

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**OYENIRAN BERNADIN AGANI**

**BATI AFRİKA TAHIL BAZLI SÜT ÜRÜNÜ DEGUE'NİN  
FERMANTASYONU VE İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT  
BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ADANA-2019**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BATI AFRİKA TAHİL BAZLI SÜT ÜRÜNÜ DEGUE'NİN  
FERMANTASYONU VE İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT  
BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**OYENIRAN BERNADIN AGANI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu Tez 11/01/2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile Kabul Edilmiştir.

.....  
Prof.Dr.Zerrin ERGİNKAYA  
Danışman

.....  
Prof. Dr. Mehmet GÜVEN  
Üye

.....  
Dr. Öğr. Üyesi Emel ÜNAL TURHAN  
Üye

Bu Tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

**Kod No:**

**Prof. Dr. Mustafa GÖK  
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.**

**Proje No: FYL-2017-9874**

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

**ÖZ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BATI AFRIKA TAHIL BAZLI SÜT ÜRÜNÜ DEGUE'NİN  
FERMANTASYONU VE İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT  
BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİKLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**OYENIRAN BERNADIN AGANI**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA  
Yıl: 2019, Sayfa: 71  
Jüri : Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA  
: Prof. Dr. Mehmet GÜVEN  
: Dr. Öğr. Üyesi Emel ÜNAL TURHAN

Bu çalışmada, laboratuvar koşullarında üretimi gerçekleştirilen Degue örneklerinin, üretimi ve raf ömrü süresince pH, mikrobiyotadaki değişim, mayalar tanımlanmış ve fermantasyonda rol alan LAB'ların antibiyotiklere karşı direnç özellikleri belirlenmiştir. Fermantasyon süresince, Degue örneklerinde pH ölçümlerinin yanı sıra, toplam LAB, *Enterococcus*, toplam mezofil aerob bakteri (TMAB), aerob sporlu bakteri, toplam koliform, *Escherichia coli* ve toplam maya sayıları saptanmıştır. Degue örneklerinin pH değerleri 4,08 - 4,64 arasında bulunmuştur. Toplam LAB, TMAB, *Enterococcus* bakterileri, toplam maya ve toplam koliform sayıları ise sırasıyla 4.77 - 7.70 log kob/g; 4,04 - 6.33 log kob/g; 3.52 - 3,61 log kob/g; 4.38 - 7.16 log kob/g ve 0 - 1.77 log EMS/g arasında saptanmıştır. Hiçbir örnekte aerob sporlu bakterileri ve *Escherichia coli* tespit edilmemiştir. Toplam LAB'nın tanımlanmaları amacıyla katalaz negatif ve Gram pozitif özelliklerine sahip olan 20 suş belirlenmiştir. Maya izolatlarından 10 suş seçilerek, %60'lık gliserinli eppendorf tüpleri içerisinde -20°C'de muhafaza edilmiştir. Bu bakterilerin tanımlamaları için VITEK 2 (Biomérieux) compact cihazı kullanılmıştır. Vitek 2 compact analizi sonucunda suşların *Pediococcus* (%30), *Leuconostoc* (%25), *Enterococcus* (%40) ve *Streptococcus* (%5) cinslerine dahil oldukları belirlenmiştir. Maya suşlarının ise *Candida kefyr* (%50), *Cryptococcus albidus* (%10) ve *Rhodotorula glutinis* (%40) türleri olduğu bulunmuştur. LAB'ların antibiyotik dirençlilikleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *Pediococcus* suşlarının, vankomisin (%100), tetrasiklin (%100), siprofloksasin (%100) ve kloramfenikol'a (%66.67) karşı dirençli oldukları saptanırken, rifampisin (%100), gentamisin (%100), ampisilin (%66.67) ve eritromisin'e (% 66.67) duyarlı veya orta duyarlı oldukları bulunmuştur. *Leuconostoc* suşlarının ise vankomisin (%100), siprofloksasin (%100), gentamisin (%60) ve tetrasiklin'e (%20) karşı dirençli oldukları, kloramfenikol (%100), rifampisin (%60), ampisilin (%80) ve eritromisin'e (%60) duyarlı oldukları belirlenmiştir. *Enterococcus* suşlarının, gentamisin (%87.5), rifampisin (%75), eritromisin (%25) ve siprofloksasin'e (%50) karşı dirençli , ampisilin (%87.5), vankomisin (%75), kloramfenikol (%62.5) ve tetrasiklin'e (%62.5) duyarlı oldukları saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Degue, Laktik asit bakteri, Maya, Antibiyotik dirençliliği

## ABSTRACT

### MSc THESIS

# THE FERMENTATION OF WEST AFRICA CEREAL-BASED MILK PRODUCT DEGUE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE DETERMINATION OF ISOLATED LACTIC ACID BACTERIA

OYENIRAN BERNADIN AGANI

ÇUKUROVA UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

Supervisor : Prof. Dr. Zerrin ERGINKAYA  
Year: 2019, pages:71  
Jury : Prof. Dr. Zerrin ERGINKAYA  
: Prof. Dr. Mehmet GÜVEN  
: Asst. Prof. Dr. Emel ÜNAL TURHAN

In this study, the cereal based product Degue was produced in Turkey following lab conditions were examined and some parameters like the pH and the microbiological quality were determined. Total lactic acid bacteria (LAB), total mesophile aerob bacteria (TMAB), aerob spore bacteria, *Enterococcus* bacteria, total yeast, total coliform and *Escherichia coli* numbers were determined in the samples. According to the results obtained, the pH of Degue produced lab conditions varies between 4,08 and 4,64 during storage. The results of microbiology analyses obtained from the experiments indicated that the numbers of total LAB, TMAB, *Enterococcus* bacteria, total yeast and total coliform varies from 4.77 to 7.70 log cfu/g; 4,04 to 6.33 log cfu/g; from 3.52 to 3,61 log cfu/g; from 4.38 to 7.16 log cfu/g and from 0 to 1.77 log MPN/g respectively for the samples. Neither aerob spore bacteria nor *Escherichia coli* has been detected in Degue. In order to identify the total LAB and yeast, the microorganisms were firstly isolated then subjected to gram staining and catalase test. 20 strains of total LAB isolates with catalase negative and Gram positive properties and 10 strains of yeast were selected and stored at -20 ° C in eppendorf tubes with 60% glycerin. VITEK 2 (Biomérieux) compact device was used for the identification of these bacteria. As a result of the Vitek 2 compact analysis, the isolates were determined to be included in *Pediococcus* (30%), *Leuconostoc* (25%), *Enterococcus* (40%) and *Streptococcus* (5%) species. For the yeast isolates *Candida kefyr* (50%), *Cryptococcus albidus* (10%) and *Rhodotorula glutinis* (40%) were found. The antibiotic resistance of the total LAB investigated by Kirby-Bauer disk diffusion method. According to the results obtained, While *Pediococcus* isolates were determined resistant to vancomycin (100%), tetracycline (100%), ciprofloxacin (100%) and chloramphenicol (66.67%), these isolates were found susceptible or intermediate to rifampicin (100%), gentamicin (100%), ampicilin (66.67%) and erythromycin (66.67%). As regards *Leuconostoc*, while resistant to vancomycin (100%), ciprofloxacin (100%), gentamicin (60%) and tetracycline (20%) were determined, were found susceptible to chloramphenicol (100%), rifampicin (60%), ampicilin (80%) and erythromycin (60%). *Enterococcus* isolates were found resistant to gentamicin (87.5%), rifampicin (75%), erythromycin (25%) and ciprofloxacin (50%), whereas isolates were sensitive to ampicilin (87.5%), vancomycin (75%), chloramphenicol (62.5%) and tetracycline (62.5%).

**Keywords:** Degue, Lactic acid bacteria, Yeast, Antibiotic resistance.

## GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Fermantasyon, gıdaların üretimi ve muhafazası için kullanılan en eski teknolojilerden biridir. Gıdaların tat ve aromasının geliştirilmesi ve çeşitlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Diğer yandan fermantasyon, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki milyonlarca insan için gıdaları korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılan bir teknolojidir (Odunfa ve ark., 1985). Batı Afrika'da fermente ürünler, halkın günlük yaşamında ve beslemesinde önemli yer almaktadır. İnci darısı (millet), mısır (maize) ve sorgum bitkisi (sorghum), Afrika'da yetiştirilen ve tüketilen en önemli tahıl çeşitleridir. Bu tahıl çeşitleri, batı Afrika'nın tropikal bölgelerinde yetişmektedir ve genellikle, Afrika ve Asya ülkelerinde birçok geleneksel fermente ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Bu bitkilerden elde edilen fermente ürünlerde çoğunlukla süt ile karıştırılmaktadır. Degue, fermente süt ve tahıl (inci darısı, sorgum bitkisi ve mısır) kuskusu yapılan fermente bir içecek türüdür. Degue, tahıllı fermente süt ürünü olduğu için besin değeri açısından zengin bir üründür ve çeşitli viktaminler (A, B1, B2, C, E, K1) ve yüksek oranda protein de bulunmaktadır ( Tchekessi ve ark., 2014).

Bu çalışmada, Batı Afrika'da yaygın olarak tüketilen ve tahıl bazlı süt ürünü olan Degue'nin geleneksel kültür ile üretimi gerçekleştirilerek, mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi, fermantasyonda rol alan LAB ve mayaların tanımlanması ve izole edilen LAB'ların antibiyotik dirençlilik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Araştırmada, geleneksel olarak evde yapılan hazır kültür kullanılarak yoğurt üretilmiştir. Diğer yandan, inci darısı (*Pennisetum glaucum*) un haline getirerek, kuskus elde etmek üzere pişirme işlemi uygulanmıştır. Üretilen inci darısı kuskusu ve yoğurt karıştırılmıştır (kuskusun  $\frac{1}{4}$ 'ü ve yoğurdun  $\frac{3}{4}$ 'ü). 3 tekkerürlü üretim yapılarak, her üretimden 5'er örnek alınmıştır. Üretilen Degue, 21 gün boyunca  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır. Depolama süresince, üretimin 1., 7., 14. ve 21. günlerinde her örneğin pH'sına bakılarak mikrobiyolojik analizleri

yapılmıştır. Mikrobiyolojik özelliklerini belirlenmek amacıyla, yayma ekim yöntemi kullanılarak toplam LAB (4.77 – 7.70 log kob/g), *Enterococcus* (3.52 – 3,61 log kob/g) , toplam maya (4.38 - 7.16 log kob/g), toplam mezofil aerob bakteriler (4,04 - 6.33 log kob/g), toplam koliform bakteriler (0 - 1.77 log EMS/g) belirlenmiştir. Hiçbir örnekte aerob sporlu bakterileri ve *Escherichia coli* tespit edilmemiştir. Ayrıca, toplam LAB ve maya kolonileri saflaştırarak izolasyon gerçekleştirilmiştir. Degue örneklerine ait olan ve izole edilen bazı toplam LAB kolonilerine katalaz testi uygulanmıştır. Katalaz negatif olan koloniler seçilip, Gram boyamaya tabi tutularak, Gram pozitif olan suşlar seçilmiştir. Toplam 20 LAB suşu ve 10 maya suşu izole edilmiştir. Elde edilen suşlar, %60'lık gliserinli eppendorf tüpleri içerisinde -20°C'de tanımlama gününe kadar muhafaza edilmiştir. İzolatların identifiasyonu VITEK-2 (Biomerieux) compact otomatik sistemi ile yapılmıştır. Tüm LAB'nın tanımlanması için GP ID (Gram pozitif bakteri tanımlama kartı) kartları kullanılmıştır. Mayaların tanımlanması amacıyla YST ID (Maya tanımlama kartı) kartları kullanılmıştır. Vitek-2 sisteminin kütüphanesindeki verilere göre, LAB suşlarının, %30'u *Pediococcus*, %25'i *Leuconostoc*, %40'ı *Enterococcus* ve %5'i *Streptococcus* cinslerine dahil oldukları belirlenmiştir. Maya suşları ise; *Candida kefir* (%50), *Cryptococcus albidus* (%10) ve *Rhodotorula glutinis* (%40) türleri olarak bulunmuştur.

Toplam LAB'ların antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi amacıyla Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. İzolatlar MRS agar besiyerine yayma ekim yöntemiyle ekim yapılmıştır. Bu işlem iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Suşların yoğunluğu 0.5McFarland standard'a göre ayarlanarak ekimler yapılmıştır. Hemen ardından beklemeden inoküle edilen petri kutularının yüzeyine dispenser aracılığı ile antibiyotik içeren kâğıt diskler yerleştirilerek, 37 °C'de 24 saatlik anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülmüştür. Sonuçlar, NCCLS (the National Committee for Clinical Laboratory Standards) doküman M2-A9 kriterlerine göre bakteri suşlarını; dirençli, orta derecede duyarlı ve duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara

göre, tüm *Pediococcus* suşlarının tamamı %100 tetrasiklin, vankomisin ve siprofloksasin'e karşı dirençli bulunurken, rifampisin ve gentamisin'e karşı duyarlılık ve orta duyarlılık göstermişlerdir. kloramfenikol'a karşı %66.67'si dirençli ve %33.33'ü orta duyarlı bulunmuştur. Ampisilin'e karşı suşların %66.67'si duyarlı ve %33.33'ünün dirençli oldukları saptanmıştır. Eritromisin'e karşı suşların %66.67'i duyarlı ve %33.33'ü orta duyarlı olarak belirlenmiştir. Tüm *Leuconostoc* suşlarının tamamı %100 vankomisin ve siprofloksasin'e karşı dirençli bulunurken, kloramfenikol'e karşı duyarlı oldukları saptanmıştır. Rifampisin'e karşı suşların %60'ı duyarlı ve %40'ı dirençli olarak bulunmuştur. Ampisilin'e karşı %80'i duyarlı ve %20'si dirençli olarak belirlenmiştir. Gentamisin'e karşı %60'ı dirençlilik ve %40'ı duyarlılık göstermiştir. Tetrasiklin'e karşı %20'si dirençli, %40'ı duyarlı ve %40'ı orta duyarlı olarak saptanmıştır. Eritromisin'e karşı ise %60'ı orta duyarlı ve %40'ı duyarlı bulunmuştur. *Enterococcus* suşlarının, gentamisin'e karşı %87.5'i dirençli ve %12.5'si duyarlı olarak belirlenmiştir. Ampisilin' karşı %87.5'i duyarlı ve %12.5'i dirençli bulunurken, vankomisin'e karşı %75'i duyarlı ve %25'i dirençli olarak saptanmıştır. Kloramfenikol ve tetrasiklin'e karşı ise %62.5'i duyarlı, %12.5'i dirençli ve %25'i orta duyarlı olarak belirlenmiştir. Rifampisin'e karşı %75'i dirençlilik ve %25'i duyarlılık göstermişlerdir. Eritromisin'e karşı %37.5'i duyarlı, %37.5'i orta duyarlı ve %25'i dirençli olarak bulunmuştur. Siprofloksasin'e karşı ise %50'si dirençlilik, %25'i duyarlılık ve %25'i orta duyarlılık göstermişlerdir.



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince, araştırma konumun seçiminden son aşamaya kadar yardımcı olan, katkılarıyla beni yönlendiren, bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, sabrı ve anlayışıyla beni destekleyen değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet GÜVEN ve Dr. Öğr. Üyesi Emel ÜNAL TURHAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım ve arkadaşlarım Dr. Fatmagün AYDIN, Arş. Gör. Gözde KONURAY, Arş. Gör. Bilal AĞIRMAN, Arş. Gör. Murat KALENDER, Arş. Gör. Erdal AĞÇAM, Arş. Gör. Gamze Nil YAZICI, Arş. Gör. Tansu TAŞPINAR'a teşekkürlerimi sunarım

Yüksek lisans çalışmalarım esnasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm, Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Başkanlığı'na, maddi destek veren Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje no:FYL-2017-9874) teşekkürlerimi sunarım.

Bütün öğrenim hayatım boyunca tez aşama ve sırasında ilgi, sabır ve manevi desteklerinden dolayı aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

ÖZ .....	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET .....	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER .....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	9
2.1. Degue ile İlgili Yapılan Çalışmalar .....	9
2.2. Süt Ürünlerindeki LAB'ların Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi ile İlgili Çalışmalar .....	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal .....	17
3.1.1. Besiyerleri ve Kimyasallar.....	17
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Degue Üretimi.....	19
3.2.2. Yoğurt Üretimi.....	19
3.2.3. Millet Kuskusu (İnci Darısı Kuskusu) Üretimi .....	20
3.2.4. Degue Üretimi.....	23
3.2.5. Araştırma Planı .....	23
3.2.6. Ph Değerinin Belirlenmesi .....	24
3.2.7. Mikrobiyolojik Analizler .....	24
3.2.7.1. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayılarının Belirlenmesi .....	25
3.2.7.2. Koliform ve <i>Escherichia coli</i> Sayılarının Belirlenmesi .....	25
3.2.7.3. Aerob Sporlu Bakteri Sayılarının Belirlenmesi .....	26

3.2.7.4. Laktik Asit Bakteri (LAB) Sayılarının Belirlenmesi .....	27
3.2.7.5. Maya Sayılarının Belirlenmesi.....	27
3.2.8. Mikroorganizma İzolasyonu ve Stok Kültürü Hazırlaması.....	27
3.2.8.1. LAB'ların İzolasyonu ve Stok Kültür Hazırlanması.....	27
3.2.8.2. Mayaların İzolasyonu ve Stok Kültür Hazırlanması .....	28
3.2.9. Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi.....	28
3.2.9.1. Gram Boyama .....	28
3.2.9.2. Katalaz Testi .....	29
3.2.10. Laktik Asit Bakterilerinin ve Mayaların Tanımlanması .....	29
3.2.11. Laktik Asit Bakterileri Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi	31
3.2.12. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler.....	32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	33
4.1. Değue Örneklerinin Ph Değerleri ve Mikroorganizma Sayım Sonuçları ...	33
4.1.1. Ph Değerleri Belirlenmesi.....	33
4.1.2. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayım Sonuçları .....	35
4.1.3. Laktik Asit Bakterileri Sayım Sonuçları .....	36
4.1.4. Maya Sayım Sonuçları .....	39
4.1.5. Toplam Koliform ve <i>Escherichia coli</i> Sayım Sonuçları .....	40
4.2. Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu.....	42
4.2.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu.....	42
4.2.2. Mayaların İzolasyonu.....	43
4.3. Laktik Asit Bakteri ve Mayaların Tanımlanması.....	44
4.4. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi.....	47
4.4.1. <i>Pediococcus</i> Cinslerinin Antibiyotik Dirençliliklerini.....	47
4.4.2. <i>Leuconostoc</i> Cinslerinin Antibiyotik Dirençliliklerini.....	48
4.4.3. <i>Enterococcus</i> Cinslerinin Antibiyotik Dirençliliklerini .....	50
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	55
KAYNAKLAR .....	59
ÖZGEÇMİŞ .....	71

## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA

Çizelge 1.1. Degue Özellikleri( Tchekessi ve ark., 2014).....	4
Çizelge 3.1. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri .....	18
Çizelge 3.2. EMS Tablosu (Halkman, 2005) .....	26
Çizelge 3.3. LAB için NCCLS doküman M2-A9 Zon Çapı Yorumlama Standartları (Ünal Turhan ve ark., 2016) .....	32
Çizelge 4.1. Depolama Süresince Belirlenen Ph Değerleri ve Mikroorganizma Sayım Sonuçları .....	34
Çizelge 4.2. İzolatların Özellikleri .....	43
Çizelge 4.3. Tanımlama Sonuçları .....	45
Çizelge 4.4. Antibiyotiklerden Kaynaklanan İnhibisyon Zon Çapları.....	52
Çizelge 4.5. Antibiyotik Dirençleri (NCCLS Kriterlerine Göre).....	53



## ŞEKİLLER DİZİNİ

## SAYFA

Şekil 3.1.	Araştırmada Kullanılan Besiyerleri.....	17
Şekil 3.2.	Yoğurt Üretimi .....	19
Şekil 3.3.	Yoğurt Üretimi Akış Şeması .....	20
Şekil 3.4.	Un Elde Edilmesi Aşamaları .....	21
Şekil 3.5.	İnci Darısı Kuskusunun Hazırlanması ve Pişirilmesi.....	21
Şekil 3.6.	İnci Darısı Kuskusu Üretimi Akış Şeması.....	22
Şekil 3.7.	Degue Eldesi Aşaması.....	23
Şekil 3.8.	Degue Örnekleri .....	24
Şekil 3.9.	Kullanılan Ph Cihazı .....	24
Şekil 3.10.	Gram Boyama Aşaması.....	29
Şekil 3.11.	Vitek 2 Compact Cihazı .....	30
Şekil 3.12	GP ID Ve YST ID Kartları Yerleşmesi.....	30
Şekil 4.1.	Depolama Süresince Degue Örneklerindeki Ph Değerleri .....	33
Şekil 4.2.	Depolama Süresince Degue Örneklerindeki TMAB Sayısı .....	36
Şekil 4.3.	Depolama Süresince Degue Örneklerindeki Toplam LAB Sayısı .....	37
Şekil 4.4.	Depolama süresince Degue örneklerindeki kok şeklindeki LAB sayısı.....	37
Şekil 4.5.	Depolama Süresince Degue Örneklerindeki Enterokok Sayısı .....	38
Şekil 4.6.	Depolama Süresince Degue Örneklerindeki Maya Sayısı.....	40
Şekil 4.7.	Depolama Süresince Degue Örneklerindeki Toplam Koliform Sayısı .....	41
Şekil 4.8.	İzolat 1' in Mikroskopik Görüntüsü.....	42
Şekil 4.9.	İzolat 12' in Mikroskopik Görüntüsü.....	42
Şekil 4.10.	Maya'nın Mikroskopik Görüntüsü.....	44
Şekil 4.11.	Degue'den Tanımlanan LAB'lara Ait Türlerin % Dağılımları .....	46
Şekil 4.12.	<i>Pediococcus acidilactici</i> Antibiyotik Dirençlilikleri.....	48

Şekil 4.13. <i>Leuconostoc pseudomnsenteroides</i> Antibiyotik Dirençlilikleri .....	49
Şekil 4.14. <i>Enterococcus faecium</i> Antibiyotik Dirençlilikleri.....	51



## SİMGELER VE KISALTMALAR

AM10	: Ampisilin
C30	: Kloramfenikol
CIP5	: Siprofloksasin
CN10	: Gentamisin
E15	: Eritromisin
EMP	: Embden Meyerhoff Parnas
EMS	: En Muhtemel Sayı
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GP ID	: Gram pozitif bakteri tanımlama kartı
GRAS	: generally regarded as safe
HMP	: Heksoz monofosfat
I	: Intermediate sensitive (orta duyarlı)
KAA	: Kanamycin Aesculin Azide
LAB	: Laktik Asit Bakteri
LSB	: Lauryl sulfate broth
MBK	: Minimum Bakterisit Konsantrasyon
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MPN	: Most Probable Number
NCCLS	: the National Committee for Clinical Laboratory Standards
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDA	: Potato Dextrose Agar
R	: Resistant (dirençli)
RA5	: Rifampisin
S	: Sensitive (duyarlı)
TE30	: Tetrasiklin
TMAB	: Toplam Mezofilik Aerobik Bakteriler
VA30	: Vankomisin

YST ID : Maya tanımlama kartı



## 1. GİRİŞ

Dünya gıda üretiminin %60'ından fazlası, tahıllar ve yağlı tohumlardan oluşmakta olup, bu ürünlerle, özellikle gelişmekte olan ülke nüfusunun protein, enerji, mineral ve vitamin ihtiyacına önemli ölçüde katkı sağlanmaktadır (Chavan ve ark., 1989). Tahıl grubu gıdaların, tüm çeşitleri Afrika'nın tropikal bölgelerinde bulunmakta ve ana ürün olarak tüketilmektedir. İnci darısı (millet), mısır (maize) ve sorgum bitkisi (sorghum) başlıca yetiştirilen ve tüketilen tahıl çeşitleridir. Bu bitkiler, Afrika ve Asya ülkelerinde birçok geleneksel fermente ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır.

Fermantasyon, gıdaların üretimi ve muhafazası için kullanılan en eski teknolojilerden ve en sık uygulanan yöntemlerdendir. Fermantasyon, gıdaların tat ve aromasının geliştirilmesi ve çeşitlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Blandino ve ark., 2003; Hesseltine, 1983; Shetty ve ark., 2006). Diğer yandan, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki milyonlarca insan için gıdaları korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla fermantasyon yönteminden yararlanmaktadır (Cooke ve ark., 1987; Holzapfel, 2002; Odunfa ve ark., 1985; Tchekessi ve ark., 2014). Ancak kullanılan hammadde, fermantasyon koşulları ve son ürünü duyuşsal nitelikleri kültürden kültüre(halktan halka) değişebilmektedir. Fermantasyon özellikle gelişmekte olan ülkeler için önemlidir, çünkü ucuz ve tahıllı ürünlerin besinsel ve duyuşsal niteliklerinin geliştirilmesi için basit bir yöntemdir. Afrika'da en çok fermente gıdalar tahıl bazlılardır(Chavan ve ark., 1989; Cooke ve ark., 1987; Hesseltine, 1983).

Batı Afrika'da tahıl bazlı fermente gıdalar, kullanılan hammaddelerine veya fermente ürünün yapısına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (Hama ve ark., 2009; Hounhouigan ve ark., 1992; Soma, 2014; Songré-Ouattara ve ark., 2010):

**Hammaddelerine göre:**

-Mısırlı gıdalar: Banku, kenkey, mawe, agidi, kiswa

-İnci darılı gıdalar: Ben-saalga, degue , arraw, dagnan, tô, ben-kida, kirario, massa, dodo, zoom-koom, koko, obiolor, kunun-zaki, tchobal, gapal

-Sorgum bitkili gıdalar: Ogi, kunun-zaki, kome, gowe

**Fermente ürünün yapısına göre:**

-Sıvı (püre ve bulamaç): Ogi, baca, ben-saalga, dalaki

-Katı (hamur ): Kenkey, akidi, banku, kome

-Kuru (pişmiş, kızartılmış ve buharla pişirilmiş ürünler: Arraw, Degue (Kuskusu),masa, wômi.

İnci darısı, buğdaygiller (*Poaceae/Gramineae*) ailesinden birkaç bitki türlerinden birisidir. Bunlar, özellikle Afrika ve Asya'da çoğunlukla kuru alanlarda yetiştirilen çok küçük tohumlu tahıllardır. Latincesi *Pennisetum glaucum* olan inci darısı, Afrika'da en çok yetiştirilen ve tüketilen darılardan biridir ve batı Afrika'nın tropikal bölgelerinde bulunur (Hama ve ark., 2009). Türkiye'de yetiştiği yerler ise, Güneydoğu, İç Anadolu, Karadeniz, Ege, Marmara ve Doğu Anadolu'dur. Bu bitki, Afrika ve Asya ülkelerinde çeşitli geleneksel fermente ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır (Kumar ve ark., 2010). İnci darısı, birçok fermente ürünün yapımında hammadde olarak kullanılmakta olup, çoğunlukla sütle karıştırılmaktadır. İnci darısı ve süt karışımının fermantasyonuyla daha besleyici ve fonksiyonel özellikte gıdalar elde edilmiş olurdur. Batı Afrika'da bu fermente tahıllı gıdalar en bilinen ve yaygın ürünleri, Degue ve Fura'dır (Hama ve ark., 2009; Icard-Vernière ve ark., 2010; Owusu-Kwarteng ve ark., 2012).

Degue, fermente süt ve tahıl kuskusundan yapılan fermente bir içecek türüdür. Mali'de " Degue" ve Senegal'da "Tiacri" adı verilen bu ürün, genel olarak fermente süt ve inci darısı (millet) kuskusunun karışımıdır.

Ayrıca, mısır ve sorgum bitkisi kuskusundan da yapılmaktadır. Batı Afrika'nın birkaç ülkesi Senegal, Buukina-faso, Mali, Benin, Gine Cumhuriyeti ve Fildişi sahili'nde geleneksel ya da yarı endüstriyel şekilde üretilerek tüketilmektedir

(Abriouel ve ark., 2006; Célestin ve ark., 2014; Hama ve ark., 2009; Soro-Yao ve ark., 2014). Degue, yöre halkı tarafından yüksek oranda tüketilen bir üründür ve besin değeri yüksek özelliklere sahip bir ürün olarak bilinmektedir. Degue fermente bir içecektir, ancak üretim sürecinde sadece sütün fermantasyonu gerçekleştirilir ve pişirilmiş inci darısı topraklarına (kuskus) eklenir (Hama ve ark., 2009; Tchekessi ve ark., 2014).

Degue üretimi üç aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşama: yoğurt üretimi; ikinci aşama: inci darısı kuskusu üretimi ve son aşama ise her ikisi karıştırılarak Degue elde edilmesidir. İnci darısı kuskusu üretiminin aşamaları ise: Tartma, temizleme, yıkama, süzme, kurutma, öğütme, eleme, karıştırma, yoğurma, yuvarlama, pişirme, ve soğutmadır. Daha sonra elde edilen inci darısı kuskusu ile yoğurt karıştırılarak soğuma işlemi uygulanmaktadır. İsteğe göre elde edilen ürüne, şeker ve diğer tatlar ilave edilerek tüketilmektedir. Degue soğuk içilen ve bir aya kadar raf ömrü olan bir üründür (Hama ve ark., 2009; Tchekessi ve ark., 2014).

Benin’de “Degue millet, Degue maize ve Degue sorghum” adı altında üç çeşit Degue üretilmektedir. Degue gibi, darı, mısır veya / ve sorgum hamurundan yapılan fermente ürünler batı Afrika toplumlarının özellikle de çocukların protein gereksinimlerine katkıda bulunmaktadır ( Tchekessi ve ark., 2014). Bu ürünlerin özellikleri çizelge 1.1’de verilmiştir

Çizelge 1.1. Degue Özellikleri( Tchekessi ve ark., 2014)

Özellikler	Degue millet	Degue mısır	Degue sorgum
pH	4.270	4.210	4.220
Titrasyon Asitliği (%)	1.350	1.050	1.800
Demir (mg/100g)	38.320	18.210	21.590
Nitrojen (%)	2.229	2.233	2.183
N Protein (N x 6.25 (%))	13.930	13.950	13.640
Kuru madde (%)	22.200	20.100	21.200
Kül (%)	0.744	0.720	0.753
Toplam şeker (%)	9.501	6.470	5.291
Vitamin A (mg/100g)	-	8.560	8.695
Vitamin B1 (mg/100g)	0.290	0.250	0.250
Vitamin B2 (mg/100g)	0.380	0.560	0.370
Vitamin C (mg/100g)	38.380	11.100	10.155
Vitamin-E (mg/100g)	-	-	6.760
Vitamin K1 (mg/100 g)	-	-	-

Tahılların fermantasyonu ile karbonhidratlar ve sindirilemeyen poli ve oligosakkaritlerin miktarı azalmaktadır. Ayrıca, laktik asit fermantasyonu sonucu, tahıllarda bulunan polivalan katyonlar(demir, çinko, kalsiyum, magnezyum ve

proteinler vs.) ile kompleks şekilde var olan fitat'ın enzimatik bozulma için uygun koşulları sağlanmaktadır (Gillooly ve ark., 1984; Haard ve ark., 1999; Khetarpaul ve ark., 1990; Nout ve ark., 1997)

Batı Afrika'da mısır, sorgum bitkisi ve inci darılı gıdaların fermantasyonu evlerde, doğal fermantasyon yoluyla yapılmaktadır. Süt ürünleri ise ferment olarak marketten satın alınan hazır yoğurt kullanılmaktadır. Fermente gıdalarda bulunan en yaygın mikroorganizmalar maya ve laktik asit bakterileridir (LAB). Bu mikroorganizmaların tür ve suşları kullanılan hammaddeler, coğrafi faktörler, çalışma yöntemleri, üretim hijyen koşullarına bağlıdır (Gotcheva ve ark., 2000; Greppi ve ark., 2013; Schoustra ve ark., 2013).

Laktik asit fermantasyonu, tahıl esaslı gıdaların güvenliği, besin değeri, raf ömrü ve kabul edilebilirliğine katkıda bulunmaktadır (Oyewole, 1997). Laktik asit bakterileri (LAB), gıdalardaki yaygın mikroorganizmalardır ve fermantasyon işlemlerinde starter kültür olarak kullanımlarından dolayı fermente gıdalar ve içecekler ile birlikte yaygın olarak tüketilmektedir (Caplice ve ark., 1999; Leroy ve ark., 2004; Wood ve ark., 1995). Ayrıca, insanlar ve çoğu hayvanın doğal bağırsak mikroorganizmaları içerisinde önemli rol oynarlar. Yoğurt da söz konusu fermente ürünlerin başında gelmektedir ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerinin laktik asit fermantasyonu ile meydana gelen koagüle bir süt ürünüdür (Adolfsson ve ark., 2004).

Laktik asit bakterileri gelişme ortamlarında fermantasyonun başlıca ürünü olarak laktik asit üreten, Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz ve genelde katalaz negatif olan mikroorganizmalardır (S. Mathur ve ark., 2005; Tamime ve ark., 1995). Laktik asit bakterileri, glikozu homofermentatif ve heterofermentatif olmak üzere iki şekilde katabolize ederler. Bu fermentatif durum, laktik asit bakterilerinin tanımlanmasına yardımcı olmaktadır.

1. Homofermentatif laktik asit bakterileri: Glikozu EMP (Embden Meyerhoff Parnas) yolunu kullanarak, %90 laktik asit, %10 CO<sub>2</sub> oluşturan bakterilerdir. Örneğin: *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*.

2. Heterofermentatif laktik asit bakterileri: Glikozu HMP (Heksoz monofosfat) yoluyla laktik asitin yanı sıra, etanol, asetik asit ve CO<sub>2</sub> oluştururlar. Örneğin: *Weissella* ve *Leuconostoc*. Laktik asit bakterileri tarafından oluşturulan laktik asitin miktarı türlere göre değişmektedir (Evren ve ark., 2011). Fermantasyon esnasında yoğurdun yapısı ve tadı, süt proteini üzerinde laktozdan meydana gelen laktik asit etkisiyle oluşmaktadır(Lourens-Hattingh ve ark., 2001).

Laktik asit bakterileri, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından GRAS (generally regarded as safe) yani “güvenli olarak kabul edilen” statüsündedir (Klaenhammer ve ark., 2005). Bununla birlikte son 15 yıl içerisinde, gıda ve yem uygulamalarında LAB kültürlerinin güvenli kullanımına ilişkin bazı tartışmalar ve buna bağlı olarak da araştırmalar söz konusudur. Bunun en önemli nedeni de, laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnç genleri açısından rezervuar olarak rol oynamalarıdır(Aguirre ve ark., 1993; Aminov ve ark., 2007; Clemente ve ark., 2012). Fermente gıdalar tüketildiğinde, insan vücuduna oldukça fazla miktarda canlı bakteri girmektedir. Bu durumda gıda ürünleri insan sindirim sistemi ve hayvan bağırsağı mikrobiyotası arasında antibiyotik direnci transferinin bir aracı olduğunu belirlenmiştir (Gueimonde ve ark., 2006; Hu ve ark., 2013; Nandi ve ark., 2004; Tamime ve ark., 1995).

Antibiyotik, herhangi bir mikroorganizma tarafından, başka bir mikroorganizmayı öldürmek veya çoğalmasını durdurmak için üretilen her türlü madde (metabolitler) olarak tanımlanır. Antibiyotik üretimi, onu üreten mikroorganizma için selektif bir avantaj sağlar. Örnek olarak, *Penicillium* tarafından üretilen antibiyotikler, doğada rekabet halinde olduğu diğer mikroorganizmaların gelişimini önleyerek, önemli bir avantaj sağlar (Anonim, 2012). Antibiyotikler, mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine göre iki gruba ayrılırlar.

“**Bakteriyostatikler**” diye isimlendirilen grup, bakteri hücrelerinin gelişmesini veya üremesini önlerler. Örneğin; Tetrasiklinler, Makrolitler, Linkozamidler, Amfenikoller. Bakteriyostatik etkisi belirlemek için **MİK**

(Minimum İnhibitör Konsantrasyonu) kullanılmaktadır. “**Bakterisitler**” diye isimlendirilen grup ise, bakteri hücrelerini öldürürler (Örneğin; Beta-laktamlar). Bakterisitlerin etkisi belirlemek için MBK (Minimum Bakterisit Konsantrasyon) kullanılmaktadır (Akkan, 1997).

Mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı çeşitli mekanizmalarla direnç geliştirebilirler. Antibiyotik dirençliliği, doğal (intrensek) direnç, kazanılmış direnç ve çapraz direnç şeklinde üç yolla oluşmaktadır. **Doğal direnç**, genellikle aynı türdeki tüm bakterilerde bulunan direnç mekanizmasıdır. Mikroorganizmaların tür özelliği olarak ilacın hedefi olan yapıyı taşımamalarının veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşmamasının bir sonucu olarak ortaya çıkar. Örneğin ilacın dış membrandan geçmemesi nedeniyle Gram negatif bakteriler, vankomisine doğal olarak dirençlidir. **Kazanılmış direnç** durumunda ise aynı türdeki tüm bakterilerde olmayan, gen aktarımı ya da mutasyonla oluşan dirençtir. Bir bakteri genetik özelliklerindeki değişimlere bağlı olarak, eskiden duyarlı olduğu bir antibakteriyel ajandan etkilenmeyip direnç kazanmış olabilir. Genetik kaynaklı direnç kromozomal (spontan oluşan mutasyonlar) veya kromozom dışı elemanlara (plazmid, transpozon ve integron gibi genetik elemanlar) bağlı olabilir. **Çapraz direnç** ise, belli bir ilaca karşı dirençli olan bazı mikroorganizmaların, aynı veya benzer mekanizma ile etkili diğer ilaçlara karşı da dirençli olmaları halidir. Çapraz direnç kromozomal veya ekstrakromozomal orjinli olabilir (Yüce, 2001). LAB’nde doğal ve kazanılmış dirençlilik bilinmektedir. Örneğin, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve bazı diğer Gram pozitif bakteriler doğal olarak vankomisine yüksek direnç göstermektedir (Hamilton-Miller ve ark., 1998). Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençleriyle ilgili yapılan çalışmaların çoğu, gıda mikroorganizmaları arasında farklı bir yere sahip olan *Enterococcus* cinsine ait türler üzerine yoğunlaşmıştır (Clementi ve ark., 2011). Ayrıca, düşük G+C oranına dahil pek çok tipik LAB sınıflandırılmasında, (örneğin, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* (*Oenococcus*), *Pediococcus* ve *Streptococcus thermophilus*), antibiyotik direnci ile ilgili özellikleri ile de belirlenmiştir (Ammor

ve ark., 2007; Bernardeau ve ark., 2008; Delorme, 2008; Ogier ve ark., 2008). Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyellere duyarlılıkları kadar, direnç genlerini barındırmaları ve aktarmaları da önemlidir. Bazı fermente gıdalar tüketildiğinde, insan vücuduna oldukça fazla miktarda canlı bakteri girmektedir. Bu durumda söz konusu bakteriler kommensal ya da patojen bakterilere taşınabilir ve antibiyotik direncini aktarabilirler. Bu durum antibiyotiklerin yemlerde, ziraat ve veteriner uygulamalarında yanlış ve aşırı kullanımından dolayı daha zararlı bir hale getirme olasılığını taşımaktadır.

Bu çalışmada, Batı Afrika'da yaygın olarak tüketilen ve tahıl bazlı süt ürünü olan Degue'nin geleneksel kültür ile üretimi gerçekleştirilerek, mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesinin yanı sıra, mayaları tanımlanmış ve fermantasyonda rol alan laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerini belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Degue ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Degue ürünü ile ilgili yapılan çok az çalışma bulunmakta olup, bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Abriouel ve ark. (2006), Afrika geleneksel fermente gıdaları Poto poto ve Degue'nin mikrobiyotasını tanımlamak amacıyla, polimeraz zincir reaksiyon (PCR) metodu kullanmışlardır. Bu yöntem ile Degue'de bulunan mikroorganizmalar *Lactobacillus gasseri*, *Enterococcus* sp., *Escherichia coli*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus casei* olarak tanımlanmıştır.

Hama ve ark. (2009), Burkina Faso'da üretilen Degue 'nin üretimini gerçekleştirerek, biyokimyasal ve mikrobiyel özelliklerini incelemişlerdir. Fermantasyon öncesinde mezofil laktik asit bakterilerinin ve maya ve küf sayısının sırayla 6,96 ve 5,93 log kob/g olarak belirlemişlerdir. Ayrıca, fermantasyonun 3. gününde aynı mikroorganizmaların sayısı sırayla 9,91 ve 8,59 log kob/g olarak bulunmuştur. Toplam koliform bakterilerin sayısı, fermantasyon öncesinde 5,11 log kob/g iken, fermantasyon sonrasında 5,88 log kob/g olarak saptanmıştır.

Ouattara ve ark. (2015), Degue' den laktik asit bakteri ve non-laktik asit bakterileri izole ederek, tanımlamışlardır. Bu çalışmada, 16 Degue örneğinden, laktik asit bakterilerine ait toplam 125 suş izole etmişlerdir. 68 suş *Lactobacillus* ve 57 suş olarak *Lactococcus* olarak tanımlanmıştır.

Angelov ve ark. (2017) tarafından Benin'de tüketilen Degue ürününde var olan mikrobiyota florasından LAB ve mayaları izole edilmişlerdir. İzole edilen LAB ve mayaların spesifik olarak tanımlanması amacıyla moleküler yöntemler(PCR ve RFLP) ve fenotipik testler (katalaz testi, gram boyama, koloni ve hücre morfolojisi) kullanılmıştır. Mayaları tanımlamak için ITS1-5.8S-ITS2 rRNA gen bölgesi kullanılmıştır. LAB'lar için 16S rRNA kullanılmıştır. Bu çalışmada, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Weisella*

yanısıra, mayalardan *Cyberlyndnera fabianii*, *Candida glabrata*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Meyerozyma caribbica* tanımlanmıştır.

## 2.2. Süt Ürünlerindeki LAB'ların Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi ile İlgili Çalışmalar

Aslım ve ark. (2004), Türkiye' de farklı köy ve kasabalardan toplanan yoğurt örneklerinden 34 adet *S. thermophilus* suşu izole etmişlerdir. İzolatlardan 8 tanesinin vankomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, sefalotin, ampisilin-sulbaktam, gentamisin ve penisilin G'ye karşı duyarlılıklarını disk difüzyon metodu ile belirlemişlerdir. *S. thermophilus* suşunun gentamisine %79 ve penisiline karşı %64 dirençlilik gösterdiğini belirlenmiş, suşların %88 oranında tetrasikline, %94 oranında da kloramfenikole duyarlılık gösterdiği bulunmuştur. *S. thermophilus*' un bazı suşlarında antibiyotik dirençliliği ile plazmid varlığı arasında bir bağlantı olduğu gözlenmiştir.

Coppola ve ark. (2005), Parmigiano Reggiano (İtalya) peynirlerinden izole edilen 63 *Lactobacillus rhamnosus* suşunun antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi için 41 farklı antibiyotik kullanmışlardır. Disk difüzyon metoduyla antimikrobiyel duyarlılıklarına bakılan izolatların, inhibisyon zonları ölçülmüş ve duyarlılık/dirençlilik özellikleri tespit edilmiştir. Tüm izolatların 6 antibiyotiğe (sefaksim, vankomisin, neomisin, enoksasin, perfloksasin ve sülfamethoksazol) direnç gösterdiği bulunmuştur. DSM 20021 suşu 9 antibiyotiğe direnç gösterirken (diğer 6 antibiyotiğe ilave olarak sefalekssin, basitrasin, linkomisin) *Lactobacillus* GG suşu (ticari probiyotik) 8 antibiyotiğe direnç göstermiştir. Peynirlerden izole edilen *L. rhamnosus* suşlarının da farklı antibiyotiklere spesifik direnç gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma ile gelecekte antibiyotik dirençliliğinin probiyotik LAB' i üzerinde çok önemli bir rol oynayacağı tespit edilmiştir.

Nawaz ve ark. (2011), Çin'de fermente gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinde fenotipik ve moleküler analizler ile antibiyotik dirençlilik testi gerçekleştirmişlerdir. İzole edilen LAB suşlarında yapılan 16S rRNA gen analizi

sonucu, *Lactobacillus* (73) ve *Streptococcus thermophilus* (11) tanımlanmıştır. Bütün suşlar ampisilin, basitrasin ve sefsulodine duyarlı ve nalidiksik asit, kanamisin ve vankomisine (*L. bulgaricus*, *L. acidophilus* ve *S. thermophilus* dışındakiler) doğal dirençli bulunmuştur. Bazı suşların penisillin(2), eritromisin(9), klindamisin(5) ve tetrasikline (14) dirençli olduğunu gözlenmiştir. *erm* (B) gen varlığı *L. fermentum*, *L. vaginalis*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. animalis* ve *S. thermophilus* suşlarında saptanmıştır. *Tet* geni geleneksel gıdalardaki 12 laktobasil suşunda bulunmuş olup, ilk kez *L. brevis* ve *L. kefir* ' de *tet* (S) geni tanımlanmıştır. *L. fermentum* NWL24 ve *L. salivarius* NWL33' deki *erm* (B) geninin ve *L. plantarum* NWL22 ve *L. brevis* NWL59' daki *tet* (M) geninin filtre yöntemi ile başarılı bir şekilde *Enterococcus faecalis* 181' e aktarılabildiği de belirtilmiştir.

Adimpong ve ark. (2012), tarafından yapılan çalışmada, daha önceden Afrika'daki üç farklı fermente gıda (fermente kakao taneleri, koko: bulamaç, dolo: inci darısının birası) ürününden izole edilen 33 LAB suşu 16S rRNA gen sekansı kullanılarak, (GTG)<sub>5</sub> esaslı repPCR yöntemiyle karakterize edilmiştir. Daha sonra, spesifik PCR teknikleri ile LAB'ların tanımlamaları yapılmıştır. Daha sonra, izolatların sıvı dilüsyon yöntemi ile antibiyotik dirençlilik profilleri çıkartılmıştır. Araştırma sonucu, *L.delbrueckii*, *L. fermentum*, *L. ghanensis*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. pseudomesenteroides*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *W. confusa* suşları tanımlanmıştır. Bu bakterilerin ampisilin, kloramfenikol, klindamisin ve eritromisine duyarlı, fakat vankomisin, kanamisin ve streptomisine dirençli oldukları belirlenmiştir. Tetrasiklin ve gentamisin antibiyotiklerinde değişken duyarlılık profilleri gözlenmiştir. *L. plantarum*, *L. salivarius*, *W. confusa* (SK9-5 suşu hariç) ve *L. fermentum* türü tetrasikline duyarlıyken, *P. acidilactici* ve *L. ghanensis* türleri dirençli bulunmuştur.

Zhou ve ark. (2012), Çin'de farklı coğrafyalardan alınan yoğurtlardan izole edilen 43 laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin incelenmesi amacıyla ampisilin, penisilin G, roksitromisin, kloramfenikol, tetrasiklin,

klortetrasiklin, linkomisin, kanamisin, streptomisin, neomisin ve gentamisine kullanılmıştır. 43 izolatın RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimofik DNA) analizi ile tür tanısı yapılmıştır (18 *Lactobacillus bulgaricus* ve 25 *Streptococcus thermophilus*). Antibiyotik dirençliliği için agar dilüsyon yöntemi kullanılmış olup, test edilen bakterilerin arasında dirençlilik dağılımı, 35 suшта ampisilin, kloramfenikol, klortetrasiklin, tetrasiklin, linkomisin, streptomisin, neomisin ve gentamisin olarak bulunmuştur. Test edilen bütün *S. thermophilus* suşlarının penisilin G ve roksitromisine duyarlı olduğu bulunmuştur. Buna karşın *L. bulgaricus* suşlarının, penisilin G ve roksitromisine sırasıyla %23,5 ve %64,7 oranında dirençli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, bütün *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* suşları kanamisine dirençli bulunmuştur. PCR yöntemi ile belirlenen direnç genleri sonucunda, *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*(2) izolatında *tet* (M), *L. bulgaricus*(2) ve *S. thermophilus* (2) izolatında *ant* (6), *L. bulgaricus*(5) ve *S. thermophilus*(2) izolatında *aph* (3')-IIIa genleri bulunmuştur. *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* suşlarında ilk kez *aph* (3')-IIIa ve *ant* (6) genleri tespit edilmiştir.

Muñoz ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada yeşil zeytinden izole edilen *Lactobacillus pentosus*(n=59) ve *Leuconostoc pseudomesenteroides*(n=13) suşlarının antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi amacıyla 15 antibiyotik kullanılmışlardır. Tüm *L. pentosus* ve *L.pseudomesenteroides* suşları amosisilin ve ampisilin (MIC ≤ 2 µg/mL), kloramfenikol (MIC ≤ 4 µg/mL), gentamisin, eritromisin (MIC ≤ 16 µg/mL) antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Streptomisin (%83–100, MIC > 256 µg/mL, vankomisin ve teikoplanin (%70–100, MIC >128 µg/mL), trimetoprim (*L. pentosus*'un %76'i ve *L. pseudomesenteroides* %15'i , MIC > 128 µg/mL), trimetoprim/sulfometozazol (%71 –%100, MIC > 4–64 µg/mL) ve sefurozime (*L. pentosus*'un %44'ü ve *L. pseudomesenteroides*'in %85'i, MIC > 32–128 µg/mL) antibiyotiklere dirençli göstermiştir. *L. pentosus*, tetrasiklin ve klindamisin antibiyotiklerinin karşısına orta duyarlı gösterirken aynı antibiyotiklere *L. pseudomesenteroides*'in %46'ı dirençli göstermiştir. Sadece *L.*

*pentosus* suşları siprofloksasin (%70, MIC N 4–64 µg/mL) karşısına dirençli olmuştur.

Saeed ve ark. (2014), Sudan'da 6 farklı fermente gıdalardan izole edilen 25 laktik asit bakterilerinde disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik dirençlilik testi gerçekleştirmişlerdir. Kullandığı 8 disk antibiyotik olmak üzere amoxisilin, seftriazon, tetrasiklin, siprofloksasin, kloramfenikol, eritromisin, tobramisın ve vankomisin antibiyotiklerinin karşısına tüm izolatlar çoklu direnç gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Silva ve ark. (2015), tarafından Brezilya water buffalo mozzarella peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması amacıyla RAPD-PCR (randomly amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction) yöntemi, 16S rRNA gen sekansı ve Vitek 2 sistem yöntemlerini kullanılmıştır. Bu çalışmada, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, ve *Lactobacillus helveticus* olmak üzere 12 farklı LAB tanımlanmıştır.

Başbülül ve ark. (2015), beyaz peynir, yogurt, kefir ve bozadan izole ettikleri laktik asit bakterilerine ait 83 suşun antibiyotik dirençliliklerini incelenmesi amacıyla, gentamicin, tetracycline, chloramphenicol, erythromycin, vancomycin ve gentamisine duyarlılıkları test etmişlerdir. LAB'leri, 16S rRNA gen sekansı kullanılarak PCR yöntemiyle karakterize edilmiştir. Tanımlanan LAB izolatları, *Enterococcus faecium* (10), *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* (10), *Lactobacillus fermentum* (6), *Lactobacillus plantarum* (6), *Lactobacillus coryniformis* (7), *Lactobacillus casei* (13), *Leuconostoc mesenteroides* (14), *Pediococcus pentosaceus* (10), *Weisella confusa* (7) olarak belirlenmiştir. Antibiyotik dirençliliği için agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. İzolatlarda kloramfenikol ( izolatların %31,3'ü), tetrasiklin (%30,1), eritromisin (%2,4), ciprofloksacin (%2,41), vankomisin (%73,5) dirençli oldukları bulunmuştur. Ayrıca izolatların %19,3'ü antibiyotiklerin karşısında çoklu (multiple) direnç gösterdikleri

bulunmuştur. Aynı çalışmada, PCR yöntemi ile aranan direnç genleri sonucunda, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *P. pentosaceus* (5), *E. faecium* (2), *W. confusa* (4) izolatlarında tet (M) geni ve *W. confusa*'nın bir izolatında vancomycin dirençli geni van (A) bulunmuştur.

Ünal Turhan ve ark. (2016 ), probiyotik gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi amacıyla ticari probiyotik içeren gıda örneklerinden *Lactobacillus* spp., *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. türleri izole etmişler ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik dirençlilikleri belirlemişlerdir. Bu çalışmada, eritromisin, tetrasiklin, vankomisin, siprofloksasin, kloramfenikol, gentamisin, nitrofurantoin, rifampisin, ampisilin antibiyotikleri kullanılmıştır. *Lactobacillus* spp. izolatlarında vankomisin (%20), tetrasiklin (%20), ampisilin (%20), gentamisin (%20) ve siprofloksasine (%80) karşı direnç saptanırken, izolatların eritromisin (%100), kloramfenikol (%100) ve nitrofurantoin'e (%100) ise duyarlı oldukları bulunmuştur. *L. acidophilus* izolatlarının ise gentamisin (%25) ve siprofloksasine (%75) karşı dirençli oldukları saptanırken, tüm *L. acidophilus* izolatlarının vankomisin, eritromisin, tetrasiklin, ampisilin, kloramfenikol, ripamfisin ve nitrofurantoine duyarlı oldukları bulunmuştur. *Bifidobacterium* spp. izolatının vankomisin, tetrasiklin, ampisilin ve siprofloksasine karşı dirençli olduğu, buna karşın eritromisin, gentamisin, kloramfenikol ve nitrofurantoine duyarlı olduğu bulunmuştur.

Erginkaya ve ark. (2018), Türkiye'nin geleneksel fermente süt ürünleri Yogurt, beyaz peynir, tulum peyniri, çökelek, camız kaymağı ve kefirden izole edilen laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Bifidobacterium* spp. ve *Enterococcus* antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi amacıyla ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile 8 antibiyotik kullanılarak, *Lactobacillus* spp. izolatlarının %58'i, %10,8'i eritromisine, %4,3'ü tetrasikline, %28'i gentamisine ve %26'sı siprofloksasine dirençli oldukları bulmuşlardır. Araştırmada, *Streptococcus* spp. izolatlarının %40'ı vankomisine, %10'u eritromisine , %10'u kloramfenikole, %20'si gentamisine ve %30'u siprofloksasine

dirençli oldukları saptanırken, *Bifidobacterium* spp. suşlarının %60'ı vankomisine, %6,6'sı eritromisine, %20'si gentamisine ve %33'ü siprofloksasine dirençli olduğu bulunmuştur. *Enterococcus* spp. izolatları ise vankomisin, eritromisin, rifapin ve siprofloksasine %100 dirençli olduğu saptanmıştır.





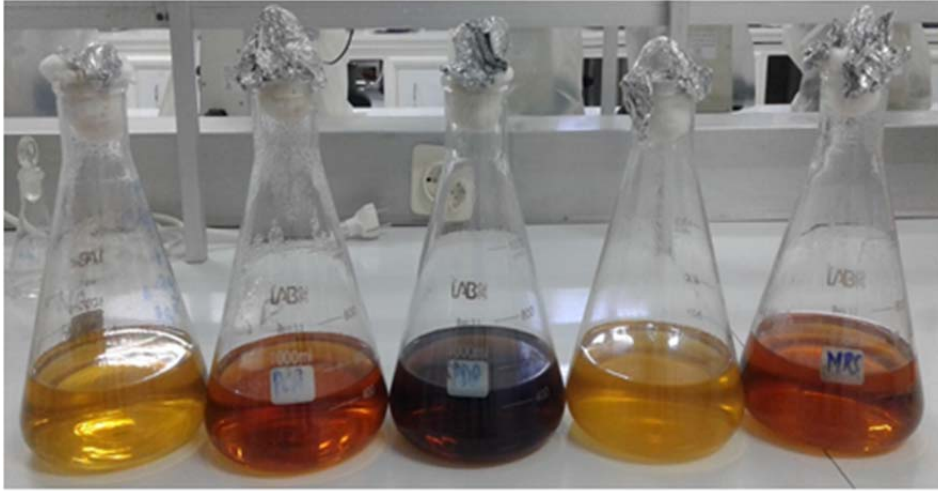
### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu araştırmada kullanılmış olan inci darısı(*Pennisetum glaucum*) Fildişi Sahili'nden getirilmiştir. Çiğ inek sđtđ, Çukurova Őniversitesi Ziraat Fakđltesi Araştırma Uygulama iftliği Gıda İşletmesi'nden temin edilmiştir. Degue eldesinde sđtđn fermantasyonu için geleneksel olarak evde yapılan hazır kđltür kullanılmıştır.

#### 3.1.1. Besiyerleri ve Kimyasallar

Araştırmada örneklerde bulunan mikroorganizmaların, izolasyon, tanımlama ve antibiyotik dirençliliklerini belirlenmek amacıyla kullanılan besiyerleri izelge 3.1'de ve şekil 3.1'de verilmiştir.



şekil 3.1. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri

Çizelge 3.1. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri

Besiyeri	Kullanım amacı	İnkübasyon koşulları
<b>Nutrient agar (NA)- Merck</b>	-Toplam mezofil aerob bakteri sayımı - Aerob sporlu bakteri sayımı	-30 °C'de 48 saat, aerobik  -37 °C'de 48 saat, aerobik
<b>MRS agar- Merck</b>	Toplam LAB sayımı ve izolasyonu	30 °C'de 48 saat, anaerobik
<b>M<sub>17</sub> agar- Merck</b>	Kok şeklindeki LAB sayım ve izolasyonu	30 °C'de 48 saat, aerobik
<b>CAA agar- Merck</b>	<i>Enterococcus</i> sayım ve izolasyonu	37 °C'de 48 saat, aerobik
<b>PDA agar- Merck</b>	Maya sayım ve izolasyon	25 °C'de 48 saat, aerobik
<b>LS broth- Merck</b>	Toplam koliform ve <i>E. coli</i> bakteri sayımı	37 °C'de 24 saat, aerobik
<b>MRS broth- Merck</b>	Toplam LAB / kok şeklindeki LAB saflaştırması ve depolanması	30 °C'de 48 saat, aerobik
<b>Nutrient broth- Merck</b>	<i>Enterococcus</i> saflaştırması ve depolanması	37 °C'de 48 saat, aerobik
<b>YM broth</b>	Maya saflaştırması ve depolanması	25 °C'de 48 saat, aerobik

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Degue Üretimi

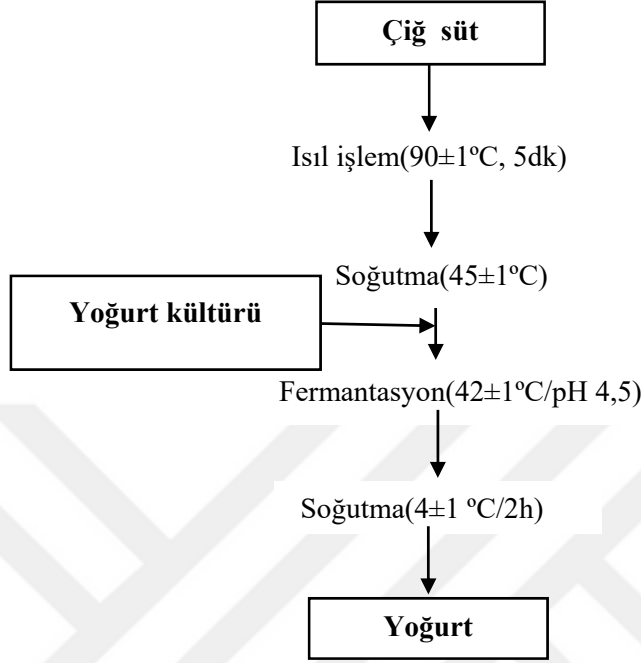
Degue üretimi 3 aşamada yapılmıştır. 1. aşaması, yoğurt üretimidir. 2. aşaması inci darısı kuskusu üretimi gerçekleştirilmiştir. 3. aşamada ise ikisi karıştırılarak Degue içeceği elde edilmiştir.

#### 3.2.2. Yoğurt Üretimi

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma Uygulama Çiftliği Gıda İşletmesi'nden gelen çiğ sütten 2 L alınıp 90°C'de, 5 dakika ısıl işlem uygulanmıştır. Sonra 45°C'ye soğutulmuştur. Daha sonra hem geleneksel, hem de ticari yoğurt mayası ile %5 oranında mayalanmıştır. 5 litrelik bir kaba doldurulan süt 42°C' de pH 4.5' e gelene kadar inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda 4°C' de 2 saat boyunca soğutularak dinlendirilmiştir. Şekil 3.2 ve 3.3'de yoğurt üretimi gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Yoğurt Üretimi



Şekil 3.3. Yoğurt Üretimi Akış Şeması

### 3.2.3. Millet Kuskusu (İnci Darısı Kuskusu) Üretimi

Fildişi Sahili'den getirilen inci darısı 1 kg tartılarak üretimde kullanılmıştır. Sonra istenmeyen yabancı maddelerin uzaklaştırması amacıyla temizleme ve yıkama (en az 2 kere) işlemleri yapılmıştır. Yıkanmış inci darısı ince bir tabaka halinde kerevetlere konularak kurutmaya sevk edilmiştir. Kurutma işlemi 65°C'de, 4 saat yüksek fan hızında gerçekleştirilmiştir. Kurutucu olarak Nüve KD-400 (Türkiye) turbo fanlı pilot ölçekli kabin kurutucu kullanılmıştır. İstenen kuruluğa gelen ürün nem geçirmez bariyer özellikli ambalajlarda hermetik olarak depolanmıştır. Kuru olan inci darısı un hale getirilmesi amacıyla öğütme makinesi (Spice and Herb Grinder, IC- 25B) kullanılarak öğütülmüştür. Elde edilen un 375 mikron'luk bir elek kullanılarak eleme işleminden geçirilmiştir. Eleme yapıldıktan sonra, una su ilave edilmiş el ile yoğurularak hamur oluşturulmuştur. Kullanılmış hamurda inci darısı unu oranına dikkat edilmiştir. 1 kg inci darısı ununa 0,6 litre su

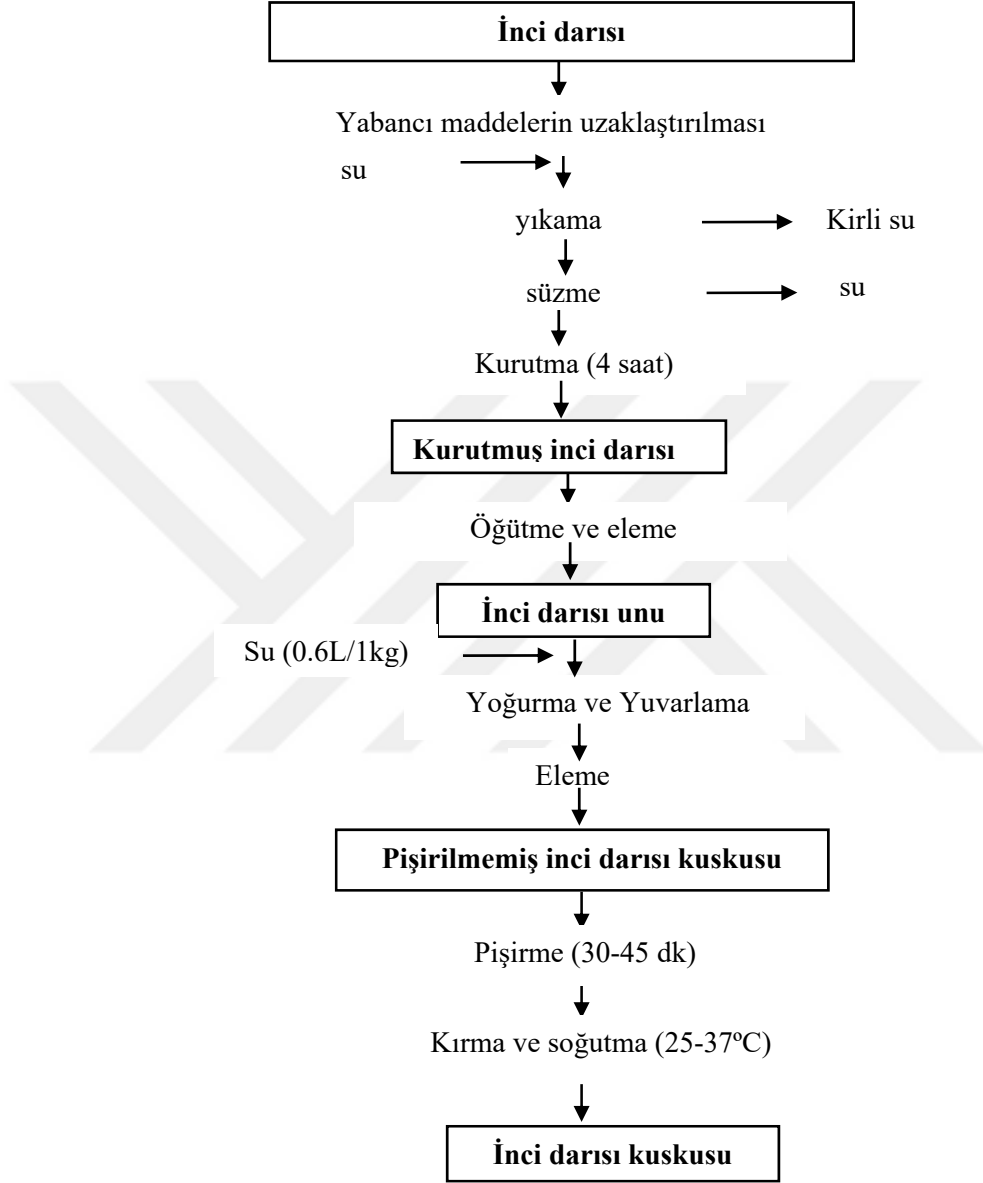
ilave edilmiştir. Elde edilen hamur yuvarlanarak inci darısı kuskusu haline getirilmiştir. Daha sonra elde edilen kuskus buharlı pişirici (Sinbo SCO-5020 Buharlı pişirici ve pilav yapma makinesi 1.8 Lt. 700 W) kullanılarak pişirme işlemi gerçekleştirilmiştir. (1 kg'ı 45-60 dk sürmüştür) (Şekil 3.4; Şekil 3.5 ve Şekil 3.6). Pişirme esnasında topaklanmayı önlemek için sürekli karıştırma işlemi yapılmıştır. Son olarak da, pişmiş olan kuskus soğutulmuştur (25-37°C) (Agani ve ark., 2013).



Şekil 3.4. Un Elde Edilmesi Aşamaları



Şekil 3.5. İnci Darısı Kuskusunun Hazırlanması ve Pişirilmesi



Şekil 3.6. İnci Darısı Kuskusu Üretimi Akış Şeması

### 3.2.4. Degue Üretimi

Üretilen inci darısı kuskusu ve yoğurt karıştırılmıştır (kuskusun  $\frac{1}{4}$ 'ü ve yoğurt  $\frac{3}{4}$ 'ü). Yani kapta var olan yoğurda inci darısı kuskusu koyup karıştırıldıktan sonra  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında depolanmıştır.



Şekil 3.7 Degue Eldesi Aşaması

### 3.2.5. Araştırma Planı

Bu araştırma, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği süt ve süt ürünleri ve mikrobiyoloji laboratuvarları ve Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. 3 tekerrürlü Degue üretimi yapılarak, her üretimden 5 örnek alınmıştır. Analizler, depolamanın 1., 7., 14., ve 21. gününde yapılmıştır. Elde edilen Degue ürününün depolanması için steril 250 mL'lik kavanozlar kullanılmıştır. Şekil 3.8'de Degue örnekleri verilmiştir.



Şekil 3.8. Degue Örnekleri

### 3.2.6. Ph Değerinin Belirlenmesi

pH, bir beher içerisinde 10 g Degue örneği 20 mL saf su ile karıştırılarak, homojenize edilmiştir. Hazırlanan karışımın pH'sı, dijital pH metre (METTLER TOLEDO) ile ölçülmüştür. Şekil 3.9'da kullanılan pH cihazı gösterilmiştir.



Şekil 3.9. Kullanılan Ph Cihazı

### 3.2.7. Mikrobiyolojik Analizler

Farklı mikroorganizmaların belirlenmesi amacıyla 10 g örnek ile steril edilmiş 90 mL dilüsyon sıvısı (%0.85'lik tuzlu, %0.1'lik peptonlu) karıştırılarak

homojenize edilmiştir. Sıvı halde olan karışımdan steril pipet yardımcıyla 1 mL alınıp dilüsyon sıvısı bulunan dilüsyon tüplerine ilave edilip vortex yardımcıyla karıştırılmıştır. Daha sonra ardışık olarak 1/10 'luk seyretme işlemi uygulanıp analizlere alınmıştır.

#### **3.2.7.1. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayılarının Belirlenmesi**

Toplam mezofil aerob bakteri sayımında yayma ekim yöntemi kullanılarak, Nutrient agar (NA) besiyeri kullanılarak uygun seyreltmelerden ekim yapılmıştır. Petriler 30°C'de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır ve gelişen koloniler değerlendirilmiştir (Baumgart ve ark., 1986; White ve ark., 1992).

#### **3.2.7.2. Koliform ve *Escherichia coli* Sayılarının Belirlenmesi**

Koliform bakterilerin sayımı için Lauryl Sulfate Broth (Merck) besiyeri kullanılarak, en muhtemel sayı (EMS) yöntemi uygulanmıştır. En muhtemel sayı (EMS) yöntemine göre, örnek hazırlanıp dilüsyonlar yapıldıktan sonra ardışık 3 dilüsyon alınıp her birisinden 3 durham tüplü dilüsyon tüpe 1 mL ekim yapılmış ve 37°C'de 24–48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda gelişme (bulanıklık) ve gaz oluşturan tüpler koliform grubu olarak değerlendirilmiştir.

Daha sonra *Escherichia coli* olup olmadığı belirlenmesi amacıyla gaz oluşan tüplere indol testi yapılmıştır. İndol testi için tüplere 1 damla kovacs indol çözeltilisi damlatılmıştır. İndol testi pozitif reaksiyon verenler de *Escherichia coli* olarak değerlendirilmiştir. Sayım sonuçları istatistiksel olarak hazırlanarak EMS tablosundan(çizelge 3.2) belirlenmiştir (Halkman, 2005; Salman ve ark., 2011).

Çizelge 3.2. EMS Tablosu (Halkman, 2005)

Pozitif tüpler			Sayı ve kategori		%95 güvenlik sınırı		%99 güvenlik sınırı	
1 mL	0,1 mL	0,01 mL	EMS	Kategori	Alt	Üst	Alt	Üst
0	0	0	< 0,30	-	0,00	0,94	0,00	1,40
0	1	0	0,30	2	0,01	1,00	0,00	1,60
0	2	0	0,62	3	0,12	1,70	0,05	2,50
1	0	0	0,36	1	0,02	1,70	0,01	2,50
1	1	0	0,74	1	0,13	2,00	0,06	2,70
1	1	1	1,10	3	0,40	3,50	0,20	4,60
1	2	0	1,10	2	0,40	3,50	0,20	4,60
1	2	1	1,50	3	0,50	3,80	0,20	5,20
1	3	0	1,60	3	0,50	3,80	0,20	5,20
2	0	0	0,92	1	0,15	3,50	0,07	4,60
2	0	1	1,40	2	0,40	3,50	0,20	4,60
2	1	0	1,50	1	0,40	3,80	0,20	5,20
2	1	1	2,00	2	0,50	3,80	0,20	5,20
2	2	0	2,10	1	0,50	4,00	0,20	5,60
2	2	1	2,80	3	0,90	9,40	0,50	14,20
2	3	0	2,90	3	0,90	9,40	0,50	14,20
3	0	0	2,30	1	0,50	9,40	0,30	14,20
3	0	1	3,80	2	0,90	10,40	0,50	15,70
3	0	2	6,40	3	1,60	18,10	1,00	25,00
3	1	0	4,30	1	0,90	18,10	0,50	25,00
3	1	1	7,50	1	1,70	19,90	1,10	27,00
3	1	2	12,00	3	3,00	36,00	2,00	44,00
3	2	0	9,30	1	1,80	36,00	1,20	43,00
3	2	1	15,00	1	3,00	38,00	2,00	52,00
3	2	2	21,00	2	3,00	40,00	2,00	56,00
3	2	3	29,00	3	9,00	99,00	5,00	152,00
3	3	0	24,00	1	4,00	99,00	3,00	152,00
3	3	1	46,00	1	9,00	198,00	5,00	283,00
3	3	2	110,00	1	20,00	400,00	10,00	570,00
3	3	3	>110,00					

### 3.2.7.3. Aerob Sporlu Bakteri Sayılarının Belirlenmesi

Hazırlanan ardışık dilüsyonlar 80°C'de 10 dakika su banyosunda ısıtılıp 37°C'ye soğutulmuştur. Soğuduktan sonra nutrient agar (NA) üzerine yayma ekim yöntemi ile ekimleri yapıp 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen kolonilerin sayımları yapılmıştır (Dığrak ve ark., 1994; Halkman, 2005).

#### 3.2.7.4. Laktik Asit Bakteri (LAB) Sayılarının Belirlenmesi

LAB'ların belirlenmesi için MRS, M17 ve KAA agar (*Enterococcus*) besiyerleri kullanılarak yayma ekim yöntemi ile ekimler gerçekleştirilmiştir. Daha sonra inoküle edilen MRS agarlı petri kutuları anaerobik koşullarda 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnoküle edilen M17 agarlı petri kutuları, 30°C'de 48 saat aerobik olarak inkübe edilmiştir. KAA agarlı petri kutuları ise aerobik olarak 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir (Askoul ve ark., 2014; Nikita ve ark., 2012; Patel ve ark., 2016; Randazzo ve ark., 2005).

#### 3.2.7.5. Maya Sayılarının Belirlenmesi

Toplam maya sayımında yayma ekim yöntemi kullanılarak, potato dextrose agar (PDA) besiyeri kullanılarak uygun seyreltmelerden ekim yapılmıştır. Plaklar 25°C'de 48 saat inkübasyona bırakılarak sayımlar gerçekleştirilmiştir (Bakırcı ve ark., 1998; Halkman, 2005).

#### 3.2.8. Mikroorganizma İzolasyonu ve Stok Kültürü Hazırlaması

##### 3.2.8.1. LAB'ların İzolasyonu ve Stok Kültür Hazırlanması

MRS, M17 ve KAA agarlarda gelişen farklı tipik koloniler seçilerek öze yardımıyla, her biri ayrı ayrı, tek koloni düşürme tekniği ile saflaştırılmıştır. Daha sonra, MRS agarlı plaklar 30°C'de anaerobik olarak 48 saat, M17 agarlı plaklar 30°C'de 48 saat, KAA agarlı plaklar ise 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen kolonilerin saflığı makroskobik ve mikroskobik olarak değerlendirilmiştir. Saflaştırma işleminden sonra, MRS ve M17 agarlarda gelişen farklı kolonilerden öze yardımıyla alınarak her biri ayrı ayrı 5 mL'lik MRS sıvı besiyerine inoküle edilmiştir. Aynı şekilde KAA agarda gelişen farklı kolonilerden öze yardımıyla alınarak her biri ayrı ayrı 10 mL'lik Nutrient brotha inoküle edilmiştir. Daha sonra MRS broth içeren tüpler 30°C'de 48 -72 saat , Nutrient broth içeren tüpler ise 37°C'de 48 -72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon

sonunda gelişen bakteri kültürleri 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen süpernatant dökülmüştür. 2 mL'lik eppendorf tüpleri içerisine 0,5 mL MRS broth (toplam LAB ve kok şeklindeki LAB) veya Nutrient broth (*Enterococcus*) ve 0,5 mL steril gliserin ilave edilerek bu tüpler -20 °C'de saklanmıştır.

### 3.2.8.2. Mayaların İzolasyonu ve Stok Kültür Hazırlanması

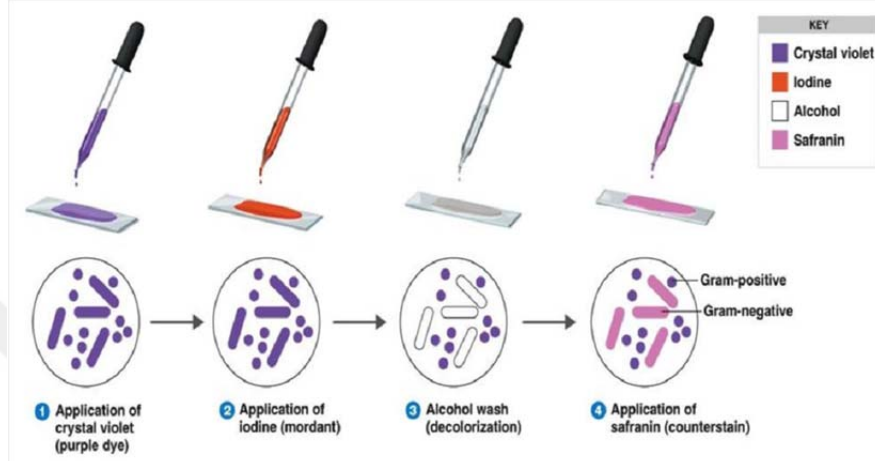
PDA agarda gelişen farklı tipik koloniler seçilerek, öze yardımı ile her biri ayrı ayrı, tek koloni düşürme tekniği ile yine PDA agara ekilip, 25°C'de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen kolonilerin saflığı makroskobik ve mikroskobik olarak değerlendirilmiştir. Saflaştırma işleminden sonra, her farklı koloniden 10 mL'lik YPD broth besiyerine inoküle edilmiştir. Daha sonra tüm maya kültürleri, 25°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen maya kültürleri 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek elde edilen süpernatant dökülmüştür. 5 mL'lik eppendorf tüpleri içerisine 1 mL YPD broth, 1 mL maya kültürü ve 1 mL steril gliserin ilave edilerek bu tüpler -20°C'de saklanmıştır.

### 3.2.9. Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi

#### 3.2.9.1. Gram Boyama

İzolatların, Gram özelliklerinin belirlenmesi amacıyla, Gram boyama yapılmıştır. Bunun için, ilk izolasyon evresinde saflaştırılan kültürlerden (24 saatlikten az) lam üzerine, distile su ile yayılarak, preparat hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlar, havada kurutulularak, fiksasyon işleminden sonra, kristal viyole boyası ile 1 dakika boyanıp distile su ile yıkanmıştır. Havada kurutulduktan sonra, iyot çözeltisi ile 1 dakika muamele edilen preparatlar, distile su ile yıkanıp, tekrar havada kurutulmuştur. Daha sonra alkol (%85) ile 15 saniye muamele edilip en son safranin boyası ile 15 saniye boyanmıştır. Distile su ile yıkandıktan sonra havada kurutulan preparatlar mikroskopta şekil 3.10'de gösterildiği gibi, 100x'lik immersiyon objektifinde incelenmiştir. Laktik Asit Bakterileri Gram pozitif özellik

taşıdığı için Gram Pozitif olan izolatlar seçilmiştir (Halkman, 2005; Harrigan ve ark., 1998).



Şekil 3.10. Gram Boyama Aşaması

### 3.2.9.2. Katalaz Testi

İzolatların katalaz enzimine sahip olup olmadıklarını belirlemek amacıyla ilk izolasyon esnasında saflaştırılan izolatlar temiz bir lam üzerine alınıp % 3'lük  $H_2O_2$  çözeltisi damlatılmıştır. Gaz kabarcıklarının oluşumu katalaz testi açısından pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Halkman, 2005; Harrigan ve ark., 1998; Tamer ve ark., 1984). Katalaz negatif olan izolatlar seçilmiştir.

Gram pozitif ve katalaz negatif olduğu belirlenen koloniler saflaştırılarak, stok kültürleri %60 giserol içinde  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır.

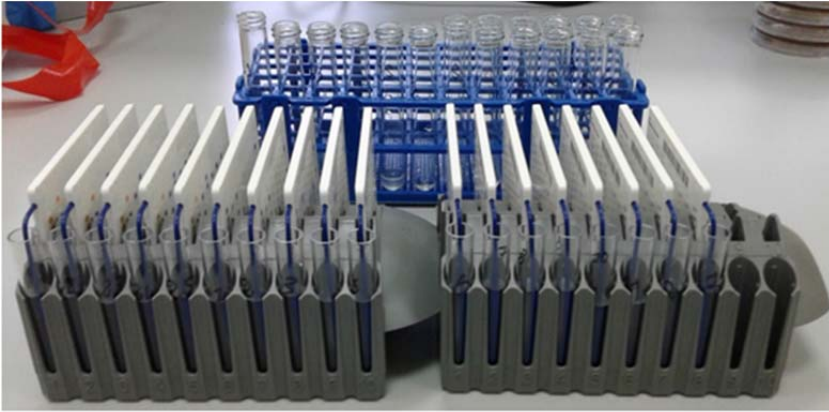
### 3.2.10. Laktik Asit Bakterilerinin ve Mayaların Tanımlanması

Laktik asit bakterileri ve mayaların tanımlanması, Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde VITEK 2 (Biomérieux) compact otomatik tanımlama sisteminde yapılmıştır. Laktik asit bakterileri ve mayaları tanımlamak için GP ID (Gram pozitif bakteri tanımlama kartı) ve YST ID (Maya tanımlama kartı) kartları kullanılmıştır (Çetin ve ark., 2014; Haanpera ve ark.,

2007; Halkman, 2005; Ligozzi ve ark., 2002). Tanımlama kartlarında karbon kaynağı kullanımı ve enzimatik aktivite özelliklerini ölçen biyokimyasal testler mevcuttur. Her bir test için belirlenen reaksiyonlar eşik değerler ile otomatik olarak kıyaslanmakta ve VITEK 2 Compact cihazında test reaksiyon sonuçları (-) ve (+) olarak gözükmemektedir. Elde edilen veriler sistemin kütüphanesindeki verilerle karşılaştırılarak, tanımlama yapılmıştır (Özalkan ve ark.; Palabıyık ve ark., 2016; Pekintürk ve ark.; Us ve ark., 2010). Şekil 3.11 vitek cihazı ve 3.12’te GP ID ve YST ID kartları yerleşmesi verilmiştir.



Şekil 3.11. Vitek 2 Compact Cihazı



Şekil 3. 12 GP ID Ve YST ID Kartları Yerleşmesi

**3.2.11. Laktik Asit Bakterileri Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi**

Laktik asit bakteri izolatlarının antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesinde Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bunu iki aşamada gerçekleştirmektedir. Birinci aşaması izolatların yoğunluğunu ayarlamadır ve 0.5 McFarland ( $1-2 \times 10^8$  kob/mL) standarda göre yapılmıştır (Bauer ve ark., 1966; Chakoosari ve ark., 2015; Lim ve ark., 2009; Reller ve ark., 2009). Ependorf tüpünde stok edilen izolatlardan 0.1 mL alınıp 5mL'lik MRS broth'a inoküle edilmiştir ve 30 °C'de 18 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 2 tüp karıştırılarak santrifüj edilmiştir. Süpernatant dökülüp pellet üzerine 5 mL dilüsyon sıvısı ilave edilmiştir. Elde edilen karışım numunemizdir. Sonra 9 mL dilüsyon sıvısı 1 mL ilave edilip homojenize hale getirilmiştir. Daha sonra ardışık seyretme ( $10^{-7}$  kadar)işlemi uygulanmıştır. MRS besiyeri üzerine 0.1 mL alınıp yayma ekim yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır ve anaerobik koşullarda 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Koloniler sayımında  $10^{-7}$  petri kutusu üzerisinde 15- 20 civarında koloni kabul edilmiştir.

İkinci aşaması ise uygun bir şekilde 0.5McFarland standarda göre ayarlanarak, MRS besiyerine yayma ekim yöntemiyle ekim yapılmıştır (numuneden 1 ml alınıp 1'er seyreltilerek elde edilen seyreltmeden ( $10^{-7}$  'den 0.1 mL alınıp inoküle edilmiştir). Hemen ardından beklemeden inoküle edilen petri kutularının yüzeyine dispenser aracılığı ile antibiyotik (vankomisin, kloramfenikol, rifampisin, tetrasiklin, eritromisin, ampisilin, gentamisin ve siprofloksasin) içeren kâğıt diskler yerleştirilerek 37 °C'de 24 saatlik anaerobik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülmüştür. Sonuçlar, NCCLS (the National Committee for Clinical Laboratory Standards) doküman M2-A9 kriterlerine göre bakteri suşları, dirençli, orta duyarlı ve duyarlı olarak değerlendirilmiştir(CLSI, 2011; Gülay, 2002; Gür, 2007; Ünal Turhan ve ark., 2016 ).

Laktik asit bakteriler için NCCLS doküman M2-A9 zon çapı yorumlama standartları Çizelge 3.3 'de verilmektedir.

Çizelge 3.3. LAB için NCCLS doküman M2-A9 Zon Çapı Yorumlama Standartları  
(Ünal Turhan ve ark., 2016)

Antimikrobik İlaç	Disk İçeriği	Zon Çapı Yaklaşık mm		
		R	I	S
Eritromisin(E15)	15 µg	≤13	14-22	≥23
Tetrasiklin(TE10)	30 µg	≤14	15-18	≥19
Ampisilin(AM10)	10 µg	≤16	-	≥17
Vankomisin(VA30)	30 µg	≤14	15-16	≥17
Gentamisin(CN10)	120µg	6	7-9	≥10
Rifampisin(RA5)	5 µg	≤16	17-19	≥20
Siprofloksasin(CIP5)	5 µg	≤15	16-20	≥21
Kloramfenikol(C30)	30 µg	≤12	13-17	≥18

\*R: Dirençli , \*I: Orta duyarlı, \*S: Duyarlı.

### 3.2.12. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler

Değue örneklerine uygulanan analizler sonucunda elde edilen bulgular, SPSS 16 paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutularak ve önemli bulunan farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre değerlendirilmiştir(Düzgüneş ve ark., 1987; Özdamar, 1999)

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

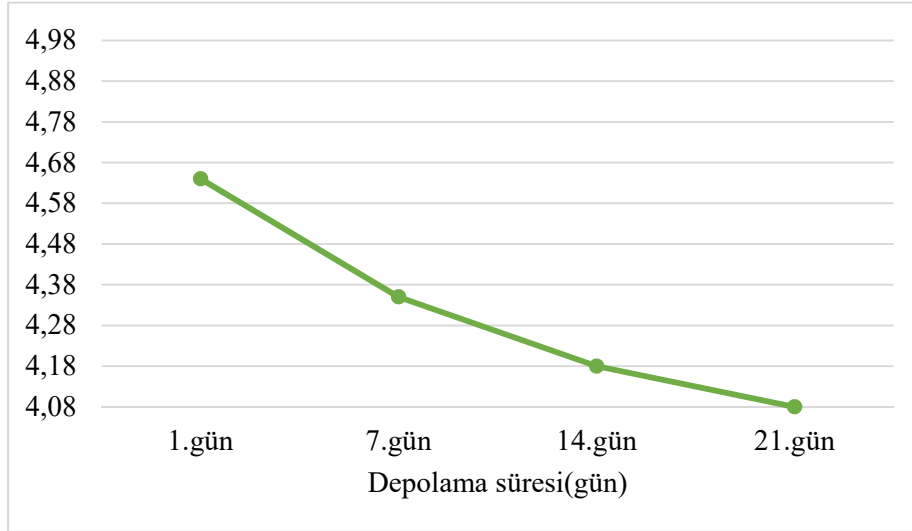
##### 4.1. Degue Örneklerinin Ph Değerleri ve Mikroorganizma Sayım Sonuçları

Araştırma kapsamında toplam 3 tekerrülü Degue üretimi gerçekleştirilmiş olup, her üretimden 5 örnek alınarak, depolama süresince pH ölçümlerinin yanı sıra, toplam LAB (MRS), kok şeklindeki LAB (M17), *Enterococcus* spp.'i (KAA), toplam mezofil aerob bakteri (Nutrient agar), toplam aerob sporlu bakteri (Nutrient agar), toplam maya (PDA), toplam koliform bakteri ve *E.coli* sayıları (LSB) belirlenmiştir. Ayrıca, bu örneklerden LAB bakterileri ve mayalar izole edilmiştir.

Depolama süresince tüm denemelerde belirlenen pH değerleri, mikroorganizma sayım sonuçları çizelge 4.1'de verilmiştir.

##### 4.1.1. Ph Değerleri Belirlenmesi

Depolama süresince Degue örneklerindeki pH değerleri şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Depolama Süresince Degue Örneklerindeki Ph Değerleri

Çizelge 4.1. Depolama Süresince Belirlenen Ph Değerleri ve Mikroorganizma Sayım Sonuçları

Örnekler	Günler	pH	Toplam LAB	Kok şeklindeki LAB	Enterokok	TMAB	Maya	Koliform
34 üretim	1.gün	4,64±0,049 <sup>a</sup>	4,77±0,400 <sup>c</sup>	4,78±0,260 <sup>b</sup>	3,61±0,234 <sup>a</sup>	4,69±0,614 <sup>b</sup>	4,38±0,661 <sup>b</sup>	1,77±1,535 <sup>a</sup>
	7.gün	4,35±0,115 <sup>b</sup>	6,29±0,670 <sup>b</sup>	5,61±1,076 <sup>b</sup>	3,52±0,369 <sup>a</sup>	4,04±0,655 <sup>b</sup>	4,70±0,991 <sup>b</sup>	1,19±1,049 <sup>a</sup>
	14.gün	4,18±0,040 <sup>c</sup>	7,08±0,482 <sup>ab</sup>	6,07±0,944 <sup>b</sup>	3,87±0,216 <sup>a</sup>	4,99±0,62 <sup>b</sup>	4,90±0,555 <sup>b</sup>	0,00±0,000 <sup>a</sup>
	21.gün	4,08±0,060 <sup>c</sup>	7,70±0,160 <sup>a</sup>	7,52±0,331 <sup>a</sup>	3,56±0,340 <sup>a</sup>	6,33±0,882 <sup>a</sup>	7,16±0,537 <sup>a</sup>	0,00±0,000 <sup>a</sup>

- Çizelgede aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli ( $p < 0.05$  seviyesinde) bulunmuştur.
- Çizelgede aynı satırda harflendirme yapılmayan değerler istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$  seviyesinde)

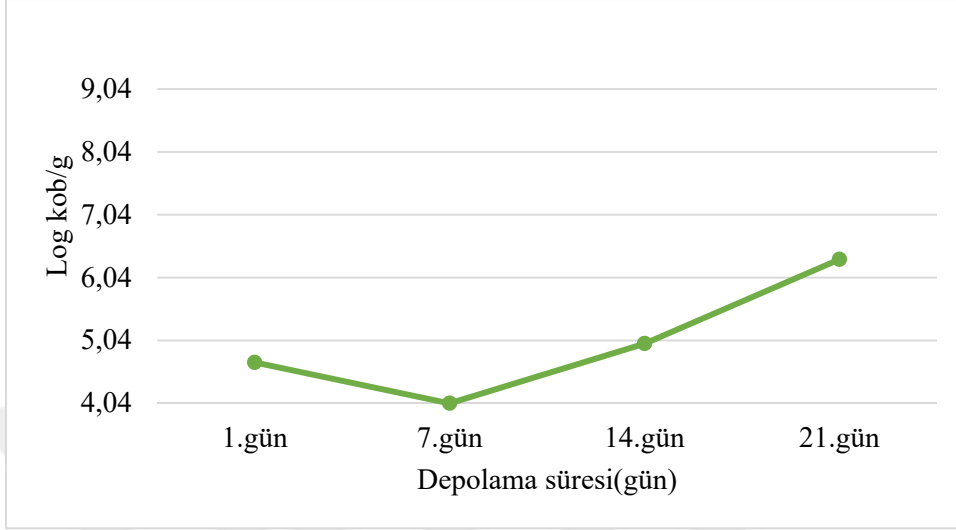
Şekil 4.1’de görüldüğü gibi Degue’nin depolama süresince ortalama pH değerleri 4,08 - 4,64 arasında değişmiştir. Depolamanın 1. gününden 21.gününe kadar pH değerlerinde azalma görülmüştür. En yüksek pH değeri 4,64; 1. günde belirlenmiştir. Düşük pH değeri 4,08 ise 21.günde lçmüştür. Depolama süresince, pH değerleri, istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) bulunmaktadır.

Tchekessi ve ark. (2014), yaptığı çalışmada, Degue millet’in pH değeri 4.27 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada mısır ve sorgum bitkisi ile yapılan Degue’nin pH değerlerini sırasıyla 4.21 ve 4.22 olarak bulunmuşlardır. Hama ve ark. (2009) çalışmasında 72 saatlık fermantasyondan sonra Degue’nin pH değerini ortalama 4.49 olarak saptanmışlardır. Aynı şekilde Degue’ye benzer olan İran’daki Kashk-e Zard ve Tarkhineh ürünlerin üzerinde, Mashak ve ark. (2014) yaptığı çalışmada Kashk-e zark pH’sı 4.31 ve Tarkhineh pH’sı 4.9 belirlenmişlerdir. Kashk-e Zard ve Tarkhineh, Süt ve millet’ten üretilen ürünlerdir. Çalışmamızda elde edilen pH değerleri diğer çalışmalarda bulunan pH değerleri ile uyum göstermektedir.

#### 4.1.2. Toplam Mezofil Aerob Bakteri Sayım Sonuçları

Depolama süresince Degue örneklerindeki TMAB sayısındaki değişim şekil 4.2’de verilmiştir.

Şekil 4.2’de görüldüğü gibi Degue depolama süresince toplam mezofil aerob bakterileri sayısı 4,04 - 6,33 log kob/g arasında değişmiştir. Depolamanın 1. ve 7. günleri arasında toplam mezofil aerob bakterileri sayısında azalma meydana gelmiştir. Depolamanın 7. gününden itibaren toplam mezofil aerob bakterileri sayısı artmıştır. En yüksek toplam mezofil aerob bakterileri sayısı 6,33 log kob/g, 21. günde belirlenmiştir. En düşük sayısı 4,04 log kob/g ise 7. günde belirlenmiştir. Depolama süresince, toplam mezofil aerob bakterileri sayısı, istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) bulunmaktadır.

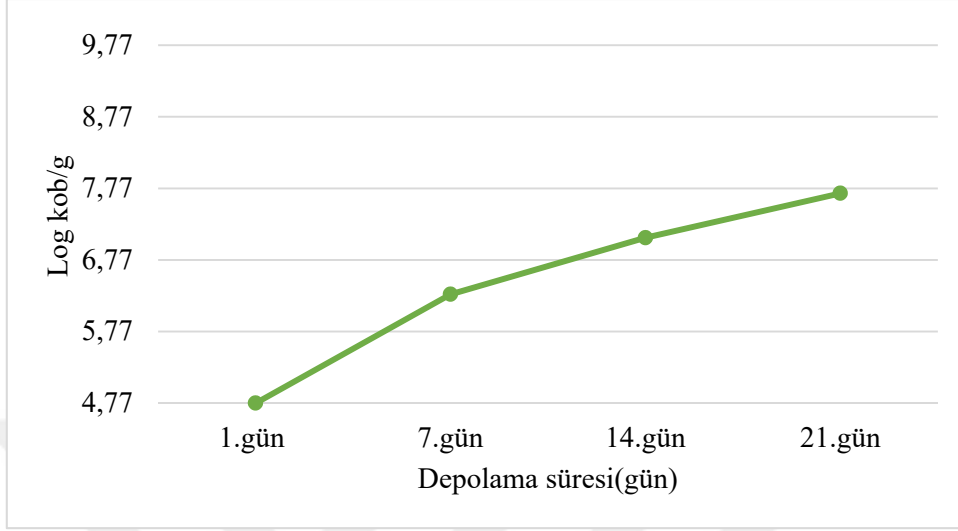


Şekil 4.2. Depolama Süresince Degue Örneklerindeki TMAB Sayısı

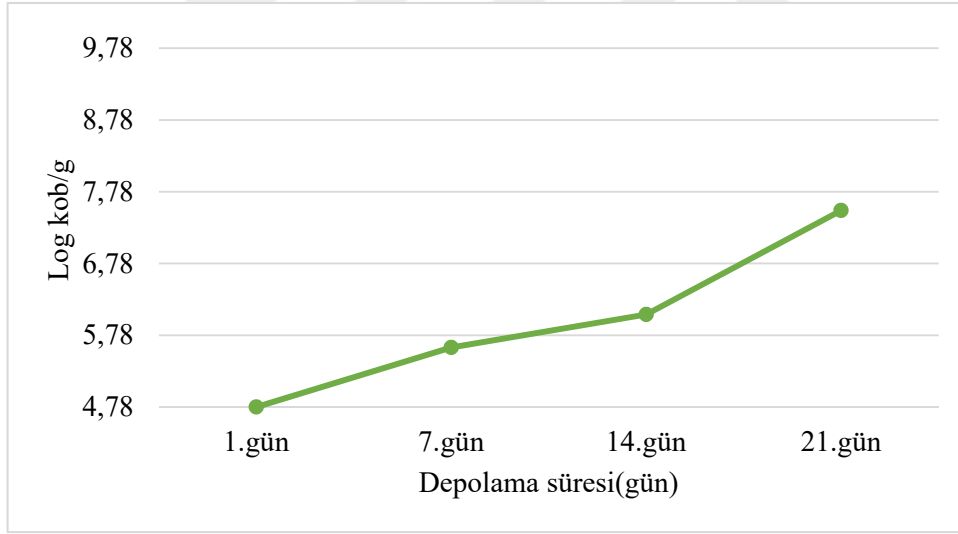
Tchekessi ve ark. (2014) çalışmasında Degue millet'in TMAB sayısı 7.31 log kob/g bulunmuştur. Aynı çalışmada Degue Sorghum ve Degue mısır'ın TMAB sayısı sırayla 7.82 ve 7.85 log kob/g bulunmuştur. Degue'de belirlenen toplam mezofil aerob bakteri sayısı, Tchekessi ve ark. (2014) tarafından bildirilen değerlerden düşük bulunmuştur. Bu farklılık kullanılan hammaddeler, coğrafi faktörler, çalışma yöntemleri, stater kültür, üretim hijyen koşulları gibi nedenlerden kaynaklanır.

#### 4.1.3. Laktik Asit Bakterileri Sayım Sonuçları

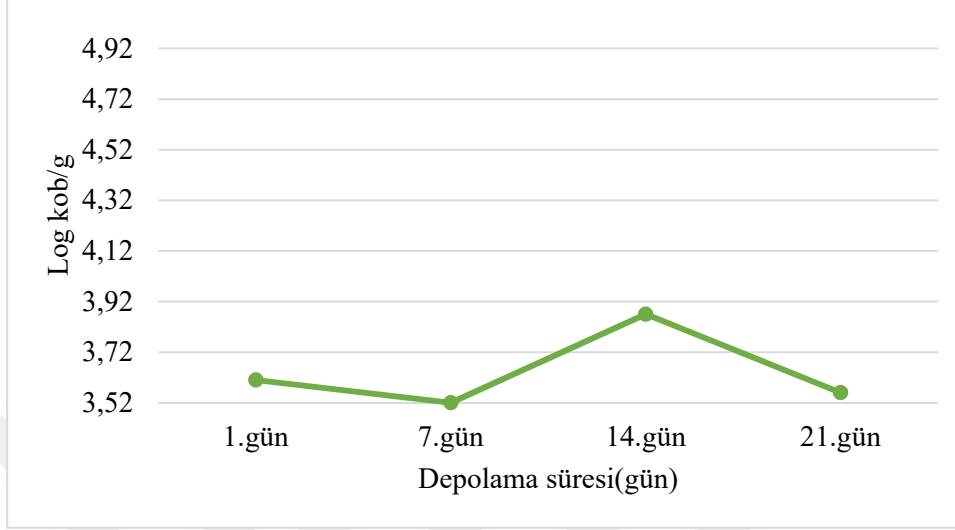
Depolama süresince Degue örneklerindeki toplam LAB sayısındaki değişim şekil 4.3; 4.4 ve 4.5'lerde verilmiştir.



Şekil 4.3. Depolama Süresince Degue Örneklerindeki Toplam LAB Sayısı



Şekil 4.4. Depolama süresince Degue örneklerindeki kok şeklindeki LAB sayısı



Şekil 4.5. Depolama Süresince Degue Örneklerindeki Enterokok Sayısı

Şekil 4.3; 4.4 ve 4.5’lerde görüldüğü gibi depolama süresince, toplam LAB sayısı 4.77 – 7.70 log kob/g arasındadır. Genel olarak, depolamanın 1. gününden 21. gününe kadar toplam LAB sayısında artış görülmüştür. En yüksek toplam LAB sayısı 7.70 log kob/g, depolamanın 21. gününde belirlenmiştir. En düşük toplam LAB sayısı 4,77 log kob/g ise 1. günde belirlenmiştir. Depolama süresince toplam LAB sayısı, istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) bulunmaktadır. Aynı şekilde kok şekilindeki LAB sayısı 4.78 – 7.52 log kob/g arasında belirlenmiştir. Genel olarak, depolamanın 1. gününden 21. gününe kadar kok şekilindeki LAB sayısı artmıştır. En yüksek kok şekilindeki LAB sayısı 7,52 log kob/g, depolamanın 21. gününde belirlenmiştir. En düşük sayısı 4.78 log kob/g ise 1. günde belirlenmiştir. İstatistiksel açıdan kok şekilindeki LAB sayısında önemli ( $p<0.05$ ) bulunmaktadır. Depolama süresince, enterokokların sayısı ise 3.52 – 3,61 log kob/g arasında bulunmuştur. Genel olarak enterokok sayısı düzensiz değişimler göstermiştir. En yüksek enterokok sayısı 3,61 log kob/g, depolamanın 14. gününde belirlenmiştir. En düşük

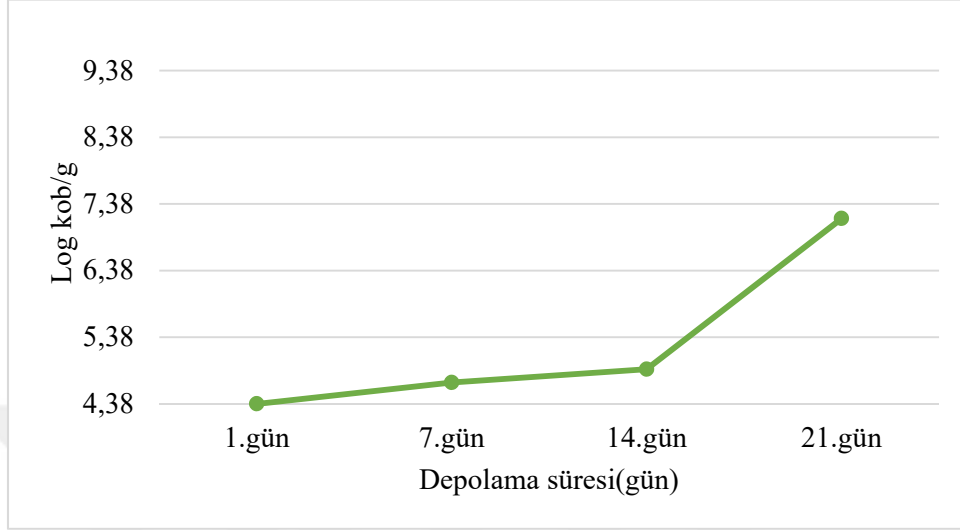
sayısı 3.52 log kob/g ise depolamanın 7. gününde belirlenmiştir. istatistiksel açıdan önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmaktadır.

Tchekessi ve ark. (2014) yaptığı araştırmada, inci darısı(millet), mısır ve sorghum bitkili Degue'nin LAB sayısı sırasıyla 7.31, 7.85 ve 7.82 log kob/g bulmuştur. Bulduğumuz LAB sayısı yakın olduğunu görülmektedir. Hama ve ark. (2009), çalışmalarında LAB sayısı üretim gününde 6.96 log kob/g ve 72 saatlik fermantasyondan sonra 9.91 log kob/g bulmuştur. Çalışmamız sonuçlarında ise LAB sayısı daha yüksek bulunmuştur. Tankoano ve ark. (2017), Degue'ye benzer olan ürün Gappal (burkina faso'da üretilir) üzerinde yaptığı çalışmada sıvı Gappal ürünün *Enterococcus* sayısı 4.30 log kob/g bulunmuştur. Bu sayı, bu çalışmada belirlenen Degue ürünün *Enterococcus* bakterilerinin sayısı ile yakın olduğu görülmüştür.

#### 4.1.4. Maya Sayım Sonuçları

Depolama süresince Degue örneklerindeki maya sayısındaki değişim şekil 4.6'de verilmiştir.

Şekil 4.6'de görüldüğü gibi Degue örneklerinde, depolama süresince toplam maya sayısı 4.38 - 7.16 log kob/g arasında belirlenmiştir. Depolamanın 1. ve 14. günleri arasında maya sayısı hafif artış görülmüştür. Depolamanın 14. gününden itibaren artmıştır. En yüksek toplam maya sayısı 7.16 log kob/g, depolamanın 21. gününde belirlenmiştir. En düşük toplam maya sayısı 4.38 log kob/g ise depolamanın 1. gününde belirlenmiştir. Toplam maya sayısı, istatistiksel açıdan önemli ( $p<0.05$ ) bulunmaktadır

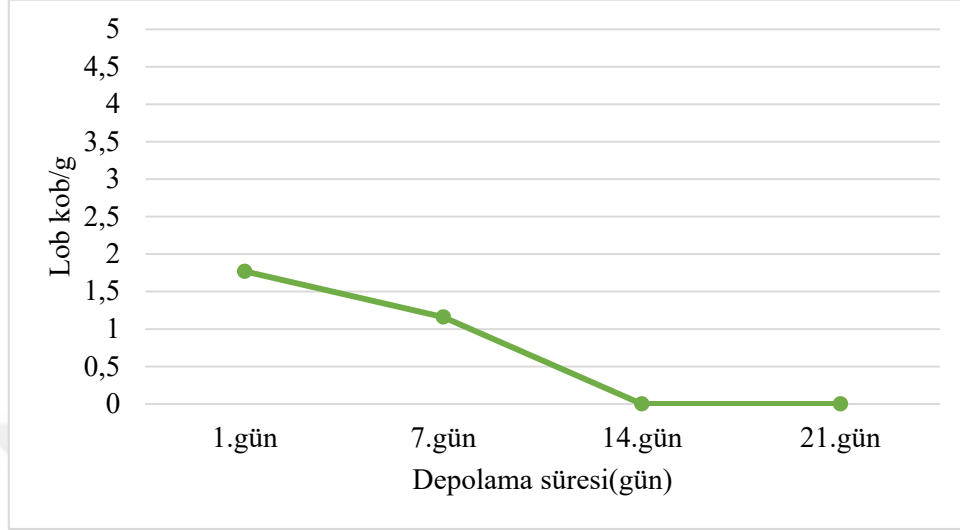


Şekil 4.6. Depolama Süresince Degue Örneklerindeki Maya Sayısı

Tchekessi ve ark. (2014) yaptığı çalışmada inci darısı (millet), mısır ve sorghum bitkisi kullanarak ürettiği Degue'nin toplam maya ve küf sayısı sırasıyla 7.78, 8.44 ve 7.91 log kob/g bulmuştur. Bulduğumuz toplam maya sayısı ile yakın olduğunu gösterilmektedir. Hama ve ark. (2009), çalışmalarında üretimin ilk gününde, toplam maya ve küf sayısını 5.93 log kob/g bulunmuştur. Bu sayıya göre, tüm örneklerde bulduğumuz toplam maya sayısının daha düşük olduğu görülmektedir. Bu farklılık kullanılan hammaddeler, coğrafi faktörler, çalışma yöntemleri, üretim hijyen koşullarından kaynaklanabilir.

#### 4.1.5. Toplam Koliform ve *Escherichia coli* Sayım Sonuçları

Depolama süresince Degue örneklerindeki toplam koliform sayısındaki değişim şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Depolama Süresince Degue Örneklerindeki Toplam Koliform Sayısı

Şekil 4.7’de görüldüğü gibi Degue depolama süresince toplam koliform bakteri sayısı 0 - 1.77 log EMS/g arasında değişmiştir. Depolamanın 1. gününden 14. gününe kadar koliform sayısı azalarak sıfırlanmıştır. Depolamanın 14. gününden itibaren toplam koliform sayısı sıfır bulunmuştur. En yüksek toplam koliform sayısı 1.77 log EMS/g, depolamanın 1. gününde bulunmuştur. Bulunan koliform bakterilerinin *Echerichia coli* olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yapılan indol test sonuçları negatif olarak saptanmıştır. Toplam koliform sayısı, istatistiksel açıdan önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmaktadır.

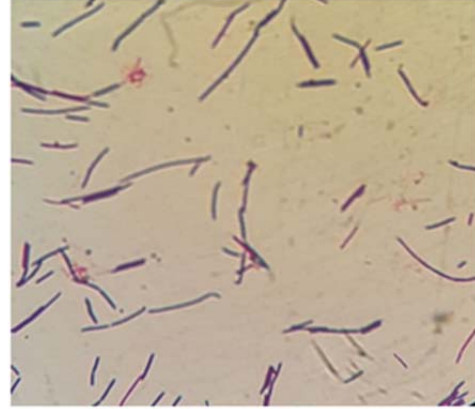
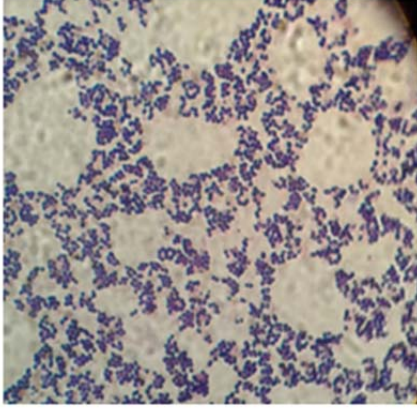
Tchekessi ve ark. (2014) yaptığı çalışmada, ürettiği Degue örneklerinde toplam koliform bakterileri ve *Echerichia coli* bulamamıştır. Hama ve ark. (2009) çalışmasında üretimin ilk gününde, toplam koliform sayısı 5.11 log kob/g bulunmuştur. 72 saatlik bir fermantasyondan sonra toplam koliform sayısını 5.88 log kob/g olarak saptamıştır. Bu sayılara göre, tüm örneklerde bulduğumuz toplam koliform bakteri sayısının daha düşük olduğu görülmektedir. Bu farklılık kullanılan hammaddeler, coğrafi faktörler, çalışma yöntemleri, stater kültür ve üretim hijyen koşullarına bağlanmaktadır.

## 4.2. Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu

### 4.2.1. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

MRS, M17 ve KAA agarlarından Degue örneklerine ait olan ve izole edilen şüpheli kolonilere katalaz testi uygulanmıştır. Katalaz negatif olan kolonileri seçilip gram bayamaya tabi tutularak, Gram pozitif kolonileri izole edilmiştir. İzolatlar %60'lık gliserinli eppendorf tüpleri içerisinde -20°C'de depolanmıştır. Çizelge 4.2'te elde edilen izolatların özellikleri verilmektedir.

Katalaz negatif ve Gram pozitif olan 20 LAB izolatları mikroskopta (16X100) bakılarak 16' sını (%80) kok, 4 tanesini ise (%20) basil olarak belirlemişlerdir (Şekil 4.8 ve 4.9).



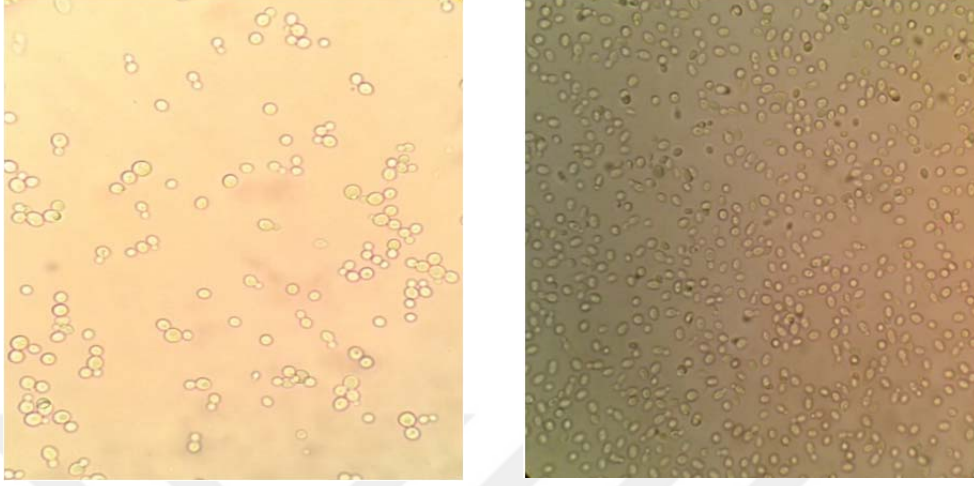
Şekil 4.8. İzolat 1' in Mikroskopik Görüntüsü Şekil 4.9. İzolat 12' in Mikroskopik Görüntüsü

Çizelge 4.2. İzolatların Özellikleri

İZOLAT NO	KATALAZ	GRAM	ŞEKİL
BOYAMA			
1	-	+	Kok
2	-	+	Kok
3	-	+	Kok
4	-	+	Kok
5	-	+	Kok
6	-	+	Kok
7	-	+	Kok
8	-	+	Kok
9	-	+	Kok
10	-	+	Kok
11	-	+	Çubuk
12	-	+	Çubuk
13	-	+	Kok
14	-	+	Kok
15	-	+	Kok
16	-	+	Kok
17	-	+	Çubuk
18	-	+	Kok
19	-	+	Çubuk
20	-	+	Kok

#### 4.2.2. Mayaların İzolasyonu

Degue örneklerine ait olan ve farklı PDA agarlı petri kutularından izole edilen şüpheli maya kolonileri mikroskopta (16X40) bakılarak 10 izolat seçilmiştir. Saflaştırdıktan sonra izolatlar %60'lık gliserinli eppendorf tüpleri içerisinde -20°C'de depolanmıştır. Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



Şekil 4.10. Maya'nın Mikroskopik Görüntüsü

#### 4.3. Laktik Asit Bakteri ve Mayaların Tanımlanması

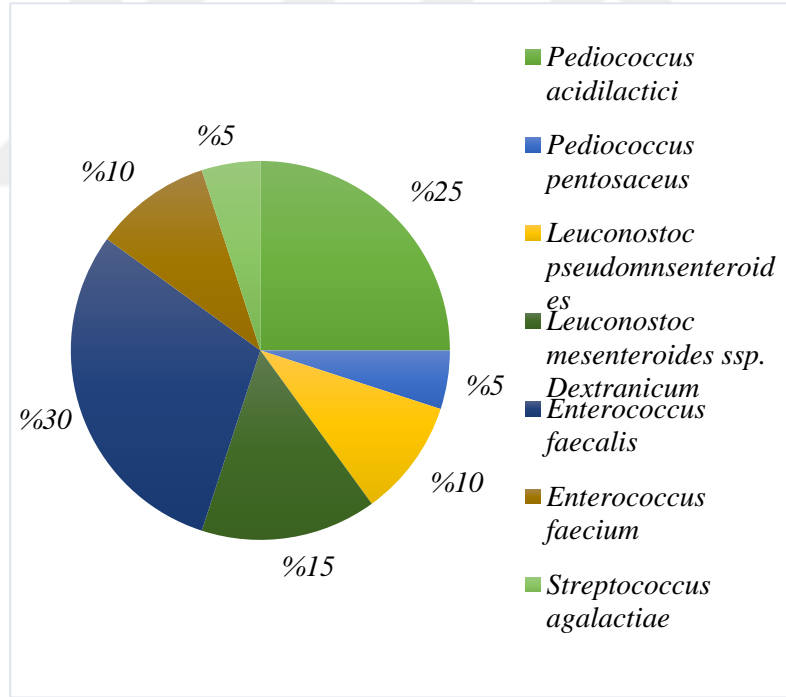
İzolatların identifiasyonu VITEK-2 (Biomérieux) compact otomatik sistemi ile yapıldı. Vitek-2 sisteminin kütüphanesindeki verilere göre Degue'de *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Enterococcus* cinsleri tespit edilmiştir. Ayrıca elde edilen sonuçlara göre Degue ürününde 5 izolat (%50) *Candida kefyr*, 1 izolat (%10) *Cryptococcus albidus* ve 4 izolat (%40) *Rhodotorula glutinis* olmak üzere bulunan 3 farklı maya türü saptanmıştır. Çizelge 4.3'de elde edilen sonuçlar ayrıntıyla verilmiştir. Şekil 4.11'te belirlenen suşların % dağılımları gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Tanımlama Sonuçları

İZOLAT NO	VİTEK-2 SONUÇLARI	(%) BENZERLİK
1	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	%89
2	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%97
3	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%97
4	<i>Leuconostoc pseudomnsenteroides</i>	%86
5	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%97
6	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99
7	<i>Enterococcus faecium</i>	%99
8	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99
9	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99
10	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99
11	<i>Leuconostoc pseudomnsenteroides</i>	%86
12	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	%91
13	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%97
14	<i>Enterococcus faecium</i>	%90
15	<i>Enterococcus faecalis</i>	%99
16	<i>Pediococcus acidilactici</i>	%93
17	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	%93
18	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	%99
19	<i>Enterococcus faecalis</i>	%97
20	<i>Streptococcus agalactiae</i>	%88

Vitek-2 compact sonuçlarına göre %30'u *Pediococcus*, %25'i *Leuconostoc*, %40'ı *Enterococcus* ve %5'i *Streptococcus* cinsleri bulunmuştur. Ayrıca 6 izolat (%25) *Pediococcus acidilactici*, 1 izolat (%5) *Pediococcus pentosaceus*, 3 izolat (%15) *Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum*, 1 izolat (%10) *Leuconostoc pseudomnsenteroides*, 6 izolat (%30) *Enterococcus faecalis*, 2 izolat (%10) *Enterococcus faecium* ve 1 izolat (%5) *Streptococcus agalactiae* olarak tanılanmıştır. Tanımlanan izolatların büyük çoğunluğunu *Enterococcus* cinsi oluştururken, *Streptococcus* cinsi en düşük oranda saptanmıştır.

Ouattara ve ark. (2015) tarafından Burkina faso'nun farklı bölgelerinden Degue örnekleri toplayıp bu örneklerden morfolojik, kültürel, fizyolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanarak 125 LAB izolasyonu yapılmıştır. Bu izolatların *Pediococcus*, *Leuconostoc* cinslerine ait olduklarını belirlenmiştir. Abriouel ve ark. (2006) çalışmasında Degue'de PCR yöntemi kullanılarak *Enterococcus* sp. varlığı belirlenmiştir. Angelov ve ark. (2017) Benin'de üretilen Degue üzerinde yaptığı araştırmada, *Pediococcus acidilactici* ve *Enterococcus* sp. tanımlanmıştır. Harun-ur-Rashid ve ark. (2007), Bangladesh'in farklı bölgelerinden fermente süt ürünü Dahi örneklerini toplayıp bu örneklerden LAB'ları izole ederek, tanımlanmışlardır. Dahi örneklerinde *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Enterococcus faecium* olduğunu belirlemiştir.



Şekil 4.11. Degue'den Tanımlanan LAB'lara Ait Türlerin % Dağılımları

#### 4.4. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi

Vankomisin, kloramfenikol, rifampisin, tetrasiklin, eritromisin, ampicilin, gentamisin ve siprofloksasin olmak üzere 8 tane antibiyotik kullanılarak Degue'den elde edilen LAB'ların antibiyotik dirençlilikleri belirlenmiştir. Antibiyotiklerden kaynaklanan inhibisyon zon çapları sonuçları çizelge 4.4'te verilmiştir. NCCLS (the National Committee for Clinical Laboratory Standards) doküman M2-A9 kriterlerine göre antibiyotik dirençlerinin sonuçları çizelge 4.5'te Verilmiştir.

Antibiyotiklere dirençli bakteriler, gıda ve yemlerde aşağıdaki nedenlerden dolayı en önemli tehdit unsurlarından biridir. Birincisi, bu genleri birçok patojen bakteriye transfer etme riski ile diğer mikroorganizmalarla direnç faktörlerini değiştirebilir (Shalini Mathur ve ark., 2005). İkinci olarak, sadece antibiyotik tedavisi ile kontrol edilebilen endokardit (kalp ve damarların içinde mikrobiyal enfeksiyona verilen isimdir) oluşturan bazı LAB suşları etiyolojik ajanlar olduğu bildirilmiştir (Salvana ve ark., 2006). Son olarak, Probiyotik LAB kullanımı optimizasyonu gastrointestinal vakalarında, antibiyotik tedavisi güçlendirmek için LAB'ların antibiyotik dirençlerini bilmeleri gerekmektedir (Salminen ve ark., 1998).

Yukarıdaki nedenlerden dolayı, Degue örneklerden izole edilen LAB'ların antibiyotik direnci bu çalışmada araştırılmıştır. Elde edilen antibiyotik direnci sonuçlara göre izolatlar çoklu antibiyotik direnci göstermektedir.

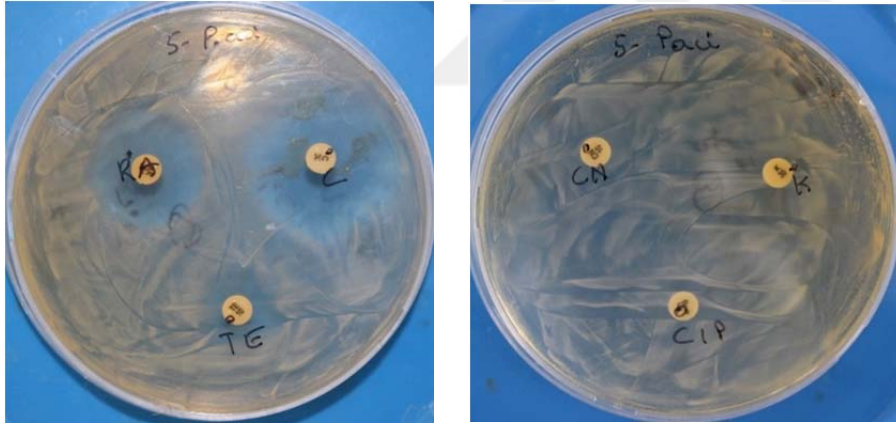
##### 4.4.1. *Pediococcus* Cinslerinin Antibiyotik Dirençliliklerini

Tüm *Pediococcus acidilactici* (%100) izolatları (2; 3; 5; 13 ve 16 nolu) tetrasiklin, vankomisin ve siprofloksasin antibiyotiklerine dirençlilik gösterirken, rifampisin ve kloramfenikole karşı duyarlılık göstermiştir. 3 nolu izolat (%20) eritromisin karşısında orta duyarlılık gösterirken kalan (%80) izolatlar (2; 5; 13; 16 nolu) duyarlılık göstermiştir. Aynı şekilde 16 nolu izolat (%20), gentamisin karşısında orta duyarlılık gösterirken kalan (%80) izolatlar (2; 3; 5; 13 nolu)

dirençlilik göstermiştir. Ampisilin karşısında ise *Pediococcus acidilactici* izolatlarının %60'ı (izolat 2; 3 ve 16 nolu) duyarlı ve %40'ı ( izolat 5 ve 13 nolu) dirençli bulunmuştur.

*Pediococcus pentosaceus* izolatı (1 nolu), kloramfenikol, eritromisin ve gentamisin antibiyotiklerinin karşısında orta duyarlıyken ampisilin ve rifampisin karşısında duyarlı ve tetrasiklin, vankomisin, siprofloksasin karşısında dirençli bulunmuştur. Şekil 4.12'de *Pediococcus acidilactici* antibiyotik dirençliliklerini verilmiştir.

Saeed ve ark. (2014), yaptığı araştırmada tüm *Pediococcus* izolatlarının vankomisin karşısında dirençli olduklarını belirlemişlerdir. Aynı şekilde tüm izolatlar kloramfenikol, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin ve amoksisiline karşısında duyarlı ve tetrasiklin karşısında orta duyarlı olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda da yakın sonuçlar bulunmuştur.



Şekil 4.12. *Pediococcus acidilactici* Antibiyotik Dirençlilikleri

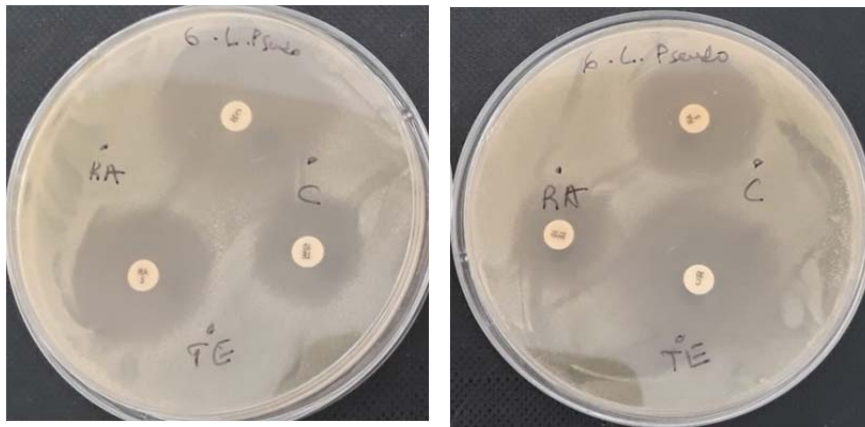
#### 4.4.2. *Leuconostoc* Cinslerinin Antibiyotik Dirençliliklerini

*Leuconostoc pseudomnsenteroides* izolatları (4 ve 11 nolu), vankomisin, siprofloksasin, gentamisin antibiyotiklerinin karşısında dirençlilik gösterirken rifampisin, kloramfenikol karşısında duyarlı oldukları saptanmıştır. Ampisilin ve

tetrasiklin karşısında *Leuconostoc pseudomnsenteroides* izolatlarının birisi (izolat 4 nolu) dirençliken ikincisi diğeri (11 nolu) aynı antibiyotiklerin karşısında sırayla duyarlı ve orta duyarlı bulunmuştur. Ayrıca 4 nolu izolat eritromisin karşısında duyarlılık gösterirken 11 nolu izolat orta duyarlılık göstermiştir.

Tüm *Leuconostoc mesenteroides* ssp *dextranicum* (%100) izolatları (12; 17 ve 18 nolu) vankomisin, siprofloksasin karşısında dirençliken ampisilin, kloramfenikol antibiyotiklerinin karşısında duyarlılık göstermiştir. 12 ve 17 nolu izolatlar (%66,67) rifampisin karşısında dirençli, eritromisin karşısında orta duyarlı ve gentamisin karşısında duyarlı bulunurken 18 nolu (%33,33) izolat aynı antibiyotiklerin karşısında sırayla duyarlı ve dirençli bulunmuştur. Tetrasiklin karşısında ise 17 ve 18 nolu izolatlar (%66,67) duyarlıken 12 nolu izolat (%33,33) orta duyarlı bulunmuştur. Şekil 4.13'de *Leuconostoc pseudomnsenteroides* antibiyotik dirençliliklerini verilmiştir.

Saeed ve ark. (2014), yaptığı araştırmada *Leuconostoc mesenteroides* cinsleri, rifampisin, eritromisin, klindamisin ve tetrasiklin'e duyarlılık gösterirken kloramfenikol'a dirençlilik göstermiştir. Swenson ve ark. (1990), çalışmasında *Leuconostoc* cinsleri, kullanılan antibiyotiklere (imipenem,minosiklin, kloramfenikol, gentamisin, daptomisin) dirençlilik göstermemiştir. Çalışmamızda da yakın sonuçlar bulunmuştur.



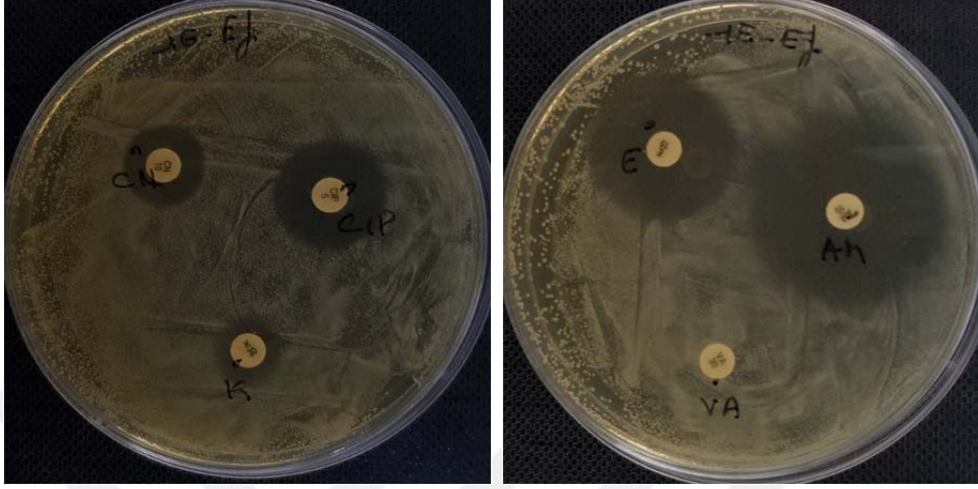
Şekil 4.13. *Leuconostoc pseudomnsenteroides* Antibiyotik Dirençlilikleri

**4.4.3. *Enterococcus* Cinslerinin Antibiyotik Dirençliliklerini**

Tüm *Enterococcus faecalis* (%100) izolatları (6; 8; 9; 10; 15; 19 nolu), gentamisin antibiyotik dirençlilik göstermiştir. 8; 9; 10; 15 ve 19 nolu izolatlar (%83,33) ampisilin, vankomisin karşısında duyarlıyken 6 nolu izolat (%16,67) dirençlilik göstermiştir. 9; 10 ve 15 nolu izolatlar (%50) kloramfenikol, tetrasikline duyarlılık gösterirken, 19 nolu izolat (%16,67) dirençlilik göstermiş ve 6; 8 nolu izolatlar (%33,33) orta duyarlılık göstermiştir. Siprofloksasin karşısında, 6; 8; 9 ve 10 nolu izolatlar (%66,67) dirençlilik gösterirken, 15 ve 19 nolu izolatlar (%33,33) sırayla duyarlılık ve orta duyarlılık göstermiştir. Rifampisin karşısında, 8; 10; 15 ve 19 nolu izolatlar (%66,67) dirençlilik gösterirken, 6; 9 nolu izolatlar (%33,33) duyarlı göstermiştir. Eritromisin karşısında ise 6 ve 8 nolu izolatlar (%33,33) duyarlı, 9 ve 10 nolu izolatlar (%33,33) orta duyarlı, 15 ve 19 nolu izolatlar (%33,33) dirençli bulunmuştur.

Tüm *Enterococcus faecium* izolatları (7 ve 14 nolu), kloramfenikol, tetrasiklin ve ampisiline duyarlıyken, rifampisin karşısında dirençli bulunmuştur. 7 nolu izolat vankomisin ve siprofloksasin karşısında duyarlılık gösterirken 14 nolu izolat sırayla dirençlilik ve orta duyarlılık göstermiştir. Aynı şekilde 14 nolu izolat eritromisin ve gentamisine duyarlıyken, 7 nolu izolat sırayla orta duyarlı ve dirençli bulunmuştur. Şekil 4.14'de *Enterococcus faecium* antibiyotik dirençliliklerini verilmiştir.

Saeed ve ark. (2014), yaptığı araştırmada *Enterococcus* izolatlarının çoğunluğu vankomisin karşısında dirençli olduklarını belirlemiştir. Aynı şekilde tüm izolatlar kloramfenikol karşısında duyarlı ve tetrasiklin karşısında orta duyarlı olarak belirlenmiştir. Tüm *Enterococcus* izolatlar seftriason, tobramisin ve siprofloksasin karşısında dirençli olarak belirlenmiştir. Başbülbul ve ark. (2015) yaptığı araştırmada *Enterococcus faecium* antibiyotiklere çoklu dirençlilik göstermiştir. Çalışmamızda da yakın sonuçlar bulunmuştur.



Şekil 4.14. *Enterococcus faecium* Antibiyotik Dirençlilikleri

Çizelge 4.4. Antibiyotiklerden Kaynaklanan İnhibisyon Zon Çapları

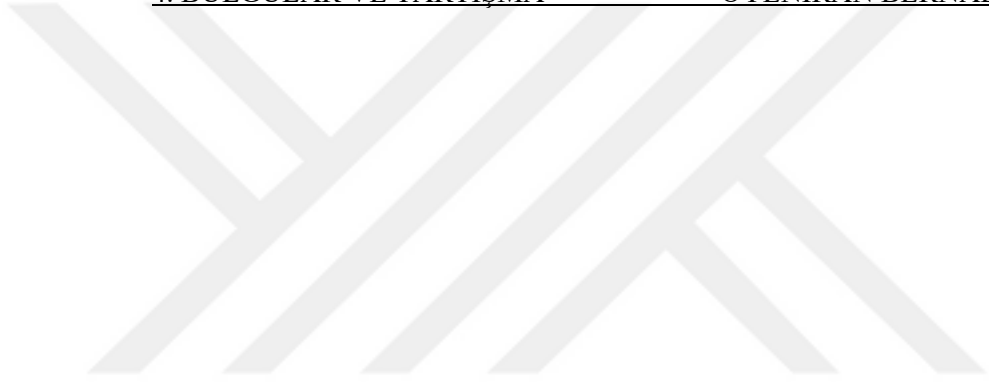
BAKTERİ	RA 5	C 30	TE 10	E 15	AM 10	VA 30	CN 10	CIP 5
1- <i>Pediococcus pentosaceus</i>	24.00±0.00 <sup>c</sup>	16.00±1.41 <sup>j</sup>	13.50±0.71 <sup>hi</sup>	16.00±0.00 <sup>c</sup>	29.00±1.41 <sup>dc</sup>	6.00±0.00 <sup>c</sup>	7.00±0.00 <sup>c</sup>	10.00±0.00 <sup>f</sup>
2- <i>Pediococcus acidilactici</i>	23.50±0.71 <sup>cd</sup>	29.50±0.71 <sup>cdc</sup>	10.00±0.00 <sup>j</sup>	23.25±0.35 <sup>b</sup>	17.00±1.41 <sup>i</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>h</sup>
3- <i>Pediococcus acidilactici</i>	22.00±0.00 <sup>d</sup>	26.00±0.00 <sup>h</sup>	12.50±0.71 <sup>i</sup>	21.00±0.00 <sup>c</sup>	21.50±0.71 <sup>h</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>h</sup>
4- <i>Leuconostoc pseudomnsenteroides</i>	22.00±1.41 <sup>d</sup>	30.50±0.71 <sup>bc</sup>	12.50±0.71 <sup>i</sup>	23.25±1.06 <sup>b</sup>	15.00±1.41 <sup>ij</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>h</sup>
5- <i>Pediococcus acidilactici</i>	26.50±0.71 <sup>b</sup>	30.00±0.00 <sup>sd</sup>	14.50±0.71 <sup>gh</sup>	24.00±0.00 <sup>b</sup>	15.00±1.41 <sup>ij</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>h</sup>
6- <i>Enterococcus faecalis</i>	30.00±0.00 <sup>a</sup>	35.00±0.00 <sup>a</sup>	15.00±1.41 <sup>g</sup>	28.75±0.35 <sup>a</sup>	15.75±1.06 <sup>ij</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>h</sup>
7- <i>Enterococcus faecium</i>	16.00±0.00 <sup>f</sup>	35.50±0.71 <sup>a</sup>	30.00±0.00 <sup>a</sup>	16.00±1.41 <sup>e</sup>	32.50±0.71 <sup>c</sup>	27.50±0.71 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	25.50±0.71 <sup>a</sup>
8- <i>Enterococcus faecalis</i>	13.50±0.71 <sup>g</sup>	35.00±0.00 <sup>a</sup>	15.00±0.00 <sup>g</sup>	27.50±0.71 <sup>a</sup>	39.50±0.71 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	10.00±1.41 <sup>f</sup>
9- <i>Enterococcus faecalis</i>	20.00±0.00 <sup>c</sup>	34.50±0.71 <sup>a</sup>	25.50±0.71 <sup>c</sup>	15.00±0.00 <sup>ef</sup>	39.50±0.71 <sup>a</sup>	31.00±0.00 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	14.50±0.71 <sup>d</sup>
10- <i>Enterococcus faecalis</i>	16.50±0.71 <sup>f</sup>	35.00±0.00 <sup>a</sup>	27.00±0.00 <sup>b</sup>	14.00±1.41 <sup>f</sup>	32.00±0.00 <sup>c</sup>	25.50±0.71 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>h</sup>
11- <i>Leuconostoc pseudomnsenteroides</i>	25.00±0.00 <sup>bc</sup>	21.50±0.71 <sup>i</sup>	17.00±0.00 <sup>f</sup>	18.50±0.71 <sup>d</sup>	27.50±0.71 <sup>ef</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	10.50±0.71 <sup>f</sup>
12- <i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	10.50±0.71 <sup>hi</sup>	25.00±1.41 <sup>h</sup>	17.50±0.71 <sup>f</sup>	21.00±0.00 <sup>c</sup>	25.00±0.00 <sup>hg</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	12.50±0.7 <sup>b</sup>	13.00±0.00 <sup>c</sup>
13- <i>Pediococcus acidilactici</i>	26.00±1.41 <sup>b</sup>	28.00±1.41 <sup>efg</sup>	13.00±0.00 <sup>i</sup>	23.50±0.71 <sup>b</sup>	14.00±0.00 <sup>j</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>h</sup>
14- <i>Enterococcus Faecium</i>	15.50±0.71 <sup>f</sup>	29.50±0.71 <sup>cdc</sup>	25.00±0.00 <sup>c</sup>	24.50±0.71 <sup>b</sup>	30.00±0.00 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	13.50±0.71 <sup>a</sup>	18.00±0.00 <sup>c</sup>
15- <i>Enterococcus faecalis</i>	12.00±1.41 <sup>gh</sup>	32.00±0.00 <sup>b</sup>	30.00±0.00 <sup>a</sup>	12.00±1.41 <sup>g</sup>	40.00±0.00 <sup>a</sup>	26.25±1.77 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	21.00±1.41 <sup>b</sup>
16- <i>Pediococcus acidilactici</i>	25.00±0.00 <sup>bc</sup>	27.75±0.35 <sup>fg</sup>	11.00±0.00 <sup>j</sup>	24.00±1.41 <sup>b</sup>	21.50±0.00 <sup>h</sup>	7.50±0.71 <sup>d</sup>	7.00±0.00 <sup>c</sup>	6.50±0.71 <sup>g</sup>
17- <i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	10.00±0.00 <sup>i</sup>	26.50±0.71 <sup>gh</sup>	20.00±0.00 <sup>c</sup>	20.50±0.71 <sup>c</sup>	24.50±0.71 <sup>g</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	13.50±0.71 <sup>a</sup>	15.00±0.00 <sup>d</sup>
18- <i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	26.00±1.41 <sup>b</sup>	28.75±1.06 <sup>def</sup>	23.00±0.00 <sup>d</sup>	24.25±1.06 <sup>b</sup>	26.50±2.12 <sup>fg</sup>	0.00±0.00 <sup>f</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	9.50±0.71 <sup>f</sup>
19- <i>Enterococcus faecalis</i>	0.00±0.00 <sup>j</sup>	0.00±0.00 <sup>k</sup>	0.00±0.00 <sup>k</sup>	9.50±0.71 <sup>h</sup>	37.00±0.00 <sup>b</sup>	25.50±0.71 <sup>c</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	20.00±0.00 <sup>b</sup>

• a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k: Aynı satırda farklı üstel harflerle gösterilen değerler birbirinden farklıdır.

Çizelge 4.5. Antibiyotik Dirençleri (NCCLS Kriterlerine Göre)

İZOLATS	RA 5	C 30	TE 30	E 15	AM 10	VA 30	CN 10	CIP 5
1- <i>Pediococcus pentosaceus</i>	S	I	R	I	S	R	I	R
2- <i>Pediococcus acidilactici</i>	S	S	R	S	S	R	R	R
3- <i>Pediococcus acidilactici</i>	S	S	R	I	S	R	R	R
4- <i>Leuconostoc pseudomnsenteroides</i>	S	S	R	S	R	R	R	R
5- <i>Pediococcus acidilactici</i>	S	S	R	S	R	R	R	R
6- <i>Enterococcus faecalis</i>	S	S	I	S	R	R	R	R
7- <i>Enterococcus faecium</i>	R	S	S	I	S	S	R	S
8- <i>Enterococcus faecalis</i>	R	S	I	S	S	S	R	R
9- <i>Enterococcus faecalis</i>	S	S	S	I	S	S	R	R
10- <i>Enterococcus faecalis</i>	R	S	S	I	S	S	R	R
11- <i>Leuconostoc pseudomnsenteroides</i>	S	S	I	I	S	R	R	R
12- <i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	R	S	I	I	S	R	S	R
13- <i>Pediococcus acidilactici</i>	S	S	R	S	R	R	R	R
14- <i>Enterococcus Faecium</i>	R	S	S	S	S	R	S	I
15- <i>Enterococcus faecalis</i>	R	S	S	R	S	S	R	S
16- <i>Pediococcus acidilactici</i>	S	S	R	S	S	R	I	R
17- <i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	R	S	S	I	S	R	S	R
18- <i>Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum</i>	S	S	S	S	S	R	R	R
19- <i>Enterococcus faecalis</i>	R	R	R	R	S	S	R	I

S: Sensitive (duyarlı), R: Resistant (dirençli), I: Intermediate sensitive (orta duyarlı), RA5: Rifampisin, C30: Kloramfenikol, TE30: Tetrasiklin, E15: Eritromisin, AM10: Ampisilin, VA30: Vankomisin, CN10: Gentamisin , CIP5: Siprofloksasin.



**5. SONUÇ VE ÖNERİLER**

Bu araştırmada, Fildişi Sahili'nden getirilen inci darısı ve gıda işletmesinden temin edilen çiğ inek sütü ile Degue üretilmiş ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiştir. Degue rneklelerinde depolama süresince rol alan LAB ve mayalar izole edilerek tanımlanmıştır. Elde edilen LAB izolatlarının antibiyotik dirençlerinin bakılmıştır. Bu amaçla 3 üretim yapılmış ve her birisiden 5 örnek alınarak depolama boyunca mikrobiyolojik özelliklerinin yanı sıra, pH değerleri belirlenmiştir.

Elde edilen verilere göre retien Degue rneklelerinde depolama süresince ortalama pH değerleri 4,08 - 4,64 arasında değişmiştir. İstatiksel açıdan önemli bulunmaktadır ( $p<0.05$ ).

Degue rneklelerinde toplam mezofil aerob bakteri sayısı 4,04 - 6.33 log kob/g arasında değişmiştir. Depolama süresince, toplam mezofil aerob bakterilerinin sayısı, istatiksel açıdan önemli bulunmaktadır ( $p<0.05$ ).

Degue rneklelerinde toplam LAB sayısı 4.77 – 7.70 log kob/g arasında bulunmuştur. Depolama süresince, toplam LAB sayısı, istatiksel açıdan önemli bulunmaktadır ( $p<0.05$ ).

Degue rneklelerinde enterokokların sayısı 3.52 – 3,61 log kob/g arasında bulunmuştur. Depolama süresince, enterokok sayısı, istatiksel açıdan önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmaktadır.

Degue rneklelerinde toplam maya sayısı 4.38 - 7.16 log kob/g arasında belirlenmiştir. Depolama süresince, toplam maya sayısı, istatiksel açıdan önemli bulunmaktadır ( $p<0.05$ ).

Degue rneklelerinde toplam Koliform sayısı 0 - 1.77 log EMS/g arasında değişmiştir. Depolama süresince, enterokok sayısı, istatiksel açıdan önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmaktadır.

Degue örneklerinden izole edilen katalaz negatif, Gram pozitif LAB izolatlarında enterokok bakterileri dahil, %80'i kok (16) ve %20'si basil(4) olarak belirlenmiştir.

Elde edilen izolatlarının vitek-2 compact kullanılarak tanımında %30'i *Pediococcus*, %25'i *Leuconostoc*, %40'i *Enterococcus* ve %5'i *Streptococcus* cinsine dahil bulunmuştur. Ayrıca, 5 izolat (%25) *Pediococcus acidilactici*, 1 izolat (%5) *Pediococcus pentosaceus*, 3 izolat (%15) *Leuconostoc mesenteroides* ssp *dextranicum*, 1 izolat (%10) *Leuconostoc pseudomnesenteroides*, 6 izolat (%30) *Enterococcus faecalis*, 2 izolat (%10) *Enterococcus faecium* ve 1 izolat (%5) *Streptococcus agalactiae* olarak tanımlanmıştır. Maya suşları ise 5 izolat (%50) *Candida kefir*; 1 izolat (%10) *Cryptococcus albidus* ve 4 izolat (%40) *Rhodotorula glutinis* türleri olarak tanımlanmıştır.

Çalışmamızda izole edilen tüm LAB izolatları, test edilen antibiyotiklere karşı değişen oranlarda direnç ve duyarlılık göstermişlerdir. *Pediococcus* suşları, vankomisin (%100), tetrasiklin (%100), siprofloksasin (%100) ve kloramfenikol'e (%66.67) karşı dirençli bulunurken, rifampisin (%100), gentamisin (%100), ampisilin (%66.67) ve eritromisine (%66.67) duyarlı veya orta duyarlı oldukları bulunmuştur. *Leuconostoc* suşlarının vankomisin (%100), siprofloksasin (%100), gentamisin (%60) ve tetrasiklin'e (%20) karşı direnç oldukları saptanırken, kloramfenikol (%100), rifampisin (%60), ampisilin (%80) ve eritromisin'e (%60) duyarlı oldukları bulunmuştur. *Enterococcus* suşları ise gentamisin (%87.5), rifampisin (%75), eritromisin (%25) ve siprofloksasin'e (%50) karşı dirençli saptanırken, ampisilin (%87.5), vankomisin (%75), C(%62.5) ve tetrasiklin'e (%62.5) duyarlılık göstermişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçların, gıda güvenliği ve kalitesi dikkate alınarak kontrollü olarak endüstriyel Degue üretiminde kullanılması önemlidir. Kontrollü Degue üretimi sırasında izole edilen ve tanımlanan suşların ileriki çalışmalarda starter kültür olarak kullanım olanaklarının araştırılmasıyla ticari

starter kültürler elde edilerek, geleneksel bir ürününün endüstriyel boyutta üretimi denenmiş olacaktır.

Diğer yandan, laktik asit bakterinin antibiyotik dirençli genlerini, gıdakaynaklı insan ve hayvan patojenlerine olarak transfer edilebilme özelliklerinden dolayı, antibiyotik dirençli genlerin potansiyel rezervuarları gibidir. Bu da bazı hastalıkların tedavisinde potansiyel bir sorun olabilmektedir. Degue'nın özellikle Afrika'nın belli bölgelerinde yaygın tüketimi nedeniyle, dirençli genlerin transferindeki önemli kaynaklardan birini oluşturmaktadır. Bu yüzden Degue üzerinde LAB'ların antibiyotik dirençliliklerinin konusu genişletilerek, ayrıntılı bir şekilde direnç genlerinin araştırılması önemlidir.



## KAYNAKLAR

- Abriouel, H., Ben Omar, N., Lopez, R. L., Martinez-Canamero, M., Keleke, S. ve Galvez, A. (2006). Culture-independent analysis of the microbial composition of the African traditional fermented foods *poto poto* and *degue* by using three different DNA extraction methods. *International Journal of Food Microbiology*, 111(3), 228-233. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.006
- Adimpong, D. B., Nielsen, D. S., Sørensen, K. I., Derkx, P. M. F. ve Jespersen, L. (2012). Genotypic characterization and safety assessment of lactic acid bacteria from indigenous African fermented food products. *BMC Microbiology*. doi: 10.1186/1471-2180-12-75
- Adolfsson, O., Meydani, S. N. ve Russell, R. M. (2004). Yogurt and gut function. *Am J Clin Nutr*, 80(2), 245-256. doi: 10.1093/ajcn/80.2.245
- Agani, O. B. ve Mèvo, S. U. I. (2013). Contribution à l'amélioration des BPH et BPF dans la production du Déguè et du Yaourt à la STPA-Tropical de cocotomey dans la commune d'Abomey-Calavi. (Ensta – kétou).
- Aguirre, M. ve Collins, M. D. (1993). Lactic acid bacteria and human clinical infection. *Journal of Applied Bacteriology*, 62, 473-477.
- Akkan, G. (1997). Antibiyotiklerin sınıflandırılmaları. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu,(2-3 Mayıs). (İstanbul), 53-62.
- Aminov, R. I. ve Mackie, R. I. (2007). Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiol Lett*, 271(2), 147-161.
- Ammor, M. S., Flórez, A. B. ve Mayo, B. (2007). Antibiotic resistance in nonenterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*, 24: 559-570.

- Angelov, A. I., Petrova, G., Angelov, A. D., Stefanova, P., Bokossa, I. Y., Tchekessi, C. K. C., Marco, M. L. ve Gotcheva, V. (2017). Molecular Identification of Yeasts and Lactic Acid Bacteria Involved in the Production of Beninese Fermented Food Degue. *The Open Biotechnology Journal*, 11, 94-104. doi: 10.2174/1874070701711010094
- Anonim. (2012). Vikipedi, özgür ansiklopedi, Antibiyotik. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Antibiyotik>.
- Askoul, I., Gorrah, S. A. ve Al-Amir, L. (2014). Isolation and Characterization of Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria from some Syrian fermented foods. *International Journal of ChemTech Research*, 6(4), 2507-2520.
- Aslım, B. ve Beyatlı, Y. (2004). Antibiotic resistance and plasmid DNA contents of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish yoghurts. *Journal of Food Science and Technology*, 41: 18- 22.
- Bakırcı, İ., Tarakçı, Z. ve Coşkun, H. (1998). Van ve yöresinde üretilen Otlulorlar üzerinde bir araştırma. *Geleneksel Süt Ürünleri" V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu*, 21-22.
- Başbülbul, G., Özteber, M. ve Biyik, H. H. (2015). Antibiotic Resistance In Lactic Acid Bacteria Isolated From Fermented Dairy Products And Boza. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences (JMBFS)*. doi: 10.15414/jmbfs.2015.4.6.513-517
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J. C. ve Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4\_ts), 493-496.
- Baumgart, J. ve Firnhaber, J. (1986). *Mikrobiologische untersuchung von lebensmitteln*.
- Bernardeau, M., Vernoux, J. P., Henri-Dubernet, S. ve Guéguen, M. ( 2008). Safety assessment of dairy microorganisms: the *Lactobacillus* genus. *Int. J. Food Microbiol.*, 126: 278-285.

- Blandino, A., Al-Aseeri, M. E., Pandiella, S. S., Cantero, D. ve Webb, C. (2003). Cereal-based fermented food and beverages. *Food Research International*, 36 : 527–543 doi: doi:10.1016/S0963-9969(03)00009-7
- Caplice, E. ve Fitzgerald, G. F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2), 131-149.
- Célestin, T. C., Jultesse, B., Isac, S., Justin, G., Clément, A. ve Paulin, A. (2014). Socio-economic study of a Fermented Drink " Dèguè" made with Milk and Cereals in Benin. *Int. J. of Multidisciplinary and Current research*.
- Çetin, F., Mumcuoğlu, İ., Aksoy, A., Gürkan, Y. ve Aksu, N. (2014). Microorganisms isolated from blood cultures and their antimicrobial susceptibilities. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 71(2), 67-74.
- Chakoosari, M. M., Ghasemi, M. F., Masiha, A., Darsanaki, R. K. ve Amini, A. (2015). Antimicrobial Effect of Lactic Acid Bacteria against Common Pathogenic Bacteria. *Medical Laboratory journal*, 9(5): 4-1.
- Chavan, J. K., Kadam, S. S. ve Beuchat, L. R. (1989). Nutritional improvement of cereals by fermentation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 28: 349-400.
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W. ve Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258-1270.
- Clementi, F. ve Aquilanti, L. (2011). Recent investigations and updated criteria for the assessment of antibiotic resistance in food lactic acid bacteria. *Anaerobe*, 17: 394-398.
- CLSI, C. a. L. S. (2011). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement. CLSI document M100-S21, Wayne, Pa.

- Cooke, R. D., Twiddy, D. R. ve Alan Reilly, P. (1987). Lactic-acid fermentation as a low-cost means of food preservation in tropical countries. *FEMS Microbiology Reviews*, 3(3), 369-379.
- Coppola, R., Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Salzano, G. ve Sorrentino, E. (2005). Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *Lait*, 85:193–204. doi: 10.1051/lait:2005007
- Delorme, C. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *Int. J. Food Microbiol.*, 126: 274-277.
- Dığrak, M., Yılmaz, Ö. ve Özçelik, S. (1994). Elazığ kapalı çarşısında satışı sunulan Erzincan tulum (şavak) peynirlerinin mikrobiyolojik ve bazı fiziksel-kimyasal özellikleri. *GIDA/THE JOURNAL OF FOOD*, 19(6).
- Düzgüneş, O., Kesİcİ, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F. (1987). Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik Metotları 2). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları.( Ankara), 381.
- Erginkaya, Z., Turhan, E. U. ve Tatlı, D. (2018). Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish fermented dairy products. *Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University*, 19:1.
- Evren, M., Apan, M., Tutkun, E. ve Evren, S. (2011). Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 9:11-17.
- Gillooly, M., Bothwell, T. H., Charlton, R. W., Torrance, J. D., Bezwoda, W. R., Macphail, A. P., Deman, D. P., Novelli, L., Morrau, D. ve Mayet, F. (1984). Factors affecting the adsorption of iron from cereals. *British Journal of Nutrition*, 51, 37–46.
- Gotcheva, V., Pandiella, S. S., Angelov, A., Roshkova, Z. G. ve Webb, C. (2000). Microflora identification of the Bulgarian cereal-based fermented beverage boza. *Process Biochemistry*, 36(1-2), 127-130.

- Greppi, A., Rantsiou, K., Padonou, W., Hounhouigan, J., Jespersen, L., Jakobsen, M. ve Cocolin, L. (2013). Determination of yeast diversity in ogi, mawè, gowé and tchoukoutou by using culture-dependent and-independent methods. *International Journal of Food Microbiology*, 165(2), 84-88.
- Gueimonde, M., Salminen, S. ve Isolauri, E. (2006). Presence of specific antibiotic (tet) resistance genes in infant faecal microbiota. *Pathogens and Disease*, 48(1), 21-25.
- Gülay, Z. (2002). Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu. *Toraks Dergisi*, 3(1), 75-88.
- Gür, D. ( 2007). Antimikrobik Duyarlılık Testi İçin Uygulama Standartları. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye.
- Haanpera, M., Jalava, J., Huovinen, P., Meurman, O. ve Rantakokko-Jalava, K. (2007). Identification of alphahemolytic streptococci by pyrosequencing the 16S rRNA gene and by use of Vitek 2. *J. Clin Microbiol* 45: 762–770.
- Haard, N. F., Odunfa, S. A., Lee, C.-H., Quintero-Ramírez, R., Lorence-Quinones, A. ve Wachter-Radarte, C. (1999). Fermented cereals. A global perspective. *FAO Agricultural Services Bulletin*. 138.
- Halkman, A. K. (2005). Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. MERCK, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti., Ankara. 358 s.
- Hama, F., Savadogo, A., Ouattara, C. A. T. ve Traore, A. S. ( 2009). Biochemical, Microbial and Processing Study of Dèguè a Fermented Food (From Pearl millet dough) from Burkina Faso. *Pak. J. Nutr.*, 8(6):759-764.
- Hamilton-Miller, J. M. T. ve Shah, S. (1998). Vancomycin susceptibility as an aid to the identification of lactobacilli. *Letters in Applied Microbiology*, 26: 153-154.
- Harrigan, W. F. ve McCane, M. E. (1998). Laboratory methods in food and dairy microbiology. London, New York, San Francisco, Academic Press., 3rd Edn. P: 452.

- Harun-ur-Rashid, M., Togo, K., Ueda, M. ve Miyamoto, T. (2007). Identification and characterization of dominant lactic acid bacteria isolated from traditional fermented milk Dahi in Bangladesh. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(1), 125-133.
- Hesseltine, C. (1983). The future of fermented foods. *Nutrition Reviews*, 41(10), 293-301.
- Holzapfel, W. (2002). Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International Journal of Food Microbiology*, 75(3), 197-212.
- Hounhouigan, D., Jansen, J., Nout, M., Nago, M. ve Rombouts, F. (1992). Production and quality of maize-based fermented dough in Benin urban area. Paper presented at the Proc. Regional Workshop Traditional African foods-quality and nutrition, A. Westby, PJA Reilly (eds.). Int. Found. Sci., Stockholm, Sweden.
- Hu, Y., Yang, X., Qin, J., Lu, N., Cheng, G., Wu, N., Pan, Y., Li, J., Zhu, L. ve Wang, X. (2013). Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota. *Nature communications*, 4, 2151.
- Icard-Vernière, C., Ouattara, L., Avallone, S., Hounhouigan, J., Kayodé, P., Amoussa, W. ve Ba, H. F. (2010). Recettes locales des plats à base de mil, sorgho ou maïs et de leurs sauces fréquemment consommés par les jeunes enfants au Burkina Faso et au Bénin.
- Khetarpaul, N. ve Chauhan, B. M. (1990). Effect of fermentation by pure cultures of yeasts and lactobacilli on the available carbohydrate content of pearl millet. *Tropical Science*, 31, 131–139.
- Klaenhammer, T. R., Barrangou, R., Buck, B. L., Azcarate-Peril, M. A. ve Altermann, E. (2005). Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(3), 393-409.

- Kumar, R. S., Varman, D. R., Kanmani, P., Yuvaraj, N., Paari, K. A., Pattukumar, V. ve Arul, V. (2010). Isolation, characterization and identification of a potential probiont from south Indian fermented foods (Kallappam, Koozh and Mor Kuzhambu) and its use as Biopreservative. *Probiotics Antimicrob. Prot.*, 2:145-151.
- Leroy, F. ve De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67-78.
- Ligozzi, M., Bernini, C., Bonora, M. G., de Fatima, M., Zuliani, J. ve Fontana, R. (2002). Evaluation of the VITEK 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of medically relevant gram-positive cocci. *Journal of clinical microbiology*, 40(5), 1681-1686.
- Lim, S.-M. ve Im, D.-S. (2009). Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods. *J. Microbiol. Biotechnol*, 19(2), 178-186.
- Lourens-Hattingh, A. ve Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.*, 11:1–17.
- Mashak, Z., Sodagari, H., Mashak, B. ve Niknafs, S. (2014). Chemical and microbial properties of two Iranian traditional fermented cereal-dairy based foods: Kashk-e Zard and Tarkhineh. *IJB*, 4(12), 124-133.
- Mathur, S. ve Singh, R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 105: 281 -95. .
- Mathur, S. ve Singh, R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 281-295.
- Muñoz, M. d. C. C., Benomar, N., Lerma, L. L., Gálvez, A. ve Abriouel, H. (2014). Antibiotic resistance of *Lactobacillus pentosus* and *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolated from naturally-fermented Aloreña table olives throughout fermentation process. *International Journal of Food Microbiology*, 172, 110-118.

- Nandi, S., Maurer, J. J., Hofacre, C. ve Summers, A. O. (2004). Gram-positive bacteria are a major reservoir of Class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(18), 7118-7122.
- Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., Moore, J. E., Millar, B. C. ve Xu, J. (2011). Characterization and Transfer of Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria from Fermented Food Products. *Current Microbiology*. doi: 10.1007/s00284-010-9856-2
- Nikita, C. ve Hemangi, D. (2012). Isolation, identification and characterization of lactic acid bacteria from dairy sludge sample. *Journal of Environmental Research And Development Vol*, 7(1A).
- Nout, M. J. R. ve Motarjemi, Y. (1997). Assessment of fermentation as a household technology for improving food safety: a joint FAO/ WHO workshop. *Food Control*, 8, 221–226.
- Odufa, S. ve Adeyele, S. (1985). Microbiological changes during the traditional production of ogi-baba, a West African fermented sorghum gruel. *Journal of Cereal Science*, 3(2), 173-180.
- Ogier, J. C., Casalta, E., Farrokh, C. ve Saihi, A. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: the *Leuconostoc* genus. *Int. J. Food Microbiol.*, 126: 286-290.
- Ouattara, C. A. T., Somda, M. K., Moyen, R. ve Traore, A. S. (2015). Isolation and identification of lactic acid and non-acid lactic bacteria from “dèguè” of Western Africa traditional fermented millet-based food. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 9(36). doi: DOI: 10.5897/AJMR2015.7548
- Owusu-Kwarteng, J., Akabanda, F., Nielsen, D. S., Tano-Debrah, K., Glover, R. L. ve Jespersen, L. (2012). Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. *Food Microbiology*, 32(1), 72-78.

- Oyewole, O. B. (1997). Lactic fermented foods in Africa and their benefits. *Food Control*, 8, 289–297.
- Özalkan, Ö., Hakan, U., Dilek, V. K., Vahit, M., Fatih, B., Murat, Y. ve Harun, Ü. In Patients with Chronic Otitis Antibioqram Sensitivity Results.
- Özdamar, K. (1999). Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi, Kaan Kitabevi, Eskişehir, 535s.
- Palabıyık, O., Toptaş, Y. ve Öğütlü, A. (2016). Ventilator-Associated Pneumonia and Causative Microorganisms in Intensive Care Unit; A Two Year Retrospective Analysis. *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi*, 14(3), 80-85.
- Patel, S. ve Parikh, S. (2016). Isolation and Screening of Probiotic Potential Lactic Acid Bacteria from Local Dairy Products. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 5(11), 490-498.
- Pekintürk, N. ve Akgüneş, A. Nadir Bir Patojen Comamonas Testosteronı: Olgu Sunumu Ve Literatürün Gözden Geçirilmesi. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(3), 7-10.
- Randazzo, C. L., Heilig, H., Resestuccia, C., Giudici, P. ve Caggia, C. (2005). Bacterial Population in Traditional Sourdough Evaluated by Molecular Methods. *Journal of Applied Microbiology*, 99:251-258.
- Reller, L. B., Weinstein, M., Jorgensen, J. H. ve Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clinical infectious diseases*, 49(11), 1749-1755.
- Saeed, R., Elyas, Y., Yousif, N., Eltayeb, M. ve Ahmed, I. (2014). Incidence of Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria (LAB) Isolated from Various Sudanese Fermented Foods. *J Food Nutr Disor* 3, 6, 2.
- Salman, A. M. ve Hamad, I. M. (2011). Enumeration and identification of coliform bacteria from raw milk in Khartoum State, Sudan. *Journal of Cell and Animal Biology*, 5(7), 121-128.

- Salminen, S., von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., de Vos, W. M., Fondén, R., Saxelin, M., Collins, K. ve Mogensen, G. (1998). Demonstration of safety of probiotics—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 44(1-2), 93-106.
- Salvana, E. M. T. ve Frank, M. (2006). *Lactobacillus endocarditis*: case report and review of cases reported since 1992. *Journal of Infection*, 53(1), e5-e10.
- Schoustra, S. E., Kasase, C., Toarta, C., Kassen, R. ve Poulain, A. J. (2013). Microbial community structure of three traditional Zambian fermented products: mabisi, chibwantu and munkoyo. *PLoS One*, 8(5), e63948.
- Shetty, P. H. ve Jespersen, L. (2006). *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends in Food Science & Technology*, 17(2), 48-55.
- Silva, L. F., Casella, T., Gomes, E. S., Nogueira, M. C. L., De Dea Lindner, J. ve Penna, A. L. B. (2015). Diversity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Brazilian Water Buffalo Mozzarella Cheese. *J. Food Sci.*, 80, M411–M417. doi: 10.1111/1750-3841.12771
- Soma, M. (2014). Utilisation de cultures de *Lactobacillus fermentum* dans la technologie du zoom-koom, une boisson locale à base de mil (*pennisetum glaucum*) pour améliorer sa qualité nutritionnelle, sanitaire et organoleptique. Mémoire de fin d'études, en vue de l'obtention du master en biologie appliquée et modélisation des systèmes biologiques. Institut du Développement Rural (IDR), 1-85.
- Songré-Ouattara, L. T., Mouquet-Rivier, C., Humblot, C., Rochette, I., Diawara, B. ve Guyot, J. P. (2010). Ability of selected lactic acid bacteria to ferment a pearl millet–soybean slurry to produce gruels for complementary foods for young children. *Journal of Food Science*, 75(5), M261-M269.

- Soro-Yao, A. A., Brou, K., Amani, G., Thonart, P. ve Djè, K. M. (2014). The Use of Lactic Acid Bacteria Starter Cultures during the Processing of Fermented CerealBased Foods in West Africa. *Tropical Life Sciences Research*, 25(2), 81–100.
- Swenson, J., Facklam, R. ve Thornsberry, C. (1990). Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 34(4), 543-549.
- Tamer, A. Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karaboz, İ., Bursalıoğlu, M. ve Oğultekin, R. (1984). *Mikrobiyoloji Laboratuvar Kılavuzu*, 3. Baskı. Ege Üniv. Fen Fak. Tekseriler Serisi, 3:55(İzmir).
- Tamime, A. Y. ve O'Connor, T. P. (1995). Kishk: a dried fermented milk/cereal mixture. *International Dairy Journal*, 5, 109–128.
- Tankoano, A., Sawadogo-Lingani, H., Savadogo, A., Kabore, D. ve Traore, Y. (2017). Study of the process and microbiological quality of Gappal, a fermented food from Burkina Faso based on milk and millet dough. *Int. J. of Multidisciplinary and Current research*, 5.
- Tchekessi, Bokossa, Agbangla, Azokpota, Daube, Scippo, Korsak, Angelov, Bokossa ve Yaou. (2014). Production and microbiological evaluation of three types of "Dèguè", a local fermented drink made from milk in Benin. *International Journal of Multidisciplinary and Current Research*, 2.
- Tchekessi, C., Bokossa, A., Adigun, N., Bleoussi, R., Sachi, P., Banon, J., Agbangla, C., Azokpota, P. ve Yaou, I. (2014). Physico-chemical and sensory characterizations of three types of "dèguè", a local fermented drink made from milk in Benin. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 5(3), 36-43.

- Tchekessi, C., Bokossa, A., Agbangla, C., Azokpota, P., Daube, G., SCIPPO, M. L., Korsak Koulagenko, N. ve Bokossa, I. Y. (2014). Production and microbiological evaluation of three types of " Dèguè", a local fermented drink made from milk in Benin. *International Journal of Multidisciplinary and Current Research*, 2, 714-720.
- Ünal Turhan, E. ve Enginkaya, Z. (2016 ). Probiyotik gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi. *Pamukkale Univ Muh Bilim Derg*, 22(7), 620-624. doi: doi: 10.5505/pajes.2016.87369
- Us, E., Tekeli, A., Arikan, O. A., Dolapci, I., Sahin, F. ve Karahan, Z. C. (2010). Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated between 2004-2007 in Ankara University Hospital, Turkey. *Mikrobiyoloji bulteni*, 44(1), 1-10.
- White, C., Bishop, J. ve Morgan, D. (1992). Microbiological methods for dairy products Standard methods for the examination of dairy products (pp. 59-323): American Public Health Association (APHA), Washington, DC.
- Wood, B. ve Holzapfel, W. (1995). *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. Blackie Academic and Professional, London.
- Yüce, A. (2001). Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergisi*, 2: 41-46.
- Zhou, N., Zhang, J. X., Fan, M. T., Wang, J., Guo, G. ve Wei, X. Y. ( 2012). Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Chinese yogurts. *Journal of Dairy Science*, 95/ 9: 4775-4783.

## ÖZGEÇMİŞ

06/03/1988 yılında BENİN'in bir şehrinde(Save) doğdum. İlkokul Save'de tamamladıktan sonra orta okulun birinci senesini aynı şehirde bitirdim. Orta okulun ikinci ve üçüncü senesini BENİN'de Bohicon şehirde bitirdim. BENİN'in başkenti Cotonou' da orta okulun dördüncü senesi başlayıp lise öğrenimini aynı şehirde tamamladım. 2009 yılında BENİN'in Tarım Üniversitesini Gıda Mühendisliği bölümünü kazandım ve 2013 yılında lisans mezunu oldum. 2015 yılında Türkiyebursları örgütü (YTB) tarafından TÜRKİYE'ye gelip aynı yılda Türkçe öğrenimi mezunu oldum(C1). 2016 yılında Çukurova üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği bölümünde yüksekisansa başladım.