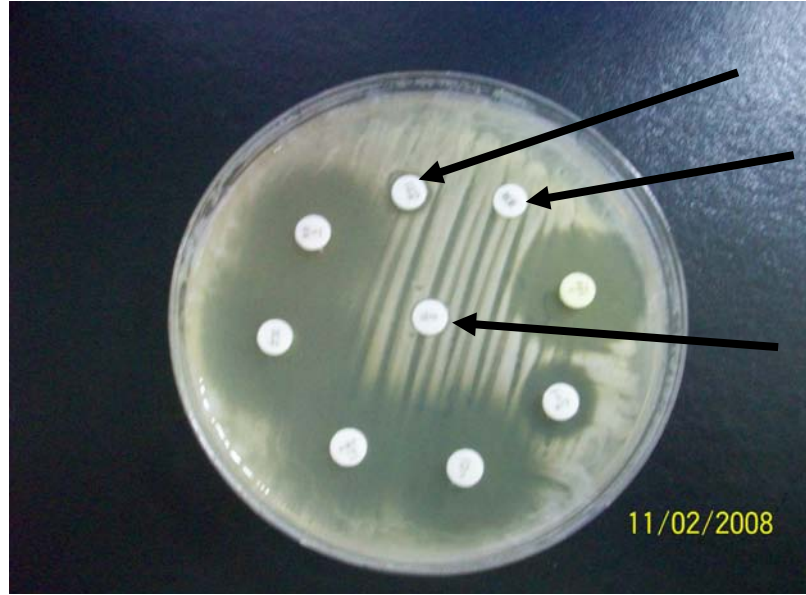
Suş No	VA30	E15	TE30	AMP10	C30	CN10	RD5	CİP5	F300
72	S	S	S	S	S	S	S	S	S

İzole edilen tüm geleneksel süt ürünlerinde bulunan toplam 46 *Lactobacillus spp.*'lerin % 59'u vankomisine %27'si siprofloksasine, %27'si gentamisine, %11'i eritromisine ve %4'ü tetrasikline direnç gösterdiği saptanmıştır. İzole edilen *Lactobacillus spp.*'lerinin hiçbirinde kloramfenikol, ampisilin, nitrofurantoin ve rifampisin direncine rastlanmamıştır.

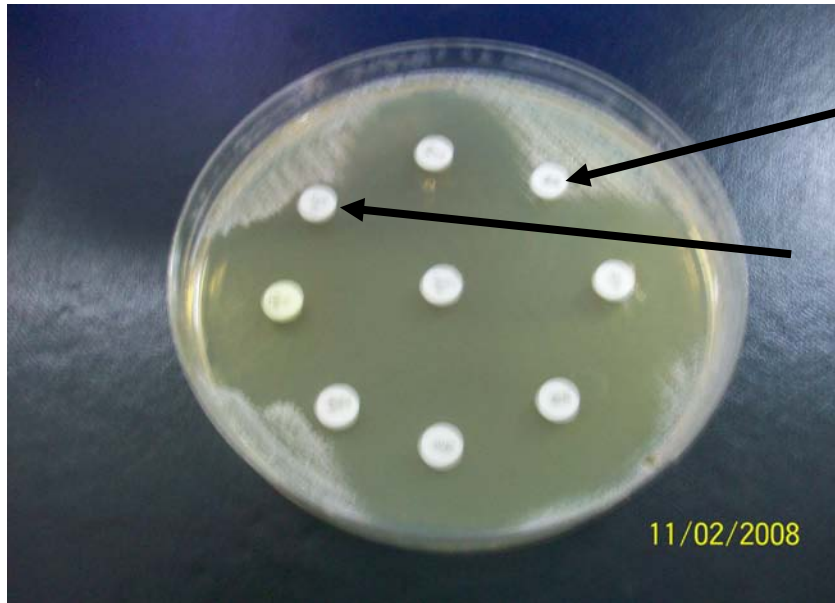
Toplam izole edilen 15 adet *Bifidobacterium spp.* suşları %53 vankomisine, %33 siprofloksasine, %20 gentamisine, %7 eritromisine dirençli olduğu saptanırken, tetrasiklin, ampisilin, kloramfenikol, rifampisin ve nitrofurantoine direnç saptanmamıştır.

İzole edilen 10 adet *Streptococcus spp.* suşlarının %40'ının vankomisine, %30'unun siprofloksasine, %20'sinin gentamisine ve %10'unun eritromisin ve kloramfenikole karşı dirençli olduğu saptanmıştır. İzole edilen suşların tetrasiklin, ampisilin, rifampisin ve nitrofurantoine karşı direnç saptanmamıştır.

İzole edilen 1 adet *Enterococcus spp.* suşunda ise %100 vankomisin eritromisin, rifampisin, siprofloksasin direnci saptanırken, tetrasiklin, ampisilin, kloramfenikol, nitrofurantoin, gentamisin direncine rastlanmamıştır. Bazı antibiyotik dirençli suşlara ait görünüşler Resim4.5, Resim4.6'da verilmiştir.



Resim 4.5. 8 suş nolu *Streptococcus* spp.'nin vankomisin, siprofloksasin ve gentamisin direnci



Resim 4.6. 15 suş no'lu *Lactobacillus* spp.'nin Vankomisin ve Eritromisin Direnci

Temmerman ve ark. (2002), probiotikler üzerine yapmış oldukları çalışmada vankomisin ve eritromisine dirençliliğiyle bizim probiotik olarak çalıştığımız *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. dirençliliği benzerlik gösterirken

tetrasiklin dirençliliği sadece *Lactobacillus*'lar için benzerlik göstermektedir. Ancak bifidobacterium'ların dirençliliği için bulduğumuz sonuçlar farklılıklar içermektedir. Kloramfenikol dirençliliği ise bizim çalışmamızda probiotikler için duyarlılık gösterirken, Temmerman ve ark. yapmış olduğu çalışmada dirençlilik göstermektedir.

Charteris ve ark.(1998), yapmış oldukları bir çalışmada *Bifidobacterium* spp.'lerin tetrasiklin kloramfenikol ampicillin duyarlılığı benzerlik gösterirken eritromisin direnci farklılık göstermektedir. Bizim çalışmamızda azda olsa eritromisine karşı *Bifidobacterium*'larda direnç saptanmıştır.

Ammor ve ark. (2007), endüstriyel *Lactobacilus*'lar üzerine yapmış olduğu bir çalışmada gentamisin dirençliliği kloramfenikol duyarlılığı bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Ancak tetrasiklin ve eritromisin bizim çalışmamızda dirençlilik gösterirken, Ammor ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Lactobacillus*'ların tetrasiklin ve eritromisine duyarlı olduğu rapor edilmiştir.

4.3. Multiple Antibiyotik Direnç indeksi

Antibiyotik direnci belirlenen suşlar Multiple antibiyotik direnç indeksleri dirençli izolatların sayısının değerlendirilen antibiyotik sayısına bölünmesiyle hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.9, Çizelge 4.10, Çizelge 4.11, Çizelge 4.12, Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.9. Beyaz peynir örneklerinden izole edilen LAB'nin multiple antibiyotik direnç indeksi sonuçları

Suş No	<i>Lactobacillus</i> spp.			<i>Streptococcus</i> spp.			<i>Bifidobacterium</i> spp		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
1	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
2	0	0	0	-	-	-	-	-	-
3	0,30	0,30	0,30	-	-	-	-	-	-
4	0,30	0,30	0,30	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	0	0	0	-	-	-
6	0,66	0,50	0,40	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	0	0	0
8	-	-	-	1	0,75	0,60	-	-	-
9	0,66	0,5	0,40	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	0,30	0,25	0,20	-	-	-
11	-	-	-	0,30	0,50	0,40	-	-	-
12	0	0	0	-	-	-	-	-	-
13	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	0,66	0,50	0,40
15	0,30	0,50	0,40	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	0,30	0,25	0,20	-	-	--
17	-	-	-	0	0	0	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	0,66	0,50	0,40
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	0	0	0	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	0,30	0,25	0,20	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	0	0	0
23	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-

A1: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin

A2: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin

A3: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin, tetrasiklin

Çizelge 4.10. Yoğurt örneklerinden izole edilen LAB'nin multiple antibiyotik direnç indeksi sonuçları

Suş No	<i>Lactobacillus</i> spp.			<i>Streptococcus</i> spp.			<i>Bifidobacterium</i> spp		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
24	0,30	0,50	0,40	-	-	-	-	-	-
25	0,66	0,50	0,40	-	-	-	-	-	-
26	0	0	0	-	-	-	-	-	-
27	0	0	0	-	-	-	-	-	-
28	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
29	1	0,75	0,60	-	-	-	-	-	-
30	0,30	0,25	0,40	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	0,3	0,25	0,20
32	0	0	0	-	-	-	-	-	-
33	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
34	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
35	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
36	0	0	0	-	-	-	-	-	-
37	0	0	0	-	-	-	-	-	-
38	0,66	0,50	0,40	-	-	-	-	-	-
39	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
40	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
41	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
42	-	-	-	0	0	0	-	-	-
43	0	0	0	-	-	-	-	-	-
44	0,66	0,50	0,40	-	-	-	-	-	-
45	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
46	0,66	0,50	0,40	-	-	-	-	-	-

A1: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin

A2: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin

A3: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin, tetrasiklin

Çizelge 4.11. Tulum peynirlerinden izole edilen LAB'nin multiple antibiyotik direnç İndeksi sonuçları

Suş No	<i>Lactobacillus</i> spp.			<i>Streptococcus</i> spp.			<i>Bifidobacterium</i> spp		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
47	-	-	-	-	-	-	0,66	0,50	0,40
48	-	-	-	0,30	0,25	0,20	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-	0,66	0,50	0,40
50	-	-	-	-	-	-	0	0	0
51	0	0	0	-	-	-	-	-	-
52	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
53	-	-	-	-	-	-	1	0,75	0,60
54	0,66	0,75	0,60	-	-	-	-	-	-
55	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
56	0,66	0,50	0,40	-	-	-	-	-	-
57	0,66	0,75	0,6	-	-	-	-	-	-
58	-	-	-	-	-	-	0	0	0
59	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-
60	1	0,75	0,60	-	-	-	-	-	-
61	0,66	0,40	0,40	-	-	-	-	-	-
62	-	-	-	-	-	-	0	0	0
63	0	0	0,20	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	0,30	0,25	0,20	-	-	-

A1: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin

A2: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin

A3: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin, tetrasiklin

Çizelge 4.12. Çökelek örneklerinden izole edilen LAB'nin multiple antibiyotik direnç indeksi sonuçları

Suş No	<i>Lactobacillus spp.</i>			<i>Streptococcus spp.</i>			<i>Bifidobacterium spp</i>		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
65	-	-	-	-	-	-	1	0,75	0,60
66	-	-	-	-	-	-	0,30	0,50	0,40
67	-	-	-	-	-	-	0,30	0,25	0,20
68	-	-	-	-	-	-	0,66	0,50	0,40
69	0,30	0,25	0,20	-	-	-	-	-	-

A1: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin

A2: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin

A3: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin, tetrasiklin

Çizelge 4.13. Kefirden izole edilen LAB'nin multiple antibiyotik direnç indeksi sonuçları

Suş No	<i>Lactobacillus spp.</i>			<i>Streptococcus spp.</i>			<i>Bifidobacterium spp</i>		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
70	0,66	0,75	0,60	-	-	-	-	-	-
71	-	-	-	-	-	-	0	0	0

A1: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin

A2: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin

A3: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin, tetrasiklin

Çizelge 4.14. Kaymaktan izole edilen LAB'nin multiple antibiyotik direnç indeksi sonuçları

Suş No	<i>Lactobacillus spp.</i>			<i>Streptococcus spp.</i>			<i>Bifidobacterium spp</i>		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
72	0	0	0	-	-	-	-	-	-

A1: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin

A2: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin

A3: Vankomisin, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin, tetrasiklin

Dirençli bulunan tüm izolatların Multiple Antibiyotik direnç indeksi hesaplanmış olup sonuçlar 0,20'den büyük çıkmıştır. Bu durum *Lactobacillus* spp, *Streptococcus* spp. ve *Bifidobacterium* spp.'lerde vankomisin siprofloksasin ve gentamisin antibiyotiğinin sık kullanılmakta olduğunu ve bu mikroorganizmaların yüksek risk taşıdığını göstermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Analize alınan 50 farklı geleneksel süt ürünlerinden elde edilen toplam 72 adet izolattan, 19 adet thermobacterium grubu *Lactobacillus* spp. 2 adet beta bacterium grubu *Lactobacillus* spp. 2 adet streptobacterium grubu *Lactobacillus* spp. 24 adet *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei* 15 adet *Bifidobacterium* spp. 1 adet *Enterococcus* spp. 10 adet *Streptococcus* spp. olarak belirlenmiştir. İzole edilen suşların, ampisilin, eritromisin, tetrasiklin, vankomisin, nitrofurantoin, gentamisin, rifampisin, kloramfenikol ve siprofloksasin antibiyotiklerine karşı dirençlilikleri araştırılmıştır.

Araştırmada 15 beyaz peynir örneğinden izole edilen 23 laktik asit bakterisine ait suşlardan %53'ü vankomisine, %21'i gentamisine, %31'i, siprofloksasine, %12'si eritromisine, %3'ü kloramfenikole ve %3'ü rifampisine dirençli, %28'i ise test edilen tüm antibiyotiklere karşı duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir. 20 yoğurt örneğinden izole edilen 23 laktik asit bakterisine ait suşların %52'si vankomisine, %22'si siprofloksasine, %22'si gentamisine, %4'ü eritromisine ve %4'ü tetrasikline dirençli olarak bulunmuş olup, suşların %30'unun tüm antibiyotiklere duyarlı oldukları belirlenmiştir. 10 tulum peyniri örneğinden izole edilen 18 laktik asit bakterilerine ait suşlardan %58'i vankomisine, %37'si siprofloksasine, %26'sı gentamisine, %11'i eritromisine ve %5'i tetrasikline dirençli olarak bulunmuş olup, %28 'i ise tüm antibiyotiklere duyarlılık göstermiştir. 3 çökelek örneğinden izole edilen 5 laktik asit bakterisine ait suşlardan %80'i vankomisine, %40'ı gentamisine ve siprofloksasine, %20'si ise eritromisine dirençli olarak bulunmuştur. Araştırmada 1 kefir örneğinden izole edilen 2 laktik asit bakterisine ait suşların her ikisi de vankomisine dirençli bulunurken, gentamisin %50 ve eritromisin %50 dirençli olarak bulunmuştur. Analize alınan bir kaymak örneğinden tek bir laktik asit bakterisi izole edilmiş ve test edilen tüm antibiyotiklere karşı duyarlılık gösterdiği bulunmuştur.

Dirençli bulunan tüm izolatların Multiple Antibiyotik direnç indeksi sonuçları 0,20'den büyük çıkması *Lactobacillus* spp, *Streptococcus* spp. ve *Bifidobacterium* spp.'lerde vankomisin siprofloksasin ve gentamisin antibiyotiğinin

sık kullanılmakta olduğunu ve bu mikroorganizmaların yüksek risk taşıdığını göstermektedir.

Günümüzde tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirilmekte, buna karşın, süratle direnç kazanan mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar artmaktadır. Son yıllarda, antibiyotik kullanımına ve bu antibiyotiklerin doğaya salınımına bağlı bakteri direncinin artış göstermesi önemli bir problemdir. İnsan ve hayvanlarda direnç genleri ve bakteri dirençlerinin yayılımı ve ortaya çıkmasında gıda zincirinin de öncülük ettiği birçok çalışmalarla kanıtlanmaktadır. Gerek bu elde ettiğimiz, gerekse farklı araştırmalardan elde edilen çalışma sonuçları, gıda zincirinde önemli bir yeri olan fermente süt ürünleri, insan ve hayvan popülasyonu arasındaki antibiyotik dirençli bakterilerinin taşınmasının bir aracı olduğunu ve gıda kaynaklı bakterilerin antibiyotik direnç genlerinin kaynaklarından biri olduğu konusunda yapılan tahminleri desteklemektedir.

Fermente gıdalardan olan beyaz peynir, yoğurt, tulum peyniri, çökelek, kefir ve kaymak gibi süt ürünleri ilk zamanlar gıdaların raf ömrünü uzatmak açısından ilave edilse de tat aroma ve insan bağırsak sistemine faydaları açısından kullanımı gittikçe artmaktadır. Buna paralel olarak insan sağlığı sorunlarının çözümü için yapılan çalışmalar ve çeşitli antibiyotiklerin geliştirilmesi de hızla artmaktadır.

İnsan ve hayvan sağlık sorunlarının çözülmesinde pratik olarak antibiyotiklere başvurulması antibiyotiklerin çeşitli yollarla laktik asit bakterileri aracılığıyla direnç kazanması önemli sorunlara neden olmaktadır.

Bu yüzden antibiyotiklerin kullanımı ve seçilimi konusunda çeşitli tedbirler alınmalı ve fermente gıdalar için kullanılan laktik asit bakterilerinin ticari açıdan satılarak gıdalarda kullanımı kontrol altına alınmalı ve gıda zincirinde kullanmak için tasarlanan probiyotik ve starter kültür olarak eklenecek mikroorganizma kültürlerinin antibiyotik direnç riskine karşı sürekli sistematik olarak denetlenmelidir.

Sonuç olarak, ülkemizde hayvan sağlığını korumak amacıyla kontrolsüz ve bilinçsiz olarak antibiyotik tüketilmektedir. Yaptığımız çalışmayla hayvanlara uygulanan antibiyotikler, direnç genlerinin gıdalar aracılığıyla insana taşınması tahminini doğrulamaktadır. Bu nedenle hayvan sağlığının korunmasında ve antibiyotik ve benzeri ilaçların kullanımının kontrol altına alınması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- ADAMS, M.R., 1999. Safety of Industrial Lactic Acid Bacteria. *Journal of Biotechnology*, 68:171-178.
- AĞAOĞLU, S., OCAK, E., MENGEL, Z., 1996. Van Yöresinde Üretilen Çökeleklerin Mikrobiyolojik, Kimyasal Fiziksel ve Duyusal Nitelikleri Üzerine Yapılan Bir Araştırma. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*,44: 1-6.
- AMMOR, M. S., FLOREZ, A. B., MAYO, B., 2007. Antibiotic Resistance in Non-Enterococcal Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *Food Microbiology*, 24, 559-570.
- AMMOR, M., S., BELÉN FLÓREZ, 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.
- ANDRIGHETTO, C., KNIFE, E., LOMBARDI, A., TORRIANI, S., VANCANNETY, M., KERSTERS, K., SWINGS, J., DELLAGLIO, F., 2001. Phenotypic and Genetic Diversity of Enterococci Isolated from Italian Cheeses. *J.Dairy Res.* 68, 3003-316.
- ANONYMOUS, 2009, <http://www.odekkoyu.org.tr>.
- ASLIM, B., BEYATLI, Y., 1997. Köy ve Kasaba Yoğurtlarından izole Edilen *Lactobacillus bulgaricus* Suşlarının Metabolik ve Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bir Araştırma. *Gıda Dergisi* 22(6):441-447.
- ASLIM, B., BEYATLI, Y., HALKMAN, K.,2000. Yoğurt Starter Kültür Metabolitlerinin İnhibisyon Etkisi. *Turk J Biol.*, 24,65-78.
- ASLIM, B., BEYATLI, Y., 2004. Antibiotic Resistance and Plasmid DNA Contents of *Streptococcus Thermophilus* Strains Isolated from Turkish Yoghurts. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 28, 257-263.

- ASLIM B., YUKSEKDAG, Z.N., SARIKAYA, E., BEYATLI, Y.,2005. Determination of the Bacteriocin-like Substances Produced by Some Lactic Acid bacteria Isolated from Turkish dairy products. LWT, 38, 691-694.
- AXELSSON L. 2004. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. in: Salminen, S.von Wright, A. and Ouwehand A. (Eds.), Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. 3rd rev. and exp. ed. Marcel Dekker, Inc., New York, pp.1-66.
- ATEŞ, G., PATIR, B., 2001. Starter Kültürlü Tulum Peynirinin Olgunlaşması Sırasında Duyusal, Kimyasal, ve Mikrobiyolojik Niteliklerinde Meydana Gelen Değişimler Üzerine Araştırmalar. F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi, 15(1), 45-46.
- BARTON,M.D.,WILKINS,J.,2001. Antibiotic Resistance in Bacteria Isolated from Poultry. RIRDC Publication NO:01/105 USA.
- 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.
- BERTRAND, X., MULIN, B., VIEL, J. F., THOUVEREZ, M., TALON, D., 2000. Common PFGE Patterns in Antibiotic-Resistant *Enterococcus faecalis* from Humans and Cheeses. Food Microbiology, 17, 543-551.
- BUTAYE, P.; VAN DAMME, K.; DEVRIESE, L., A.; VAN DAMME, L.; BAELE, M., LAUWERS, S.; HAESEBROUCK, F.; 2000. In vitro Susceptibility of *Enterococcus faecium* Isolated From Food to Growth-Promoting and Therapeutic Antibiotics. International Journal of Food Microbiology, 54, 181-187.
- COCCONCELLI, P., S.; CATTIVELLI, D.; GAZZOLA, S.; 2003. Gene Transfer of Vankomisin and Tetracycline Resistances Among *Enterococcs faecalis* During Cheese and Sausage Fermentations. International Journal of Food Microbiology, 88, 315-323.

- ÇAKIR, 2003. Laktobasillus ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi,2s.
- ÇITAK, S., YUCEL, N., ORHAN, S., 2004. Antibiotic Resistance and Incidence of Enterococcus Species in Turkish White Cheese. International Journal of Dairy Technology, 57, 27-31
- DUAN, Y., TAN, Z., WANG, Y., LI, Z., QOIN, G, HUO, Y., CAI, Y., 2007. Identification And Characterization Of Lactic Acid Bacteria Isolated From Tibetan Qula Cheese. J. Gen. Microbiol.,54,51-60.
- DEMİRTÜRK, N.; DEMİRDAL, T. 2004. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. Kocatepe Tıp Dergisi, 5, 17-21.
- DURUPINAR, B., 2001. Antibiyotiklere Dirençlerde Yeni Eğilimler. Klinik Dergisi. 14(2): 47-55.
- EL-DIN, B., B., EL-SODA, M.; EZZAT, N., 2002. Proteolytic, Lipolytic and Autolytic Activities of Enterococci Strains Isolated from Egyptian Dairy Products. Lait, 82, 289-304.
- EMBORG, H., D.; ANDERSEN, J., S.; SEYFARTH, A., M.; BOEL, J., WENEGER, H., C., 2003. Relations Between The Occurance of Resistance to Antimicrobial Growth Promoters Among *Enterococcus faecium* Isolated from Broilers and Broiler Meat. International Journal of Food Microbiology, 84, 273-284.
- ERGİNKAYA, Z., HAYALOĞLU, A. A., 2001.‘Gıda Endüstrisinde Kullanılan Laktik Asit Bakterileri’ Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 23 Adana
- ERGİNKAYA, Z., YURDAKUL, N. E., KARAKAŞ, A., 2007. *Enterococcus Faecium* ve *Enterococcus Faecalis*’in Starter ve Probiyotik Kültür Özellikleri. Gıda Dergisi, 32(3), 137-142.
- ERDOĞRUL, Ö., ERBİLİR, F., 2001. Kahramanmaraşta Satışa Sunulan Beyaz Peynirlerde *Streptococcus faecalis* Varlığı Üzerine Araştırmalar. Gıda Dergisi, 26(3): 167-169.
- ERDOĞRUL, Ö., ERBİLİR, F., 2006. Çeşitli Gıdalardan İzole Edilen *Lactobacillus bulgaricus* ve *Lactobacillus casei* ‘nin İzolasyonu Ve Karakterizasyonu. Türk J. Biol. 30,39-44.

- ERKUŞ,O., 2007. Yoğurt Kültürlerinin İzolasyonu, Fenotipik ve Genotipik Karakterizasyonu. İzmir Teknoloji Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi,78s.
- EUROPEAN COMMISSION, 2005. Opinion of the FEEDAP Panel on the Updating of the Criteria Used in the Assessment of Bacteria for Resistance to Antibiotics of Human or Veterinary Importance. EFSA Journal, 223, 1-1.
- FOULQUIE MORENO, M. R., SARANTINOPOULOS, P., TSAKALIDOU, E., DE VUYST, L., 2006. The Role and Application of Enterococci In Food and Health. Int. J. Food Microbiol., 106 : 1–24.
- FACKLAM, R., R.; SAHM, D., S.; TEIXEIRA, L., M.; 2002. Standart Laboratory Methods For Identifyig and Growing Enterococci. Manual of Clinical Microbiology, ASM Press.
- FENDERYA, S., AKALIN,A.S., 2003. Probiyotik Yoğurtların Bazı Kimyasal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Ege Üniversitesi .Ziraat Fakültesi Derg.,(40)1: 87-94.
- FRANZ, C. M. A. P., HOLZAPFEL, W. H., STILES, M. E., 1999. Enterococci at the Crossroads of Food Science International Journal of Food Microbiology, 47, 1-24.
- FRANZ, C. M. A. P., STILES, M. E., SCHLEIFER, K. H., HOLZAPFEL, W. H. 2003. Enterococci In Foods a Conundrum for Food Safety. Int. J. Food Microbiol., 88:105–122.
- GELSOMINO, R.; VANCANNEYT, M.; CODON, S.; SWINGS, J.; COGAN, T., M.; 2001. Enterococcal Diversity in the Enviroment of an Irish Cheddar-type Cheesemaking Factory. International Journal of Food Microbiology, 71, 177-188.
- GIRAFFA, G. 2002. Enterococci From Food. FEMS Microbiology Reviews, 26, 163-171.
- GIRAFFA, G. 2003. Functionality of Enterococci In Dairy Products. Int. J. Food Microbiol., 88: 215– 222.
- GODDIK,L., M., 2000. Sour Cream And Crema Fraiche. Handbook of Food Science, Technology, And Engineering, Vol. 4, No.179, 1-2

- GÜLAY,Z.,2003. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Yorumu. Toraks Dergisi, 1(3),75-85.
- GÜRSOY, O., KINIK, Ö., 2005. Laktobasiller ve Probiyotik Peynir Üretiminde Kullanım Potansiyelleri. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 3(11), 361-371.
- HERREROS, M. A., SANDOVAL, H.,GONZALEZ, L.,CASTROJ. M.,FRENSO,J. M., TORNADIJO, M.E., 2005. Antimicrobial Activitiy and Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria Isolated from Armada Cheese (A Spanish Goats' Milk Cheese) Spain. Food Mikrobiology, 22, 455-459.
- HUMMEL, A., HOLZAPFEL, W. H., FRANZ, C. M. A. P., 2008. Characterisation and Transfer of Antibiotic Resistance Genes From Enterococci İsolated From Food. Systematic And Applied Microbiology, 30, 1-7.
- HUMMEL, A.S., HERTEL, C., HOLZAPFEL, W.H., CHARLES, FRANZ, C.M.A.P.,2007 Antibiotic Resistances of Starter and Probiotic Strains of Lactic Acid Bacteria. Applied and Enviromental Mikrobiology,Vol. 73, No:3, 730-739s
- HUMMEL A.S.,HERTEL,C.,HOLZAPHEL,H. and FRANZ ,M. A. P., 2006 Applied and enviromental Microbiology 2007 p.730-739 Germany.
- HUYS, G., D'HAENE, K., COLLARD, J.-M., SWINGS, J., 2004. Prevalence And Molecular Characterization Of Tetracycline Resistance in Enterococcus İsolates From Food. Applied And Environmental Microbiology, 70, 1555-1562.
- İŞLEROĞLU, H., YILDIRIM, Z., DEMİRPENÇE, Y., YILDIRIM, M., 2008. Enterekoklar: Biyokimyasal, Fizyolojik ve Fonksiyonel Özellikleri İle Patojenitesi. Akademik Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi, 6(3), 16-26.
- JANSSON, S.,2005. Lactic Acid Bacteria İn Silage – Growth, Antibacterial Activity and Antibiotic Resistance. Department of Microbiology Master thesis Swedish University of Agricultural Sciences,7s.
- KARA, A. A, ALGUR, Ö. F., KAYA, M., 1998. Erzurum Piyasasından Temin Edilen Beyaz Ve Civil Peynirlerden, *Listeria* Türlerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu.Türkiye J. Biyoloji Dergisi, 23:331-337

- KARACA, O.B., GÜVEN, M., 2004. Çökelek Peyniri Ve Çökelek Kullanılarak Yapılan Bazı Yöresel Peynir Çeşitleri. Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü.
- KARAKAŞ, A., 2005. Beyaz Peynir ve Fermente Sucuklardan *Enterococcus Faecium*'un İzolasyonu ve Tanımlanması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.39s.
- KAYAGİL, F., 2006. Geleneksel Starter Kültürlerin Peynir Kalitesine Etkisi. Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.14s.
- KILIÇ, S., 2001.Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No:542, İzmir. 1-57s
- KIRDAR, S.,S., 2002. Çökelek Peyniri Üzerine Bir Araştırma. S.D.Ü.Burdur Meslek Yüksek Okulu Süt ve Süt Ürünleri Programı, BURDUR.
- KLEIN, G.; 2003. Taxonomy, Ecology and Antibiotic Resistance of Enterococci From Food and Gastro-Intestinal Tract. International Journal of Food Microbiology. 88, 2-3, 123-131.
- KUSHIRO,A., CHERVAUX, C., COOL-PORTIER, S., PERONY, A., LEGRAIN-RASPAUD, S., OBİS, D., ONOUNE, M., MOER,A. 2009. Antimicrobial Susceptibility Testing of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria by Broth Microdilution Method and Etest. International Journal of Microbiology 1.
- LARSON, Z., SUBRAMANYAM, B., ZUREK, L., HERRMAN, T.,2008. Diversity and antibiotic resistance of enterococci associated with stored-product insects collected from feed mills. Journal of Products Research, 44, 198-203.
- LOMBARDI, A., GATTI, M., RIZOTTI, L., TORRIANI, S., ANDRIGHETTO, C., GIRAFFA, G., 2004. Characterization Of Streptococcus Macedonicus Strains Isolated from Artisanal Italian Rawmilk Cheeses. International Dairy Journal of Food Microbiology, 14, 967-976.
- LUKASOVA, J.; SUSTACKOVA, A.; 2003. Enterococci and Antibiotic Resistance. Acta Vet. Brno, 72, 315-323.
- MADIGAN,M.T.;MARTINKO,J.M.;PARKER,J.,1997. Biologyof Microorganisms, Eighth Ed. ,Prentice-Hall,Inc.,USA,986 p.

- MANNU, L.; PABA, A.; PES, M.; FLORIS, R.; SCINTU, M., F.; MORELLI;
1999. Strain Typing Among Enterococci Isolated from Home-Made Pecorino Sardo Cheese. FEMS Microbiology Letters, 170, 25-30.
- MANOLOPOULOU, E.; SARANTINOPOULOS, P.; ZOIDOU, E.; AKTYPIS, A.; MOSCHOPOULOU, E.; KANDARAKIS, I., G.; ANIFANTAKIS, E., M.,
2003. Evolution of Microbial Populations During Traditional Feta Cheese Manufacture and Ripening. International Journal of Food Microbiology, 82, 153- 161.
- MARTINS DA COSTA, P. M., VAZ-PIRES, P. M., BERNARDO, F. M., 2006. Antibiotic Resistance of Enterococcus Spp. Isolated from Wastewater and Sludge of Poultry Slaughterhouses. Journal of Environmental Science and Health Part B, 41, 1393-1403.
- MATHUR, S., SINGH, R., 2005. Antibiotic Resistance in Food Lactic Acid Bacteria-A Review. International Journal of Food Microbiology, 105, 281-295.
- MATYAR, F., KAYA, A., DİNÇER, S., 2007. Distribution and Antibacterial Drug Resistance of *Aeromonas* spp. from Fresh and Brackish Waters in Southern Turkey. Annals of Microbiology, 57(3), 443-447.
- 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.
- MORANDI, S., BRASCA, M., ANDRIGHETTO, C., LOMBARDI, A., LODI, R., 2006. Technological and Molecular Characterization of Enterococci Isolated from North-West Italian Dairy Products. International Dairy Journal, 16, 867-875.
- NIKAIDO H. 1994. Prevention of Drug Access to Bacterial Targets Permeability Barriers and Active Efflux Science. 1994;264:382-8.
- OGIER, J.C., SERRA, P. 2008. The Enterococcus Genus. Int.J.Food Microbiol.

- ÖKSÜZTEPE,G., PATIR, B., ÇALICIOĞLU,M., 2005. Şavak Tulum Peynirinin Olgunlaşması Sırasında Laktik Asit Bakterilerinin Dağılımı ve İdentifikasyonu.Türk J.Vet. Animal Science. 29, 873-87.
- ÖZER, B., 2006. Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi. Sidas Matbaacılık. İZMİR. 168-169s.
- PALALI, H.,2007. Laktik Asit Bakterilerinde Transkripsiyon Regülasyonu. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.1-3s
- 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, 311-314.
- PRATT BG.,1994. Resistance to Antibiotics Mediated By Target Alterations. Science ;264: 388-93.
- REES, T., 1997. The Development of A Novel Antifungal Silage Inoculant. Cranfield University Phd. Thesis. Available Online At: [Www.Brighton73.Freeserve.Co.Uk](http://www.Brighton73.Freeserve.Co.Uk).
- ROSARÍA, M., MODESTO, M., BÍAVATİ, B., 2007. Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria and *Bifidobacterium* Spp. İsolated From Dairy And Pharmaceutical Products. İnternational Journal Of Microbiology 115, 35-42.
- SARANINOPOULOS, P., ANDRIGHETTO, C., GEORGALAKI, M.D., REA, M. C., LOMBARDI, A., COGAN, T. M., KALANTZOPOULOS, G., TSAKALIDOU, E. 2001. Biochemical Properties of Enterococci Relevant to Their Technological Performance. Int. Dairy J., 11: 621–647.
- SAVADAGO,A., OUTTARA,C.,A.,T., SAVADOGO,P., W., BARRO,N., OUTTARA,S., A., TRAORE,S.,A., 2004. Identification of Exopolysaccharides-Producing Lactic Acid Bacteria from Burkina Faso Fermented Milk Sampls. African J.Biotechnology Vol. 3 (3) 189-194.
- SCHLEIFER, K. H., LUDWING,W., 1995. Phylogenetic Relationships of Lactic Acid Bacteria (Ed:B.J.B.WOOD and W.H.HOLZAPFEL) Blackie Academic & Publ. London, pp: 7-18.

- TARAKÇI, Z., KÜÇÜKÖNER, E., SANCAK, H., EKİCİ, K., 2005. İnek Sütünden Üretilerek Cam Kavanozlarda Olgunlaştırılan Tulum Peynirinin Bazı Özellikleri.Yüzüncüyıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi,16(1); 9-14.
- TAŞ, E., 2008. Probiyotik Laktik Asit Bakterileri Ve Baharatların Bazı Gıda Patojenleri Üzerine İnhibisyon Etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. 1s
- TEMİZ, A., 2000. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatiboğlu Yayınevi. Ankara. 291 sayfa.
- TEMMERMAN, R.; POT, B., HUYS, G., SWINGS, J., 2003. Identification and Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates from Probiotic Products. International Journal of Food Microbiology, 81, 1-10.
- TEUBER, M., MEİLE, L., SCHWARZ, F., 1999. Acquired Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria From Food. Antonie Van Leewenhoek, 76, 115-137.
- TÜKEL, Ç., ÇELİK, A., 2000. *Lactococcus Lactis* Subsp *lactis* Suşlarında Laktoz Plazmidlerinin Tanımlanması. Türk J. Biol.24,405-424.
- TIMOTHY M. COGAN, M., T., BARBOSA, M., BEUVIER, E.,BIANCHI-SALVADORI, B., COCCONCELLI, P., S., FERNANDES, İ., GOMEZs, J., GOMEZ, R., KALANTZOPOULOS, G., LEDDA, A., MEDINAs, M., REA, M., C., RODRIGUEZs,E., 1997. Characterization Of The Lactic Acid Bacteria In Artisanal Dairy Products. Journal of Dairy Resarch 64, 409-421
- TROMPFOVA, V., LAUKOVA, A., 2004. Antibiotic Resistance Of Lactic Acid Bacteria From Canine Faeces. Bull Vet Inst Pulawy, 48, 215-218.
- UZZI, G., LOMBARDI, A., LANORTE, M. T., CARUSO, M., ANDRIGHETTO, C. GARDINI, F., 2000. Characterization Of Autochthonous Enterococci Isolated from Semicotto Caprino Cheese, A Traditional Cheese Produced in Southern Italy. Journal of Applied Microbiology, 89, 267-274.
- ÜNLÜTÜRK,A., TURANTAŞ, F., 1998. Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, Çınarlı-İzmir,605s

- XIADONG, P., CHEN, F., WU, T., TANG, H., ZHAO, Z., 2007. The Acid, Bile Tolerance and Antimicrobial Property of *Lactobacillus Acidophilus* NIT. Food Control 20,598-602.
- VAN DEN BOGAARD, A. E., WILLEMS, R., LONDON, N., TOP, J., STOBBERINGH, E. E., 2002. Antibiotic Resistance of Faecal *Enterococci* in Poultry, Poultry Farmers and Poultry Slaughterers. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 49, 497-505.
- YILDIRIM, Z., 2001. Antimikrobiyal Madde Üreten Bir *Lactobacilli*'nin İzole ve Teşhis Edilmesi. Gıda Dergisi, 26(4):303-306.
- YURDAKUL, N. E., 2008. Tavuk Etlerinden Gram Pozitif Kokların İzolasyonu Ve Antibiyotiklere Karşı Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. 1.
- YÜCE, A. 2001., 'Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları' Klinik Dergisi Cilt 14.Sayı:2 S:41-46 Ankara.
- ZAMFIR, M., VANCANNEYT, M., MAKRAS, L., VANİNGELGEM, F., LEFEBRE, K., POT, B., SWINGS, J. V. L., 2005. Biodiversity of Lactic Acid Bacteria in Romanian Dairy Products.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Adana’ da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana’da tamamladım. 1998 yılında İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde lisans öğrenimime başladım. 2001 yılında Biyolog ünvanı ile mezun oldum. Aynı yıl İnönü Üniversitesinde Orta Öğretim Pedagojik Formasyon eğitime başladım. 2005 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’ nda yüksek lisans öğrenimine başladım.