

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TUZLANMIŞ DERİLERDE BULUNAN
MİKROORGANİZMA TÜRLERİNİN SAPTANMASI

Emel ASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOLOJİ PROGRAMI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Meral BİRBİR

İSTANBUL 2009

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TUZLANMIŞ DERİLERDE BULUNAN
MİKROORGANİZMA TÜRLERİNİN SAPTANMASI

Emel ASLAN
(141100620070149)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOLOJİ PROGRAMI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Meral BİRBİR

İSTANBUL 2009

18.06.2009

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KABUL ve ONAY BELGESİ

Emel ASLAN'ın **Tuzlanmış Derilerde Bulunan Mikroorganizma Türlerinin Saptanması** başlıklı Lisansüstü tez çalışması, M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararı ile oluşturulan jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Biyoloji Programında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak Kabul edilmiştir.

Danışman : Prof.Dr.Meral BİRBİR (Marmara Üniversitesi)
1. Üye : Prof.Dr.Meral ÜNAL (Marmara Üniversitesi)
2. Üye : Doç.Dr.Barış ÇALLI (Marmara Üniversitesi)

Tezin Savunulduğu Tarih : 18.06.2009

ONAY

M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nuntarih ve sayılı kararı ile Emel ASLAN'ın Biyoloji Anabilim Dalı Biyoloji Programında Y.Lisans (MSc.) derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Sevil ÜNAL

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması ve gerçekleşmesinde çok büyük emeği bulunan, fikirleri ile bana ve tezime yön veren, tüm aşamalarda bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve hiçbir zaman yardımını esirgemeyen, kendisinden hayata dair birçok şey öğrendiğim, çalışkanlığı ve azmi ile bana örnek olan Değerli Hocam Prof. Dr. Meral Birbir' e,

Engin bilgisi, sevgi dolu üslubu, öğretme heyecanı ve sevgisi ile her zaman örnek alacağım, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve manevi olarak her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Meral Ünal' a,

Bu aşamaya gelmemde emekleri olan saygıdeğer hocalarıma,

Çalışmalarım için örnekler topladığım İstanbul-Tuzla Deri Organize Sanayisi'ndeki firmalara ve göstermiş oldukları ilgi, hoşgörü, özveri ve yardımları için çalışanlarına,

Tezimin gerçekleşmesi için gerekli imkanları sağlayan ve maddi olarak destek veren M.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Laboratuar aşamasında yardımlarını esirgemeyen, bana her zaman her konuda destek olan ve benim için özel bir yeri olan arkadaşım ve bilimdeki yoldaşım Pınar Yılmaz' a,

Bilgilerini paylaşmaktan her zaman mutluluk duyan ve kendilerinden pek çok şey öğrendiğim, tezimin gerçekleşmesinde büyük emekleri bulunan ve yardımlarını esirgemeyen sevgili Didem Berber ve Hüsniye Hacıoğlu' na, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili ekip arkadaşlarım Nur Özcan ve Elif Yılmaz' a,

Beni bu günlere getiren, tüm hayatım boyunca desteklerini ve ilgilerini hiçbir zaman esirgemeyen, benimle birlikte emek sarfeden ve özellikle tez çalışmalarım sırasında gösterdikleri sonsuz sabır ve anlayış için sevgili aileme, tezimin başından sonuna hep yanımda olan, çalışmalarım sırasında sabırla beni bekleyen, benimle birlikte emek sarf edip destek olan biricik kardeşim Ersin Aslan 'a,

Yüksek Lisans eğitimim boyunca yurt içi yüksek lisans burs programı aracılığı ile desteklerini esirgemeyen TÜBİTAK - Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı' na (BİDEB) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Haziran, 2009

Emel ASLAN

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA NO</u>
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xii
YENİLİK BEYANI.....	xiv
SEMBOLLER.....	xv
ŞEKİLLER.....	xvi
TABLolar.....	xx
BÖLÜM I. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER.....	3
II.1 DERİCİLİK VE DERİ ENDÜSTRİSİ.....	3
II.2 DERİNİN VE DERİCİLİĞİN TARİHÇESİ.....	5
II.2.1 Dericiliğin Doğuşu ve Gelişimi.....	6
II.3 DÜNYA’DA VE TÜRKİYE’ DE DERİ ÜRETİM DURUMU VE İTHALAT-İHRACAT RAKAMLARI.....	9
II.4 HAM DERİNİN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ.....	12
II.4.1 Derinin Kimyasal Yapısı.....	13
II.4.2 Derinin Biyolojik Yapısı.....	13
II.4.2.1 Yapısal (Fibröz veya Şekli) Proteinler.....	13
II.4.2.1.1 Kollajen.....	14
II.4.2.1.2 Diğer Yapısal Proteinler.....	15
II.4.3 Derinin Anatomik ve Histolojik Yapısı.....	16
II.4.3.1 Epidermis.....	18

II.4.3.2 Dermis (Koryum).....	19
II.4.3.3 Hipodermis.....	21
II.4.4 Ham Deri Kalitesini Etkileyen Etmenler.....	21
II.5 DERİLERİN KORUNMASI.....	21
II.5.1 Kurutma Yöntemi İle Koruma	23
II.5.1.1 Hava Kurusu.....	24
II.5.1.2 Tuzlu Kuru.....	24
II.5.1.3 Dondurma İle Kurutma.....	24
II.5.2 Soğutma Yöntemi İle Koruma.....	25
II.5.3 Kimyasal Yöntemlerle Koruma.....	25
II.5.3.1 Tuzla Koruma Yöntemi (Kuru Tuz Serpme Metodu).....	26
II.5.3.2 Dolap Tuzlaması (Salamura) Koruma Yöntemi.....	27
II.5.3.3 Asitle Koruma Yöntemi (Piklaj).....	27
II.5.4 Derileri Korumada Sıcaklığın Etkisi.....	28
II.5.5 Anaerobik Ortam Oluşturmanın Derileri Korumaya Etkisi.....	29
II.5.6 Korumada Gecikme veya Yetersiz Koruma.....	29
II.5.6.1 Süre Kısıtlaması.....	29
II.5.6.2 Tuz Konsantrasyonu Kısıtlaması.....	29
II.5.7 Koruma Yönteminin Etkinliğini Test Etme Metotları.....	30
II.5.7.1 Tuz Konsantrasyonu İle.....	30
II.5.7.1.1 Kül-Nem Oranı.....	30
II.5.7.1.2 Özgül Ağırlık.....	30
II.5.7.1.3 Sodyum Klorür	30
II.5.7.2 Bakteri Sayımı İle.....	30
II.5.7.3 Jelatin Film Test İle.....	31
II.6 DERİLERİN TABAKLANMASINDA	
TEMEL BASAMAKLAR.....	31
II.6.1 Islatma- Yumuşatma.....	32
II.6.2 Kıl Giderme-Kireçlik (Zırnıklama).....	33

II.6.3 Etlerden Arındırma.....	33
II.6.4 Kireç Giderme.....	33
II.6.5 Sama.....	34
II.6.6 Yağ Giderme.....	34
II.6.7 Piklaj (Salamura).....	34
II.6.8 Tabaklama (Sepileme).....	34
II.6.8.1 Kromlama (Kromla Sepileme).....	35
II.6.8.2 Bitkisel Sepileme.....	35
II.6.8.3 Yağlı Tabaklama (Yağ Sepisi).....	35
II.6.8.4 Alüminyum Sepisi.....	36
II.6.8.5 Yapay Tabaklanmış Deri.....	36
II.6.8.6 Aldehitli Tabaklanmış Deri.....	36
II.6.9 Nötralizasyon.....	36
II.6.10 Retenaj.....	37
II.6.11 Yağlama.....	37
II.6.12 Boyama.....	37
II.6.13 Finisaj.....	37
II.7 <i>PROTEOBACTERIA</i> ŞUBESİNİN GENEL ÖZELLİKLERİ.....	37
II.8 <i>ENTEROBACTERIACEAE</i> FAMILYASI HAKKINDA	
GENEL BİLGİ.....	38
II.9 <i>STAPHYLOCOCCUS</i> CİNSİ HAKKINDA GENEL BİLGİ.....	43
II.10 <i>BACILLUS</i> CİNSİ HAKKINDA GENEL BİLGİ.....	46
II.11 <i>STREPTOCOCCUS</i> CİNSİ HAKKINDA GENEL BİLGİ.....	49
II.11.1. Hemolitik Özelliklerine Göre Streptokoklar	50
II.11.1.1. Beta Hemolitik Streptokoklar	50
II.11.1.2. Alfa Hemolitik Streptokoklar	51
II.11.1.3. Gama Hemolitik (Non Hemolitik Streptokoklar)	51
II.11.2. Sherman Sınıflandırmasına Göre Streptokoklar	51
II.11.3. Genişletilmiş (Jones) Sınıflandırmasına	
Göre Streptokoklar	51
II.11.4. Antijenik Yapılarına Göre Streptokoklar	51

II.11.4.1. A Grubu Streptokok (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	52
II.11.4.2. B grubu Streptokok (<i>Streptococcus agalactiae</i>)	52
II.11.4.3. C grubu Streptokoklar	52
II.11.4.4. D grubu Streptokoklar	53
II.11.4.5. Viridans (Oral) Streptokoklar	57
II.11.4.6. Diğer Streptokok Türleri.....	58
II.12 <i>PSEUDOMONAS</i> CİNSİ HAKKINDA GENEL BİLGİ.....	58
II.13 HAM DERİ VE DERİDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERLE İLGİLİ DAHA ÖNCE YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	60
BÖLÜM III. ÇALIŞMALAR.....	65
III.1 ARAŞTIRMA ARAÇLARI.....	65
III.1.1 Kullanılan Besiyerleri ve Test Kitleri.....	65
III.1.1.1 Baird Parker RPF (Tavşan Plazma Fibrinojen) Agar	65
III.1.1.2 Cetrimide Agar	66
III.1.1.3 D-Coccosel Agar	66
III.1.1.4 DNase Agar	66
III.1.1.5 Eozin Metilen Mavisı Agar	67
III.1.1.6 Jelatin Agar (Chapman Stone Jelatin Agar)	67
III.1.1.7 Kanlı Agar.....	67
III.1.1.8 Plate Count Agar (Kazein) Besiyeri.....	68
III.1.1.9 MIL Besiyeri.....	68
III.1.1.10 MR-VP Besiyeri.....	68
III.1.1.11 Nişasta Besiyeri.....	69
III.1.1.12 Nitrat Besiyeri.....	69
III.1.1.13 Nutrient Agar	69
III.1.1.14 Nutrient Broth	69
III.1.1.15 Simmon Sitrat Agar	70
III.1.1.16 Karbonhidrat Fermentasyon Besiyeri.....	70
III.1.1.17 Üç Şekerli Demirli Agar	71
III.1.1.18 İndol Besiyeri.....	71

III.1.1.19 Tween 80 Agar	71
III.1.1.20 Üre Besiyeri.....	72
III.1.1.21 % 6,5 NaCl Agar	72
III.1.1.22 API GP Medium.....	72
III.1.1.23 API CHB/E Medium.....	73
III.1.1.24 API AUX Medium.....	73
III.1.1.25 API Staph Medium.....	73
III.1.2 Kullanılan Çözeltiler ve Boyalar.....	74
III.1.2.1 %0.85 Steril Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi.....	74
III.1.2.2 Mc Farland Bulanıklık Standartı Çözeltileri	74
III.1.2.3 Kristal Viyole Çözeltisi.....	75
III.1.2.4 Lugol Çözeltisi.....	75
III.1.2.5 % 95' lik Etil Alkol Çözeltisi.....	75
III.1.2.6 Safranin Çözeltisi.....	75
III.1.2.7 Malaşit Yeşili Çözeltisi.....	75
III.1.2.8 Barrit Ayırıcı	76
III.1.2.9 Kovaks Ayırıcı.....	76
III.1.2.10 Metil-Kırmızısı Ayırıcı.....	76
III.1.2.11 Oksidaz Test Ayırıcı.....	76
III.1.2.12 Nitrit Test Ayırıcı	76
III.1.2.13 Katalaz Test Ayırıcı	77
III.1.2.14 NIT 1 + NIT 2 Test Ayırıcı.....	77
III.1.2.15 James Reaktifi.....	77
III.1.2.16 VP 1 + VP 2 Test Ayırıcı.....	77
III.1.2.17 ZYM A Test Ayırıcı.....	77
III.1.2.18 ZYM B Test Ayırıcı.....	78
III.1.2.19 NIN Test Ayırıcı.....	78
III.1.2.20 TDA Test Ayırıcı.....	78
III.1.3 Kullanılan Araçlar.....	78
III.2 YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	79

III.2.1	Farklı Tabakhanelerden Kuru Tuz Serpme	
	Yöntemi İle Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Toplanması.....	81
III.2.2	Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristali Bulunan	
	ve Bulunmayan Bölgelerinin pH'larının Ölçümü.....	81
III.2.3	Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristali Bulunan ve	
	ve Bulunmayan Bölgelerinde Uçucu Madde (Nem) Tayini.....	81
III.2.4	Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristali Bulunan	
	ve Bulunmayan Bölgelerinde Kül Tayini.....	82
III.2.5	Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristali Bulunan	
	ve Bulunmayan Bölgelerinin Tuz Doygunluklarının Belirlenmesi.....	82
III.2.6	Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristali Bulunan	
	ve Bulunmayan Bölgelerinde Toplam Mezofil Bakteri	
	Sayılarının Belirlenmesi.....	82
III.2.7	Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristali Bulunan	
	ve Bulunmayan Bölgelerinde Toplam Proteolitik ve Lipolitik	
	Mezofil Bakteri Sayılarının Belirlenmesi.....	83
III.2.8	Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristali Bulunan	
	ve Bulunmayan Bölgelerinde Mezofil Bakterilerin	
	İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmalarının Yapılması.....	83
III.2.8.1	<i>Enterobacteriaceae</i> Familyasına Ait Türlerin	
	İzolasyonu ve Tanımlanması.....	83
III.2.8.2	<i>Bacillus</i> Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması.....	84
III.2.8.2.1	Endospor Boyama (Schaeffer-Fulton Metodu).....	84
III.2.8.3	Stafilokokların İzolasyonu ve Tanımlanması.....	85
III.2.8.4	Streptokokların İzolasyonu ve Tanımlanması.....	85
III.2.8.5	<i>Pseudomonas</i> Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması...	86
III.2.8.6	Bakterilerin Tanımlanmasında Kullanılan Testler.....	87
III.2.8.6.1	Hareket İncelenmesi.....	87
III.2.8.6.2	Gram Boyama.....	87
III.2.8.6.3	Oksidaz Testi.....	88
III.2.8.6.4	Katalaz Testi.....	88

III.2.8.6.5	İndol Oluşumu Testi.....	88
III.2.8.6.6	Metil Kırmızısı-Voges Proskauer Testi.....	88
III.2.8.6.7	Sitrat Kullanımı Testi.....	89
III.2.8.6.8	Üç Şekerli Demirli Agar Testi.....	89
III.2.8.6.9	Üreaz Testi.....	89
III.2.8.6.10	MIL (Hareket- İndol Oluşumu- Lizin Deaminaz Dekarboksilaz) Testi.....	89
III.2.8.6.11	Nişasta Hidrolizi Testi.....	90
III.2.8.6.12	DNase Testi.....	90
III.2.8.6.13	Karbonhidrat Fermentasyon Testleri.....	91
III.2.8.6.14	% 6,5 NaCl’de Gelişim Testi.....	91
III.2.8.6.15	Nitratin Nitrite İndirgenmesi ve Nitrattan Gaz Oluşumu Testi.....	91
III.2.8.6.16	Kazein Hidrolizi.....	91
III.2.8.6.17	Lipaz Testi.....	92
III.2.8.6.18	Jelatinaz Testi.....	92
III.2.8.6.19	Hemolizin Testi.....	92
III.2.9	Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinden İzole Edilerek Tanımlanan Mezofil Bakterilerin Proteaz ve Lipaz Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	92
III.2.10	Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinden İzole Edilen Mezofil Bakterilerin API Test Yöntemi İle Doğrulanması.....	93
III.2.10.1	<i>Enterobacteriaceae</i> Familyasına Ait Türlerin İzolasyonu ve Tanımlanması.....	93
III.2.10.2	<i>Bacillus</i> Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması.....	93
III.2.10.3	Stafilokok Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması	94
III.2.10.4	Streptokok Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması.....	94
III.2.10.5	<i>Pseudomonas</i> Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması	95

BÖLÜM IV. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	96
BÖLÜM V. SON DEĞERLENDİRMELER VE ÖNERİLER..	156
KAYNAKLAR.....	160
ÖZGEÇMİŞ.....	

ÖZET

TUZLANMIŞ DERİLERDE BULUNAN MİKROORGANİZMA TÜRLERİNİN SAPTANMASI

Tabaklama işlemi öncesi meydana gelen konservasyon hataları mamul deri kalitesini olumsuz olarak etkilemektedir ve önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle bu çalışmanın amacı tuzlanmış derilerdeki proteolitik ve lipolitik bakteri türlerini izole ederek tanımlamak ve tuzla koruma işleminin etkinliğini değerlendirmektir.

Çalışmamızda İstanbul Tuzla Deri Organize Sanayi Bölgesindeki farklı tabakhanelerden toplanan 10 adet tuzlanmış deri örneklerinin tuz kristali bulunan ve bulunmayan bölgelerinde pH, % nem içeriği, % kül ve % tuz doygunluğu miktarları, toplam mezofil, toplam proteolitik ve lipolitik mezofil bakteri sayıları belirlenmiştir. Tuzlanmış ham derilerin tamamında pH değerleri tuz kristali bulunan (pH 6,4-7,4) ve tuz kristali bulunmayan bölgelerde (pH 6,3-7,3) bakteri gelişimi için optimum olarak bulunmuştur. Tuzlanmış derilerin tuz kristali bulunmayan bölgelerindeki nem içeriği (% 42-57), tuz kristali bulunan bölgelerdeki nem içeriğine (% 31-47) göre daha yüksek bulunmuştur. İncelenen derilerin tamamında her iki bölgede de kül miktarları ve tuz doygunlukları standart değerler ile aynı bulunmuştur. Çalışmamızda, tuzlama işlemi yapılmış olmasına rağmen derilerin her iki bölgesinde de oldukça yüksek sayıda toplam mezofil, proteolitik ve lipolitik mezofil bakteri izole edilmiştir. Derilerin tuz kristali içermeyen bölgelerinde toplam mezofil (2×10^8 kob/g) ve toplam lipolitik mezofil bakteri sayısı ($1,7 \times 10^7$ kob/g) derilerin tuz kristali içeren bölgelerine göre daha fazla bulunmasına rağmen toplam proteolitik bakteri sayısı ($1-1,5 \times 10^7$ kob/g) her iki bölgede de aynı bulunmuştur.

Çalışmamızda derilerden toplam olarak 668 adet bakteri izole edilmiş ve tanımlanmıştır. İzole edilen cinslerin % 69'u proteolitik, % 62'si lipolitik ve % 51' i hem proteolitik hem lipolitik aktivite göstermiştir. Tuzlanmış derilerden 36 farklı cins ve

102 bakteri türü izole edilmiştir. Deri örneklerinde en yaygın olarak bulunan bakteri cinslerinin ve sayılarının sırasıyla *Staphylococcus* (115 adet), *Bacillus* (111 adet), *Enterococcus* (75 adet), *Enterobacter* (66 adet) ve *Pseudomonas* (59 adet) olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak kuru tuzlama yönteminin homojen ve yeterli yapılamamasından dolayı incelenen deri örneklerinin tuz kristali bulunan ve bulunmayan bölgelerinden izole edilen bakteri sayıları arasında farklılık görülmüştür.

Tuzlanmış derilerin tuz kristali bulunan kısımlarından fazla sayıda Gram pozitif koklar ve basiller (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus* ve *Bacillus*) ve Gram negatif *Vibrio* gibi tuza toleranslı bakteriler izole edilmiştir. Tuzlanmış derilerin tuz kristali bulunmayan kısımlarında en yaygın bulunan cinslerin Gram pozitif koklar ve basiller (*Staphylococcus* ve *Bacillus*) ve *Hafnia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi Gram negatif basiller olduğu bulunmuştur.

ABSTRACT

DETERMINATION OF MICROORGANISMS IN SALTED HIDES

Conservation defects occurred before the tanning process affect leather quality adversely and cause important economic losses. Therefore, the goal of this study was to isolate and identify proteolytic and lipolytic mesophile bacterial species on the salted hides and evaluate the efficiency of the salt curing process on the hides.

In this study, the areas with and without salt crystals of the salted hide samples collected from different tanneries in Leather Organized Tannery Region, Tuzla-İstanbul, were evaluated for pH values, moisture and ash contents, brine saturations, total mesophile, total proteolytic and lipolytic mesophile bacterial numbers. pH values of the areas with (pH 6,4-7,4) and without salt crystals (pH 6,3-7,3) of all the salted hide samples were found to be optimum for bacterial growth. Moisture content of the area without salt crystals of the salted hide samples (% 42-57) were found to be higher than the area with salt crystals (% 31-47). Ash contents and salt saturations of both areas of all the salted hide samples examined were found to be the same as standart values. Although the hides were salt cured, high numbers of mesophile, proteolytic and lipolytic mesophile bacteria were isolated from both areas of the hides. Although total mesophile (2×10^8 CFU/g) and lipolytic mesophile ($1,7 \times 10^7$ CFU/g) bacterial numbers on the hides without salt crystals were found to be higher than the hides with salt crystals, total proteolytic bacterial numbers ($1-1,5 \times 10^7$ CFU/g) were found to be the same for the both areas.

A total of 668 bacterial strains were isolated and identified in our study. Proteolytic, lipolytic and both proteolytic and lipolytic activities were observed at 69 %, 62% and 51 % of isolated strains, respectively. A total of 36 different genera and 102 bacterial species were isolated from the salted hides. The most dominant genera on the salted hides and their numbers were found as *Staphylococcus* (115), *Bacillus* (111), *Enterococcus* (75), *Enterobacter* (66) and *Pseudomonas* (59). As a conclusion, since the

salting process were not done homogeneously and adequately, different numbers of bacteria were obtained from the areas with and without salt crystals of the salted hide samples. The high number of salt tolerant bacteria as Gram positive cocci and bacilli (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus* and *Bacillus*) and Gram negative *Vibrio* were isolated from areas with salt crystals of the salted hides. The most dominant genera on the area without salt crystals of the salted hides were found as Gram positive cocci and bacilli (*Staphylococcus* and *Bacillus*) and Gram negative bacilli as *Hafnia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*.

June, 2009

Emel ASLAN

YENİLİK BEYANI

TUZLANMIŞ DERİLERDE BULUNAN MİKROORGANİZMA TÜRLERİNİN SAPTANMASI

Bu çalışmada tuzlanmış ham deri örneklerinden ilk kez *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter junii* ssp. *johnsonii*, *Aerococcus urinae*, *Aerococcus viridans* 1, *Aerococcus viridans* 2, *Aeromonas caviae*, *Alcaligenes faecalis*, *Aneurinibacillus aneurinilyticus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus lentus*, *Bacillus thuringiensis*, *Brevibacillus laterosporus*, *Burkholderia gladioli*, *Citrobacter amalonaticus*, *Comamonas testesteroni*, *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter intermedius*, *Enterobacter liquefaciens*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Erwinia* spp., *Geobacillus stearothermophilus*, *Geobacillus thermoglucosidiasius*, *Hafnia alvei* 1, *Hafnia alvei* 2, *Klebsiella oxytoca*, *Kocuria kristanea*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Mannheimia haemolytica*, *Paenibacillus pabuli*, *Pantoea* spp., *Pantoea* spp.1, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella pneumotropica*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas maltophila*, *Pseudomonas paucimobilis*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Salmonella* spp., *Salmonella choleraesuis* ssp. *arizonae*, *Salmonella paratyphi* A, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus cohnii* ssp. *urealyticus*, *Staphylococcus cohnii* ssp. *cohnii*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus warneri* (1), *Stenotrophomonas maltophila*, *Streptococcus acidominimus*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus pluranimalium*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus uberis*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio vulnificus*, *Virgibacillus panthothenticus*, *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Yersinia ruckeri* türleri izole edilerek tanımlanmıştır.

Haziran, 2009

Prof.Dr. Meral Birbir

Emel Aslan

SEMBOLLER

°C	: Santigrad derece
dk	: Dakika
g	: Gram
g/l	: Gram/litre
kob	: Koloni oluşturma birimi
ml	: Mililitre
NaCl	: Sodyum klorür
RNA	: Ribonükleik asit
rRNA	: Ribozomal ribonükleik asit
rpm	: Dakikadaki dönüm hızı

ŞEKİLLER

	<u>SAYFA NO</u>
Şekil II.1	Dünyada Ham Deri Üretimi..... 10
Şekil II.2	Derilerin Biyolojik Bileşimi..... 14
Şekil II.3	Derinin Genel Yapısı..... 16
Şekil II.4	Derinin Dikey Kesitinin Şeması..... 17
Şekil II.5.	Derinin Histolojik Kesiti..... 17
Şekil II.6.	Derinin Epidermis ve Dermis Tabakalarında Bulunan Katmanların Şematik Görünüşü..... 18
Şekil II.7.	Tabakhanede İstiflenmiş Halde Tuzlanmış Deriler..... 26
Şekil II.8.	Deri İşlenti Basamaklarının Şematik Gösterimi..... 32
Şekil II.9.	Hastane Kaynaklı Enfeksiyonların Çoğundan Sorumlu Bakteriler..... 40
Şekil III.1.	Çalışma Basamakları Şematik Görünümü..... 80
Şekil IV.1.	Örneklerin Alındığı Deri Kısımların Şematik Gösterimi... 96
Şekil IV.2.	Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunmayan Kısımlarındaki Toplam Mezofil Bakteri Sayısı ve Yüzdesi..... 104
Şekil IV.3.	Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunmayan Kısımlarındaki Toplam Proteolitik Mezofil Bakteri Sayısı ve Yüzdesi 105
Şekil IV.4.	Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunmayan Kısımlarındaki Toplam Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısı..... 105
Şekil IV.5.	Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan Kısımlarındaki Toplam Mezofil Bakteri Sayısı ve Yüzdesi..... 105
Şekil IV.6.	Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan Kısımlarındaki Toplam Proteolitik Mezofil Bakteri Sayısı ve Yüzdesi... 106
Şekil IV.7.	Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan Kısımlarındaki Toplam Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısı ve Yüzdesi..... 106

Şekil IV.8.	Tuzlanmış Derilerden İzole Edilerek Tanımlanan Mezofil Bakterilerin (668 adet) Cins Bazında Dağılımı.....	112
Şekil IV.9.	İzole Edilerek Tanımlanan Gram Negatif ve Pozitif Bakterilerin Sayıları ve Oranları.....	118
Şekil IV.10.	Tuzlanmış Derilerden İzole Edilerek Tanımlanan <i>Enterobacteriaceae</i> Familyasına Ait Bakterilerin <i>Enterobacteriaceae</i> Familyası İçindeki Oranları (%).....	119
Şekil IV.11.	<i>Enterobacter</i> Türlerinin <i>Enterobacter</i> Cinsi (66 Adet) İçindeki Oranları (%).....	119
Şekil IV.12.	<i>Hafnia</i> Türlerinin <i>Hafnia</i> Cinsi (14 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	120
Şekil IV.13.	<i>Citrobacter</i> Türlerinin <i>Citrobacter</i> Cinsi (7 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	120
Şekil IV.14.	<i>Pantoea</i> Türlerinin <i>Pantoea</i> Cinsi (5 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	121
Şekil IV.15.	<i>Yersinia</i> Türlerinin <i>Yersinia</i> Cinsi (5 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	121
Şekil IV.16.	<i>Salmonella</i> Türlerinin <i>Salmonella</i> Cinsi (4 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	122
Şekil IV.17.	<i>Pseudomonas</i> Türlerinin <i>Pseudomonas</i> Cinsi (59 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	123
Şekil IV.18.	<i>Vibrio</i> Türlerinin <i>Vibrio</i> Cinsi (59 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	123
Şekil IV.19.	<i>Acinetobacter</i> Türlerinin <i>Acinetobacter</i> Cinsi (16 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	124
Şekil IV.20.	İzole Edilen Gram Pozitif Bakteri Cinslerinin Toplam Gram Pozitif Bakteriler (400 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	125
Şekil IV.21.	<i>Bacillus</i> Türlerinin <i>Bacillus</i> Cinsi (111 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	126
Şekil IV.22.	<i>Enterococcus</i> Türlerinin <i>Enterococcus</i> Cinsi (75 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	127

Şekil IV.23.	<i>Lactococcus</i> Türlerinin <i>Lactococcus</i> Cinsi (14 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	127
Şekil IV.24.	<i>Streptococcus</i> Türlerinin <i>Streptococcus</i> Cinsi (27 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	128
Şekil IV.25.	<i>Staphylococcus</i> Türlerinin <i>Staphylococcus</i> Cinsi (115 Adet) İçerisindeki Oranları (%).....	129
Şekil IV.26.	İzole Edilerek Tanımlanan Mezofil Bakterilerden Cins Bazında Proteolitik, Lipolitik ve Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösterenlerin Sayıları.....	136
Şekil IV.27.	<i>Enterobacter</i> Cinsi (66 Adet Suş) Proteolitik, Lipolitik ve Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları	139
Şekil IV.28.	<i>Pseudomonas</i> Cinsi (59 Adet) Proteolitik, Lipolitik ve Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.....	140
Şekil IV.29.	<i>Vibrio</i> Cinsi (32 Adet) Proteolitik, Lipolitik ve Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.	141
Şekil IV.30.	<i>Acinetobacter</i> Cinsi (16 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.....	141
Şekil IV.31.	İzole Edilen Gram Pozitif Bakteri Cinslerinin Toplam Gram Pozitif Bakteriler (400 Adet) İçerisindeki Oranı.....	142
Şekil IV.32.	<i>Aerococcus</i> Cinsi (29 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.....	143
Şekil IV.33.	<i>Bacillus</i> Cinsi (111 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.....	144

Şekil IV.34.	<i>Enterococcus</i> Cinsi (75 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.....	145
Şekil IV.35.	<i>Lactococcus</i> Cinsi (14 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.....	145
Şekil IV.36.	<i>Streptococcus</i> Cinsi (27 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.....	146
Şekil IV.37.	<i>Staphylococcus</i> Cinsi (115 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.....	147
Şekil IV.38.	API 50 CH Test Sonucuna Örnek.....	155
Şekil IV.39.	API 20 E Test Sonucuna Örnek.....	155

TABLÖLAR

	<u>SAYFA NO</u>
Tablo II.1. Türkiye'nin Genel İhracatında Deri ve Deri Mamulleri İhracatının Payı.....	11
Tablo II.2. Türkiye'nin Deri Sektörü İhracatında Fasılların Payı	12
Tablo II.3. Derilerin Depolanma Süreleri İle Sıcaklıkları Arasındaki İlişki.....	28
Tablo IV.1. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Çeşitli Özellikleri	96
Tablo IV.2. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin pH Ölçüm Sonuçları	97
Tablo IV.3. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin % Nem İçeriği Sonuçları.....	97
Tablo IV.4. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin % Kül Miktarı Sonuçları.....	97
Tablo IV.5. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin % Tuz Doygunluğu Sonuçları.....	98
Tablo IV.6. 10 Adet Tuzlanmış Ham Deri Örneğinin (Tuz Kristali Bulunan Kısımlarda) Ortalama, Ortanca, Mod ve Değişim Aralığı Değerleri.....	98
Tablo IV.7. 10 Adet Tuzlanmış Ham Deri Örneğinin (Tuz Kristali Bulunmayan Kısımlarda) Ortalama, Ortanca, Mod ve Değişim Aralığı Değerleri.....	98
Tablo IV.8. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristalleri Bulunan ve Bulunmayan Kısımlarındaki Toplam Mezofil, Toplam Proteolitik ve Lipolitik Mezofil Bakteri Sayıları.	102
Tablo IV.9. 10 Adet Tuzlanmış Ham Derinin Tuz Kristali Bulunmayan Kısımlarındaki Toplam Mezofil, Toplam Proteolitik ve Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısının Ortalama, Ortanca, Mod ve Değişim Aralığı Değerleri...	103

Tablo IV.10. 10 Adet Tuzlanmış Ham Derinin Tuz Kristali Bulunan Kısımlarındaki Toplam Mezofil, Toplam Proteolitik ve Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısının Ortalama, Ortanca, Mod ve Değişim Aralığı Değerleri.....	103
Tablo IV.11. İzole Edilen Bakteri Türlerinin 10 Adet Tuzlanmış Deri Örneğinde Bulunma Sıklıkları.....	114
Tablo IV.12. Tuzlanmış Derilerden İzole Edilerek Tanımlanan Bakterilerin Cins Bazında Proteolitik, Lipolitik ve Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösterenlerin Sayıları...	135
Tablo IV.13. Tuzlanmış Derilerden İzole Edilerek Tanımlanan Bakterilerin Proteolitik, Lipolitik ve Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Yüzdeleri (%)...	138

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ

Derilerde oluşan en önemli zararlar derilerin kesimden işlenmesine kadar geçen sürede olmaktadır. Tuzlanmış derilerin nakil ve depolama esnasında iyi olarak korunamamasından dolayı derilerde mezofil, tuza toleranslı veya halofil mikroorganizmalar gelişebilir. Bu mikroorganizmalar tarafından üretilen proteaz, lipaz ve keratinaz enzimleri ile derilerde kötü koku oluşumu, önemli ölçüde sırça zararı, pürüzlü sırça tabakası, sırça soyulması, sırça tabakasında boşluklar, kıl gevşemesi, kıl kaybı ve delikler görülebilir. Bu zararlar özellikle deriler kromlandıktan ve boyandıktan sonra gözle görülebilecek şekilde belirginleşir. Bakterilerin derilerde geliştikleri bölgelerde işlenmiş deride gözle görülebilen kusurlar oluşur ve ayrıca süet yapılacak derilerin et yüzeyinde lipolitik bakterilerin gelişmesi sonucu işlenmiş süetlerde bakteri kolonilerine ait lekeler görülür. Proteolitik bakterilerin ürettikleri kollajenaz enzimi ile derideki kollagen liflerin yapısı bozularak deri esnekliği kaybolmaktadır.

Deri işleme fabrikalarında yapmış olduğumuz ön çalışma sonucunda tuzlanmış derilerde kötü koku oluşumu ve kıl gevşemesi tespit edilmiştir. Böyle tuzlanmış derilerden örnekler alarak ekim yaptığımızda çok sayıda mezofil bakterilerin varlığı tespit edilmiştir. Kuru tuz serpmeye metodu ile tuzlama işleminde tuzun deriye homojen olarak yayılmaması sonucunda tuz olmayan bölgelerde mikroorganizmalar gelişerek deride önemli zararlar oluşabilir.

Bu nedenle bu çalışmamızda, farklı tabakhanelerden kuru tuz serpmeye yöntemi ile tuzlanmış deriler toplanarak bu örneklerde tuz kristallerinin bulunduğu ve bulunmadığı bölgelerdeki mikroorganizma sayılarının ve türlerinin saptanması amaçlanmıştır. Yapılan çalışma ile kuru tuz serpmeye yöntemiyle tuzlanmış derilerde hangi bakteri türlerinin daha yaygın olduğu belirlenmiştir. Bu mikroorganizmaların deri üzerinde kalite kaybına sebep olup olmadıkları yapılan proteaz ve lipaz testleri ile saptanmıştır. Bu testlere ilaveten derilerde toplam proteolitik ve toplam lipolitik mezofil bakteri sayısı da belirlenmiştir.

Bakteri gelişiminde derinin ısısı, pH'sı, nemi, tuz doygunluğu ve depolanma süresi önemli olduğundan bu çalışmada farklı tabakhanelerden alınan tuzlanmış derilerde ısı, pH, nem, tuz doygunluğu gibi parametrelerin tayinleri yapılarak bu parametrelerden elde edilen sonuçlar ile deri üzerindeki bakterilerin ilişkisi belirlenmiştir.

İhracatımızda önemli bir payı olan deri sektörümüzün en az kayıpla çalışarak kaliteli deri üretiminin artırılması, ülke ekonomimizin düzeltilmesi ve Marmara Üniversitesi'nin bu sektörde adını duyurarak üniversite endüstri işbirliğini gerçekleştirmesi de temel amaçlarımızdandı. Ayrıca bu çalışma, kuru tuz serpmeye yöntemi ile tuzlanmış deri kalitesinin değerlendirilmesi açısından Tuzla Deri Organize Sanayi'nde yapılan ilk detaylı orijinal çalışma olmuştur. Böylece bu çalışmanın bu konuda yapılacak olan diğer çalışmalara ve hem ülkemizdeki hem de yurtdışındaki deri sektörüne oldukça önemli katkı sağlayacağı kanısındayız.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

II.1. DERİCİLİK VE DERİ ENDÜSTRİSİ

Dericilik, derilerin fiziksel ve kimyasal işlemlere tabi tutularak belirli bir amaç için kullanılacak hale getirilmesi ve deriye ekonomik değer kazandırma işlemidir. Hayvandan yüzüldükten sonra sadece salamura işlemi görmüş olan deriye “Ham Deri”, işlendikten sonra ortaya çıkan deriye ise “Mamul Deri” denir. Hayvan derilerini çeşitli metodlar kullanarak işleyen, değişik kullanım amaçlarına göre yarı mamül ve mamül deri üreten imalat koluna deri işleme sanayi denir (Kılıçoğlu, 1984; <http://dericilik.blogcu.com/4144216>; <http://kazlicesme.blogspot.com>).

Ham deri, deri işleme sanayinin ana maddesini oluşturmaktadır. Deriler, mezbahalardan ve diğer kesimhanelerden elde edildikten sonra kullanım amaçlarına ve koruma geleneklerine göre, yağ ve diğer yabancı maddelerden temizlenip sınıflandırmaları yapılarak muhafaza edilebilir hale getirilmektedir. Ham deri, et üretiminin yan ürünleri arasında, değer bakımından birinci derecede önemli olan yan üründür (Dellal ve Özüdoğru, 2003).

Derilerin başlıca kaynakları, av ve yabani hayvanlar, sığır, bufalo, inek, öküz, koyun, keçi, kuzu, oğlak, domuz ve atlardır (Hien, 2006).

Deri endüstrisi, deri giyim eşyası, ayakkabı endüstrisi, saraciye, döşemecilik ve daha birçok endüstri koluna ham madde sağlamaktadır (<http://kazlicesme.blogspot.com>).

Deri sektöründe kösele, videla, saplı kösele, antilop, rugan, süet, napa, saraciyelik ve astarlık deriler, glase, kürk-süet, elbiselik deriler (napa-zig), eldivenlik deriler, yüzlük deriler, pikle, güderi ve kürklük deriler gibi çeşitli deriler üretilmektedir (Kılıçoğlu, 1984; <http://dericilik.blogcu.com/4144216>).

Deri sektörü, 1970’lerden beri Türk ekonomisinde giderek artan bir önemde rol oynamıştır. Sektör özellikle son 15-20 yılda gelişmesini hızla sürdürmüş ve yüksek tutarda deri ürünleri ihracatı gerçekleştirilmiştir (Bektaş ve Sarı, 2007).

Deri ve deri mam  lleri sektörünün en önemli ihraç kalemini 360 milyon dolarlık (% 47'lik) pay ile deri eşyalar oluştururken ham ve işlenmiş deri, postlar ve kürkler ile deri ayakkabı ürünlerinin ihracatımızdaki payları sırasıyla %13, %24 ve %15 dir (Bektaş ve Sarı, 2007).

Türkiye deri üretimi ve ihracatında lider ülkelerden biridir. Global deri ürünleri ihracatı 2005 yılı itibariyle 106 milyon dolara ulaşmıştır. 169 milyon dolar değerinde global tekstil ve 226 milyon dolar değerinde hazır giyim ihracatları d    n  ld  ğ  nde uluslararası pazarda deri ürünleri ticaretinin önemi daha iyi anlaşılmaktadır (Bayramoğlu ve Yamamoto, 2006). Endüstri özellikle 1980 sonrası dönemde ihracatı destekleyen yasalar sayesinde hızlı bir biçimde gelişmiştir. 1990'larda ise sektörün gelişmesindeki başlıca faktör Sovyetler Birliğı'nin dağılması ile Doğu Avrupa ülkelerine gerçekleştirilen ihracattaki artış ve bu ülkelerden gelen turistlere yönelik satışlardır (Bektaş, 2005; Bayramoğlu ve Yamamoto, 2006). 90'lı yıllarda gerek yurtiçi gerek yurtdışı deri ürünleri talebindeki yüksek oranlı artışlar sayesinde, deri sektöründe büyük yatırımlar gerçekleştirilmiş, üretim kapasitesi önemli oranda artmıştır. 1998 yılında Rusya' da yaşanan kriz sonrasında üretiminin yaklaşık yarısını bu pazara ihraç eden sektör tek pazara bağımlılık nedeniyle ciddi bir sarsıntı ile karşılaşmıştır. Bu kriz sonrasında sektördeki firmaların bir kısmı kapanmış veya kapanma noktasına gelmiştir. Kriz sonucu azalan üretim, 2000'li yıllarda sektörün alternatif pazarlara yönelmesi ve yurt içi talebin canlanması ile artmıştır. Ancak, 2001 yılında ülkemizde ortaya çıkan mali kriz sonucunda i   talebin daralmasıyla üretimde gerileme yaşanmıştır. Uygulanan ekonomik programın 2002 yılı başından itibaren olumlu etkileri gözlenmiş olsa da, deri üretimi 2003'den bu yana azalmaktadır. Ancak, Türk deri sanayi üretim değeri açısından hala ülkemizin sürükleyici sektörlerinden biridir. Sektör sahip olduğu deneyim, rekabet gücü ve yüksek üretim kapasitesi ile dünya devleri ile yarışmaktadır. Türk deri sektörü ayrıca teknolojik açıdan da gelişmiş teknik bilgi ve donanım ihraç edebilecek düzeye erişmiştir (Bektaş ve Sarı, 2007).

Ülkemiz k    kba   deri işlemede Avrupa'da, İtalya'nın ardından 2., Dünya'da ise İtalya, Çin ve Hindistan'ın ardından 4. büyük ülke konumundadır. Ayrıca k  rk üretiminde yıllık 80 milyon adetlik işleme kapasitesiyle Dünya lideri durumundadır. Yıllık 400 bin ton işleme kapasitesine sahip sektörde bugün girdileri, üretim süreçleri, işleme kapasiteleri ve ürünleri farklı, yaklaşık 20.000 ki  şinin istihdam edildiğı 1.300 tabakhane bulunmaktadır. Faal durumdaki büyük ölçekli tabakhaneler

Tuzla (İstanbul), Çorlu (Tekirdağ), Menemen (İzmir), Uşak, Bursa, Manisa, Gönen (Balıkesir), Gerede ve Gaziantep' de yerleşmişlerdir. Ayrıca Çanakkale, Isparta, Denizli ve Niğde'de de küçük büyük işletmeler bulunmaktadır (http://www.derisanayi.net/turkiye_der_i_sleme_sektoru.asp).

II.2. DERİNİN VE DERİCİLİĞİN TARİHÇESİ

İnsanlar doğadan ilk olarak taş, toprak, ağacı kullanmaya ve bunlardan yararlanmaya başlamışlardır. Kullanılmaya başlanan dördüncü malzeme ise deri olmuştur ve günümüze kadar da devam etmektedir (<http://www.deripan.com/derihakkinda.asp?tab=3&sub=1>). Deri ve dericiliğin tarihteki yolculuğu oldukça uzun ve renklidir. İnsanların kurutulmuş hayvan postlarını örtünmek ve korunmak amacıyla kullandıkları çok uzun zaman önce kaydedilmiştir. Tarihte insanlar karınlarını doyurmak için avladıkları hayvanların derilerini, korunmak amacıyla vücutlarını örtmek için kullanmışlardır (<http://www.deripan.com/derihakkinda.asp?tab=3&sub=1>; <http://www.ferdinando.org.uk/leather.htm>).

Hayvan sırtından çıkartılan deri zamanla çürümeye, bozulmaya başlamıştır. İnsanoğlu derinin daha uzun süre dayanabilmesi için oldukça uzun yıllar uğraş vermiştir. Eskiden doğal ilaçları bilen insanlar tarafından bitkilerden elde edilen çeşitli maddelerle derilerin dayanıklılığı artırılmıştır. Sümer, Asur, Babil ve Arap kültürlerinde bitkisel özellikli şaplı tabaklama işlemi uygulanmıştır. En eski dayanıklı deriler ve deri mamulleri Mısır'dan çıkmıştır (<http://www.ferdinando.org.uk/leather.htm>).

İlk insanlar hayvan postunu kullanırken zaman içinde bu postun kuruduğunu, kıllarının ve tüylerinin döküldüğünü, sertleştiğini ve yapışkanlığını kaybettiğini fark etmişlerdir. Postu asma düşüncesi o zamanlarda doğmuş ve nesilden nesile yayılmıştır (<http://www.ferdinando.org.uk/leather.htm>).

Taş devrinde insanoğlu, dumanla korunmuş ve tabaklanmış derilerden kendilerine kıyafetler, basit aletler ve süsler yapmışlardır. Bundan yirmi beş bin yıl öncelerine ait bazı mağara resimlerinde avcılarının deri örtündükleri saptanmıştır. Özellikle Mısır'da Firavun mezarlarında bulunan çeşitli renkli duvar resimlerinde ve insan figürlerinde ayakkabı, kemer, at koşumları, ev eşyaları, av malzemeleri gibi deriden yapılmış çeşitli eşyaların varlığı açıkça anlaşılmaktadır (http://www.leathertown.com/info_mk_leather.htm).

Tarihte deriden yapılmış ürünler olarak avlanma malzemelerini, harp arabalarındaki at koşum takımlarını, savaşçıların ve hükümdarların ayaklarındaki ayakkabı, bot ve çizmeleri görmek mümkündür. Bu göstergelerden M.Ö.- M.S. VII.- IX. yüzyıl boyunca Mezopotamya Bölgesi'nde ileri boyutta bir dericilik sanatının oluştuğu anlaşılmaktadır. Deriden yapılmış eşyaların hükümdarlar arasında dostluk nişanesi olarak armağan edilmesi de bu ürünlere bir hayli kıymet verildiğinin bir göstergesi olmuştur (<http://www.deripan.com/derihakkinda.asp?tab=3&sub=1>).

II.2.1 Dericiliğin Doğuşu ve Gelişimi

Dericilik insanların bildiği en eski zanaatlardan birisi olmuştur. İnsanlar avladıkları hayvanlardan yararlanmış ve onları kullanmışlardır. Tarihin en eski çağlarından beri insanlar dericilikle uğraşmış ve dericiliği geliştirerek ayakkabı, terlik, elbise, yelken gibi türlü eşyalar yapmışlardır. Eski Türkler de deriden sandıklar ve hayvanlar için semerler yapmışlar ayrıca deri üstüne işlemler yaparak süs eşyası olarak kullanmışlardır (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Dericilik>). Ancak derilerin çabuk bozulması, çürümeye yüz tutması ve sertleşmesi ilkçağ insanlarını da tedbirler almaya zorlamıştır. Bu yüzden derileri bu etkilerden korumak ve yumuşatmak için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunun için önceleri derileri yağlama yöntemini bulan ilk insanlar dericilik zanaatının doğmasına sebep olmuşlardır (<http://www.boludayenihayat.com/news>). Yapılan bu işlemler deri yapım sürecinin başlangıcını oluşturmaktadır. Başlangıçta deriler muhtemelen havada ve güneş ışığında kurutulmuştur. Daha sonra suda ıslatılıp, ateş üzerinde kurutulmuşlardır. Ayrıca su içerisine deriler ile birlikte atılan çeşitli bitkilerin yapraklarının, ağaç kabuklarının ve sürgünlerin derileri korumaya yardımcı oldukları keşfedilmiştir (<http://www.ferdinando.org.uk/leather.htm>). Romalılar ise (M.S. ilk yüzyılda) hayvan derilerini ağaç kabukları, ağaç ırları, sumak ve nilüfer çiçekleri ile tabaklamıştır. Ağaç ırları, meşe ağaçlarının tomurcukları veya yaprakları üzerinde yumurtalarını bırakan böcekler tarafından neden olunan bir hastalıktır. Bu yumurtalar daha sonra yüksek miktarda tannik asit ortaya çıkaran bir gelişme gösterirler. Ağaç ırları, meşe palamutları ve meşe ağacı kabukları tabaklamada kullanılmıştır. Deri yapımcıları, toprakta basitçe çukurlar kazarak içlerini kalaslarla döşemişlerdir. Deriler bu çukurlarda meşe kabuğu ile kaplanıp en az altı ay kalabilecek şekilde bırakılmıştır. 1805 yılında Davy, katran ağacı, mimoza, kestane ve dişbudak ağacı

gibi bir çok ağaçtan elde edilen materyallerin de tabaklamada kullanılabileceğini keşfetmiştir (<http://www.ferdinando.org.uk/leather.htm>).

Türkler Anadolu'ya göç ederken çeşitli sanatları da beraberinde getirmişlerdir. Bu sanatların en önde geleni dericilik olmuştur. Dericilerin piri kabul edilen Ahi Evran' ın, Horasan'dan gelip Kayseri'de deri imalatını başlattığı ve büyük bir deri ustası olduğu bilinmektedir. Osmanlı Devleti daha kurulmadan Anadolu'da kurulan Ahi Zaviyelerinde deri imalatı yapıldığını ünlü gezgin İbni Batuta'nın Seyahatname'sinden öğrenmekteyiz. Anadolu'da dericiliğin kurulması, gelişmesi, yerleşmesi ve kök salması Ahi gelenekleri sayesinde olmuştur (<http://www.deripan.com/derihakkinda.asp?tab=3&sub=1>).

Osmanlı döneminde Anadolu' da dericilik, izleri bugüne kadar uzanan çok zengin bir birikim yaratmıştır. Osmanlı İmparatorluğu'nun yükseliş döneminde Türk dericiliği hızla gelişmiştir. 1453 yılında Fatih Sultan Mehmet'in İstanbul'u fethinden sonra surların dışında Kazlıçeşme' de yetmiş bin metrekarelik bir yer dericiler için tahsis edilmiştir. Fatih Sultan Mehmet 33 salhane, 360 tabakhane yaptırmış ve esnafın büyük bir kısmını buraya toplamıştır. Osmanlı döneminde en büyük üretim ve tüketim merkezi olarak İstanbul ön plana çıkmıştır. En parlak devrini 16. ve 17. yüzyıllarda yaşamış olan Türk dericiliğinin ürünleri, dış ülkelerde aranır hale gelmiştir (www.derisanayi.net/turkiye_derisi_isleme_sektoru.asp; www.turkishleather.com).

Sahtiyan adı verilen deri yapımının Türklere özgü bir metot olduğu tüm dünyada kabul edilmiş ve İngilizce literatürde sahtiyan deri "Turkish leather" olarak yerini almıştır (http://www.derisanayi.net/turkiye_derisi_isleme_sektoru.asp; <http://www.turkishleather.com>). Sahtiyan imalatı 17. yüzyılda daha çok Diyarbakır, Tokat, Bolu ve Kıbrıs'ta toplanmıştır. Üretilen deriler Araplar aracılığıyla İspanya'ya, Ceneviz ve Venedikliler aracılığıyla da Avrupa'ya taşınmıştır. 1793 devrimi sonunda Fransa ekonomisinde beliren güçlükleri yenmek için deri ithalatından vazgeçilmesi ve ülkede üretim imkanlarının araştırılması düşünülmüştür. Lamp, 100 İngiliz altını ve bir altın madalya karşılığı sahtiyan, güderi ve benzeri deri formüllerini Fransa'ya aktarmayı başarmıştır. 19. yüzyılda dericilik Avrupa'da özellikle Fransa'da yayılmış ve burada "Tanneria de France" adlı bir şirket işletmesi kurulmuştur. Bu kuruluşun kuyu sepisi yoluyla elde ettiği köseleler dünyanın her yanında tutulmuştur. O tarihe kadar tanen, şap ve yağla yapılan sepileme, Alman kimyageri Dr. Knopp Panhauser' in 1880 yılında yaptığı araştırma sonucunda kromla

yapılmaya başlanmış ve derilerin anilin ile boyanması sağlanmıştır (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Dericilik>; <http://www.boludayenihayat.com/news/>).

Türkiye’de çağdaş yöntemlerle çalışan ilk deri sanayi, 1812 yılında 2. Mahmud tarafından Beykoz deresi kenarında, Hamza Bey’e ait tabakhaneinin satın alınmasıyla başlamıştır. Burada yapılan deriler ordunun ayakkabı ihtiyacını karşılamak için kullanılmaya başlanılmıştır ve Kurtuluş Savaşı sırasında ordunun ayakkabı ihtiyacının büyük bir kısmını karşılamıştır. 1850 yılına kadar Sakız, Sisam, Midilli, Edremit, Ayvalık ve İzmir’ de çeşitli deri imalathaneleri kurularak kırmızı kösele yapımına başlanmış ve bu köseleler İstanbul’ a satılmıştır. İlk özel deri fabrikası Yedikule’ de Hacı Akif Efendi tarafından kurulmuştur. Daha sonra İzmir, Adana, Eskişehir, Elazığ ve Gerede gibi Anadolu’nun bazı şehirlerinde kurulan modern deri fabrikalarının ürettiği deriler ülkenin ihtiyaçlarını karşıladığı gibi ihraç edilerek ülkemize döviz getirmeye başlamıştır (<http://www.derisanayi.net>; <http://www.turkishleather.com>; <http://www.boludayenihayat.com/news/>; <http://tr.wikipedia.org/wiki/Dericilik>).

Türk deri sanayisi çok eski ve köklü bir yapıya sahip olmasına rağmen Cumhuriyetin ilk yıllarında babadan oğla geçen ve lonca geleneğini koruyan bir iş kolu olarak varlığını sürdürmüştür. Anadolu’nun hemen hemen her yerinde küçük tabakhanelerin yürüttüğü deri işlemeciliği görülmüştür. Ancak Cumhuriyetten sonra deri imalatının hem nitelik hem de nicelik olarak en çok gerçekleştirildiği yer Sümerbank’ a bağlanan Beykoz fabrikası ve İstanbul Kazlıçeşme olmuştur. Ayrıca İzmit Köseköy’ de 1972 yılında Kazlı Deri Sanayi A.Ş. faaliyete geçmiştir (<http://www.turkishleather.com>; http://www.derisanayi.net/turkiye_der_i_sleme_sektoru.asp).

Dünya genelinde deri sektöründeki üretim % 70-80 büyükbaş, % 20-30 küçükbaş hayvan ağırlıktadır. Ancak Türkiye’ de deri üretiminin % 70-80’i küçükbaş, % 20-30’ u büyükbaş hayvan derilerinin işlenmesi ile gerçekleşmektedir. Bu ise Türkiye dericiliğinin ağırlıklı olarak giysilik deri ve konfeksiyonculuğa odaklandığını göstermektedir. İlk ihracatlar 1975 yılında Avrupa ülkelerine yapılmış, asıl gelişme ise 1991 yılında Sovyetler Birliği’nin dağılmasından sonra yaşanmıştır. Özellikle küçükbaş hayvan derisinden elde edilen soğuk iklime uygun kürk-süet cinsi giysilerin bu pazarda oldukça rağbet görmesi deri üretim sektörünü bu ürünün üretilmesine yöneltmiştir. Ancak plansız yapılan yatırımlar ve 1998 yılında Rusya’

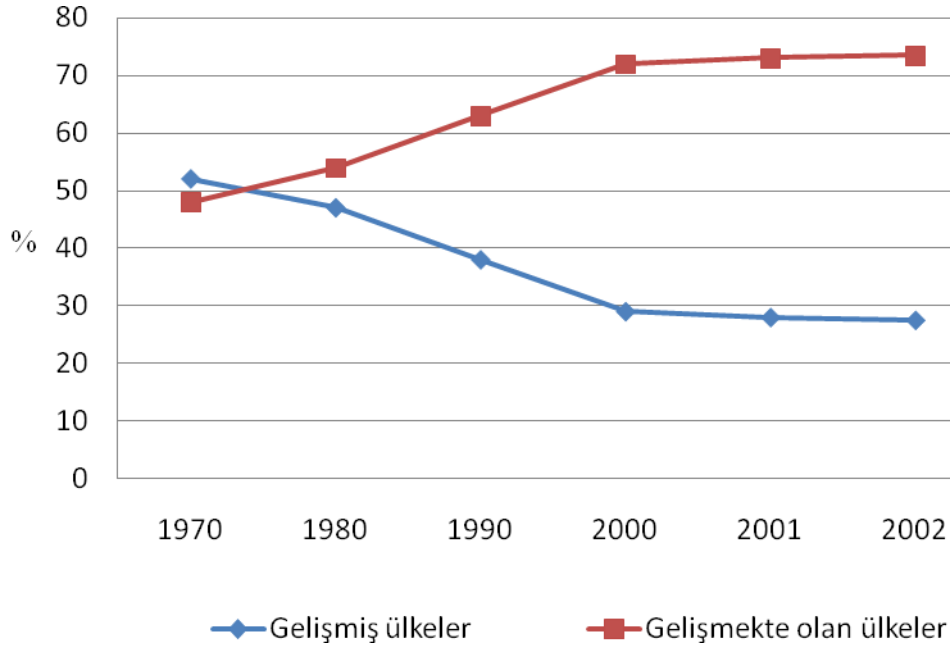
da yaşanan kriz hem konfeksiyon üreticilerini hem de deri işleyen işletmeleri derinden etkilemiştir (http://www.derisanayi.net/turkiye_der_iisleme_sektoru.asp).

II.3 DÜNYA'DA VE TÜRKİYE' DE DERİ ÜRETİM DURUMU VE İTHALAT-İHRACAT RAKAMLARI

Dünya'da deri üretim tahmini 154 milyar dolar olarak belirtilmiştir. 6,3 trilyon dolarlık dünya ihracatında deri sektörünün payının % 1,2 olduğu bildirilmiştir. Dünya deri sektör ihracatında, 37,3 milyar dolarlık üretimi, % 25 pay ve 18,4 milyar dolar ihracatı ile ilk sırada Çin yer almaktadır. Türkiye'nin ihracatında sektörün payı ise % 2,5 dir (Özçörekçi, 2004).

Dünya'da deri ithalatında ise ilk sırada Avrupa, sonra Amerika ve Asya yer almaktadır. Avrupa'nın deri sektörü ithalatı içerisindeki payı % 32 iken, Amerika ve Asya'nın payları sırası ile % 28 ve % 26' dır. Deri sektöründe rekabet gücü olan ülkeler sırası ile Çin, İtalya, Brezilya, Tayland, Endonezya, Güney Kore, Hindistan, Portekiz, İspanya, Pakistan, Türkiye, Arjantin ve Romanya' dır (Özçörekçi, 2004).

1970'li yıllardan sonra deri sanayinde ortaya çıkan bazı sorunlar (çevre kirliliği, fazla su kullanımı, üretim ve işçilik maliyetlerinin artması) nedeniyle gelişmiş ülkeler deri sanayini bırakmaya başlamışlardır. Bu ülkelerin düşük maliyetli deri ithalatını artırmaları sonucunda ham deri işletmeciliği az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere doğru kaymaya başlamıştır (Şekil II.1). Sovyetler Birliği'nin ve Doğu Bloğunun dağılması, serbest piyasa ekonomisinin giderek önem kazanması ve yaygınlaşması, deri ticareti ve sanayinde dengelerin değişmesine neden olmuştur. Deri üretim merkezi, Avrupa'dan doğuya doğru kaymaya başlamıştır (Dellal ve Özüdoğru, 2003).



Şekil II.1. Dünyada Ham Deri Üretimi (<http://www.fao.org>, 2008).

2007 yılında deri ve deri mamulleri sektöründe 105,9 milyar dolar ihracat gerçekleştirilmiş ve Türkiye tarihinde ilk kez 100 milyar dolarlık psikolojik eşik aşılmıştır (İTKİB, 2008). Sektör ihracatı 2006 yılında 1,18 milyar dolar olarak gerçekleşirken 2007 Ocak-Aralık döneminde 1,24 milyar dolar olarak gerçekleşmiştir. Böylelikle deri ve deri mamulleri sektörü ihracatında 2007 yılında kaydedilen ihracat artışı % 5,2 olmuştur. Sektörde % 5' in üzerinde bir oranda ihracat büyümesi yaşanmasına karşın, bu artış ülkemizin toplam ihracatında yakalanan % 23,5 oranındaki büyümenin yanında küçük kalmaktadır. Sonuç olarak bir önceki yıl toplam ihracattan % 1,37 oranında pay alan deri sektörü, 2007 yılında bu payını ancak % 1,17 olarak gerçekleştirebilmiştir (Tablo II.1). Bu rakamlara özel faturalar kapsamında yapılan satışların önemli bir bölümü ile yolcu beraberisi veya turistik satışlar dahil edilmemiştir. Bu nedenle 2007 yılı ihracat kayıt rakamları teknik nedenlerle (istatistikî kayıtlarda yer alan özel faturalı ihracatın İhracatçı Birlikleri kaydının zorunlu olmaması ve büyük bir bölümünün bu seneki ihracat kayıtlarında yer almaması nedenleri ile) olması gereken düzeyi yansıtmamakta ve ihracat hızında düşüş olduğu şeklinde görülmektedir (İTKİB, 2008).

Tablo II.1. Türkiye'nin Genel İhracatında Deri ve Deri Mamulleri İhracatının Payı.

Birim : 1000 \$	2006 Ocak-Aralık	2007 Ocak-Aralık	07/06 Değişim %
Türkiye Genel İhracatı	85.774.644	105.925.486	23,5
Deri ve Deri Mamulleri İhracatı	1.178.517	1.239.453	5.2
Deri ve Deri Mamullerinin Türkiye Genelinden Aldığı Payı %	1.37	1.17	
Tarım Dayalı İşlenmiş Ürünler İhracatı	7.500.095	8.795.070	17.3
Deri ve Deri Mamullerinin Tarım Dayalı İşlenmiş Ürünler İhracatındaki Payı %	15.7	14.1	
Sanayi Ürünleri İhracatı	73.929.929	91.852.710	24.2
Sanayi Ürünleri İhracatının Toplam İhracattaki Payı %	86.2	86.7	

(<http://www.itkib.org>; TİM, 2008)

Deri sektörünün en büyük ihracat kalemi olan deri giyim, saraciye ve seyahat eşyalarının ihracatı 2007 yılında bir önceki yıla göre % 10,7 oranında artmıştır. Bu ürün grubunun toplam deri ve deri mamulleri ihracatından aldığı pay % 37' den %39'a yükselmiştir (Tablo II.2.) (İTKİB, 2008).

Deri sektöründe ikinci büyük ihracat kalemimiz olan kürk ve kürkten mamul eşya ürün grubunda gerçekleştirilen ihracat ise 2006 yılında toplam deri sektörü ihracatından % 34 pay alırken, 2007 yılında bu oran ancak % 26 düzeyinde gerçekleşmiştir. Uluslar arası pazarlarda söz sahibi olduğumuz bu ürün grubunda gerçekleştirilen ihracat geçen yıla göre % 20,9 düşüş göstermiştir. Ancak kayıt sistemine girmeyen özel fatura ile eski SSCB ülkelerine ihraç edilen ürünlerin önemli bir bölümünün kürk giyim eşyaları olduğunu göz önünde bulundurmak gerekmektedir (Tablo II.2.) (İTKİB, 2008).

Sektörde ham post ve işlenmiş deri ihracatında 2007 yılında geçen yıla göre % 20,4 artış yakalanırken bu fasılın toplam deri sektörü ihracatı içindeki payı da % 8 den % 9' a yükselmiştir (Tablo II.2.) (İTKİB,2008).

Dünya deri sektörü ticaretinin yarısından fazlasının gerçekleştirildiği fasıl olan ayakkabı ve ayakkabı aksamı ihracatında 2007 yılında % 32,1 oranında artış sağlanmıştır. Bu ürün grubunun toplam deri ve deri mamulleri ihracatı içerisindeki

payı 2007 yılında % 21 oranından % 26 oranına yükselmiştir (Tablo II.2.) (İTKİB, 2008).

Tablo II.2. Türkiye'nin Deri Sektörü İhracatında Fasılların Payı.

Birim : 1000 \$	2006 Ocak-Aralık	2007 Ocak-Aralık	2007/2006 Değişim %
Deri ve Deri Mamulleri İhracatı	1.178.517	1.239.453	5,2
Ham ve İşlenmiş Deriler	91.688	110.394	20,4
Toplam Deride Payı %	8	9	
Deri Giyim, Saraciye ve Seyahat Eşyası	438.933	486.065	10,7
Toplam Deride Payı %	37	39	
Ham Post, İşlenmiş Kürk, Kürkten Mamul Eşya ve Aksesuarı	404.081	319.567	- 20,9
Toplam Deride Payı %	34	26	
Ayakkabı ve Ayakkabı Aksamı	243.585	321.789	32,1
Toplam Deride Payı %	21	26	

(www.itkib.org, 2008)

II.4. HAM DERİNİN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

Deriler ağırlıkça hayvan vücudunun % 7-10'unu oluşturmaktadır (Hien, 2006). Ham deri, yapısal, kimyasal bileşim olarak ve diğer birçok özelliği ile kendine özgü doğal bir üründür. Deri, hayvan vücudunda pek çok fonksiyonu yerine getirir. Vücuda dayanıklılık sağlar, canlıyı soğuktan, sıcaktan, dış mekanik etkilerden, ultraviyole ışınlardan korur ve mikroorganizmalara karşı bariyer oluşturur. Ayrıca vücut hareketleri için esneklik ve gerilme sağlar, ter ve yağ bezleri yardımı ile vücut sıcaklığının dengelenmesine yardımcı olur (Toptaş, 1998; Bailey, 2003).

Taze deri % 60–70 oranında su ve suda çözünen, kolay parçalanabilen proteinleri içerdiğinden dolayı bakteri faaliyetleri için oldukça elverişli bir ortamdır. Bakteri faaliyetlerinin durdurularak derinin bozulmasını önlemek için ham deri ya hemen işlenmelidir ya da salamura yapılarak korunmalıdır (Toptaş, 1998).

Hayvan derilerinin doğal yapısı ve kimyasal özellikleri, işlenmiş derinin kalitesini doğrudan etkilediği için oldukça önemlidir (Tancous ve ark., 1969; Haines ve Barlow, 1975; Artan, 1979).

II.4.1. Derinin Kimyasal Yapısı

Deri kimyasal olarak % 55 karbon, % 6-8 hidrojen, %19-25 oksijen, % 14-20 azot, % 0,5-1,5 kükürt, fosfor, demir, iyot ve klordan meydana gelir (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Dericilik>). Ham derilerin kimyasal yapısı ve bileşimi, hayvanın ırkına, yaşına, cinsiyetine, beslenme ve bakımına göre değişebilmektedir (Artan, 1979; Artan ve Sunaçoğlu, 1986).

II.4.2. Derinin Biyolojik Yapısı

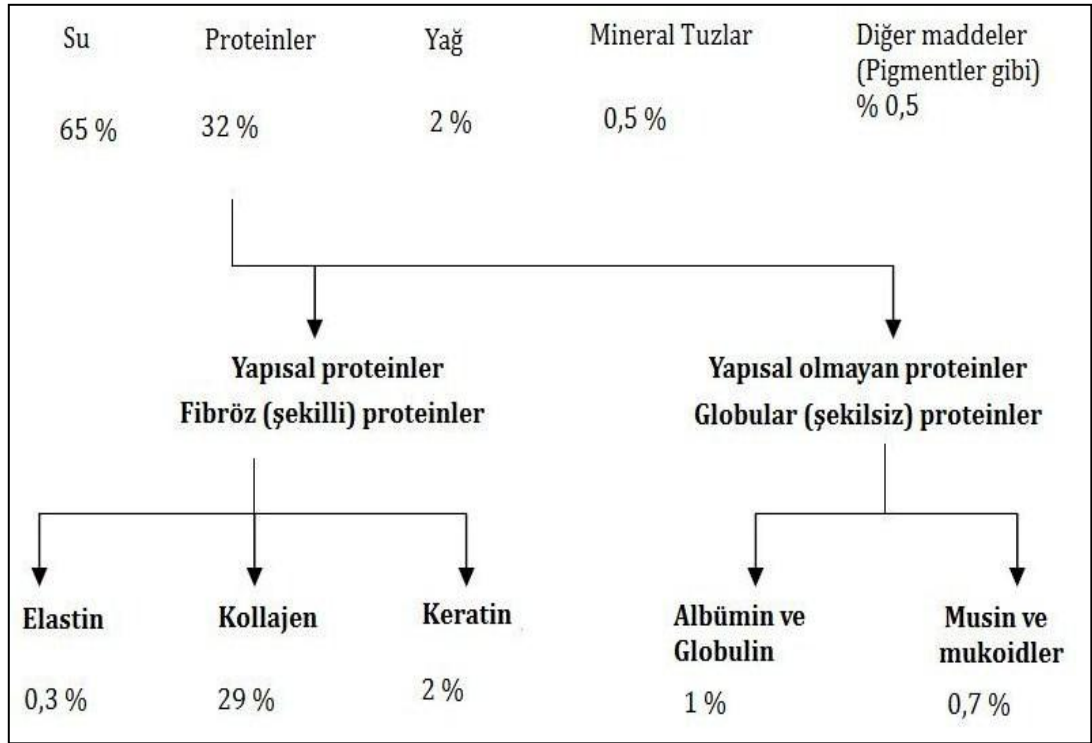
Deri % 65 su, % 32 protein, % 2 yağ, % 0,5 mineral tuzlardan ve % 0,5 pigmentler gibi diğer unsurlardan meydana gelir (Kanagaraj ve ark., 2004; Hien, 2006; <http://tr.wikipedia.org/wiki/Dericilik>).

Aquim (2004) yaptığı bir çalışmada, derilerin % 43 su, % 13 kül, % 4 yağ ve % 40 deri maddesi içerdiğini göstermiştir. Ancak derilerin yağ ve kül oranlarının hayvan türleri arasında değişiklik gösterdiği ve koyunlarda ortalama yağ oranının % 6-11, kül oranının ise % 4-8 olduğu araştırmacılar tarafından açıklanmıştır (Artan, 1979; Artan ve Sunaçoğlu, 1986; Artan ve ark., 1995). Araştırmacılar derilerin yapısal bileşiminin hayvanın cinsine, ırkına, yaşına, cinsiyetine, hayvanın yaşadığı ortamın koşullarına ve iklime bağlı olarak değiştiğini belirtmişlerdir (Artan, 1979; Artan, ve Sunaçoğlu, 1986; Gutterres, 2003).

İşlenmemiş taze ham derilerin yaklaşık % 33' ünü oluşturan proteinler deri bileşenleri içerisinde en önemlisi olup derinin kuru ağırlığının % 80' ini oluşturmaktadırlar (Sharphouse, 1983). Proteinler Şekil 2' de görüldüğü gibi genel olarak yapısal (fibröz) proteinler ve yapısal olmayan (globular) proteinler olmak üzere 2 grupta ele alınırlar (Highberger, 1956; Hien, 2006).

II.4.2.1. Yapısal (Fibröz) Proteinler

Bu proteinler derinin esas yapısını oluşturan kollajen, keratin, elastin ve retikülin gibi proteinlerdir. Yapısal proteinlerin tabaklama kimyasalları ile girdikleri reaksiyonlar deri endüstrisinin temelini oluşturur. Derinin esas yapısını oluşturan yapısal proteinler miktar olarak da en önemli proteinlerdir (Hien, 2006).



Şekil II.2. Derilerin Biyolojik Bileşimi (Hien, 2006).

II.4.2.1.1. Kollajen

Kollajen şekilli bir protein olduğu gibi vücuttaki birçok fonksiyonu ve dayanıklılığı bakımından oldukça önemli bir materyaldir. Aynı zamanda taze ham deri ağırlığının yaklaşık % 30’ unu oluşturması sebebiyle miktar olarak da ham derilerdeki en önemli proteindir (Maffia ve ark., 2004). Kollajen, ham derinin dermis tabakasında, tendonlarda, kıkırdakta, kemikte, dentinde ve gözün ağ tabakasında en fazla bulunan proteindir. Aynı zamanda, organlar arasındaki gevşek bağ dokuda, kas, akciğer, organ kapsülalarında ve vücut boşluklarının duvarlarında, karaciğer ve böbrekte bulunur (Anonim, 1998; Papakçı ve Fırat, 2003).

Vücutta farklı görevler üstlenmiş olan en az 22 farklı tipte kollajen vardır ve bunlar arasında deri kütlesine göre en fazla olanı Tip I kollajendir. Deri aynı zamanda Tip II, III, IV ve V gibi lif oluşturan kollajenleri de içerir. Tip V kollajen her yerde dağılmış olarak bulunduğu için miktarca Tip I, II ve III ile karşılaştırıldığında çok az bulunmaktadır. Bu yüzden Tip V kollajen “minör kollajen” olarak adlandırılmaktadır. Minör kollajenler fazla bulunan kollajenlerle (major kollajen) birlikte bulunmaktadır (Hien, 2006). Deride en bol bulunan kollajen tipleri Tip I, III ve temel olarak sırça yüzeyine şeklini veren Tip IV kollajendir (Sharphouse, 1983).

İşlenmemiş derilerde kollajen molekülleri arasında yer alan boşluklar su ile doludur. Kireçleme ve piklaj gibi derinin pH' ının değiştirildiği işlenti basamaklarında kollajen yapısına alkaline eklendiğinde kollajen ayrılmaya zorlanır. Kollajen ayrıldıkça genişleyen boşluk yapısına daha fazla su girmekte, şişme meydana gelmekte ve deri kalınlaşmaktadır. Kollajen molekülleri şişme etkisi ile daha da ayrıldığı için sağlamlığı azalmakta ve kolayca zarar görmektedir. Bu yüzden işlenti sırasında deriler yüksek pH' larda iken yüksek sıcaklıklara maruz bırakılmamalıdır. Çünkü sağlam kollajen yapısında geri dönüşümü olmayan zararlar meydana gelebilmektedir (www.nissan.blogcu.com/1-ham-deri-ve-ozellikleri_4818404.html; http://deriteorisi.googlepages.com/1Hamderi_Islatma_Kireclik.pdf).

Deriye farklı asit ya da alkali maddeler eklendiğinde az yada çok şişme meydana gelmektedir. Örneğin; kostik soda (sodyum hidroksit) kollajende kalsiyum hidroksitten (kireç) daha fazla şişmeye neden olmaktadır. Genel olarak asitlerin şişme etkisi alkali maddelerden daha fazladır (Sharphouse, 1983; <http://dericilik.blogcu.com/4144149>; <http://www2.mcdaniel.edu/Chemistry/CH3321JPGs/Proteins>).

Kollajen % 33 glisin, % 21 prolin ve hidroksiprolin ve % 11 oranında alanin aminoasidi içermektedir. Prolin ve hidroksiprolin sert yapıda halkasal aminoasitler oldukları için kollajenin stabilitesi ve sağlamlığına katkıda bulunurlar. Hidroksiprolin ayrıca su ve hidroksil gruplar arasındaki hidrojen bağları ile kollajeni stabilize eder (www.mun.ca/biology/scarr/Collagen_structure.html).

Kollajen, kollajenaz enzimi ile parçalanır ancak proteazlar tarafından direkt olarak parçalanamaz. Kollajenaz enzimi ile ayrılan ve bütünlüğü bozulan kollajen yapısı proteaz enzimleri tarafından parçalanmaya karşı hassas hale gelir. Ayrıca kollajenolitik bir aktivite olmaksızın kollajen, yapısının denatüre edilmesi ile de proteazlara duyarlı hale gelir (Hien, 2006).

Kollajen düşük ısıda, suda, organik çözücülerde asit ve bazlarda erimez. Yüksek veya düşük pH' larda tuz ilavesi ile veya sıcaklık artırıldıkça jelatinleşmeye başlar ve parçalanır (Fırat ve Artan, 2001).

II.4.2.1.2. Diğer Yapısal Proteinler

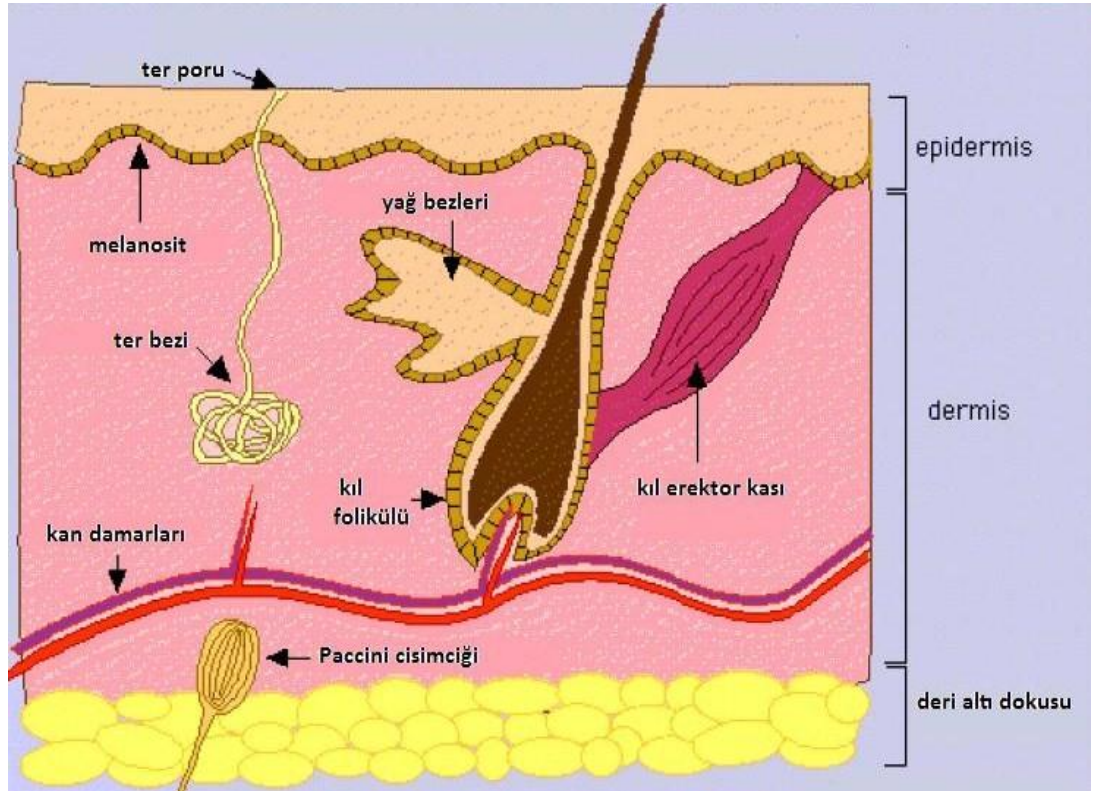
Derinin kollajenden sonraki diğer yapısal proteinleri derinin dış tabakasını oluşturan keratin ve elastikiyetini sağlayan elastindir. Keratin derinin % 2' sini,

elastin ise % 0,3' ünü oluşturur (Highberger, 1956). Keratin boynuz, kıl, saç ve tırnak gibi epidermal oluşumlarda bulunur ve yüksek oranda sistin içerir. Sistin köprüleri (-S-S-) keratin yapısına dayanıklılık kazandırır (<http://deriteorisi.googlepages.com>; http://nissan.blogcu.com/Hamderi_Islatma_Kireclik.pdf; <http://dericilik.blogcu.com/4144149>). Elastin ise gerilmelere dayanıklıdır ve çekildiğinde normal uzunluğuna göre 100-150 kat uzayabildiği belirtilmiştir. Elastin lif demetleri oluşturmaz ve ısıya, kimyasal maddelere daha dayanıklı olması ile kollajenden ayrılır. Elastin liflerinin elastikiyeti lifler suyunu kaybettiğinde kaybolmaktadır (Spearmen, 1973; Haines ve Barlow, 1975; Bienkiewicz, 1983; Harmancıoğlu ve Dikmelik, 1993; Fırat ve Artan, 2001).

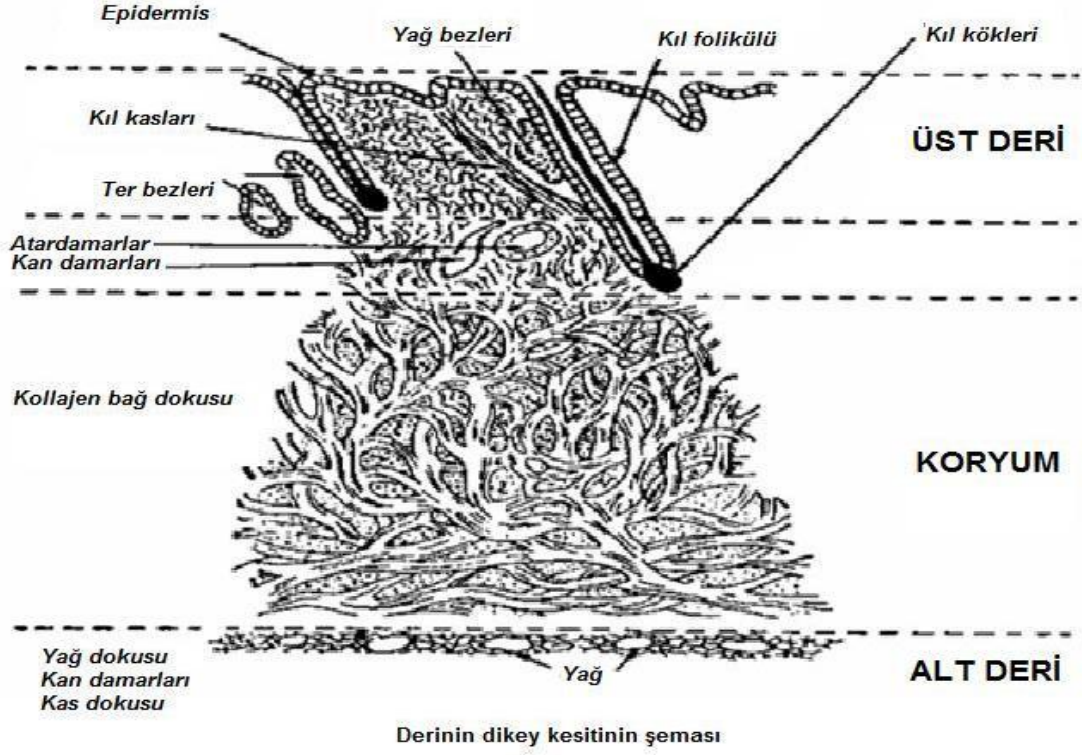
II.4.3 Derinin Anatomik ve Histolojik Yapısı

Memeli hayvan derileri başlıca üç ayrı tabakadan oluşmaktadır (Şekil II.3-II.5).

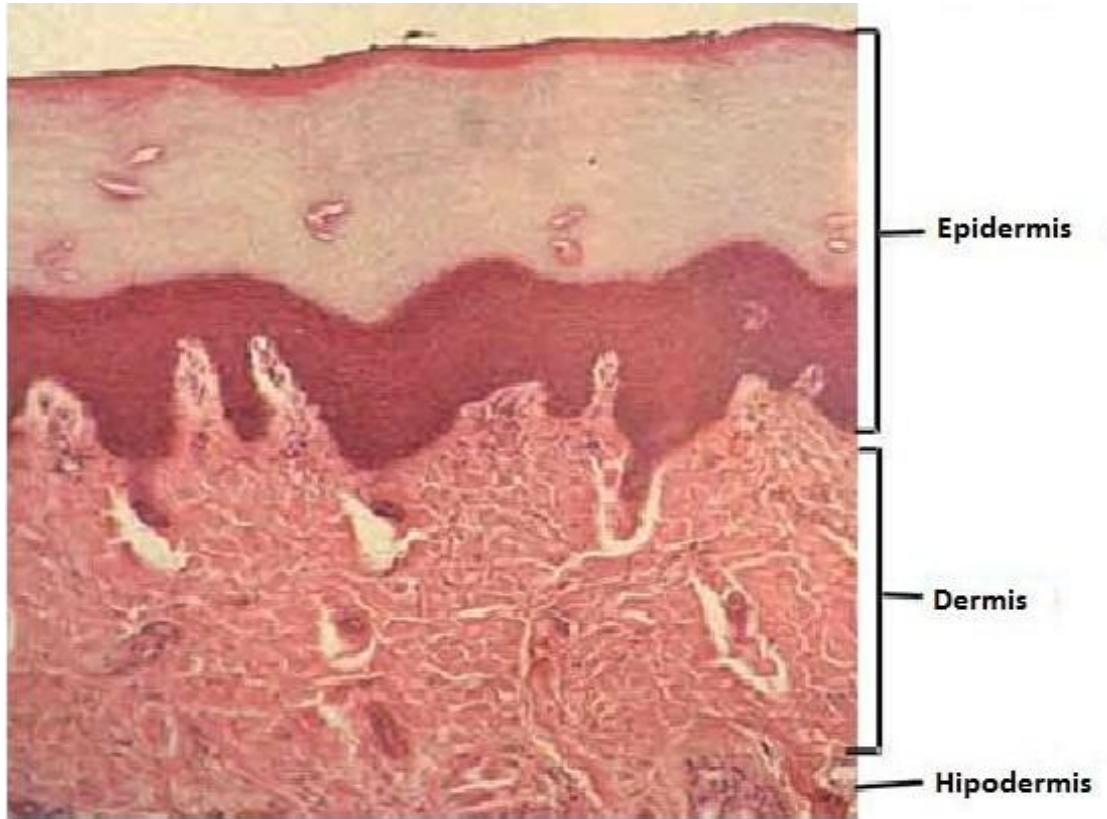
- a) Epitel hücrelerinden oluşan epidermis (Üst Deri)
- b) Bağ dokudan oluşan dermis (Kutis-Koryum)
- c) Hipodermis (Alt Deri, Subkutis)



Şekil II.3. Derinin Genel Yapısı (www.Enchantedlearning.com, 2008).



Şekil II.4. Derinin Dikey Kesitinin Şeması (Hien, 2006).

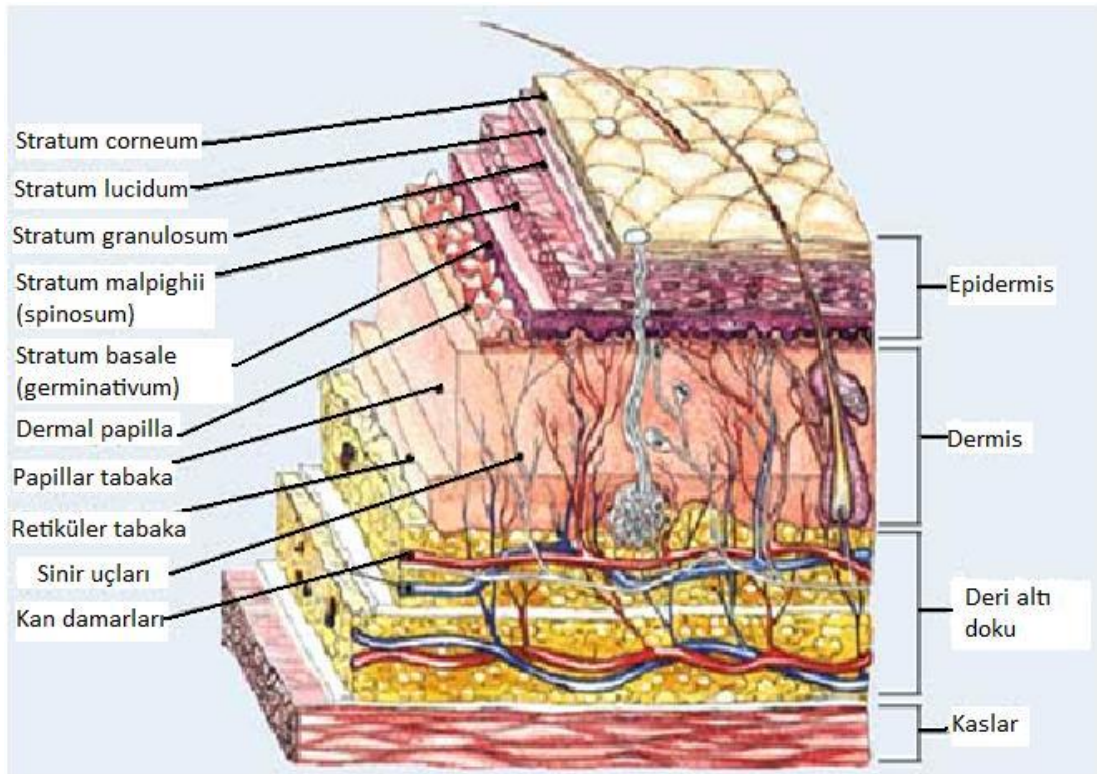


Şekil II.5. Derinin Histolojik Kesiti (www.lionden.com/ThickSkin.jpg).

II.4.3.1. Epidermis

Epidermis olarak adlandırılan en üstteki tabaka kıl, yün, tırnak gibi keratinsi oluşumları ve bezleri içerir. Toplam deri kalınlığının % 1-2'sini teşkil eder ve bu tabakada kan damarları bulunmaz. Bu tabakadaki epitelyum hücreleri koryum tabakasından beslenirler (http://nissan.blogcu.com/Hamderi_Islatma_Kireclik.pdf; <http://dericilik.blogcu.com/4144149>).

Epidermis tabakası 5 tabakadan oluşmaktadır. Bu tabakalar şekil II.6' da görüldüğü gibi en üst kısımdan alta doğru Stratum corneum, Stratum lucidum, Stratum granulosum, Stratum malpighii (spinosum) ve Stratum germinativum (basale) olarak sıralanmaktadır. Stratum corneum, Stratum lucidum ve Stratum granulosum epidermisin apikal katını, Stratum malpighii (spinosum) ve Stratum germinativum (basale) ise epidermisin esas olan bazal katını oluşturur (Donald ve ark., 1966).



Şekil II.6. Derinin Epidermis ve Dermis Tabakalarında Bulunan Katmanların Şematik Görünüşü (www.healthyskinbeauty.com/skin%20structure.jpg).

En üstteki tabaka olan Stratum corneum çekirdeksiz ve yassılaştırmış hücrelerden oluşmaktadır. Boynuzsu, tırnaksı yapıdadır ve bol miktarda keratin içermektedir.

Tabakanın tırnaksı yapısı sebebiyle deri kimyasal ve enzimatik etkilere karşı dayanıklıdır (www.healthyskinbeauty.com).

Stratum lucidum şeffaf, homojen, ince bir tabakadır ve hücreleri iç şeklinde yassılaştırmış çekirdeğe sahiptir (Donald ve ark., 1966).

Stratum granulosum tabakası 1-5 sıra halinde yassılaştırmış ve çekirdeğe sahip hücrelerden oluşur. Hücrelerinin sitoplazmalarında büyük, düzensiz şekilli keratohiyalin granülleri (Waldeyer, 1882) bulunmaktadır (Donald ve ark., 1966). Epiderminin bazal tabakasını oluşturan Stratum malphigii (spinosum) ve Stratum germinativum (basale) tabakasının hücreleri canlıdır ve çekirdekleri vardır. Stratum spinosum tabakası epiderminin en kalın tabakasıdır ve hücreleri çok köşeli-yüzlü, çok sıralı ve yukarı doğru gittikçe yassılaştıran hücrelerden oluşmaktadır. Hücrelerin dış yüzeyleri sitoplazmik bağlantılarla kaplıdır. Stratum germinativum ise bazal lamina üzerinde yer alır ve silindirik veya kübik hücrelerden meydana gelir (Donald ve ark., 1966).

Bazal tabakada prekeratin üretilmektedir. Bazal tabakada ayrıca deriye rengini veren ve derinin alt hassas katmanlarını zararlı ultraviyole ışınlarından korumaya yarayan melanin pigmentlerini oluşturan melanosit hücreleri bulunmaktadır (Toptaş, 1998).

Epiderminin gelişimi ve yenilenmesi bazal tabakadaki hücrelerin çoğalması ile sağlanır, bazal tabakadaki hücreler çoğaldıkça daha önceden oluşan hücreleri yukarı yüzeye doğru iterler (Donald ve ark., 1966). Sürekli olarak üst katlara itilen hücreler beslenme kaynağından uzaklaşarak hücre çekirdeklerini kaybedip, canlılıklarını yitirerek tırnaksı yapıya dönüşürler (Toptaş, 1998). Hücrelerin uğradığı bu kimyasal değişim Stratum granulosum tabakasında meydana gelmektedir ve değişim sonunda hücreler ölmektedir (Donald ve ark., 1966).

Epiderminin en dışındaki tabaka pul halinde ayrılarak mekanik etki ile deriden uzaklaşır ve bu tabakanın yerini bazal tabakadan dışa doğru itilen yeni hücreler alır. Epidermis tabakası kireçlik işlemleri sırasında tamamen uzaklaştırılır (Toptaş, 1998).

II.4.3.2. Dermis (Koryum)

Kolajen lif dokusundan meydana gelmiş olan Koryum (Dermis) tabakası toplam deri kalınlığının % 85'ini oluşturur ve mamul deriyi oluşturur. Dermiste kan ve lenf damarları, yağ ve ter bezleri, kıl follikülleri, deri kasları ve çeşitli duyuları

alan sinirler bulunur (<http://deriteorisi.googlepages.com>; http://nissan.blogcu.com/Hamderi_Islatma_Kireclik.pdf).

Dermis tabakası ince ve yüzeysel papiller tabaka ile kalın ve derin retiküler tabaka olmak üzere 2 tabakadan oluşmaktadır. Papiller dermis gevşek bağ dokusundan oluşmaktadır, kollajen ve elastik lifler içermektedir (Donald ve ark., 1966). 1-2 mikron kalınlığında olan ve çok sıkı kollajen lif dokusundan meydana gelen sırça tabakası papiller tabakaya ait olup deriye görünümünü verdiği için deri kalitesi açısından özel bir öneme sahiptir. Papiller tabaka sırça ve retikular tabaka arasında yer alır ve üst deri ile olan sıkı ilişkisi nedeniyle kıl, kıl folikülü, kıl kası, ter ve yağ bezleri gibi kollajen olmayan dokuları ihtiva etmektedir (http://nissan.blogcu.com/Hamderi_Islatma_Kireclik.pdf; <http://deriteorisi.googlepages.com>).

Deri üretimi sırasında bu tabaka fazla zayıflatılırsa mukavemeti çok azalır, sırça ve retikular tabaka arasındaki doku gevşemesinden sırça boşluğu meydana gelir (http://nissan.blogcu.com/Hamderi_Islatma_Kireclik.pdf; <http://deriteorisi.googlepages.com>).

Retikular tabakada yer alan lifler papiller tabaka liflerinden daha kalın ve mukavemetlidir. Retikular tabaka deriye kopma mukavemeti ve dayanıklılık kazandırır (<http://deriteorisi.googlepages.com>).

Dermisin esas yapısını oluşturan kollajen yapısındaki bağ doku bir yönde birbirine paralel olarak yer alan lif yapısı ile de bu yönde çok sağlam bir yapı oluşturur. Dermiste liflerin genel görünümü, birbirine dik ve çapraz olarak bağlanmış, lif başlangıcı ve ucu olmayan bir örgü şeklindedir (Toptaş, 1998).

Deride bulunan diğer bir bağ dokusu elastin proteininden meydana gelen sarı renkte elastik bağ dokudur. Elastik bağ doku kollajen gibi lifçiklerden meydana gelmemiştir, homojen ve ince bir lif yapısındadır. Elastik lifler birbiri ile bağlanarak bir doku oluşturmazlar, ancak yan dallanmalar ile bir ağ teşkil ederler. Bu yapı fazla esnek değildir, kauçuk elastikiyetindedir ve bu nedenle de deriyi sıkılaştırır. Elastik bağ doku papiller tabakanın ortalarında, retiküler tabaka ile alt deri sınırında az miktarda bulunur. Ter bezleri ile kıl kökü etrafında da elastik bağ doku bulunur (Toptaş, 1998).

II.4.3.3. Hipodermis

Alt deri (Hipodermis) kas dokusu yardımıyla koryum (dermis) ve et tabakası arasında yer alan bir geçiş katıdır. Derinin %14 kalınlığındadır (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Dericilik>). Kolajen lif dokusunda olan alt deri fazla miktarda yağ, kas ve kan damarı ihtiva ettiğinden çok gevşek yapıdadır. Sepileme yönünden önemsiz olduğu için ham deriden, ıslatma sırasında veya kireçlik sonu etleme (kavelata) ile deriden uzaklaştırılır (Toptaş, 1998; http://nissan.blogcu.com/Hamderi_Islatma_Kireclik.pdf).

II.4.4. HAM DERİ KALİTESİNİ ETKİLEYEN ETMENLER

Araştırmacılar işlenmiş derilerin kalitesinin %60 oranında ham derinin kalitesine bağlı olduğunu belirtmişlerdir (Akın ve ark., 2001).

Ham deri ve kalitesi; hayvanın ırkı, yaşı ve cinsiyeti, bakım ve besleme, iklim, hastalıklar ve parazitler, hayvanın kesimi sırasında kan bulaşması, kanın iyi akıtılmaması, derinin çıkarılması sırasındaki kusurlar, maddi deri kaybı, kesimden sonraki konservasyon hataları, depolama ve taşıma esnasındaki fiziksel etkenler, depo parazitleri ve işleme hataları tarafından etkilenmektedir (Tancous ve ark., 1969; Harmancıoğlu ve Yakalı, 1973; Artan ve ark., 1981; Artan, 1982; Yazıcıoğlu ve Böler, 1983; Andersen ve ark., 1991; Blajan, 1991a; Blajan, 1991b; Kılıçoğlu, 1991; Harmancıoğlu ve Dikmelik 1993).

II.5. DERİLERİN KORUNMASI

Kesim işleminden tabakhane'deki işlemlerin başlamasına kadar geçen sürede taze deri kolaylıkla bozulabilir. Deri hücrelerinde var olan enzimlerin veya derilerin yüzüldükten sonra deriye bulaşan bakterilerin enzimlerinden dolayı deriler bozulur (Hien, 2006). Hayvanın ölümünden sonra derilerin uygun çevresel koşullarda (uygun nem ve sıcaklık gibi) 5-6 saat içerisinde otolitik parçalanmaya uğradıkları belirtilmiştir. Bu yüzden derilerin kesimden sonra hemen korunması gerekmektedir (Kanagaraj ve ark., 2005). Taze deriler yüksek nem içeriğinden dolayı mikroorganizmaların gelişimi için elverişli ortamlardır (Muthusubramanian ve Mitra, 2006).

Hayvan derisi, sert protein lif yumakları içerir. Hayvan yaşarken bu lifler, nem ve bakteri taşır. Derinin bozulmasını önlemek için bakteriler çeşitli işlemler ile öldürülmelidir. Derilerin bozulmasını önlemek için yüzyıllar boyunca, çeşitli

yöntemler geliştirilmiştir. Bu amaçla postlar dumana tutulmuş, tuzlanmış, üre ile işleme sokulmuş, hayvan gübresi doldurulan çukurlara batırılmış, dövülmüş ve sivri uçlu çubuklarla kazınmıştır. Doğal nemi almak için de derilere pudra, un ve başka maddeler katılmıştır. Tarih öncesi insanlar da hem kılları ve et parçalarını temizlemek hem de deriyi yumuşatmak için deriyi çiğnemişlerdir. Çiğneme eylemi, üstünde bakterilerin beslenebileceği et parçalarını temizlemesi açısından derinin korunmasında yarar sağlamıştır (<http://www.ferdinando.org.uk/leather.htm>).

Koruma yöntemlerinin temeli, deriyi zarara uğratan mikroorganizmaların metabolizmaları için gerekli olan koşullardan herhangi birinin değiştirilmesine dayanmaktadır. Bu koşullardan bazıları sıcaklık, su içeriği, oksijen ve besin düzeyi gibi mikroorganizmaların gelişimini sağlayan parametrelerdir. Derilerin besin düzeyini değiştirmek zor olacağı için en genel koruma metodu derilerin su içeriğini ve sıcaklığını değiştirmek olacaktır (Hien, 2006).

Koruma işlemi, derilerin yüzüldükten sonra tabakhaneye gelinceye kadar taşınma veya saklanmaları sırasında bozunmalarını engellemek amacıyla yapılmaktadır. Derilerde oluşabilecek mikroorganizma faaliyetleri için elverişli ortam oluşturan nem içeriğini uzaklaştırarak derilerin bozulmasını önlemek gerekmektedir (Bailey, 2003). Derideki bakterilerin deri üzerindeki sindirim faaliyetlerinin bir sonucu olarak deride kokuşma ve çürüme olayı gerçekleşir. Deri üzerinde bakteriler salgıladıkları enzimlerle deri yapısındaki maddeleri parçalarlar ve sonra bu bakteriler deri üzerinde oluşan sindirilmiş materyallerden bazılarını beslenmeleri için kullanırlar. Deri üzerindeki tüm bakteriler öldürülseler veya uzaklaştırılsalar bile bu bakterilerin salgıladıkları enzimler deride kokuşma ve çürüme olayını devam ettireceklerdir. Çoğu bakteriler koşullar uygun olmadığında ölebilir veya *Bacillus* türleri gibi bazı bakteriler koşullar uygun hale gelinceye kadar spor hale geçebilirler. Bu mikroorganizmalar ideal koşullar altında çok hızlı bir şekilde çoğalmaktadırlar. Derilerin kokuşma olayı genellikle suyun varlığında gerçekleşir ve tuz, asit, baz, bakterisit veya diğer toksik kimyasalların varlığı bunu engelleyebilir (Birbir, 1991).

Araştırmacılar derilerin kimyasal ya da fiziksel herhangi bir metot ile korunmadığı takdirde kokuşmaya uğrayacağını ve kokuşmadan sorumlu öğelerden birinin de bakteri olduğunu belirtmişlerdir (Shede ve ark., 2008).

Derideki suyun, basitçe kurutma veya tuz, asit, bazlar veya diğer bazı toksik kimyasallar kullanılarak uzaklaştırılması en başlıca koruma metotlarından.

Araştırmacılar (Kanagaraj ve ark., 2005a) derilerin, mamul deriye dönüşmeden önce en önemli bileşeni olan proteinleri (derinin yaklaşık % 32'sini oluşturmaktadır) ve yaklaşık % 65' e varan nem oranı ile bakteri ataklarına açık olduğunu ve korunmaları gerektiğini vurgulamışlardır. Bakterilerin deride kokuşma adı verilen bir süreci başlattığı ve bu sürecin başlıca tuzlama yöntemi ile önleendiği belirtilmiştir. Ayrıca derilerin korunmasında çeşitli kimyasal ve fiziksel metotların kullanıldığı açıklanmıştır. Dünya genelinde tabakhanelerde en bilinen koruma yönteminin tuz ile koruma olduğu ve % 40-50 oranlarında tuz kullanılarak yapıldığı belirtilmiştir. Ancak aşırı tuz yükünün kirliliğe yol açması nedeniyle tuzdan başka koruma metotlarının giderek kullanılmaya başlandığı açıklanmıştır (Kanagaraj ve ark., 2005a).

Korumanın en yaygın metodu derilerdeki nem içeriğinin azaltılmasına dayanmaktadır. Nem içeriği ise kurutma, tuzlu salamura, yaş tuzlama ve kuru tuz serpmeye olarak bilinen yöntemlerle azaltılmaktadır. Bu metotlar genel olarak ucuzdur ve ağır kimyasalların uygulanmasını gerektirmezler. Derileri korumanın bir diğer metodu ise derinin depolandığı sıcaklığın değiştirilmesidir. Bu işlem soğutma ve dondurma metotları olarak bilinir. Ancak bu metotlar tuzlama ve kurutma metotlarına göre daha pahalıdır (Hien, 2006).

Koruma yöntemleri başlıca 3 ana gruba ayrılır:

II.5.1. Kurutma Yöntemi ile Koruma

Derileri korumada kullanılan en eski metodun kurutma yöntemi ile koruma olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar, mikroorganizmaların tamamıyla kuru bir deriyi sindiremediğini, bakterilerin çoğalmak, gelişmek ve enzimlerini üretmek için neme ihtiyaç duyduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar (Muthusubramanian ve Mitra, 2006) enzimlerin etkili çalışabilmesi için nemli ortamlara ihtiyaç duyulduğunu ve pek çok bakterinin kuru ortamı tolere edemediğini belirtmişlerdir. Ancak sporlu bakterilerin derideki nem içeriği düştüğünde spor formu oluşturdıkları ve ortamın nem içeriği gelişmek için uygun olduğunda vejetatif hale geçtikleri bildirilmiştir. Bu nedenle derilerdeki bakteri faaliyetinin azaltılması için nem oranlarının azaltılması gerektiği belirtilmiştir (Muthusubramanian ve Mitra, 2006).

Bu yöntemde deriler, bakteri gelişimi için elverişli olan nemin ortadan kaldırılması amacı ile kurutulur. Yıkanan deriler süzildikten sonra kurumaya bırakılır ve nem oranının %12-15' e düşürülmesi sağlanır. Kurutma işleminin uygun

olarak yapılması gerekmektedir. Eğer deriler aşırı kurutulursa sırça ve liflerinde şişme-büzüşme farkı olabileceği için işlenti sırasında kopmalar meydana gelebilmektedir. Kurutma işlemi için geç kalınırsa bakteri faaliyeti hızlanacağından dolayı deriler bozunmaya başlayıp kokuşacaktır ve deri üzerinde lekeler oluşacaktır. Eğer deriler kurutulmak amacıyla direkt güneş altında bekletilirlerse güneş yanıkları ve lekeleri görülecektir. Ani ve aşırı kurutmalar derinin üst kısımlarının kuruyup sertleşmesine, iç kısımlarının ise nemli kalmasına neden olacağı için kıl gevşemesi, kötü koku oluşumu ve kızışma gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkarabilir (www.ordutarim.gov.tr).

Kurutma yöntemi ancak kalınlığı fazla olmayan, ince derilere uygulanabilir ve tuzlu salamura yönteminden daha yavaştır. Kurutma yöntemi derileri korumak için elverişli bir yöntem değildir çünkü derinin sahip olduğu nemin tamamı uzaklaştırılmadan önce kokuşma olayı başlamaktadır. Kurutma derinin sahip olduğu neme bağlı olarak yaklaşık 1 gün sürmektedir (Hien, 2006).

Kurutma yöntemi ile koruma işlemi hava kurusu, tuzlu kuru veya don kurusu şeklinde yapılabilir.

II.5.1.1. Hava Kurusu

Derilerin fazlalık olan yağ ve et dokularının temizlendikten sonra açık ve hava akımı olan yerlerde asılarak kurutulmasıdır. Ancak en ideal kurutma şekli yerde, derinin et tarafı yukarı gelecek şekilde ve gölgelikte 24 saatte yapılan kurutma şeklidir (<http://www.ordutarim.gov.tr>; Kılıçoğlu, 1991).

II.5.1.2. Tuzlu Kuru

Deriler ağırlıklarının % 10-15' i kadar tuzlandıktan sonra bir süre bekletilip nem oranı % 10-15' e düşünceye kadar gölge ve hava akımının olduğu yerlerde asılarak kurutulur. Bakteriyel faaliyetleri önlemek amacıyla tuzun içine bakterisit, borik asit eklenebilir (Kılıçoğlu, 1991).

II.5.1.3. Dondurma ile Kurutma

Derinin buz haline gelmiş deri suyunun yüksek vakum altında sıvı halden aniden gaz haline geçmesi sonucunda kurutulması işlemidir (Kılıçoğlu, 1991; <http://www.ordutarim.gov.tr/subeleler/kontrol/mezbaha/deriyonetmeligi.htm>).

II.5.2. Soğutma Yöntemi ile Koruma

Deriler dönen bir dolap içine atılarak soğuk hava akımı ile sıcaklıkları 10-12 ° C' ye düşürülerek 3-7 gün korunabilir. Ancak yüzüldükten sonra etlerinden ayrılmış ve budanmış deriler 2-4 ° C' de depolanarak 7-10 gün süreyle, yüzümden sonra salamuraya alınmış deriler ise 0 ° C' deki soğuk depolara alınarak 10-15 gün süreyle korunabilirler (Kılıçoğlu, 1991).

II.5.3. Kimyasal Yöntemlerle Koruma

Araştırmacılar, derilerin bakteri etkinliğine karşı korunması amacı ile çeşitli kimyasal maddeler kullanıldığını belirtmişlerdir. Bu kimyasal maddelerden en yaygın olarak tuz kullanıldığı ancak aşırı miktarda kullanılmış tuz yükünün kirliliğe yol açması ve giderilmesinin zor olması nedeniyle diğer kimyasalların kullanımının daha yaygın olduğu açıklanmıştır. Günümüzde derilerin korunmasında tuz daha az kullanılmaktadır ve tuzun yanında bakterisit gibi koruyucu kimyasal bileşiklerin kombinasyonu uygulanmaktadır (Heidemann, 1993). Borik asit, potasyum klorid gibi kimyasal maddelerin, benzalkonyum klorid gibi antibakteriyel maddelerin, terramisin ve tetrasiklin gibi antibiyotiklerin koruma amaçlı olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Kanagaraj ve ark., 2005a). Ancak antibiyotiklerin derilerin korunmasında kullanılması, çevrede aşırı antibiyotik yükü oluşması ve mikroorganizmalarda antibiyotik direncinin yaygınlaşması gibi önemli riskler taşıdığından dolayı derilerin korunmasında antibiyotik kullanımının doğru olmadığı düşüncesindeyiz.

Tuz ile yapılan koruma işlemi kuru tuz serpmeye şeklinde yapılıyorsa yavaş, tuzlu suda ıslatma (tuzlu salamura) şeklinde yapılıyorsa hızlı olmaktadır. Tuzun korumadaki etkisi dehidrasyon yeteneği ve bakteriyostatik etkisinden (enzim inaktivasyonu ve toksik etki) ileri gelmektedir (Kanagaraj ve ark., 2005b).

Tuzun korumadaki ikincil etkisi ise deri yapısındaki globular proteinleri bakteri gelişimini engelleyecek şekilde kısmi olarak deriden uzaklaştırmasıdır (Everet ve Cordon, 1956; Kanagaraj ve ark., 2005b).

Tuza borik asit ilave edilerek yapılan koruma işlemi son yıllarda oldukça yaygınlaşmıştır. Borik asit, deri lifleri arasındaki boşluklardan nemi uzaklaştırabilmektedir. Borik asidin nemi iç tabakadan yüzeye doğru çekme kabiliyeti ve buharlaşmaya yardımcı olarak nemi düşürmesi sayesinde etkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca bakterisidal aktivite gösterdiği araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (Hughes, 1974; Kanagaraj ve ark., 2005b).

II.5.3.1. Tuzla Koruma Yöntemi (Kuru Tuz Serpme Metodu)

Deriler kesimden sonra yıkanıp süzülerek, et tarafı yukarı gelecek şekilde serilir ve üzeri tuz kristalleri ile kaplanır. Daha sonra diğer deri parçaları da üstü üste konularak istiflenir. Bu işlemde kullanılan tuz miktarı derinin ağırlığına göre belirlenmektedir. Bu işlem oldukça yavaştır ve yaklaşık olarak 30 günde tamamlanmaktadır (Muthusubramanian ve Mitra, 2006).

Kuru tuz serpme yönteminde, yaş deri ağırlığının % 30-50' si oranında daha önce kullanılmamış, 2-4 mm çapında temiz taneli tuz et yüzeyine tuzlanmamış alan kalmayacak şekilde uygulanır. Derilerin dayanıklılığını artırmak ve tuzlama nedeniyle oluşabilecek tuz yenikleri, çizikleri ve tuz lekelerini önlemek amacı ile kullanılan tuzların içerisine % 2 oranında susuz soda eklenir. Tuzlanmış deriler 4-5 gün bekletildikten sonra ikinci tuzlamaya tabi tutulur ve 10-15 gün beklemeye bırakılır. Tuzlanan deriler hiçbir kısımları açıkta kalmayacak şekilde üst üste konulup, 100-150 adetlik ve 100-120 cm'yi geçmeyecek yığınlar şeklinde istif edilirler. Bu tuzlama yönteminde dikkat edilmesi gereken noktalar; derilerin 5-6 saat içerisinde hemen tuzlanmaları ve kullanılan tuzun çok ince veya çok kalın olmaması gerektiğidir. (Kanagaraj ve ark., 2005b; www.kazlicesme.blogspot.com)

Kullanılan tuzun ince olması halinde deriden çok fazla su alıp bir anda eriyeceğinden akıp gitmesi ve deriye girememesi, özellikle sıcak tuzlanan derilerde bir tabaka oluşturmaması ve su alış verişine izin vermemesi söz konusudur. İri tuz kullanıldığında ise zamanında eriyip ıslanamaz ve derinin su alış veriş işlemi gecikir. Ayrıca iri tuz deri yüzeyinde tuz yanıkları meydana getirebilmektedir (www.kazlicesme.blogspot.com).



Şekil II.7. Tabakhane de İstiflenmiş Halde Tuzlanmış Deriler.

II.5.3.2. Dolap Tuzlaması (Salamura) Koruma Yöntemi

Bu yöntemde derilere katı tuz uygulanması yerine deriler % 26'lık tuz çözeltisi içeren tekne veya dolaplarda ara sıra karıştırılarak 12-16 saat tutulur. Deriler tuzlu salamuradan çıktıktan sonra fazla suları süzdürülür ve birbirleri üzerine katlanarak depo edilir (Kılıçoğlu, 1991; Heidemann, 1993; Hien, 2006; <http://www.ordutarim.gov.tr/subeleler/kontrol/mezbaha/deriyonetmeli.htm>).

II.5.3.3. Asitle Koruma Yöntemi (Piklaj)

Asitle koruma yönteminde; kıllarından, et ve yağ dokularından arındırılmış olan deriler, tuz ve asit ile muamele edilerek pH değeri 3 seviyelerine çekilerek korunur. Deriyi daha sonraki tabaklama işlemine hazırlamak ve tabaklayıcı maddenin deriye nüfuz edebileceği pH değerine getirmek amacı ile yapılır. Burada önemli husus kullanılan asit ve tuzun miktarlarıdır. Pervaneli dolaplarda ham deri ağırlığı üzerinden % 100 su, % 10 tuz ve %1-2 sülfürik asit ve % 0,2-0,3 bakterisit kullanılarak 3-4 saat süre işlem görmesi şeklinde uygulanır. Kullanılan asit miktarı fazla olursa veya birden fazla miktarda asit banyoya verilirse asit şişmesi denilen bir durum meydana gelir ve bunun sonucunda derinin sırcasının zedelenmesine ve yırtılma mukavemetinin düşmesine neden olunur (Kılıçoğlu, 1991; <http://dericilik.blogcu.com/4144216/>; <http://www.ordutarim.gov.tr>).

Ülkemizde en fazla kullanılan koruma yöntemleri; hava kurusu, tuzlu kuru ve tuzlu salamura yöntemleridir (www.kazlicesme.blogspot.com).

Derilerin korunmasında kullanılan tuzun en bilinen etkisi suyu çekme özelliğinden ileri gelmektedir. Tuz derilerdeki suyu çekerek bakteri gelişmesi için gerekli olan nemi ortadan kaldırır. Hayvan canlı iken bariyer vazifesi gören deri, hayvanın ölümünden sonra bu görevini yerine getirememekte ve bakterilerin içeriye girmesine izin vermektedir. Deri hayvandan çıkarıldığında sıcak, ıslak, kan ve pisliklerle bulaşmış ve ortamdaki mikroorganizmalarla kontamine olmuş durumdadır ve taze derinin yüksek nem oranı sayesinde mikroorganizmalar gelişmek için ideal bir ortam bulurlar (Sverre ve Kaplan, 1956; Birbir, 1991; Bailey, 2003). Mikroorganizmalar birkaç saat içinde deriye nüfuz ederek kan damarları içinde ve derinin altındaki dokularda hızla çoğalmaya başlarlar. Kesimden sonra iyi korunmamış derilerde hücrelerden salgılanan enzimler ham derideki proteinleri amino asitlere parçalarlar ve bu işlem otoliz olarak bilinmektedir. Ayrıca deride

gelişen bakterilerin salgıladığı enzimler de deri proteinlerini parçalayarak deri yapısının bozulmasına ve kokuşmaya neden olmaktadır. Korumanın önemi burada ortaya çıkmaktadır (Birbir, 1991).

Tuzlu su ile koruma yönteminde dikkat edilmesi gereken bir nokta da tuzlu salamurada bekleme süresinin iyi bir şekilde ayarlanmasıdır. Çünkü derinin et kısmı fazla miktarda yağ içeriyorsa derinin iç kısımlarına doğru tuz penetrasyonu yavaş olacaktır ve böylece koruma işlemi yetersiz kalacaktır. Deriler tuzlu salamura işleminden erken çıkarılırlarsa tuz deri içerisine tam olarak işleyemeyeceğinden koruma işlemi yetersiz kalacaktır ve bu bölgeler zamanla bozulmaya başlayacaktır (Bailey, 2003).

Araştırmacılar derilerin korunmasında kullanılan tuza borik asit, sodyum florür, sodyum bisülfat, sodyum bisülfat, sodyum bikarbonat, sodyum silikoflorid, çinko klorid, çinko silikoflorid, soda külü, çinko-dietilditiokarbamat ve amonyum sülfat gibi yardımcı koruyucu maddeler eklenebileceğini açıklamışlardır (Cordon ve ark., 1964; Hughes, 1974; Rao ve Henrickson, 1983; Bailey ve Gosselin, 1996; Kanagaraj ve ark., 2001; Kanagaraj ve ark., 2005b; Kanagaraj ve ark., 2005a).

Sodyum silikofloridin tuzla beraber kullanıldığında kızışmayı engellediği açıklanmıştır (TS:4127, 1985). Hendry ve arkadaşları (1971) çinko klorid ve çinko silikofloridin derilerdeki bakteriyel gelişmeyi önlediğini açıklamışlardır.

Orlita (2004) % 2 oranında soda, % 2 oranında naftalin veya % 2 oranında çinko-dietilditiokarbamat eklenen ham derilerde kırmızı renk oluşumu ve kızışmanın önlendiğini belirtmiştir.

II.5.4. Derileri Korumada Sıcaklığın Etkisi

Derilerin depolanma sıcaklıkları ile derileri bozulmadan saklayabilme süresi (muhtemel depolama süresi) arasındaki ilişki Tablo II.3' te gösterilmiştir (Hien, 2006). Sıcaklık ile depolama süresi arasındaki bu ilişki ancak derilerin kesimden hemen sonra soğutma ve dondurma gibi işlemler ile sıcaklıklarının istenilen düzeye düşürülmesi ile sağlanmaktadır (Heidemann, 1993).

Tablo II.3. Derilerin Depolanma Süreleri ile Sıcaklıkları Arasındaki İlişki

Sıcaklık (° C)	Muhtemel depolama süresi (saat)
29-32	16
20 veya daha az	24
15	48-72
5-10	Bir haftadan fazla

II.5.5. Anaerobik Ortam Oluşturmanın Derileri Korumaya Etkisi

Derilerin bulunduğu ortamın havasının çıkarılması derilerin depolanma sürelerini uzatan bir etkidir. Bu yöntemde deriler hava ile temaslarının kesilmesi amacıyla katlanarak plastik torbalara konulurlar (Heidemann, 1993; Hien, 2006).

II.5.6. Korumada Gecikme veya Yetersiz Koruma

Tuzlama gibi koruma metotları yaygın ve basit olmasına rağmen süreçte karşılaşılan bazı problemler derilerin yeterince korunamamasına ve böylece bozulmasına sebep olmaktadır (Hien, 2006).

II.5.6.1. Süre Kısıtlaması

Tuzlama işleminde tuz konsantrasyonunun derinin her kısmında eşit seviyeye ulaşması ve fazla olan tuz solüsyonunun deriden uzaklaşması için belirli bir süreye ihtiyaç vardır. 48 saat geçmeden derilerin tuz doygunluğuna ulaşamayacağı gösterilmiştir (Cooper, 1973). Tuzun deri içine işlemesi oldukça önemli olduğu için tuzlama zaman isteyen bir işlemdir. Derileri koruma işleminde gecikme 10 saatten fazla olursa (sıcak yaz günlerinde bu süre daha da kısa olmaktadır) tuzlanmış deriler bakterilerle oldukça fazla kontamine durumda olacaklardır. 10 saatten sonra bile derilerin tuz konsantrasyonu % 10' dan daha yüksek bir seviyeye çıkamayacağı için bakteriyel enzimlerin hidrolizi ile kollajen parçalanmasını önlemek de yetersiz kalacaktır (Hien, 2006).

II.5.6.2. Tuz Konsantrasyonu Kısıtlaması

Derilerdeki nem içeriğini bakterilerin gelişmeyeceği bir seviyeye indirmek amacıyla yeterli miktarda tuz kullanılmalıdır. Tuz konsantrasyonu özellikle tuzlu salamura yapılacak taze deriler için oldukça önemlidir. Tuzlu salamura solüsyonunun tuz konsantrasyonunu tuzlama işleminin sonunda elde edilmek istenen konsantrasyona yakın tutmak önemlidir. % 12' den daha az tuz içeren deriler iyi korunmamışlardır. % 12-20 tuz konsantrasyonuna sahip deriler bakteri gelişimine açık olabilmektedirler (Hien, 2006).

Bakteriyel gelişme ile tuz konsantrasyonu arasındaki ilişki ile ilgili olarak Cooper, kollajenolitik bakteri gelişiminin, 10 saat içerisinde ve % 3 tuz konsantrasyonu varlığında başlangıç bakteri sayısına göre 10 kat arttığını göstermiştir (Cooper, 1973).

II.5.7. Koruma Yönteminin Etkinliğini Test Etme Metotları

II.5.7.1 Tuz Konsantrasyonu ile

II.5.7.1.1. Kül-Nem Oranı:

Tuz ile koruma yönteminin iyi bir şekilde yapılıp yapılmadığını belirlemenin en genel metodu derilerin tuz ve nem içeriklerini nem – kül tayinleri ile belirlemektir. Bu metotta derilerin tuz doygunlukları ve sahip oldukları nem miktarları belirlenmektedir. Araştırmacılar etkili olarak korunmuş bir deride kül-nem oranının 30 olması gerektiğini belirtmişlerdir (Vanderzant ve Splittstoesser, 1992).

II.5.7.1.2. Özgül Ağırlık:

Tuz ile koruma yönteminin etkinliğini test etmenin bir diğer metodu ise deri sıvısının özgül ağırlığını bulmaktır. Özgül ağırlığı hesaplamak için yeterli miktarda sıvıyı sıdırmak bazen mümkün olmadığı için bu metodun bazı sınırlamaları vardır. Özgül ağırlığın 1.25 g/cm³ ten fazla olmaması gerektiği belirtilmiştir (DeBeukelaer, 1956; Hien, 2006).

II.5.7.1.3. Sodyum Klorür

Tuzlanmış derilerdeki sodyum klorürün toplam yüzdesini bulmanın bir diğer metodu da çözelti geçirgenliğini ölçen Dikromat Tuz Analizörü kullanımıdır. Ancak deriler yalnızca sodyum klorür ile tuzlanmalıdır diğer elektrolitler eklenmemelidir. Kloridlerin gümüş nitrat ile titrasyonları Dikromat Tuz Analizörü yerine kullanılabilir (Vanderzant ve Splittstoesser, 1992).

II.5.7.2. Bakteri Sayımı ile

Bu işlemde deri örneklerinde bakterilerin bulunup bulunmadığı ve bu bakterinin sayısı deri süspansiyonlarının Nutrient Agar besiyerine ekilmesi ile belirlenir. Bu metot bakteri hücrelerinin Nutrient Agar’ da geliştiklerinde meydana getirdikleri kolonilerin sayısının belirlenmesine dayanmaktadır (Helrich, 1990; Vanderzant ve Splittstoesser, 1992; AOAC, 1992).

II.5.7.3. Jelatin Film Test

Jelatin film testi, derinin kendisinde bulunan veya deriyi kesimden sonra istila eden bakterilerden kaynaklanan proteolitik enzimlerin fotoğrafik jelatin filmindeki jelatin tabakasını sindirmesi esasına dayanmaktadır. Bu kalitatif metot ile deriyi korumakta gecikme olup olmadığı, derinin zarara uğrayıp uğramadığı ve zararın derecesi belirlenmektedir (Hien, 2006).

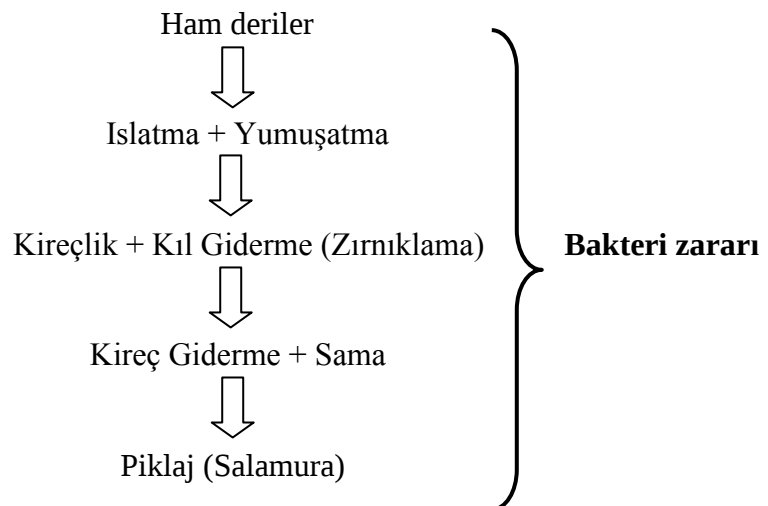
II.6. DERİLERİN TABAKLANMASINDA TEMEL BASAMAKLAR

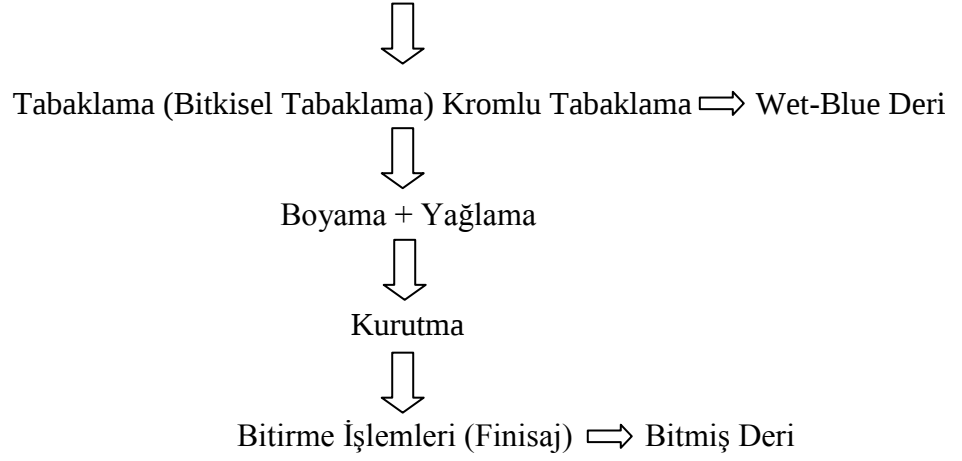
Deriler, hayvanlardan modern kesimhanelerde kesilmelerinden sonra uzaklaştırılmaktadır. Deri yapımında kullanılmayacak, işe yaramayan toynak, tırnak, kuyruk, kulak ve boynuz gibi diğer parçalar deriden uzaklaştırılır ve tutkal, jelatin yapımında kullanılırlar. Deriler kesimden hemen sonra derinin işlenmesi amacıyla derin donduruculu kamyonlarla tabakhanelere taşınmaktadır. Bu mümkün olmadığında, taze deriler kuru tuz serpmeye yöntemiyle veya tuzlu suyla korunurlar (http://www.leathertown.com/info_mk_leather.htm).

Deri işleminde ıslatmadan başlayıp, kireçlik, sepileme, nötralizasyon, son sepileme ve yağlama ile sürdürülen işlemlere “yaş işleni” adı verilir.

Deri yapım süreci çok çeşitli aşamaları içermekle birlikte genel olarak 3 gruba ayrılabilir: a) Tabaklama öncesi işlemler (deriler temizlenir), b) Tabaklama işlemleri ve c) Tabaklama sonrası bitirme işlemleri (Derilere estetik değer kazandırılır). Her bir aşamada çok çeşitli kimyasallar kullanılır (Shede ve ark., 2008).

Derinin korunması, tabaklama öncesinde tuzlama aşamasında başlamakta ve konserve olmuş ham deri, işleme sürecinde mamul deri haline gelinceye kadar çeşitli işlem basamaklarından geçmektedir. Kullanılan derinin tipine ve arzu edilen son ürüne bağlı olarak geçirilen aşamalar oldukça değişiklik göstermektedir (Şekil II.8.).





Şekil II.8. Deri İşlenti Basamaklarının Şematik Gösterimi.

II.6.1. ISLATMA-YUMUŞATMA

Islatma, ilk tabaklama işlemidir ve koruma-depolama sırasında tuzlanarak kısmen suyu alınmış derilere kaybettikleri suyu geri kazandırarak derileri ilk başta sahip oldukları nem (% 65) ve duruma getirmek, yumuşatmak ve derileri mikroorganizmalar, kan, kir, tuz, çözünebilir protein, gübre, çamur ve idrar gibi maddelerden arındırmak amacı ile yapılmaktadır. Ayrıca derinin yapısında bulunan ve suda çözünen albüminler ve nötral tuzlarda çözünen globülinler gibi eriyebilir proteinleri deriden uzaklaştırmak amacını taşımaktadır. Deriler berrak, sertliği düşük, bakterilerden arındırılmış ve demir bileşikleri ihtiva etmeyen suda gece boyu bekletilerek ıslatılır (<http://dericilik.blogcu.com/4144216/>; <http://www.ferdinando.org.uk/leather.htm>; http://oror.essortment.com/leathertanning_rdcu.htm; www.contractleathers.com/HistoryAndProcess.pdf; www.leathertown.com Food and Agricultural Industries, Leather Tanning, Section 9.15, 6/97, www.epa.gov/ttnchie1/ap42/ch09/final/c9s15.pdf).

Islatma sırasında su, kollajen lif demetlerine işleyerek bunları şişirir ve birbirinden ayırır ve ham deri ilk durumunu kazanır. Islatmada kullanılan suyun sıcaklığı 20–30 °C’ dir. Islatma suyunun sıcaklığı ne kadar fazla ise ve dolabın dönme süresi ne kadar uzun ise derideki tuzun ıslatma suyuna geçişi hızlanır. Deri ne kadar kalın ve sıkı yapılı ve alt deri tabakası ne kadar yağlı ise derideki tuzun ıslatma suyuna geçişi ve derinin tam olarak ıslatılabilmesi o kadar uzun olur. İyi salamura yapılmış derilerdeki tuzun % 80’inin uzaklaştırılması için 2–3 ıslatma banyosu (flote) değişimi gereklidir (<http://dericilik.blogcu.com/4144216/>).

II.6.2. KIL GİDERME-KİREÇLİK (ZIRNIKLAMA)

İslatmadan sonra başlayıp kıl giderme (kireçlik), kireç giderme ve sama ile sürdürülen işlemlere kireçlik işlemleri denilir.

Kireçlik işleminde amaç, derilerin kireç ve sodyum sülfid solüsyonlarına batırılarak epidermis tabakasının, fibriler olmayan yapıların, kıl ve kıl köklerinin gevşetilmesi ile deriden uzaklaştırılmasını, deri proteinlerinin şişmesini sağlayarak deri yapısının ve gözeneklerinin açılmasını sağlamaktır. Ayrıca sonraki işlem basamaklarında kullanılacak kimyasal maddelerin bağ yapabileceği aktif karboksil ve amino gruplarının ortaya çıkmasını sağlamak, liflerde kollajen lif dokusunun gevşetilmesiyle gerekli yumuşaklık ve esnekliğin sağlanması, sırça tabakasının epidermis artıkları ve kıl diplerinden temizlenmesi ve derideki lesitin, sefalin gibi erime noktası düşük olan yağları sabunlaştırarak deriden uzaklaştırmak amaçtır. Alkali kireç solüsyonu kalsiyum hidroksit içerir ve pH'ı mikrobiyal aktivite için oldukça yüksektir (<http://dericilik.blogcu.com/4144216/>; <http://www.leatherist.net/deri.asp>).

II.6.3. ETLERİNDEN ARINDIRMA

Derinin taze olan ekstra dokularından mekanik olarak arındırılması, değersiz olan üst deri kısmının ayrılmasını amaçlar (http://oror.essortment.com/leathertanning_rdcu.htm).

II.6.4. KİREÇ GİDERME

Deride kalan kirecin amonyum tuzları ile çözünür hale getirilerek uzaklaştırılması işlemidir. Bu aşamada deri, saç-kıl kalıntılarından ve parçalanmış proteinlerden arındırılması amacıyla kimyasal olarak enzimler ile, kireçten arındırılması amacıyla zayıf asit (laktik asit) solüsyonu ile müdahale edilir. Amaç deri bünyesinde lifsi yapıda bulunan ve ıslatmadan sama işlemine kadar yapılan işlem basamaklarında uzaklaştırılmamış olan eriyebilir proteinleri enzimler yardımı ile uzaklaştırmak ve kireçlik işleminde uzaklaştırılmamış kıl kökleri, epidermis ve pigment artıklarını uzaklaştırmaktır. Kireçlik işlemi sırasında şişirilen derilerin şişkinliğini indirmek ve derilere belli bir yumuşaklık, esneklik kazandırmak, deri pH' ını daha sonra yapılacak olan sama işlemi için uygun değere getirmek için yapılmaktadır (<http://dericilik.blogcu.com/4144216/>; http://oror.essortment.com/leathertanning_rdcu.htm).

II.6.5. SAMA

Protein parçalayan enzimlerin ve organik asitlerin kullanılmasıyla lifli yapıda olmayan proteinlerin deriden uzaklaştırılmasıdır (<http://www.leatherist.net/deri.asp>).

II.6.6. YAĞ GİDERME

Derilerin sahip olduğu fazla yağların çözücüler veya su bazlı yağ gidericilerle uzaklaştırılması işlemidir. Daha sonraki aşamalarda kullanılan kimyasalların deri içine nüfuzunun kolaylaştırılması, bitmiş derinin kötü kokulardan arındırılması ve finisaj işleminin düzgün yapılmasını sağlamak amaçtır (<http://dericilik.blogcu.com/4144216/>).

II.6.7. PİKLAJ (SALAMURA)

Bu aşamada deriler su, tuz, hidroklorik asit veya sülfürik asit solüsyonlarında bekletilerek pH değerleri 3 seviyesine çekilir. Deriyi tabaklama işlemine hazırlamak ve tabaklayıcı maddenin deriye nüfuz edebileceği pH değerine getirmek amacı ile yapılır (<http://www.leatherist.net/deri.asp>).

II.6.8. TABAKLAMA (SEPİLEME)

Sepileme olarak da bilinen tabaklama, bitkisel, mineral ve sentetik kimyasallar yardımı ile deri yapısının ve deri liflerinin yani deri kollajeninin bozunmalara, mikroorganizmalara, parçalanmalara ve kokuşmalara karşı dayanıklılığını arttırmak amacı ile yapılan bir işlemdir. Tabaklama, derinin fiziksel ve kimyasal işlemlere tabi tutulup endüstriyel bir ürün olarak kullanılacak hale getirilmesidir (<http://dericilik.blogcu.com/4144216/>; www.leatherist.net/deri.asp).

Sepileme maddeleri derideki kollajen lifi ayrışmaya, bozunmaya karşı dayanıklı hale getirir. Sepileme maddeleri olarak krom III tuzları ve bitkisel sepi maddeleri (tanen, meşe palamudu, çam kabuğu, mimoza, mazi, kestane ve meşe) kullanılmaktadır (http://oror.essortment.com/leathertanning_rdcu.htm).

Günümüzde kullanılan üç ana tabaklama türü vardır: Bitkisel, mineral (çoğunlukla kromlu) ve özellikle güderi yapımı için yağlı tabaklama. Bitkisel tabaklama en uzun süren işlemdir. Mineral tabaklama daha az zaman alır ve çok dayanıklı bir ürün verir.

II.6.8.1. Kromlama (Kromla Sepileme)

Kromla sepilenme 1858 yılında icat edilmiştir. Krom ya da diğer krom tuzları ile yapılan bir tabaklama türüdür. Bitkisel olarak tabaklanmış deriye göre daha yumuşak, daha esnek, suda daha stabil ve daha sağlamdır ayrıca üretilmesi daha az zaman alır. Deri, rengini ve şeklini bitkisel tabaklamada olduğu kadar korur. Krom tabaklama yönteminde çok özgün renkler elde edilebilir. Kromla sepileme, deri protein yapısındaki karboksilik grupların, çeşitli büyüklüklerdeki krom molekülleri yardımı (krom III tuzları ve bazik krom sülfat) ile birbirine bağlanarak bir ağ yapı oluşturulması işlemidir. Potasyum bikromat, krom şapı veya hazırlanmış bazik krom tuzları kullanılır. Mamul derinin özelliklerine katkısı diğer tabaklama kimyasallarına göre çok daha fazla olduğu için, kromlama işlemine "Ana Tabaklama" denilmektedir. Bu işlemden sonra kromla sepilenmiş (wet-blue) yarı mamul elde edilir. Krom ile tabaklama ise, ayakkabıların üst derisi, el çantaları, cüzdanlar ve giyim eşyaları tabaklanırken kullanılır. Kromlu tabaklamadan önce deriler "piklaj" olarak adlandırılan bir işlemden geçerler (<http://www.ekoja.com/leather.php> (http://www.essortment.com/all/leathertanning_rdcu.htm)).

II.6.8.2 Bitkisel Sepileme

Tabaklamada kullanılan en eski metottur. Mazı tozu (tanin, tannik asit) ya da diğer bitkiler (palamut, meşe, kestane), ağaç kabukları ya da benzer kaynaklarda bulunan bileşimler kullanılarak yapılan tabaklama türüdür. Çoğu bitkiler ve kabuklarında (Çam ve mimoza kabuklarında, kestane ağacı ve kebraşo (bir Güney Amerika ağacı) kerestesinde, Avrupa'da ve Türkiye'de bulunan meşe palamutunun bardak biçimindeki ucunda, Hindistan'da yetişen bir ağacın erik benzeri olgunlaşmamış meyvelerinde ve birçok bitkinin belirli bölümlerinde) tanen olarak adlandırılan acı bir bileşik bulunur. Tanen maddesi, kolaylıkla bozulmayacak ve ayrışmayacak bir bileşik oluşturmak üzere proteinlerle birleşme özelliğine sahiptir (www.nissan.blogcu.com/1-ham-deri-ve-ozellikleri_4818404.html).

II.6.8.3. Yağlı Tabaklama (Yağ Sepisi)

Yağlı tabaklama, özellikle güderi ve yağlı sırmalı derilerin sepi işleminde kullanılır. Doğal nemi almak için balık yağı kullanılan eski yöntemlerin bir devamıdır. Deri önce kısmen ve dikkatle kurutulur, daha sonra da üstüne yağın

serpildiği bir makinada dövülür. Bu işlem bütün nem alınıncaya kadar sürdürülür ve kalan yağ ısıtılarak çözündürülür (<http://kazlicesme.blogspot.com>).

II.6.8.4. Alüminyum Sepisi

Alüminyum tuzları (alüminyum şapı, potasyum şapı ve alüminyum sülfat) ile un, yumurta ve diğer bağlayıcı protein çeşitlerinin karıştırılması ile yapılan bir tabaklama işlemidir. Bu maddeler deri lifleri arasına girip aradaki nemi alır ve lifleri kuruturlar. Sepilenen derilerin yumuşatılması için yağlanmaları gerekmektedir. Alüminyum tabaklama ile ortaya çıkan sonuç bitkisel tabaklama ile elde edilen kadar yumuşak olmamaktadır (<http://kazlicesme.blogspot.com>; <http://www.ekoja.com/leather.php>).

II.6.8.5. Yapay Tabaklanmış Deri,

Novolac yada Neradol gibi güzel kokulu polimerler kullanılarak yapılan tabaklamadır. Bu derinin rengi beyazdır ve 2.Dünya savaşı sırasında bitkisel tabaklama malzemesi azaldığında bulunmuştur. Melamin yada diğer amino etkili reçineler bu gruba düşer. Üre formaldehid reçine de bu tip tabaklamada serbest formaldehid biçimleri istendikçe kullanılabilir (<http://www.ekoja.com/leather.php>).

II.6.8.6. Aldehit Tabaklanmış Deri

Glutaraldehid, okzazolidin ya da bileşenleri kullanılarak yapılan tabaklamadır. Tabakçıların çoğunlukla sönük krem ya da beyaz rengi dolayısı ile ıslak beyaz deri olarak andıkları deridir. Bebek ayakkabılarında ya da krom içermesi istenmeyen araba döşemelerinde kullanılan ana tip deridir. Formaldehid tabaklama, (pek çok insanın formaldehide olan duyarlılığı ve işçiler için tehlikesinden dolayı artık kullanılmamaktadır) aldehid tabaklamanın bir başka yöntemidir. Yıkanmaya dayanıklılığı ve yumuşaklığı ile bilinir (<http://www.ekoja.com/leather.php>).

II.6.9. NÖTRALİZASYON

Kromlama sonrası uygulanacak retenaj, yağlama, boyama gibi işlemlerde kullanılacak kimyasalların deriye penetre olabilmesi için derinin pH'sının 5-6 seviyelerine çekilmesi işlemidir (http://www.sodakrom.com.tr/sirket_profil/deri_ve_dericilik_uzerine_temel_bilgiler.asp).

II.6.10. RETENAJ

"Tekrar Tabaklama" anlamına gelen bu aşamada, mineral, bitkisel ve sentetik tanenlerin veya bunların kombinasyonlarının tekrar uygulanması ile deriye daha farklı özellikler kazandırılır ve kalitesi artırılır (http://www.sodakrom.com.tr/sirket_profili/deri_ve_dericilik_uzerine_temel_bilgiler.asp).

II.6.11. YAĞLAMA

Deri liflerinin yağlama malzemeleri ile yağlanarak aralarındaki sürtünmenin istenen düzeye getirilmesi ve böylece istenen yumuşaklık, esneklik ve dayanımın ayarlanması işlemidir. Yağlamada suda eriyen hayvansal ve bitkisel yağlar kullanılmaktadır (http://www.sodakrom.com.tr/sirket_profili/deri_ve_dericilik_uzerine_temel_bilgiler.asp).

II.6.12. BOYAMA

Bu aşamada derinin yüzey ve kesiti boyar maddelerle (anilin, asit, bazik veya su substatetif anilin gibi yağ ve bitkisel boyalarla) boyanır (http://www.sodakrom.com.tr/sirket_profili/deri_ve_dericilik_uzerine_temel_bilgiler.asp).

II.6.13. FİNİSAJ

Deri yüzeyini dış etkilere korumak ve/veya albenisini artırmak amacı ile deri yüzeyinin finisaj malzemeleri ile kaplanması işlemidir (http://www.sodakrom.com.tr/sirket_profili/deri_ve_dericilik_uzerine_temel_bilgiler.asp).

II.7. PROTEOBACTERIA ŞUBESİ

Bacteria alemi içindeki en çok çeşitlilik gösteren en büyük şubedir. *Proteobacteria* grubu tıp, endüstri ve ziraat alanlarında faydalanılan önemli pek çok bakteriyi içermektedir ve 380 cinsden ve 1300 türden fazlasını bulundurmaktadır. *Proteobacteria* grubuna ait bakterilerin hepsi Gram negatif bakterilerdir. *Proteobacteria* grubu üyeleri 16SrRNA dizi analizi çalışmalarına göre birbirleri ile ilişkili olmalarına rağmen metabolik (enerji oluşturma mekanizmaları), fizyolojik, morfolojik olarak ve üreme özellikleri gibi pek çok açıdan oldukça büyük farklılıklar

göstermektedirler ve belirli ortak bir mekanizmaları yoktur. Fototrofik, kemolitotrofik ve kemoorganotrofik türleri vardır. Fizyolojik olarak anaerobik, mikraerofilik ve fakültatif aerobik olabilirler. Morfolojik olarak düz çomaklardan koklara kadar geniş bir aralıkta dağılım göstermekle birlikte tomurcuklanma gösteren formları da bulunmaktadır.

16SrRNA dizi analizi çalışmalarına göre *Proteobacteria* şubesi 5 ana sınıfa ayrılmaktadır: *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria* ve *Epsilonproteobacteria*. Bu sınıfların her biri pek çok cins ve tür içermektedir. *Proteobacteria*'nın üç farklı sınıfı (*Alpha*, *Beta* ve *Gammaproteobacteria*) fototrofik türler içermektedir (Madigan ve ark., 2009).

II.8. ENTEROBACTERIACEAE FAMILİYASI HAKKINDA GENEL BİLGİ

Enterobacteriaceae familyası, *Proteobacteria* şubesinin *Gammaproteobacteria* sınıfında *Enterobacteriales* takımı içerisinde yer alır ve Gram negatif bakterilerin büyük bir familyasıdır (Prescott ve ark., 2002).

Enterobacteriaceae familyası 41 cins (Prescott ve ark., 2002; Kayser ve ark., 2005) ile *Enterobacteriales* takımının tek familyasıdır. Familya üyeleri Gram negatif, peritriköz flagellalı (*Tatumella* hariç), genellikle hareketli veya hareketsiz, fakültatif anaerob, 0,3-1,0 X 1,0-6,0 µm (*Arsenophonus* hariç, 7-10 µm), sporsuz düz çomaklardır. Endospor veya mikrokist oluşturmazlar. Asit-fast boyanmazlar. Kolay kültüre edilebilirler ve gelişimleri için özel gereksinimleri yoktur. Pepton, et özütünde ve özellikle MacConkey besiyerinde iyi gelişirler. Oldukça hızlı çoğalma yeteneğindedirler ve ortalama jenerasyon süreleri *in vitro* olarak 20-30 dakikadır (Kayser ve ark., 2005). Çoğu *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri 22-35 °C de iyi gelişirler. Ancak *Yersinia*, *Hafnia*, *Xenorhabdus*, *Photorhabdus* ve bazı *Erwinia* türlerinin optimal gelişimleri ve maksimum biyokimyasal kapasiteleri 25-28° C' de gerçekleşir. Bazı türler karbon kaynağı olarak D- glukozu kullanırken bazıları aminoasit veya vitaminlere gereksinim duyarlar. Kemoorganotrofiktirler ve hem oksijenli solunum hem de fermentasyon metabolizmasına sahiptirler. D-glukozun, diğer karbonhidratların ve polihidroksil alkollerin fermentasyonu sırasında çoğunlukla asit ve görülür gaz oluşturulur. Çoğu katalaz pozitifdir (*Shigella dysenteriae* O grup 1 ve *Xenorhabdus* hariç). Çoğu oksidaz negatiftir (*Plesiomonas*

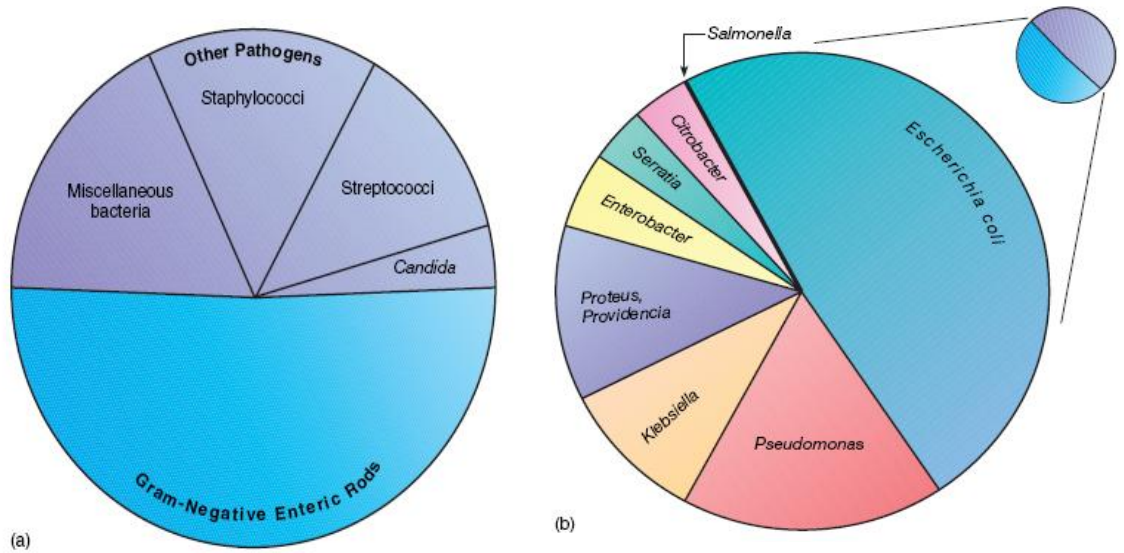
hariç). Çoğu nitratı nitrite indirger (*Saccharobacter fermentatus*, *Erwinia* ve *Yersinia*'nın bazı türleri hariç). Familya üyelerinin DNA moleküllerindeki % G-C oranı 38-60 dır (Brenner, 2005).

Familya üyeleri toprak, su, et, yumurta, sebze, meyve, tahıllar, ağaçlar, çiçekli bitkiler, böcekler, hayvanlar ve insanlar olmak üzere oldukça geniş bir aralıkta yaygın olarak bulunmaktadır. *Enterobacteriaceae* patojen türleri içermektedir ve insanlar ile hayvanlardaki patojenitesi ekonomik öneme sahiptir. Bazı türler ekonomik zarar yol açan bitki hastalıklarının bazıları ise hayvan hastalıklarının etmenleridir. Örneğin, *Erwinia* ve *Pectobacteria* üyeleri mısır, patates, elma, şeker kamışı ve ananas gibi birçok bitkide ve pek çok tahıl bitkisinde çeşitli bitki hastalıklarına, solgunluk ve yumuşak kök çürüklüğüne yol açmakta ve bu tahıllardaki önemli bileşenleri yok etmektedirler (Starr and Chatterjee, 1972; Brenner, 2005). Buna benzer şekilde ticari olarak balık endüstrisi de *Yersinia ruckeri* ve *Edwardsiella*'nın yol açtığı hastalıklar nedeniyle ciddi bir biçimde etkilenmektedir (Ewing et al., 1978; Brenner, 2005). Kümes hayvanları ve yumurtalarında görülen Salmonellozis dünya çapında bir problemdir (Brenner, 2005) ve domuzlarda, ineklerde, atlarda, köpeklerde ve kedilerde yaygın olarak görülür. Ayrıca araştırmacılar, koyunlarda ölü doğumların ve yün, sırça zararlarının özellikle *Salmonella* cinsi tarafından gerçekleştirildiğini belirtmişlerdir (Jensen, 1974; Brenner, 2005).

Enterotoksik *E. coli* suşları kuzularda, domuz yavruları ve buzağılarda ishalden birinci derecede sorumlu mikroorganizmadır (Bruner and Gillespie, 1973; Brenner, 2005). *Klebsiella* cinsi ve *Citrobacter ferundii* sığır meme iltihabının nedenleridir ve *Enterobacteriaceae* familyasının üyeleri çeşitli diğer hayvan enfeksiyonlarından (ishal, sepsisemi, Shigellosis, veba, tifo) sorumludurlar (Brenner, 2005).

Pek çok *Enterobacteriaceae* üyesi insanlara patojeniktir ve çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir. Bu hastalıklardan bazıları kontamine olmuş su veya besinlerden kaynaklanan ishal ve ishalle seyreden enfeksiyonlar, idrar yolu enfeksiyonları, sepsisemi, gastroenterit, solunum hastalıkları, yara ve yanık enfeksiyonları ve menenjitlerdir. *Salmonella* tifo ateşi ve gastroenterite, *Shigella* dizanteriye, *Klebsiella* pnömoniye ve *Yersinia* vebaya olmaktadır (Prescott ve ark., 2002). Bu hastalıklara neden olan faktörler; normal olarak patojen olan olan cinsler (*Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia pestis*, *Escherichia coli*'nin

çeşitli serotipleri ve *Yersinia enterocolitica*) ve belirli şartlar altında hastalığa neden olanlar olmak üzere ayrılabilirler. Bu 2. grubun üyelerinden çoğunlukla fırsatçı patojen olarak söz edilir. Özellikle bağışıklık sistemi zayıflamış insanlar (örneğin; kanser hastaları, AIDS hastaları, diyabet hastaları, kötü beslenen kişiler, bağışıklık sistemi baskılanmış kişiler, sondaya bağlı hastalar ve yaşlı kişiler) fırsatçı patojenlerin yol açtığı hastane enfeksiyonlarına karşı oldukça duyarlıdır. *Enterobacteriaceae* familyası hastane kaynaklı enfeksiyonlardan (cerrahi yara enfeksiyonları, idrar yolları enfeksiyonları, alt solunum yolları enfeksiyonları ve bakteriyemi) önemli derecede sorumludur (Brenner, 2005). Enterik bakterilerin hastane kaynaklı enfeksiyonların % 50' den fazlasının sebebi olduğu bilinmektedir (Şekil II.9) (Talaro ve Talaro, 2002).



Şekil II.9. Hastane Kaynaklı Enfeksiyonların Çoğundan Sorumlu Bakteriler.

- (a) Hastane enfeksiyonlarında Gram negatif bakterilerin diğer bakterilere oranı.
(b) Gram negatif enterik grupta enfeksiyonlardan izole edilen cins ve türlerin oranı (Talaro ve Talaro, 2002).

Enterobacteriaceae familyasının filogenetik olarak en yakın olduğu familyalar, *Alteromonadaceae*, *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae* ve *Pasteurellaceae*'dir. Ancak *Vibrio*, *Photobacterium* ve *Aeromonas*, oksidaz pozitif olmaları, Enterobakteriyel yaygın antijenlerden yoksun oluşları ve sıvı besiyerinde geliştiklerinde polar flagellaya sahip olmaları gibi kendilerini *Enterobacteriaceae* üyelerinden ayıran bazı özelliklere sahiptir (Brenner, 2005).

Familya üyeleri Enterobakteriler veya Enterik bakteriler olarak adlandırılmaktadır (Enterikos, -Yunanca- barsakla ilgili, barsağa ait olan). Familyanın tüm üyeleri Embden-Meyerhof yolu ile şekerleri parçalarlar ve formik asit fermentasyonu ile formik asit oluşturmak için pirüvik asiti parçalarlar. Şeker fermentasyonu sırasında *Escherichia* spp. gibi fazla miktarda gaz üreten enterik bakteriler, formik asiti H_2 ve CO_2 ye parçalayan formik hidrojenilaz enzim kompleksine (en az 2 enzimden oluşan bir sistem) sahiptir (Prescott ve ark., 2002).

Familya üyeleri fermentasyon ürünlerine bağlı olarak 2 ana gruba ayrılabilirler. Çünkü formik asit fermentasyonunun 2 tipi vardır. Büyük çoğunluk (örneğin: *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella* ve *Shigella* cinsleri) karışık asit fermentasyonunu gerçekleştirirler ve son ürün olarak laktat, asetat, süksinat, format (formik asit veya H_2 ve CO_2) ve etanol oluştururlar. 2. gruptakiler ise bütanodiol fermentasyonunu gerçekleştirirler. Burada pirüvat asetoine dönüştürülür ve asetoine daha sonra 2-3 bütanodiolle çevrilir. Bütanodiol fermentasyonunda başlıca son ürünler; bütanodiol, etanol ve karbondioksit (CO_2) dir. *Enterobacter*, *Serratia*, *Erwinia* ve *Klebsiella* bütanodiol fermenterleridir. Formik asit fermentasyonu *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinin tanımlanmasında önemli bir rol oynamaktadır ve karışık asit fermentasyonu ile bütanodiol fermentasyonu sırasıyla Metil-kırmızısı ve Voges-Proskauer testleri ile tayin edilmektedir (Prescott ve ark., 2002). Enterik bakteriler morfolojik olarak oldukça benzer oldukları için gelişim özellikleri, hareketleri ve morfolojileri ilk olarak incelendikten sonra biyokimyasal testler bu bakterileri tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır. *Enterobacteriaceae* familyasına ait cins ve türlerin ayırt edilmesinde yaygın olarak kullanılan bazı testler; formik asit fermentasyonunun tipleri için kullanılan testler (Metil kırmızısı ve Voges-Proskauer testleri), laktoz ve sitrat kullanım testleri, triptofandan indol üretimi, üre hidrolizi, bazı metabolik enzimlerin varlığı ile ilgili testler (β -galaktosidaz, deaminazlar, dekarboksilazlar), çeşitli şekerlerin fermentasyonu testleri ve hidrojen sülfid oluşumu testleridir (Prescott ve ark., 2002; Tortora ve ark., 2010).

Enterobacteriaceae familyası geleneksel olarak 2 alt kategoriye bölünmektedir. İlk kategori hızlı bir şekilde (48 saat içinde) laktoz fermentasyonu yapan, *E. coli*'nin içerisinde bulunduğu normal bağırsak florası (enterik flora) olan Koliform grubudur. İkinci grupta ise yavaş laktoz fermentasyonu yapan yada hiç laktoz fermente etmeyen normal flora üyeleri veya düzenli patojenler bulunur (Talaro ve Talaro, 2002).

Laktozu parçalayanlar (*Escherichia*, *Enterobacter* ve *Klebsiella*) MacConkey' de ve Endo besiyerinde kırmızı, Eozin Metilen Mavisı (EMB) besiyerinde mor parlak refle veren koloniler; laktozu parçalamayanlar (*Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* ve *Serratia*) ise bu besiyerinde renksiz koloniler oluşturur (Bilgehan, 2004).

EMB besiyerinde *E. coli* kolonileri koyu merkezli ve metalik yeşil parlama yaparlar. *Enterobacter* cinsinin koloni morfolojisi *E. coli* ile aynı olmasına rağmen koloni çapının daha büyük olması ile ayırt edilir. *Klebsiella* kolonileri büyük, mukoid ve kahverengimsidir. *Proteus* cinsi yarı saydam renksiz koloniler oluşturur. *Salmonella*, *Shigella* ve *Pseudomonas* renksiz, yarı saydam renkten altın rengine doğru olabilmektedirler (Madigan ve ark., 2009).

Gram negatif enterikler, patojeniteleri için oldukça önemli olan kompleks yüzey antijenlerine sahiptirler. Tüm türler O (hücre duvarı) antijenine sahip olmasına rağmen H (flagellar) ve K (kapsül ve fimbriyal) antijeni bulundurmamışlardır. Gram negatif enterik bakterilerin çoğu HKO antijenlerinin durumuna göre pek çok alt türü ve serotipi bulunmaktadır (Talaro ve Talaro, 2002).

Enterik bakterilerin en önemli patojenite faktörleri; adezyon faktörleri (kolonize olma faktörleri-antijenleri (CFAs), tutunma pilusları ve tutunma fimbriaları), invasinler, çeşitli endotoksin ve ekzotoksinler, serum ve fagosit direncidir (Kayser ve ark., 2005).

Enterik bakteriler bağırsak florasının önemli bir bölümünü oluşturmaktadırlar. Türlerin büyük çoğunluğu kommensaldir, insan ve diğer sıcak kanlı hayvanların bağırsaklarında yaşarlar ve besin artıklarının parçalanmasına neden olurlar. Bağırsaklardaki enterik bakterilerin başında *E. coli* gelmektedir. Hastalık yapan enterobakteriler zorunlu ve fırsatçı patojen olarak 2' ye ayrılmaktadır. Zorunlu patojenlerin organizmada bulunmaları anormaldir ve bir enfeksiyona neden olurlar. Bu gruptaki bazı türler: *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei* *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Yersinia pestis* olarak sıralanabilir. Fırsatçı patojenlerin ise bir konağı hasta etme durumları konağın bağışıklık durumu ile ilgilidir. *E. coli*, *Klebsiella* fırsatçı patojenlere örnektir. Enterobakterilerin bir kısmı toprakta, suda veya bitkilerde bulunabilmektedir. Organik maddelerin çürümesine yardım ettikleri için saprofit enterobakteriler olarak adlandırılmaktadırlar (Talaro ve Talaro, 2002; Madigan ve ark., 2009).

II.9. STAPHYLOCOCCUS CİNSİ HAKKINDA GENEL BİLGİ

Stafilokoklar ilk kez 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmış, 1880’de Pasteur tarafından sıvı besiyerinde üretilmiş, 1881’de Sir Alexander Ogston tarafından çıbanlarda bulunduğu, fare ve kobaylar için patojen olduğu belirtilmiştir. 1884’de Rosenbach Stafilokokların renkli ve renksiz koloni biçimlerini ayırt etmiş ve *Staphylococcus aureus*’u isimlendirmiştir. Baird- Parker ise ilk kez koagülaz negatif Stafilokok türlerini tanımlamıştır (Unat, 1986; Cengiz 1999; Waldvogel, 2000; Bilgehan, 2000; Bilgin, 2006).

Stafilokoklar, *Eubacteriales* takımının *Micrococcaceae* familyasında yer alan üzüm salkımına benzer kümeler bazen 3-5 kottan ibaret kısa zincirler veya ikişerli gruplar oluşturabilen, sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüz Gram pozitif koklardır (Bilgehan, 2004; Bilgin, 2006; Schleifer, 1986). Hücrelerin çapı 0,5-1,5 µm olup, tekli, ikili veya dördütlü halde bulunabilen, genellikle katalaz pozitif ve *Staphylococcus saccharolyticus* dışında fakültatif anaeropturlar. Anaerobik koşullar altında glikozdan D-laktik asit veya L-laktik asit oluşturabilirler. DNA’larının G+C içeriği % 30 ile 39 arasında değişmektedir (Schleifer, 1986). Kolonileri yuvarlak düzgün, kabarık mat olup, birçoğunda pigment bulunmaktadır ve β hemoliz görülmektedir. *Staphylococcus aureus*’un kökenlerinin çoğunluğunda sarı pigment ve beta hemoliz görülür. *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus*’un bazı kökenlerinde de sarı veya turuncu pigment ve hemoliz görülebilir (Bilgehan, 2004; Bilgin, 2006). Çoğu % 10 NaCl içeren besiyerinde ve 18-40 °C arasında yetişir (Schleifer, 1986). Birçok besiyerinde üreyebilirler. En tipik üremeleri kanlı agardadır. Başta glikoz olmak üzere birçok karbonhidratı fermentatif olarak parçalarlar ve son ürün olarak laktik asiti yaparlar. Gaz oluşturmazlar. Mannitole olan etkileri değişken olup özellikle *Staphylococcus aureus* bu şekerle etkilidir, diğerlerinin etkisi değişkendir. Tuzluluğa ve kuruluğu dirençlidirler. Basitrasın, furazolidon, lizostafine duyarlı olmakla birlikte lizozime direnç gösterirler (Bilgin, 2006; Schleifer, 1986; Waldvogel, 2000; Cengiz, 1999).

Stafilokoklar % 10 ve daha az NaCl içeren ortamlarda üreyebilirler. Bu özellik onları Streptokoklardan ayırır. Daha az bir ayırım olarak koloni boyutu düşünülebilmektedir. Genellikle 35°C’ 24 saat inkübasyondan sonra kanlı agar da Stafilokok kolonileri Streptokok kolonilerinden daha büyüktür. Stafilokokları Streptokoklardan ayırt eden başka özellikleri, kuruluğa dirençli ve yüksek tuz

oranına toleranslı olmalarıdır. Hatta yüksek tuz oranına (% 7,5- 10) dirençlerinin, ekstrem pH'lara ve yüksek sıcaklıklara (60°C'de kadar 60 dakika dayanabilmektedir) karşı koyma kapasitelerinin gelişmiş olması nedeniyle Stafilocoklardan spor oluşturmayan patojenlerin en dirençlisi olarak söz edilmektedir (Talaro ve Talaro, 2002). Bu nedenle yüksek tuzlu besiyeri ayırıcıdır. Stafilocoklar ayrıca bazı antibiyotikler ve dezenfektanların etkilerine karşı koyabilmektedir ve kuruluğa aylarca dayanabilmektedir (Talaro ve Talaro, 2002; Tortora ve ark., 2010).

Lizostafin Stafilocokları Mikrokoklardan ayırt etmeye yarayan bir enzim testi olup Stafilocok hücrelerini 15 dk. içinde lize etmektedir. Mikrokoklarla yakından ilişkili olan Stafilocokları ayırt etmek için ise oksidaz testi kullanılmaktadır çünkü Mikrokoklar oksidaz pozitif, Stafilocoklar genelde oksidaz negatiftir. Eskülin ve nişasta genellikle hidroliz edilmez. Gelişimleri için pH değerleri 4,2-9,3 arasındadır (genellikle 7,0- 7,5 arasında). *Staphylococcus aureus*'a ait koloniler geniş (6-8 mm çapında), düz, yüzeyden hafifçe kabarık, yarı şeffaf görünümündedir. Çoğu suşa ait koloniler krem-sarı, portakal rengi pigmentasyon gösterirler (Unat 1986; Waldvogel, 2000; Bilgin, 2006).

Stafilocoklar deri ve mukoz membranda yaygın olarak bulunan ve insan enfeksiyonlarının büyük bir kısmını oluşturan bir gruptur. Başta burun mukozası, nazofarinks, deri ve daha az olmak üzere bağırsak ve diğer mukozaların normal floralarında bulunan bakterilerdir (Bilgehan, 2004). *Micrococcus* cinsi ile yakından ilişkilidirler. Stafilocok cinsi içerisinde 31 tür bulunmaktadır fakat en önemli insan patojenleri deri florası ile yakından ilişkili olan *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis* ve *Staphylococcus saprophyticus*' tur. Bunlar arasında en önemli patojen *Staphylococcus aureus* olmasına rağmen diğerleri de zararsız değildir (Talaro ve Talaro, 2002). İnsanlarda endojen ve ekzojen kaynaklı, besin zehirlenmelerinden lokal irinler ve sepsislere varacak kadar çeşitli hastalıklar oluşturabilirler (Bilgehan, 2004).

Stafilocok türleri için seçici bir besiyeri olan Baird-Parker agar üzerinde *S. aureus*; siyah, parlak, 1-5 mm çapında, konveks, 2-5 mm genişliğinde açık bir zon (48 saat inkübasyondan sonra zon içerisinde opak halkalar oluşabilir) tarafından çevrelenen beyaz ve dar bir sınır şeridine sahip koloniler oluşturur. Oysa *S. epidermidis*' in aynı besiyeri üzerindeki görünümü siyah, parlak, düzensiz

şekildedir ve 24 saatten sonra koloniler etrafında opak zon oluşabilir (Merck Manual, 2008).

İnsanlardaki Stafilocok enfeksiyonlarında *Staphylococcus aureus* öncelikli patojen olarak yer almaktadır. Bundan başka fırsatçı patojenler olarak *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus* sıklıkla enfeksiyon yaparlar. Daha nadir olarak *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus cohnii* ve *Staphylococcus simulans*’ in fırsatçı enfeksiyonlarına rastlanmıştır (Bilgehan, 2004).

Plazmayı pıhtılaştırma özelliğini gösteren koagülaz deneyi, *Staphylococcus aureus*’u diğer Stafilocoklardan ayırt etmede kullanılmaktadır. *Staphylococcus aureus* koagülaz pozitif, *Staphylococcus epidermidis* negatiftir. Mannitole etki deneyi, koagülaz testinden sonra *Staphylococcus aureus*’u diğer Stafilocoklardan ayırt etmede kullanılıp, *Staphylococcus aureus* mannitolü hidrolize eder. Diğer karbonhidratlardan trehaloz, mannoz, maltoz, süktroz ve laktozu parçalar, ksiloz, sellobioz, arabinoz ve rafinozu parçalamazlar. Nitratları nitritlere indirgerler (Bilgin, 2006). Patojenik Stafilocokların ayırımında spesifik besiyeri olarak DNase testi için DNase agardan yararlanılır. *S. aureus* DNase pozitifdir (www.mikrobiyoloji.org).

Stafilocoklar insan ve hayvanlarda pek çok hastalığa sebep olmaktadırlar. Hayvanlarda Stafilocoklardan ileri gelen başlıca enfeksiyonlar: mastitis, botryomycosis, enzootik piyemi, arthritits ve gıda zehirlenmeleridir. Hastalık etkenleri ve yaptıkları hastalıklar aşağıdaki gibidir;

<i>Staphylococcus aureus</i> (Mastitis)	: Sığır, koyun ve domuzlarda
(Botryomycosis)	: At, sığır, koyun ve domuzlarda
(Kuzu piyemisi)	: Koyunlar
(Sinovitis)	: Kanatlılar
(Spongilitis)	: Kanatlılar
(Dermatitis)	: Diğer hayvanlar (www.mikrobiyoloji.org)

Bazı Stafilocok türleri *in vitro* veya *in vivo* koşullarda kapsül oluşturabilirler. *Staphylococcus aureus*’ un hücre duvarında immünoloji ve teşhiste önemli olan Protein A maddesi vardır. Peptidoglikan tabakasına kovalent olarak bağlanmış bu madde bakteriyi fagositoza karşı korur (www.mikrobiyoloji.org).

Stafilokokların hücre zarına etkili olduğu bilinen 5 sitotoksini vardır. Bunlardan ilki olan sitolitik toksinler alfa, beta, delta ve gama toksinler olmak üzere 4 tiptir ve hemolizin özelliğindedirler. Bu sitolitik toksinlerden alfa ve delta toksin insanlara patojen olan *Staphylococcus aureus*' ta en çok bulunan toksinlerdir. Lökositin adlı toksin lökositler, nötrofiller ve makrofajlar üzerine etkilidir onları lize eder. Eksfoliatif (epidermolitik) toksin dermatitislere neden olur. Eksfoliatif toksin epidermis ile dermis tabakasını ayırarak derinin soyulmasına neden olur ve Stafilokokal haşlanmış deri sendromunun sorumlusudur, deri yanık görünümündedir. Toksik şok sendromu toksini-1 (TSST) ise insanlarda toksik şok sendromunun nedenidir. Stafilokoklar enterotoksin de üretebilmektedirler. Enterotoksinin serolojik olarak A, B, C1, C2, D, E ve F harfleri ile adlandırılan 7 tipi vardır. (Talaro ve Talaro, 2002; www.mikrobiyoloji.org).

Stafilokoklar çeşitli enzimlere sahiptirler ve bunlardan katalaz tüm stafilokoklarda vardır. Koagülaz enzimi bir patojenite kriteri olarak bilinir ve Stafilokok türleri koagülaz negatif ve pozitif olmak üzere ikiye ayrılabilirler. Koagülaz enzimi fibrinojeni fibrine çevirerek plazmayı koagüle etmektedir. Oluşan fibrin ağı bakteriyi fagositozdan korumaktadır. Hiyalüronidaz enzimi patojen stafilokokların yaklaşık % 90' ında vardır ve bağ dokudaki hiyalüronik asidi parçalayarak bakterinin doku içerisine yayılması sağlar. Fibrinolizin enzimi patojen Stafilokokların fibrin pıhtılarını eritmesini sağlar. Penisilinaz (beta laktamaz) enzimleri penisilinin beta laktam halkasını parçalayarak penisiline dirençliliği sağlar. Ayrıca deoksiribonükleaz, termonükleaz ve lipaz gibi patojenite ile ilgili enzimlere de sahiptirler (Madigan ve ark., 2009).

II.10. BACILLUS CİNSİ HAKKINDA GENEL BİLGİ

Bacillus cinsi *Bacillaceae* familyasında yer alan, Gram pozitif, endosporları ile olumsuz ortam şartlarına direnç gösteren, peritriköz kamçılı, aerobik veya fakültatif anaerob, kemoorganotrof, genellikle hareketli, çoğunlukla katalaz pozitif çomaklardır. Koloni morfolojisi ve boyutu oldukça değişkendir (Schleifer, 1986).

Bacillus cinsi, fenotipik ve genotipik olarak farklıdır. rRNA dizi analizlerine göre *Bacillus* cinsi en az 5 farklı hatta ayrılmıştır. Ancak pek çok tür 2 yeni cins içerisine dahil edilmiştir. Bu cinslerden ilki olan *Alicyclobacillus*, membranlarında 6 veya 7 karbon halkalı ω -alisiklik yağ asitleri bulunduran, asidofilik, sporlu, Gram pozitif veya Gram değişken olabilen, aerobik veya fakültatif aerobik ve G+ C

(Guanin-Sitozin) içeriği % 51-60 olan çomakları içerir. İkinci cins olan *Paenibacillus* (Paene, Latince hemen hemen anlamına gelmektedir) ise fakültatif, peritriköz flagellaya sahip, hareketli, elips şeklinde sporlara sahip ve sporangiyumu şişmiş, glukozdan ve çeşitli şekerlerden asit ve bazen gaz oluşturan, % 40-54 G+C içeriğine sahip çomaklardır (Prescott ve ark., 2002).

Bacillus cinsinin pek çok türü doğada oldukça fazla yayılmıştır. *Bacillus anthracis* türü hayvanlar ve insanlar için patojendir. *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus larvae*, *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus popilliae* ve *Bacillus sphaericus* türünün bazı suşları böceklerle patojendir. *Bacillus cereus* türü besin kaynaklı gastroenteritte önemli rol oynamaktadır ve diğer bazı türler fırsatçı patojen olabilmektedir (Schleifer, 1986).

Bacillus hücreleri tek veya oldukça uzun zincirler halinde bulunabilmektedir. Çomaklar yuvarlak veya kare uçlu olabilmektedir. Çomakların boyu 0,5x1,2 µm' den 2,5x10 µm' ye kadar olabilmektedir. Hücreler parasporal cisimler yada protein kristalleri içerebilirler. Oluşturulan endosporun şekli, konumu ve sporu oluşturan ana hücre sporangiumun durumu *Bacillus* cinsinin karakteristik özelliğidir. Endosporlar silindir, elips şekilli, yuvarlak veya oval olabilir ancak bazı türlerin sporları muz ya da böbrek şekilli olabilmektedir. Sporlar sporangium içerisinde merkezi, merkeze yakın, uca yakın bir konumda, uçta veya lateralde olabilirler. Endosporların oluşumu sırasında ana hücre şeklini değiştirmeyebilir veya şişebilir. *Bacillus* suşları sporangiyumun şişmesi ve sporun şekline dayalı olarak 3 grupta toplanmıştır. Birinci grupta; sporlar elips şekilli olup sporangiyum şişmez. İkinci grupta; sporlar elips şekilli ancak sporangiyum şişmektedir. Üçüncü grupta sporlar küresel şekilli ve sporangiyumlar şişmektedir. Olgun endosporlar lizis sonucu sporangiyumlardan salınılmaktadırlar. Sporun şekli, sporun sporangiyum içindeki konumu ve sporangiyuma oranla büyüklüğü sınıflandırmada kullanılan kriterlerdir (Schleifer, 1986).

Bacillus türlerinin koloni yüzeyi görünümü genellikle çevresel faktörler ile (besiyerinin bileşimi, inkübasyon sıcaklığı, nem vs.) değişebilmektedir. *Bacillus* türleri toprakta, suda, kirli deniz suyunda, derin deniz sedimentlerinde, çeşitli besinlerde ve sütte bulunabilir (Schleifer, 1986).

Bacillus anthracis bu cinsin en bilinen patojen türüdür ve hem insanları hem hayvanları etkileyerek antraks hastalığına neden olmaktadır. *Bacillus anthracis* ile yakından ilişkili olan *Bacillus cereus* cinsin en bilinen ikinci memeli patojenidir.

Bacillus cereus insanlarda ve hayvanlarda pek çok hastalığın etkenidir. Emetik ve ishal tipi olmak üzere iki tip besin zehirlenmesine neden olmaktadır (Schleifer, 1986). Ancak *Bacillus brevis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus sphaericus* türlerinin de besin zehirlenmesine neden olduğu kanıtlanmıştır (Schleifer, 1986). *Bacillus anthracis* ile yakınan ilişkili bir tür olan *Bacillus thuringiensis* en iyi bilinen böcek patojenidir ve istenmeyen böceklerin biyolojik kontrolünde oldukça önemlidir. Diğer böcek patojeni olan türler *Bacillus larvae*, *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus popilliae* ve *Bacillus sphaericus*' tur. *Bacillus sphaericus* ve *Bacillus thuringiensis* türlerinin memeli enfeksiyonlarından, *B. thuringiensis*' in sığır meme iltihabından ve *Bacillus sphaericus*' un da laboratuvar enfeksiyonlarından izole edildiği gösterilmiştir (Schleifer, 1986). *Bacillus sphaericus*' un sağlıklı yetişkinlerde menenjit, bakteriyemi ve endokardite neden olduğu bildirilmiştir (Schleifer, 1986) *Bacillus* cinsinin memeli enfeksiyonlarından sorumlu olduğu bilinen diğer türleri arasında menenjite neden olan *Bacillus pumilus*, *Bacillus alvei* ve *Bacillus circulans*, bakteriyemi ve sepsise miye neden olan *Bacillus licheniformis*, faranjite neden olan *B. megaterium*, pnömoni, solunum rahatsızlıkları ve endokardite neden olan *B. subtilis* yer almaktadır (Schleifer, 1986).

Bacillus cinsinin üyeleri basitrasın, polimiksin ve gramisidin gibi pek çok antibiyotiği üretmelerinden dolayı büyük bir öneme sahiptirler. İnsektisit olarak kullanılan *Bacillus thuringiensis* ve *B. sphaericus* gibi türler parasporal cisim olarak adlandırılan katı bir protein kristal üretirler. Parasporal cisimler endosporun oluşumu sırasında endospora bitişik olarak yer aldığı için bu şekilde isimlendirilmiştir. Bu parasporal cisimler böcekleri öldürecek güçte toksik proteinler üretmektedirler (Prescott, 2002).

Bacillus cinsinin diğer biyokimyasal özellikleri ise katalaz pozitif olmaları, nişastayı ve jelatini hidrolize etmeleri, bazı suşlarının kazeini sindirip bazılarının sindirmemesi, Voges-Proskauer testinin bazı suşlarda pozitif bazılarında negatif olmasıdır (Schleifer, 1986).

II.11. *STREPTOCOCCUS* CİNSİ HAKKINDA GENEL BİLGİ

1874'te Billroth yara ve erizipel lezyonlarının cerahatli eksüdalarında zincir yaparak üreyen kokları tanımlamış ve "*Streptococcus*" olarak isimlendirmiştir. Rebecca Lancefield presipitasyon ve Griffith aglütinasyon yöntemleriyle streptokokların immünolojisini incelemişler ve 1933'te Lancefield, patojen streptokokları hücre duvarındaki karbonhidrat antijenlerine göre serolojik gruplara ayırmıştır. Yine Brown, streptokokları kanlı agardaki hemoliz özelliklerine göre α , β , γ veya nonhemolitik streptokoklar olarak sınıflamıştır. Sherman ise streptokokları; hemoliz, üreme derecesi ve özellikleri, biyokimyasal özellikleri ve antijen yapılarına göre, piyojen, laktik, viridans streptokoklar ve enterokoklar olarak 4 gruba ayırmıştır. Jones ise bu sınıflamayı geliştirerek, piyojen streptokoklar, oral streptokoklar, enterokoklar, laktik streptokoklar, anaerob streptokoklar ve diğer streptokoklar olarak gruplandırmıştır (Berzeg, 2005).

Streptococcus cinsi Gram pozitif, hareketsiz, katalaz negatif, çoğunluğu fakültatif anaerob, kemoorganotrof, tek yön boyunca bölünerek zincir yapan ya da çiftler çiftler gruplaşan, yuvarlak, oval, bazen uçları sivri görünüm veren koklardır (Bilgehan, 2004; Kayser ve ark., 2005). Gram pozitif koklar içerisinde katalaz negatif olanlar arasında en geniş grubu Streptokoklar oluşturur (Bilgehan, 2004). Çapı 2 μm ' den daha az, endospor oluşturmeyen, fermentatif metabolizma ile laktik asit üreten, bir kısmı gelişimleri için CO_2 ihtiyacı gösteren bir kısmı zorunlu anaerob, besinsel gereksinimleri çok değişik ve karmaşık olan bakterilerdir. Karbonhidratlardan fermentatif olarak çoğunlukla laktik asit üretilir ancak gaz üretimi görülmez. Bazı türler organik asitleri (malik ve sitrik) ve aminoasitleri (serin ve arjinin) fermente ederler (Schleifer, 1986). Lipoteikoik asitle kaplı pililer epitelyum hücrelerine yapışmada rol alırlar. pH 7,4 olduğunda üremeyi severler ve ortamda % 10 CO_2 bulunması üremeye ve hemolizin oluşturmaya yardımcı olur (www.mikrobiyoloji.org).

Gelişimleri için uygun sıcaklık 37°C olmasına rağmen minimum ve maksimum sıcaklık türler arasında değişiklik göstermektedir. Pek çok türü insanlarda ve hayvanlarda kommensal veya parazit olarak bulunurken bazı türleri oldukça patojendir, çok azı da saprofit olarak doğada bulunmaktadır. Derilerde ve mukozalarda kolonize olurlar, sindirim, solunum ve genital bölgelerin normal flora üyeleri olarak bulunurlar (Schleifer, 1986).

Sarı, turuncu veya kırmızı renkli koloniler oluşturan *Streptococcus agalactiae* ve bazı Enterokokların bazı suşları hariç çoğu tür pigment oluşturmaz. Kolonilerin yüzeyleri düzgün ve görünüşleri tam bir daire şeklindedir (Schleifer, 1986).

Çoğu Streptokoklar bakteriyosin üretirler. Bunların bazıları Gram pozitif bakterileri inhibe eder. Tüm Streptokoklar vankomisine duyarlıdır (Schleifer, 1986).

Streptokoklar içerisinde üreme, kimyasal ve biyokimyasal yönden çeşitli ayrımlar gösteren 21' den fazla tür bulunmaktadır. Streptokokların sınıflandırılması çeşitli özelliklerine göre yapılmaktadır. Kanlı agarda hemoliz durumlarına (α , β ve γ) ve hücre duvarlarında bulunan karbonhidratların antijenik yapılarına göre ait oldukları serolojik gruplara göre (Lancefield sınıflandırması) sınıflandırılırlar (Bilgehan 2004, Kayser ve ark., 2005). Lancefield sınıflandırmasında kullanılan antijenler diğer adıyla C- maddeleri ya hücre duvarı ile ilişkili polisakkaritlerdir ya da hücre membranı ile hücre duvarının iç yüzeyi arasındaki bölgede bulunan teikoik asitlerdir. Bu C maddesinin gösterdiği antijenik özelliğe bakılarak hemolitik Streptokoklar R. Lancefield (1933) tarafından A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V serolojik gruplarına ayrılmıştır (www.mikrobiyoloji.org). İnsanda sıklıkla A, B, C, D ve G grupları bulunur. Ayrıca *Streptococcus pyogenes*' de bulunan M, T ve R adlı yüzey antijenleri ne göre de serolojik gruplara ayrılmıştır. Lancefield sınıflandırma sistemi insan ve hayvanlardaki patojenik β -hemolitik Streptokoklar arasında ayırım yapmak için oldukça elverişlidir (Schleifer, 1986).

II.11.1. Hemolitik Özelliklerine Göre Streptokoklar

Brown tarafından yapılan sınıflandırmaya göre Streptokoklar;

II.11.1.1. Beta Hemolitik Streptokoklar

Kanlı agarda üretildiklerinde kolonilerin etrafında eritrositlerin tam olarak eritilmesine bağlı olarak şeffaf zonlar oluşur. Bu tür hemolize Beta hemoliz, bunu yapan Streptokoklara da Beta Hemolitik Streptokoklar adı verilir. Örnek: *Streptococcus pyogenes*.

II.11.1.2. Alfa Hemolitik Streptokoklar

Kanlı agar plaklarında kolonilerin etrafında eritrositlerin tam olarak eritememesi sonucu yeşilimsi bir bölge oluşur. Bu tür hemolize Alfa hemoliz, bunu yapan Streptokoklara da Alfa Hemolitik Streptokoklar adı verilir. Örnek: Viridans Streptokoklar.

II.11.1.3. Gama Hemolitik (Non Hemolitik Streptokoklar)

Kanlı agarda koloni etrafında herhangi bir hemoliz yapmayan Streptokoklardır.

II.11.2. Sherman Sınıflandırmasına Göre Streptokoklar

Streptokoklar Sherman tarafından biyokimyasal yapılarına, üreme ve hemoliz özelliklerine ve antijenik yapılarına göre Piyojen, Viridans, Laktik ve Enterokok şeklinde sınıflandırılırlar.

II.11.3. Genişletilmiş (Jones) Sınıflandırmasına Göre Streptokoklar

Jones tarafından yapılan genişletilmiş sınıflandırmaya göre Streptokoklar aşağıdaki gibi ayrılır;

Piyojenik Streptokoklar: *S. pyogenes* (A), *S. agalactiae* (B), *S. equi* (C), *S. spp.* grup C, *S. spp.* grup G, *S. spp.* grup L, N, P, U, V, *S. iniae*, *S. pneumoniae*.

Oral Streptokoklar: *S. salivarius* (K,-), *S. sanguis* (H), *S. milleri* (C, F, G). (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*), *S. mutans*.

Enterokoklar (D): *S. faecalis* (*Enterococcus faecalis*), *S. faecium* (*Enterococcus faecium*), *S. avium* (*Enterococcus avium*), *S. gallinarum* (*Enterococcus gallinarum*)

Laktik Streptokoklar: *S. lactis*, *S. raffinolactis*

Anaerob Streptokoklar: *S. morbillorum*, *S. hansenii*, *S. pleomorphus*, *S. parvulus*

Diğer Streptokoklar: *S. uberis*, *S. bovis* (D), *S. equinus* (D), *S. thermophilus*

Yeni Türler: *S. alactolyticus*, *S. cecorum*, *S. equi ssp. zooepidemicus*, *S. arriae* (www.mikrobiyoloji.org, Bilgehan, 2004).

II.11.4. Antijenik Yapılarına Göre Streptokoklar

Lancefield (1933) tarafından yapılan sınıflandırmadır. Hücre duvarındaki C polisakkaridinin serolojik farklılıkları temeline dayanır. A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V olarak serolojik gruplara ayrılmışlardır.

II.11.4.1. A Grubu Streptokok (*Streptococcus pyogenes*)

İnsanlarda en çok hastalık oluşturan streptokoklardır. Kanlı agarda küçük grimsi, hafif bulanık görünümde kabarık, etraflarında geniş, tam bir beta hemoliz zonu oluşan koloniler yaparlar.

Lipoteikoik asit, M proteini, kapsül polisakkaridi, streptokinaz, streptolizin, nükleazlar, hiyalüronidazlar ve eritrojenik toksinler en sıklıkla rastlanan hücresel yapı maddeleridir. Streptokoklar ayrıca proteaz, fosfataz, esteraz, amilaz, N-asetil glukoz aminidaz, nöraminidaz, lipoproteinaz, ribonükleaz, difosfopiridin nükleotidaz gibi enzimler de üretirler.

A grubu Streptokok enfeksiyonları olarak; yılancık (erizipel), sepsis, endokardit, loğusa ateşi (püerperal sepsis), toksik şok benzeri ateş, deri ve deri altı enfeksiyonları, streptokok anjini (farenjit), kızıl, akut romatizmal ateş, akut glomeril nefrit sayılabilir (Bilgehan, 2004; www.mikrobiyoloji.org).

II.11.4.2. B grubu Streptokok (*Streptococcus agalactiae*)

Streptokok genel özelliğini göstermekle birlikte, kanlı agarda A grubu streptokoklardan daha büyük, morumsu renkte koloniler yaparlar ve koloniler etrafında dar bir beta hemoliz zonu görülür. % 5-15' inde hemoliz görülmez. Beta hemoliz yapan diğer streptokoklardan sodyum hipüratı hidrolize etmeleri ve CAMP faktörü oluşturmaları ile ayrılırlar. B grubu streptokoklar % 6,5 sodyum klorürlü ortamda üreyebilirler.

İnsan ve diğer memelilerin genitoüriner sistem normal florasında bulunmakla beraber yeni doğanlarda ve erişkinlerde önemli enfeksiyonlar oluşturabilirler. Yeni doğan sepsis ve menenjitlerinde yer aldıkları bilinmektedir. Ayrıca gebelik sonrası ateş ve sepsis, eklem enfeksiyonları, osteomyelit, idrar yolları ve yara enfeksiyonları, direnci kırılmış kimselerde endokardit, pnömoni ve piyelonefrit oluşturulan hastalıklardır (Bilgehan 2004; www.mikrobiyoloji.org).

II.11.4.3. C grubu Streptokoklar

S. equisimilis, *S. zooepidemicus*, *S. equi* beta hemoliz yapan türler ve *S. disgalactiae* gibi alfa hemolizli veya hemoliz yapmayan türlerden meydana gelir. Farenjit, tonsillit, septisemi, pnömoni, menenjit, osteomyelit, artrit ve endokardit gibi hastalıkların etkeni olarak görülebilir (www.mikrobiyoloji.org).

II.11.4.4. D grubu Streptokoklar

D grubu Streptokokların mikroskopik görünimleri ikişerli diplokoklar veya kısa zincirler halinde olup bu görünimleri ile *Streptococcus pneumoniae*'yi andırırlar. D grubu streptokoklar genelde iki gruba ayrılırlar. Birinci grup Enterokoklar olup hepsi penisiline dirençlidirler. *Streptococcus faecalis* (*Enterococcus faecalis*), *Streptococcus faecium* (*Enterococcus faecium*) ve *Streptococcus durans* (*Enterococcus durans*) bu gruptandır. Alfa, beta ve gama hemoliz gösterebilirler. % 6,5 NaCl'li, % 40 safralı ortamlarda ve 45 °C'de sıcaklıkta üreyebilirler. Eskülini hidrolize ederler. İkinci grupta enterokok olmayan (non enterokok) streptokoklar bulunur. *Streptococcus equinus* ve *Streptococcus bovis* bu gruptandır. Bu grup streptokoklar % 40 safralı ortamda ve 45 °C'de üreyebilirler ancak % 6,5 sodyum klorürlü ortamda üreyemezler. Penisiline dirençsiz olup, alfa veya non hemolitikler (Bilgehan, 2004).

1984 yılı öncesinde, *Streptococcus* cinsi içinde yer alan ve Lancefield serolojik D grubu kokların bazılarında oluşan *Enterococcus* cinsi, fekal streptokok grubunu ifade etmekteydi. *Streptococcus faecalis* ve *Streptococcus faecium* türleri ile birlikte *Streptococcus faecalis* subsp. *liquefaciens*, *Streptococcus faecalis* subsp. *zymogenes* ve *Streptococcus faecium* subsp. *casseliflavus* alt türlerini de içermekte olan bu grup, 1984 yılında Schleifer ve Kilpper-Balnz tarafından *Enterococcus* cinsi olarak ayrılmıştır. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology adlı kitapta *Streptococcus faecalis*, *Str. faecium*, *Str. avium* ve *Str. gallinarum* türlerine yer verilmiş ve enterokokların cins isminin *Enterococcus* olarak önerildiğine değinilmiştir. 1984 'den sonra yapılan çalışmalarla *Str. faecalis* ve *Str. faecium* 'un isimleri *E. faecalis* ve *E. faecium* şeklinde değiştirilerek *Enterococcus* cinsi adı altında toplanmışlardır. Yeni literatürlerde *Enterococcus* cinsi altında toplanan tür sayısı 16 olup bunlar; *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. dispar*, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. flavescens*, *E. gallinarum*, *E. hirae*, *E. malodoratus*, *E. mundtii*, *E. pseudoavium*, *E. raffinosus*, *E. saccharolyticus*, *E. seriolicida*, *E. solitarius* ve *E. sulfureus* dur (Kaleli ve Özkaya, 2000; Moellering, 2000).

Gram pozitif kokların DNA-RNA hibridizasyonları, 16S-rRNA sıralarının analizi ve hücre duvar yapılarının incelenmesi yöntemleri ile yapılan sınıflandırma çalışmaları sonucu; 1991'de Bentley ve arkadaşları, daha sonra da Kawamuro ve arkadaşlarının modifiye ettiği şekliyle *Streptococcaceae* familyası Gram pozitif koklar, *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Lactococcus* cinsi olarak ayrılmıştır.

Streptococcus cinsi de 7 gruba ayrılmıştır. Piyojen koklar adı altında Lancefield A, B, C grubu streptokoklar da filogenetik olarak birlikte değerlendirilmiş, klasik olarak piyojen bir patojen olan *S. pneumoniae* genetik olarak daha yakın olduğu viridans streptokoklar içinde yer almıştır. *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Gemella*, *Alloiococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus*, *Globicatella* ve *Helcococcus* gibi türler “Streptokok Benzeri Mikroorganizmalar” grubu içine alınmıştır (Koneman ve ark., 1997; Berzeg, 2005).

Enterokoklar ısıya dirençli bakterilerdir. Çoğu 60 °C’ de 30 dakika ısıtılma ile inaktive olmazlar. Bu bakteriler soğuk ve nemli toprakta 12 hafta kadar canlı kalabilirler fakat donma ve sonra yeniden eritme durumları ömürlerini azaltır. Sıvı besiyerlerinde dipte çöküntü oluşturup, besiyerinde bulanıklık yapmaksızın ürerler. Sitokrom enzimi içermediklerinden katalaz aktiviteleri yoktur. Ancak *E. faecalis* kan içeren besiyerlerinde üretildiğinde bazen zayıf bir yalancı katalaz reaksiyonu gözlenebilir. Enterokoklar fakültatif anaeropturlar. pH 9,6 da 10-45°C arasında % 6,5’luk sodyum klorür varlığında üreyebilirler. % 40 safralı ortamda iken eskulini hidrolize eder, *Enterococcus cecorum*, *Enterococcus columbae*, *Enterococcus saccharolyticus* hariç Lpirolidonil aril amidaz (PYR) pozitifler. Bu reaksiyon onları grup A dışı streptokoklar, *Leuconostoc* ve *Pediococcus*’dan ayırmada önemlidir (Berzeg, 2005).

Enterokoklar, Gram negatif bakterilere kıyasla, beslenme gereksinimleri açısından daha seçicidirler. Geliştirildikleri besiyerinde daha fazla üreme faktörüne gereksinim duymaları ile diğer pek çok gram pozitif bakteriden ayrılırlar. Örneğin, gelişebilmeleri için B vitaminleri ve bazı temel aminoasitler açısından pek çok gram pozitif bakteriden çok daha fazla oranda besin maddesine ihtiyaç duyarlar. Belirli türlerin üreme faktörü olarak bazı spesifik aminoasitlere gereksinim duymalarından dolayı bu spesifik aminoasitlerin nicel olarak belirlenmesinde test organizması olarak kullanılmaktadırlar (Kaleli ve Özkaya, 2000; www.mikrobiyoloji.org).

Enterococcus cinsine ait tüm türler %40 safra tuzu ve %3 sodyum klorür içeren besiyerlerinde gelişebilirken, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* türleri tuza daha dirençli olup % 6,5 tuz konsantrasyonunda gelişebilirler. Süte uygulanan pastörizasyon işlemi ile elimine edilemezler. Donma ve kurutmaya karşı *Escherichia coli* 'ye kıyasla daha dayanıklıdırlar. Bütün türleri eskulini hidroliz eder ve 1,3,5-trimetil-tetrazolyum klorürü (TCC) indirgerler. *Enterococcus casseliflavus* ve *Enterococcus mundtii* türleri sarı pigment oluştururken *Enterococcus avium* ve

Enterococcus malodoratus türleri de H₂S oluştururlar. Diğer yandan enterokoklar birçok karbonhidratı fermente ederler. *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* karbonhidratlardan fermentasyon yoluyla başlıca ürün olarak laktik asit ürettiklerinden, çeşitli peynirlerin üretiminde starter kültür olarak kullanılabilirler. Örneğin çedar peyniri, yumuşak İtalyan peyniri ve bazı İsviçre peynirlerinin yapımında asit, tat ve aroma oluşumu için kullanılmaktadır. Ancak *Enterococcus faecalis* subsp. *liquefaciens* 'in patojen özellik gösterebileceği bildirilmektedir. *Enterococcus faecalis* subsp. *liquefaciens*, *Enterococcus faecalis* gibi hemolitik değildir. En önemli özelliği jelatini sıvılaştırmasıdır. Laktik asit üretme ve sütü pıhtılaştırma yeteneğinde olan bu bakteri sütü pıhtılaştırdıktan sonra peptonize eder. *Enterococcus faecalis* subsp. *zymogenes* de patojen özellik gösterir ve hemolize neden olur (Kaleli ve Özkaya, 2000).

Enterokokları, kendileri gibi Gram pozitif, fakültatif anaerobik olan *Aerococcus*, *Gemella*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Pediococcus*, *Saccharococcus*, *Staphylococcus*, *Stomatococcus*, *Streptococcus*, *Trichococcus* ve *Vagococcus* 'lardan ayırabilmek amacı ile hareketlilik, 10 °C, 45 °C, pH 9,6, % 6,5 sodyum klorür ve % 40 safra tuzunda gelişme ve katalaz reaksiyonu incelenmelidir.

Enterokokları ortaya çıkarmak için eskulinli safralı azidli agar, kanamisinli eskulinli azidli agar, sitratlı azidli ve tween-80 li karbonatlı agar, talyum asetatlı agar ve kristal viyoleli azidli agar gibi besiyerleri kullanılır (Unat, 1986). Epidemiyolojik çalışmalarda, *Enterococcus faecium*'un gaitadan izolasyonu için Sefaleksim-Aztreonam-Arabinoside agarı (CCA agar) geliştirilmiştir. Gram negatif bakteri içeren karışık klinik örneklerden izolasyon için azid içeren Safra-eskulin-azid veya Enterococcosel agar kullanılır. CNA (Columbia kolistin-nalidiksik azid agar) veya PEA (fenil etil alkol agar) da bu amaçla kullanılabilir (Facklam ve ark., 1999).

Enterococcus faecalis suşları eskulinli safra azidli agarda siyah koloniler oluştururlar. *Enterococcus casseliflavus* hareketlidir ve sarı pigment oluşturur. *Enterococcus mundtii* sarı pigment oluşturur ama hareketli değildir. *Enterococcus gallinarum* hareketlidir ama sarı pigment oluşturmaz.

Enterokoklar diğer Gram pozitif mikroorganizmaların duyarlı olduğu pek çok antimikrobiyal ajana kısmen veya tamamen dirençlidir. Hiç bir antibiyotik tek başına enterokoklara karşı bakterisid etkiye sahip değildir.

D grubu streptokoklar veya enterokoklar insan veya bazı hayvanların bağırsak, ağız bazen de deri normal florasında bulunabilmektedirler. Toprak, su, yiyeceklerde,

insan ve hayvanların barsak, safra yolları, ağız ve bazen de derilerinde (özellikle perineal deri) normal florada bulunurlar. Enterokoklar içinde infeksiyon etkeni olarak en sık saptanan tür *Enterococcus faecalis*'tir. *Enterococcus faecium* 2. sıklıkta yer alır ancak antimikrobiklere daha dirençli bir türdür. Diğer enterokoklar nadiren insanda infeksiyon yaparlar (Bilgehan, 1995). Enterokoklar komplike idrar yolları enfeksiyonları, bakteriyemi, sepsisemi, endokardit, kolesistit, intra abdominal ve pelvik infeksiyonlar, yara ve yumuşak doku infeksiyonları, abse, yenidoğan sepsisi, nadiren menenjit yaparlar. Sistit, piyelonefrit, prostatit ve perinefrik apselerle ilişkilidirler (Bilgehan, 2004; www.mikrobiyoloji.org).

Bazı enterokok türlerinin özellikleri:

***Enterococcus faecalis*:** İnsan ve hayvan dışkıсында bulunan fekal orijinli bir türdür ancak bu bakterilere insan ve memeli hayvanların dışkısı dışında toprak, su, bitki ve böcek gibi birçok çevrede de rastlanmaktadır. Gastrointestinal flora üyesidir. Ağız, hepatobiliyer sistem ve vajinadan da izole edilmiştir. İnsan kaynaklı enfeksiyonlardan en sık sorumlu tutulan türdür. Ayrıca çeşitli hayvanlarda da bulunur. Üriner infeksiyon ayrıca yara, periton sıvısı, derin pelvik apse, endokardit ve kan kültürlerinden izole edilmiştir. Beta hemolitiktir. % 6,5 sodyum klorür ve pH 9,6 da ürer. Bazı *E.faecalis* suşları jelatinaz ve hyalürinidaz gibi değişik hücre dışı enzimlere sahiptir.

***Enterococcus faecium*:** İnsan ve sığırların gastrointestinal sisteminde bulunur. Yiyecek, sebze ve yemlerden de izole edilmiştir. İki biyotipi vardır. *E.faecalis*'e göre antimikrobiyallere daha dirençlidir. Alfa hemolitiktir, % 6,5 sodyum klorürde ve pH 9,6 da ürer.

***E.durans*:** Süt ve kuru gıdadan izole edilmiştir. İnsan ve hayvanda nadiren bulunmaktadır. Barsak ve üriner sistemden izole edilmiştir. Alfa hemolitiktir, % 6,5 sodyum klorürde ve pH 9,6 da ürer. 50 °C de üremez.

***Enterococcus avium*:** Kuşlar, tavuk, köpek gibi hayvanlardan izole edilmiştir. İnsan gastrointestinal sistem florasının da bir parçasıdır. Apendisit, otit ve beyin

apselerinden izole edilmiştir. Alfa hemolitiktir. % 6,5 sodyum klorürde üremesi zayıftır. H₂S üretir ve pigment oluşturmaz.

***Enterococcus casseliflavus*:** Bitki ve toprakta bulunur. Vankomisine dirençlidir. Fırsatçı insan enfeksiyonları yapar. % 6,5 sodyum klorürde ve pH 9,6 da ürer. Hareketlidir ve sarı pigment oluşturur.

***Enterococcus gallinarum*:** Evcil kuşların gastrointestinal sisteminde ve tavukların bağırsak florasında bulunur. İnsanda hemodiyalizli bir hastadan izole edilmiştir. Vankomisine dirençlidir. Koyun kanlı agarda nonhemolitiktir. At kanlı agarda beta hemoliz yapabilir. % 6,5 sodyum klorürde ve pH 9,6 da ürer. Hareketlidir ve pigment oluşturmaz.

***Enterococcus hirae*:** Domuz ve tavuklarda bulunur. Önceden atipik E.faecium sanılırdı. Hemoliz yapmaz. 10-45°C arasında üreyebilir. % 6,5 sodyum klorürde ve pH 9,6 da ürer (Barrie ve ark., 1990; Chenoweth ve Schaberg, 1990; Eliopoulos ve Eliopoulos, 1990).

II.11.4.5. Viridans (Oral) Streptokoklar

Viridans streptokoklar insanda normal ağız florasının % 30-60' ını oluştururlar. İnsanda enfeksiyon oluşturanları: *Streptococcus mitior*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus milleri*' dir. Son sınıflandırmada *Streptococcus sanguinosus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius* ve *Streptococcus milleri* hepsi birden *Streptococcus milleri* adı altında ve aynı türde toplanmıştır.

Oral streptokoklar değişik oranlarda diş yüzeyi, diş eti aralıkları, diş kökü kanalı, damak, dil ve farinks mukozalarında bulunur. Enfeksiyon yapabilmeleri için bulundukları yerden ayrılmaları ve organizmanın direncinin kırılması gerekir. Kanlı agarda alfa hemoliz yaparlar. Diş kökü enfeksiyonları, subakut bakteriyel endokardit, kronik akciğer, genital bölge, üriner enfeksiyonları, kolanjit, peritonit ve çeşitli abselerin etkeni olarak izole edilebilmektedirler (Bilgehan, 2004; www.mikrobiyoloji.org).

II.11.4.6. Diğer Streptokok Türleri

Diğer Streptokok türleri *Aerococcus*, *Gemella*, *Peptococcus* ve *Peptostreptococcus*’ tur.

***Aerococcus*:** 1-2 µm çapında, dörtlü grup oluşturan koklardır. Gram pozitif ve mikroaerofildir. Katalaz negatif olup kanlı agarda alfa hemoliz yaparlar. *Aerococcus viridans* genellikle saprofit bir bakteridir. Bazı endokardit vakalardan ve hastane ortamından izole edilmiştir (www.mikrobiyoloji.org).

II.12. PSEUDOMONAS CİNSİ HAKKINDA GENEL BİLGİ

Pseudomonadales takımı, *Pseudomonadaceae* familyası içinde yer alan *Pseudomonas* cinsi, Gram negatif, 0,5-1 x 1,5-5,0 µm boyutlarında, sporsuz, kapsülsüz, düz veya hafifçe kıvrılmış çomaklardır. Bir veya birden fazla polar flagellası ile hareket yeteneğine sahiptir, nadiren hareketsizdir. Zorunlu aerobik olan bu cinsin çoğu türü 4,5 ve daha düşük pH’ da gelişemez ve organik gelişim faktörüne ihtiyaç duymaz. En iyi 37 °C’ de ürerler ancak 42 °C’ de üreyebilirler. Katalaz pozitif olup, oksidaz pozitif veya negatif olabilirler. Kemoorganotrofiklerdir. Karbonhidratları fermente etmezler, oksidatif metabolizma ile enerji elde ederler. Proteolitik ve lipolitik aktivite göstermektedirler. Kanlı agarda hemoliz yaparlar. Çoğunluğu beta hemoliz yapmaktadır. Jelatini ve koagüle plazmayı eriterek parçalarlar. Nişastayı hidrolize etmezler. İndol ve H₂S oluşturmazlar. Metil-kırmızısı ve Voges-Proskauer testler negatif sonuç verir. Kazeini hidrolize ederler. Nitratı nitrite indirgerler. Proteaz, amilaz, pektinaz, selülaz ve çok çeşitli enzimleri salgılamaktadırlar. *Pseudomonas* türleri metabolik olarak karbon ve enerji kaynağı olarak basit organik bileşikleri, nitrojen kaynağı olarak da nitrat ve amonyum iyonlarını gibi minimum içerikli bir besiyerinde üreyebilmektedirler. İzolasyonları oldukça basittir. Çoğu türleri besiyeri içerisine yayılıp besiyeri renginin değişmesine neden olan sarı, kırmızı, kahverengi ve yeşil pigmentler üretirler. *Pseudomonas* türleri çok farklı ortamlara uyum sağlayabilir. Doğadaki yüzlerce materyali parçalayarak bioremediasyon işleminde oldukça önemli mikroorganizmalardır. Bu özellikleri nedeniyle tarımda oldukça önemlidirler, topraktaki fazla pestisid yükünü azaltıp temizlemekte kullanılmaktadırlar. Doğada oldukça yaygın olmakla birlikte bazı türleri insanlar, hayvanlar veya bitkiler için patojeniktir. Bazı türleri mantar enfeksiyonlarını tedavi etmekte kullanılan Pseudomisin adlı antibiyotikleri üretmektedirler. *Pseudomonas* cinsi bakteriler kimyasal dezenfektanlara diğer

vejetatif bakterilere oranla oldukça dirençlidirler. Biraz nem olduğu takdirde farklı yerlerde yaşamını sürdürebilir. Örneğin; respiratör, su kapları, banyo, küvet, yatak, çarşaf, tamponlar gibi. Quaterner amonyum bileşiği ve heksaklorofen içeren dezenfektanların içinden izole edilebilirler. Fenol ve glutraldehitli dezenfektanlardan etkilenirler (Talaro ve Talaro, 2002; Brenner, 2005; Baştürk, 2005; Bilgin, 2006; Madigan ve ark., 2009).

Pseudomonas cinsinde en sıklıkla izole edilen insan patojeni, *Pseudomonas aeruginosa*'dır (Bastürk, 2005; Bilgin, 2006). Eskiden beri bazı yaralarda oluşan yeşil-mavimsi irinlerin nedeni bilinmezken, 1882' de Gessard tarafından mavi irin etkeni olarak *Pseudomonas aeruginosa*, izole edilip tanımlanmıştır (Bilgehan 2000). Küçük, bazen ikişerli, bazen zincir oluşturacak gibi fakat çoğu kez tek tek görülen sporsuz, uçlarındaki tek, nadiren iki üç adet flagellaları ile çok hareketli, Gram negatif çomaklardır (Bilgehan, 2004).

Pseudomonas aeruginosa kültürlerinde tatlı üzüm kokusu, 2-aminoasetofenona aittir ve bu bakteriye özgüdür. Yine benzer şekilde piyosiyanin varlığı ve beraberinde 42°C'de üreyebilme sadece bu bakteriye aittir (Vahaboğlu ve Akhan, 2002; Erdem, 1999). Mavi yeşil hücre dışı bir pigment olan piyosiyanini başka hiç bir bakteri oluşturmadığından görülmesinin önemli tanı değeri vardır. Bu pigment yalnız aerop ortamda oluşur (Bilgehan, 2004).

Pseudomonas aeruginosa'nın organik üreme faktörlerine ihtiyacı yoktur, izolasyonu oldukça kolaydır. Her besiyerinde (MacConkey dahil) üreyebilir. Çoğu izolatları β hemolitiktir ve piyosiyanine bağlı olarak yeşil metalik bir parlaklık oluştururlar. *P. aeruginosa*'nın bazı suşları da piyoverdin (sarı), piyorubin (kırmızı), ve piyomelanin (kahverengi) pigmentleri oluşturur. Bu pigmentler varlıkları halinde piyosiyanini maskeleyebilirler. Bazı suşlar renk dışında flüoresan veren bir pigmente sahiptir. Piyoverdin böyle pigmentlerden biridir. Piyoverdin veya fluorescein wood ışığında yeşil floresans verir. *P. aeruginosa*, karbonhidratları fermente etmez, birçok şekeri oksidatif yolla yıkarken, maltozu etkilemez. Nitrattan gaz yaparken, sitrat pozitifdir. Katalaz yapar ve indol oluşturmazlar (Erdem, 1999). Bazıları hücre dışına alginat salgıladıklarından mukoid koloniler yaparlar. % 5 koyun kanlı agarda kolonileri basık, uçları tüylenmiş gibi olup beta hemoliz yaparlar. Kültürlerinde tatlımsı, aromatik meyve olgun üzüm ya da trimetilamin kokusuna benzer özel bir koku oluştururlar (Bilgehan, 2004).

Kanlı agarda beta hemolitik, karakteristik koloni görünümü ile kendine has kokulu, Gram negatif ve çok hareketli bakteriler *Pseudomonas aeruginosa* için kuvvetli şüpheli kolonilerdir (Bilgehan, 2004).

Distile suda çoğalabilecek kadar minimal beslenme maddelerine ihtiyaç göstermesi, sıcaklık da dahil farklı fiziksel şartlara uyum göstermesi, fırsatçı patojen olarak önemli bir role sahip olmasına yol açar (Bilgin, 2006).

Pseudomonas aeruginosa normal olarak toprakta ve suda, normal insanların yaklaşık % 10' unun bağırsaklarında bulunan bir bakteridir. Arada bir tükürük hatta deriden bile izole edilebilmektedir. *Pseudomonas aeruginosa* sabunlara, kurumaya, kuarterner amonyum bileşikleri gibi dezenfektanlara ve ekstrem sıcaklıklara dirençli olduğu için pek çok yerden sıklıkla izole edilebilmektedir. *Pseudomonas aeruginosa* tipik bir fırsatçı patojendir. Hastane patojenleri içinde en sık beşinci ve Gram negatif bakteriler içinde de *Escherichia coli*' den sonra en sık ikinci etken olup bütün nozokomiyal (hastane kaynaklı), bakteriyel ve fungal etkenler içinde % 9 sıklığında bildirilmiştir (Pollack, 1998). *Pseudomonas aeruginosa* özellikle bağışık yanıtı ve savunma sistemleri bozulmuş insanlarda endokardit, pnömoni, sepsis, bakteremi, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, kulak (orta kulak) enfeksiyonları, göz (kornea ülseri, panoftalmi), kemik ve eklem enfeksiyonları, gastrointestinal enfeksiyonlar, solunum sistemi (bronşit, bronkopnömoni), idrar yolları, yanık yarası ve deri-yumuşak doku enfeksiyonlarına, çocuklarda ishallere ve kistik fibrözis gibi çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır (Talaro ve Talaro, 2002; Baştürk, 2005; Bilgin, 2006).

II.13. HAM DERİ VE DERİDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERLE İLGİLİ DAHA ÖNCE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Araştırmacılar hayvan derilerinin yapısal içeriğini araştırarak, derilerde bulunan madde miktarlarının (su, protein, lipid, karbonhidratlar ve kül) hayvanın yaşına, cinsiyetine, cinsine, beslenmesi ve yaşadığı çevrenin koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterebileceğini vurgulamışlardır. Derilerin yapısal bileşiminin sadece türden türe değil aynı hayvanda dahi bölgesel olarak kimyasal yapı bakımından farklılık gösterdiği kanıtlanmıştır (Erençin ve Sağlam, 1969; Kılıçoğlu, 1991).

Derilerin sahip olduğu su veya nem miktarının derilerin korunması ve işlenmesinde önemli olduğu araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Bailey, 1988; Kılıçoğlu, 1991).

Kılıçoğlu (1991) deri yapısındaki yağların deri konservasyonu sırasında antimikrobiyal maddelerin ve deri işlentisinde kullanılan kimyasal maddelerin deri içerisine işlemesine engel olduklarını belirterek bu yağ dokunun deriler yüzölürken deriyi bıçak darbelerinden koruduğu için yüzölme sırasında bırakılıp daha sonraki aşamada deriden uzaklaştırılmasını gerektiğini açıklamıştır. Tancous ve arkadaşları (1986), kesimden sonra derilerin yüzeylerinde bulunan fazla et ve yağ parçalarının kokuşmaya neden olduğunu belirterek temizlenmeleri gerektiğini vurgulamıştır.

Araştırmacılar derilerin yüzölmesi ile tabaklanması arasında geçen sürede ölüm sonrası değişiklikleri en az indirerek saklamak gerektiğini vurgulamışlardır (Schmitt ve Deasy, 1963).

Sverre (1956), derilerin sahip olduğu su miktarının bakteri gelişimine imkan vermemesi için düşürölmesi gerektiğini belirtmiştir. Roddy (1963), derilerin sahip olduğu nemin düşürölmemesi halinde 2 gün içinde oda ısısında bakteriyel zararın meydana getirildiğini, derilerde sırça soyulması, izler ve delikler gibi zararların görölüğünü belirtmiştir. O' Flaherty ve Lollar (1953), derilerin korunmasında kullanılan en önemli kimyasal maddenin tuz olduğunu belirtmişlerdir. Barret (1986), derilerin kurutma yolu ile korunmasına değinmiştir. Araştırmacı kurutmanın geç yapılması durumunda nemin deriden uzaklaştırılamadığı için bakteri gelişimini sağladığını ve derilerde bozulmalar meydana geldiğini belirtmiştir. Araştırmacı çabuk kurutulan derilerde ise güneş yanıkları ve çürükler görölmesi sebebiyle kurutma işleminin uygun bir şekilde yapılmasını gerektiğini vurgulamıştır. Araştırmacılar tuzla korunan derilerde nem miktarının % 48-53 olduğunda derilerin kolayca bozunduklarını belirterek nem miktarının % 40' ın altına düşürölmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Tuzla korunmuş derilerde nem oranı %40'ın altında olduğu zaman yada buzdolabı ısısında depo edildiklerinde iyi koşullarda depolandıkları belirtilmiştir. Nem oranı %48 ve tuz oranı %12 olan derilerin fazla farklılık göstermeksizin 6 ay oda ısısında depolanabilecekleri açıklanmıştır. Bununla birlikte %12-13 tuz içeren derilerin 35-45°C lerde depolandıklarında otolitik değişiklikler gösterdikleri ancak bakterilerin bulunmadığı saptanmıştır. %6-10 lık oranda tuz içeren derilerde 1 ayda otolitik değişiklik ve bakteriyel zarar görölmeyeceği belirtilmiştir (Roddy 1963; O' Flaherty ve Roddy, 1965).

Kallenberger (1984) derilerin uzun süre depolanabilmeleri için sahip oldukları nemin % 48' in altına düşürölmesi gerektiğini açıklamıştır.

Araştırmacılar taze ve nemli derilerin 35-45°C sıcaklıkta hızlıca bozulduklarını, kıl kaybı ve kötü koku oluşumunun bu bozulmanın en önemli göstergeleri olduğunu belirtmişlerdir (Roddy, 1960; Roddy, 1963; O' Flaherty, 1965).

Orlita (2004) derilerde meydana gelen biyolojik bozulmaların özellikle bakterilerin gelişmesine imkan sağlayan yüksek nem oranı gibi koşullar altında gerçekleştiğini belirtmiştir.

Orlita (2004) ham derilerin hayvandan uzaklaştırıldığı gün eğer düşük sıcaklıklarda depolanmaz ise hemen tuzlanması gerektiğini belirtmiştir. Ayrıca 10 °C sıcaklıkta derileri kalite kaybı ve bozulma olmaksızın yalnızca 4 gün saklamanın mümkün olduğunu açıklamıştır. -1 °C sıcaklıkta depolama süresi, tuzlama olmaksızın 3-4 hafta olarak belirtilmiştir. Araştırmacı, derileri korumanın en genel metodunun derileri tuzlamak olduğunu açıklamıştır ve derileri korumak için klor, naftalin, soda, borik asit, amonyum sülfat, karbamik asit tuzları gibi bileşiklerin biosit olarak tuza eklenebileceğini vurgulamıştır.

Shede ve arkadaşları (2008) derilerin kimyasal ya da fiziksel herhangi bir metot ile korunmadığı takdirde kokuşacağını ve kokuşmanın nedeninin de bakteriler olduğunu belirtmişlerdir. Derilerin kokuşmasının, heterojen fibröz matriksin bakteriler tarafından parçalanması nedeniyle olduğu araştırmacılar tarafından açıklanmıştır.

Araştırmacılar, mikroorganizmaların kesimden sonra ölü hayvandan elde edilen deri üzerinde gelişmek için ideal bir ortam bulduklarını vurgulamışlardır (Sverre ve Kaplan, 1956; Schmitt ve Deasy, 1963; Birbir, 1991; Bailey, 2003).

Hochenhull (1971), ham deri, işlenmiş ve bitmiş derilerde meydana gelen zararlardan hem makroorganizmalar hem de mikroorganizmaların sorumlu olduğunu ileri sürmüştür. Diğer araştırmacılar da deri endüstrisinde ham derilerde meydana gelen biyolojik bozulmaların deri işleme sırasında ve ayrıca mamul derilerin depolanmaları sırasında makro ve mikroorganizmaların aktiviteleri sonucu meydana geldiğini desteklemişlerdir (Orlita, 1968a; Orlita, 1993; Zyska, 1997; Zyska, 2000).

Adeleye ve Adebiyi (2003), kesimhanelerde kesim sırasında yüksek sayıda bakteri türü olduğunu ve derilerin bu bakteriler ile kontamine olduğunu kanıtlamışlardır.

Araştırmacılar, derilerin kesim sırasında ve sonrasında önlem alınmadığı takdirde tabaklama işlemine kadar bakterilerle kontamine olduklarını ve bu

bakterilerin deri işlenmeden önce deride oldukça ciddi zararlar oluşturduklarını belirtmişlerdir (Jordon, 1929; Balfour, 1960; Cordon ve ark., 1961; Haines, 1973; Kallenberger ve Coller, 1979; Haines, 1984).

Bakterilerin tabaklanmamış ham derilerde proteinlerin ayrıştırılmasından birincil derecede sorumlu oldukları ve deri yapısına zarar verdikleri belirtilmiştir (Orlita, 2004).

Deri üzerinde bulunan mikroorganizmaların sayısı belli bir eşik değere ulaştıkça bu artış mikroorganizmalarda Quorum sensing adı verilen bir mekanizmayı aktif hale geçirir. Bu mekanizma bakterilerin kendileri tarafından salgılanan sinyal molekülleri sayesinde harekete geçirilir ve bakterilerin çeşitli enzimleri ile ilgili genleri aktif hale geçirmekte rol oynar. *Proteobacteria*' da açıl homoserin laktonları, çeşitli bakterilerde Al-2 (furanon+borat), *Pseudomonas*' larda 4 hidroksi alkil kuinolinler, *Streptomyces*' de gamma-butirolaktonlar, Gram pozitif bakterilerde linear veya siklik oligopeptidler ve mayalarda aromatik alkoller gibi organik maddeler Quorum-sensing sistemini aktif hale geçiren oto sinyal molekülleridir. Bakterilerdeki Quorum-sensing mekanizmasının hücre dışı enzimlerin üretilmesini ve virulansla ilişkili genlerin ifadesini kontrol ettiği bilinmektedir (Madigan ve ark., 2009).

Derilerde bulunan mikroorganizmalar tarafından üretilen proteolitik, lipolitik ve keratinolitik enzimler ile derilerde kötü koku oluşumu, önemli ölçüde sırça zararı, pürüzlü sırça tabakası, sırça soyulması, sırça tabakasında boşluklar, kıl gevşemesi, kıl kaybı ve derilerde delikler görülebilir (Everett ve Cordon, 1956; Cordon ve ark. 1961; Roddy, 1963; O' Flaherty, 1965; O' Flaherty ve Roddy, 1965; Giffie ve ark., 1965; Vivian, 1969; Hendry ve ark., 1970; Tancous, 1971; Venkatesan ve ark., 1977; Haines, 1984; Mitchell, 1987; Elliott, 1988; Kılıçoğlu, 1991; Bailey ve Birbir, 1993; Bailey ve Birbir, 1996; Birbir ve Bailey, 2000; Rangarajan ve ark., 2003).

Pek çok mikroorganizmanın kollajen dokusunu parçalayan ve bitmiş deri kalitesini olumsuz yönde etkileyen kollajenaz (Woods ve ark., 1970) gibi proteolitik enzimleri (McLaughlin ve Rockwell, 1922) ürettikleri bilinmektedir.

Araştırmacılar derilerden *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas punctata caviae*, *Acinetobacter imoffii*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter radioresistans*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Arthrobacter protophormiae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pumilis*, *Brevibacterium*

lutescens, *Citrobacter ferundii*, *Corynebacterium pyogenes*, *Dietzia maris*, *Delftia acidovorans*, *Enterococcus durans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter amnigenus*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Janibacter terrae*, *Jeotgalicoccus psychrophilus*, *Klebsiella pneumonia*, *Kurthia gibsonii*, *Micrococcus roseus*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus morrhuae*, *Pantoea agglomerans*, *Photorhabdus luminescens*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cannabina*, *Pseudomonas fulgida*, *Pseudomonas putida*, *Shewanella putrefaciens*, *Shigella boydii*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus hominis* gibi bakteri türlerini ve *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Bergeyella*, *Brevibacterium*, *Comamonas*, *Corynebacterium*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycoplana*, *Myroides*, *Nocardiosis*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Sarcina*, *Shewanella*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Weeksella* gibi cinsleri izole ettiklerini belirtmişlerdir (Leslie, 1923; Kritzinger ve Van Zyl, 1945; Anderson, 1949; Tancous, 1961; Roddy, 1963; Dempsey, 1969; Woods ve ark., 1970; Woods ve Atkinson, 1970; Venkatesan ve ark., 1970; Champion ve ark., 1970; Hochenhull, 1971; Nandy ve Venkatesan, 1974; Rawlings ve Cooper, 1975; Antychowicz ve Rogulska, 1985; Kuroczkin ve Strzelczyk, 1989; Birbir, 1991; Hanlin ve ark., 1995; Boyd ve arkadaşları, 2003; Lunam ve Weir, 2006; Polkade, 2007; Shede ve ark., 2008).

BÖLÜM III

ÇALIŞMALAR

III.1. ARAŞTIRMA ARAÇLARI

III.1.1 Kullanılan Besiyerleri ve Test Kitleri

Baird-Parker RPF (Rapid Plazma Fibrinojen) Agar, Ceftrimid Agar, D-Coccosel Agar, DNase Agar, Eozin Metilen Mavis (EMB) Agar, Jelatin (Chapman Stone Jelatin) Agar, Kanlı Agar, Plate Count Agar (Kazein Besiyeri), MIL Besiyeri, MR-VP Besiyeri, Nişasta Besiyeri, Nitrat Besiyeri, Nutrient Agar, Nutrient Broth, Simmon Sitrat Agar, Karbonhidrat (Laktoz / Glukoz / D-Mannit/ Galaktoz / Maltoz / Sükroz) Fermentasyon Besiyeri, Üç Şekerli Demirli Agar, İndol Besiyeri, Tween80 Agar, Üre Besiyeri, % 6,5 NaCl Agar, API GP Medium, API CHB/E Medium, API AUX Medium, API Staph Medium, API 20 Strep Test Kiti, API 20 NE Test Kiti, API 20 E Test Kiti, API 50 CH Test Kiti, API STAPH Test Kiti.

III.1.1.1 Baird-Parker RPF (Tavşan Plazma Fibrinojen) Agar (Biomérieux)

R1:

Et peptonu (tavşan/domuz)	15 g
Maya özütü	1 g
Lityum klorür	5 g
Sodyum pirüvat	10 g
Glisin	12 g
Agar	12,5 g

R2:

Tavşan fibrinojeni	3,75 g
Tavşan plazması	25 ml
Tripsin inhibitörü	25 mg
Potasyum tellürit	25 mg
pH	7,6

III.1.1.2 Cetrimid Agar (Merck)

Jelatin pepton	20 g
Magnezyum klorid	1,4 g
Potasyum sülfat	10 g
N-asetil-N,N,N-trimetilamonyumbromid (Cetrimid)	0,3 g
Agar	13 g
Distile su	1000 ml
pH	7,2
Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir.	

III.1.1.3 D-Coccosel Agar (Biomerieux)

Kazein pepton	17 g
Et pepton	3 g
Maya özütü	5 g
Safra	10 g
Sodyum klorid	5 g
Sodyum sitrat	1 g
Eskülin	1 g
Ferrik amonyum sitrat	0,5 g
Sodyum azid	0,25 g
Agar	13,5 g
Distile su	1000 ml
pH	7,1
Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir.	

III.1.1.4 DNase Agar (Oxoid)

Triptoz	20 g
Deoksiribonükleik asit	2 g
Sodyum klorid	5 g
Agar	12 g
pH	7,3
Distile su	1000 ml
Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir.	

III.1.1.5 Eozin Metilen Mavisi (EMB) Agar (Merck)

Pepton	10 g
Dipotasyum hidrojen fosfat	2 g
Laktoz	5 g
Sükroz	5 g
Eosin Y	0,4 g
Metilen mavisi	0,07 g
Agar	13,5 g
Distile su	1000 ml

Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir.

III.1.1.6 Jelatin Besiyeri (Chapman Stone Jelatin Agar)

Tripton	10 g
Maya özütü	2,5 g
D-mannit	10 g
K ₂ HPO ₄	5 g
Jelatin	30 g
Amonyum sülfat	75 g
Sodyum hidroksit (% 10)	6 cc
Sodyum klorid	5 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0

Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir.

III.1.1.7 Kanlı Agar (Merck)

Pepton	15 g
Soya enzimatik hidrolizati	5 g
Sodyum klorür	5 g
Agar	15 g
Distile su	50 ml
pH	7,3

Otoklavda 121°C’ de 15 dakika steril edilmiştir. Besiyeri 50 °C’ye soğutulduktan sonra içerisine 70 ml defibrine steril koyun kanı ilave edilerek steril petrilere dökülmüştür (Bilgehan, 2004).

III.1.1.8 Plate Count Agar (Kazein) Besiyeri

Standart Plate Count Agar	1000 ml
Yağsız Steril Süt	100 ml

Standart Plate Count Agar (Apha-Oxoid)

Maya özütü	2,5 g
Pankreatik kazein	5 g
Glukoz	1 g
Agar	15 g
pH	7,0

Otoklavda 121°C’ de 15 dakika steril edilmiştir.

III.1.1.9 MIL Besiyeri (Oxoid)

Pepton	10 g
Tripton	10 g
Maya özütü	3 g
L-Lisin hidroklorid	10 g
Dekstroz	1 g
Ferrik amonyum sitrat	0,5 g
Brom krezol moru	0,02 g
Agar	2 g
pH	7,2

Otoklavda 121°C’ de 15 dakika steril edilmiştir.

III.1.1.10 MR-VP Besiyeri (Oxoid)

Pepton	5 g
Glukoz	5 g
Fosfat Tamponu	5 g
Distile su	1000 ml

pH 7,5

Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir.

III.1.1.11 Nişasta Besiyeri

CaCl ₂ .6H ₂ O	0,2 g
KCl	2 g
Nişasta	30 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	20 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0

Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir.

III.1.1.12 Nitrat Besiyeri

Pepton	5 g
Et özütü	3 g
Potasyum nitrat	1 g
Distile su	1000 ml
pH	7,2

Nitrat besiyeri hazırlandıktan sonra tüplere dağıtılarak ve Durham tüpleri içlerinde hava kalmayacak bir şekilde yerleştirildikten sonra otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir (Sneath, 1986).

III.1.1.13 Nutrient Agar (Merck)

Pepton (Et)	5 g
Et özütü	3 g
Agar	12 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0

Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir.

III.1.1.14 Nutrient Broth (Merck)

Et özütü	10 g
Pepton	10 g

Sodyum klorür	5 g
Distile su	1000 ml
pH	7

Broth besiyeri hazırlandıktan sonra tüplere dağıtılarak otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir.

III.1.1.15 Simmon Sitrat Agar (Oxoid)

Magnezyum sülfat	0,2 g
Amonyum dihidrojen fosfat	0,2 g
Sodyum amonyum fosfat	0,8 g
Sodyum sitrat (tribasic)	2 g
Sodyum klorid	5 g
Bromtimol mavisi	0,08 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7

Besiyeri hazırlandıktan sonra tüplere dağıtılarak otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan sonra besiyeri katılaşıncaya kadar tüpler yatık durumda tutulmuştur.

III.1.1.16 Karbonhidrat (Laktoz / Glukoz / D-Mannit / Sükroz / Maltoz / Galaktoz) Fermentasyon Besiyeri

Et özütü	1 g
Trypticase proteaz pepton	10 g
Sodyum klorür	5 g
Distile su	1000 ml
Fenol kırmızısı	0,025 g
Karbonhidrat	% 1

Besiyerinin pH'ı 7,9' a ayarlandıktan sonra fenol kırmızısı eklenmiştir. Karbonhidrat hariç olarak hazırlanan broth besiyeri tüplere 9 ml dağıtılarak Durham tüpleri içlerinde hava kalmayacak şekilde yerleştirildikten sonra otoklavda 121° C'de 15 dakika steril edilmiştir. Karbonhidratların (Laktoz/Glukoz/D-Mannit/Galaktoz/ Maltoz/Sükroz) %10 (g/l) eriyikleri 0,25 mm çapında nitroselüloz membran filtreden geçirilerek 1 ml olarak tüplere eklenmiştir.

III.1.1.17 Üç Şekerli Demirli Agar (Merck)

Kazein peptonu	15 g
Et peptonu	5 g
Et özütü	3 g
Maya özütü	3 g
Sodyum klorid	5 g
Laktoz	10 g
Sükroz	10 g
D (+) glukoz	1 g
Amonyum demir (III) sitrat	0,5 g
Sodyum tiyosülfat	0,5 g
Fenol kırmızısı	0,024 g
Agar	12 g
Distile su	1000 ml
pH	7,4

Besiyeri hazırlandıktan sonra tüplere dağıtılarak otoklavda 121°C’ de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan sonra besiyeri katılaşıncaya kadar tüpler yatık durumda tutulmuştur.

III.1.1.18 İndol Besiyeri (Oxoid)

Pepton	2 g
Sodyum klorid	0,5 g
Distile su	1000 ml
pH	7,2

Otoklavda 121°C’ de 15 dakika steril edilmiştir (Bilgehan, 2004).

III.1.1.19 Tween 80 Agar

Pepton	10 g
NaCl (sodyum klorür)	5 g
CaCl ₂ (kalsiyum klorür)	0,1 g
Tween	10 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml
pH	7,0

Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir (Beşe, 1974).

III.1.1.20 Üre Besiyeri (Difco)

İki bölüm halinde hazırlanmıştır.

a) Üre baz eriyiği

Pepton	1 g
Dekstroz	1 g
Sodyum klorid	5 g
KH ₂ PO ₄	2 g
Üre	20 g
Fenol kırmızısı	12 mg
Distile su	100 ml
pH	6,8

b) Agar eriyiği

Agar	15 g
Distile su	900 ml

Maddeler 100 ml distile su içerisinde iyice eritildikten sonra 0,25 µm çapındaki nitroselüloz membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir. 15 g agar distile su içerisinde eritilerek 121 °C' de 15 dakika steril edilmiştir. 50 °C' ye soğutulduktan sonra a eriyiği steril koşullar altında b eriyiği ile karıştırılarak tüplere dağıtılmış ve yatık durumda tüpler katılaştırılmıştır (Bilgehan, 2004).

III.1.1.21 % 6,5 NaCl Agar

Sodyum klorür	65 g
Agar	20 g
Distile su	1000 ml

Otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir.

III.1.1.22 API GP Medium

L-sistin	0,5 g
Trypton	20 g
Sodyum klorür	5 g
Sodyum sülfid	0,5 g
Fenol kırmızısı	0,17 g

Distile su	1000 ml
pH	7,4

III.1.1.23 API CHB/E Medium

Amonyum sülfat	2 g
Maya özütü	0,5 g
Trypton	1 g
Disodyum fosfat	3,22 g
Monopotasylum fosfat	0,12 g
Eser elementler	10 ml
Fenol kırmızısı	0,17 g
Distile su	1000 ml
pH	7,4

III.1.1.24 API AUX Medium

Amonyum sülfat	2 g
Vitamin solüsyonu	10,5 ml
Eser elementler	10 ml
Monosodyum fosfat	6,24 g
Potasyum klorür	1,5 g
Agar	1,5 g
Distile su	1000 ml
pH	7

III.1.1.25 API Staph Medium

Maya ekstresi	0,5 g
Baktopepton	10 g
NaCl	5 g
Eser elementler	10 ml
Distile su	1000 ml
pH	7

III.1.2 Kullanılan Çözeltiler ve Boyalar

%0,85 Steril fizyolojik tuzlu su çözeltisi, kristal viyole çözeltisi, lugol çözeltisi, %95'lik etil alkol çözeltisi, safranin çözeltisi, malaşit yeşili, Barrit ayırıcı, Kovaks ayırıcı, metil-kırmızısı ayırıcı, oksidaz test ayırıcı, nitrit test ayırıcı, katalaz test ayırıcı, Mc Farland bulanıklık standardı çözeltileri, NIT 1 + NIT 2, James reaktifi, VP 1 + VP 2, ZYM A + ZYM B, NIN, TDA test ayıraçları.

III.1.2.1 % 0.85 Steril Fizyolojik Tuzlu Su Çözeltisi

NaCl (sodyum klorür)	8,5 g
Distile su	1000 ml

III.1.2.2 Mc Farland Bulanıklık Standardı Çözeltileri

a. 0.5 No' lu Mc Farland bulanıklık standardı

0.18 M H ₂ SO ₄	9,95 ml
0.048 M BaCl ₂	0,05 ml

(Benson, 2001).

b. 1 No' lu Mc Farland bulanıklık standardı

0.18 M H ₂ SO ₄	9,9 ml
0.048 M BaCl ₂	0,1 ml

(Benson, 2001).

c. 2 No' lu Mc Farland bulanıklık standardı

0.18 M H ₂ SO ₄	9,8 ml
0.048 M BaCl ₂	0,2 ml

(Benson, 2001).

d. 4 No' lu Mc Farland bulanıklık standardı

0.18 M H ₂ SO ₄	9,6 ml
0.048 M BaCl ₂	0,4 ml

(Benson, 2001).

III.1.2.3 Kristal Viyole Çözeltisi (Hucker Modification)

Çözelti A

Kristal viyole (% 85)	2 g
Etil alkol (% 95)	20 ml

Çözelti B

Amonyum okzalat	0,8 g
Distile su	80 ml

A çözeltisi B çözeltisi üzerine eklenmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

III.1.2.4 Lugol Çözeltisi (Gram' ın İyot Çözeltisi)

İyot kristalleri	1 g
Potasyum iyodür	2 g
Distile su	300 ml

(Harley ve Prescott, 2002)

III.1.2.5 % 95' lik Etil Alkol Çözeltisi

Konsantre Etil alkol	95 ml
Distile su	100 ml

III.1.2.6 Safranin Çözeltisi

Safranin	2,5 g
% 95'lik etil alkol	100 ml
Distile su	90 ml

Stok safranin solüsyonu 1:10 oranında distile su ile sulandırılmıştır (Harley ve Prescott, 2002)

III.1.2.7 Malaşit Yeşili Çözeltisi

Malaşit yeşili okzalat	5 g
Distile su	100 ml

(Harley ve Prescott, 2002).

III.1.2.8 Barrit Ayıracı (Voges-Proskauer testi ayıracı)

Solüsyon A

α -naftol	6 g
% 95'lik etil alkol	100 ml

Solüsyon B

Potasyum hidroksit	40 g
Distile su	100 ml

III.1.2.9 Kovaks Ayıracı (İndol testi ayıracı)

N-amil veya izoamil alkol	150 ml
Hidroklorik asit (HCl)	50 ml
<i>p</i> -dimetilaminobenzaldehid	10 g

III.1.2.10 Metil-Kırmızısı Ayıracı

Metil-kırmızısı	0,1 g
% 95'lik etil alkol	100 ml

Boya alkol içerisinde çözülerek distile su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır (Harley ve Prescott, 2002).

III.1.2.11 Oksidaz Test Ayıracı

dimetil- <i>p</i> -fenilendiamin hidroklorid	1 g
Distile su	100 ml

(Harley ve Prescott, 2002).

III.1.2.12 Nitrit Test Ayıracı

Solüsyon A

Sülfanilik asit	8,0 g
Asetik asit (5 N)	1000 ml

(1 kısım glacial asetik asit: 2,5 kısım distile su)

Solüsyon B

N, N,-dimetil-1-naftilamin	6,0 ml
Asetik asit (5 N)	1000 ml

(Harley ve Prescott, 2002).

III.1.2.13 Katalaz Test Ayıracı

Hidrojen peroksit	3 ml
Distile su	100 ml

III.1.2.14 NIT 1 + NIT 2 Test Ayıracı (API 20 NE, API 20 E ve API Staph)

NIT 1

Sülfanilik asit	0,4 g
Asetik asit	30 g
H ₂ O	70 ml

NIT 2

N-N-dimetil-1 naftilamin	0,6 g
Asetik asit	30 g
H ₂ O	70 ml

III.1.2.15 JAMES Ayıracı (API 20 NE ve API 20 E)

R1

HCl	(1 N)
-----	-------

R2

Compound J 2183 (confidential)	0,66 g
--------------------------------	--------

III.1.2.16 VP1 + VP2 Ayıracı (API Strep, API 20 E ve API Staph)

VP 1 (% 40 KOH)

Potasyum Hidroksit	40 g
H ₂ O	100 ml

VP 2 (α -naftol: C₂H₅OH)

α -naftol	6 g
Etanol	100 ml

III.1.2.17 ZYM A Ayıracı

Tris (Tris-hidroksimetil amino metan)	25 g
HCl (% 37)	11 ml
Sodyum lauril sülfat	10 g
H ₂ O	100 ml

III.1.2.18 ZYM B Ayıracı

Fast Blue BB (aktif içerik)	0,12 g
Metanol	40 ml
DMSO (dimetilsülfoksit)	60 ml

III.1.2.19 NIN Ayıracı

Ninhydrin	7 g
Metanol	40 ml
DMSO (dimetil sülfoksit)	60 ml

III.1.2.20 TDA Ayıracı

Ferrik klorid (iron content)	3,4 g
H ₂ O	100 ml

III.1.3 Kullanılan Araçlar

pH metre (Sartorius Professional Meter PT-10 P, Goettingen, Germany), vorteks tüp karıştırıcısı (Fisons Whirlimixer), hassas terazi (Sartorius Analytic), otoklav (HIRAYAMA), pasteur fırını (Kermanlar), distile su cihazı (GFL), buzdolabı (Arçelik), otomatik pipetler (Volac Digital Micropipeter/England), etüv (Nüve EN500), derin dondurucu (Arçelik), manyetik ısıtıcı ve karıştırıcı (Heidolph MR 3001, WireStir MSH-20A), mikroskop (Olympus), UV steril kabin (Tezsan Class II tip), çalkalamalı etüv (Edmund Bühler).

III.2 YAPILAN ÇALIŞMALAR

Çalışmamızın aşamaları aşağıdaki şekilde kategorize edilmiştir:

1. Farklı Tabakhanelerden Kuru Tuz Serpme Yöntemi ile Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Toplanması
2. Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinin pH'larının Ölçümü
3. Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinde Nem Tayininin Yapılması
4. Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinde Kül Tayininin Yapılması
5. Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinin Tuz Doygunluklarının Belirlenmesi
6. Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinde Toplam Mezofil Bakteri Sayılarının Belirlenmesi
7. Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Tuz Kristali Bulunmayan Bölgelerinde Toplam Proteolitik ve Lipolitik Mezofil Bakteri Sayılarının Belirlenmesi
8. Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Tuz Kristali Bulunmayan Bölgelerinden Mezofil Bakterilerin İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmalarının Yapılması
9. Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinden İzole Edilerek Tanımlanan Mezofil Bakterilerin Proteaz ve Lipaz Aktivitelerinin Belirlenmesi
10. Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan bölgelerinden İzole Edilen mezofil bakterilerin API test yöntemi ile doğrulanması.

Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Toplanması



**Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin pH' larının ölçülmesi, Nem, Kül
Tayinlerinin Yapılması ve Tuz Doygunluklarının Belirlenmesi**



**Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinde Mezofil, Proteolitik ve Lipolitik Mezofil
Bakteri Sayılarının Belirlenmesi**



**Örneklerin Tuz Olan ve Tuz Olmayan Kısımlarından Mezofil Bakterilerin
İzolasyonu ve Saflaştırılması**



Gram Boyama



Spor Boyama



İzole Edilen Bakterilerin Geleneksel Yöntem ile İdentifikasyonu

(Oksidaz Testi, Katalaz Testi, İndol Testi, Metil Red Testi, Voges-Proskauer Testi, Sitrat Kullanımı Testi, Üç Şekerli Demirli Agar Testi, Üreaz Testi, MIL (Hareket-İndol-Lizin Deaminaz ve Dekarboksilaz) Testi, Nişasta Hidrolizi, DNase Testi, Karbonhidrat Fermentasyon (Laktoz/Glukoz/D-Mannit/Galaktoz/Maltoz/Sükroz) Testleri, %6,5 NaCl'de Gelişim Testi, Nitratın İndirgenmesi ve Nitrattan Gaz Oluşumu Testi, Kazeinaz Testi, Lipaz Testi, Jelatinaz Testi, Hemolizin Testi)



İzole Edilen Bakterilerin API Test Yöntemi ile Doğrulanmaları

Şekil. Çalışma basamakları şematik görünümü.

III.2.1 Farklı Tabakhanelerden Kuru Tuz Serpme Yöntemi ile Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Toplanması

Çalışmamızda kullanılan tuzlanmış ham deri örnekleri Gebze Deri Organize Sanayindeki farklı tabakhanelerden sağlanmıştır. Tabakhanede tutulan derilerin depolanma süreleri, nereden geldikleri ve hayvanın hangi kısmından alındıkları not edilmiştir. Bu örneklerin sıcaklık ölçümleri tabakhanede yapılmıştır. Ham deri örnekleri aseptik şartlarda alınarak steril poşetlere konulmuş ve buz kutularında buz aküleri ile soğuk tutularak en kısa zamanda laboratuara getirilmiştir. Tuzlanmış derilerin tuz olan ve tuz olmayan bölgelerinden ayrı ayrı örnekler alınarak en kısa zamanda aşağıdaki testler yapılmıştır.

III.2.2 Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinin pH' larının Ölçümü

Tuzlanmış ham derilerden 5 gram deri örneği alınarak ayrı ayrı erlenlere konulmuştur. Bu erlenlerin üzerlerine 20°C'deki steril distile sudan 100 ml eklenerek 1 saat süre ile çalkalayıcıda çalkalanmış ve standart pH metrede pH'ları ölçülmüştür (Türk Standartları, 1984; Birbir, 1991).

III.2.3 Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinde Nem Tayininin Yapılması

Tuzlanmış ham derilerden ayrı ayrı 3 g alınıp vezin kaplara kapağı açık bir şekilde konularak 102°C de 6 saat pasteur fırınında kurutulmuştur. Daha sonra vezin kaplarının kapağı kapatılarak deriler soğuması için 30 dakika desikatörde bırakılmış ve soğuma işleminden sonra tartımları yapılmıştır. Tekrar bir saatlik kurutmadan sonra ikinci bir tartım alınmıştır. İkinci tartım ile birinci tartım arasındaki 3 mg'dan az bir fark elde edilinceye kadar kurutma işlemine devam edilmiştir. Toplam kurutma işlemi süresinin 8 saati geçmemesine özen gösterilmiştir. Bu işlemler sonucunda derilerdeki uçucu madde miktarları hesaplanmıştır (Türk Standartları, 1985; Birbir, 1991).

$$\% \text{ Uçucu madde} = [(M_1 - M_2) / M_1] \times 100$$

M_1 = Kurutmadan önce ölçülen deri ağırlığı (g)

M_2 = Kurutmadan sonra ölçülen deri ağırlığı (g)

III.2.4 Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinde Kül Tayininin Yapılması

Tuzlanmış ham derilerden 3'er g örnek alınarak ayrı ayrı porselen kroze konulmuş 600 °C'de kül fırınında 6 saat süreyle yakılmıştır ve % kül oranı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (O'Flaherty ve Roddy, 1965; Birbir, 1991).

$$\% \text{ Kül} = (M_2 / M_1) \times 100$$

M_1 = Kurutmadan önceki deri örneği ağırlığı (g)

M_2 = Deri yakıldıktan sonra kalan kül maddesi ağırlığı (g)

III.2.5 Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinin Tuz Doygunluklarının Belirlenmesi

Tuzlanmış derilerin tuz olan ve olmayan bölgelerinin tuz doyumluğu, derilerin kül ve nem tayinlerinin sonuçlarına dayanılarak ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Birbir, 1991; Didato et al., 1999).

$$\% \text{ Tuz Doyumluğu} = [(\% \text{ Total Kül} \times 100 / \% \text{ Nem} \times 100) / 0,359]$$

III.2.6 Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinde Toplam Mezofil Bakteri Sayılarının Belirlenmesi

% 0,85' lik fizyolojik tuzlu su çözeltisi erlenlere 90 ml olacak şekilde konulmuş ve otoklavda 121°C' de 15 dakika steril edilmiştir. Tuzlanmış ham deri örneklerinin tuz olan ve olmayan kısımlarından kesilen 10 gramlık deri parçaları ayrı ayrı bu süspansiyonlar içerisine konularak 25°C'de 100 rpm'de yarım saat çalkalamalı etüvde çalkalanmıştır. Stok deri süspansiyonlarından 0,1 ml alınarak içlerinde 9,9 ml steril fizyolojik tuzlu su bulunan tüplere eklenmiştir ve 10^{-2} , 10^{-4} ve 10^{-6} 'lık seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Daha sonra hem direkt solüsyonlardan hem de her bir dilüsyondan 0,1 ml alınarak çift tekrarlı olmak üzere Nutrient Agar besiyerine plağa yayma yöntemi ile ekimler yapılmıştır ve petriler 37°C'de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda besiyerlerinde üreyen koloniler sayılmıştır. Elde edilen sayılar dilüsyon faktörü ile çarpılarak ham deri örneğinin 1 gramında bulunan mezofil bakteri sayısı hesaplanmıştır (Harley ve Prescott 2002; Rodriguez ve ark., 1998).

III.2.7 Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Tuz Kristali Bulunmayan Bölgelerinde Toplam Proteolitik ve Lipolitik Mezofil Bakteri Sayılarının Belirlenmesi

Tuzlanmış ham derilerin tuz olan ve tuz olmayan bölgelerinden hazırlanan stok deri süspansiyonlarından hem direkt olarak, hem de 10^{-2} , 10^{-4} ve 10^{-6} 'lık seri dilüsyonların her birinden 0,1 ml alınarak proteolitik mezofil bakteriler için kazeinli Plate Count Agar besiyerine, lipolitik mezofil bakteriler için Tween 80 Agar besiyerine plağa yayma yöntemi ile ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan petripler 37°C 'de 48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda kolonilerin etrafında belirgin zonların görülmesi pozitif proteolitik ve lipolitik aktivite olarak değerlendirilmiş ve bu koloniler sayılmıştır. Elde edilen sayılar dilüsyon faktörü ile çarpılarak ham deri örneğinin 1 gramında bulunan mezofil proteolitik ve lipolitik bakteri sayısı hesaplanmıştır (Harley ve Prescott, 2002; Gonzales ve ark., 1978).

III.2.8 Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Tuz Kristali Bulunmayan Bölgelerinden Mezofil Bakterilerin İzolasyon ve İdentifikasyon Çalışmalarının Yapılması

III.2.8.1 *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait Türlerin İzolasyonu ve Tanımlanması

Stok deri süspansiyonlarından hem direkt olarak hem de 10^{-2} , 10^{-4} ve 10^{-6} 'lık seri dilüsyonların her birinden 0,1 ml alınarak Eozin Metilen Mavis (EMB) Agara plağa yayma yöntemi ile çift tekrarlı ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan petripler 37°C 'de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kolonilerin morfolojileri incelenmiş ve farklı görünümde olan kolonilerden tekrar EMB Agara plağa çizim yöntemi ile ekimler yapılmıştır 37°C 'de 6-24 saat etüvde inkübe edilmiştir. Bu işlem saf kültürler elde edilene kadar tekrarlanmıştır. Daha sonra saf kültürlerin Gram boyamaları yapılarak Gram negatif çomaklar görüldüğü takdirde oksidaz ve katalaz testleri yapılmıştır. Oksidaz negatif ve katalaz pozitif olan kolonilere çeşitli biyokimyasal testler [hareket incelemesi, indol üretimi, metil kırmızısı ve Voges-Proskauer testleri, sitrat kullanımı, üç şekerli demirli agar testi, nişasta ve eskülin hidrolizi, üreaz, DNase, jelatinaz, lipaz, kazeinaz, MIL (Motility-Indol-Lizin) testleri, nitratın nitrite indirgenmesi ve nitrattan gaz oluşumu, laktoz-glukoz-D-mannit-maltoz-sükroz-galaktoz fermentasyon testleri] uygulanmıştır. Bu

testlerin sonuçlarına bakılarak incelenen bakteri tanımlanmıştır (Madigan ve ark., 2009; Brenner, 2005; Bilgehan, 2004).

III.2.8.2 *Bacillus* Türlerinin İzolasyon ve Tanımlanması

Stok deri süspansiyonlarından hem direkt olarak hem de 10^{-2} , 10^{-4} ve 10^{-6} 'lık seri dilüsyonların her birinden 0,1 ml alınarak Nutrient Agara plağa yayma yöntemi ile çift tekrarlı ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 37°C 'de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kolonilerin morfolojileri incelenmiş ve farklı görünümde olan kolonilerden tekrar Nutrient Agara plağa çizim yöntemi ile ekimler yapılmıştır ve bu işlem saf kültürler elde edilene kadar tekrarlanmıştır. Daha sonra saf kültürlerin Gram boyamaları yapılarak Gram pozitif çomaklar görüldükten sonra saf kültürlerin endospor boyamaları yapılmıştır. *Bacillus* cinsine ait türlerin tanımlanmasında endospor boyama ile sporangiaların şişkin olup olmaması, endosporların şekli (oval veya yuvarlak) ve pozisyonu (merkezde veya uçta) incelenmiştir. Sporlu yapı görüldüğü takdirde hareket incelemesi, Voges-Proskauer ve sitrat kullanım testleri, katalaz, lipaz, jelatinaz, nitratın nitrite indirgenmesi ve nitrattan gaz oluşumu testleri, laktoz-glukoz-D-mannit-maltoz-sükroz-galaktoz fermentasyon testleri, kazein ve nişasta hidrolizi testleri yapılmıştır. Bu testlerin sonuçlarına bakılarak incelenen bakteri tanımlanmıştır (Madigan ve ark., 2009; Sneath, 1986).

III.2.8.2.1 Endospor Boyama (Schaeffer-Fulton Metodu)

Temiz bir lam üzerine steril uçlu otomatik bir pipet ile bir damla distile su damlatılmıştır. Steril öze ile 24 saatlik bakteri kolonisinden alınarak lam yüzeyine ince bir tabaka oluşturacak şekilde yayılmış ve havada kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan lamın alt yüzü bek alevinden birkaç kez geçirilerek bakteriler lam üzerine fikse edilmiştir. Lamın üzerine % 5'lik malaşit yeşili dökülmüştür. Bu lam alev üzerinde boyadan buhar çıkıncaya dek beş dakika tutulmuş ve boya buharlaştıkça preparata yeniden eklenmiştir. Süre sonunda distile su ile tüm yüzey yıkanmıştır. Daha sonra yıkanan lamın üzerine safranin dökülerek 60-90 sn bekletilmiş ve distile su ile yıkanmıştır. Yıkanan preparat havada kurutulmuştur. Boyanan preparata immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta incelenmiştir. İnceleme sonunda hücrelerde spor yapısı olup olmadığı araştırılmıştır. Sporlar malaşit yeşili nedeniyle

yeşil renkte, vejetatif hücreler ise safranin nedeniyle pembe renkte görülmüştür. (Harley ve Prescott, 2002)

III.2.8.3 Stafilocokların İzolasyonu ve Tanımlanması

Stok deri süspansiyonlarından hem direkt olarak hem de 10^{-2} , 10^{-4} ve 10^{-6} 'lık seri dilüsyonların her birinden 0,1 ml alınarak Stafilocoklar için seçici bir besiyeri olan Baird-Parker Agara plağa yayma yöntemi ile çift tekrarlı ekimler yapılmıştır. Ekimi yapılan petriyerler 37°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra besiyerinde üreyen bakterilerin koloni morfolojileri incelenmiş ve siyah, parlak, konveks, 1,5 mm çapında, 2-5 mm genişliğinde açık bir zon (48 saat inkübasyondan sonra zon içerisinde opak halkalar oluşabilir) tarafından çevrelenen beyaz ve dar bir sınır şeridinde sahip tipik koloniler şüpheli *Staphylococcus aureus* olarak kabul edilmiştir. Aynı besiyeri üzerinde görünümü siyah, parlak, düzensiz şekilde ve 24 saatten sonra koloniler etrafında opak zon oluşturan koloniler şüpheli *S. epidermidis* olarak kabul edilmiştir. Aynı besiyeri üzerinde etraflarında şeffaf zon olmayan, kahverenginden siyah renge doğru olan çok küçük koloniler ise şüpheli Mikrokoklar olarak kabul edilmiştir (Merck Microbiology Manual, 2008). Daha sonra bu şüpheli kolonilerden Baird-Parker Agara plağa çizim yöntemi ile ekimler yapılmış ve bu işlem saf kültürler elde edilene kadar tekrarlanmıştır. Saf kültürlerin hareket incelemesi, oksidaz, katalaz, Voges-Proskauer, DNase, üreaz, jelatinaz, laktoz-glukoz-D-mannit-maltoz-sükroz-galaktoz fermentasyon testleri, nitratın nitrite indirgenmesi ve nitrattan gaz oluşumu testi, hemolizin ve lipaz testleri yapılmıştır. Bu testlerin sonuçlarına bakılarak incelenen bakteri tanımlanmıştır (Madigan ve ark., 2009; Schleifer, 1986; Bilgehan, 2004).

III.2.8.4 Streptokokların İzolasyonu ve Tanımlanması

Stok deri süspansiyonlarından hem direkt olarak hem de 10^{-2} , 10^{-4} ve 10^{-6} 'lık seri dilüsyonların her birinden 0,1 ml alınarak Streptokoklar için seçici bir besiyeri olan D-Coccosel Agara plağa yayma yöntemi ile çift tekrarlı ekimler yapılmıştır. Ekimi yapılan petriyerler 37°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra besiyerinde üreyen bakterilerin koloni morfolojileri incelenmiş ve renksiz veya gri renkte olup siyah bir halo (eskülin hidrolizinden dolayı) oluşturan koloniler şüpheli Enterokok ve D-grubu Streptokok olarak kabul edilmiştir (bioMérieux D-Coccosel Package Insert Ref 51 025). Daha sonra bu şüpheli kolonilerden D-Coccosel Agara plağa çizim

yöntemi ile ekimler yapılmış ve bu işlem saf kültürler elde edilene kadar tekrarlanmıştır. Saf kültürlerin Gram boyamaları yapılmış, Gram pozitif koklar görüldüğü takdirde katalaz testi yapılmıştır. Gram pozitif koklar içerisinde katalaz testi negatif olan kolonilerin Streptokok olduğu düşünülmüştür. Streptokok olduğu düşünülen kolonilerin % 6,5 NaCl besiyerinde gelişme özelliklerine bakılmış ve üreme gösteren koloniler şüpheli B Grubu Streptokok (*S. agalactiae*) ve D grubu Streptokok Enterokok (*S. faecalis*, *S. faecium* ve *S. durans* bu gruptandır) olarak kabul edilmiştir. % 6,5 NaCl besiyerinde üreme göstermeyen koloniler ise şüpheli D grubu non-Enterokok (*S. bovis* ve *S. equinus* bu gruptandır) kabul edilmiştir. Şüphelenilen kolonilerin ayrıntılı olarak tanımlanmaları amacıyla Kanlı Agar besiyerine plağa çizim yöntemi ile ekimleri yapılmıştır ve ekimi yapılan petriler 35°C’de 24 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası kolonilerin morfolojileri ve hemoliz özellikleri incelenmiştir. Kanlı agarda büyük, gri, parlak, buğulu görünümde α , β hemolitik veya non hemolitik olan koloniler şüpheli Enterokok (D grubu Streptokok); küçük, grimsi, hafif bulanık görünümde kabarık ve etraflarında geniş bir β hemoliz zonu oluşturan koloniler şüpheli *Streptococcus pyogenes* (A Grubu Streptokok); A grubu Streptokoklardan daha büyük, morumsu ve etraflarında dar bir β hemoliz zonu oluşturan koloniler şüpheli *S. agalactiae* (B grubu Streptokok) olarak kabul edilmiştir (Bilgehan, 2004; Madigan and Martinko, 2009; Schleifer, 1986). Daha sonra şüphelenilen saf kültürlerle hareket incelemesi, eskülin hidrolizi testi, hemolizin testi, Voges-Proskauer testi, laktoz-glukoz-D-mannit-maltoz-sükroz-galaktoz fermentasyon testleri, hemolizin testi, % 6,5 NaCl’de gelişim testi, nişasta hidrolizi, nitratın nitrite indirgenmesi ve nitrattan gaz oluşumu testi, lipaz ve jelatinaz testleri yapılmıştır.

III.2.8.5 *Pseudomonas* Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması

Stok deri süspansiyonlarından hem direkt olarak hem de 10^{-2} , 10^{-4} ve 10^{-6} ’lık seri dilüsyonların her birinden *Pseudomonas* için seçici bir besiyeri olan Cetrimid Agara plağa yayma yöntemi ile çift tekrarlı ekimler yapılmıştır. Ekimi yapılan petriler 35°C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında bakterilerin koloni morfolojileri incelenmiş ve sarı, açık yeşil-mavi renk pigment oluşturan kolonilerden Cetrimid agara plağa çizim yöntemi ile ekimler yapılmıştır ve bu işlem saf kültürler elde edilene kadar tekrarlanmıştır. Saf kültürlerin Gram boyamaları ve hareket muayeneleri yapılmış ve Gram negatif hareketli çomaklar görüldüğü takdirde

oksidaz ve katalaz testleri yapılmıştır. Oksidaz ve katalaz pozitif olan kolonilerin tanımlanması için hareket incelemesi, indol oluşumu, metil kırmızısı, Voges-Proskauer, sitrat testleri, üç şekerli demirli agar (Triple Sugar Iron Agar) testi, nitrat testi, MIL testi, laktoz-glukoz-D-mannit-maltoz-sükroz-galaktoz fermentasyon testleri, lipaz, jelatin hidrolizi ve nişasta hidrolizi testi yapılmıştır (Madigan and Martinko, 2009; Palleroni, 1984; Bilgehan, 2004).

III.2.8.6 Bakterilerin Tanımlanmasında Kullanılan Testler

III.2.8.6.1 Hareket İncelemesi

Saf kültürlerin hareket incelemesi asılı damla metodu ile yapılmıştır. Saf kültürlerin 24 saatlik sıvı kültürlerinden 1 damla alınarak lamelin ortasına konmuştur. Çukur lamın lamelle temas edecek kısmına vazelin sürülmüştür. Çukur lam ters çevrilerek, çukur kısım lamelin üzerine konan damlaya gelecek şekilde lamelin üzerine kapatılmıştır. Çukur lam hızlıca tersine çevrilerek mikroskopta bakterilerin hareket incelemesi yapılmıştır (Çetin, 1973).

III.2.8.6.2 Gram Boyama

Temiz bir lamın üzerine steril uçlu otomatik pipet ile bir damla distile su damlatılmıştır. Steril öze ile 24 saatlik bakteri kolonisinden alınarak lam yüzeyine ince bir tabaka halinde yayılmış ve havada kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan lamın alt yüzü bek alevinden bir kaç kez geçirilerek bakteriler lam üzerine fiks edilmiştir. Daha sonra lamın üzerine kristal viyole dökülüp 1 dakika bekletilerek distile su ile tüm yüzey yıkanarak kristal viyole uzaklaştırılmıştır. Preparatın üzerine Gram' ın iyot çözeltisi dökülerek 1 dakika bekletilerek distile su ile tekrar yıkanmıştır. Sonra preparat % 96'lık etil alkol ile 15-30 sn. muamele edilmiş ardından distile su ile yıkanmıştır. Lamın üzerine karşıt boya olarak safranin dökülerek 1 dakika bekletilmiş ve tekrar distile su ile yıkanıp havada kurumaya bırakılmıştır. Boyama sonrası preparat mikroskopta incelenmiştir. İnceleme sonrası kırmızı-pembe renkli bakteriler Gram negatif, mor renkli bakteriler Gram pozitif olarak tanımlanmıştır. (Harley ve Prescott, 2002)

III.2.8.6.3 Oksidaz Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden steril platin öze ile alınarak tetrametil-para-fenilendiamin dihidroklorid ayıracı damlatılmış olan filtre kağıdı üzerine sürülmüştür. 5-10 sn içinde mavi-mor rengin meydana gelmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.4 Katalaz Testi

Besiyerinde gelişen saf koloniler üzerine birkaç damla % 3 hidrojen peroksit (H_2O_2) eriyiği damlatılmıştır. Koloniler üzerinde gaz kabarcıklarının meydana gelmesi pozitif katalaz reaksiyonu, gaz kabarcıklarının gözlenmemesi ise negatif katalaz reaksiyonu olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.5 İndol Oluşumu Testi

Nutrient besiyerinde gelişen saf kolonilerden bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu bakteri süspansiyonundan steril uçlu otomatik pipet yardımı ile 200 µl alınarak 10 ml steril indol besiyeri içeren tüplere konulmuş ve 35° C'de 24 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda tüplere 0,5 ml Kovaks ayıracı damlatılmış ve tüpün üst kısmında kırmızı renkte bir halka oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Bilgehan, 2004).

III.2.8.6.6 Metil Kırmızısı-Voges Proskauer Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu bakteri süspansiyonundan steril uçlu otomatik pipet yardımı ile 200 µl alınarak 10 ml steril MR-VP besiyeri içeren tüplere konulmuş ve 35° C'de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda bu besiyerinden 3' er ml 2 adet steril tüplere alınarak tüpün bir tanesine metil kırmızısı testi için 0,5 ml metil kırmızısı solüsyonundan eklenmiştir. Tüp içerisinde kırmızı renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Diğer tüpe ise Voges-Proskauer testi için 0,6 ml α-naftol çözeltisi ve 0,2 ml % 40'lık KOH çözeltisi ilave edilmiş ve çalkalanmıştır. 10-15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra besiyeri renginin kırmızı-pembeye dönmesi pozitif, sarı olarak kalması ise negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.7 Sitrat Kullanımı Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu süspansiyondan steril platin öze ile alınarak yatık agar olarak hazırlanmış olan steril Simmon Sitrat agar besiyerine çizgi tarzında ekim yapılmış ve tüpler 35° C’de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında tüpler incelenmiş ve besiyerinin orijinal rengi olan yeşil rengin görülmesi negatif, mavi rengin oluşması ise pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.8 Üç Şekerli Demirli Agar (Triple Sugar Iron Agar) Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden steril bir iğne öze ile alınarak ilk olarak tüp içerisindeki üç şekerli demirli (TSI) agarın dip kısmına batırılmıştır. Daha sonra agarın yatık kısmına zik zak çizilerek ekim yapılmıştır. Ekim yapılan besiyerleri 35° C’de etüvde 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında besiyerleri şeker fermentasyonu (glikoz, laktoz ve sükroz), gaz ve H₂S oluşumu açısından incelenmiştir. TSI besiyerinde bakteriler tarafından oluşturulan değişiklikler aşağıdaki şekilde yorumlanmıştır: dip kısmı sarı (asit oluşumu), yatık kısmı kırmızı (alkali) olursa yalnızca glikoz fermente edilmiştir. Dip kısmı sarı (asit), yatık kısmı da sarı (asit) olursa: glikoz ile birlikte laktoz ve sükrozdan en az birisi veya her ikisi fermente edilmiştir. Gaz kabarcıkları varsa gaz oluşmuştur. Besiyerinde siyahlanma varsa H₂S oluşmuştur, bu arada glikoz da fermente edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Bilgehan, 2004).

III.2.8.6.9 Üreaz Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlardan steril bir iğne öze ile alınarak yatık agar olarak hazırlanmış Üre Agar besiyerine çizgi tarzında ekim yapılmış ve tüpler 35° C’de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında tüpler incelenmiş ve besiyeri renginin kırmızı veya pembe renkte olması pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Benson, 2001; Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.10 MIL (Hareket-İndol Oluşumu-Lizin Deaminaz Dekarboksilaz) Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden steril bir iğne öze ile alınarak steril MIL besiyerine dik olarak batırma ekimi yapılmış ve tüplerin üzeri steril mineral yağ ile

kaplanmıştır. Tüpler 35° C’de 18-24 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında tüpler incelenmiş ve MIL besiyerinde bakteriler tarafından oluşturulan değişiklikler aşağıdaki şekilde yorumlanmıştır: Bakterilerin inokülasyon hattından çevreye doğru yayılma göstermesi ve bulutlanma olması hareket pozitif olarak yorumlanmıştır. Lizinin deaminasyonu (aerop ortamda gerçekleşir) besiyerinin üst kısmında kırmızı veya kırmızı kahverengi renk oluşumu ile anlaşılmıştır. Lizinin dekarboksilasyonu (anaerop ortamda gerçekleşir) tüpün alt kısımlarına doğru mor renk oluşumu ile anlaşılmıştır. Lizin dekarboksile edilmiyor ise tüpün alt kısımları sarı renkli olarak görülmüştür. Besiyerinin hem dip kısmında hem de üst kısmında kırmızı- mor renk görülmesi durumunda (bir bakteri lizini hem dekarboksile hem de deamine etmeyeceği için) tüpler bir süre daha inkübe edilmişlerdir. Hareket, lizin deaminaz ve lizin dekarboksilaz reaksiyonlarının gözlenmesinden sonra tüplere birkaç damla Kovaks ayırıcı damlatılmış ve üst kısımda kırmızı bir halka oluşumu indol pozitif olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Madigan ve ark., 2009).

III.2.8.6.11 Nişasta Hidrolizi Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerinden steril öze ile alınarak steril nişasta besiyerine çizgi tarzında ekimler yapılmış ve petriler 35° C’de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası nişasta besiyerinde üremiş koloniler üzerine besiyeri yüzeyini örtecek miktarda Gram’ ın iyot (Lugol) çözeltisinden dökülür. Koloniler etrafında şeffaf bir bölge görülmesi pozitif nişasta hidrolizi olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.12 DNase Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden steril bir öze ile alınarak DNase besiyerine plağa çizim yöntemi ile ekimler yapılmış ve petriler 35° C’de 18-24 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerinde gelişen kolonilerin üzerini kaplayacak şekilde 1 N HCl damlatılmış ve besiyerinde bulunan DNA’ nın parçalanıp parçalanmadığına bakılmıştır. Koloninin etrafında saydam bir zon oluşması DNase pozitif, koloni çevresinin opak bir görünümde olması DNase negatif olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004; Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.13 Karbonhidrat (Laktoz-Glukoz-D-Mannit-Galaktoz-Maltoz-Sükroz) Fermentasyon Testleri

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Steril karbonhidrat fermentasyon besiyeri ve Durham tüpü içeren tüplere bakteri süspansiyonlarından 100 µl eklenerek tüpler 37° C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra Durham tüpleri içerisinde gaz birikimi görülmesi karbonhidratların fermentasyonu sırasında gaz açığa çıkarılması olarak değerlendirilmiştir. İnkübasyondan sonra tüplerdeki besiyeri renginin kırmızı renkten sarı renge dönmesi ise karbonhidratların fermentasyonu sırasında asit oluşturulduğu şeklinde değerlendirilmiştir (Bilgehan, 2004).

III.2.8.6.14 % 6,5 NaCl’ de Gelişim Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden steril bir öze ile alınarak steril % 6,5 NaCl içeren besiyeri üzerine çizgi tarzında ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 35° C’de 24-72 saat inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonrası besiyerinde üremenin görülmesi bakterilerin % 6,5 NaCl’ de geliştiğini göstermiştir. (Schleifer, 1986; Bilgehan 2004)

III.2.8.6.15 Nitratın Nitrite İndirgenmesi ve Nitrattan Gaz Oluşturma Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Steril nitrat broth besiyeri ve Durham tüpü içeren tüplere bakteri süspansiyonlarından 100 µl eklenmiş ve tüpler 37° C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra Durham tüpleri içerisinde gaz birikimi olması nitratın indirgenmesi sırasında gaz oluşması şeklinde değerlendirilmiştir. Ayrıca tüplere nitrit test ayıracı eklenmesi ile nitratın nitrite indirgenip indirgenmediği kontrol edilmiş ve 30 sn. de kırmızı renk oluşumu nitritin olduğu şeklinde değerlendirilmiştir. Kırmızı renk oluşumu görülmeyen tüplere Zn (çinko) eklenmesi ile kırmızı rengin oluşması negatif (nitratın nitrite indirgenmemesi), kırmızı renk oluşmaması pozitif (nitratın nitrite indirgenmesi) olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.16 Kazein Hidrolizi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden steril öze ile alınarak Kazeinli Plate Count Agar besiyerine düz bir çizgi halinde ekimler yapılmış ve petriler 35° C’de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerinde gelişen kolonilerin

etrafında şeffaf bir proteoliz zonu oluşması kazeinaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.17 Lipaz Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden steril öze ile alınarak Tween 80 Agar besiyeri üzerine düz bir çizgi halinde ekimler yapılmış ve petriler 37° C’de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerinde gelişen kolonilerin etrafında opak zonların görülmesi pozitif lipolitik aktivite olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.18 Jelatinaz Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden steril öze ile alınarak Jelatin Agar besiyeri üzerine düz bir çizgi halinde ekimler yapılmış ve petriler 37° C’de en az 1 hafta etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra koloniler etrafında gözlenen şeffaf bölgeler pozitif proteolitik aktivite olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

III.2.8.6.19 Hemolizin Testi

Besiyerinde gelişen saf kolonilerden steril bir öze ile alınarak koyun kanlı agar besiyeri üzerine plağa çizim yöntemi ile ekimler yapılmış ve petriler 35° C’de 24-48 saat inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonrası besiyerinde gelişen kolonilerin etrafında 1-3 mm çapında, yeşilimsi renkte ve tamamlanmamış bir hemoliz zonu görülmesi α hemoliz, renk değişikliği olmaksızın şeffaf görünümde tam bir hemoliz görülmesi β hemoliz ve hiçbir zon görülmemesi ise γ hemoliz olarak değerlendirilmiştir (Prescott ve ark., 2002).

III.2.9 Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinden İzole Edilerek Tanımlanan Mezofil Bakterilerin Proteaz ve Lipaz Aktivitelerinin Belirlenmesi

Derilerden izole edilen mezofil bakteriler proteolitik aktivite için kazeinli Plate Count Agar ve Jelatin Agar besiyerine, lipolitik aktivite için Tween 80 Agar besiyerine plağa çizim yöntemi ile ekilmiştir. Ekim yapılan petriler 37°C’de 48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda kolonilerin etrafında belirgin

zonların görülmesi pozitif proteolitik ve lipolitik aktivite olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott 2002, Gonzales ve ark. 1978).

III.2.10 Tuzlanmış Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan ve Bulunmayan Bölgelerinden İzole Edilen Mezofil Bakterilerin API Test Yöntemi ile Doğrulanması

III.2.10.1 *Enterobacteriaceae* Familyasına ait Türlerin İzolasyonu ve Tanımlanması

Tuzlanmış deri örneklerinden *Enterobacteriaceae* familyasına ait türlerin izolasyonu için Eozin Metilen Mavis (EMB) Agar'a plağa yayma yöntemiyle ekimler yapılarak 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra koloni morfolojileri incelenerek farklı kolonilerden saf kültürler yapılmıştır. Saf kültürler kanlı agara pasaj geçilerek Gram boyamaları yapılmış ve Gram negatif çomaklar görüldüğü takdirde oksidaz testi yapılmıştır. Oksidaz negatif olan kolonilerden tekrar EMB Agara ekimler yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Saf kültürlerin hareket incelemesi asılı damla metodu ile yapılmıştır. Daha sonra saf kültürlerden bir koloni alınarak inokülasyon sıvısı içerisinde (steril 5 ml % 0.85 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su solüsyonu) McFarland 0.5 yoğunluğunda süspanse edilip API® 20E Test (bioMérieux, Inc, France) kitinin içerisinde hazır olarak bulunan kuyucuklara inoküle edilmiştir. 37 °C'de 24 ve 48 saat inkübe edildikten sonra okuma tablosunda verilen değerler yardımı ile bilgisayarda tür tayini yapılmıştır (Brenner, 2005; Madigan ve ark., 2009)

III.2.10.2 *Bacillus* Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması

Tuzlanmış deri örneklerinden *Bacillus* türlerinin izolasyonu için kanlı agara plağa yayma yöntemiyle ekimler yapılarak 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra koloni morfolojileri incelenerek farklı kolonilerden saf kültürler yapılmıştır. Saf kültürlerin Gram boyamaları yapılarak Gram pozitif çomaklar görüldüğü takdirde saf kültürlerin katalaz aktivitesine bakılmıştır. Pozitif katalaz aktivitesi gösteren ve *Bacillus* olduğu düşünülen saf kültürlerden tekrar kanlı agara ekimler yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Saf kültürlerin hareket incelemesi asılı damla metodu ile yapılmıştır. Daha sonra saf kültürler inokülasyon sıvısı içerisinde (steril 5 ml %0.85 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su solüsyonu)

McFarland 2 yoğunluğunda süspanse edilip API® 50CH Test kitinin (bioMérieux, Inc, France) içerisinde hazır olarak bulunan kuyucuklara inoküle edilmiştir. 37 °C’de 24-48 saat inkübe edildikten sonra biyokimyasal test sonuçları değerlendirilerek okuma tablosunda verilen değerler yardımı ile bilgisayarda tür tayini yapılmıştır (Sneath, 1986; Madigan ve ark., 2009).

III.2.10.3 *Staphylococcus* Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması

Tuzlanmış deri örneklerinden *Staphylococcus* türlerinin izolasyonu için seçici besiyeri olan Baird-Parker RPF (R1+R2 Base) Agara plağa yayma yöntemiyle ekimler yapılarak 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra bakterilerin koloni morfolojileri incelenerek besiyerinde üreyen siyah suşlardan saf kültürler elde edilerek Gram boyamaları yapılmıştır. Saf kültürlerin hareket incelemesi asılı damla metodu ile yapılmıştır. Saf kültürler steril 5 ml NaCl % 0.85 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su solüsyonu içerisinde McFarland 0.5 yoğunluğunda süspanse edilip API® Staph Test kitinin (bioMérieux, Inc, France) içerisinde hazır bulunan kuyucuklara inoküle edilmiştir. 37 °C de 18-24 saat inkübe edildikten sonra biyokimyasal test sonuçları değerlendirilerek okuma tablosunda verilen değerler yardımı ile bilgisayarda tür tayini yapılmıştır (Schleifer, 1986; Madigan ve ark., 2009).

III.2.10.4 D-grubu Streptokokların İzolasyonu ve Tanımlanması

Tuzlanmış deri örneklerinden D-grubu Streptokokların izolasyonu için D-coccosel Agara plağa yayma yöntemiyle ekimler yapılarak 37 °C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra besiyerinde üreyen bakterilerin koloni morfolojileri incelenerek saf kültürler yapılmıştır. Saf kültürlerin Gram boyamaları ve katalaz aktivitesi testleri yapılmıştır. D-grubu Streptokok olduğu düşünülen katalaz negatif suşların D-coccosel Agara ekimleri yapılarak 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Saf kültürlerin hareket incelemesi asılı damla metodu ile yapılmıştır. Daha sonra saf kültürler inokülasyon sıvısı içerisinde (2 ml API GP Medium) McFarland 4 yoğunluğunda süspanse edilip API® 20 Strep Test kitinin (bioMérieux, Inc, France) içerisinde hazır olarak bulunan kuyucuklara inoküle edilmiştir. 37 °C’de 4 saat inkübe edildikten sonra biyokimyasal test sonuçları değerlendirilerek okuma tablosunda verilen değerler yardımı ile bilgisayarda tür tayini yapılmıştır (Schleifer, 1986; Madigan ve ark., 2009).

III.2.10.5 *Pseudomonas* Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması

Tuzlanmış deri örneklerinden *Pseudomonas* izolasyonu için Cetrimide Agara plağa yayma yöntemiyle ekimler yapılarak 37 °C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra koloni morfolojileri incelenerek saf kültürler yapılmıştır. Saf kültürlerin Gram boyamaları yapılmıştır. Gram negatif çomaklar görüldüğü takdirde oksidaz testi yapılmıştır. *Pseudomonas* olduğu düşünülen oksidaz pozitif suşların Cetrimide Agara ekimleri yapılarak 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Saf kültürlerin hareket incelemesi asılı damla metodu ile yapılmıştır. Daha sonra saf kültürler inokülasyon sıvısı içerisinde (steril 2 ml % 0.85 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su solüsyonu) McFarland 0.5 yoğunluğunda süspanse edilip API® 20NE Test kitinin (bioMérieux, Inc, France) içerisinde hazır olarak bulunan kuyucuklara inoküle edilmiştir. 37 °C’de 48 saat inkübe edildikten sonra biyokimyasal test sonuçları değerlendirilerek okuma tablosunda verilen değerler yardımı ile bilgisayarda tür tayini yapılmıştır (Palleroni, 1984; Madigan ve ark., 2009).

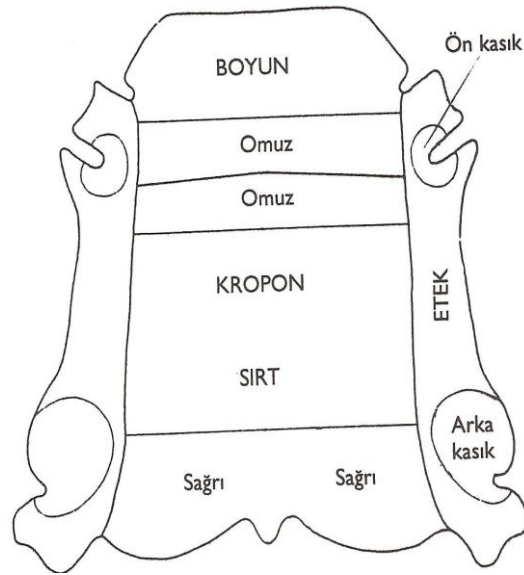
BÖLÜM IV

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda kullandığımız tuzlanmış ham deri örneklerinin menşei, deriden örneklerin alındığı kısımlar, örneklerin alındığı hayvanın cinsiyeti, derilerin depolandığı sıcaklık ve örneklerin alındığı aya ait bilgiler Tablo IV.1 ve Şekil IV.1’ de gösterilmiştir.

Tablo IV.1. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Çeşitli Özellikleri.

Örnek No	Deri Örneklerinin Menşei	Örneğin Alındığı Kısım	Hayvanın Cinsiyeti	Derilerin Depo Sıcaklığı	Örneğin Alındığı Ay (2008)
1	İngiltere	Boyun	Dişi	25 °C	Haziran
2	İngiltere	Omuz	Erkek	25 °C	Haziran
3	Avustralya	Sol Arka Bacak	Erkek	30 °C	Temmuz
4	Avustralya	Kuyruk	Dişi	30 °C	Temmuz
5	Akhisar	Etek	Dişi	27 °C	Ağustos
6	Akhisar	Sağrı	Erkek	27 °C	Ağustos
7	Balıkesir	Sağrı	Dişi	20 °C	Eylül
8	Afyon	Kropon	Erkek	18 °C	Eylül
9	Konya	Omuz	Dişi	14 °C	Kasım
10	Iğdır	Sırt-Sağrı	Erkek	14 °C	Kasım



Şekil IV.1. Örneklerin Alındığı Deri Kısımlarının Şematik Gösterimi (Toptaş, 1998).

Tuzlanmış ham deri örneklerinde tuz kristali bulunan ve bulunmayan bölgelerin ayrı ayrı pH ölçümleri yapılmış, % nem içeriği, % kül ve % tuz doygunluğu miktarları hesaplanmıştır (Tablo IV.2-IV.5).

Tablo IV.2. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin pH Ölçüm Sonuçları

Örnek Numarası	Tuz Kristali Bulunan Kısım pH	Tuz Kristali Bulunmayan Kısım pH
1	7,3	7,2
2	7,4	7,1
3	7,0	6,9
4	6,9	6,7
5	7,2	7,3
6	6,6	6,4
7	6,8	6,3
8	7,1	6,8
9	6,9	6,7
10	6,4	6,3

Tablo IV.3. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin % Nem İçeriği Sonuçları

Örnek Numarası	Tuz Kristali Bulunan Kısım Nem Oranı (%)	Tuz Kristali Bulunmayan Kısım Nem Oranı (%)
1	31,0	42,0
2	43,5	45,9
3	38,0	47,6
4	41,1	50,8
5	47,4	51,7
6	41,9	54,7
7	47,5	52,7
8	40,8	54,1
9	45,2	56,8
10	46,9	50,2

Tablo IV.4. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin % Kül Miktarı Sonuçları.

Örnek Numarası	Tuz Kristali Bulunan Kısım Kül Miktarı (%)	Tuz Kristali Bulunmayan Kısım Kül Miktarı (%)
1	30,8	30,4
2	25,8	31,0
3	29,8	30,1
4	33,7	32,8
5	36,1	29,6
6	35,6	30,7
7	36,4	23,7
8	31,7	26,7
9	28,2	24,9
10	21,1	27,1

Tablo IV.5. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin % Tuz Doygunluğu Sonuçları

Örnek Numarası	Tuz Kristali Bulunan Kısım Tuz Doygunluğu (%)	Tuz Kristali Bulunmayan Kısım Tuz Doygunluğu (%)
1	100*	100*
2	100*	100*
3	100*	100*
4	100*	100*
5	100*	100*
6	100*	100*
7	100*	100*
8	100*	100*
9	100*	100*
10	100*	100*

*Tuz Doygunluğu % 100' den yüksek olanlar % 100 olarak alınmıştır.

Tuzlanmış ham deri örneklerinde tuz kristali bulunan ve bulunmayan bölgelerin pH, % nem içeriği, % kül ve % tuz doygunluğu miktarlarının ortalama, ortanca, mod ve değişim aralığı değerleri Tablo IV.6 ve IV.7' de gösterilmiştir.

Tablo IV.6. 10 Adet Tuzlanmış Ham Deri Örneğinin (Tuz Kristali Bulunan Kısımlarda) Ortalama, Ortanca, Mod ve Değişim Aralığı Değerleri.

	Ortalama	Ortanca	Mod	Aralık
pH	6,96	6,95	6,9	1,0
% Nem Oranı	42,3	42,7	-	16,5
% Kül Miktarı	30,9	31,3	-	15,3
% Tuz Doygunluğu	100	100	100	-

Tablo IV.7. 10 Adet Tuzlanmış Ham Deri Örneğinin (Tuz Kristali Bulunmayan Kısımlarda) Ortalama, Ortanca, Mod ve Değişim Aralığı Değerleri

	Ortalama	Ortanca	Mod	Aralık
pH	6,77	6,75	-	1,0
% Nem Oranı	50,7	51,3	-	14,8
% Kül Miktarı	28,7	29,9	-	9,1
% Tuz Doygunluğu	100	100	100	-

Taze deriler mikroorganizmaların gelişimi için uygun pH'ya ve yüksek nem ve besin içeriğine sahiptir. Bu durum mikroorganizmaların hızlı gelişimine neden olur (Polkade, 2007).

Kowalewski (1940) bakteriyel aktivite için deri pH'sının 4-9 olması gerektiğini belirterek, bakterilerin pH 7,5'te deriyi hidrolize ettiklerini açıklamıştır.

Schmitt ve Deasy (1963), yaptıkları araştırmada derilerin kesimden 5 saat sonra oda sıcaklığında pH'larının 7,1 olduğunu, 48 saat sonra pH'ın 5,5'e düştüğünü gözlemişlerdir. Araştırmacılar derilerdeki bu pH düşmesinin sebebinin ölüm sonrası değişiklikler olduğunu ve deride bulunan suyun pH'ının derilerin korunması sırasında sürekli düştüğünü belirtmişlerdir.

Birbir ve Ilgaz (1996), taze derilerde ortalama pH'ın 6,66, 1 haftalık tuzlu salamura derilerde 7,33, 2 aylık tuzlu salamura derilerde 7,61 ve ambarda 2 ay beklemiş derilerde ise 4,11 olduğunu saptamıştır.

Araştırmacılar derilerdeki nem oranının deri kalitesinin kontrolü açısından çok önemli bir gösterge olduğunu ve nem oranının tuzla korunmuş derinin durumunu gösterdiğini belirtmişlerdir (O'Flaherty ve Roddy, 1965; Birbir 1991).

Araştırmacılar (Roddy, 1963; O'Flaherty ve Roddy, 1965), tuzla veya tuzlu salamura ile korunan derilerde nem oranı % 48-53 olduğunda derilerin kolaylıkla bozulabileceğini açıklamışlardır. Nem oranı % 40'ın altında olduğu zaman veya buzdolabında saklandıklarında ise tuzlanmış derilerin iyi bir şekilde depolandıklarını belirtmişlerdir.

Sverre (1956) bakterileri inaktive etmek için derinin içerdiği su miktarının en çok % 20-30, en az % 10-14 olması gerektiğini belirtmiştir (Sverre, 1956; Birbir, 1991).

Araştırmacılar (O'Flaherty ve Roddy, 1965; Birbir, 1991) derideki nem ve suyun taze deriden uzaklaştırılmadığı durumlarda oda ısısında depolanan deride 2 gün içinde sırça yüzeyinde toplu iğne başı büyüklüğünde delikler, izler ve sırça soyulması gibi kusurlar görüldüğünü belirtmişlerdir.

O'Flaherty ve Lollar (1953), taze ham derilerde nem oranının % 63, tuzlanmış derilerde ise % 15,6 olduğunu tespit etmişlerdir.

Combs ve Roddy (1959), 24 adet tuzlu salamura deriyi hem kış hem de yaz aylarında incelemişler ve kış aylarında derilerin nem oranının % 40,67-41,76, yaz aylarında ise % 44,78-44,82 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Yaz aylarında tuzla

korunmuş derilerde nem oranının kış derilerine oranla daha yüksek olduğunu görmüşlerdir.

Amerika’ da bir deri enstitüsünde yapılan bir araştırmada (Leather Industries of America and U.S. Hide, Skin Leather Association, 1990; Birbir, 1991), tuzlanmış salamura derilerde tuz doygunluğunun % 67-100 arasında değiştiği belirtilmiştir.

Bir başka çalışmada ise (Haines, 1984) derilerin 6 aydan fazla depo edildiklerinde tuz doygunluklarının en az % 90 olması gerektiği belirtilmiştir.

Birbir ve Ilgaz (1996), yaptıkları çalışmada bir haftalık tuzlu salamura derilerde tuz doygunluğunun % 67,66 ve 2 aylık tuzlu salamura derilerde % 63, 24 olduğunu saptamışlardır.

Valera (1988), halofil bakterilerin gelişebilmeleri için nemin en az % 15 en fazla % 36, tuz doygunluğunun % 100 ve pH’ın da en az 6,5-8 olması gerektiğini belirtmiştir.

Araştırmacılar çalışmalarında, tuzlanmış deri örneklerinin % 45’ inin % 85-100, % 38’ inin % 70-85 ve geri kalanın örneklerin de % 55-70 tuz doygunluğuna sahip olduğunu belirtmişlerdir. Tuzlanmış deri örneklerinin % 55’ ten % 100’ e kadar olan tuz doygunlukları ile % 25-50 nem içeriğine sahip oldukları açıklanmıştır (Bailey ve Birbir, 1993).

Birbir (1997), incelediği tuzla muhafaza edilmiş Rus ve Fransız derilerinin nem içeriğinin % 16-48, tuz doygunluğunun ise % 84-100 arasında değiştiğini belirtmiştir. İncelenen derilerin % 66’ sında nem içeriğinin %16-40, % 34’ ünde ise % 41-48 arasında olduğu açıklanmıştır. Araştırmacı derilerin kül oranının ise örneklerin % 37’ sinde % 9-14, geri kalan % 63’ ünde ise % 14-20 arasında değiştiğini belirtmiştir.

Bir diğer çalışmada ise araştırmacılar, inceledikleri ham koyun derilerinde ortalama nem içeriğini %48, ortalama kül miktarını % 25, ortalama tuz doygunluğu miktarını % 146 olarak saptadıklarını belirtmişlerdir (Bitlisli ve ark., 2004).

Bailey (2003), tuzlanmış deriler için nem oranının % 40-48, tuz doygunluğunun ise $\geq$ % 85 olması gerektiğini açıklamıştır. Nemin % 48 den büyük olması durumunda deride bakteriyel zararın meydana gelebileceğini ve deriyi uzun süre iyi koşullarda saklamak için bu minimum standartların dikkate alınması gerektiğini belirtmiştir.

Yaptığımız çalışmada, tuzlanmış ham derilerde tuz kristali bulunan kısımlarda pH değerlerinin 6.4-7.4, nem oranının % 31-47 ve kül miktarlarının ise

% 21-36 arasında değiştiği belirlenmiştir. Tuzlanmış derilerin tuz kristali bulunmayan kısımlarında ise pH değerlerinin 6.3-7.3, nem oranının % 42-57, kül miktarlarının %23-33 arasında olduğu saptanmıştır.

Araştırmacılar deri pH'sının 4-9 olmasının bakteriyel aktivite için uygun olduğunu, çoğu organizmanın bu pH aralığında yaşayabildiğini ve pH 7,5'te bakterilerin deriyi hidrolize ettiklerini belirtmişlerdir (Kowalewski, 1940; Kallenberger, 1984; Birbir, 1991; Madigan ve ark., 2009).

Saptadığımız pH değerlerinin bakteri gelişimi için oldukça elverişli değerler olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda 8 adet tuzlanmış ham deri örneğinin tuz kristali bulunan kısımlarında nem oranının % 40-47 olduğu ve 2 örnekte ise nemin % 40' ın altında (% 31 ve % 38) olduğu saptanmıştır. Tuzlanmış ham derilerin tuz kristali bulunmayan kısımlarında ise sadece 3 deri örneğinde nemin % 42-48 arasında uygun değerlerde olduğu ancak 7 örnekte nem oranının % 48' den fazla olduğu (% 50- %57) saptanmıştır. Sonuç olarak tuzlanmış ham derilerin tuz kristali bulunan kısımlarında nem içeriğinin iyi olduğu ancak tuz bulunmayan kısımlarında 7 deri örneğinin nem içeriğinin yüksek olduğu ve bakteri gelişmesi ağıısından daha riskli olduğu saptanmıştır.

Araştırmacılar sıcaklık ve nemin uygun olduğu koşullarda bakterilerin deriye 36-60 saat gibi kısa bir sürede zarar verdiklerini, kollajende görölen zararın 8-10 saat içinde oluşturulduğunu belirtmişlerdir (Kallenberger, 1984; Birbir, 1991).

Kül miktarlarının % 12-48 arasında olması gerektiği baz alınırsa, 10 örnekte tuz kristali bulunan (% 21-36) ve bulunmayan (% 23-30) kısımların hepsinde kül miktarları normal olarak saptanmıştır.

10 adet tuzlanmış deri örneğinin tuz kristalleri bulunan ve bulunmayan kısımlarının hepsinde tuz doygunluğu %100' ün üzerinde saptanmıştır.

Tuzlanmış ham derilerde tuz doygunluğunun bu kadar yüksek saptanmasının, derilerin homojen bir şekilde tuzlanmaması nedeniyle deri üzerinde bazı kısımlarda daha çok tuz bulunması ile ilişkili olabileceği düşünölmektedir.

Tuz doygunluğu yüksek olan deriler halofil bakteriler için ideal bir gelişme ortamı haline gelmektedir. Çalışmamızda deri örneklerinin tuz doygunluğunun önerilen ideal değerler arasında olduğu, nem oranları ve pH değerleri ağıısından değerlendirdiğimizde ise bakteri gelişimini önlemek için gerekli koşulların tam

olarak sağlanamadığı, derilerin yeterli biçimde korunamadığı ve tuzlama işleminin etkili bir biçimde yapılamadığı sonucuna varılmıştır.

10 adet ham deri örneğinin tuz kristalleri bulunan ve bulunmayan kısımlarında saptanan toplam mezofil, toplam proteolitik ve lipolitik mezofil bakteri sayıları (kob/g) Tablo IV.8’ de verilmiştir.

Tablo IV.8. Tuzlanmış Ham Deri Örneklerinin Tuz Kristalleri Bulunan ve Bulunmayan Kısımlarındaki Toplam Mezofil, Toplam Proteolitik ve Lipolitik Mezofil Bakteri Sayıları (kob/g).

Örnek No	Tuzsuz Kristalleri Bulunmayan Kısım			Tuz Kristalleri Bulunan Kısım		
	Toplam Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	Toplam Proteolitik Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	Toplam Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	Toplam Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	Toplam Proteolitik Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	Toplam Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)
1	4.7×10^8	5×10^7	2.6×10^7	2.1×10^8	3.3×10^7	2.4×10^7
2	3.8×10^7	6.9×10^6	2.5×10^7	7×10^7	3.4×10^7	6.9×10^6
3	8.9×10^8	2.1×10^7	7.5×10^7	3.4×10^7	1.2×10^6	2×10^7
4	2×10^8	1.8×10^7	2.6×10^7	8.6×10^7	1×10^7	2.7×10^7
5	3.5×10^8	2.5×10^7	1.2×10^7	5.4×10^7	2.5×10^7	1.4×10^7
6	4.2×10^7	3.3×10^7	5.6×10^6	2.2×10^6	3.4×10^5	5.7×10^5
7	7.2×10^6	6.1×10^5	4.6×10^5	5.3×10^6	2×10^5	7.8×10^5
8	9×10^5	2.1×10^5	3.4×10^5	2.8×10^5	1.1×10^4	3.9×10^4
9	1×10^6	1.4×10^5	2.8×10^5	2.3×10^5	1×10^4	1.2×10^5
10	6.7×10^6	8.5×10^5	9.1×10^5	2×10^6	1.2×10^5	3.2×10^5

10 adet ham deri örneğinin tuz kristali bulunan ve bulunmayan kısımlarında saptanan toplam mezofil, toplam proteolitik ve lipolitik mezofil bakteri sayılarının (kob/g) ortalama, ortanca, mod ve değişim aralığı değerleri Tablo IV.9 ve Tablo IV.10’ da verilmiştir.

Tablo IV.9. 10 Adet Tuzlanmış Ham Derinin Tuz Kristali Bulunmayan Kısımlarındaki Toplam Mezofil, Toplam Proteolitik ve Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısının (kob/g) Ortalama, Ortanca, Mod ve Değişim Aralığı Değerleri.

Tuz Bulunmayan Kısım	Ortalama	Ortanca	Mod	Aralık
Toplam Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	2×10^8	4×10^7	-	8.9×10^8
Toplam Proteolitik Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	1.5×10^7	1.2×10^7	-	4.9×10^7
Toplam Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	1.7×10^7	8.8×10^6	2.6×10^7	7.4×10^7

Tablo IV.10. 10 Adet Tuzlanmış Ham Derinin Tuz Kristali Bulunan Kısımlarındaki Toplam Mezofil, Toplam Proteolitik ve Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısının (kob/g) Ortalama, Ortanca, Mod ve Değişim Aralığı Değerleri.

Tuz Bulunan Kısım	Ortalama	Ortanca	Mod	Aralık
Toplam Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	4.6×10^7	1.9×10^7	-	2×10^8
Toplam Proteolitik Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	1×10^7	7.7×10^5	-	3.4×10^7
Toplam Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısı (kob/g)	9.4×10^6	3.8×10^6	-	2.7×10^7

İncelenen 10 adet tuzlanmış ham deri örneğinin tuz kristali bulunmayan kısımlarında ortalama mezofil bakteri sayısı 2×10^8 kob/g, ortalama proteolitik mezofil bakteri sayısı 1.5×10^7 kob/g ve ortalama lipolitik mezofil bakteri sayısı 1.7×10^7 kob/g olarak saptanmıştır (Tablo IV.9).

Örneklerin tuz kristali bulunan kısımlarında ise ortalama mezofil bakteri sayısı 4.6×10^7 kob/g, ortalama proteolitik mezofil bakteri sayısı 1×10^7 kob/g ve ortalama lipolitik mezofil bakteri sayısı 9.4×10^6 kob/g olarak saptanmıştır (Tablo IV.10).

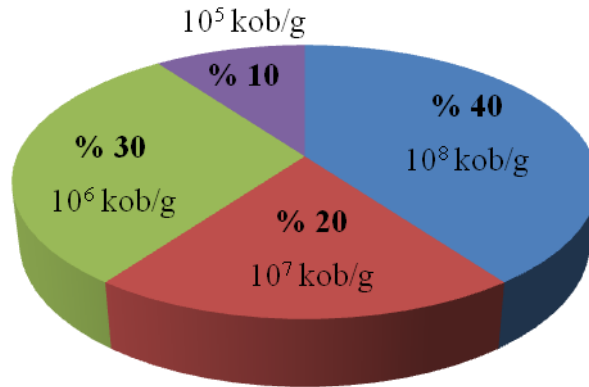
Çalışılan tuzlanmış ham deri örneklerinin hem tuz kristali bulunan hem de bulunmayan kısımlarında oldukça yüksek sayıda mezofil bakteri ve önemli sayıda proteolitik ve lipolitik mezofil bakteri bulunmuştur. Bu sonuçlara dayanılarak

tuzlanmış derilerde bulunan mikroorganizmaların ciddi deri zararına yol açacağı bir gerçektir.

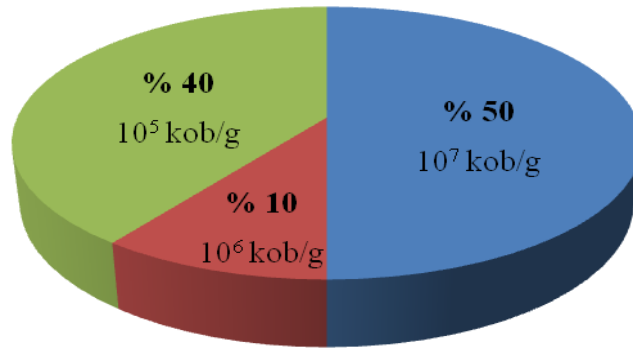
Çalışmamızda deri örneklerinin tuz kristali bulunmayan kısımlarında toplam mezofil bakteri sayısı 9 örnekte 10^6 - 10^8 kob/g arasında, 1 örnekte 10^5 kob/g, toplam proteolitik mezofil bakteri sayısı 6 örnekte 10^6 - 10^7 kob/g arasında, 4 örnekte 10^5 kob/g ve toplam lipolitik mezofil bakteri sayısı 6 örnekte 10^6 - 10^7 kob/g ve 4 örnekte 10^5 kob/g olarak saptanmıştır (Tablo IV.8, Şekil IV.2-IV.4).

Deri örneklerinin tuz kristali bulunan kısımlarında ise toplam mezofil bakteri sayısı 8 örnekte 10^6 - 10^8 kob/g arasında, 2 örnekte 10^5 kob/g, toplam proteolitik mezofil bakteri sayısı 5 örnekte 10^6 - 10^8 kob/g arasında, 5 örnekte 10^4 - 10^5 kob/g arasında ve toplam lipolitik mezofil bakteri sayısı 5 örnekte 10^6 - 10^7 kob/g arasında ve 5 örnekte de 10^4 - 10^5 kob/g olarak saptanmıştır. Böylece ham derilerin tuz bulunmayan kısımlarındaki toplam mezofil bakteri sayısının % 90' i 10^6 - 10^8 kob/g, tuz bulunan kısımlarındaki toplam mezofil bakteri sayısının ise % 80' i 10^6 - 10^8 kob/g olarak bulunmuştur (Tablo IV.8, Şekil IV.5-IV.7).

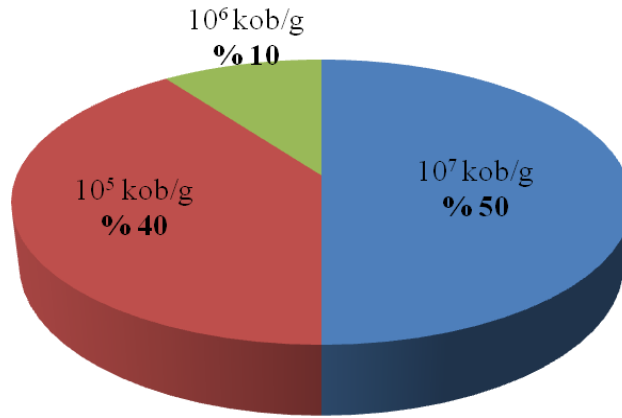
Derilerde bakteri sayılarının yüksek bulunmasının, tabakhanelerde kuru tuz serpme yönteminin gelişigüzel bir biçimde yapılması, tuzlanmış derilerin nemli, sıcak ve hijyenik olmayan koşullarda depo edilmesi ve tuzla koruma işleminin etkili bir şekilde yapılamaması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.



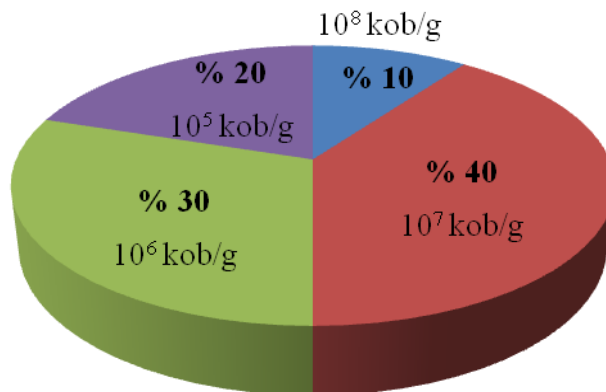
Şekil IV.2. Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunmayan Kısımlarındaki Toplam Mezofil Bakteri Sayısı ve Yüzdesi.



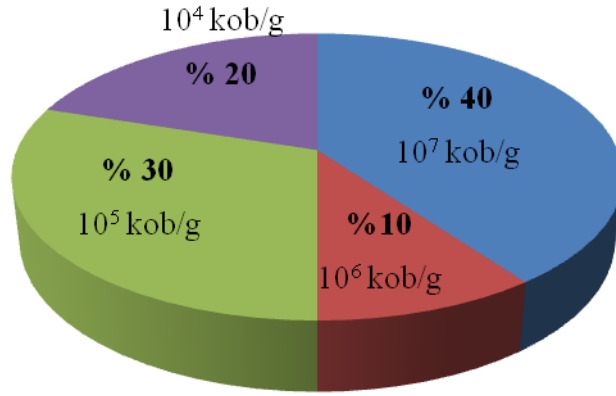
Şekil IV.3. Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunmayan Kısımlarındaki Toplam Proteolitik Mezofil Bakteri Sayısı ve Yüzdesi.



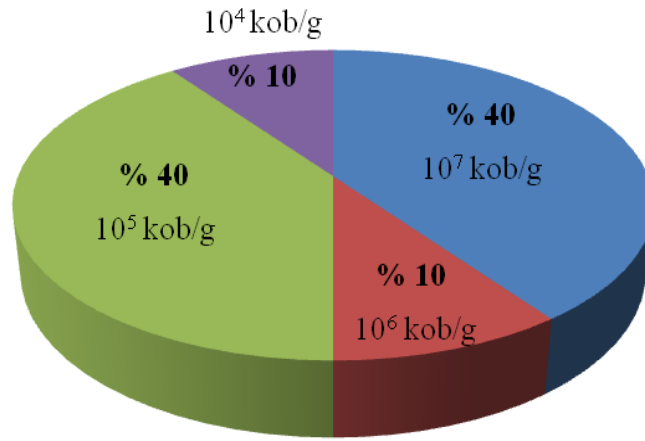
Şekil IV.4. Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunmayan Kısımlarındaki Toplam Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısı



Şekil IV.5. Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan Kısımlarındaki Toplam Mezofil Bakteri Sayısı ve Yüzdesi.



Şekil IV.6. Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan Kısımlarındaki Toplam Proteolitik Mezofil Bakteri Sayısı ve Yüzdesi.



Şekil IV.7. Ham Derilerin Tuz Kristali Bulunan Kısımlarındaki Toplam Lipolitik Mezofil Bakteri Sayısı ve Yüzdesi.

Ham deri mamul deri haline dönüştürülmeden önce depolama esnasında oldukça iyi korunmalıdır. Tuzla koruma yöntemi, tüm dünyada geleneksel olarak uygulanan bir yöntemdir (Kanagaraj ve ark., 2005b) ancak kullanılmış eski tuzların direkt olarak yeniden deri tuzlamasında kullanılması veya yeni tuzlar ile karıştırıldıktan sonra kullanılması sonucu deriler kolayca kontamine olmaktadır (Elliott, 1988). Kullanılmış tuzlar toprak, gübre, kan ve farklı artıklarla karışmış olabilmektedirler. Ayrıca böyle tuzlar yüksek sayıda halofil bakteriler ile kontamine olmuşlardır. Bu nedenle araştırmacılar kullanılmış tuzların derilerde tekrar kullanılmamasını ve kullanılan tuzların temizliğine özen gösterilmesi gerektiğini belirtmişlerdir (Elliott, 1988). Ayrıca deri korunmasında kullanılacak olan tuzların

dış ortamdaki bakterilerle kontamine olmaması için hijyenik koşullar altında toplanması ve depolanması gerekmektedir.

Kritzinger ve Van Zyl (1945), kullanılmış tuzun tekrar kullanımının deride daha fazla tuz lekesi meydana getirdiğini ve derinin sahip olduğu suyu hızlıca, yeterli oranda çıkaramadığını belirtmişlerdir.

Everett ve Cordon (1956), tuzun bakteriyi inhibe etmesinin inaktivasyon, toksik faaliyet ve dehidratasyon gibi etkilerin bir kombinasyonu sonucu olduğunu açıklayarak tuzun bakteriler üzerine bakteriyostatik etkisinin tuzun temizliğine, saflığına bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Araştırmacılar derilerde konservasyonun yetersiz yapıldığını gösteren 3 kanıt bulunduğunu açıklamışlardır. Bunlardan birincisi deri proteinlerinin ayrışması sonucunda deride oluşan kuvvetli amonyak kokusudur. İkincisi derideki kıl gevşekliliğidir. İyi korunmuş deride epidermal doku sağlam olduğu için kılı koparmak zordur, iyi korunmamış derilerde ise epidermal doku tamamen bakteriler tarafından zarar gördüğünden kıl gevşemesi oluşmaktadır ve kılı koparmak oldukça kolaydır. Üçüncüsü ise iyi korunmamış derilerin et ve sırça yüzeyi üzerinde halofilik organizmalar tarafından oluşturulan kızışmanın görülmesidir (O'Flaherty ve Lollar, 1953; O'Flaherty, 1960; Naylor, 1985).

Ham derilerde tuzlama işlemi derinin et yüzeyi kısmından yapılmaktadır. Etkili bir biçimde yapılan tuzlama işlemi ile derinin et yüzeyindeki bakteri gelişimi kontrol altına alınabilir. Araştırmacılar, bakterilerin derinin et yüzeyinden içeriye geçebildiğini deneysel olarak göstermişlerdir (Robertson, 1948; Green, 1955; Polkade, 2007). Bakterilerin derinin epidermis tabakasından dermis tabakasına geçebildiği fakat bu işlemin bakterilerin et yüzeyinden deri içerisine geçmesine göre daha yavaş olduğu belirtilmiştir (Dempsey, 1969; Polkade, 2007).

Araştırmacılar mikroorganizma sayısının 10^5 - 10^6 olduğu derilerde deri hasarının kaçınılmaz olduğunu belirtmişlerdir. (Polkade, 2007). Oppong ve arkadaşları (2006) taze deri örneklerindeki bakteri sayılarını yaklaşık olarak 10^8 kob/g olarak bulmuşlardır. Çalışmamızın sonuçları araştırmacıların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda tuzlanmış ham derilerin tuz kristali bulunmayan kısımlardaki mezofil bakteri sayısının % 90' ı 10^6 - 10^8 kob/g, tuz kristali bulunan kısımlardaki mezofil bakteri sayısının % 80' i 10^6 - 10^8 kob/g olarak saptanmıştır (Tablo IV.8).

Ham derilerde çok çeşitli mikroorganizmalar bulunmaktadır. Deri üzerinde mevcut olan bakterilerin sayısı ve çeşidi derinin bozulmasında oldukça önemli bir rol oynamaktadır (Schmitt ve Deasy, 1963).

Polkade (2007), derilerin bakterilerle kontaminasyonunun yüzölme işlemi esnasında da olabileceğini bildirmiştir. Araştırmacı ayrıca hayvanın beslenme alışkanlığı ve hastalıklarının da yüzülmüş deride bulunan mikroorganizma çeşidini etkilediğini vurgulamıştır.

Deri imalatının herhangi bir safhasında derinin bakteriyel kontaminasyonu mamul deri kalitesini olumsuz yönde etkileyeceği için ham deri mikroflorası deri endüstrisinde oldukça önemli bir konudur (Gran, 1987; Polkade 2007).

Kesimden sonra derilerde meydana gelen hasarın derecesi sıcaklık, zaman, bakteri konsantrasyonu, deri içeriği ve proteolitik enzimlerin konsantrasyonu gibi pek çok faktöre bağlıdır. Tabaklama işlemi öncesinde taze deri üzerinde bakteriyel popülasyona bağlı olarak değişiklikler meydana gelir (Birbir ve Ilgaz, 1996).

Mc-Laughlin ve Rockwell (1922), deri kontaminasyonuna neden olan etmenlerin proteolitik bakteriler, kan, düşük bazik ortamlar, yüksek ısı, oksijen olduğunu belirtmişlerdir.

Birbir (2004), ülkemizde ham derilerin korunmasında genellikle Tuz Gölü, Kaldırım Tuzlası ve Kayacık Tuzlası'ndan elde edilen tuzların kullanıldığını belirterek Tuz Gölü'nden elde edilen tuz örneklerinde 10^4 - 10^7 kob/g, Kaldırım Tuzlası'nda 10^5 - 10^7 kob/g ve Kayacık Tuzlası'nda 10^5 kob/g aşırı halofil bakteri tespit etmiştir.

Haines (1984), derilerde kokuşmayı deri ısısına bağlamıştır. 26°C' de bulunan deri örneklerinde ilk 4 saat içerisinde bakterilerin derinin et kısmında bulunduğunu, 8-14 saat sonra et kısmından dermise geçtiğini ve 24 saat sonra epidermise geçtiğini saptamıştır. 40-48 saat sonra bakterilerin epidermise zarar vererek kıl gevşemesine yol açtıklarını, derileri korumada 2 günlük bir gecikme olması halinde bakterilerin derinin tüm tabakalarına yayılacağını ve deride önemli zararlar oluşturacaklarını belirtmiştir.

Çalışmamızda incelediğimiz deri örneklerinin 2 tanesinin 25 °C, 2 tanesinin 27 °C ve 2 tanesinin de 30 °C gibi yüksek sıcaklıklarda depolanması nedeniyle deride bakteri gelişiminin desteklendiği düşünülmektedir.

Araştırmacılar mikroorganizmaların çoğunun hayvan canlı iken deri üzerinde çok az etkiye sahip olduğunu ve kesimden sonra bu mikroorganizmaların gelişmek

için uygun ortam bulduklarını belirtmişlerdir. Özellikle kan, gübre ve pisliklerle bulaşık derilerde bakterilerin üreyerek deri yapısının kolayca bozulmasına neden olduğunu saptamışlardır (Jordan, 1929; Sverre, 1956; Cowling ve Sleight, 1964).

Araştırmacılar, derilerdeki bakteri faaliyetlerinin derinin kesiminden 6 saat sonra büyük boyutlara ulaştığını belirterek, derilerin kesimden sonra kan, pislik, gübre gibi artık maddelerden temizlenip en kısa sürede korunması gerektiğini vurgulamışlardır (Sverre, 1956; Kılıçoğlu, 1991).

Haines (1984), taze derilerde 24 saat tuzlama ve devamlı yıkama ile mikroorganizmaların % 50'sinin ve tuzlandıktan 7 gün sonra mikroorganizmaların yaklaşık 1/3' ünün deriden uzaklaştırılacağını belirtmiştir.

Venkatesan ve ark. (1970), taze derilerin bakteriyel popülasyonunda tabaklama öncesi çok fazla değişiklik olduğunu, yıkama, tuzlama işlemi ile mikroorganizmaların % 50'sinin uzaklaştırıldığını ve tuzlanmış derilerde bakteri sayısındaki azalmanın tuzun antibakteriyel özelliğinden kaynaklandığını ve bakterilerin yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişimlerini sürdüremedikleri için inhibe olduğunu açıklamışlardır.

Kallenberger (1984), bakterilerin nem ve ısı uygun olduğunda 36-60 saat gibi kısa bir sürede bile deriye tamamen zarar verdiklerini ve kollajende meydana gelen ciddi zararın 8-10 saat içerisinde oluştuğunu belirtmiştir.

Yapmış olduğumuz literatür taraması sonucunda tuzlanmış sığır derilerinde bulunan mikroorganizma türleri hakkında oldukça az sayıda ve yüzeysel çalışma olduğu gözlenmiştir ve çok az bilgi mevcuttur.

Polkade (2007), hayvan derisinde hayvan canlı iken önemli bir rol oynamayan pek çok mikroorganizma bulunduğunu, hayvan kesildikten sonra bu mikroorganizmaların hayvan derisini besiyeri olarak kullanıp çok hızlı bir şekilde üreyerek hayvan derisinin bozulmasına neden olduklarını, bu nedenle ham deriyi korumak için herhangi bir uygun materyali bulmadan önce hayvan derisinin başlangıç mikroflorasını bulmanın oldukça gerekli olduğunu belirtmiştir.

Schmitt ve Deasy (1963) deri yüzeyinde bulunan bakterilerin sayısının ve çeşidinin derilerin kokuşmasında önemli rol oynadığını açıklamıştır.

Robertson (1948) ve Green (1955) et yüzeyinden derinin içerisine bakterinin girdiğini deneysel olarak göstermişlerdir. 1969 yılında Dempsey, derinin epidermisinden dermis tabakasına da bakteri geçebildiğini fakat bu işlemin et yüzeyinden geçene göre daha yavaş olduğunu göstermiştir.

Barret (1986), kesimden sonra derilerin sıcak ve nemli oldukları için kan ve pisliklerle, bakterilerle kontamine olmuş durumda olduklarını bu nedenle derilerin kesimden hemen sonra bol su ile yıkanması gerektiğini ve soğuk su ile yıkama sonucunda derilerin ısıyı düşürülerek bakteriyel etkinin azaltıldığını belirtmiştir.

Polkade (2007) derilerin yüzölme işlemi esnasında da bakterilerle kontamine olabileceğini açıklamıştır. Araştırmacı ayrıca hayvanın beslenme alışkanlığı ve hastalıklarının da yüzülmüş deride bulunan mikroorganizma çeşidini etkilediğini vurgulamıştır. Bilindiği gibi hayvanların derisine topraktan, sudan, yemden ve gübreden çok fazla sayıda mikroorganizma geçerek yerleşebilmektedir.

Araştırmacılar, derilerin sahip olduğu protein ve yağların bakteriyel gelişme için ideal ortamlar olduğunu, kesimhanelerin ıslak ve sıcak yerler olması nedeniyle bakteri gelişimini teşvik ettiğini ve kan, pisliklerle bulaşık derilerde bakterilerin hızla ve kolayca üreyerek deride zararlar oluşturduklarını belirtmişlerdir (Jordon, 1929; Balfour, 1960; Cordon ve ark., 1961; Haines, 1973; Kallenberger ve Coller, 1979; Haines, 1984).

Lollar ve Kallenberger (1986), deri üzerinde yaşayan bakterilerin çeşidinin, derinin sahip olduğu besin maddelerinin türüne, ortamın ıssısına, derinin kimyasal yapısına ve pH'ına göre değişiklik gösterdiklerini belirtmiştir.

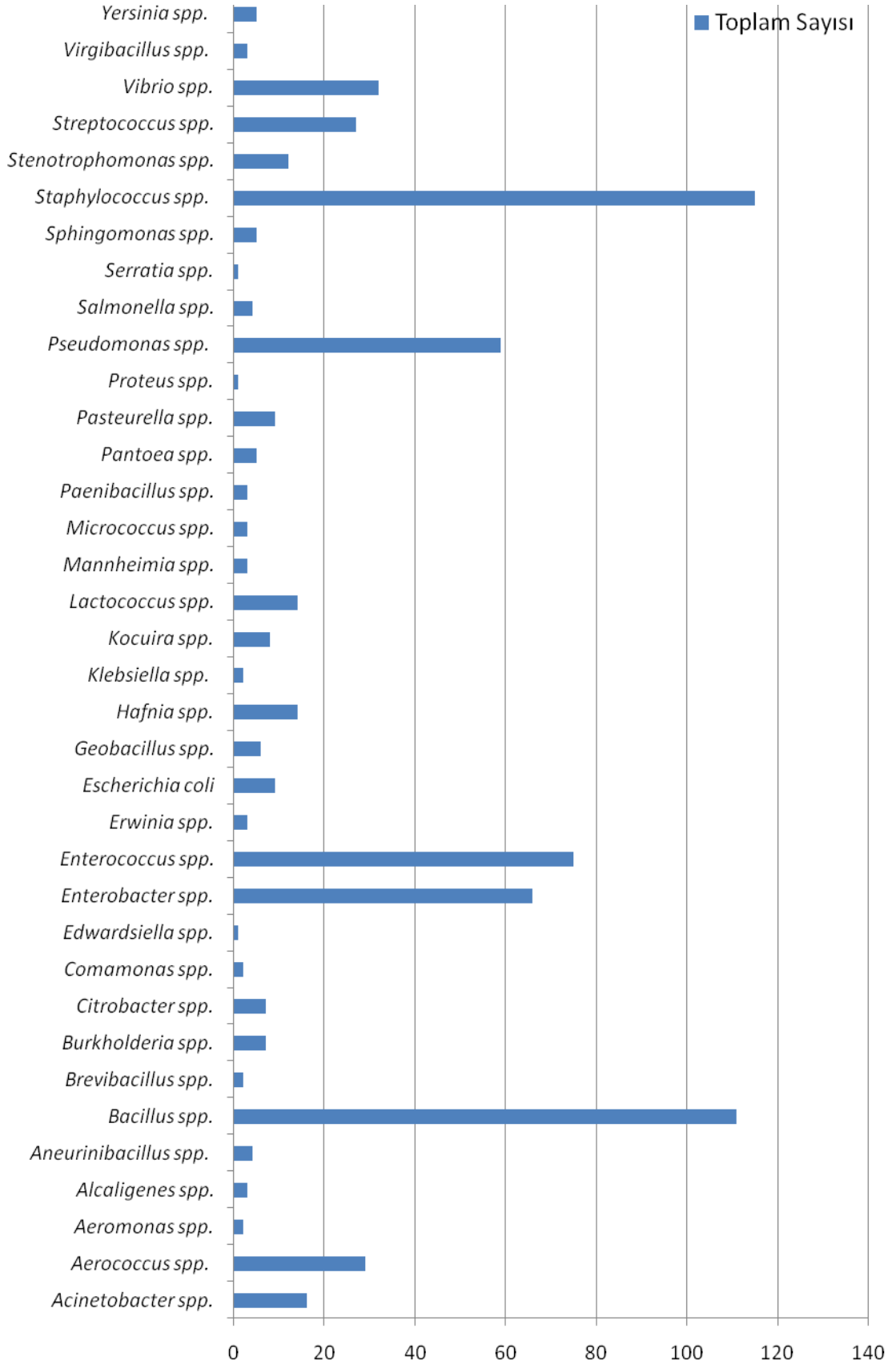
Derileri bozan ve kokuşturan 80'den fazla mikroorganizma türünden yaklaşık % 70'inin aerobik, geri kalanının ise anaerobik olduğu belirtilmiştir (Yapıcı ve ark., 2004).

Derilerde aerobik bakteriler dışında anaerobik ve mikroaerofil bakteriler de olabileceği belirtilmiştir (Woods ve Atkinson, 1970).

Çalışmamızda tuzlanmış ham deri örneklerinden 668 adet (36 cins ve 102 tür) mezofil bakteri izole edilmiştir. İzole edilen bakterilerin tanımlanmasında klasik tanımlama ve API test yöntemi kullanılmıştır (Sneath, 1986; Brenner, 2005)

İzole edilerek tanımlanan toplam 668 adet mezofil bakterinin 66 adeti *Enterobacter* (% 9.88), 7 adeti *Citrobacter* (% 1.05), 5 adeti (% 0.75) *Yersinia*, 2 adeti (% 0.3) *Klebsiella*, 59 adeti (% 8.83) *Pseudomonas*, 32 adeti (% 4.79) *Vibrio*, 16 adeti (% 2.4) *Acinetobacter*, 12 adeti (% 1.8) *Stenotrophomonas*, 9 adeti (% 1.35) *Pasteurella*, 7 adeti (% 1.05) *Burkholderia*, 5 adeti (% 0.75) *Sphingomonas*, 2 adeti (% 0.3) *Comamonas*, 2 adeti (% 0.3) *Aeromonas*, 3 adeti (% 0.45) *Alcaligenes*, 3 adeti (% 0.45) *Mannheimia*, 1 adeti (% 0.15) *Edwardsiella*, 1 adeti (% 0.15) *Proteus*, 4 adeti (% 0.6) *Salmonella*, 3 adeti (% 0.45) *Erwinia*, 1 adeti (% 0.15) *Serratia*, 9

adeti (% 1.35) *Escherichia coli*, 5 adeti (% 0.75) *Pantoea*, 14 adeti (% 2.1) *Hafnia*, 115 adeti (% 17.2) *Staphylococcus*, 3 adeti (% 0.45) *Micrococcus*, 8 adeti (% 1.2) *Kocuria*, 111 adeti (% 16.6) *Bacillus*, 3 adeti (% 0.45) *Virgibacillus*, 4 adeti (% 0.6) *Aneurinibacillus*, 2 adeti (% 0.3) *Brevibacillus*, 3 adeti (% 0.45) *Paenibacillus*, 6 adeti (% 0.9) *Geobacillus*, 75 adeti (% 11.2) *Enterococcus*, 27 adeti (% 4) *Streptococcus*, 14 adeti (% 2.1) *Lactococcus* ve 29 adeti (% 4.3) *Aerococcus* cinsine ait bakteriler olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.8).



Şekil IV.8. Tuzlanmış Derilerden İzole Edilerek Tanımlanan Mezofil Bakterilerin (668 adet) Cins Bazında Dağılımı.

Çalışmamızda, *Acinetobacter baumannii* (3 adet), *Acinetobacter calcoaceticus* (2 adet), *Acinetobacter haemolyticus* (1 adet), *Acinetobacter junii* ssp. *johnsonii* (5 adet), *Acinetobacter lwoffii* (5 adet), *Aerococcus urinae* (5 adet), *Aerococcus viridans* 1 (15 adet), *Aerococcus viridans* 2 (9 adet), *Aeromonas caviae* (1 adet), *Aeromonas hydrophila* (1 adet), *Alcaligenes faecalis* (3 adet), *Aneurinibacillus aneurinilyticus* (4 adet), *Bacillus amyloliquefaciens* (3 adet), *Bacillus cereus* 1 (2 adet), *Bacillus cereus* 2 (1 adet), *Bacillus firmus* (8 adet), *Bacillus laterosporus* (1 adet), *Bacillus lentus* (15 adet), *Bacillus licheniformis* (16 adet), *Bacillus megaterium* (10 adet), *Bacillus mycoides* (4 adet), *Bacillus pumilus* (20 adet), *Bacillus subtilis* (14 adet), *Bacillus thuringiensis* (17 adet), *Brevibacillus laterosporus* (2 adet), *Burkholderia gladioli* (7 adet), *Citrobacter amalonaticus* (1 adet), *Citrobacter ferundii* (3 adet), *Citrobacter* spp. (3 adet), *Comamonas testesteroni* (2 adet), *Edwardsiella tarda* (1 adet), *Enterobacter aerogenes* (4 adet), *Enterobacter agglomerans* (4 adet), *Enterobacter amnigenus* biogroup 1 (8 adet), *Enterobacter amnigenus* biogroup 2 (4 adet), *Enterobacter cloacae* (22 adet), *Enterobacter gergoviae* (9 adet), *Enterobacter intermedius* (4 adet), *Enterobacter liquefaciens* (3 adet), *Enterobacter sakazakii* (8 adet), *Enterococcus avium* (17 adet), *Enterococcus casseliflavus* (3 adet), *Enterococcus durans* (6 adet), *Enterococcus faecalis* (12 adet), *Enterococcus faecium* (14 adet), *Enterococcus gallinarum* (23 adet), *Erwinia* spp. (3 adet), *Escherichia coli* (9 adet), *Geobacillus stearothermophilus* (3 adet), *Geobacillus thermoglucosidiasius* (3 adet), *Hafnia alvei* 1 (9 adet), *Hafnia alvei* 2 (5 adet), *Klebsiella oxytoca* (1 adet), *Klebsiella pneumoniae* ssp. *ozanae* (1 adet), *Kocouira kristanea* (4 adet), *Kocouira varians/rosea* (4 adet), *Lactococcus* spp. (1 adet), *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (3 adet), *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (10 adet), *Mannheimia haemolytica* (3 adet), *Micrococcus* spp. (3 adet), *Paenibacillus pabuli* (3 adet), *Pantoea* spp. (2 adet), *Pantoea* spp.1 (3 adet), *Pasteurella multocida* (4 adet), *Pasteurella pneumotropica* (5 adet), *Proteus mirabilis* (1 adet), *Pseudomonas aeruginosa* (1 adet), *Pseudomonas fluorescens* (9 adet), *Pseudomonas luteola* (29 adet), *Pseudomonas maltophila* (2 adet), *Pseudomonas paucimobilis* (1 adet), *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (1 adet), *Pseudomonas putida* (16 adet), *Salmonella* spp.(1 adet), *Salmonella choleraesuis* ssp. *arizonae* (1 adet), *Salmonella paratyphi* A (1 adet), *Salmonella typhimurium* (1 adet), *Serratia marcescens* (1 adet), *Sphingomonas paucimobilis* (5 adet), *Staphylococcus aureus* (7 adet), *Staphylococcus capitis* (15 adet), *Staphylococcus caprae* (2 adet),

Staphylococcus chromogenes (2 adet), *Staphylococcus cohnii ssp. urealyticus* (4 adet), *Staphylococcus cohnii ssp. cohnii* (13 adet), *Staphylococcus epidermidis* (1 adet), *Staphylococcus hominis* (9 adet), *Staphylococcus hyicus* (7 adet), *Staphylococcus intermedius* (32 adet), *Staphylococcus lentus* (1 adet), *Staphylococcus lugdunensis* (3 adet), *Staphylococcus sciuri* (3 adet), *Staphylococcus xylosus* (15 adet), *Staphylococcus warneri* (1 adet), *Stenotrophomonas maltophilia* (12 adet), *Streptococcus acidominimus* (13 adet), *Streptococcus bovis* (2 adet), *Streptococcus pluranimalium* (4 adet), *Streptococcus thermophilus* (1 adet), *Streptococcus uberis* (7 adet), *Vibrio fluvialis* (27 adet), *Vibrio vulnificus* (5 adet), *Virgibacillus panthothenticus* (3 adet), *Yersinia pseudotuberculosis* (1 adet), *Yersinia ruckeri* (4 adet) gibi çeşitli bakteri türleri tuzlanmış derilerden izole edilerek tanımlanmıştır (Tablo IV.11).

İzole edilen 102 tür bakterinin 10 deri örneğinde bulunma sıklıkları Tablo IV.11’ de gösterilmiştir.

Tablo IV.11. İzole Edilen Bakteri Türlerinin 10 Adet Tuzlanmış Deri Örneğinde Bulunma Sıklıkları.

İzole Edilen Bakteri Türleri	Tuzlanmış Deri Örnekleri										Toplam
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Acinetobacter cinsi											
<i>Acinetobacter baumannii</i>			1					2			3
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>		1				1					2
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>			1								1
<i>Acinetobacter junii ssp. johnsonii</i>			1			1		3			5
<i>Acinetobacter lwoffii</i>								2	2	1	5
Aerococcus cinsi											
<i>Aerococcus urinae</i>				1	2	1		1			5
<i>Aerococcus viridans 1</i>	2	1	3	1	2	1	3	1		1	15
<i>Aerococcus viridans 2</i>				2	1	1		2	2	1	9
Aeromonas cinsi											
<i>Aeromonas caviae</i>			1								1
<i>Aeromonas hydrophila</i>						1					1
Alcaligenes cinsi											
<i>Alcaligenes faecalis</i>				1	1	1					3
Aneurinibacillus cinsi											
<i>Aneurinibacillus aneurinilyticus</i>	1						1	2			4
Bacillus cinsi											
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>		1		1	1						3

Tablo IV.11. Devamı.

	Tuzlanmış Deri Örnekleri										
İzole Edilen Bakteri Türleri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Toplam
<i>Bacillus cereus</i> 1									2		2
<i>Bacillus cereus</i> 2	1										1
<i>Bacillus firmus</i>		1		1	2	2		2			8
<i>Bacillus laterosporus</i>					1						1
<i>Bacillus lentus</i>	1	1	1	2	2	2		2	3	1	15
<i>Bacillus licheniformis</i>	1	1		1	1	2	2	3	3	2	16
<i>Bacillus megaterium</i>	1		1		1	3	2			2	10
<i>Bacillus mycoides</i>			1		1	1		1			4
<i>Bacillus pumilus</i>	1	3	1	1	3	2	1		5	3	20
<i>Bacillus subtilis</i>		1	1		3	1		1	4	3	14
<i>Bacillus thuringiensis</i>					2	2	5	3	2	3	17
<i>Brevibacillus cinsi</i>											
<i>Brevibacillus laterosporus</i>			1			1					2
<i>Burkholderia cinsi</i>											
<i>Burkholderia gladioli</i>							3	2	1	1	7
<i>Citrobacter cinsi</i>											
<i>Citrobacter amalonaticus</i>		1									1
<i>Citrobacter ferundii</i>	1		1	1							3
<i>Citrobacter spp.</i>	1	1					1				3
<i>Comamonas cinsi</i>											
<i>Comamonas testesteroni</i>	1					1					2
<i>Edwardsiella cinsi</i>											
<i>Edwardsiella tarda</i>			1								1
<i>Enterobacter cinsi</i>											
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1						1	2			4
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1		1				1			1	4
<i>Enterobacter amnigenus</i> biogroup 1		1	2	1	2	2					8
<i>Enterobacter amnigenus</i> biogroup 2	1			1			1	1			4
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	3	1	1	2	3	3	2	4	2	22
<i>Enterobacter gergoviae</i>	1	1	1	1	1		1	3			9
<i>Enterobacter intermedius</i>				1		1		2			4
<i>Enterobacter liquefaciens</i>	1		1				1				3
<i>Enterobacter sakazakii</i>			1	1	1			2	2	1	8
<i>Enterococcus cinsi</i>											
<i>Enterococcus avium</i>	2	2	2	2	1	3	2		2	1	17
<i>Enterococcus casseliflavus</i>			2	1							3
<i>Enterococcus durans</i>	1	1					1		2	1	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	3	1	1	2		2	1			12
<i>Enterococcus faecium</i>	1	1	1	1	1	2	1	3	2	1	14
<i>Enterococcus gallinarum</i>	1		3	4	2	1			6	6	23
<i>Erwinia cinsi</i>											
<i>Erwinia spp.</i>			1				1	1			3

Tablo IV.11. Devamı.

İzole Edilen Bakteri Türleri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Toplam
<i>Escherichia cinsi</i>											
<i>Escherichia coli</i>				2	4		2	1			9
<i>Geobacillus cinsi</i>											
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>							2	1			3
<i>Geobacillus thermoglucosidiasius</i>						2		1			3
<i>Hafnia cinsi</i>											
<i>Hafnia alvei</i> 1			1	2	1	1	2	2			9
<i>Hafnia alvei</i> 2				1	2	2					5
<i>Klebsiella cinsi</i>											
<i>Klebsiella oxytoca</i>		1									1
<i>Klebsiella pneumoniae ssp. ozanae</i>			1								1
<i>Kocuiira cinsi</i>											
<i>Kocuiira kristanea</i>				1	1	1				1	4
<i>Kocuiira varians/rosea</i>				1	1	1				1	4
<i>Lactococcus cinsi</i>											
<i>Lactococcus spp.</i>							1				1
<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>		1			1			1			3
<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i>	1				2	2		2	2	1	10
<i>Mannheimia cinsi</i>											
<i>Mannheimia haemolytica</i>									2	1	3
<i>Micrococcus cinsi</i>											
<i>Micrococcus spp.</i>			1					1	1		3
<i>Paenibacillus cinsi</i>											
<i>Paenibacillus pabuli</i>									2	1	3
<i>Pantoea cinsi</i>											
<i>Pantoea spp.</i>							1	1			2
<i>Pantoea spp.1</i>					2	1					3
<i>Pasteurella cinsi</i>											
<i>Pasteurella multocida</i>									2	2	4
<i>Pasteurella pneumotropica</i>									3	2	5
<i>Proteus cinsi</i>											
<i>Proteus mirabilis</i>			1								1
<i>Pseudomonas cinsi</i>											
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>								1			1
<i>Pseudomonas fluorescens</i>				1		2		2	2	2	9
<i>Pseudomonas luteola</i>	2	2	2	2	2	2	4	2	7	4	29
<i>Pseudomonas maltophila</i>		1	1								2
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>				1							1
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	1										1
<i>Pseudomonas putida</i>	2	2		1	2	1	2	1	2	3	16

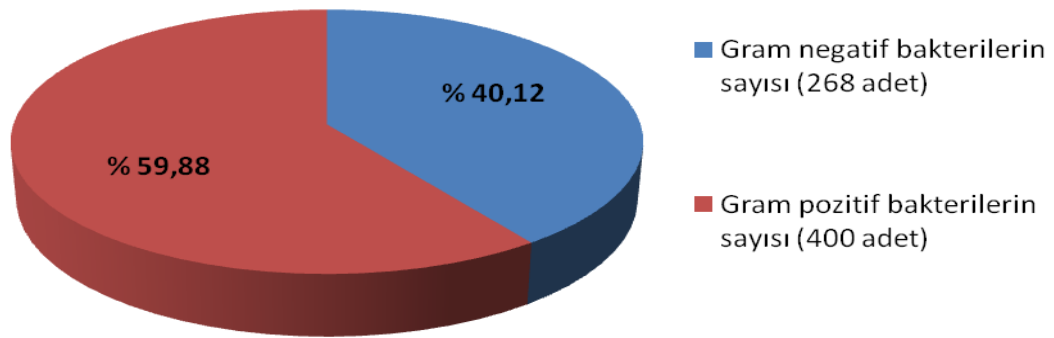
Tablo IV.11. Devamı.

İzole Edilen Bakteri Türleri	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Toplam
<i>Salmonella cinsi</i>											
<i>Salmonella spp.</i>			1								1
<i>Salmonella choleraesuis ssp. arizonae</i>				1							1
<i>Salmonella paratyphi A</i>				1							1
<i>Salmonella typhimurium</i>				1							1
<i>Serratia cinsi</i>											
<i>Serratia marcescens</i>			1								1
<i>Sphingomonas cinsi</i>											
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2	2				1					5
<i>Staphylococcus cinsi</i>											
<i>Staphylococcus aureus</i>					1		4	2			7
<i>Staphylococcus capitis</i>	2		1	1	2	2		1	4	2	15
<i>Staphylococcus caprae</i>					1			1			2
<i>Staphylococcus chromogenes</i>			1					1			2
<i>Staphylococcus cohnii ssp. urealyticus</i>		1		1	1					1	4
<i>Staphylococcus cohnii ssp. cohnii</i>	1			1	1	2	1	3		4	13
<i>Staphylococcus epidermidis</i>			1								1
<i>Staphylococcus hominis</i>			1		1	2			3	2	9
<i>Staphylococcus hyicus</i>			1		3	1				2	7
<i>Staphylococcus intermedius</i>	1	3	3	4	4	4	4	3	4	2	32
<i>Staphylococcus lentus</i>		1									1
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>			1					1		1	3
<i>Staphylococcus sciuri</i>		1	1		1						3
<i>Staphylococcus xylosus</i>	1			3	2	3	2		3	1	15
<i>Staphylococcus warneri</i>			1								1
<i>Stenotrophomonas cinsi</i>											
<i>Stenotrophomonas maltophila</i>					2	5			3	2	12
<i>Streptococcus cinsi</i>											
<i>Streptococcus acidominimus</i>				4	2	2	2	3			13
<i>Streptococcus bovis</i>				1		1					2
<i>Streptococcus pluranimalium</i>		1			1	1	1				4
<i>Streptococcus thermophilus</i>	1										1
<i>Streptococcus uberis</i>			3	2	2						7
<i>Vibrio cinsi</i>											
<i>Vibrio fluvialis</i>			3	4	3	3	3	2	2	7	27
<i>Vibrio vulnificus</i>						2		1		2	5
<i>Virgibacillus cinsi</i>											
<i>Virgibacillus panthothenticus</i>	1									2	3
<i>Yersinia cinsi</i>											
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	1										1
<i>Yersinia ruckeri</i>									3	1	4
Toplam											668

Çalışmamızda izole edilen ve tanımlanan bakterilerden *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas luteola* ve *Staphylococcus intermedius* 10 deri örneğinde de bulunmuştur (Tablo IV.11).

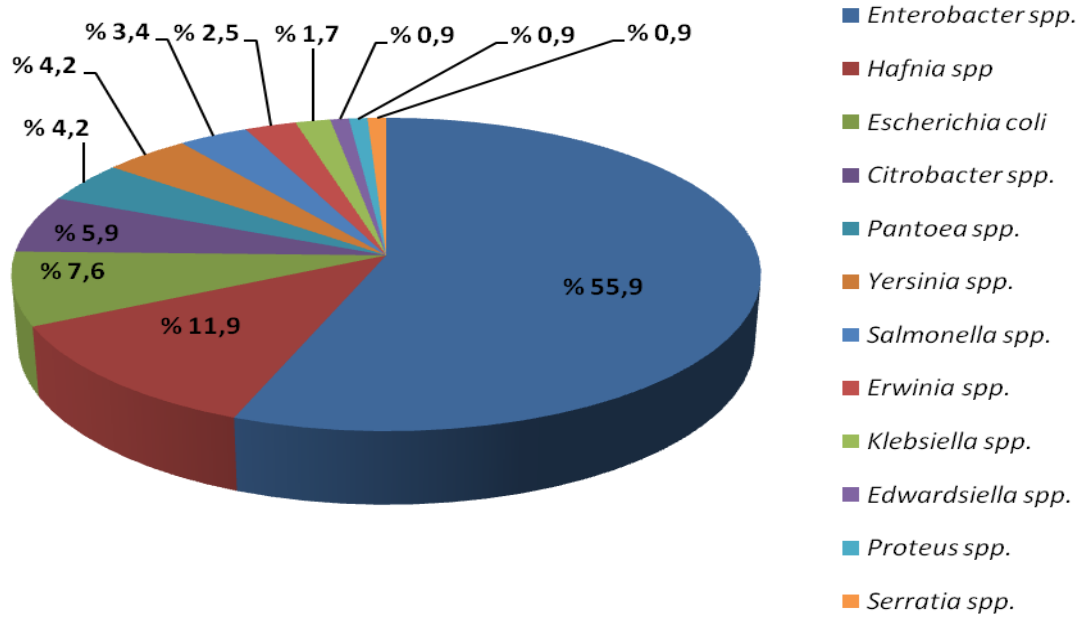
Aerococcus viridans 1, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* ve *Enterococcus avium* ve *Pseudomonas putida*'nın ise 9 deri örneğinde bulunduğu saptanmıştır (Tablo IV.11).

Çalışmamızda izole edilerek tanımlanan 668 adet bakteriden Gram negatif olanların 268 adet (% 40,12), Gram pozitif olanların 400 adet (% 59,88) olduğu gözlenmiştir (Şekil IV.9).



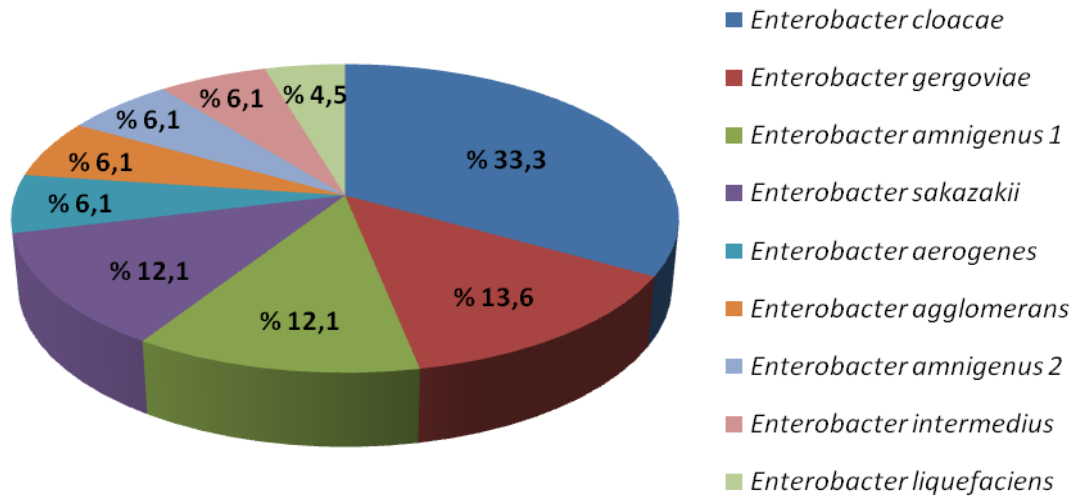
Şekil IV.9. İzole Edilerek Tanımlanan Gram Negatif ve Pozitif Bakterilerin Sayıları ve Oranları (%).

Çalışmamızda izole edilerek tanımlanan toplam 668 adet mezofil bakterinin 118 adetini (% 17.66) *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakterilerin oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu 118 bakterinin 66 adeti *Enterobacter* (% 55,9), 14 adeti *Hafnia* (% 11,9), 9 adeti *Escherichia* (% 7,6), 7 adeti *Citrobacter* (% 5,9), 5 adeti *Pantoea* (% 4,2), 5 adeti *Yersinia* (% 4,2), 4 adeti *Salmonella* (% 3,4), 3 adeti *Erwinia* (% 2,5), 2 adeti *Klebsiella* (% 1,7), 1 adeti *Edwardsiella* (% 0,9), 1 adeti *Proteus* (% 0,9) ve 1 adeti *Serratia* (% 0,9) cinsine ait bakteriler olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.10).



Şekil IV.10. Tuzlanmış Derilerden İzole Edilerek Tanımlanan *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait Bakterilerin *Enterobacteriaceae* Familyası İçindeki Oranları (%).

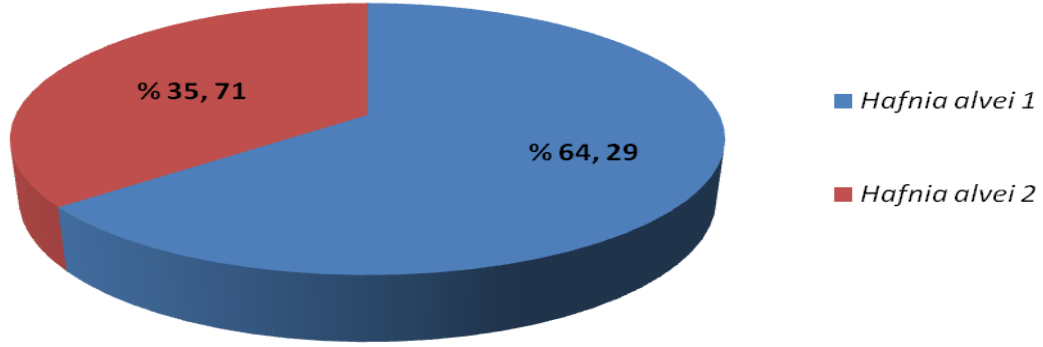
Enterobacteriaceae familyasına ait izole edilen bakterilerden sayıca en fazla olan cinsin *Enterobacter* olduğu saptanmıştır. *Enterobacter* cinsine ait 66 adet izolatin 22'si (% 33,3) *Enterobacter cloacae*, 9'u (% 13,6) *Enterobacter gergoviae*, 8'i (% 12,1) *Enterobacter amnigenus biogroup 1*, 8'i (% 12,1) *Enterobacter sakazakii*, 4'ü (% 6,1) *Enterobacter aerogenes*, 4'ü (% 6,1) *Enterobacter agglomerans*, 4'ü (% 6,1) *Enterobacter amnigenus biogroup 2*, 4'ü (% 6,1) *Enterobacter intermedius* ve 3'ü (% 4,5) de *Enterobacter liquefaciens* olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.11).



Şekil IV.11. *Enterobacter* Türlerinin *Enterobacter* Cinsi (66 Adet) İçindeki Oranları.

Enterobacteriaceae familyasına ait bakteriler içinde *Enterobacter* cinsinden sonra tuzlanmış derilerden en fazla izole edilen cinsin *Hafnia* (14 adet) olduğu belirlenmiştir.

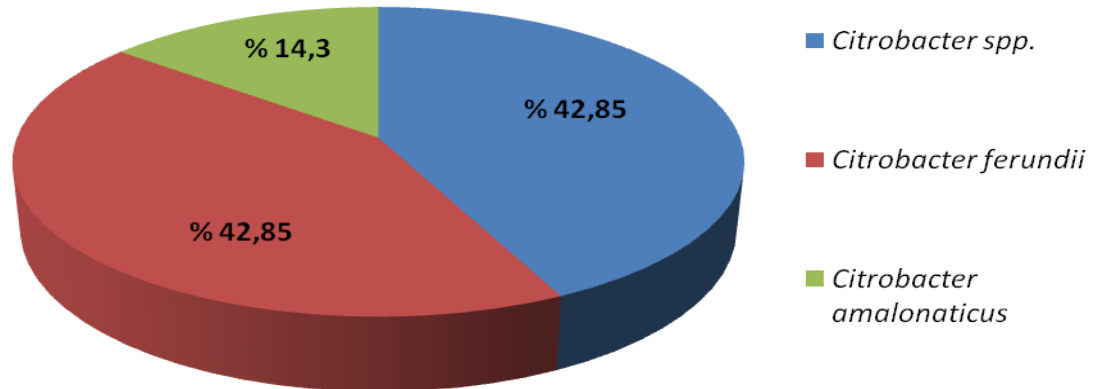
Hafnia cinsine ait 14 adet izolatın 9 adeti (% 64,29) *Hafnia alvei* 1, 5 adeti (% 35,71) *Hafnia alvei* 2 türü olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.12).



Şekil IV.12. *Hafnia* Türlerinin *Hafnia* Cinsi (14 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

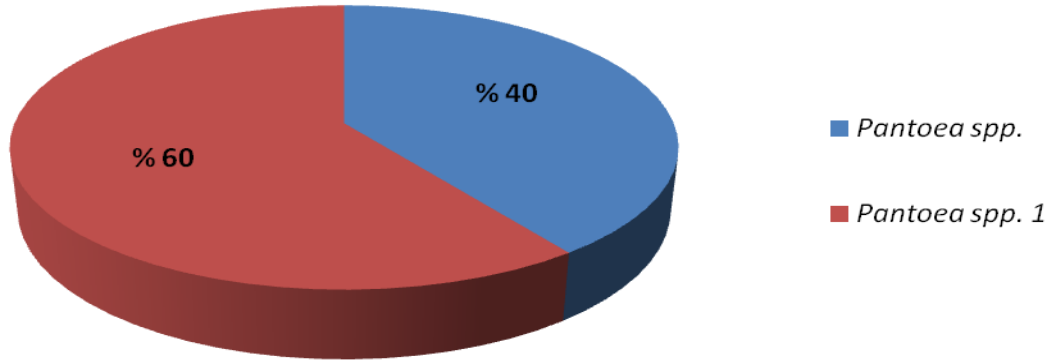
Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerden en fazla izole edilen 3. cinsin *Escherichia* (9 adet) cinsi olduğu saptanmıştır. *Escherichia* cinsine ait 9 izolatın tamamı *Escherichia coli* olarak tanımlanmıştır.

Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerden en fazla izole edilen 4. cinsin *Citrobacter* (7 adet) cinsi olduğu belirlenmiştir. *Citrobacter* cinsine ait 7 adet izolatın 3 adeti (% 42,85) *Citrobacter ferundii*, 3 adeti (% 42,85) *Citrobacter spp.* ve 1 adeti (% 14,3) *Citrobacter amalonaticus* olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.13).



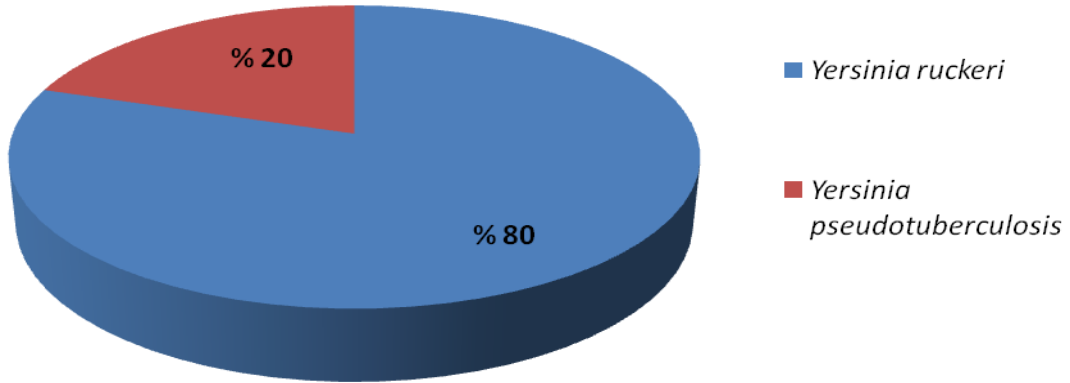
Şekil IV.13. *Citrobacter* Türlerinin *Citrobacter* Cinsi (7 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerden sayıca fazla izole edilen 5. cinsin *Pantoea* (5 adet) olduğu saptanmıştır. 5 adet *Pantoea* izolatlarının 3 adeti (% 60) *Pantoea spp.1*, 2 adeti (% 40) *Pantoea spp.* olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.14).



Şekil IV.14. *Pantoea* Türlerinin *Pantoea* Cinsi (5 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

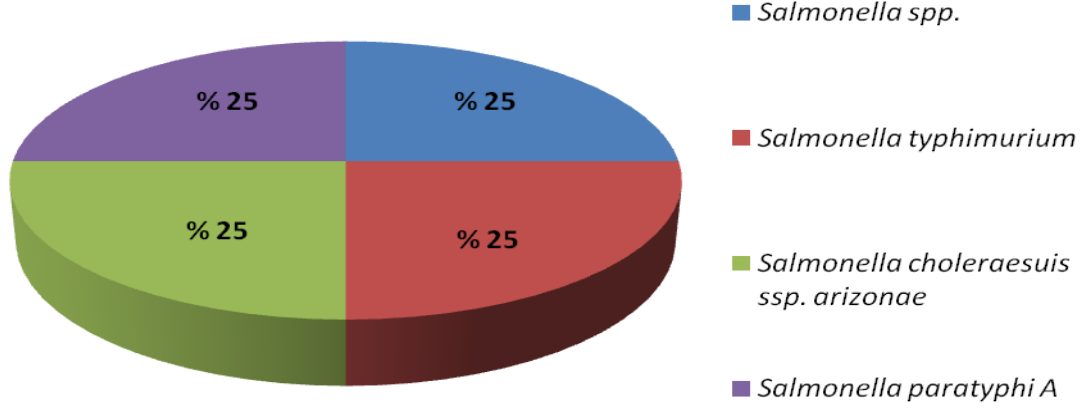
Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerden sayıca fazla izole edilen 6. cinsin *Yersinia* (5 adet) olduğu görülmüştür. *Yersinia* cinsine ait 5 izolattan 4' ü (% 80) *Yersinia ruckeri*, 1' i (% 20) *Yersinia pseudotuberculosis* olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.15).



Şekil IV.15. *Yersinia* Türlerinin *Yersinia* Cinsi (5 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

Enterobacteriaceae familyasına ait izole edilen bakterilerden sayıca fazla olan 7. cinsin *Salmonella* (4 adet) olduğu belirlenmiştir. *Salmonella* cinsine ait 4

izolattan 1' i (% 25) *Salmonella* spp., 1' i (% 25) *Salmonella typhimurium*, 1' i (% 25) *Salmonella choleraesuis ssp.arizonae* ve 1' i (% 25) *Salmonella paratyphi A* olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.16).

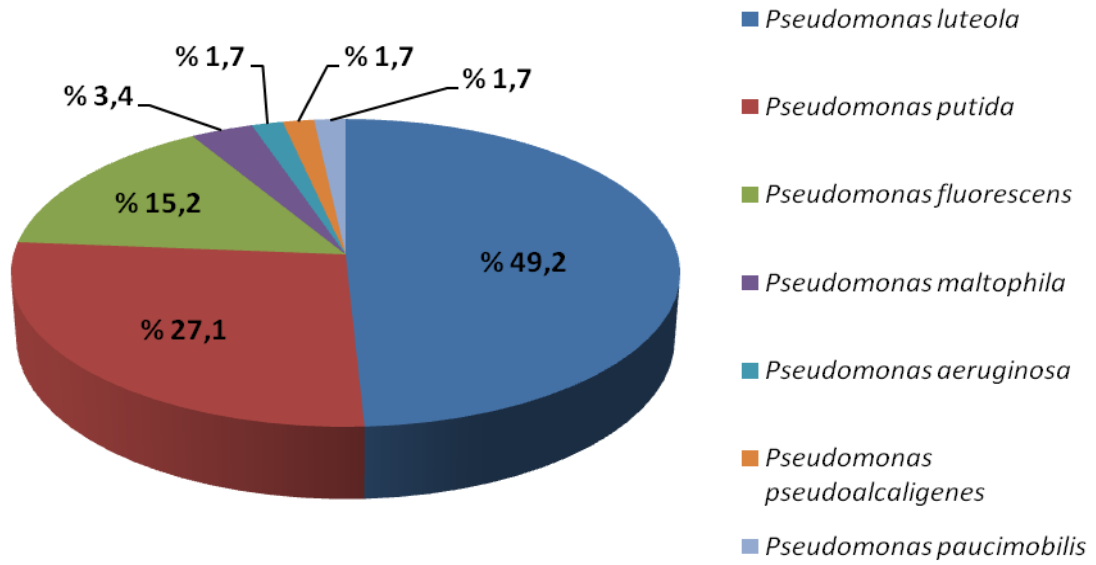


Şekil IV.16. *Salmonella* Türlerinin *Salmonella* Cinsi (4 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

Ayrıca *Enterobacteriaceae* familyasına ait izole edilen bakterilerden 3 adet *Erwinia* spp., 1 adet *Klebsiella oxytoca*, 1 adet *Klebsiella pneumoniae ssp.ozanae*, 1 adet *Edwardsiella tarda*, 1 adet *Proteus mirabilis* ve 1 adet *Serratia marcescens* tanımlanmıştır.

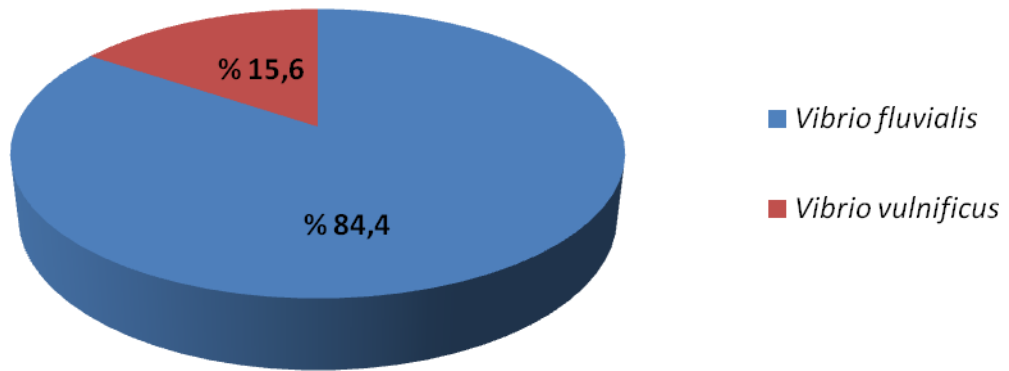
Çalışmamızda diğer Gram negatif bakteri cinsleri olarak *Pseudomonas* (59 adet), *Vibrio* (32 adet), *Acinetobacter* (16 adet), *Stenotrophomonas* (12 adet), *Pasteurella* (9 adet), *Burkholderia* (7 adet), *Sphingomonas* (5 adet), *Alcaligenes* (3 adet), *Mannheimia* (3 adet), *Comamonas* (2 adet) ve *Aeromonas* (2 adet) izole edilerek tanımlanmıştır.

Pseudomonas cinsine ait izole edilen 59 adet izolattan 1'i *Pseudomonas aeruginosa* (% 1,7), 16' sı *Pseudomonas putida* (% 27,1), 29' u *Pseudomonas luteola* (% 49,2), 9' u *Pseudomonas fluorescens* (% 15,2), 2' si *Pseudomonas maltophilia* (% 3,4), 1' i *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (% 1,7) ve 1' i *Pseudomonas paucimobilis* (% 1,7) tanımlanmıştır (Şekil IV.17).



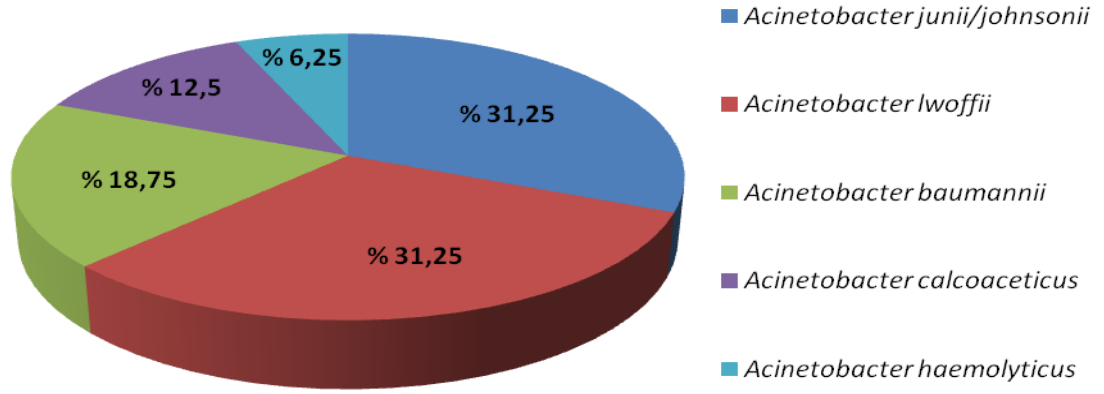
Şekil IV.17. *Pseudomonas* Türlerinin *Pseudomonas* Cinsi (59 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

Vibrio cinsine ait izole edilen 32 adet izolatın 27 adeti *Vibrio fluvialis* (% 84,4), 5 adeti ise *Vibrio vulnificus* (% 15,6) olarak tanımlamıştır (Şekil IV.18).



Şekil IV.18. *Vibrio* Türlerinin *Vibrio* Cinsi (59 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

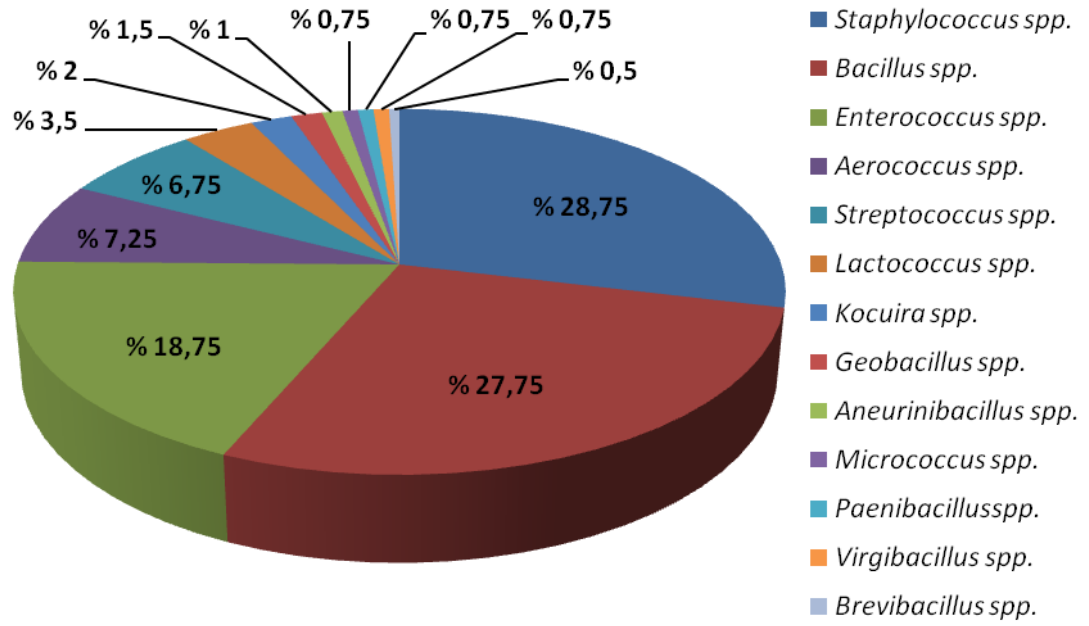
İzole edilen 16 *Acinetobacter* izolatından 5'i *Acinetobacter junii/johnsonii* (% 31,25), 5'i *Acinetobacter lwoffii* (% 31,25), 3' ü *Acinetobacter baumannii* (% 18,75), 2'si *Acinetobacter calcoaceticus* (% 12,5) ve 1'i *Acinetobacter haemolyticus* (% 6,25) türü olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.19).



Şekil IV.19. *Acinetobacter* Türlerinin *Acinetobacter* Cinsi (16 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

Stenotrophomonas cinsine ait 12 izolatın hepsi *Stenotrophomonas maltophila*, *Burkholderia* cinsine ait 7 izolatın hepsi *Burkholderia gladioli*, *Sphingomonas* cinsine ait 5 izolatın hepsi *Sphingomonas paucimobilis*, *Alcaligenes* cinsine ait 3 izolatın hepsi *Alcaligenes faecalis*, *Mannheimia* cinsine ait 3 izolatın hepsi *Mannheimia haemolytica*, *Comamonas* cinsine ait 2 izolatın hepsi *Comamonas testesteroni*, *Pasteurella* cinsine ait 9 izolatın 5'i *Pasteurella pneumotropica*, 4' ü *Pasteurella multocida* ve *Aeromonas* cinsine ait 2 izolatın 1' i *Aeromonas hydrophila* diğeri *Aeromonas caviae* olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda Gram pozitif bakteriler olarak *Aerococcus spp.* (29 adet), *Aneurinibacillus spp.* (4 adet), *Bacillus spp.* (111 adet), *Brevibacillus spp.* (2 adet), *Enterococcus spp.* (75 adet), *Geobacillus spp.* (6 adet), *Kocuria spp.* (8 adet), *Lactococcus spp.* (14 adet), *Micrococcus spp.* (3 adet), *Paenibacillus spp.* (3 adet), *Staphylococcus spp.* (115 adet), *Streptococcus spp.* (27 adet) ve *Virgibacillus spp.* (3 adet) izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Şekil IV.20).

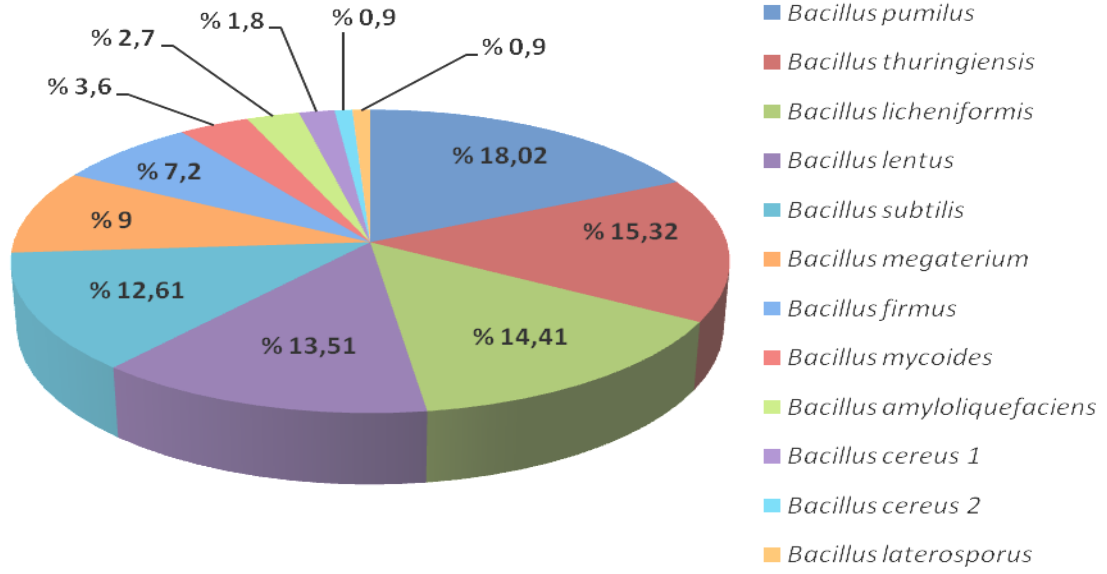


Şekil IV.20. İzole Edilen Gram Pozitif Bakteri Cinslerinin Toplam Gram Pozitif Bakteriler (400 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

Çalışmamızda *Aerococcus* cinsine ait toplam 29 izolat izole edilmiştir. Bu izolatların 15' i *Aerococcus viridans* 1, 9' u *Aerococcus viridans* 2 ve 5' i *Aerococcus urinae* olarak tanımlanmıştır.

Aneurinibacillus cinsine ait 4 izolatın hepsi *Aneurinibacillus aneurinilyticus* olarak tanımlanmıştır.

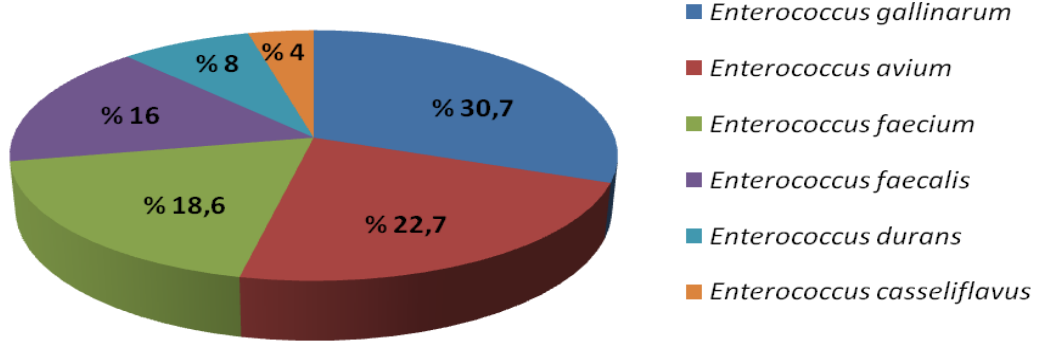
Bacillus cinsine ait izole edilen 111 izolattan 20' si *Bacillus pumilus* (% 18,02), 17' si *Bacillus thuringiensis* (% 15,32), 16' sı *Bacillus licheniformis* (% 14,41), 15' i *Bacillus lentus* (% 13,51), 14' ü *Bacillus subtilis* (% 12,61), 10' u *Bacillus megaterium* (% 9), 8' i *Bacillus firmus* (% 7,2), 4' ü *Bacillus mycoides* (% 3,6), 3'ü *Bacillus amyloliquefaciens* (% 2,7), 2' si *Bacillus cereus* 1 (% 1,8), 1' i *Bacillus cereus* 2 (% 0,9) ve 1' i *Bacillus laterosporus* (% 0,9) olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.21).



Şekil IV.21. *Bacillus* Türlerinin *Bacillus* Cinsi (111 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

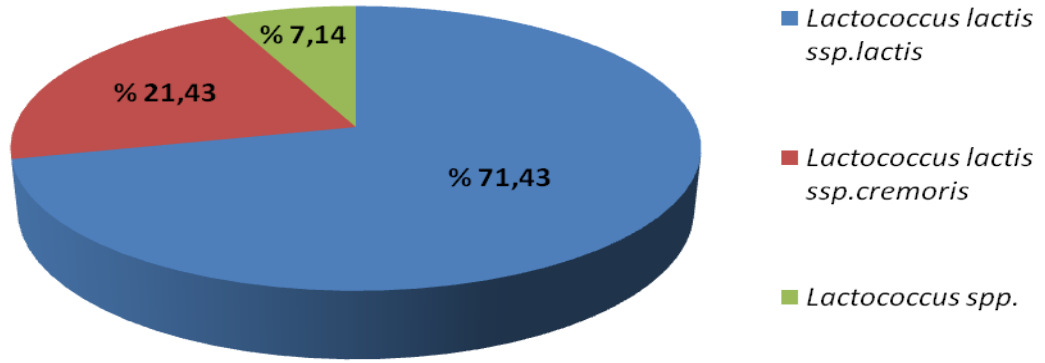
Çalışmamızda *Brevibacillus* cinsine ait 2 izolatın hepsi *Brevibacillus laterosporus*, *Geobacillus* cinsine ait 6 izolatın 3' ü *Geobacillus thermoglucosidiasius*, 3' ü *Geobacillus stearothermophilus*, *Paenibacillus* cinsine ait 3 izolatın hepsi *Paenibacillus pabuli*, *Virgibacillus* cinsine ait 3 izolatın hepsi *Virgibacillus panthothenticus* türü olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda *Enterococcus* cinsine ait 75 izolat izole edilmiştir. Bunlardan 23' ü *Enterococcus gallinarum* (% 30,7), 17' si *Enterococcus avium* (% 22,7), 14' ü *Enterococcus faecium* (% 18,6), 12'si *Enterococcus faecalis* (% 16), 6' sı *Enterococcus durans* (% 8) ve 3' ü *Enterococcus casseliflavus* (% 4) olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.22).



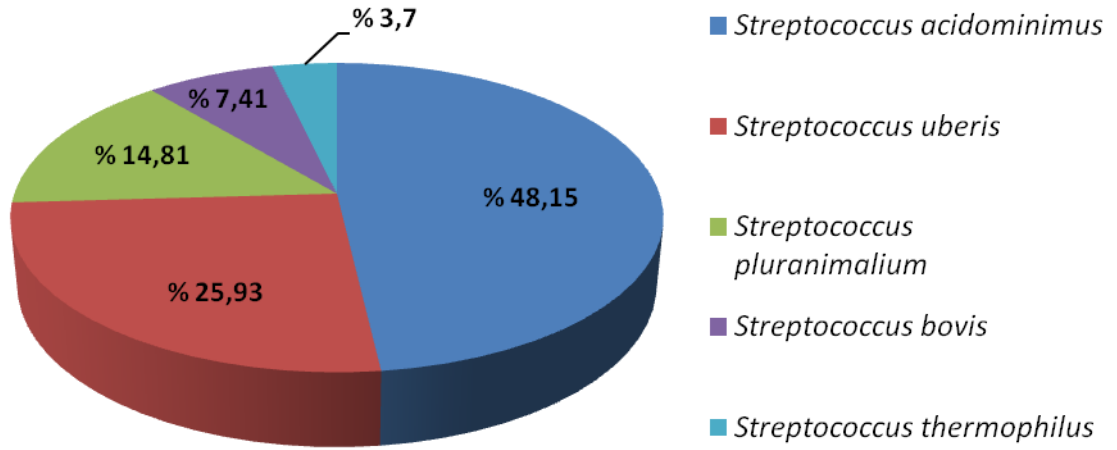
Şekil IV.22. *Enterococcus* Türlerinin *Enterococcus* Cinsi (75 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

Çalışmamızda *Lactococcus* cinsine ait 14 izolat izole edilmiştir. İzolatlardan 10' u *Lactococcus lactis ssp.lactis* (% 71,43), 3' ü *Lactococcus lactis ssp.cremoris* (% 21,43) ve 1' i *Lactococcus spp.* (% 7,14) olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.23).



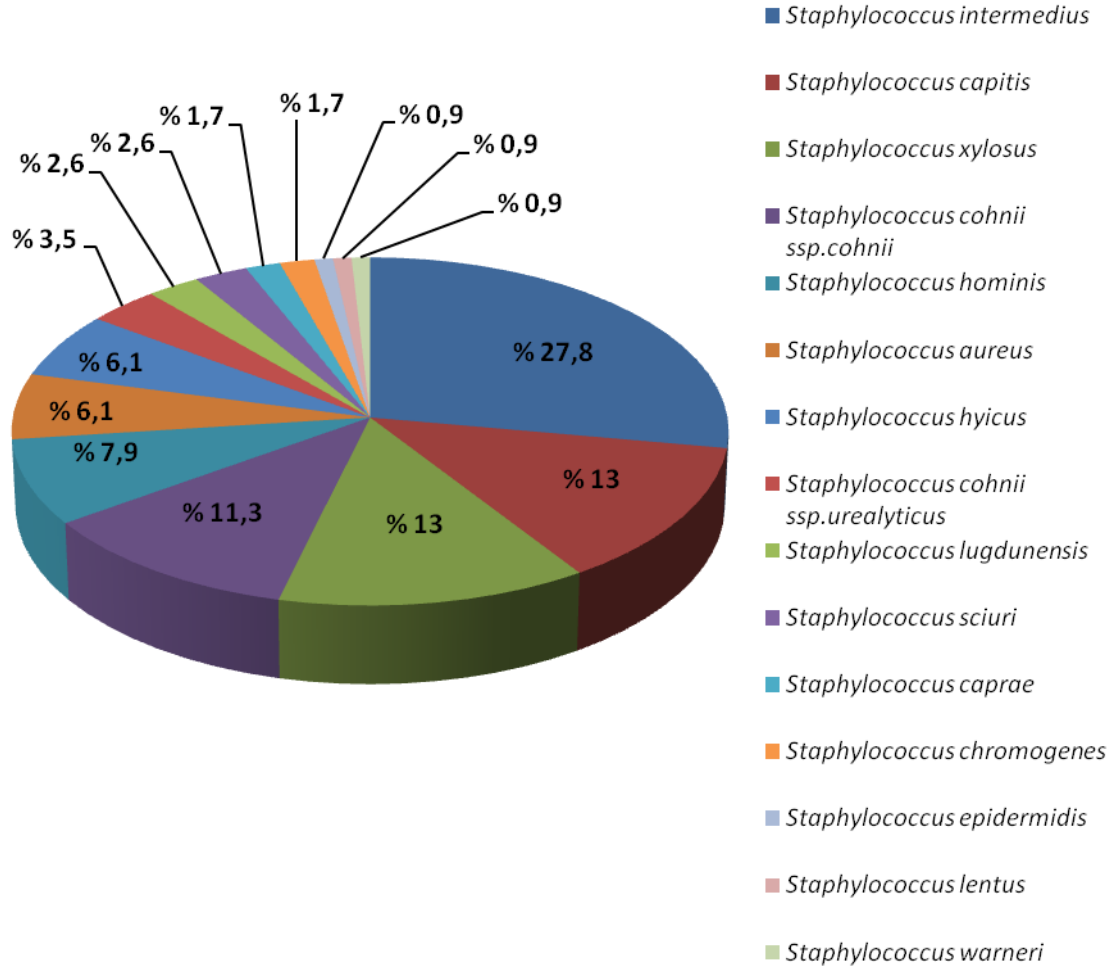
Şekil IV.23. *Lactococcus* Türlerinin *Lactococcus* Cinsi (14 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

Çalışmamızda *Streptococcus* cinsine ait toplam 27 izolat izole edilmiştir. İzolatlardan 13' ü *Streptococcus acidominimus* (% 48,15), 7' si *Streptococcus uberis* (% 25,93), 4' ü *Streptococcus pluranimalium* (% 14,81), 2' si *Streptococcus bovis* (% 7,41) ve 1' i *Streptococcus thermophilus* (% 3,7) olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.24).



Şekil IV.24. *Streptococcus* Türlerinin *Streptococcus* Cinsi (27 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

Çalışmamızda *Staphylococcus* cinsine ait toplam 115 izolat izole edilmiştir. Bu izolatlardan 32'si *Staphylococcus intermedius* (% 27,8), 15' i *Staphylococcus capitis* (% 13), 15' i *Staphylococcus xylosus* (% 13), 13' ü *Staphylococcus cohnii ssp.cohnii* (% 11,3), 9' u *Staphylococcus hominis* (% 7,9), 7' si *Staphylococcus aureus* (% 6,1), 7' si *Staphylococcus hyicus* (% 6,1), 4' ü *Staphylococcus cohnii ssp.urealyticus* (% 3,5), 3' ü *Staphylococcus lugdunensis* (% 2,6), 3' ü *Staphylococcus sciuri* (% 2,6), 2' si *Staphylococcus caprae* (% 1,7), 2' si *Staphylococcus chromogenes* (% 1,7), 1' i *Staphylococcus epidermidis* (% 0,9), 1'i *Staphylococcus lentus* (% 0,9) ve 1' i *Staphylococcus warneri* (% 0,9) olarak tanımlanmıştır (Şekil IV.25).



Şekil IV.25. *Staphylococcus* Türlerinin *Staphylococcus* Cinsi (115 Adet) İçerisindeki Oranları (%).

Çalışmamızda *Kocuria* cinsine ait izole edilen 8 izolatin 4 tanesi *Kocuria varians/rosea*, 4 tanesi de *Kocuria kristanea* ve *Micrococcus* cinsine ait izole edilen 3 izolatin hepsi *Micrococcus spp.* olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda en fazla izole edilen cinslerin *Staphylococcus* (115 adet), *Bacillus* (111 adet), *Enterococcus* (75 adet), *Enterobacter* (66 adet) ve *Pseudomonas* (59 adet) olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda en fazla izole edilen cinslerin en fazla rastlanan türlerinin *Staphylococcus intermedius*, *Bacillus pumilus*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterobacter cloacae* ve *Pseudomonas luteola* olduğu belirlenmiştir.

Hanlin ve arkadaşları (1995), sığır derilerinde yaygın olarak *Proteus*, *Corynebacterium* ve *Staphylococcus* cinslerine ait türlerin olduğunu açıklamışlardır.

Araştırmacılar taze ve tuzlanmış deri mikrobiyal florasının çok çeşitlilik gösterdiğini belirtmişlerdir ve çalışmalarında çoğunlukla *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Carcina* ve *Flavobacterium* cinslerine ait türler türler izole etmişlerdir (Anderson, 1949; Woods ve ark., 1970). Bizim çalışmamızda da *Staphylococcus* ve *Bacillus* cinslerinin en yaygın cins olduğu saptanmıştır.

Derinin normal florasında *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium pyogenes*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi mikroorganizmaların bulunduğu açıklanmıştır (Champion ve ark., 1970; Rawlings ve Cooper, 1975; Kuroczkin ve Strzelczyk, 1989).

Araştırmacılar ham derilerden *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Staphylococcus*, *Bacillus* ve *Rhodococcus* gibi mikroorganizmaları izole edip tanımladıklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca *Bacillus*, *Achromobacter* ve *Rhodococcus* gibi mikroorganizmaların tuzlu ortamda gelişebildiklerini, *Bacillus subtilis* ve *B. mycoides*' in yüksek tuz konsantrasyonlarına kolayca adapte olabildiğini belirtmişlerdir (Leslie, 1923; Kritzing ve Van Zyl, 1945; Anderson, 1949; Woods ve ark., 1970; Venkatesan ve ark., 1970).

Birbir (1991), araştırmasında kesimden hemen sonra aldığı 10 adet taze deri örneğinde *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. sphaericus*, *B. megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus roseus* ve *Kurthia variabilis* türlerini izole edip tanımladığını belirtmiştir. Araştırmacı 1 haftalık tuzlu salamura derilerden *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. sphaericus*, *B. pumilis*, *B. licheniformis*, *B. brevis*, *B. megaterium*, *Kurthia variabilis*, *Micrococcus candidus*, *M. luteus*, *M. rubens*, *Micrococcus roseus*, *Staphylococcus aureus* ve *S. epidermidis* tanımladığını belirtmiştir.

Venkatesan ve ark. (1970), kesimden hemen sonra aldıkları keçi derilerinde 12 farklı mikroorganizma izole ettiklerini ancak *Achromobacter liquefaciens*, *Brevibacterium insectiphilium*, *Flavobacterium lactis* ve *Streptococcus pyogenes* gibi mikroorganizmaların yıkama işlemi ile uzaklaştırıldığını, 24 saat süreyle tuzlanmış deriden *Micrococcus roseus* izole ettiklerini belirtmişlerdir.

Bergmann (1929), tuzlu derilerin çok sıcak ve nemli ortamlarda depolandığında fazla miktarda *Sarcina lutea*, *Sarcina auriantica*, *Micrococcus roseus* ve *Actinomyces bovis* türlerinin geliştiğini, *Sarcina auriantica* ve *Micrococcus roseus* türlerinin pH 9' da bile geliştiklerini açıklamıştır.

Nandy ve Sen (1963), yüksek tuz konsantrasyonuna sahip derilerde *Sarcina litoris*' i izole ettiklerini belirtmişlerdir.

Tancous (1972), tuz oranının yüksek olduğu derilerde *Chromobacterium marismortui*' nin bulunduğunu ve % 12 NaCl içeren agarda mavi-mor renkte görüldüğünü bildirmiştir.

Dempsey (1969) kırmızı lekeli derilerden izole ettiği mikroorganizmaların *Sarcina lutea*, *S. auriantica*, *Micrococcus roseus*, *M. rubens*, *Proteus* türleri ve *Bacillus subtilis* olduğunu belirtmiştir. Lloyd ve arkadaşları ise (1929), kırmızı ve sarı renkli olan mikroorganizmaların *Sarcina* olduklarını açıklamıştır.

Orlita (2004), çalışmalarında tuzlanmış derilerden 100 farklı bakteri izole ettiğini, bunlardan 36' sının halofilik koklar olarak tanımlandığını, kalan 64 suşun Gram negatif veya Gram pozitif çomaklar olduğunu belirtmiştir. Ayrıca çalışmasında halofilik bakterilerin deri üzerinde hızla çoğalmalarının özellikle kırmızı ve mor noktalar şeklinde görüldüğünü ve bu renkli noktalardan en çok *Micrococcus roseus*, *M. luteus* ve *M. morrhuae* izole ettiğini belirtmiştir.

Shede ve arkadaşları (2008), araştırmalarında 16S rRNA dizi analiz çalışmaları ile *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Proteus*, *Myroides*, *Brevibacterium*, *Vagococcus*, *Staphylococcus*, *Mycoplasma* ve *Weeksella* olmak üzere 11 cins tanımladıklarını ve toplamda bu cinslere ait 17 tür elde edildiğini açıklamışlardır. Bizim çalışmamızda da *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Proteus* ve *Staphylococcus* cinsleri izole edilmiştir.

Araştırmacılar, taze derilerde bulunan bakterileri 16S rRNA dizi analizi yöntemi ile tanımlamışlar ve 16 farklı cinse ait bakterileri izole etmişlerdir. Bu bakterilerden *Janibacter terrae*, *Acidovorax*, *Dietzia maris*, *Arthrobacter protophormiae*, *Comamonas* spp., *Brevibacterium lutescens*, *Jeotgalicoccus psychrophilus*, *Nocardiopsis* sp., *Delftia acidovorans*, *Pseudomonas cannabina*, *Pseudomonas fulgida*, *Aeromonas* ve *Acinetobacter*' e ait bazı türlerin tabaklama aşamasında ilk defa görüldüğünü belirtmişlerdir (Oppong ve ark., 2006).

Antychowicz ve Rogulska (1985) ise deriden *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Xanthomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* ve *Procolobacterium* gibi mikroorganizmaları izole ve tanımlamışlardır.

Araştırmacılar tuzlanmış deride *Alcaligenes marshallii*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus pantothenicus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilis*, *Kurthia variabilis*, *Micrococcus*

roseus, *Micrococcus rubens* ve *Staphylococcus aureus* bulduklarını belirtmişlerdir (Anderson, 1949; Tancous, 1961; Woods ve Atkinson, 1970; Woods ve ark., 1970; Nandy ve Venkatesan, 1974).

Birbir (1991), yaptığı çalışmada iki aylık tuzlu salamura derilerden *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus firmus*, *Kurthia variabilis*, *Micrococcus candidus*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus roseus*, *Micrococcus rubens*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* tanımladığını belirtmiştir.

Araştırmacılar ıslak tuzlanmış derilerden *Bacillus* türleri, *Proteus vulgaris*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter imoffii* ve *Citrobacter ferundii*; taze derilerden 3 saat sonra *Bacillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus durans*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter imoffii* ve tuzla salamura edilmiş 4 günlük derilerden ise *Bacillus* türleri, *Proteus mirabilis* ve *Escherichia coli* gibi mikroorganizmaları izole edip tanımladıklarını belirtmişlerdir (Boyd ve ark., 2003).

Kesimden hemen sonra alınan tuzlanmamış derilerde Gram pozitif basil ve kokların baskın olduğu Hanlin ve arkadaşları (1995) tarafından gösterilmiştir. Araştırmacılar tuzlanmamış derilerin 25 °C’de 2 gün saklanmasıdan sonra bakteriyel floranın değiştiğini ve hareketli Gram negatif basillerin baskın hale geçtiğini belirtmişlerdir. Bizim çalışma sonuçlarımız, araştırmacıların çalışma sonuçlarını desteklemiştir. Çalışmamızda Gram pozitif bakterilerin sayısı 400, Gram negatif bakterilerin sayısı 268 olarak saptanmıştır. Gram pozitif bakterilerin çoğunluğunu kokların (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus* ve *Micrococcus*) oluşturduğu belirlenmiştir.

Lunam ve Weir (2006), devekuşu derileri üzerine yaptıkları bir çalışmada tuzlanmış ve tuzlanmamış derilerde bulunan mikroorganizma türlerini araştırmışlar ve tuzlanmış-tuzlanmamış derilerdeki bakteri florası arasında belirgin farklılıklar bulmuşlardır. Araştırmacılar, tuzlanmamış derilerde yoğun bir şekilde Gram negatif basil (*Hafnia alvei*, *Enterobacter cloacae*, *Aeromonas spp.*, *Enterobacter amnigenus*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter lwoffii* ve *Proteus spp.*) ve az sayıda Gram pozitif bakteri gördüklerini belirtmişlerdir. İzole edilen Gram negatif bakterilerin toprak, su, hayvan, insan ve kanalizasyon kökenli olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar tuzlanmış derilerde ise Gram negatif bakteriye rastlamadıklarını, *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Bacillus* türleri ile

Zygomycete spp. ve *Alternaria spp.* izole ettiklerini açıklamışlardır. Tuzlanmış ve tuzlanmamış derilerden izole edilen Gram pozitif bakteriler tuza toleranslı bulunmuşlardır.

Polkade (2007) kesimden hemen sonra incelenen taze kara sığır (yaban sığırı) derisinden *Bacillus circus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter radioresistans*, *Acinetobacter lwoffii*, *Proteus mirabilis*, *Aeromonas punctata caviae*, *Kurthia gibsenii*, *Staphylococcus equorum*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Escherichia coli*, *Shigella boydii*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Photobacterium luminescens*, *Sphingomonas paucimobilis* ve *Stenotrophomonas sp.* izole ettiğini açıklamıştır. Araştırmacı, et endüstrisinde *Shigella*, *Proteus*, ve *Pseudomonas* gibi ciddi sorun oluşturacak olan türleri izole ettiğini, izole ettikleri bakterilerin çoğunun *Enterobacteriaceae* familyasına ait türler ve Gram negatif bakteriler olduğunu belirtmiştir. Araştırmacı kesimden hemen sonra aldığı taze derilerden ayrıca *B.cereus*, *B.megaterium*, *B.subtilis*, *B.sphaericus*, *Kurthia variabilis*, *S.aureus*, *S. sciuri*, *S. xylosus*, *S.homonis*, *P.fulgida*, *P.cannabina*, *P.putida*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Micrococcus roseus*, *Arthrobacter protophormiae*, *Brevibacterium lutescens* ve *Dietzia maris* izole ve tanımlanmış olduğunu açıklamıştır.

Reid ve arkadaşları (2002) sığır derilerinin mikrobiyolojik açıdan değerlendirilmesinde indikatör mikroorganizma olarak *Escherichia coli* kullanılabileceğini açıklamışlardır.

Bell (1997) deri kontaminasyonunun asıl nedeninin hayvan dışkıları olduğunu açıklamıştır.

Araştırmacılar hayvanların dışkısında bulunan *Escherichia coli*'nin hayvanın kesim işlemi esnasında ete geçtiğini belirtmişlerdir (Chapman ve ark., 1993; Armstrong ve ark., 1996; Johnson ve ark., 1996).

Byrne ve arkadaşları (2002) canlı hayvanın üzerindeki dışkıları yıkayarak kesim esnasında derinin et yüzeyinden *Escherichia coli* O157:H7'nin geçişinin azaltılabileceğini saptamıştır.

Aslam ve arkadaşları (2003) sığır etinde ve sığır derisinde bulunan *Escherichia coli*'nin kaynağını araştırmışlardır. Araştırmacılar, deriden izole edilen *E.coli* tiplerinin dışkıdan izole edilenlere benzer olduğunu saptamışlardır. Bir kaç özgün tipin deriden izole edildiğini açıklamışlardır.

Çalışmamızda tuzlanmış derilerden araştırmacılar tarafından belirtilen *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus brevis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumonia*, *Citrobacter ferundii*, *Enterococcus durans*, *Proteus mirabilis*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter amnigenus*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter lwoffii*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus hominis*, *Pseudomonas putida* türleri ve *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Comamonas* ve *Stenotrophomonas spp.* cinsleri izole edilmiştir (Leslie, 1923; Kritzing ve Van Zyl, 1945; Anderson, 1949; Tancous, 1961; Dempsey, 1969; Woods ve ark., 1970; Woods ve Atkinson, 1970; Venkatesan ve ark., 1970; Champion ve ark., 1970; Nandy ve Venkatesan, 1974; Rawlings ve Cooper, 1975; Antychowicz ve Rogulska, 1985; Kuroczkin ve Strzelczyk, 1989; Birbir, 1991; Boyd ve arkadaşları, 2003; Lunam ve Weir, 2006; Polkade, 2007; Shede ve ark., 2008).

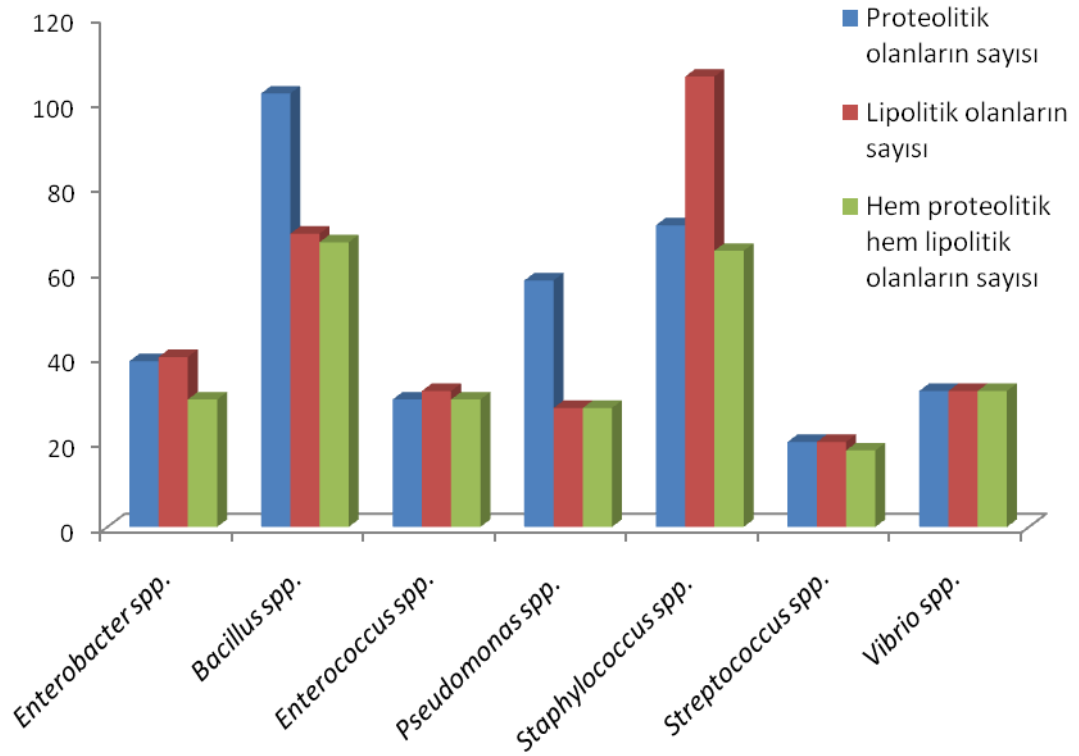
Çalışmamızda tuzlanmış deri örneklerinden hayvanın bacak, kuyruk, sağrı ve etek bölgesinden alınan örneklerde daha fazla sayıda enterik bakteri saptanmıştır. Tuzlanmış derilerden izole ettiğimiz enterik bakterilerin derinin alındığı hayvanın dışkı kaynaklı olduğu araştırmacılar tarafından da desteklenmektedir (Chapman ve ark., 1993; Armstrong ve ark., 1996; Johnson ve ark., 1996; Bell, 1997; Bryne ve ark., 2002; Aslam ve ark., 2003; Lunam ve Weir, 2006).

Deri kalitesi ile ilgili çalışmalarda özellikle derilerdeki mikroorganizmaların proteolitik, kollajenolitik ve lipolitik aktivitelerinin belirlenmesi oldukça önemlidir.

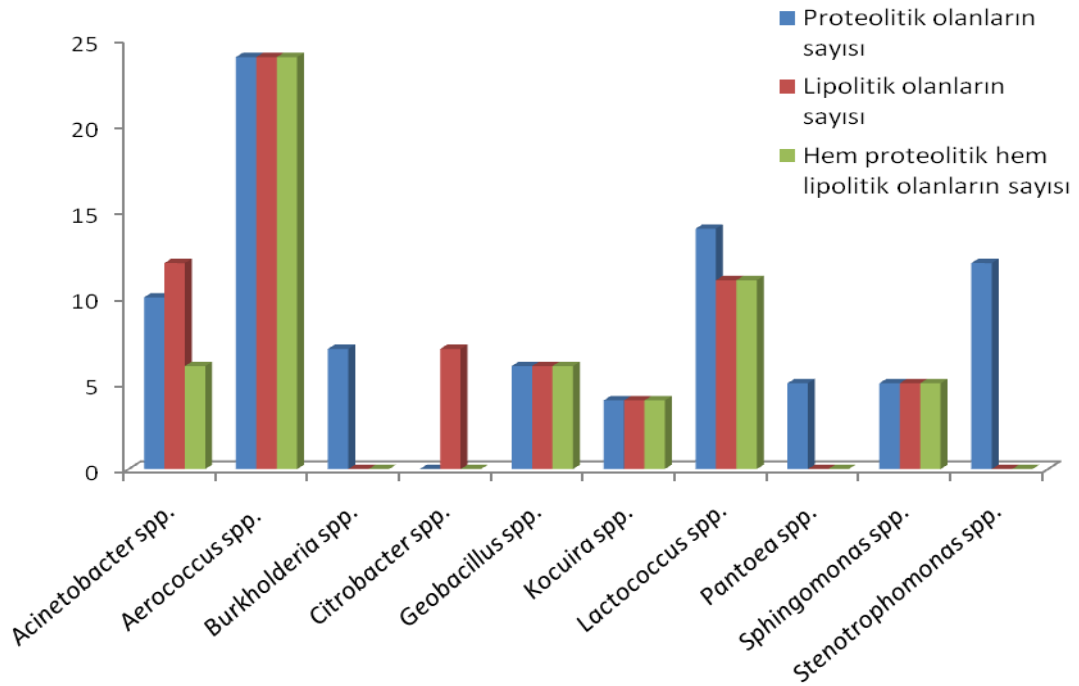
Çalışmamızda tuzlanmış derilerden izole edilerek tanımlanan bakterilerin cins bazında proteolitik, lipolitik ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayıları Tablo IV.12 ve Şekil IV.26’ da gösterilmiştir.

Tablo IV.12. Tuzlanmış Derilerden İzole Edilerek Tanımlanan Bakterilerin Cins Bazında Proteolitik, Lipolitik ve Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösterenlerin Sayıları.

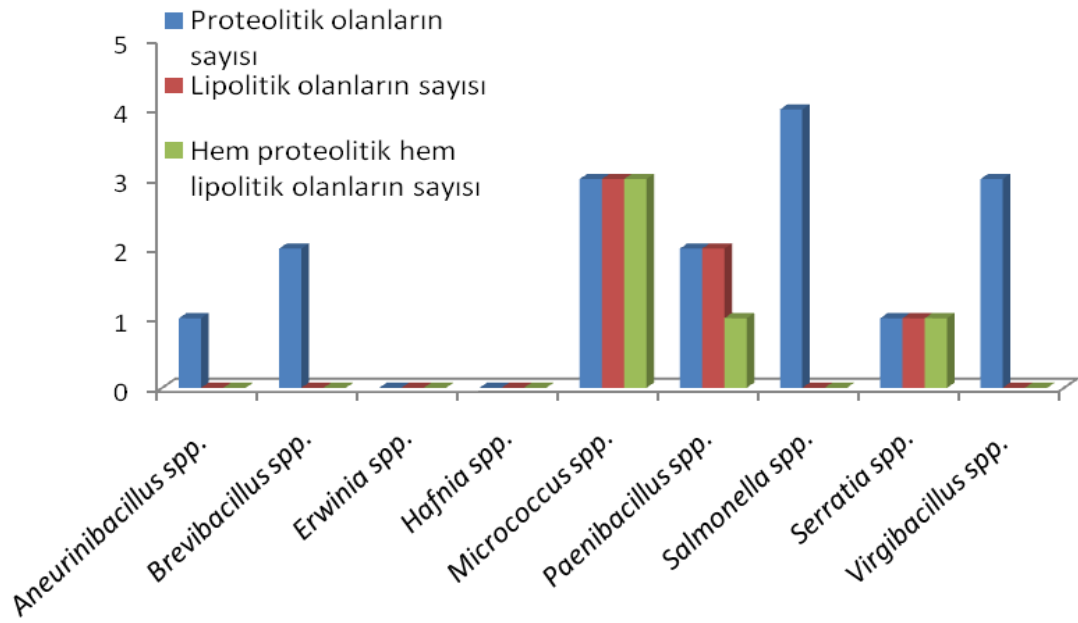
İzole Edilen Bakteri Cinsi	Toplam İzolat Sayısı	Proteolitik Olanların Sayısı	Lipolitik Olanların Sayısı	Hem Proteolitik Hem Lipolitik Olanların Sayısı
<i>Acinetobacter spp.</i>	16	10	12	6
<i>Aerococcus spp.</i>	29	24	24	24
<i>Aeromonas spp.</i>	2	2	2	2
<i>Alcaligenes spp.</i>	3	3	3	3
<i>Aneurinibacillus spp.</i>	4	1	0	0
<i>Bacillus spp.</i>	111	102	69	67
<i>Brevibacillus spp.</i>	2	2	0	0
<i>Burkholderia spp.</i>	7	7	0	0
<i>Citrobacter spp.</i>	7	0	7	0
<i>Comamonas spp.</i>	2	0	0	0
<i>Edwardsiella spp.</i>	1	0	0	0
<i>Enterobacter spp.</i>	66	39	40	30
<i>Enterococcus spp.</i>	75	30	32	30
<i>Erwinia spp.</i>	3	0	0	0
<i>Escherichia spp.</i>	9	0	0	0
<i>Geobacillus spp.</i>	6	6	6	6
<i>Hafnia spp.</i>	14	0	0	0
<i>Klebsiella spp.</i>	2	1	1	1
<i>Kocuria spp.</i>	8	4	4	4
<i>Lactococcus spp.</i>	14	14	11	11
<i>Mannheimia spp.</i>	3	0	0	0
<i>Micrococcus spp.</i>	3	3	3	3
<i>Paenibacillus spp.</i>	3	2	2	1
<i>Pantoea spp.</i>	5	5	0	0
<i>Pasteurella spp.</i>	9	0	0	0
<i>Proteus spp.</i>	1	1	1	1
<i>Pseudomonas spp.</i>	59	58	28	28
<i>Salmonella spp.</i>	4	4	0	0
<i>Serratia spp.</i>	1	1	1	1
<i>Sphingomonas spp.</i>	5	5	5	5
<i>Staphylococcus spp.</i>	115	71	106	65
<i>Stenotrophomonas spp.</i>	12	12	0	0
<i>Streptococcus spp.</i>	27	20	20	18
<i>Vibrio spp.</i>	32	32	32	32
<i>Virgibacillus spp.</i>	3	3	0	0
<i>Yersinia spp.</i>	5	1	4	0
Toplam Sayı	668	463	413	338



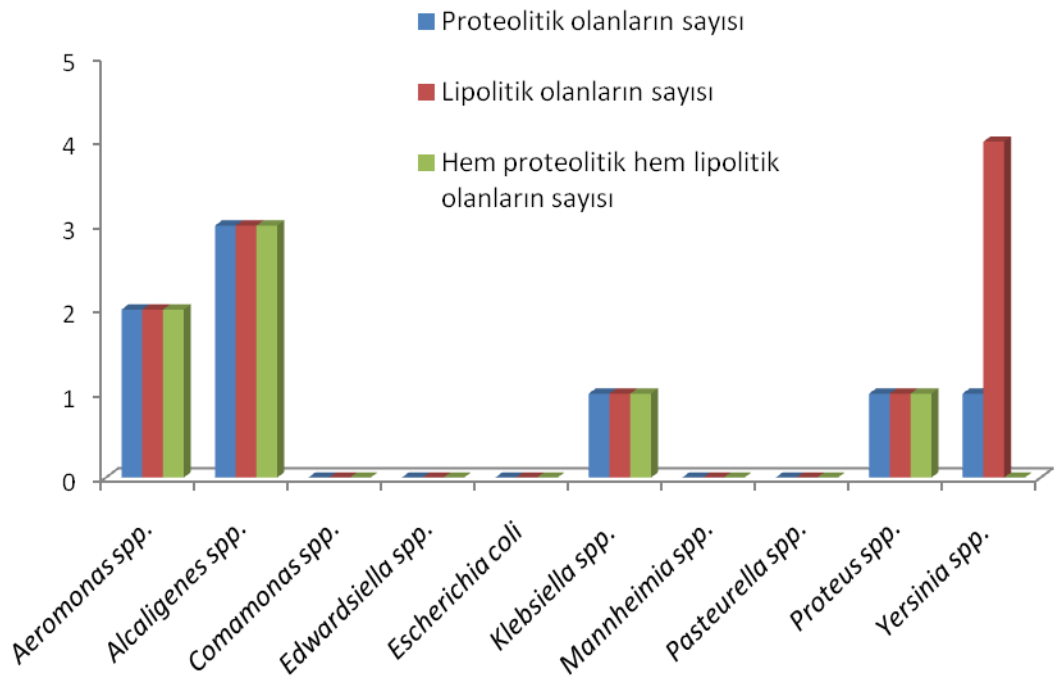
Şekil IV.26. İzole Edilerek Tanımlanan Mezofil Bakterilerin Cins Bazında Proteolitik, Lipolitik ve Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösterenlerin Sayıları.



Şekil IV.26. Devamı.



Şekil IV.26. Devamı.



Şekil IV.26. Devamı.

Çalışmamızda 10 adet tuzlanmış ham deri örneğinden izole edilen ve tanımlanan 668 adet mezofil bakteriden 463 adedinin (% 69,3) proteolitik, 413 adedinin (% 61,8) lipolitik ve 338 adedinin (% 50,6) hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösterdiği saptanmıştır (Tablo IV.12).

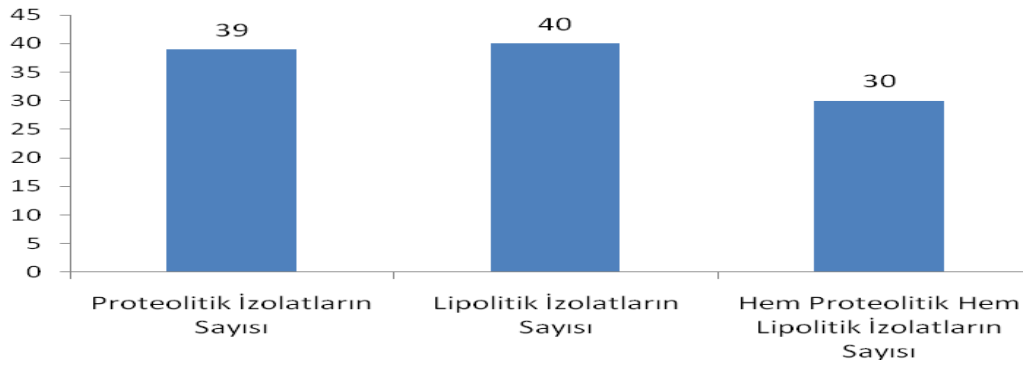
Çalışmamızda tuzlanmış derilerden izole edilerek tanımlanan bakterilerin cins bazında proteolitik, lipolitik ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite yüzdeleri Tablo IV.13'te gösterilmiştir.

Tablo IV.13. Tuzlanmış Derilerden İzole Edilerek Tanımlanan Bakterilerin Proteolitik, Lipolitik ve Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Yüzdeleri (%)

Bakteri Cinsleri	Proteolitik Aktivite (%)	Lipolitik Aktivite (%)	Proteolitik ve Lipolitik Aktivite (%)
<i>Acinetobacter spp.</i>	62,5	75	37,5
<i>Aerococcus spp.</i>	82,75	82,75	82,75
<i>Aeromonas spp.</i>	100	100	100
<i>Alcaligenes spp.</i>	100	100	100
<i>Aneurinibacillus spp.</i>	25	0	0
<i>Bacillus spp.</i>	91,9	62,2	60,4
<i>Brevibacillus spp.</i>	100	0	0
<i>Burkholderia spp.</i>	100	0	0
<i>Citrobacter spp.</i>	0	100	0
<i>Comamonas spp.</i>	0	0	0
<i>Edwardsiella spp.</i>	0	0	0
<i>Enterobacter spp.</i>	59,1	60,6	45,4
<i>Enterococcus spp.</i>	40	42,7	40
<i>Erwinia spp.</i>	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0
<i>Geobacillus spp.</i>	100	100	100
<i>Hafnia spp.</i>	0	0	0
<i>Klebsiella spp.</i>	50	50	50
<i>Kocuria spp.</i>	50	50	50
<i>Lactococcus spp.</i>	100	78,6	78,6
<i>Mannheimia spp.</i>	0	0	0
<i>Micrococcus spp.</i>	100	100	100
<i>Paenibacillus spp.</i>	66,6	66,6	33,3
<i>Pantoea spp.</i>	100	0	0
<i>Pasteurella spp.</i>	0	0	0
<i>Proteus spp.</i>	100	100	100
<i>Pseudomonas spp.</i>	98,3	47,4	47,4
<i>Salmonella spp.</i>	100	0	0
<i>Serratia spp.</i>	100	100	100
<i>Sphingomonas spp.</i>	100	100	100
<i>Staphylococcus spp.</i>	61,7	92,2	56,5
<i>Stenotrophomonas spp.</i>	100	0	0
<i>Streptococcus spp.</i>	74,1	74,1	66,6
<i>Vibrio spp.</i>	100	100	100
<i>Virgibacillus spp.</i>	100	0	0
<i>Yersinia spp.</i>	20	80	0
Toplam	69,3	61,8	50,6

Çalışmamızda tuzlanmış derilerden izole edilen *Enterobacter* türlerini proteolitik ve lipolitik aktiviteleri bakımından değerlendirdiğimizde, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter aerogenes* ve *Enterobacter cloacae* türlerinin tüm izolatlarında hem proteolitik hem de lipolitik aktivite saptanmıştır. *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter amnigenus* 2 ve *Enterobacter intermedius* türlerinin tüm izolatlarının proteaz ve lipaz negatif ve *Enterobacter liquefaciens* türünün tüm izolatlarının proteaz pozitif ve lipaz negatif olduğu saptanmıştır. *Enterobacter amnigenus* 1 türünde 8 izolatın 2' sinde proteolitik aktivite, 6' sında lipolitik aktivite, *Enterobacter sakazakii* türünde 8 izolatın 4' ünde proteolitik ve 4' ünde lipolitik aktivite saptanmıştır.

Sonuç olarak *Enterobacter* cinsinin proteolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 39, lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 40 ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 30 olarak tespit edilmiştir (Şekil IV.27).



Şekil IV.27. *Enterobacter* Cinsi (66 Adet Suş) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.

Tuzlanmış derilerden izole ettiğimiz *Hafnia* cinsine ait iki türün de (*Hafnia alvei* 1, *Hafnia alvei* 2) proteolitik ve lipolitik aktivitesi saptanmamıştır (Tablo IV.13).

Çalışmamızda izole edilen *Escherichia* cinsine ait tanımlanan 9 adet *Escherichia coli* izolatının proteolitik ve lipolitik aktivite göstermediği belirlenmiştir (Tablo IV.13).

Tanımlanan *Citrobacter* türlerinden (*Citrobacter ferundii*, *Citrobacter spp.* ve *Citrobacter amalonaticus*) hepsinin proteaz negatif ve lipaz pozitif olduğu saptanmıştır (Tablo IV.13).

Çalışmamızda izole edilen *Pantoea spp.1* ve *Pantoea spp.*' nin tüm suşlarının proteaz pozitif ve lipaz negatif olduğu bulunmuştur (Tbalo IV.13).

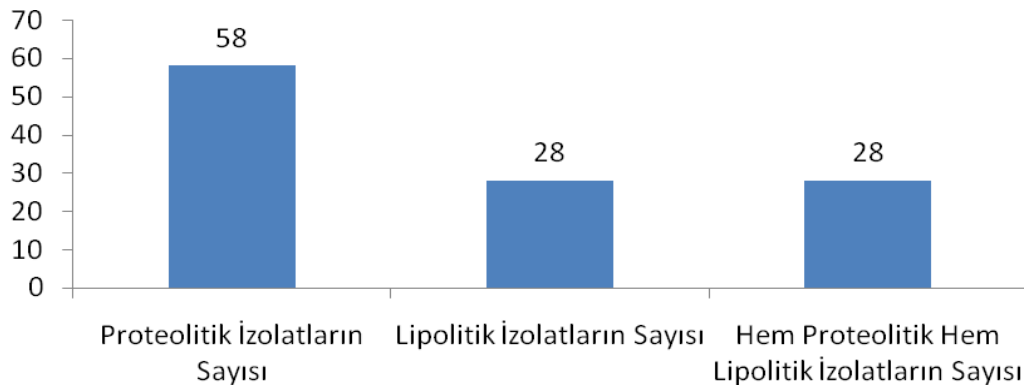
Çalışmamızda izole edilen *Yersinia* cinsi türlerinden *Yersinia pseudotuberculosis*' in proteaz pozitif, lipaz negatif, *Yersinia ruckeri*' nin proteaz negatif ve lipaz pozitif olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda izole edilen tüm *Salmonella* türlerinin (*Salmonella spp.*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraesuis ssp.arizonae* ve *Salmonella paratyphi A*) proteaz pozitif ve lipaz negatif oldukları saptanmıştır (Tablo IV.13).

Çalışmamızda *Enterobacteriaceae* familyasına ait izole edilen bakterilerden *Erwinia*, *Klebsiella oxytoca* ve *Edwardsiella tarda* suşlarında proteolitik ve lipolitik aktivite gözlenmemiştir. *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* ve *Klebsiella pneumoniae ssp.ozanae* suşlarının hem proteolitik hem de lipolitik aktivite gösterdikleri saptanmıştır (Tablo IV.13).

Çalışmamızda tuzlanmış derilerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas maltophila* ve *Pseudomonas fluorescens* türlerinin hepsinde hem proteolitik hem de lipolitik aktivite saptanmıştır. *Pseudomonas luteola* ve *Pseudomonas pseudoalcaligenes* türlerinin tüm izolatlarının proteaz pozitif ve lipaz negatif oldukları tespit edilmiştir. *Pseudomonas paucimobilis* türünde proteolitik ve lipolitik aktivite gözlenmemiştir.

Sonuç olarak *Pseudomonas* cinsinin proteolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 58, lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 28 ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 28 olarak tespit edilmiştir (Şekil IV.28).



Şekil IV.28. *Pseudomonas* Cinsi (59 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.

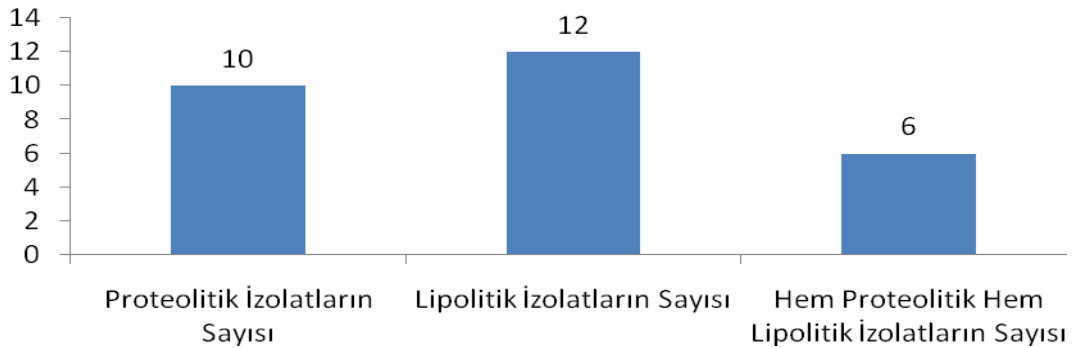
Çalışmamızda tuzlanmış derilerden izole edilen *Vibrio fluvialis* ve *Vibrio vulnificus* türlerinin tüm izolatlarının hem proteolitik hem de lipolitik aktivite gösterdiği saptanmıştır. Sonuç olarak *Vibrio* cinsinin proteolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 32, lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 32 ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 32 olarak tespit edilmiştir (Şekil IV.29).



Şekil IV.29. *Vibrio* Cinsi (32 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.

Çalışmamızda tuzlanmış derilerden izole edilen *Acinetobacter lwoffii* ve *Acinetobacter haemolyticus* türlerinin tüm izolatlarının hem proteolitik hem de lipolitik aktivite gösterdikleri saptanmıştır. *Acinetobacter junii/johnsonii* ve *Acinetobacter baumannii* türlerinde tüm izolatların proteaz negatif ve lipaz pozitif, *Acinetobacter calcoaceticus* türünde ise tüm izolatların proteaz pozitif ve lipaz negatif oldukları tespit edilmiştir.

Sonuç olarak *Acinetobacter* cinsinin proteolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 10, lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 12 ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 6 olarak tespit edilmiştir (Şekil IV.30).

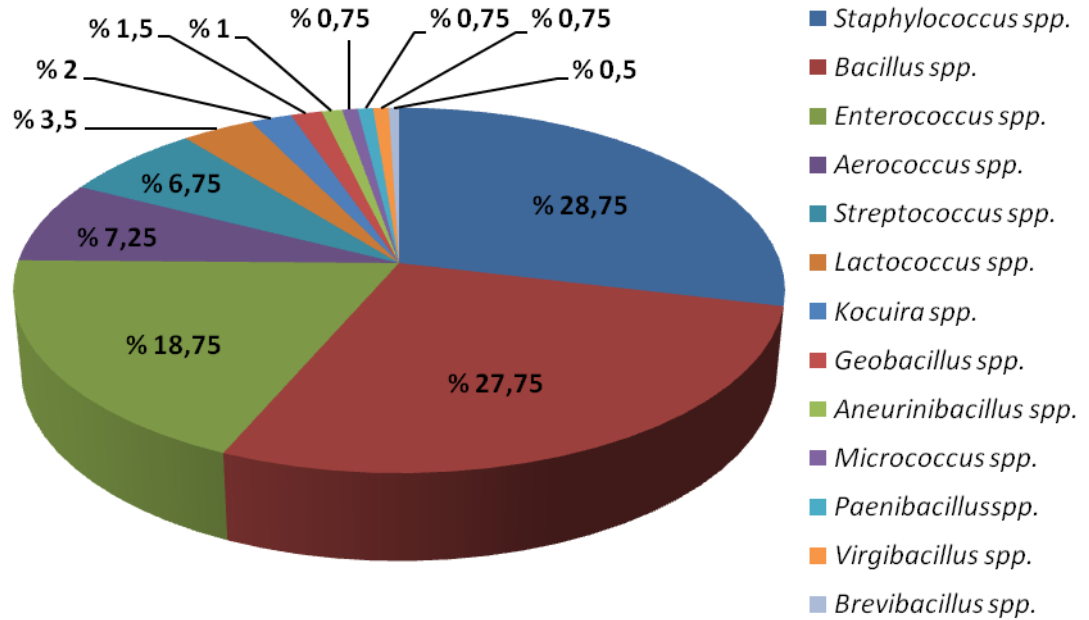


Şekil IV.30. *Acinetobacter* Cinsi (16 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.

Çalışmamızda tuzlanmış derilerden izole edilen *Pasteurella* cinsine ait türlerin (*Pasteurella pneumotropica* ve *Pasteurella multocida*), *Mannheimia haemolytica* ve *Comamonas testasteroni* izolatlarının hiçbirinde proteolitik ve lipolitik aktivite saptanmamıştır. *Burkholderia gladioli* ve *Stenotrophomonas maltophilia* izolatlarının hepsinde proteolitik aktivite saptanmıştır ancak lipolitik aktivite gözlenmemiştir. *Sphingomonas paucimobilis*, *Alcaligenes faecalis* ve *Aeromonas* cinsine ait iki türün (*Aeromonas hydrophila* ve *Aeromonas caviae*) izolatlarının hepsinde hem proteolitik hem de lipolitik aktivite gözlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda tuzlanmış derilerden izole edilen Gram negatif bakteriler içerisinde proteolitik aktivite gözlenen izolatların sayısı 181 (% 39), lipolitik aktivite gözlenen izolatların sayısı 136 (% 33) ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gözlenen izolatların sayısı 39 (% 12) olarak saptanmıştır.

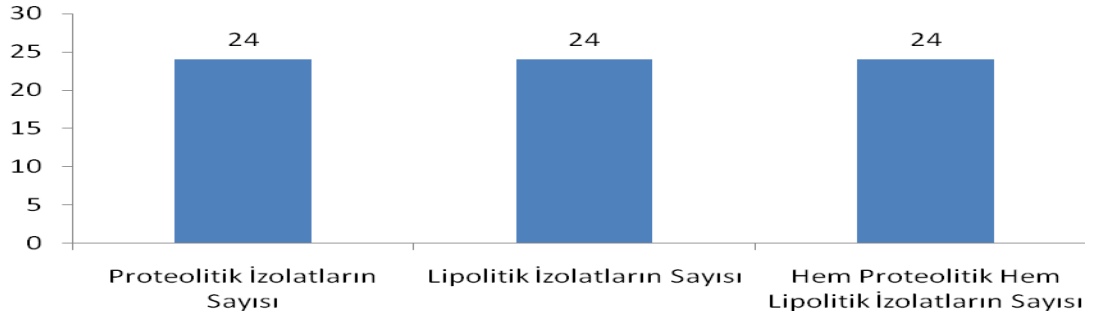
Çalışmamızda Gram pozitif bakteriler olarak *Aerococcus* spp. (29), *Aneurinibacillus* spp. (4), *Bacillus* spp. (111), *Brevibacillus* spp. (2), *Enterococcus* spp. (75), *Geobacillus* spp. (6), *Kocuiira* spp. (8), *Lactococcus* spp. (14), *Micrococcus* spp. (3), *Paenibacillus* spp. (3), *Staphylococcus* spp. (115), *Streptococcus* spp. (27) ve *Virgibacillus* spp. (3) izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Şekil IV.31).



Şekil IV.31. İzole Edilen Gram Pozitif Bakteri Cinslerinin Toplam Gram Pozitif Bakteriler (400 Adet) İçerisindeki Oranı.

Çalışmamızda *Aerococcus* cinsine ait izole edilen türlerden (*Aerococcus viridans* 1, *Aerococcus viridans* 2 ve *Aerococcus urinae*) *Aerococcus viridans* 1 (15) türünün 13 izolatında hem proteolitik hem de lipolitik aktivite gözlenmiştir, 2 izolatında ise proteaz ve lipaz aktivitesi gözlenmemiştir. *Aerococcus viridans* 2 (9) türünün 7 izolatında hem proteolitik hem de lipolitik aktivite saptanmıştır ancak 2 izolatın proteaz ve lipaz negatif olduğu görülmüştür. *Aerococcus urinae* (5) türünün 4 izolatında hem proteolitik hem de lipolitik aktivite gözlenmiştir ancak 1 izolatın proteaz ve lipaz negatif olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak *Aerococcus* cinsinin proteolitik, lipolitik ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 24 olarak tespit edilmiştir (Şekil IV.32).



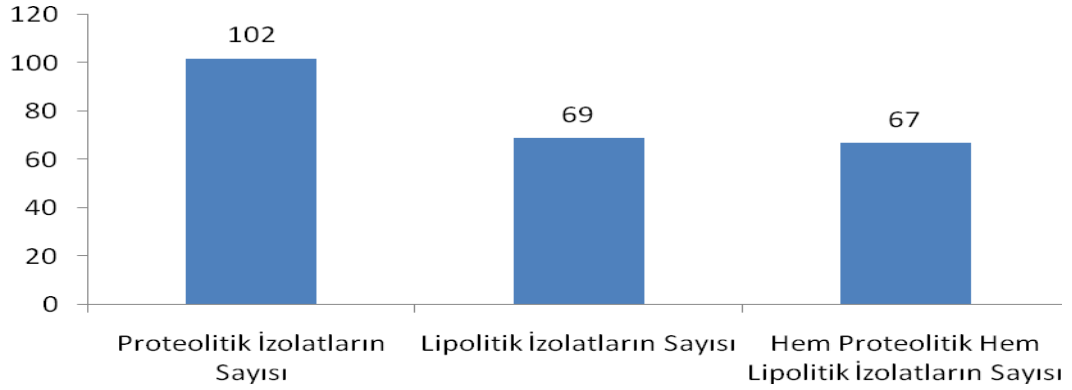
Şekil IV.32. *Aerococcus* Cinsi (29 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.

Çalışmamızda izole edilen *Aneurinibacillus aneurinilyticus* türünün 4 izolatından sadece birinde proteolitik aktiviteye rastlanırken, hiçbirinde lipolitik aktivite gözlenmemiştir.

Çalışmamızda izole edilen *Bacillus* izolatlarını proteolitik ve lipolitik aktivite bakımından değerlendirdiğimizde, *Bacillus pumilus* (20), *Bacillus subtilis* (14), *Bacillus mycoides* (4) ve *Bacillus amyloliquefaciens* (3) türlerinin tüm izolatlarının proteaz ve lipaz pozitif, *Bacillus firmus* (8) ve *Bacillus laterosporus* (1) türlerinin tüm izolatlarının proteaz pozitif, lipaz negatif ve *Bacillus cereus* 2 (1) izolatının proteaz negatif ve lipaz pozitif olduğu tespit edilmiştir. *Bacillus thuringiensis* türünde 14 izolatın proteaz ve lipaz pozitif, 3 izolatın proteaz pozitif, lipaz negatif, *Bacillus licheniformis* türünde 12 izolatın proteaz pozitif, lipaz negatif, 4 izolatın proteaz ve lipaz pozitif; *Bacillus lentus* türünde 8 izolatın proteaz pozitif, lipaz negatif ve 7 izolatın proteaz ve lipaz negatif, *Bacillus megaterium* türünde 7 izolatın proteaz ve lipaz pozitif, 3 izolatın proteaz pozitif, lipaz negatif ve *Bacillus cereus* 1 türünde ise

1 izolatin proteaz ve lipaz pozitif, 1 izolatin ise proteaz negatif ve lipaz pozitif olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak *Bacillus* cinsinin proteolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 102, lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 69 ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının sayısı 67 olarak tespit edilmiştir (Şekil IV.33).



Şekil IV.33. *Bacillus* Cinsi (111 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.

Çalışmamızda izole edilen *Brevibacillus laterosporus* (2) türünün her iki izolatinın proteaz pozitif ve lipaz negatif, *Geobacillus* cinsine ait izole edilen *Geobacillus thermoglucosidiasius* (3) ve *Geobacillus stearothermophilus* (3) türlerinin tüm izolatlarının proteaz ve lipaz pozitif, *Paenibacillus pabuli* (3) türüne ait 3 izolattan 1'inin hem proteaz hem lipaz pozitif, 1'inin proteaz pozitif, lipaz negatif, diğerinin ise proteaz negatif ve lipaz pozitif, *Virgibacillus* cinsine ait izole edilen *Virgibacillus panthothenticus* (3) türünün 3 izolatinın proteaz pozitif ve lipaz negatif olduğu olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda *Enterococcus* cinsine ait izole edilen türlerin proteolitik ve lipolitik aktivitesini değerlendirdiğimizde, *Enterococcus gallinarum* (23), *Enterococcus avium* (17) ve *Enterococcus casseliflavus* (3) türüne ait tüm izolatların proteaz ve lipaz negatif oldukları saptanmıştır. *Enterococcus faecalis* (12) ve *Enterococcus durans* (6) türlerine ait tüm izolatların proteolitik ve lipolitik aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. *Enterococcus faecium* türünde 12 izolatin proteaz ve lipaz pozitif, 2 izolatin ise proteaz negatif ve lipaz pozitif olduğu bulunmuştur.

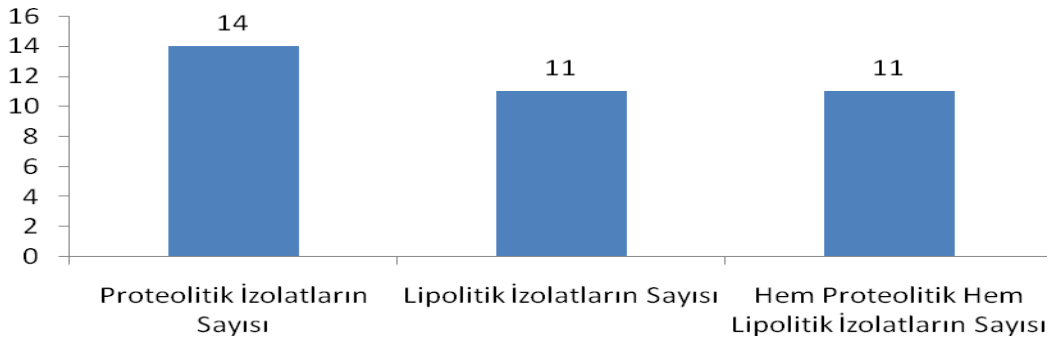
Sonuç olarak *Enterococcus* cinsinin proteolitik ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının toplam sayısı 30 ve lipolitik aktivite gösteren izolatlarının toplam sayısı 32 olarak tespit edilmiştir (Şekil IV.34).



Şekil IV.34. *Enterococcus* Cinsi (75 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.

Çalışmamızda izole edilen *Lactococcus* cinsine ait türlerden *Lactococcus lactis ssp. lactis* (10) ve *Lactococcus spp.* (1) türüne ait izolatların hepsinin proteaz ve lipaz pozitif, *Lactococcus lactis ssp. cremoris* (3) türünün tüm izolatlarının proteaz pozitif ve lipaz negatif olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak *Lactococcus* cinsinin proteolitik aktivite gösteren izolatlarının toplam sayısı 14, lipolitik ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının toplam sayısı 11 olarak tespit edilmiştir (Şekil IV.35).

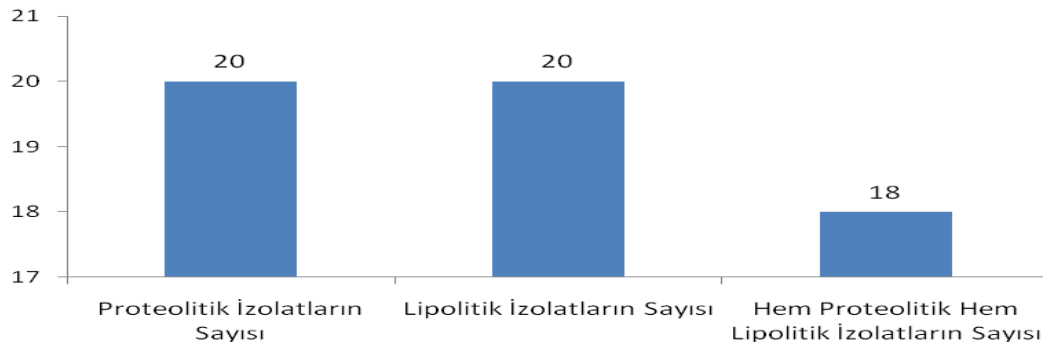


Şekil IV.35. *Lactococcus* Cinsi (14 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.

Çalışmamızda izole edilen *Streptococcus* cinsine ait türleri proteolitik ve lipolitik aktivite bakımından değerlendirdiğimizde, *Streptococcus acidominimus* (13) türünde 9 izolatın proteaz ve lipaz pozitif, 2 izolatın proteaz pozitif, lipaz negatif, 2

izolatın proteaz negatif, lipaz pozitif; *Streptococcus uberis* (7) türünde 4 izolatın proteaz ve lipaz pozitif, 3 izolatın proteaz ve lipaz negatif; *Streptococcus pluranimalium* (4) türünde 3 izolatın proteaz ve lipaz pozitif, 1 izolatın proteaz ve lipaz negatif; *Streptococcus bovis* (2) türünde 1 izolatın proteaz ve lipaz pozitif, 1 izolatın proteaz ve lipaz negatif; *Streptococcus thermophilus* (1) türünün ise proteaz ve lipaz pozitif olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak *Streptococcus* cinsinin proteolitik ve lipolitik aktivite gösteren izolatlarının toplam sayısı 20 ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının toplam sayısı 18 olarak tespit edilmiştir (Şekil IV.36).

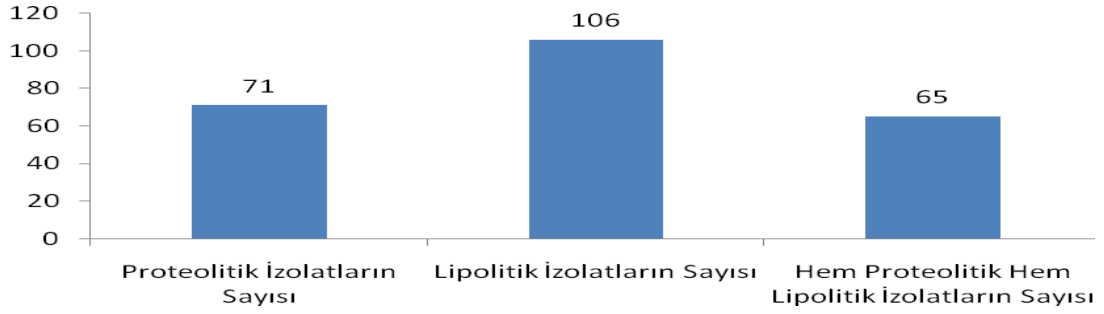


Şekil IV.36. *Streptococcus* Cinsi (27 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.

Çalışmamızda tuzlanmış derilerden izole edilen *Staphylococcus* cinsi türlerini proteolitik ve lipolitik aktiviteleri bakımından değerlendirdiğimizde, *Staphylococcus intermedius* (32), *Staphylococcus cohnii ssp. cohnii* (13), *Staphylococcus aureus* (7), *Staphylococcus hyicus* (7), *Staphylococcus cohnii ssp. urealyticus* (4), *Staphylococcus epidermidis* (1) ve *Staphylococcus lentus* (1) türlerine ait tüm izolatların proteaz ve lipaz pozitif oldukları; *Staphylococcus capitis* (15), *Staphylococcus xylosus* (15), *Staphylococcus hominis* (9) ve *Staphylococcus chromogenes* (2) türlerine ait tüm izolatların proteaz negatif, lipaz pozitif; *Staphylococcus lugdunensis* (3) ve *Staphylococcus sciuri* (3) türlerine ait tüm izolatların proteaz pozitif, lipaz negatif; *Staphylococcus caprae* (2) ve *Staphylococcus warneri* (1) türlerine ait tüm izolatların proteaz ve lipaz negatif oldukları saptanmıştır.

Sonuç olarak *Staphylococcus* cinsinin proteolitik aktivite gösteren izolatlarının toplam sayısı 71, lipolitik aktivite gösteren izolatlarının toplam sayısı

106 ve hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösteren izolatlarının toplam sayısı 65 olarak tespit edilmiştir (Şekil IV.37).



Şekil IV.37. *Staphylococcus* Cinsi (115 Adet) Proteolitik, Lipolitik, Hem Proteolitik Hem Lipolitik Aktivite Gösteren İzolatların Sayıları.

Çalışmamızda *Kocuiira* cinsine ait izole edilen *Kocuiira varians/rosea* (4) ve *Kocuiira kristanea* (4) türlerinin her ikisinde de 2 izolatın proteaz ve lipaz pozitif, 2 izolatın ise proteaz ve lipaz negatif olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda *Micrococcus* cinsine ait 3 izolatın hepsi proteaz ve lipaz pozitif olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda tuzlanmış derilerden izole edilen Gram pozitif bakterilerin (400 adet) 282' sinin (% 61) proteolitik, 277' sinin (%67) lipolitik ve 299' unun (% 88) hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Kollagenaz, proteaz ve lipaz gibi enzimler ham deriden mamul deri üretilinceye kadar olan süreçte deriye zarar vermektedirler. Deri kalitesi ile ilgili çalışmalarda özellikle derilerdeki mikroorganizmaların proteolitik, kollajenolitik ve lipolitik aktivitelerinin belirlenmesi oldukça önemlidir.

Mc-Laughlin ve Highberger (1926), araştırmalarında tuzlanmış keçi derilerindeki mikroorganizmaların çoğunluğunun proteolitik tipte olduğunu göstermişlerdir. Mc-Laughlin ve Rockwell (1922), deri kontaminasyonuna neden olan etmenlerin proteolitik bakteriler, kan, düşük bazik ortamlar, yüksek ısı, oksijen olduğunu belirtmişlerdir.

Kesimden sonra derilerde meydana gelen hasarın derecesinin sıcaklık, zaman, bakteri konsantrasyonu, deri içeriği ve proteolitik enzimlerin konsantrasyonu gibi pek çok faktöre bağlı olduğu belirtilmiştir (Birbir ve Ilgaz, 1996).

Woods ve arkadaşları (1972), ilk defa tuzlanmış ham derilerde bakterilerin kollajenolitik aktivitelerini araştırmışlardır. Çalıştıkları Güney Afrika derilerinde

yüksek tuz konsantrasyonlarına rağmen aerobik ve anaerobik koşullar altında bakterilerin yüksek derecede kollajenolitik aktivite gösterdiklerini, Avustralya derilerinde ise kollajenolitik bakteri aktivitesi saptamadıklarını belirtmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, tuzlanmamış ve tuzlanmış ham derilerde, % 0.85 ve % 10 NaCl varlığında derilerdeki kollajeni sindiren oldukça fazla sayıda aerobik kollajenolitik bakteri izole etiklerini belirtmişlerdir.

Araştırmacılar halofil bakterilerin tuzla korunmuş derilerde bulunduğunu ve proteolitik aktivite göstererek deriye zarar verdiklerini belirtmişlerdir. ABD' den toplanan tuzlu su ile korunmuş 131 adet deriden 332 adet aşırı halofil bakteri izole edilmiş ve bu bakterilerin % 94'ünün proteolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Bailey ve Birbir, 1993). Başka bir çalışmada tuzla korunmuş 35 adet Fransız ve Rus derisinin % 91' inin halofil mikroorganizma içerdiği ve izole edilen toplam 85 halofil bakteri suşunun % 67' sinin proteolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Bailey ve Birbir, 1993; Bailey ve Birbir, 1996; Birbir ve Ilgaz, 1996; Birbir ve ark., 1996; Birbir, 1997).

Bailey ve Birbir (1996) derilerden izole ettikleri proteolitik halofil bakteriler tarafından sırcanın üst yüzeyinin kısmen uzaklaştırıldığını, alt kısımdaki kollajen liflerinin gevşetildiğini ve bu hasarların deri yüzeyinde görülebildiğini belirtmişlerdir.

Birbir (2004), ülkemizde ham derilerin korunmasında genellikle Tuz Gölü, Kaldırım Tuzlası ve Kayacık Tuzlası' ndan elde edilen tuzların kullanıldığını belirterek Tuz Gölü' nden elde edilen tuz örneklerinden izole edilen suşların % 80' inin, Kaldırım Tuzlası suşlarının % 70' inin, Kayacık Tuzlası suşlarının ise % 78' inin proteolitik aktivite gösterdiğini belirtmiştir.

Venkatesan ve arkadaşları (1970), *Bacillus* türleri, *Achromobacter liquefaciens*, *Micrococcus roseus* ve *Alcaligenes marshallii*' nin nutrient jelatin üzerinde pozitif jelatin testi gösterdiğini ancak %10 NaCl-jelatin içeren besiyerlerinde bu mikroorganizmaların proteolitik aktivitelerinin daha az olduğunu saptamışlardır.

Birbir (1991), çalışmasında *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus firmus*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilis*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aureginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*' in nutrient jelatin üzerinde pozitif jelatin testi verdiğini saptamıştır.

B. subtilis' in yüksek tuz konsantrasyonlarında jelatini hidrolize ettikleri diğer araştırmacılar tarafından da desteklenmiştir (Leslie, 1923; Kritzing ve Van Zyl, 1945; Anderson, 1949; Woods ve ark., 1970; Venkatesan ve ark., 1970).

Dempsey (1969) kırmızı lekeli derilerden izole ettiği *Sarcina lutea*, *S. auriantica*, *Micrococcus roseus*, *M. rubens*, *Proteus* türleri ve *Bacillus subtilis* gibi bakterilerin proteolitik enzimler üreterek jelatini sıvılaştırdıklarını belirtmiştir. Lloyd ve arkadaşları ise (1929), derilerden izole ettikleri kırmızı ve sarı renkli mikroorganizmaların *Sarcina* olduklarını, sarı renkli olanların jelatini sindirdiklerini saptamıştır.

Bacillus, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Proteus*, *Brevibacterium* ve *Weeksella*'nın önemli ölçüde kollajenolitik aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Shede ve ark., 2008).

Araştırmacılar pek çok bilinen tür arasında *Clostridium histolyticum* (Kono, 1968) ve *Vibrio alginolyticus* (Berwick ve ark., 1990)'un kollajenolitik aktiviteye sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Oppong ve ark. (2006), taze derilerde bulunan bakterilerin proteolitik aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmalarında çok sayıda proteolitik ve proteolitik olmayan bakteri saptamışlardır. Proteolitik bakteriler *Aeromonas*, *Proteus vulgaris* ve *Shewanella putrefaciens* gibi bazı türleri içermektedir. *Pseudomonas* sp. yaygın olarak görülen bir bakteri olmasına rağmen izole ettikleri *Pseudomonas* türlerinden hiçbirinin proteolitik aktivite göstermediği belirtilmiştir. Araştırmacılar, izole ettikleri bakteri suşlarının proteolitik aktivitelerini değerlendirmek amacıyla kollajenaz, jelatinaz ve kazeinaz aktivite testlerini gerçekleştirmişlerdir. *Aeromonas media* ve *Janibacter terrae* suşları hariç diğer tüm proteolitik suşlar her 3 test için pozitif sonuç vermişler ancak *Aeromonas media* jelatinaz ve kollajenaz pozitif, kazeinaz negatif; *Janibacter terrae* ise kollajenaz ve kazeinaz pozitif, jelatinaz negatif bulunmuştur. Araştırmacılar ayrıca *Pseudomonas fulgida*, *Pseudomonas C1* ve *Pseudomonas FW9* dışındaki diğer *Pseudomonas* türlerinin proteolitik olmadığını açıklamışlardır. Yine aynı çalışmada daha önceden *Pseudomonas putrefaciens* olarak tanımlanan *Shewanella putrefaciens*'in proteolitik olduğu bildirilmiştir.

Woods ve arkadaşları (1973), ham derilerden izole ettikleri 159 suştan 28'inin kollajenolitik aktiviteye sahip olduğunu, bu suşların hareketli olduklarını ve besiyeri üzerinde geniş yayılım gösterdiklerini belirtmişlerdir. Aerobik şartlarda kollajeni sindiren bakterilerin 2 *Pseudomonas* spp., 8 *Bacillus* spp. ve 4

Achromobacter spp. olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar bazı deri örneklerinde kollajenolitik aktiviteyi 14 gün sonunda gözlemlediklerini, bu bakterileri filamentöz *Actinomycete* olarak tanımlandıklarını açıklamışlardır.

Lunam ve Weir (2006), devekuşu derileri üzerine yaptıkları bir çalışmada tuzlanmış ve tuzlanmamış derilerde bulunan mikroorganizma türlerini ve bu mikroorganizmaların kollajeni sindirme yeteneklerini araştırmışlardır. Tuzlanmamış derilerden izole edilen bakterilerin %72' sinin, tuzlanmış derilerden izole edilen bakterilerin ise % 33'ünün jelatinaz aktivitesi gösterdiğini belirtmişlerdir

Polkade (2007) kesimden hemen sonra alınarak incelenen ham kara sığır derisinden izole ettiği *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter radioresistans*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Kurthia gibsonii*, *Sigella boydii*, *Pantoea agglomerans*, *Photorhabdus luminescens*, *Acinetobacter* sp. türlerinin hem proteaz hem de lipaz, *Aeromonas punctata caviae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Bergeyella* sp. türlerinin sadece proteaz, *Staphylococcus sciuri* türünün ise sadece lipaz ürettiğini açıklamıştır.

Polkade (2007), ham buffalo derisinden izole ettiği *Bacillus* cinsine ait türlerin izole ettiği diğer bakterilere göre daha fazla proteaz, lipaz ve amilaz ürettiğini saptamıştır. *Acinetobacter*, *Proteus*, *Escherichia* ve *Bacillus* cinslerine ait türlerin en fazla proteaz ürettiğini, *Stenotrophomonas*, *Bacillus* ve *Acinetobacter* cinslerine ait türlerin en fazla lipaz aktivitesi gösterdiğini, *Aeromonas* ve *Bacillus* cinslerine ait türlerin ise en fazla amilaz aktivitesi gösterdiğini açıklamıştır. Ayrıca araştırmacı, *Bacillus*, *Acinetobacter* ve *Proteus* cinslerine ait türlerin kollajenaz ürettiğini buna rağmen, *E.coli*' nin kollajenaz üretmediğini saptamıştır. Önemli ölçüde proteolitik aktivite gösteren *Bacillus megaterium*'un ham deride bozulma sağlayacak kadar önemli ölçüde kollajenaz aktivitesi göstermediğini bildirmiştir.

Derilerin gelişi güzel olarak, homojen olmayan bir şekilde tuzlanması derilerde lipolitik, proteolitik ve kollajenolitik aktiviteye sahip mezofilik bakterilerin gelişerek deri hasarı oluşturmaya yol açmaktadır. Araştırmacılar proteolitik bakterilerin ve proteolitik enzimlerin konsantrasyonunun derilerde hasar oluşumu açısından önemli olduğunu vurgulamışlardır (Mc-Laughlin ve Rockwell, 1922; Gran, 1987; Birbir ve Ilgaz, 1996; Polkade, 2007).

Bailey ve Birbir (1996), derilerden izole ettikleri proteolitik halofil bakteriler tarafından sırça tabakasının üst yüzeyinin kısmen uzaklaştırıldığını, sırçanın alt

kısımındaki kollajen liflerini gevşettiklerini ve bu hasarların deri yüzeyinde görülebildiğini belirtmişlerdir.

Adamcic ve Clark (1970), *Pseudomonas aureginosa*’nın derinin kollagen yapısını bozduğunu açıklamışlardır.

Kallenberger ve Coller (1979), derilerin işleme konmadan önce kötü koku, yapışkanlık, kıl gevşemesi, renk solgunluğu ve lekeler açısından değerlendirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Araştırmacılar çalışmalarında, derilerin kesildikten sonra korumalarının geç yapılması nedeniyle zarar gördüklerini, yaz aylarında derinin sırça yüzeyinde kızışma görüldüğünü ve bunun da delik oluşumuna yol açtığını belirtmişlerdir (Haines, 1984; Tancous ve Jayasimhulu, 1973).

O’Flaherty ve Roddy (1965), derilerde nem düşürülmez ise 2 gün içerisinde oda sıcaklığında bakteriyel faaliyet sonucu toplu iğne başı büyüklüğünde delikler sırça soyulması görüldüğünü belirtmiştir.

Hochenhull (1971), alışılmış deri tuzlama yönteminin *Micrococcus roseus*, *Micrococcus luteus* ve *Micrococcus morrhuae* gibi bakterilerin gelişmesine engel olmadığını ve bunların deri üzerinde kırmızı lekeler oluşturduğunu açıklamıştır.

Roddy (1963), *Staphylococcus* ve *Streptococcus* gibi mikroorganizmaların deride epiderma iltihabına yol açarak kıl dökülmesine neden olduklarını açıklamıştır.

Orlita (2004), derideki kokuşma noktalarından izole edilen *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. anthrocoides*, *B. pumilis*, *Pseudomonas aeruginosa* türlerinin deride deliklenmeye yol açan suşlar olduğunu belirtmiştir.

Araştırmacılar *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Proteus*, *Myroides*, *Brevibacterium*, *Vagococcus*, *Staphylococcus*, *Mycoplasma* ve *Weeksella*’nın saklama koşullarında ham bufalo derisini 144 saat içerisinde zarara uğrattıklarını ancak oluşturulan zararın bakteri türüne ve çeşidine göre farklılık gösterdiğini açıklamışlardır. *Bacillus cereus*’un koryum tabakasını tamamen parçaladığı, *Bacterium* sp.’un epidermis tabakasını uzaklaştırdığı ve *Weeksella virosa*’nın epidermisi tamamen uzaklaştırdığı ve koryum tabakasının bozulmasını başlattığı belirtilmiştir (Shede ve ark., 2008).

Polkade (2007), *Bacillus cereus* ve *Acinetobacter radioresistans* türlerinin koryum tabakasını tamamen parçaladığını, buna rağmen *Shigella boydii* ‘nin epidermis tabakasını bile uzaklaştıramadığını bildirmiştir. Epidermis tabakasının ise *Pseudomonas stutzeri* tarafından uzaklaştırıldığını saptamıştır. Ayrıca *Bergeyella*

sp.'nin tamamen epidermis tabakasını parçaladığını ve koryum tabakasının bozulmasına neden olduğunu bildirmiştir.

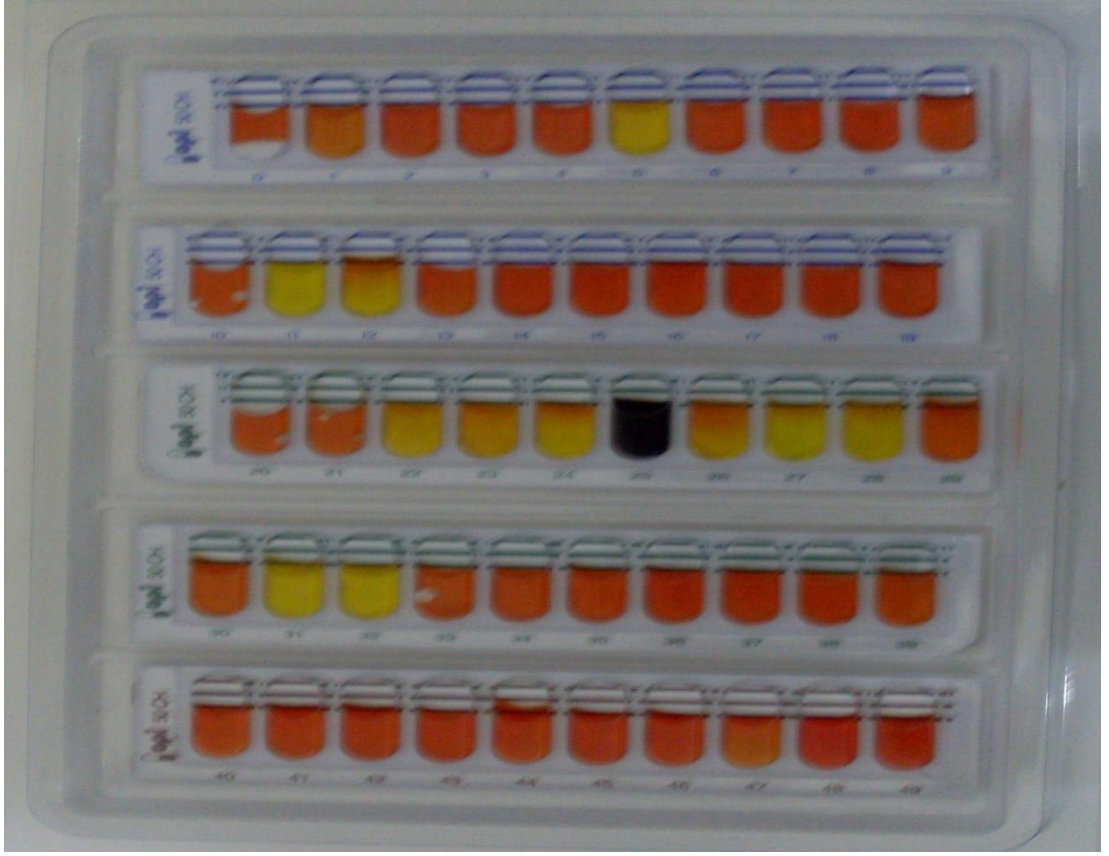
Sonuç olarak çalışmamızda;

- Tuzlanmış derilerden toplamda 668 bakteri (36 cins ve 102 tür) izole edilmiştir.
- En fazla rastlanan cinslerin *Staphylococcus* (115), *Bacillus* (111), *Enterococcus* (75), *Enterobacter* (66) ve *Pseudomonas* (59) cinsleri olduğu görülmüştür.
- En fazla izole edilen cinslerin en sık rastlanan türlerinin *Staphylococcus intermedius*, *Bacillus pumilus*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterobacter cloacae* ve *Pseudomonas luteola* olduğu belirlenmiştir.
- *Enterobacteriaceae* familyasının en fazla rastlanan cinsinin *Enterobacter* (66) cinsi ve *Enterobacter cloacae* türü olduğu saptanmıştır.
- İzole edilen Gram negatif bakterilerin Gram pozitif bakterilere oranının (268/400) % 67 olduğu bulunmuştur.
- Çalışmamızda 10 adet tuzlanmış ham deri örneğinden izole edilen ve tanımlanan 668 adet mezofil bakteriden 463 adedinin (% 69,3) proteolitik, 413 adedinin (% 61,8) lipolitik ve 338 adedinin (% 50,6) hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösterdiği saptanmıştır.
- *Staphylococcus* cinsinin (115) en fazla rastlanan türünün *Staphylococcus intermedius* (32) olduğu saptanmıştır.
- *Bacillus* (111) cinsinde en fazla rastlanan türün *Bacillus pumilus* (20) olduğu belirlenmiştir.
- Tuzlanmış derilerin tuz kristali bulunan kısımlarından izole edilen bakterilerin çoğunluğunu Gram pozitif koklar ve basillerin (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus* ve *Bacillus*) ve Gram negatif *Vibrio* gibi tuza toleranslı bakterilerin oluşturduğu saptanmıştır.
- Tuzlanmış derilerin tuz kristali bulunmayan kısımlarında en yaygın bulunan cinslerin Gram pozitif koklar ve basiller (*Staphylococcus* ve *Bacillus*) ve

Hafnia, *Enterobacter*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi Gram negatif basiller olduğu bulunmuştur. *Hafnia*, *Enterobacter* ve *Acinetobacter* gibi Gram negatif basillerin tuz kristali bulunmayan bölgelerde tuz kristali bulunan bölgelere göre daha fazla bulunduğu tespit edilmiştir.

- Çalışmamızda izole edilen ve tanımlanan bakterilerden *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas luteola* ve *Staphylococcus intermedius* türlerinin 10 deri örneğinde de bulunduğu, *Aerococcus viridans 1*, *Bacillus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* ve *Enterococcus avium* türlerinin ise 9 deri örneğinde bulunduğu saptanmıştır.
- 10 deri örneğinden izole edilen *Enterobacter cloacae* (22 adet) ve *Staphylococcus intermedius* türünün (32 adet) tüm izolatlarının proteaz ve lipaz pozitif olduğu saptanmıştır. *Pseudomonas luteola* türünün tüm izolatlarının (29 adet) proteaz pozitif, lipaz negatif, *Enterococcus faecium* türünün (14 adet) ise 12 izolatının proteaz ve lipaz pozitif, 2 izolatının ise proteaz negatif, lipaz pozitif olduğu saptanmıştır. Tüm deri örneklerinde rastlanan bu bakterilerin yüksek proteolitik ve lipolitik aktivite göstermeleri deri kalitesi için büyük bir tehdit oluşturmaktadırlar.
- 9 deri örneğinde rastlanan *Aerococcus viridans 1* türünün (15 adet) 13 izolatının proteaz ve lipaz pozitif, *Enterococcus avium* türünün (17 adet) izolatlarının hepsinin proteaz ve lipaz negatif olduğu, *Bacillus lentus* (15 adet) türünün 8 izolatının proteaz pozitif ve 15' inin lipaz negatif, *Bacillus pumilus* türünün (20 adet) izolatlarının hepsinin proteaz ve lipaz pozitif, *Bacillus licheniformis* türünün (16 adet) izolatlarının 12' sinin proteaz pozitif, lipaz negatif, 4' ünün proteaz ve lipaz pozitif olduğu bulunmuştur. Görüldüğü gibi yüksek proteolitik ve lipolitik aktivite gösteren bu bakteriler 9 deri örneğinin hepsinde görülmeleri nedeniyle deri kalitesi açısından önem taşımaktadırlar.
- Bizim çalışmamızda tuzlanmış derilerden ilk kez *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter junii ssp. johnsonii*, *Aerococcus urinae*, *Aerococcus viridans 1*, *Aerococcus viridans 2*, *Aeromonas caviae*, *Alcaligenes faecalis*, *Aneurinibacillus aneurinilyticus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus lentus*, *Bacillus thuringiensis*, *Brevibacillus laterosporus*, *Burkholderia gladioli*,

Citrobacter amalonaticus, *Comamonas testesteroni*, *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter intermedius*, *Enterobacter liquefaciens*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, *Erwinia* spp., *Geobacillus stearothermophilus*, *Geobacillus thermoglucosidiasius*, *Hafnia alvei* 1, *Hafnia alvei* 2, *Klebsiella oxytoca*, *Kocaira kristanea*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Mannheimia haemolytica*, *Paenibacillus pabuli*, *Pantoea* spp., *Pantoea* spp.1, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella pneumotropica*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas maltophila*, *Pseudomonas paucimobilis*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Salmonella* spp., *Salmonella choleraesuis* ssp. *arizonae*, *Salmonella paratyphi* A, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus cohnii* ssp. *urealyticus*, *Staphylococcus cohnii* ssp. *cohnii*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus warneri* (1), *Stenotrophomonas maltophila*, *Streptococcus acidominimus*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus pluranimalium*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus uberis*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio vulnificus*, *Virgibacillus panthothenticus*, *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Yersinia ruckeri* türleri izole edilerek tanımlanmıştır.



Şekil. IV.38. API 50 CH Test Sonucuna Örnek.



Şekil IV.39 API 20 E Test Sonucuna Örnek.

BÖLÜM V

SON DEĞERLENDİRMELER VE ÖNERİLER

Tuzlu yağ koruma yöntemi ile korunan derilerde tuz kristallerinin bakteri gelişimini tamamen engelleyecek ölçüde eriyemediği ve derinin içine yeterince nüfuz edemediği yaptığımız çalışma ile ortaya konmuştur. Tuzlanmış derilerde saptadığımız toplam mezofil (10^8 kob/g), proteolitik mezofil (10^7 kob/g) ve lipolitik mezofil bakteri sayıları (10^7 kob/g) derilerde koruma işleminin etkili bir şekilde yapılamadığını ortaya koymuştur. Bu nedenle kesimden hemen sonra mümkün olabildiğince kısa sürede derideki su içeriği hızlıca düşürülerek bakterilerin sayısı kontrol altına alınmalıdır. Böylece deri üzerindeki bakterilerin sayıca artarak derilerde depolama esnasında biyofilm oluşturmaları ve derilerdeki organik maddeleri enzimleri ile parçalamaları da önlenmiş olacaktır.

Çalışmamızda çok fazla sayıda bakteri izole etmemiz tuzun tek başına bakteri gelişimini önleyemediği sonucunu çıkartmaktadır. Derilerde tuz kristalinin yoğun olarak bulunduğu bölgelerde bile bakteri gelişiminin önlenemediği görülmüştür.

Çalışmamızda derilerde tuz doygunluğu % 100 olduğunda bile derilerin nem içeriği, pH değerleri ve ortam ısısının bakteri gelişimini desteklediği ve böyle derilerde oldukça fazla sayıda bakteri bulunduğu saptanmıştır. Yüksek tuz doygunluğuna rağmen derilerde bu kadar çok bakteri izole etmemizin nedeni derilerin epidermis tabakasında bulunan kontaminant bakterilerin yapılan tuzlama işlemi ile kontrol edilememesidir. Deri tuzlama işleminde kullanılan tuzun deri üzerinde homojen bir şekilde dağılması, deri içine nüfuz etmesi sağlanmalı ve yeterli miktarda tuz kullanılmalıdır.

Derilerde bakterilerin bu derece yoğun olması derinin fazla miktarda yağ içermesi ile ilişkili de olabilir çünkü derinin et kısmı fazla yağ içerdiğinde, derinin iç kısımlarına doğru tuz penetrasyonu yavaşlayacaktır. Bu sebeple daha sonraki aşamalarda kullanılan antimikrobiyal maddeler ve deri işlentiğinde kullanılan kimyasal maddeler deri içerisine nüfuz edemeyerek etkileri azalacaktır. Dolayısı ile koruma işlemi tam anlamıyla yerine getirilememiş olacaktır. Derinin iç kısımlarına

yerleşmiş olan bakteriler ortam koşulları (sıcaklık, nem, pH) uygun olduğunda derideki organik maddeleri salgıladıkları enzimlerle parçalayarak ham deriye zarar verebilirler ve sayıca artabilirler.

Deri korunmasında kullanılacak olan tuzlar deri fabrikalarında uygunsuz koşullar altında depolandığında tuzlarda bakteri kontaminasyonu da oluşabilmektedir. Deriler bu tuzlarla korunduğu zaman hem deri fabrikasından hem de toprak, dışkı gibi kaynaklardan bakteriler derilere bulaşabilmektedirler. Derilerde tuzdan dolayı olabilecek bakteriyel kontaminasyonu önlemek amacı ile deri tuzlamada kullanılacak olan tuzun temizliğine ve depolama koşullarına dikkat edilmelidir.

Derilerin yaş tuzlama ve tuzlu salamura yöntemi ile korunmasında derilerdeki bakteri gelişiminin önlenmesi için derilerden izole bakteriler üzerine etkili olan bir bakterisit ve tuz birlikte kullanılmalıdır.

Deri sanayinde derilerdeki bakteri gelişiminin önlenmesi için tuzla birlikte borik asit kullanıldığı belirtilmiştir ancak çalışmamızda tuzlanmış derilerde kullanılan borik asit miktarının bakteri gelişimini önleyemediği belirlenmiştir. Tuzun yanında koruyucu bir antimikrobiyal madde kullanımı ile epidermis ve dermis tabakası homojen bir şekilde hem tuz hem de bakterisit içereceğinden dolayı bakteri gelişimi önlenmiş olacaktır. Ancak kullanılacak olan bakterisit konsantrasyonu ve bakterisit etkisi derilerden farklı zamanlarda elde edilen bakteri izolatları üzerinde test edilmelidir. Ayrıca, tuzlanmış derilerden depolanma esnasında farklı periyotlarda örnekler alınarak özellikle proteolitik ve lipolitik bakterilerin sayısı saptanmalıdır. Bakteri sayıları yüksek olan derilere en kısa zamanda tekrar bakterisit uygulanmalıdır. Ancak deri tuzlamada yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal maddelerin yetersiz miktarda ve gelişigüzel kullanımından dolayı belli bir süre sonra bu antimikrobiyal maddelere karşı dirençli suşların ortaya çıkacağı ve deri fabrikalarında baskın flora üyeleri olacağı da göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle deri fabrikalarındaki bakterilere etkili olabilecek antimikrobiyal maddeler zaman zaman yapılacak deneyler ile sürekli belirlenmelidir. Derilerdeki bakterilere etkisi olmayan dar spektrumlu antimikrobiyal maddeler kesinlikle kullanılmamalıdır. Özellikle değişik bakterileri inaktive edecek, bakteriler üzerine bakterisitik etkisi olan antimikrobiyal maddeler kullanılmalıdır. Böylece kullanılan bakterisite karşı dirençli suşların gelişimi kontrol altına alınabilir. Bakteriostatik etki gösteren antimikrobiyal maddeler ıslatma işlemi ile deriden uzaklaştırıldıklarında deri

yüzeyinde sadece üremeleri durdurulmuş olan bakteriler aktif hale geçerek ıslatma işlemi esnasında sayıca artabilir ve derilerde ciddi zararlar oluşturabilirler.

Tuzlu yaş yöntemi bakterilerin gelişimini engelleyecek şekilde modifiye edilmelidir. Özellikle fazla sayıda proteolitik ve lipolitik bakteri içeren deriler uzun süre depolanmamalıdır. Böyle derilerin hijyenik koşullarda ve soğuk depolarda depo edilmeleri gerekmektedir. Derileri uzun süreli olarak iyi koşullarda saklamak için gereken standartların (nem içeriği % 40-48 arasında, tuz doygunluğu $\geq$ % 85) dikkatle uygulanması gerekmektedir (Bailey, 2003).

Derilerde bakteri sayısı 10^8 kob/g olduğunda sadece tuz ile bakteri gelişiminin kontrol edilmesi mümkün olamamaktadır. Bilindiği bakterilerin sayısı belirli bir popülasyona ulaştığında bakterilerde *Quorum sensing* adı verilen mekanizmayı aktif hale geçiren oto sinyalcı moleküller sentezlenmektedir. Bakterilerdeki *Quorum-sensing* mekanizmasının hücre dışı enzimlerin üretilmesini ve virulansla ilişkili genlerin ifadesini kontrol ettiği bilinmektedir (Madigan ve ark., 2009). Böylece belli bir sayıya ulaşmış bakterilerin ürettikleri enzimlerin derilerde oluşturacakları zararlar daha fazla olacaktır. Bu nedenle derilerdeki bakteri sayılarının olabildiğince düşük olması (10^2 - 10^3 kob/g) gerekmektedir. Ancak bu şekilde ham deriden kaynaklanan deri zararlarının önüne geçilerek hem büyük ekonomik kayıplar önlenmiş olacak hem de dünya deri sektöründe rekabet etme gücümüz artırılmış olacaktır.

Bu konuda yapmış olduğumuz ön çalışma sonuçlarına göre derilerden oldukça fazla sayıda mikroorganizma izole edilmiştir. Bu nedenle bu çalışmamızda tuzlanmış derilerin tuz kristali bulunan ve bulunmayan bölgelerinde bulunan mikroorganizma sayılarının ve türlerinin belirlenerek yaş tuzlama yönteminin derilerde bakteri gelişimini önleyip önleyemediği detaylıca yapmış olduğumuz bu çalışma ile araştırılmıştır.

Çalışma sonuçlarımız, çalışma öncesinde tahmin ettiğimiz gibi tuzlanmış derilerde tuz kristali bulunan kısımlarda tuz doygunluğunun daha yüksek olduğunu göstermiştir. Derilerin tuz kristali bulunan bölgelerinden yaptığımız ekimler sonucunda mezofil bakteri sayısı (10^7 kob/g) tuz kristali bulunmayan bölgeye (10^8 kob/g) göre çok az düşük bulunmuştur. Ancak proteolitik ve lipolitik mezofil bakteri sayısı her iki bölgede de hemen hemen aynı bulunmuştur. Bu sonuçlar bize farklı ülkelerden gelen ve farklı tabakhanelerden toplanan tuzlanmış derilerin bakteri popülasyonunun aynı sayıda olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda derilerde tuz

kristalinin yoğun olduğu bölgelerde bile 10^7 kob/g bakteri olması tuzun derilerdeki bakteri gelişimini kontrol edemediğini göstermektedir. Bu deneylerimizin en önemli sonucu, tüm dünyada uygulanan tuzlu yaş yöntemi ile korunan derilerde bakteri gelişiminin kontrol altına alınamamasıdır. Bu nedenle derilerin korunmasında tüm dünyada yaygın olarak kullanılan bu yöntemin tekrar gözden geçirilmesi ve etkili bir şekilde modifiye edilmesi gereklidir. Bu konuda yapmış olduğumuz bu önemli detaylı çalışmamız bu gerçeği açıkça ortaya koymuştur.

Çalışmamızda 10 adet tuzlanmış derinin hem tuz kristali bulunan hem de bulunmayan bölgelerinden toplam olarak 668 bakteri izole edilmiştir. Bu bakterilerin 36 cins ve 102 türe ait olduğu yaptığımız identifikasyon çalışmaları ile tespit edilmiştir. Derilerin hem tuz kristali içeren hem de tuz kristali içermeyen bölgelerinden hemen hemen aynı bakteri türleri izole edilmiştir.

Ayrıca yapmış olduğumuz bu çalışma deri korunması ile ilgili diğer çalışmalara kaynak oluşturacaktır.

Çalışmamızdan izole ettiğimiz bakteri çeşitlerinin ve sayılarının koruma işlemlerinde dikkate alınması ile derilerde oluşan ciddi zararlar önlemiş olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Adamcic, M.; Clark, D.S.: “Collagenolytic Activity of Pigmented Pseudomonas”, *Can.J.Microbiol.*, 16 (1990) 709-712.
- [2] Adeleye, I.A.; Adebisi, A.A.: “Physicochemical and microbiological assessment of Oko-oba-A nigerian abattoir”, *Journal of Environmental Biology*, 24(2003) 309–313.
- [3] Akın, H., Altınel, A. ve Güneş, H.: “Akkaraman Irkında Yas ve Cinsiyetin Deri Kalitesi ve Randımanına Etkileri Üzerinde Araştırmalar”, *Doktora Tezi*, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootehni Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye (2001).
- [4] Andersen, M.K.; Field, R.A.; Riley, M.L.; McCormick, R.Y.; Snowden G.D. and Bailey, D.G.: “Effects of age, castration and season on difficulty of pelt removal in lambs”, *J. Anim.Sci.*,69 (8) (1991) 3284-3291.
- [5] Anderson,H.: “The Bacteriology of the Hide Preservation”, *Journal of the Society of Leather Trades Chemist*, Vol: XXXIII, No:7, (1949) 251-256.
- [6] Anonim: ID-133, A course of fellmongers, Information Document, BLC-Leather Technology Center, (1998).
- [7] Antychowicz, J.; Rogulska, A.: “Preliminary Investigations on The Bacterial Flora of The Skin and Erythrodermatitis Ulcers of Cap. Bulletin of The Veterinary Institute in Pulawy, (1985) 1-45.
- [8] AOAC International: “Bacteriological Analytical Manual”, 7th Edition, Arlington, VA(1992).
- [9] Aquim, P.M.: “Balanço de Massa: uma Ferramenta para a Implementação de Melhorias nos Processos de Ribeiro e Curtimento, MSc thesis, Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, (2004).
- [10] Armstrong,G.L.; Hollingsworth, J.; and Morris, J.G.: “Emerging food-borne pathogens. *Escherichia coli* O157:H7 as model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world”, *Epidemiol.Rev.*, 18 (1996) 29-51.
- [11] Artan, M.E.: “Akkaraman ve Dağlıç Koyun Derilerinin Yapı Özellikleri ve Bu Özelliklerinin Birbirleriyle ve İşlenmiş Deri Kalitesiyle İlişkisi”,

Doçentlik Tezi, İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Kürsüsü, İstanbul, Türkiye, (1979).

- [12] Artan, M.E.; Özcan, N.; Cıvcık, A. ve Susur, M.: “İstanbul, Malatya ve Konya Ereğlisi’nde 1980 Yılında Toplanan Kurban Derileri Üzerinde Bir Çalışma”, İst. Üniv. Vet. Fak.Derg., 7 (1) (1981) 19-23.
- [13] Artan, M.E.: “Atatürk Yılı Kurban Derileri Islah Çalışmaları”, İst. Üniv. Vet. Fak. Derg., (Ek), 8 (1) (1982) 1-88.
- [14] Artan, M.E.; Sunaçoğlu, H.: “Koyun Derilerinin Kimyasal Bileşimi ve Yaş, Irk, Cinsiyete Bağlı Değişimler”, İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg., 12(1), (1986) 43-53.
- [15] Artan, M.E.; Çalışlar, T.; Dağlıoğlu, S.; Uğurlu, S.; Doğruman, H.; Armutak, A.; Fırat, U.; Çörekçi, İ. ve Arslan, Ş.: “Türkiye’de Üretilen Sığır, Koyun ve Keçi Derilerinin Morfolojik ve Kimyasal Özelliklerinin Saptanması ve Bu Özelliklerin Deri Sanayi Açısından Önemi”, İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu 144-147 / 310585 No’lu Proje Kesin Raporu, (1995).
- [16] Aslam, M.; Nattress, F.; Greer G.; Yost, C.; Gill C. and McMullen L.: “Origin of Contamination and Genetic Diversity of *Escherichia coli*”, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol 69, 5 (2003) 2794-2799.
- [17] Bailey, D.G.; Haas, J.M.: “Electron Beam Irradiation of Fresh Hides, Salted Hides and Leather”, *Microbial Control and Effect on Physical Properties, JALCA*, 83 (1988) 46-55.
- [18] Bailey, D.G.; Birbir, M.: “A Study of the Extremely Halophilic Microorganisms Found on Commercially Brine-Cured Cattle Hides”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 88 (1993) 285.
- [19] Bailey, D.G.; Birbir, M.: “The Impact of Halophilic Organisms on the Grain Quality of Brine Cured Hides”, *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 91 (1996) 47-51.
- [20] Bailey DG, Gosselin JA. The preservation of animal hides and skins with potassium chloride”, *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, 91:317 (1996) 33.
- [21] Bailey, D.G.: “The Preservation of Hides and Skins”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 98 (2003) 308-319.
- [22] Balfour, D.: “Microorganism in the Tannery”, *Leather Manufacturer*, 6:12 (1960).

- [23]Barrett, J.C.: “Short-Term Preservation of Hides in Zimbabwe”, *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 70 (1986) 83-89.
- [24]Barrie, P.S.; Christou, N.V.; Patchen, D.E.: “Patogenicity of The Enterococcus in Surgical Infections” *Annals of Surgery*, 212 (1990) 155-159.
- [25]Baştürk, S.: “*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Çeşitli Kinolon Grubu Antibiyotiklerin Duyarlılıklarının Araştırılması”, *Uzmanlık Tezi*, T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul (2005) 14-24.
- [26]Bayramoğlu, E.E.; Yamamoto, G.T.: “International Marketing For The Turkish Leatherproducts: Opportunities and Threats”, (2006).
- [27]Bektaş, B.: “Deri ve Deri Mamulleri Sanayi”, T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi, İGEME, Ankara (2005).
- [28]Bektaş, B.; Sarı, A.: “Deri ve Deri Mamulleri”, T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi, İGEME, Ankara (2007).
- [29]Bell, R.G.: “Distribution and Sources of Microbial Contamination on Beef Carcasses”, *J. Appl. Microbiol.*, 82 (1997), 292-300.
- [30] Benson Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology, Eight Edition, The McGraw-Hill Companies, (2001) 436.
- [31]Bergmann, M.: “The Red Discoloration of Salted Hides and on Salts Stains”, *Journal of the International Society of Leather Trades Chemists*, 13 (1929) 599-612.
- [32]Berzeg, D.: “Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnci, Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci ve E Test ile Vankomisin Mik Değerlerinin Değerlendirilmesi”, T.C.Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, (2005) 9-29.
- [33]Beşe, M.: “Mikrobiyolojide Kullanılan Biyokimyasal Testler ve Besiyerleri”, Ankara Üniv. Vet. Fak., Ankara Üniv. Basımevi, Ankara, (1974) 298.

- [34]Bienkiewicz, K.: “Physical Chemistry of Leather Making”, ISBN 0-89874-304-4 (1983).
- [35]Bilgehan, H.: “Streptokoklar” *Klinik Mikrobiyoloji*. Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, Şafak Matbaacılık, İzmir, 9. Basım (1995) 248-286.
- [36]Bilgehan, H.: “Non- Fermentatif Gram Olumsuz Basiller ”, *Klinik Mikrobiyoloji-Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, Barış Yayınları, 10. Baskı, (2000) 175-197.
- [37]Bilgehan, H.: “Gram Olumlu Koklar”, *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*, Fakülteler Kitapevi, İzmir, (2000) 239-268.
- [38]Bilgehan, H.: “Klinik Mikrobiyolojik Tanı”, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 4. Baskı (2004) 35-434.
- [39]Bilgin, Y.: “*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus aureus* Suşlarında Çeşitli Aminoglikozidlerin Duyarlılıklarının Araştırılması”, *Uzmanlık Tezi*, T.C. Sağlık Bakanlığı, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye, (2006) 13-23.
- [40]Birbir, M.: “Deri Endüstrisinde Kullanılan İşlenmiş ve İşlenmemiş Sığır Derilerinde Derinin Kalitesine Etki Eden Mikroorganizmaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu”, *Doktora Tezi*, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, (1991) 1-92.
- [41]Birbir, M.; Ilgaz, A.: “Isolation and Identification of Bacteria Adversely Affecting Hide and Leather Quality”, *J. Soc. Leather Tec. Chem.*, 80 (1996) 147-153.
- [42]Birbir, M.; Kallenberger, W. and Ilgaz, A.: “Halophilic Bacteria Isolated from Brine Cured Cattle-Hides” *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists.*, 80 (1996) 87.
- [43]Birbir, M.: “Investigation of Salted-Cured France and Russian Hides for Halophilic Bacteria”, *Journal of Turkish Microbiological Society*, 27 (1997) 68-73.

- [44]Birbir, M.; Bailey, D.G.: “Controlling the Growth of Extremely Halophilic Bacteria on Brine Cured Cattle Hides”, *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 84 (2000) 201-204.
- [45]Birbir, M.; Ogan, A.; Calli, B.; Mertoğlu, B.: “Enzymatic Characteristics of Extremely Halophilic Archaeal Community in Tuzkoy Salt Mine, Turkey”, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20 (2004) 613-621.
- [46]Bitlisli, B.O.; Karavana, H. A.; Basaran, B.; Sarı O.; Yasa, I.; Birbir, M.: “The Effect of Conservation Defects on the Suede Quality of Double-Face”, *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 99 (12) (2004) 494-501.
- [47]Blajan, L. : “Effects of diseases on the production of hides, skins and animal fibres”, *Uluslararası Deri, Kıl ve Yapağı Sempozyumu*, , Çukurova Üniv. Zir. Fak., Bildiri No. 2-2, Adana, 2-6 Kasım (1991a).
- [48]Blajan, L. : “Effects of abattoir procedures on the quality of hides and skins”, *Uluslararası Deri, Kıl ve Yapağı Sempozyumu*, , Çukurova Üniv. Zir. Fak., Bildiri No: 2-3, Adana, 2-6 Kasım (1991b).
- [49]Boyd C.; Haris C.; Maree C.: “Putrefication Potentiometry. A New Look into Bacterial Attack on Hides and Skins”, *Society of Leather Technologists and Chemists*, (2003).
- [50]Brenner, D.J.: “Family I. *Enterobacteriaceae*”, *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, Krieg, N.R.; Holt J.G. Editors.; Williams &Wilkins, Baltimore, MD, (2005) 587-850.
- [51]Bruner, D.W. ; Gillespie, J.H.: “Hagan’s Infectious Diseases of Domestic Animals”, 6th Ed., Cornell University Press, Ithaca, (1973) 1385.
- [52]Byrne, C.M.; Bolton, D.J.; Sherldan, J.J.; McDowell, D.A.; Blair, I.S.: “The Effects of Preslaughter Washing on the Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 Transfer from Cattle Hides to Carcasses During Slaughter”, *Letters in Applied Microbiology*, 30 (2000), 142-145.
- [53]Cengiz, A.T.: “Staphylococcus”, Ustaçelebi Ş., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, (1999) 339-346.
- [54]Champion, R.H.; Gilman, T.; Rook, A.J. and Sims, R.T.: “An Introduction to the Biology of the Skin”, *Blackwell Scientific Publications*, (1970) 197-205.

- [55]Chapman,P.A.; Siddons,C.A.; Wright,D.L.; Norman, P.; Fox, J. and Crick, E.: “Cattle as a possible source of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 infections in ma”. *Epidemiol.Infect.*, 11 (1993) 439-447.
- [56]Chenoweth, C.; Schaberg ,D.: “The Epidemiology of *Enterococcus*”, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 9 (1990) 80-89.
- [57]Combs, B.R and Roddy, T.W.: “Studies of the Quality of Leather Made from Calfskins of Current Packing House Practices”, *JALCA*, (1959) Vol: LIV, No: 2
- [58]Cooper, R.D.: “ANew Look at Curing”, *J.Soc.L Leather Tech. Chem.*, 57 (1973) 19-25.
- [59] Cordon, T.C.; Everett, A.L. and Windus, W.: “The Influence of Bacteria on Depilation of Hides by Enzymes”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, Vol.LVI, 4 (1961) 164-173.
- [60]Cordon, T.C.; Jones, H.W.; Naghski, J. and Jiffie, J.W.: “Benzalkonium chloride as a preservative for hide and skin”, *J. Soc. Leather Trade Chem.* 59:317 (1964) 26.
- [61]Cooper, D.R. and Galloway, A.C.: “Determination of Bacterial Growth Rates and Their Practical Significance”, *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 58 (1973), 25-31.
- [62]Cowling, R.L.; Sleight, J.P.: “Microbiology and Leather Industry”, The British Leather Manufacturers Research Association and Manchester Group, (1964) 43-44.
- [63]Çetin, E.T.: “Genel ve Pratik Mikrobiyoloji”, İstanbul Üniversitesi, 3.Baskı, Sermet Matb. İstanbul, (1973).
- [64]DeBeukelaer, F.: “Preservation of Hides and Skins”, *Chemistry and Technology of Leather*, vol.1, Reinhold publishing corporation, New York (1956).
- [65]Dellal, İ.; Özüdoğru, T.: “Deri Sanayi”, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, Sayı 2, Nüsha 4 (2003).
- [66]Dempsey, M.: “ The Penetration of Bacteria into Hides and Skins”, *J. Soc. Leather Trades*, 53 (1) (1969) 32-35.
- [67]Didato, D.; Bowen, J. and Hurlow, E.: “Microorganism Control During Leather Manufacture”, *Leather Technologist Pocket Book* Chapter 20,

- M.K. Leafé editors.; The Society Leather Technologist and Chemists, East Yorkshire, England, (1999) 14.
- [68] Difco Manual: "Dehydrated culture media and reagents for microbiology", Detroit Michigan (USA) ISBN, 0-9613169-9-3, (1984) 214.
- [69]Donald, L.; Ballantyne, J.R. and Converse, J.M.: "Structure and properties of skin and of its components from the point of view of preservation by freezing and freeze drying", *Cyrobiology*, 3 (2), (1966) 131-177.
- [70]DPT (Devlet Planlama Teşkilatı) Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı: "Deri ve Deri Mamulleri Sanayii Özel İhtisas Komisyon Raporu", DPT: 2519, ÖİK: 537, Ankara (2000).
- [71]Eliopoulos, G.M.; Eliopoulos, C.T.: "Therapy of Enterococcal Infections", *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 9 (1990) 118-126.
- [72] Elliott, R.G.H.: "Hides and Skins Improvement in Developing Countries", FAO Agricultural Services, Bulletin 67 (1988).
- [73]Erdem, B.: "Pseudomonaslar", Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, 1. Baskı, (1999) 551-558.
- [74]Erençin, Z.; Sağlam, M.: "Genel Histoloji", Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara Üniversitesi Basım Evi, 2. Baskı (1969).
- [75] Everett, A.L.; Cordon, T.C.: "Resistance of Purified Collagen to Degradation by Salt Tolerant Bacteria in Pure Culture", *Journal of the American Leather Chemists Association*, Vol. LI. 2 (1956) 59-66.
- [76]Ewing, W.H.; Reavis, R.W. and Davis, B.R.: "Provisional *Shigella* serotypes", *Can. J. Microbiol*, 4 (1958) 89-107.
- [77]Ewing, W.H.; Ross, A.J.; Brenner, D.J. and Fanning, G.R.: "*Yersinia ruckeri* sp. nov., the redmouth (RM) bacterium". *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 28 (1978) 37-44.
- [78]Facklam, R.R.; Sahm, D.F. and Tenover, F.C.: "Enterococcus", In *Manual of Clinical Microbiology*, 7th Ed., Murray, P.R.; Baron, E.J.; Tenover, F.C.; Tenover, F.C., Tenover, F.C., Tenover, F.C. Editors.; Washington, (1999).
- [79]Firat, U.B. ve Artan, M.E.: "The Correlations Between Density of Collagen and Elastic Fibers in Anatolian Black Breeds", İstanbul

University Research Found, Project number 144-147/310585, İstanbul, Türkiye, (2001).

- [80] Giffiee, J.W.; Firsch, G.J. and Campbell.: "Influence of Bacterial Enzymes on Collagen Stability", *Journal of the American Leather Chemists Association*, Vol.LX. 6 (1965) 264-274.
- [81]Gonzales, C.; Gutierrez, C.; Ramirez, C.: "*Halobacterium vallismortis* sp. nov. An Amylolytic and Carbohydrate-Metabolizing Extremely Halophilic Bacterium", *Canadian Microb.*, 24 (1978) 710-715.
- [82]Gran, F.H.; "Prevention of microbial contamination in the export beef abattoir. In Elimination of Pathogenic Organisms from Meat and Poultry", ed. Smulders, F.J.M., Amsterdam, Elsevier, (1987) 221-234.
- [83] Green, G.H.;"The sweating of sheepskins", *J. Soc. Leather Trade Chem.* 39(1), (1955) 20-31.
- [84] Gutterres M.: "Desenvolvimento Sustentavel em Curtumes", In: Proceedings of XVI Congresso Nacional da Abqtic, Foz do Iguaçu, (2003).
- [85]Haines, B.M.: "The Temporary Preservation of Sheepskins: Trials with Vantocil IB. ", *The Society of Leather Technologists and Chemists*, British Leather Manufacturers Research Association, 57 (1973) 84-92.
- [86]Haines, B.M.; Barlow, J.R.: "The Anatomy of Leather", *J.Materials Sc.*, British Leather Manufactures Research Association, Milton Park, Egham, Surrey, UK, 10 (1975) 525-538.
- [87]Haines, B.M.: "Quality Rawstock", *Journal of the American Leather Chemists Association*, Vol.LVI, 4 (1984) 164-173.
- [88]Hanlin, M.B.; Field, R.A. and Ray, B.: "Characterization of Predominant Bacteria in Cattle Hides and Their Control by a Bacteriocin Based Preservative", *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 90 (1995) 380-320.
- [89]Hardie, J.M.: "Genus *Streptococcus*", *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, Sneath, P.H.A., Mair, N. S., Sharpe M. E., Holt J.G., Editors.; Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 12 (1986) 1043-1071.
- [90]Harley, J.P. and Prescott, L.M.: "Laboratory Exercises in Microbiology, 5th Ed. The McGraw-Hill Companies, New York, NY, (2002).

- [91] Harmancıoğlu, M.; Dikmelik, Y.: “Ham Deri Yapısı, Bileşimi, Özellikleri”, Sepici Şirketler Topluluğu, Özen Ofset, İzmir, (1993).
- [92] Harmancıoğlu, M.; Yakalı, T.: “Kurban derileri üzerinde bir araştırma”, 4. Bilim Kongresi, Ankara, 5-8 Kasım (1973).
- [93] Heidemann, E.: “Hide Preservation and Hide Defect of from Insufficient Curing”, *Fundamentals of Leather Manufacture*, Eduard Roether KG, (1993) 165-217.
- [94] Helrich, K., (Ed.): “Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists”, *Association of Official Analytical Chemists* 15th Edition, Inc., Arlington, VA (1990).
- [95] Hendry, M.F.; Cooper, D.R. and Woods, D.R.: “The Microbiology Curing and Tanning Process, Part I, II, III, VI, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 66 (1970).
- [96] Hendry, M.F.; Cooper, D.R. and Woods, D.R.: “The Microbiology of Curing and Tanning Processes. Part IV. The Laboratory Screening of Antiseptics”, *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 66 (1971) 31-39.
- [97] Hien, N.T.P.: “A Rapid Quantitative Assay For Bacterial Protease Activity”, *MSc. Thesis*, Texas Tech University, Texas, TX, USA (2006) 1-13.
- [98] Highberger, H.J.: “The Chemical Structure and Macromolecular Organization of the Skin Proteins”, *Chemistry and Technology of Leather*, Reinhold Publishing Corporation, New York, 1 (1956) 65.
- [99] Hochenull, D.J.D.: “Leather Process in Industrial Microbiology”, Churchill Livingstone, Edinburg and London, 201 (1971).
- [100] Hughes, I.R.: “Temporary preservation of hides using boric acid”, *J. Soc Leather Trade Chem.* 58 (100) (1974) 3.
- [101] İTKİB Genel Sekreterliği AR & GE ve Mevzuat Şubesi: “Deri ve Deri Mamulleri Sektörü 2007 Yılı, Ocak-Aralık, İhracat Performans Değerlendirmesi, (Ocak 2008).
- [102] Jensen, R.: “Diseases of Sheep, Lea and Febiger, Philadelphia, (1974) 389.
- [103] Johnson, R.P.; Clarke, R.C.; Wilson, J.B.; Read, S.C.; Rahn, K.; Renwick, S.A.; Sandhu, K.A.; Alves, D.; Karmali, M.A.; Lior, H.;

- McEwen, S.A.; Spika, J.S. and Gyles, C.L.: "Growing concerns and recent outbreaks involving non-O157:H7 serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli*". *J.Food Prot.*, 59 (1996) 112-1122.
- [104] Jordan, D.L.: "Red Heat in Salted Hides", *Journal of the International Society of Leather Trades Chemists*, 13 (1929) 538-569.
- [105] Kaleli, D.; Özkaya, F.D.: "Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları", Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara, 17 (2000) 522.
- [106] Kallenberger, E.W. and Coller, M.R.: "Rapid Determination of Moisture Cured Hides by Microwave Oven", *JALCA*, 74 (1979) 454-468.
- [107] Kallenberger, E. W.: "Halophilic Bacteria in Brine Curing", *The Journal of the American Leather Chemists Association*, 79 (1984) 104-114.
- [108] Kanagaraj, J.; Chandra Babu, N.K.; Sadulla, S.; Rajkumar, G.S.; Visalakshi, V. and Kumar, N. C.: "Cleaner techniques for the preservation of raw goat skins", *Journal of Cleaner Production*, 9 (2001) 261-268.
- [109] Kanagaraj, J.; Sastry, T.P. and Rose, C.: "Effective Preservation of Raw Goat Skins for the Reduction of Total Dissolved Solids", *Journal of Cleaner Production*, 13 (2005a) 959-964.
- [110] Kanagaraj, J.; Sundar, V.J.; Muralidharan, C.; Sadulla, S.: "Alternatives to Sodium Chloride in Prevention of Skin Protein Degradation-a Case Study", *Journal of Cleaner Production*, 13 (2005b) 825-831.
- [111] Kayser, F.H.; Bienz, K.A.; Eckert, J. and Zinkernagel, R.M.: "Medical Microbiology", Thieme, (2005) 229-345.
- [112] Kılıçoğlu, S.: "Ham Deri Ders Notları", Dericilik Araş. Enst. Yay., İstanbul, (1984).
- [113] Kılıçoğlu, S.: "Ham Deri", Dericilik Araş. Enst. Yay. No. 2, İstanbul, (1991).
- [114] Kloos, W.E.; Schleifer, K.H.: "Genus IV. *Staphylococcus*", *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, Sneath, P.H.A., Mair, N. S., Sharpe M. E., Holt J.G., Editors.; Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 12 (1986) 1013-1035.

- [115] Koneman, E.W.; Allen, S.D. and Janda, W.M.: "The Gram Positive Cocci: Part II Streptococci, Enterococci and The Streptococci Like Bacteria". In *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5th Edt., Philadelphia, Lippincott, (1997) 577-629.
- [116] Kowalewski, F.J.: "A Microbiological Study of Animal Skin", *JALCA*, XXXV (10) (1940) 656-663.
- [117] Kritzinger, C.C. and Van Zyl, J.H.M.: "The Preservation of Hides With Used Salt", *Journal of the American Leather Chemists Association*, Vol: XI (3) (1945), 207-213.
- [118] Kuroczkin, J.; Strzelczyk, B.A.: "Studies on the Microbial Degradation of Ancient Leather Bookbindings", *International Biodeterioration*, Part 2, 25 (1989) 39-47.
- [119] Leafe, M.K.: "Leather Technologists Pocket Book", *Society of Leather Technologists and Chemists*, (1999).
- [120] Leather Industries of America and U.S. Hide, Skin Leather Association: "Trade Practices for Proper Packer Cattle Hide Delivery" (1990) 1-27.
- [121] Leslie, R.C.: "The Bacteria in Lime Liquors", *Journal of The Society of Leather Trades Chemists*, 7 (10) (1923) 418-423.
- [122] Lloyd, D.J.; Marriott, R.H. and Robertson, M.E.: "Red Heat in Salted Hides", *Journal of the International Leather Trades Chemists*, 13(11) (1929) 538-547.
- [123] Lollar, M.R.; Kallenberger, E.W.: "Halophilic Bacteria Thrive in Seasonal Cycles", *Journal of the American Leather Chemists Association*, 81 (1986) 248-264.
- [124] Lunam, C.A. and Weir, K.A.: "Storage of Ostrich Skin. Effects of Preservation Methods on Skin Structure, Physical Properties & Microbial Flora", A Report for the Rural Industries Research and Development Corporation, July , (2006).
- [125] Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; Dunlop, P.V.; Clarck, D.P.: "Brock Biology of Microorganisms", Twelfth Edition., Pearson Benjamin Cummings., (2009) 329-417.
- [126] Maffia, G.J., Seltzer M.A., Cooke, P.H. and Brown, E.M.: "Collagen Processing", *JALCA*, 99 (2004) 164-169.

- [127] McEvoy, J.M.; Doherty, A.M.; Sheridan, J.J.; Bailey, D.G.; Blair, I.S.; McDowell, D.A.: "The Effects of Treating Bovine Hide with Steam at Subatmospheric Pressure on Bacterial Numbers and Leather Quality", *Letters in Applied Microbiology*, 37 (2003) 344-348.
- [128] McLaughlin, G. and Highberger, J.H.: "On the Bacteriology of Goat Skin Soaking", *Journal of the American Leather Chemists Association*, 21 (1926) 280.
- [129] Mc Laughlin, D.G.; Rockwell, E.G.: "The Bacteriology of Fresh Steer Hide", *JALCA*, XVII: 7 (1922) 325-340.
- [130] McLaughlin, D.G. and Rockwell, E.G.: "The Bacteriology of Fresh Steer Hide", *Journal of the American Leather Chemists Association*, 17 (7) (1922), 325-340.
- [131] Merck Microbiology Manual, 12 th edition.
- [132] Mitchell, W.: "Prevention of Bacterial Damage on Brine Cured and Fresh Cattle Hides", *Journal of the American Leather Chemists Association*, 82 (1987) 372.
- [133] Moellering, J.C.: "Enterococcus Species", In Mandell G. L., et al. *Principles and Practise of Infectious Diseases*, 5th Ed. NewYork, Churcill Livingstone, (2000) 2147-2156.
- [134] Muthusubramanian, L. and Mitra, R.B.: "A Cleaner Production Method for the Synthesis of Bronopol- A Bactericide That is Useful in Leather Making", *Journal of Cleaner Production* 14 (5) (2006) 536-538.
- [135] Nandy, S.C. and Sen, S.N.: "Effect of Environment on Growth and Carotenogenesis of *Sarcina litoralis*", *Canadian Journal of Microbiology*, 9 (1963) 601-611.
- [136] Nandy, S.C. and Venkatesan, R.A.: " Defects in Hides Skins and Leather due to Animal Diseases", *Leather Science*, 21 (1974) 219-230.
- [137] Naylor, G.R.E.: "Hides, Skin Improvement in Developing Countries", *Food and Agricultural Organization of the United Nations*, (1985) Bultein 67.
- [138] O' Flaherty, F.: "Brine Cure of Hides", *LeatherManufacturer*, 6 (1960) 20.
- [139] O' Flaherty, F.: "How to Insure Quality in Leather", *Leather and Shoes*, 7 (1965) 32.

- [140] O’Flaherty, F.; Lollar, M.R.: “The Practice of Hide Curing” *The Leather Manufacturer*, 8 (1953), 24.
- [141] O’Flaherty, F.; Roddy, W.T.: “The Chemistry and Technology of Leather”, Volume IV- Evaluation of Leather, Reinhold Publishing Corporation. The Science Press, Inc. Ephrata: Pennsylvania (1965).
- [142] Oppong, D.; Bryant, S.; Rangarajan, R.; Steele, S.; Radwell, D. and Hyllengren, L.: “Application of Molecular Techniques to Identify Bacteria Isolated From the Leather Industry” *Journal of the American Leather Chemists Association*, 101 (2006) 140-145.
- [143] Orlita, A.: “Biodeterioration in Leather Industry”, Walters, A.H.; Elphick, J.J. Editors.: *Biodeterioration of Materials*, Proceedings of the First International Biodeterioration Symposium, Elsevier, London, (1968a) 297-301.
- [144] Orlita, A.: “Microorganisms in Tannery”, Public Seminar on Biological Aspects of Leather Manufacture, Central Leather Research Institute, Adyar, Madras, India, (1968b) 1-18.
- [145] Orlita, A.: “Microbial Biodeterioration of Leather and Its Control: A Review”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 53 (2004) 157-163.
- [146] Oyen, V.: “The Positive Effect of Cooling on the Quality of Hides and Leather: Latest Developments”, *Leather*, (1992) 43-46.
- [147] Özçörekçi, M: “Dünyadaki Genel Eğilimler ve Deri ve Deri Ürünleri Sanayimizin Geleceği”, I Ulusal Deri Sempozyumu Bildiriler Kitabı, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Deri Mühendisliği Bölümü ve Detek, İzmir, Türkiye, 7–8 Ekim, (2004) 1-20.
- [148] Palleroni, N.J.: Family I.*Pseudomonadaceae*, in: Krieg, N.R.; Holt J.G.(Eds.), *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, Williams &Wilkins, Baltimore, MD, (1984) 323-328.
- [149] Papakçı, S., Fırat, A.: “Kıvırcık ve Dağlıç Irkı Kuzu Derilerindeki Kollajen Miktarının Tayini ve Bunun Mamul Deri Üzerine Etkisi”, *Yüksek Lisans Tezi*, (2003).

- [150] Prescott L.M.; Harley J.P. and Klein, D.A.: "Microbiology", 5th edition, The McGraw-Hill Companies, (2002) 487-550.
- [151] Polkade, A.V.: "Molecular and Phylogenetic Studies on Microbial Diversity of Raw Buffalo Hide to be Used in Leather Manufacturing", *Doctorate Thesis*, University of Pune, Faculty of Science, India, Pune (2007) 104.
- [152] Pollack, M.: "Pseudomonas aeruginosa and Related Bacteria" *Infectious Diseases*, Gorbach, S.L.; Barlett, J.G.; Blackow, N.R. Editors.; 2. baskı, (1998) 1824- 1901.
- [153] Rangarajan, R.; Didato, T.D. and Bryant, S.: "Measurement of Bacterial Populations in Typical Tannery Soak Solutions by Traditional and New Approaches", *Journal of the American Leather Chemists Association*, 98 (2003) 477-485.
- [154] Rao, B.R.; Henrickson, A.: "Preservation of hides with soda ash", *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, 78:48 (1983) 53.
- [155] Rawlings, D.E.; Cooper, D.R.: "Enumeration of Bacterial Populations in Fellmongery and Tannery Effluent", *Journal of the Society of Leather Technologist and Chemists* (1975) Vol: 59, No: 5, 134, 141.
- [156] Reid, C.A.; Small, A.; Avery, S.A. and Buncic, S.: "Presence of Food Borne Pathogens on Cattle Hides" *Food Control*, 13 (2002a) 411-415.
- [157] Reid, C.A.; Avery, S.A.; Hutchison, M.L. and Buncic, S.: "Evaluation of Sampling Methods to Asses the Microbiological Status of Cattle Hides", *Food Control*, 13 (2002b), 405-410.
- [158] Robertson "Progress in Leather Science", *B.L.M.R.A.*, (1948).
- [159] Roddy, W.T.: "Leather", *Research at Cincinnati Leather and Shoes* (1960).
- [160] Roddy, W.T.: "Relationship Between Hide Deterioration and Leather Defects Proceedings of the Fifteenth Research Conference", (1963) 45-52.
- [161] Rodriguez, M. R.; Vreeland, R. H.; Oren, A.; Kessel, M.; Lopez, G. "Halogeometricum borinquense gen. nov. sp. nov. A Novel Halophilic Archeon from Puerto Rico", *International Journal of Systematic Bacteriology*, 48 (1998) 1305–1312.

- [162] Schleifer, K.H.: “Gram Positive Cocci”, Section 12, in: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.G., *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, (1986) 1013-1034, 1043-1071.
- [163] Schmitt, R. And Deasy, C.: “A Test Method to Detect Delayed Cure in Hides”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 58 (10) (1963), 577-587.
- [164] Sharpshouse, J. H.: “Leather Technicians Handbook”, revised edition, Leather Producer’s Association, London, (1983).
- [165] Shede, P.N.; Kanekar, P.P.; Polkade, A.V.; Dhakephalkar, P.K. and Sarnaik, S.S.: “ Bacterial Succession On Raw Buffalo Hide and Their Degradative Activities During Ambient Storage”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62 (2008) 65-74.
- [166] Sneath, P.H.A.: “Endospore-forming Gram-Positive Rods and Cocci”, Section 13, in: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E., Holt, J.G., *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, Williams & Wilkins, Baltimore, MD, (1986) 1104-1139.
- [167] Spearman, R.I.C.: “Integument. Biological Structure and Function”, Cambridge University Press, 3 (1973).
- [168] Sverre, D.: “Prevention of Microbiological Deterioration of Leather”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 51 (3) (1956) 103-117.
- [169] Sverre, D. and Kaplan, A.M.: “Laboratory And Field Exposure Studies of Leather Fungicides”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 51 (1956) 117.
- [170] Starr, M.P.; Chatterjee, A.K.: “The genus *Erwinia*: *Enterobacteria*, pathogenic to plants and animals”, *Annu. Rev. Microbiol.* 26 (1972) 389–426.
- [171] Talaro, K.P.; Talaro, A.: “Foundations in Microbiology”, Fourth Edition, The McGraw Hill Companies, (2002) 58-120.
- [172] Tancous, J.J.: “A Study of Clostridium Bacterium that Causes Severe Hide Damage”, *JALCA*, LVI (3) (1961) 106-119.
- [173] Tancous, J.J.: “Microorganisms in the Skin and Hide Industry”, *Developments in Industrial Microbiology*, Vol 5, Society for Industrial

Microbiology, American Institute of Biological Sciences, Washington, D.C. (1964) 21-29.

- [174] Tancous, J.J., Roddy, W.T. and O’Flaherty, F.: “Skin, Hide and Leather Deffects”, Tanners Council Laboratory, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio (1969).
- [175] Tancous, J.J.: “ A Study of The Purple Color on The Flesh Side of Salt-Cured Hides”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 67(8) (1971) 344-359.
- [176] Tancous, J.J.: “A Study of Purple Color on Flesh Side of Salt Cured Hides”, *JALCA*, Vol 67:8 (1972) 344-359.
- [177] Tancous, J.J.; Jayasimhulu, K.: “Changes in Steerhide Composition Resulting from Autolysis. Part II: Effects of Enzyme Inhibitors”, *JALCA*, Vol 68 (1973) 4.
- [178] Tancous, J.J.; Roddy, T.W. and O’Flaherty, F.: “Skin, Hide and Leather Defects. Tanners Council Laboratory University of Cincinnati, The Western Hills Publishing Company, (1986).
- [179] Toptaş, A.: “Deri İşlentsinde Hata Kaynakları”, ReinLeader-Okkimya, Sade Ofset ve Matbaacılık, İstanbul, Türkiye, (2004), 65-71.
- [180] Toptaş, A.: “Deride Kalite Tespiti”, Sade Ofset ve Matbaacılık, İstanbul, Türkiye, (1998), 13-23.
- [181] Tortora, G.J.; Funke, B.R. and Case, C.L.: “Microbiology an Introduction”, 10th edition, Benjamin Cummings : Editor., Pearson Int. Edt., (2010) 300-328.
- [182] TS 4122.: “Mamül Deriler. pH Tayini”, UDK 675:543.257.1, Türk Standartları Enstitüsü, (1984).
- [183] TS:4127.: “Mamül Deriler. Uçucu Madde (Rutubet Tayini)”, UDK 675.014:543.812, Türk Standartları Enstitüsü, (1985).
- [184] Unat, E.K.: “Gram Pozitif Koklar”, Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi, Dergah Yayınları, İstanbul, 2 (1986) 429-484.
- [185] Vahaboğlu, H.; Akhan, S.Ç.: “*Pseudomonas aeruginosa* ve Diğer *Pseudomonas* Türleri”, *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*, Nobel Tıp Kitapevleri, (2002) 1608-1616.
- [186] Valera, F.R.: “In *Halophilic Bacteria*”, Vol 1-2., CRC Press, Baco Raton, (1988).

- [187] Vanderzant, C., and Splittstoesser, F.D., (Eds.) : “Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods”, *American Public Health Association*, 3rd Edition., Washington DC(1992).
- [188] Venkatesan, R.A.; Nandy, S.C.; Sen, S.N.: “Effect of Storage and Pretanning Operation on the Bacterial Flora and Its Population on Goat Skin”, *Leather Science*, 17 (12) (1970) 395-404.
- [189] Venkatesan, R.A.; Sugumar, M.; Nandy, S.C. and Santappa, M.: “Survey of Incidence of Various Surface Defects in Goat and Sheep Skins in Madras”, *Leather Science*, 24 (1977) 255-265.
- [190] Vivian, G.W.: “ The Preservation of Hides and Skins Against Bacterial Damage”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, Vol. LXIV. 10 (1969) 489–500.
- [191] Waldeyer, W.: “Untersuchungen uber dlle Histogenese der Horngelbilde, insbesondere der Haare und Federn”, *Beitr. Anat. Embryol.* Festgabe für Jacob Henle, (1882) 141-162.
- [192] Waldvogel FA.: “*Staphylococcus aureus* (Including Staphylococcal Toxic Shock)”, *Mandell, Douglas and Bennet’s Principles and Practice of Infectious Diseases*, Mandell, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R. Editors.; Churchill Livingstone, New York, USA 2 (2000) 2069-2092.
- [193] Woods, D.R. and Atkinson, P.: “ The Bacteriology of the Leather Industry”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 5 (8) (1970), 360-383.
- [194] Woods, D.R.; Atkinson, P. and Cooper, D.R.: “The Microbiology of Curing and Tanning Processes. Part III: Analysis of Aerobic Bacteria in Agitated Hide Brining”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, LXV, 8 (1970) 410–418.
- [195] Woods, D.R.; Atkinson, P.; Cooper, D.R. and Galloway, A.C.: “The Microbiology of Curing And Tanning Processes. Part II. Analysis of Aerobic Bacteria in Static Hide Brining”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 65 (1970) 164.
- [196] Woods D.R.; Rawlings, D.E.; Cooper, D.R. and Galloway, A.C.: “Collagenolytic Activity of Hide Bacteria and Leather Decay”, *Research Bulletin No:601* (1972).

- [197] Woods, D.R., Welton, R.L, Thomson, J.A. and Cooper, D.R.: “Collagenolytic Activity of Cured Hide Bacteria”, *J. Appl. Bact.*, 35 (1) (1972), 123–128.
- [198] Woods, D.R., Rawlings, D.E., Cooper, D.R. and Galloway, A.C.: “Collagenolytic Activity of Hide Bacteria and Leather Decay”, *J. App. Bact.*, 36 (1973) 289–295.
- [199] Yapıcı, B.M.; Yapıcı, A.N.; Karaboz, İ., Tozan, M.: “Deri Sektöründe Kullanılan Bazı Bakterisitlerin Etkinliğinin Tespiti Üzerine Bir Araştırma”, I. Ulusal Deri Sempozyumu, İzmir, 7-8 Ekim, (2004).
- [200] Yazıcıoğlu, T., Böler, S.: “Koyun ve keçi derileri (Teknoloji, Kalite ve Kullanım”, Avrupa Zootečni Federasyonu, Sempozyum’83, Ankara, 17-21 Ekim (1983).
- [201] Zyska, B.: “Microbial Deterioration Of Materials”, WN-T Warszawa, Poland (1997) 181-200.
- [202] Zyska, B.: “Microbial Degradation and Corrosion of Technical Materials”, Politechnika Lodzka, Lodz, Poland, (2000) 213-214.
- [203] <http://www.leatherist.net/deri.asp> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [204] <http://www.boludayenihayat.com/news/> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [205] <http://www.ferdinando.org.uk/leather.htm> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [206] <http://dericilik.blogcu.com/4144216> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [207] <http://dericilik.blogcu.com/4144149> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [208] http://www.derisanayi.net/deri_uretimi.asp (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [209] http://www.leathertown.com/info_mk_leather.htm (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [210] <http://kazlicesme.blogspot.com> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [211] <http://www.fao.org> (Erişim tarihi: 2008).
- [212] <http://www.igeme.org.tr/tur/rapor/sektor/derivederimamulleri.pdf> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [213] http://www.derisanayi.net/turkiye_der_iisleme_sektoru.asp (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [214] <http://www.deripan.com/derihakkinda.asp?tab=3&sub=1> (Erişim tarihi: Haziran 2008).

- [215] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Dericilik> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [216] <http://www.turkishleather.com/dtg/StaticPages/showpage.aspx?fname=altsektorler.htm> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [217] <http://www.itkib.org.tr> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [218] Bektaş, B.: “Deri ve Deri Mamulleri Sanayi”, (2005) <http://www.igeme.org.tr/tur/rapor/sektor/derivederimamulleri.pdf> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [219] www.Enchantedlearning.com (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [220] <http://deriteorisi.googlepages.com> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [221] www.ordutarim.gov.tr (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [222] www.ordutarim.gov.tr/subeler/kontrol/mezbaha/deriyonetmeligi.htm (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [223] http://deriteorisi.googlepages.com/1-Hamderi_Islatma_Kireclik.pdf (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [224] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Dericilik> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [225] http://oror.essortment.com/leathertanning_rdcu.htm (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [226] <http://www2.mcdaniel.edu/Chemistry/CH3321JPGs/Proteins> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [227] www.mun.ca/biology/scarr/Collagen_structure.html (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [228] http://nissan.blogcu.com/Hamderi_Islatma_Kireclik.pdf (Erişim tarihi: Haziran 2008) .
- [229] http://nissan.blogcu.com/1-ham-deri-ve-ozellikleri_4818404.html (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [230] <http://www.igeme.org.tr/tur/rapor/sektor/derivederimamulleri.pdf> (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [231] <http://www.ekoja.com/leather.php> (Erişim Tarihi: Haziran 2008).
- [232] www.healthyskinbeauty.com (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [233] www.healthyskinbeauty.com/skin%20structure.jpg (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [234] www.mikrobiyoloji.org (Erişim tarihi: Haziran 2008).
- [235] www.lionden.com/ThickSkin.jpg (Erişim tarihi: Haziran 2008).

[236] www.contractleathers.com/HistoryAndProcess.pdf (Erişim tarihi: Haziran 2008).

[237] www.sodakrom.com.tr/sirket_profil/deri_ve_dericilik_uzerine_temel_bilgiler.asp (Erişim tarihi: Haziran 2008).

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Amasya’ da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi İstanbul’ da tamamladım. 2007 yılında Marmara Üniversitesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümünden birincilikle mezun oldum. Aynı yıl Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Eğitimime başladım.