



**MARMARA ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ISLATILMIŞ DERİLERDEKİ *ENTEROBACTERIACEAE* FAMILİYASINA AİT  
TÜRLERİN İZOLASYONU, TANIMLANMASI VE FARKLI  
ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

EDA YAZICI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Biyoloji Programı

**DANIŞMAN**  
Prof. Dr. Meral BİRBİR

İSTANBUL, 2016



**MARMARA ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ISLATILMIŞ DERİLERDEKİ *ENTEROBACTERIACEAE* FAMILİYASINA AİT  
TÜRLERİN İZOLASYONU, TANIMLANMASI VE FARKLI  
ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

EDA YAZICI

520112009

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

**DANIŞMAN**

Prof. Dr. Meral BİRBİR

İSTANBUL, 2016

# TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince desteğini ve emeğini esirgemeyen, çalışmalarım da her zaman yanımda olan, sabırla beni dinleyen, önerileriyle yüreklendiren ve yol gösteren değerli Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Meral Birbir'e,

Deneylerim süresince destek ve yardımcı olan Değerli Hocam Prof. Dr. Ayşe Ogan'a,

Lisans ve Lisansüstü eğitimime emekleri olan Saygıdeğer Hocalarıma,

Laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen, bilgilerini paylaşmaktan her zaman mutluluk duyan ve kendisinden pek çok şey öğrendiğim, bana her zaman her konuda destek olan Arş. Gör. Dr. Pınar Yılmaz Çağlayan'a,

Bu çalışma FEN-C-YLP-041213-0456 No'lu proje ile desteklenmiştir. Projemiz için gerekli imkanları sağlayan ve maddi olarak destek veren M.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

İstanbul-Tuzla Deri Organize Sanayi'nden çalışmalarım için gereken deri örneklerini sağlamamda yardımcı olan sevgili arkadaşım Enis Evin'e ve göstermiş oldukları ilgi, hoşgörü, özveri ve yardımları için başta Sayın Cem Kobak olmak üzere Prima ve Albes Deri çalışanlarına,

Boş zamanlarında Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelerek, kendilerini bu alanda geliştiren ve çalışmalarına gönüllü olarak yardımda bulunan Atatürk Eğitim Fakültesi, Biyoloji Öğretmenliği Öğrencilerinden Arhun Ali Balkan, Damla Yayman, Didem Ülgüt, Öykü Sayın ve Yağmur Yayman; Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğrencilerinden Ayberk Yılmaz, Bahar Doğan, Gizem Koral, Nazlı Çağan, Serra Işık ve Sinan Aktaş'a,

Desteklerini ve ilgilerini hiçbir zaman esirgemeyip beni bugünlere getiren, benimle birlikte emek sarf eden ve özellikle tez çalışmalarım sırasında sonsuz sabır ve anlayış gösteren sevgili anneme ve babama, Marmara Üniversitesi'nde birlikte geçirdiğimiz 4 yıl boyunca manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili halam Prof. Dr. Ayşe Özel'e teşekkürü bir borç bilirim.

**Mart, 2016**

**EDA YAZICI**

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	viii
YENİLİK BEYANI .....	x
SEMBOLLER.....	xi
KISALTMALAR.....	xii
ŞEKİLLER .....	xiii
TABLolar .....	xiv
<b>BÖLÜM 1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Giriş ve Amaç .....	1
1.2 Türkiye’de Deri Sanayinin Gelişimi ve Önemi .....	3
1.3 Ham Derinin Yapısı ve Eldesi.....	4
1.3.1 Derinin Kimyasal Yapısı .....	4
1.3.2 Derinin Biyolojik Yapısı .....	5
1.3.2.1 Fibröz (Fibrilli) Proteinler .....	7
1.3.2.2 Globular Proteinler .....	7
1.4 Derilerin Korunması .....	8
1.5 Derilerin Tabaklanması .....	8
1.5.1 Islatma (Yumuşatma) .....	9
1.5.2 Kireçlik.....	11
1.5.3 Kireç Giderme ve Sama .....	11
1.5.4 Yarma.....	11
1.5.5 Tabaklama (Sepileme).....	ii2
1.6 Deri Kalitesine Etki Eden Faktörler .....	12
1.7 Deri Islatma Sıvısı ile Yapılan Çalışmalar .....	13
1.8 <i>Enterobacteriaceae</i> Familyası Hakkında Genel Bilgi.....	16

<b>1.8.1</b>	<b>Çalışmamızda İslatılmış Derilerinden İzole Edilerek Tanımlanan</b>	
	<i>Enterobacteriaceae</i> Familyası'na Ait Bakteriler Hakkında Genel Bilgiler	18
<b>1.8.1.1</b>	<i>Enterobacter</i> Cinsi	18
<b>1.8.1.2</b>	<i>Proteus</i> Cinsi	19
<b>1.8.1.3</b>	<i>Providencia</i> Cinsi	20
<b>1.8.1.4</b>	<i>Morganella</i> Cinsi	20
<b>1.8.1.5</b>	<i>Citrobacter</i> Cinsi	21
<b>1.8.1.6</b>	<i>Serratia</i> Cinsi	22
<b>1.8.1.7</b>	<i>Ewingella</i> Cinsi	22
<b>1.9</b>	<b>Antibiyotikler Hakkında Genel Bilgiler</b>	23
<b>1.9.1</b>	Antibiyotik ve Antibiyotik Direnci	23
<b>1.9.2</b>	Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları ve Sınıflandırılması	24
<b>1.9.2.1</b>	Hücre Duvarı Sentezinin İnhibisyonu: Beta-laktamlar ve Glikopeptidler	25
<b>1.9.2.1.1</b>	Beta-laktam Antibiyotikler	25
<b>1.9.2.1.2</b>	Glikopeptitler	27
<b>1.9.2.2</b>	Sitoplazmik Membranın Yapı ve Fonksiyonunu İnhibe Edenler	27
<b>1.9.2.3</b>	Protein Sentezinin İnhibisyonu	27
<b>1.9.2.4</b>	Bakteri Metabolizmasını Bozanlar (Antimetabolitler)	29
<b>1.9.2.5</b>	Nükleik Asit Sentezini İnhibe Edenler	29
<b>BÖLÜM 2. MATERYAL VE YÖNTEM</b>		<b>30</b>
<b>2.1</b>	<b>Materyal</b>	<b>30</b>
<b>2.1.1</b>	<b>Araştırma Olanakları</b>	<b>30</b>
<b>2.1.2</b>	<b>Kullanılan Besiyerleri, Kimyasallar, Test Kitleri ve Antibiyotikler</b>	<b>30</b>
<b>2.1.2.1</b>	%0.85 NaCl İçeren Steril Fizyolojik Tuzlu Su	31
<b>2.1.2.2</b>	Eozin Metilen Blue Agar (EMB)	31
<b>2.1.2.3</b>	Gram'ın İyot Çözeltisi	31
<b>2.1.2.4</b>	Kristal Viyole Çözeltisi	32
<b>2.1.2.5</b>	%95 Etil Alkol Çözeltisi	32
<b>2.1.2.6</b>	Safranin Çözeltisi	32
<b>2.1.2.7</b>	Oksidaz Test Ajanı	32
<b>2.1.2.8</b>	Katalaz Test Ajanı (%3 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	32

2.1.2.9 İndol Besiyeri .....	32
2.1.2.10 Kovaks Ayıracı .....	33
2.1.2.11 Metil Kırmızısı Ayıracı .....	33
2.1.2.12 Voges Proskauer Ayıraçları.....	33
2.1.2.13 Tween 80 Agar Besiyeri .....	34
2.1.2.14 Jelatin Besiyeri (%4 Jelatin Tyriptic Soy Agar).....	34
2.1.2.15 0.5 No'lu McFarland'ın Hazırlanması .....	34
2.1.2.16 Mueller Hinton Broth Besiyeri.....	35
2.1.2.17 Mueller Hinton Agar Besiyeri .....	35
2.1.2.18 Aminoasit Dekarboksilaz Besiyeri .....	35
2.1.2.19 Amino Asit Solüsyonları.....	36
2.1.2.20 Kazein Besiyeri .....	37
2.1.2.21 Nessler Ayıracı .....	37
2.1.2.22 Nitrit Test Ayıraçları .....	38
2.1.2.23 API 20E Test Kiti.....	38
<b>2.2 Yöntem.....</b>	<b>39</b>
2.2.1 Farklı Tabakhanelerden İslatılmış Deri Örneklerinin Toplanması.....	39
2.2.2 İslatılmış Deri Örneklerinin pH'larının Ölçümü.....	40
2.2.3 İslatılmış Derilerdeki <i>Enterobacteriaceae</i> Familyasına Ait Türlerin İzolasyonu.....	40
2.2.3.1 Hareket İncelemesi.....	41
2.2.3.2 Gram Boyama.....	41
2.2.4 İzolasyonu Yapılan <i>Enterobacteriaceae</i> İzolatlarının API Yöntemi ile Tanımlanması ( $\beta$ -galaktosidaz, Arjinin Dihidrolaz, Lizin Dekarboksilaz, Ornitin Dekarboksilaz, Sitrat Testi, Hidrojen Sülfür Testi, Üre Hidrolizi, Tryptofan Deaminaz, Tryptofandan İndol Oluşumu, Voges-Proskauer Testi, Jelatinaz Testi, Glukoz, Mannitol, İnositol, Sorbitol, Rhamnoz, Sukroz, Melibioz, Amigdalın ve Arabinozdan Asit Üretimi).....	41
2.2.5 İslatılmış Derilerden İzole Edilen <i>Enterobacteriaceae</i> Familyasına Ait Türlerin Biyokimyasal Testlerinin Yapılması (Oksidaz Testi, Katalaz Testi, Proteaz, Lipaz, Kazeinaz, Metil Kırmızısı Testi, Nitratın Nitrite İndirgenmesi ve Nitrattan Gaz Oluşturma Testi, Dekarboksilaz Testi [L-arjinin, L-sistein, L-glisin, L-alanin, L-tirozin, L-prolin ve L-hidroksiprolin], Peptondan Amonyak Oluşumu) .....	43

2.2.5.1 Oksidaz Testi .....	43
2.2.5.2 Katalaz Testi.....	44
2.2.5.3 Proteaz Aktivitesi .....	44
2.2.5.4 Lipaz Aktivitesi .....	45
2.2.5.5 Kazeinaz Aktivitesi .....	45
2.2.5.6 Metil Kırmızısı Testi.....	46
2.2.5.7 Nitratın Nitrite İndirgenmesi ve Nitrattan Gaz Oluşturma Testi .....	46
2.2.5.8 Aminoasit Dekarboksilaz Testi .....	47
2.2.5.9 Peptondan Amonyak Oluşumu .....	48
2.2.6 Islatılmış Derilerden İzole Edilen <i>Enterobacteriaceae</i> Familyasına Ait Türlerin Farklı Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması.....	48
<b>BÖLÜM 3. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>50</b>
<b>BÖLÜM 4. SONUÇLAR.....</b>	<b>76</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>79</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>98</b>

## ÖZET

### ISLATILMIŞ DERİLERDEKİ *ENTEROBACTERIACEAE* FAMILYASINA AİT TÜRLERİN İZOLASYONU, TANIMLANMASI VE FARKLI ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Bu çalışmada, ıslatılmış koyun (n=5) ve sığır (n=10) deri örneklerinde *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteriler incelenmiştir. Deri örnekleri Tuzla-İstanbul Deri Organize Sanayi Bölgesi'ndeki farklı tabakhanelerden alınmıştır. Örneklerin pH değerleri (7.00-8.86;7.15-10.00) ve izolatların derilerde bulunma sıklıkları tespit edilmiştir.

Islatılmış koyun derilerinden 7 cins (*Citrobacter*, *Cronobacter*, *Enterobacter*, *Kluyvera*, *Morganella*, *Proteus* ve *Providencia*) ve 9 farklı *Enterobacteriaceae* türü izole edilmiştir. Koyun derilerinden en fazla miktarda izole edilen tür *Cronobacter sakazakii* olmuştur. Islatılmış sığır derilerinden ise 7 cins (*Citrobacter*, *Cronobacter*, *Ewingella*, *Kluyvera*, *Morganella*, *Providencia* ve *Serratia*) ve 9 farklı *Enterobacteriaceae* türü izole edilmiştir. En fazla sayıda izole edilen tür ise *Serratia marcescens* olmuştur. *Citrobacter koseri*, *Cronobacter sakazakii*, *Kluyvera intermedia*, *Morganella morganii* ve *Providencia rettgerii* hem koyun hem de sığır derilerinden izole edilmişlerdir. İzolatların 24 farklı antibiyotiğe karşı dirençleri disk difüzyon yöntemiyle saptanmıştır. Koyun derisinden elde edilen izolatların yarısından fazlası Sefalotin'e (%67), Ampisilin'e (%78), Siprofloksasin (%56) ve Seftriakson'a (%56), Amoksisilin/Klavulanik asit'e (%56), Streptomisin'e (%67) ve Aztreonam'a (%89) dirençli olarak tespit edilmişlerdir. İzolatların Aztreonam ve Ampisilin'e dirençleri yüksek oranda bulunmuştur. İzolatların yarısından azı Tobramisin (%11), Meropenem (%11), Sülfametoksazol/Trimetoprim (%11), Kanamisin (%11), Imipenem (%11), Sefoksitin (%22), Ampisilin/sulbaktam (%22), Seftazidim (%45), Nalidiksik asit (%45), Kloramfenikol (%45), Sefuroksim sodyum (%33), Tetrasiklin (%33) ve Piperasilin/Tazobaktam'a (%33) dirençli bulunmuşlardır. Sığır derisinden elde edilen izolatların yarısından fazlası Aztreonam'a (%78), Ampisilin'e (%67), Amoksisilin/Klavulanik asit (%56) ve Seftriakson'a (%56) dirençli bulunmuşlardır. İzolatların yarısından azı ise Kloramfenikol (%33), Sefoksitin (%22), Ampisilin/sulbaktam (%22), Seftazidim (%33), Sefalotin (%33), Tetrasiklin (%45), Sefuroksim sodyum (%45), Streptomisin (%45), Piperasilin/Tazobaktam (%22),

Nalidiksik asit (%33), Kanamisin (%11) ve Siproflaksasin'e (%22) dirençli olarak tespit edilmişlerdir. Koyun derisinden izole edilen tüm izolatlar Gentamisin, Ofloksasin ve Norfloksasin'e karşı %100 duyarlı; Sığır derisinden izole edilen tüm izolatlar ise Tobramisin, Gentamisin, Ofloksasin, Norfloksasin, Sülfametoksazol/Trimetoprim ve Meropenem'e %100 duyarlı bulunmuştur.

Sonuç olarak ıslatma işleminde kullanılan antimikrobiyal maddelerin derilerde bulunan antibiyotiklere dirençli *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteri türlerini tamamen öldüremediği saptanmıştır.

**Mart, 2016**

**EDA YAZICI**



## **ABSTRACT**

### **ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIAL SPECIES BELONGING TO THE FAMILY *ENTEROBACTERIACEAE* FROM SOAKED HIDES AND SKIN SAMPLES AND DETERMINATION OF THEIR ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY**

In this study, the bacterial species which belong to the family *Enterobacteriaceae* on soaked sheep skins (n=5) and cattle hides (n=10), which were provided from different tanneries in Istanbul Leather Organized Tannery Region, were examined. The pH values of the samples (7.00-8.86; 7.15-10.00) and the frequency of the isolates on the soaked hide and skin samples were determined.

Nine different bacterial species which belong to seven genera (*Citrobacter*, *Cronobacter*, *Enterobacter*, *Kluyvera*, *Morganella*, *Proteus* and *Providencia*) were isolated from the soaked skin samples. The most common bacterial isolate obtained from the skins was *Cronobacter sakazakii*. Nine different bacterial species which belong to seven genera (*Citrobacter*, *Cronobacter*, *Ewingella*, *Kluyvera*, *Morganella*, *Providencia* and *Serratia*) were isolated from the soaked hide samples. *Serratia marcescens* was the most common bacterial isolate obtained from the hides. *Citrobacter koseri*, *Cronobacter sakazakii*, *Kluyvera intermedia*, *Morganella morgani* and *Providencia rettgerii* were isolated from both hides and skins. Antibiotic resistances of all isolates to twenty-four (24) different antibiotics were determined using disc diffusion method. More than half of the isolates obtained from the skin samples were resistant to Cephalothin (%67), Ampicillin (%78), Ciprofloxacin (%56), Ceftriaxone (%56), Amoxicillin/ Clavulanate (%56), Streptomycin (%67), and Aztreonam (%89). Resistance of the isolates to Aztreonam and Ampicillin was found to be high. Less than half of the isolates were resistant to Tobramycin (%11), Meropenem (%11), Trimethoprim/Sulfamethoxazole (%11), Kanamycin (%11), Imipenem (%11), Cefoxitin (%22), Ampicillin/Sulbactam (%22), Ceftazidime (%45), Nalidixic acid (%45), Chloramphenicol (%45), Sefuroxime sodium (%33), Tetracycline (%33) and Piperacillin/Tazobactam (%33). Although more than half of the isolates obtained from the hide samples were resistant to Aztreonam (%78), Ampicillin (%67), Amoxicillin/ Clavulanate (%56) and Ceftriaxone (%56), less than half of the isolates were resistant to

Chloramphenicol (%33), Cefoxitin (%22), Ampicillin/Sulbactam (%22), Ceftazidime (%33), Cephalothin (%33), Tetracycline (%45), Sefuroxime sodium (%45), Streptomycin (%45), Piperacillin/Tazobactam (%22), Nalidixic acid (%33), Kanamycin (%11) and Ciprofloxacin (%22). All isolates obtained from the sheep skins were susceptible to Gentamicin (%100), Ofloxacin (%100) and Norfloxacin (%100). All isolates obtained from the hides were susceptible to Tobramicin (%100), Gentamicin (%100), Ofloxacin (%100), Norfloxacin (%100), Trimethoprim/Sulfamethoxazole (%100) and Meropenem (%100).

As a result, it was determined that the antimicrobial agents used in the soaking process did not completely kill the bacterial species of the family *Enterobacteriaceae* which are resistant to the antibiotics.

**March, 2016**

**EDA YAZICI**

## YENİLİK BEYANI

### İSLATILMIŞ DERİLERDEKİ *ENTEROBACTERIACEAE* FAMILYASINA AİT TÜRLERİN İZOLASYONU, TANIMLANMASI VE FARKLI ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Bu çalışmada ilk kez ön ve ana ıslatmadan çıkmış sığır ve koyun derilerinden *Enterobacteriaceae* familyasına ait *Citrobacter koseri*, *Citrobacter freundii*, *Cronobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter amnigenus*, *Ewingella americana*, *Kluyvera intermedia*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia rettgerii*, *Serratia marcescens*, *Serratia plymuthica* ve *Serratia rubida* türleri izole edilmiş ve bu bakterilerin derilerde bulunma sıklıkları saptanmıştır. İzole edilen bakterilerin 24 farklı antibiyotiğe (Ampisilin/sulbaktam (10/10µg; 20µg), Sefalotin (30µg), Sefoksitin (30µg), Seftazidim (30µg), Seftriakson (30µg), Sefuroksim sodyum (30µg), Kloramfenikol (30µg), Siprofloksasin (10µg), Gentamisin (10µg), İmipenem (10µg), Kanamisin (30µg), Meropenem (10µg), Nalidiksik asit (30 µg), Norfloksasin (10µg), Ofloksasin (5µg), Piperasilin/Tazobaktam 10:1 (110µg), Spiramisin (100µg), Streptomisin (10µg), Sülfametoksazol/Trimetoprim (25µg), Tetrasiklin (30µg), Tobramisin (10µg), Amikasin (30µg), Aztreonam (30µg), Amoksisilin/Klavulanik asit 2:1 (30µg)) karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Mart, 2016

Prof.Dr. Meral BİRBER

Eda YAZICI

## SEMBOLLER

**°C** : Santigrad derece

**pH** : Hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması. (-log[H+])

**dk** : Dakika

**cm** : Santimetre

**mm** : Milimetre

**kg** : Kilogram

**g** : Gram

**l** : Litre

**g/l** : Gram/litre

**ppm** : Milyonda bir (parts per million)

**rpm** : Santrifüj işleminde dakikadaki devir sayısı

**µm** : Mikrometre

**M** : Molar

**kob** : Koloni oluşturma birimi

**ml** : Mililitre

**NaCl** : Sodyum klorür

**KI** : Potasyum iyodür

**KOH** : Potasyum hidroksit

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Sülfürik asit

**BaCl<sub>2</sub>** : Baryum klorür

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Hidrojen peroksit

**H<sub>2</sub>S** : Hidrojen Sülfür

## **KISALTMALAR**

<b>EMB</b>	: Eozin Metilen Blue Agar
<b>MR-VP</b>	: Metil kırmızısı- Voges Proskuer
<b>ONPG</b>	: Beta Galaktosidaz
<b>ADH</b>	: Arginin Dihidrolaz
<b>LDC</b>	: Lizin dekarboksilaz
<b>ODC</b>	: Ornitin dekarboksilaz
<b>CIT</b>	: Sitrat
<b>URE</b>	: Üreaz
<b>TDA</b>	: Triptofan deaminaz
<b>IND</b>	: İndol
<b>GEL</b>	: Gelatinaz
<b>GLU</b>	: Glikoz
<b>MAN</b>	: Mannitol
<b>INO</b>	: İnositol
<b>SOR</b>	: Sorbitol
<b>RHA</b>	: Ramnoz
<b>SAC</b>	: Sakkaroz
<b>MEL</b>	: Melibioz
<b>AMY</b>	: Amygdalin
<b>ARA</b>	: Arabinoz

# ŞEKİLLER

## SAYFA NO

Şekil 1.1. : Dana Derisi.....	1
Şekil 1.2. : Derinin Kimyasal Yapısı .....	5
Şekil 1.3 : Derinin Histolojik Yapısı.....	6
Şekil 2.1. : Deri Örnekleri ve Süspansiyonları.....	40
Şekil 2.2. : API 20E Test Sonucuna Örnekler.....	43
Şekil 2.3. : Oksidaz Testi .....	44
Şekil 2.4. : Lam Üzerinde ve Petri Kabında Pozitif Katalaz Testi .....	44
Şekil 2.5. : Proteaz Aktivitesi.....	45
Şekil 2.6. : Kazeinaz Aktivitesi.....	45
Şekil 2.7. : Metil Kırmızısı Testi.....	46
Şekil 2.8. : Nitratın Nitrite İndirgenmesi.....	48
Şekil 2.9. : Aminoasit Dekarboksilasyon Testi .....	48
Şekil 3.1. : Derinin Kısımları.....	50
Şekil 3.2. : Islatılmış Koyun Derilerinden İzole Edilen, <i>Enterobacteriaceae</i> Familyasına Ait İzolatların Tür Sayıları.....	55
Şekil 3.3. : Islatılmış Sığır Derilerinden İzole Edilen, <i>Enterobacteriaceae</i> Familyasına Ait İzolatların Tür Sayıları.....	57

## TABLolar

### SAYFA NO

<b>Tablo 1.1.</b> : Deri Üretim Aşamaları .....	<b>9</b>
<b>Tablo 1.2.</b> : Etkilerine Göre Antibiyotikler .....	<b>24</b>
<b>Tablo 2.1.</b> : API 20E Test Kiti Ayıraçlar, Ortamlar ve İçerikleri.....	<b>38</b>
<b>Tablo 3.1.</b> : Islatılmış Deri Örnekleri Hakkında Bilgiler.....	<b>51</b>
<b>Tablo 3.2.</b> : Koyun ve Sığır Deri Örneklerinin pH Değerleri.....	<b>53</b>
<b>Tablo 3.3.</b> : İzole Edilen <i>Enterobacteriaceae</i> Familyasına Ait İzolatların Islatılmış Deri Örneklerinde Bulunma Sıklıkları .....	<b>54</b>
<b>Tablo 3.4.</b> : Islatılmış Deri Örneklerinden İzole Edilen İzolatların Gram Reaksiyonları, pH 7’de Gelişimleri ve Biyokimyasal Test Sonuçları.....	<b>62</b>
<b>Tablo 3.5.</b> : Derinin Yapısında Bulunan Proteinler, Yağlar ve Aminoasitlerle İlgili Testler.....	<b>64</b>
<b>Tablo 3.6.</b> : Islatılmış Koyun Derilerinden İzole Edilen <i>Enterobacteriaceae</i> Türlerinin Antibiyotiklere Olan Duyarlılıkları.....	<b>68</b>
<b>Tablo 3.7.</b> : Islatılmış Sığır Derilerinden İzole Edilen <i>Enterobacteriaceae</i> Türlerinin Antibiyotiklere Olan Duyarlılıkları .....	<b>70</b>

# BÖLÜM 1

## 1.1 GİRİŞ ve AMAÇ

Deri, ayakkabı, giyim, mobilya ve diğer pek çok ürünün üretiminde kullanılan değerli bir sanayi ürünüdür. Ham deri, deri ve deri ürünleri sektörünün temel girdisidir (Şekil 1.1). Kaliteli deri ürünü elde etmek için ham derinin iyi bir şekilde işlenmesi, kesim ve toplama aşamalarında hataların olmaması ve uygun şartlarda taşınması gerekmektedir (BAKA, 2012).

Ham deriyi fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkilere karşı dayanıklı hale getirmek için uygulanan işlemlere “deri tabaklanması” denilmektedir. Tabaklama, deri veya postun dengesini sağlayan en önemli aşamadır. Deriler, ön tabaklama ve sonrasındaki işlemler ile mikrobiyal bozulmaya karşı korunmaktadırlar (Özçörekçi ve Öngüt, 2005).



**Şekil 1.1.** Dana Derisi (Tarım ve Ziraat Bilgi Bankası, 2011).

Büyükbaş ve küçükbaş hayvanlar öldükten sonra, canlı organizmanın bağışıklık fonksiyonu durmaktadır. Bu durum deride olumsuz sonuçlar meydana getirmektedir. Bu olumsuzluğu önlemek için derilere en kısa sürede gerekli işlemler uygulanmalıdır (Birbir, 1991). Derilere uygulanan ilk işlem tuzlu su ve kuru tuz ile koruma işlemidir. Deriler işleninceye kadar tuzlanmış olarak depo edilirler. Deriler işleneceği zaman ilk

olarak ıslatma işlemine tabi tutulurlar. Islatma ve yıkama işlemi derilerden tuz, kir ve gübre gibi yabancı maddeleri uzaklaştırmayı ve derilere kaybettiği nem içeriğini geri kazandırmayı amaçlamaktadır. Islatıcı maddeler, yüzey aktifler, enzim preparatları ve antimikrobiyal maddeler ıslatma işleminde kullanılmaktadır. Islatma işleminden elde edilen atık su, yani ıslatma sıvısı, tuz, diğer bakteri türleri, albumin ve globulin gibi çözünür proteinler, kir, gübre ve kan içermektedir (Forests, 2009).

Yaptığımız literatür taramaları, daha önce ıslatmadan çıkmış farklı tabakhanelerden toplanmış derilerdeki *Enterobacteriaceae* familyasına ait türlerle çalışılmadığını ve bu türlerin farklı antibiyotiklere karşı olan duyarlılıklarının araştırılmadığını göstermiştir. Ayrıca bu bakterilerin, deri kalitesi üzerine olumsuz etkileri de detaylıca araştırılmamıştır. Çalışmamızda bu konuların aydınlatılması üzerinde durulmaktadır. Islatma aşamasından çıkmış derilerden izole ettiğimiz *Enterobacteriaceae* familyasına ait türler, API test yöntemi ile saptanmış ve bakterilerin farklı antibiyotiklere karşı olan duyarlılıkları belirlenmiştir. Aynı zamanda izole edilen türlerin derilere vereceği zararlar lipolitik ve proteolitik aktivite testleriyle belirlenmiş; üre hidrolizi, H<sub>2</sub>S oluşumu, farklı amino asitlerin kullanımı (L-lizin, L-glisin, L-tirozin, L-alanin, L-prolin, L-fenilalanin ve L-aspartik asit), nitratın nitrite indirgenmesi (anaerobik olarak) ve N<sub>2</sub> gazı oluşumu, triptofandan indol üretimi, peptondan amonyak oluşumu incelenmiştir. Ayrıca oksidaz, katalaz, kazeinaz, metil kırmızısı, Voges-Proskauer ve sitrat testi gibi testler de yapılmıştır.

Çalışmamız sonucunda ıslatılmış derilerdeki *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteri türlerinin deride oluşturacakları potansiyel zararlar belirlenmiş, bakteri türü ve bu bakterilerin bulunma sıklığı arasındaki ilişki de ortaya çıkarılmıştır. Böylece bu mikroorganizmaların oluşturacağı zararların önlenmesi için gereken önlemler de belirlenmiştir. Bu çalışma ile ıslatılmış derilerde hasara neden olan *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteri türlerinin kontrolünün sağlanması üzerine yapılacak diğer çalışmalara önemli bir kaynak oluşturacağı düşüncesindeyiz.

## 1.2 TÜRKİYE'DE DERİ SANAYİNİN GELİŞİMİ VE ÖNEMİ

İlk çağlarda insanların avladıkları hayvanlardan elde ederek kullandığı deriler, kurutulduklarında çok sert oldukları için, ilk olarak hayvanın kendi yağı kullanılarak yumuşatılmaya çalışılmıştır. Toplumların gelişmesiyle ilerleyen teknoloji sayesinde önce bitkisel tabaklama maddeleri bulunmuştur. Daha sonra kimyasal maddelerin çeşitli kombinasyonlarının uygulanması ile organik bir madde olan deri, inorganik hale getirilmiştir (Bal, 1979).

18. yüzyıla kadar Yakın ve Orta Doğu'da yaygın olan dericilik, 19. yüzyılda Akdeniz'de yapılan lüks derilerin Araplar, İspanyollar ve Venedikliler aracılığıyla Avrupa'ya gönderilmesiyle tüm Avrupa'ya yayılmıştır. Deri sanayinin emek gerektiren yoğun bir alan olması ve aşırı çevre kirliliğine yol açması 1970'li yıllarda sanayinin, gelişmiş ülkelerden gelişmekte olan ülkelere kaymasına neden olmuştur. Bu dönemde ülkemiz deri sanayinde; ham deri kalitesini düzeltme, bilinçli kesim ve üretim, tabakhanelerdeki işleme yöntemlerinin düzenlenmesi, kullanılan kimyasal maddelerin kalitesinin artırılması gibi değişiklikler gözlenmiştir (İTKİB, 1997).

Osmanlılar'ın İstanbul'u alması ile yıllardır Kazlıçeşme bölgesinde bulunan 300'ü aşkın tabakhane, yarattıkları çevre kirliliği, çevre sağlığı, düzensiz yayılma, altyapı yetersizliği ve gelişme olanaklarının bulunmaması gibi nedenlerle yer değiştirmek zorunda kalmıştır. Bu nedenle tabakhaneler, 1992 yılında Tuzla'da bulunan Organize Deri Sanayi Bölgesi'ne taşınmışlardır. Günümüzde Tuzla, Menemen ve Çorlu bölgelerinde arıtma tesislerine sahip üç adet deri organize sanayi bölgesi bulunmaktadır. Bursa, Uşak, Konya, Manisa, Gönen (Balıkesir), Gerede, Elazığ ve Gaziantep'te de deri üretim tesisleri, hazır giyim atölyeleri ve fabrikaları yer almaktadır (Bal, 1979; İTKİB, 1997).

Ülkemiz deri sektörünün üretim çeşitliliğindeki farklılık, bu sektörün diğer birimlerden farklı bir şekilde yapılanmasına neden olmaktadır. Sektördeki üretim payının %20-30'u büyükbaş, %70-80'i küçükbaş hayvan derilerinden oluşmaktadır. Bu oran Türkiye'de dericiliğin ağırlıklı olarak giysilik deri ve konfeksiyona odaklandığını göstermektedir. Bu gelişme dünya pazarında anlamlı ve rekabet yeteneği bakımından avantajlı bir konum kazanmamızı sağlamıştır. Son yıllarda değer bazında dünyada üretilen işlenmiş küçükbaş derilerin %5.5'i, işlenmiş büyükbaş derilerin %1.2'si, deri giyim eşyasının %4.5'i, ayakkabı üretiminin %1.6'sı Türkiye'de gerçekleştirilmektedir. Türkiye,

sektörde sağladığı gelişmeler sonucunda dünyada sözü edilen 10. büyük ülke haline gelmiştir (MEGEP, 2007; <http://dericilik.blogcu.com/islatma-ve-kireclik-islemleri/2313562>, 2015).

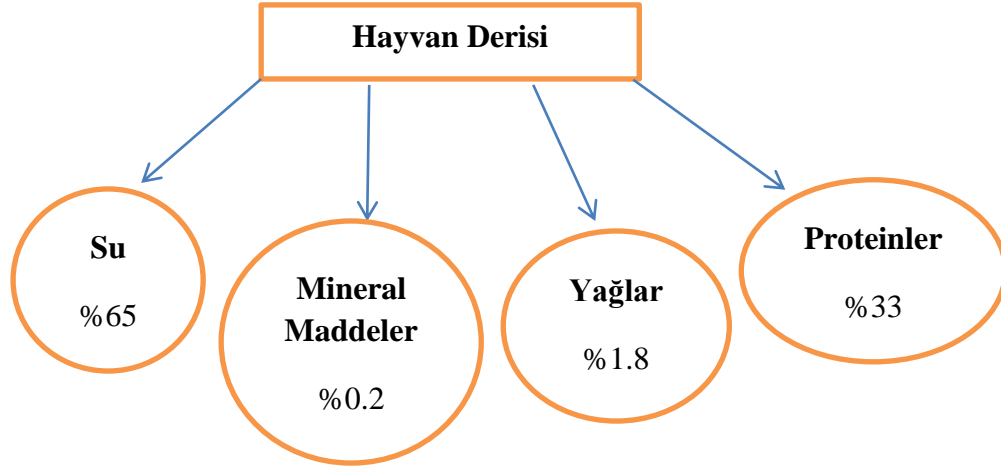
Türk İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) 2012 yılında yayınladığı raporlara göre, deri ve deri mamullerinin ihracatının Türkiye genel ihracatı içerisindeki payı her zaman büyük olmuştur. Bu nedenle sektörün sorunlarına çözüm getirilmesi ve sonuç olarak kaliteli ürünün elde edilmesi, yurt içi ve yurt dışı pazarlarda diğer ülkeler ile olan rekabette bir adım daha önde yer alınmasını sağlayacaktır ve Türkiye'nin ekonomisine önemli katkıda bulunulacaktır. Deri ve deri ürünleri sektöründe üretim oranlarının artırılması sektördeki temel sorun olan bakteri kaynaklı zararların giderilmesine bağlıdır. Sektördeki bu sorunun çözülmesi için, deri işlenmesi sırasında doğru uygulamalar ve doğru araçların kullanılması gerekmektedir. Bu durumda kaliteli son ürün eldesi gerçekleşmektedir. Son ürünün kalitesi, uluslararası ihracat rekabetindeki yerimizin korunmasına, artırılmasına ve ihracat gelirinin artmasına ve deri ihracatında ilerlemeye yol açacaktır (Toptaş, 1998).

### **1.3 HAM DERİNİN YAPISI VE ELDESİ**

Hayvanlardan yüzülen ve tabakhanelerde işlenmeye hazır olan baş, kuyruk ve bacaklarla birlikte bir bütün oluşturan deriye “ham deri”, belli bir amaç için işlenerek, kullanılabilir duruma getirilen ham deriye ise “mamül deri” denmektedir (Gökçesu, 2002). Deri; canlıların vücudunu saran ve canlıyı dış etkenlere karşı, asalak hayvanlardan ve hastalık yapıcı mikroorganizmalardan koruyan bir dış örtüdür (Temel Britannica, 1992).

#### **1.3.1 Derinin Kimyasal Yapısı**

Ham derinin yapısında bulunan protein, yağ, mineral madde ve su miktarı derinin türüne, ırkına, yaşına, cinsiyetine ve yaşam koşullarına bağlı olarak farklılık göstermektedir (Şekil 1.2). Ham deri kimyasal olarak; %50 karbon, %18 azot, %25 oksijen, %7 hidrojen ve az miktarda kükürt, fosfor, demir, brom ve klor içermektedir. Ham derinin yapısında bulunan suyun ve yağların büyük bir bölümü tabaklama sürecinde uzaklaştırılmaktadır. Mineral maddelerden özellikle kalsiyum ve magnezyum bileşikleri tabaklama aşamasında kısmen deriden uzaklaştırılmaktadırlar (MEGEP, 2007; Polkade, 2007).



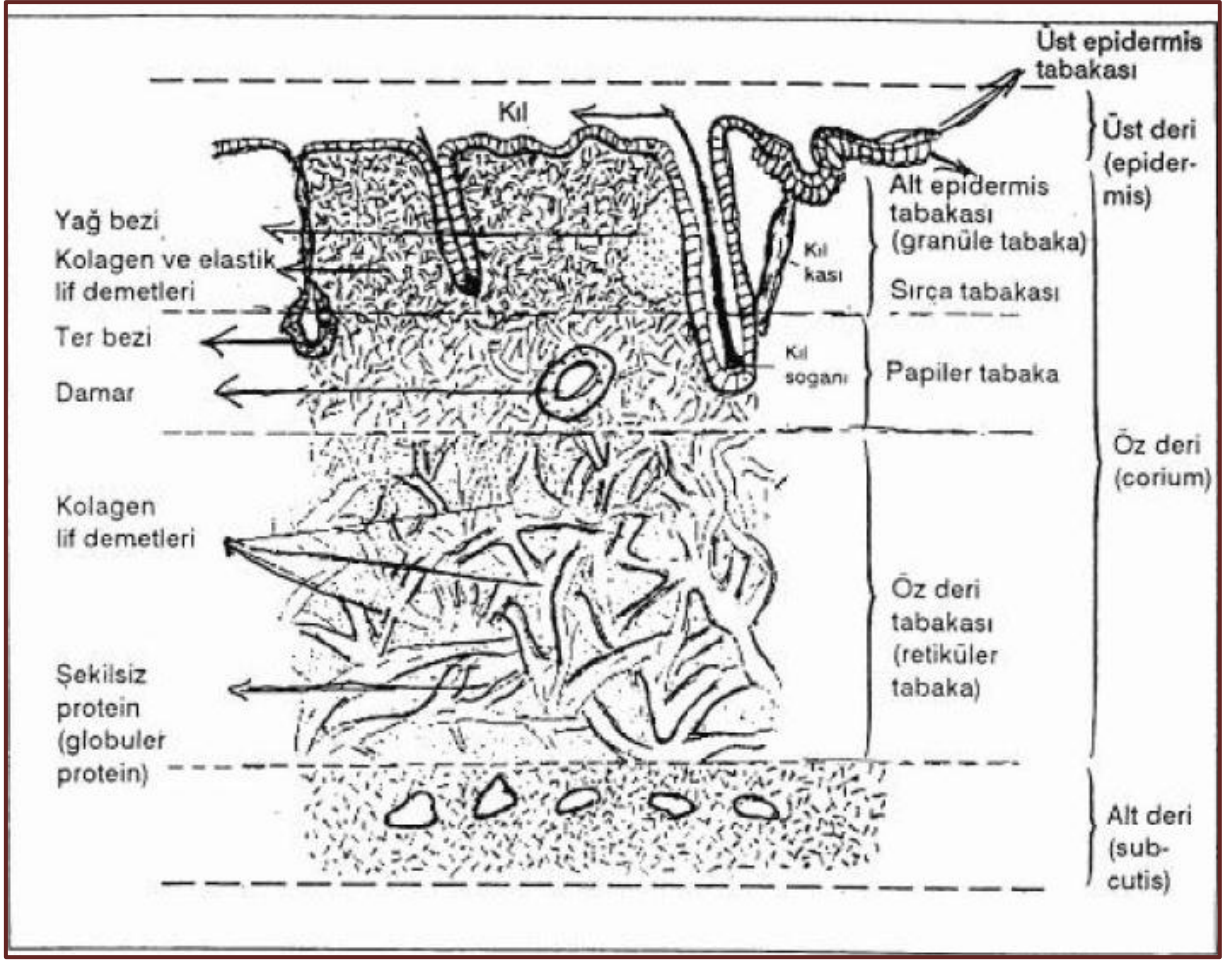
**Şekil 1.2.** Derinin Kimyasal Yapısı.

### 1.3.2 Derinin Biyolojik Yapısı

Diğer dokular gibi, deri de çeşitli hücre birimlerinden oluşmaktadır; epitel hücrelerinden meydana gelen epidermis, kuvvetli bağ dokuyla örülmüş dermis ve yağ dokudan oluşan hipodermis deriyi oluşturan tabakalardır (Şekil 1.3).

—Epidermis (Üst deri): Kan damarları bulunmayan bu tabaka kıl, yün, tırnak gibi keratinsi oluşumları ve bezleri içermektedir. Genel olarak toplam deri kalınlığının %1-2'sini oluşturmaktadır. Üst tabaka, kürklü deri yapılmayacaksa, derinin işlenmesi sırasında atılmaktadır (Toptaş, 1998). Epidermis, hayvan vücut ısısını ve nemini ayarlarken aynı zamanda vücudu mikroorganizmalara karşı korumaktadır. Epidermis tabakası; epitel (bazal tabaka), orta tabaka (granüle tabaka) ve boynuzumsu tabakadan oluşmaktadır (MEGEP, 2007).

—Dermis (Öz deri): Epiderminin altında yer almakta ve genel deri kalınlığının %84'ünü oluşturmaktadır. Esas olarak, deri fibrilleri olan kollajen fibrillerinden oluşan fibröz bir dokudur. Ayrıca elastin ve retikülün fibrilleri, kan ve lenf damarları, kıl folikülleri, yağ ve ter bezleri gibi yapıları da içermektedir (Birbir, 1991). Dermis, epidermisi destekleyen ve bunu alttaki komşu subkütan dokuya (hipodermis) bağlayan bağ dokudan meydana gelmektedir. Bu tabaka deriyi alttaki komşu organlara gevşekçe bağlayan ve onların üzerinde kayabilmesini sağlayan gevşek bir bağ dokudur (Karaboz, 1994).



Şekil 1.3. Derinin Histolojik Yapısı (MEGEP, 2007).

—Hipodermis (Yağ dokusu-Alt deri): Derinin %15'ini oluşturan hipodermiste, sayısı bulunduğu bölgeye, boyutları ise hayvanın beslenme durumuna göre değişen yağ hücreleri bulunmaktadır. Deri üzerindeki bakteriler genellikle bu yağları kullanarak parçalamaktadırlar (Karaboz, 1994). Gevşek örgülü bir bağ dokudan oluşan bu tabaka, ıslatma sırasında veya etleme operasyonunda deriden uzaklaştırılmaktadır. Uzaklaştırılan tabaka tutkal ve hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir (Gökçesu, 2002). Ham derilerin yapı taşı olan proteinler, deri kuru ağırlığının %80'ini oluşturmaktadırlar. Genel olarak yapısal (fibröz) proteinler ve yapısal olmayan (globular) proteinler olmak üzere 2 grupta incelenirler (Şenses, 1987).

### **1.3.2.1 Fibröz (Fibrilli) Proteinler**

Bu proteinler kollajen, keratin, elastin ve retikülidir. Bunlar deri yapımında kullanılan yapısal proteinlerdir ve derinin esas yapısını teşkil ederler (Şenses, 1987). Ham derinin sepilme olayından sonra deri haline gelen kısmına “kollajen” denir ve kollajen, deride bulunan proteinlerden en önemlisidir. Hayvanların yaşları dokularındaki kollajen lif miktarını etkilediğinden, yaşlı hayvanların dokularında genç olanlara göre daha fazla miktarda kollajen bulunmaktadır. Kollajen, derinin diğer yapılarını tutan bir ağ gibi görev yaparak deriye dayanıklılık ve sağlamlık verir. Hayvan derisinin yapısında sudan sonra en fazla miktarda bulunan kollajenin derideki miktarı arttıkça kopmaya, yırtılmaya ve sırça çatlamasına karşı olan direnç artmaktadır. Kollajen 70 °C sıcak suda yavaş yavaş erimeye başlar ve jelatin haline gelir (Öncü, 1968; Artan, 1979).

Hayvansal derilerdeki proteinlerin %29'unu kollajen, %2'sini keratin, %1.7'sini globüler ve %0.3'ünü elastin proteinler oluşturmaktadır (Harmancıoğlu ve Dikmelik, 1993). Kollajen liflerin yapısında yer alan amino asitler glisin (%33), prolin (%12), alanin (%11), hidroksiprolin (%10) ve hidroksilizinden (%1) oluşmaktadır. Bu amino asitlerden hidroksiprolin yalnızca kollajende yer almaktadır (Akay, 1995). Ham derilerin dış tabakasında bulunan fibröz protein, sistin ve metiyonin gibi sülfürlü amino asitleri içermesiyle karakterizedir. Deri ağırlığının yaklaşık %2'sini oluşturan keratin boynuz, kıl, yün, saç ve tırnaklarda bulunmaktadır. Deri ağırlığının %0.3'ünü oluşturan elastin lifleri nem içerdikleri zaman derideki elastikiyeti sağlarlar. Suda ve organik çözücülerde çözünmezler. Retikülin, kollajen lif demetlerini bir arada tutan ve onları saran fibröz proteindir ve bakteri faaliyetinden çok etkilenmektedir (Şenses, 1987).

### **1.3.2.2 Globular Proteinler**

Bu grupta albumin, globulin, musin ve mukoidler yer almaktadır. Suda ve sulu tuz çözeltilerinde eriyen albuminler, derinin yıkanması sırasında deriden uzaklaştırılmaktadır. Suda çözünmeyen globulinler, ancak sulu nötr tuz çözeltilerinde eridiklerinden tuzlu deriler ıslatıldıklarında erirler. Mukoidler ise alkali çözeltilerde erir ve böylece kireçleme işlemi sırasında kireç çözeltisi tarafından uzaklaştırılırlar (Şenses, 1987).

#### **1.4 DERİLERİN KORUNMASI**

Organik bir madde olan deri, kesimden hemen sonra gerekli önlemler alınmazsa, bozulmaya başlamaktadır. Bakteri faaliyetinin durdurularak derinin bozulmasının önlenmesi için deri ya hemen işlenmek üzere fabrikaya gönderilir ya da konservasyon yapılır (Toptaş, 1993). Kurutma, soğutma ve kimyasal yöntemlerle koruma adı verilen üç tip koruma (konservasyon) yöntemi bulunmaktadır. Kurutma yöntemiyle koruma işlemi hava kurusu, tuzlu kuru veya don kurusu şeklinde yapılabilir. Bu koruma biçimleri derinin dehidrasyonuna dayanır. Böylece deride su kaybı meydana gelir ve bakteriyel gelişim engellenmiş olur (Dahl, 1956; Berber, 2009).

Derilerin kimyasal yöntemle korunmasında tuz ve borik asit gibi kimyasal maddelerden yararlanılmaktadır. Tuz ile korumada dehidrasyon, bakteriyostatik etki ve deri yapısındaki globular proteinler, bakteri gelişimini engelleyecek şekilde kısmi olarak deriden uzaklaştırılmaktadır (Kanagaraj ve ark., 2005).

Piklaj denilen asitle koruma yönteminde ise, kıl, et ve yağ dokularından arındırılmış deriler, tuz ve asit ile muamele edilerek pH değeri 3 seviyelerine çekilerek korunur. Piklaj işlemi ile bakteri faaliyeti durdurulduğu halde küf mantarlarının üremesi pek önlenememektedir. Bu yüzden deride siyah, yeşil ve beyaz lekeler meydana gelmektedir (Kılıçoğlu, 1991).

#### **1.5 DERİLERİN TABAKLANMASI**

Deri yapım süreci genel olarak 3 gruba ayrılabilir:

- a) Tabaklama öncesi işlemler
- b) Tabaklama işlemleri
- c) Tabaklama sonrası bitirme işlemleri (Tablo 1.1).

Derilerin tabaklanma aşamalarında çok çeşitli kimyasallar kullanılmaktadır (Shede ve ark., 2008).

Tabaklama bozunabilir nitelikteki organik materyalin, mikroorganizma kaynaklı bozunmalara dayanabilecek şekilde stabil bir hale getirilmesi işlemidir. Bunun yanında tabaklama işleminin, derinin görünümüne, tutumuna, kokusuna ve hidrotermal stabilitesine de katkı yapması beklenmektedir (Covington, 2009).

<b>1.Konservasyon</b>	<b>11.Traşlama</b>
<b>2.Depolama</b>	<b>12. Nötralizasyon</b>
<b>3. Islatma, Yumuşatma</b>	<b>13. Retenaj</b>
<b>4.Kıl giderme ve Kireçlik</b>	<b>14. Yağlama ve Boyama</b>
<b>5.Etleme (Kavaletto)</b>	<b>15. Kurutma</b>
<b>6.Kireç Giderme</b>	<b>16. Zımparalama</b>
<b>7.Sama, Pikle, Tabaklama</b>	<b>17. Finisaj</b>
<b>8.Asortlama</b>	<b>18. Sevk etme</b>
<b>9.Sıkma</b>	
<b>10.Yarma</b>	

**Tablo 1.1.** Deri Üretim Aşamaları (MEGEP, 2007).

### **1.5.1 Islatma (Yumuşatma)**

Deri işlentisinin ilk aşaması olan ıslatma işlemi ile tuzlanarak konserve edilmiş ham deriler yeni yüzülen deri kıvamına getirilmektedir. Islatma işleminde enzim, baz ve tuz gibi kimyasalların kullanılmasıyla deri, su ile muamele edilmekte ve suda çözünen yapılanmamış proteinler uzaklaştırılmaktadır. Islatma yardımcı maddesi olarak kullanılan enzimler kollajen dokuda yer almayan proteinleri parçalayıp, deriden uzaklaştırarak katalitik etki yapmaktadırlar. Ayrıca deri liflerinde yeni hidrofil gruplar oluşturarak ıslatmayı hızlandırmaktadırlar. Enzimlerin kullanılması ile kuru deriler 12-48 saatte, tuzlu salamura deriler 4 saatte ıslatılabilmektedir. Islatma işleminde enzim, alkali ve nötral tuz kullanılması işlem süresini kısaltmakta ve sıcaklığı arttırmaktadır. Islatmada anyonik ve noniyonik ıslatıcılar bazik maddelerle kullanıldıklarında, derinin ıslanması kolaylaşmaktadır. Alkali ortam çözünen proteinlerin daha iyi uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Kuru derilerin ıslatılmasında kullanılan antibakteriyel maddeler bakteriyel faaliyeti azaltmakta veya durdurmaktadır. Bunun için kullanılacak maddeler deriye bağlanmamalı ve çevre problemlerine neden olmamalıdır (MEGEP, 2007).

Derilerdeki bakteriyel etkinlik deri özünde ve sırça yüzeyinde zararlara neden olmaktadır. Kısa süren ıslatma işlemi ve düşük sıcaklık ile hidroliz ve bakteri etkinliği ortadan kaldırılabılır.

Kollajen dokuda görülen ıslatma ve yumuşatma hataları sonucu önlenemeyen mikroorganizma faaliyetleri, bu dokunun parçalanmasına, deri yüzeyinde homojen olmayan bölgeler oluşmasına ve deride cilt ayrılmalarına neden olabilmektedir. Çözünür proteinlerin (albumin, globulin gibi) yanı sıra kollajen dokunun da bir kısmı ıslatma aşamasında yok olmaktadır. Kollajen kaybolması eteklerdeki sırçayı gevşeterek derinin boş ve süngerimsi bir hale dönüşmesine neden olmaktadır. Kollajen dokunun yok olmasında tuz yoğunluğu etkili olmaktadır. Kollajen kaybı yoğunluk %3-5 iken en yüksek, %0.5-1.0 iken ise en azdır. Seyreltik tuz çözeltileri kullanılarak, yüksek ısıda ve uzun süreli yapılan ıslatma işlemi deri dokusunda parçalanmalar meydana getirmektedir (MEGEP, 2007, <http://dericilik.blogcu.com/ıslatma-ve-kireclik-islemleri/2313562>, 2015).

Islatmada sıcaklık ve zaman iki önemli faktördür. Sıcaklık ıslanmayı hızlandırmakla birlikte bakteri faaliyetini de arttırmaktadır. Islatma işlemi genellikle 20-30 °C’de gerçekleştirilmektedir. Eğer sıcaklık 38 °C’yi geçerse protein lifleri büzülür ve jelatine dönüşür. Ayrıca, ıslatma süresi aşırı derecede uzatılırsa, bakteri faaliyeti başlar ve neticede kıl gevşekliği olayı meydana gelir. Islatma sırasında pH’ın 10.5’in üstüne çıkması derinin iç kısımlarında alkali şişmeye neden olur ve bu durum ıslatma işlemini yavaşlatıp durdurabilir (Toptaş, 2004; MEGEP, 2007). Deri işleme sürecinde uygulanan ıslatma sıvılarının pH koşulları birbirinden farklılık göstermektedir. Bu nedenle söz konusu sıvılarda farklı pH koşullarında gelişim gösteren ve çeşitli hidrolitik enzim aktivitesine sahip mikroorganizmalar bulunabilmektedir. pH değeri 7-8 arasında değişen ıslatma ve yumuşatma sıvılarında tuz konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak ortam koşulları mikroorganizma gelişimine olanaklı hale gelmekte ve yumuşatma sıvısında oldukça yüksek sayıda mikroorganizma bulunmaktadır. Bu basamakta mikroorganizmalar kontrol altına alınmadığı takdirde, daha sonraki basamaklarda mikroorganizmaların enzimatik aktiviteleri deriye zarar verebilecektir (Yapıcı, 2011).

Islatmada 20-25 °C’lik su kullanılırken, uzun süren ıslatmalarda bu sıcaklık daha düşüktür. Islatma önce sıcak daha sonra soğuk su ile yapılırsa, su oranı artacağı için

deride ağırlık artışı olur (MEGEP, 2008). Ham deride kan ve pisliklerin bulunması, deriyi koruyan tuzların ıslatma işlemiyle uzaklaştırılması, mikroorganizmaların harekete geçmelerini kolaylaştırmaktadır. Bundan dolayı deri imal edenler, yumuşatma işleminin başlangıcında, yumuşatma sularını özellikle yazın sıcak günlerde tazelemektedirler. Mevsime ve ham derinin işlemine göre 8 ile 36 saat arasında yumuşatma tamamlanmaktadır (Alpaut, 1957).

### **1.5.2. Kireçlik**

Yumuşatma işleminden sonra deri malzemenin tabaklamaya hazırlanması işlemidir. Kireçlikte amaç, deri dokusunun açılmasını, kılların ve üst derinin gevşetilmesini, alt deri dokusunda bulunan et ve yağ artıklarının, doğal yağların ve deri yapısında yer almayan proteinlerin deriden uzaklaştırılmasını sağlamaktır. Derinin ne kadar yumuşak olması isteniyorsa, o derece kuvvetli kireçlik yapılmalıdır (MEGEP, 2007).

### **1.5.3. Kireç Giderme ve Sama**

Kireçlik işlemi sonunda elde edilen deriler pH bakımından (13 gibi) alkalik özelliğe sahiptir. Bu değer deri için çok yüksek olduğundan kireç gidermede pH değeri 5-5.5'a düşürülür. Kireçlik sırasında şişirilen derilerin şişkinliği indirilir. Derilerde bulunan kireçlik kimyasalları daha sonraki işlenti basamaklarını olumsuz etkileyeceği için, bu kimyasallar kireç giderme ile deriden uzaklaştırılır. Deri dokusunun açılmasını sağlamak, deri liflerini hareketlendirmek, deri sırça yüzünü artıklardan temizleyerek daha ince ve güzel bir görünüm kazanmasını sağlamak için sama işlemi yapılmaktadır. Sama işlemi ne derece yoğun yapılırsa elde edilecek deri o kadar yumuşak olmaktadır (MEGEP, 2007).

### **1.5.4 Yarma**

Ham deriler, hayvanın beslenme şartlarına ve ırkına göre değişik kalınlıkta ve kalitede olmaktadır. Değişik kalınlıklarda elde edilen pikle deriler, tıraşlama ya da yarma işlemiyle belirli bir kalınlıkta iki tabaka haline getirilmektedirler (Özel, 1987).

### 1.5.5 Tabaklama (Sepileme)

Tabaklama, ham derinin teknik süreç ile (fiziksel ve kimyasal işlemler) mamul deriye dönüştürülmesi işlemidir. Tabaklama bitkisel, mineral ve sentetik kimyasallar yardımı ile deri yapısının ve deri liflerinin bozulmalara, mikroorganizmalara, parçalanmalara ve kokuşmalara karşı dayanıklılığını arttırmak amacı ile yapılmaktadır (Özel, 1987).

Mimoza ve meşe gibi bitkilerin meyve, tohum, yaprak ve kabuklarında tabaklama maddeleri bulunmaktadır. Suda çözünerek deri tarafından alınabilen bitkisel tabaklama maddeleri, deriye nüfuz ederek deri tarafından yavaşça emilmekte ve deriye bağlanmaktadır. Deri sanayinde bitkisel tanenler; 75-85 °C termal stabilite sağlamaları, baskı tutma ve şekil alma yeteneklerinin, deriyi doldurma yeteneklerinin hava ve su buharı geçirgenliklerinin iyi olması, aşınmaya dayanıklı olması ve biyolojik parçalanmanın kroma göre daha iyi olması nedenleriyle tercih edilmektedirler. Bitkisel tabaklama özellikle köselelik derilerin tabaklanmasında kullanılmaktadır (Jones, 2000; MEGEP, 2007).

Krom; deriye diğer tabaklama maddelerinden daha yüksek termal stabilite, hafiflik, yüksek mukavemet özellikleri gibi karakteristik özellikler kazandırmaktadır. Krom ile tabaklama, ayakkabıların üst derisi, el çantaları, cüzdanlar ve giyim eşyaları tabaklanırken kullanılmaktadır. Hayvansal yağlar kullanılarak deri işlenmesi, geçmişten günümüze kullanılan en eski tabaklama yöntemlerindedir ve balina yağı tabaklama maddesi olarak kullanılmaktadır. Genellikle yumuşak ve sağlam derilerin elde edilmesinde yağ ile tabaklama yöntemi kullanılmaktadır (MEGEP, 2007; Nashya ve ark., 2012).

### 1.6 DERİ KALİTESİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER

Derinin kalitesi menşesine, elde edilen hayvanın yaşam koşullarına, beslenmesine, cinsiyetine, türüne ve yaşına göre değerlendirilmektedir.

- *Menşei:* Avrupa'da yetişen hayvanlar çiftliklerde yaşamakta olup genellikle kesim için kullanılmaktadırlar. Bu yüzden derilerindeki dokular yumuşaktır. Diğer bölgelerde yetişen hayvanlar ise açık alanlarda sürü halinde yaşamaktadırlar. Bu sürü hayvanlarının derilerine vurulan damgalar, deri hatası şeklinde değerlendirilmektedir. Bundan dolayı çiftliklerde yetişen hayvanların derileri kullanıma daha elverişli ve kıymetlidir.

• *Hayvanın Yaşadığı İklim Koşulları:* Ilıman iklimlerde yaşayan hayvanların derileri ile sert ve soğuk iklimlerde yaşayanların derileri birbirlerinden farklıdır. Sert ve soğuk iklimde yaşayan hayvanların derileri daha az sert olup, iyi bir deri yüzey ve dokusuna sahiptirler.

• *Yetiştirilme Koşulları:* Hayvanların deri kaliteleri yetiştirilme koşullarına göre değişiklik göstermektedir. Örneğin, damızlık ve besi için seçilmiş, et, süt ve yününden yararlanılanların deri kalite oranları düşüktür.

• *Beslenme ve Bakım:* Yeşil alanlarda beslenen hayvanlar meralarda beslenen hayvanlara oranla daha kaliteli deri yapısına sahiptirler. Hayvanlar ne kadar çok yeşilliklerle beslenir ise gelişmeleri ve deri kaliteleri de o oranda artmaktadır.

• *Hayvanın Cinsiyeti veırkı:* Erkek hayvan derileri ile kıyaslandığında dişi hayvan derileri daha sıkı bir yapıya ve daha ince bir deri yüzeyine sahiptirler. Bunun yanısıra dişi hayvanların yavru lamalarıyla derilerinin kalitesi azalmaktadır. Safkan ırklar melez ırklara oranla daha kaliteli deriye sahiptirler.

• *Hayvanın Yaşı:* Hayvanlar yaşlandıkça derilerinin kalitesi azalmakta, deri sırça yüzeyi kalınlaşmakta ve deri dokusu gevşemektedir (MEGEP, 2007).

## **1.7 DERİ ISLATMA SIVISI İLE YAPILAN ÇALIŞMALAR**

Ham deride, ıslatma sıvılarında, tuzlu salamura sıvılarında lipolitik ve proteolitik enzimler üreten mikroorganizmalar bulunmaktadır. Mikroorganizmaların ürettikleri bu enzimler, derilerde hasarlar oluşturarak kıl kaybı, kötü koku oluşumu, kıl gevşemesi, sırça soyulması ve derilerde delik oluşumu gibi zararlar vermektedirler (Bailey ve Birbir, 1993; Bailey ve Birbir, 1996; Rangarajan ve ark., 2003).

Islatma sıvılarındaki bakteriyel populasyonun kontrolü için mikroorganizmaların gelişimlerini engelleyen veya mikroorganizmaları öldüren antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır. Bu maddelerin etkileri mikroorganizma çeşidine göre değişirken, her bir bakteri türünün bu kimyasallara gösterdikleri direnç de değişmektedir. Antimikrobiyal maddelerin uzun süreli kullanılmaları, yeterli dozda kullanılmamaları veya ıslatma sıvılarının yüksek oranda organik madde içermesi, izolatların bu maddelere karşı direnç göstermelerine neden olmaktadır. Bu sebepten ortamda antimikrobiyal maddeler buluns a bile mikroorganizma gelişimi görülebilmektedir. Islatma sıvılarındaki antimikrobiyal maddelerin antimikrobiyal aktivitesinin farklı

dönemlerde test edilmesi gerekliliği de araştırıcılar tarafından belirtilmiştir (Birbir ve ark., 2001; Weiss ve ark., 1984; Uğur, 2006; Birbir ve Birbir, 2006).

Yapıcı ve arkadaşları (2009), ıslatma sıvısından izole ettikleri Gram-pozitif *Staphylococcus* spp., *Diplococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. ve Gram-negatif bakterilere deri işlemede yaygın olarak kullanılan 5 adet bakterisit (Derbio DB 99®, Biocide B-7®, Aracit KL® , Preventol Z-L® ve Pluscide HP®) etkisini, disk difüzyon yöntemi ile *in vitro* olarak incelemişlerdir. Derbio DB 99 bakterisinin izole edilen tüm bakteri türlerine etkili olduğu belirtilmiştir. Biocide B-7 *Staphylococcus* spp., *Diplococcus* spp. ve *Micrococcus* spp. üzerinde etkili olurken, Aracit KL ve Preventol Z-L sadece *Staphylococcus* spp. ve *Diplococcus* spp. üzerinde etkili bulunmuştur. Pluscide HP bakterisiti ise yeterli etki göstermemiştir. Sonuç olarak Derbio DB 99 bakterisiti en etkili bakterisit olarak belirlenmiştir.

Berber ve arkadaşları (2010), %12.5 didesil dimetil amonyum klorür ve %12.5 benzil dimetil amonyum klorür içeren antimikrobiyalin deri endüstrisinde uygulanan konsantrasyonunu (0.4 g/l) iki katına çıkararak (0.8 g/l) ana ıslatma sıvısına uygulamışlardır. 0.8 g/l'lik kullanım konsantrasyonunda ıslatma sıvısı içinde lipolitik ( $10^3$ - $10^4$  kob/ml) ve proteolitik ( $10^3$  kob/ml) bakterilerin saptandığını bildirmişlerdir. Uygulama süreci sonunda *Aerococcus viridans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter omnigenus* biogrup I, *Enterococcus avium*, *Enterococcus faecium*, *Kocuria varians*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Micrococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas putida*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus cohnii* ssp. *urealyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus cohnii* ssp. *cohnii*, *Staphylococcus warneri* ve *Vibrio parahaemolyticus* türlerini izole ederek tanımlamışlardır. Aynı zamanda toplanan tuz, tuzlanmış ham deri, ıslatılmış deri ve ıslatma sıvısı örneklerindeki arke ve bakteri popülasyonunun varlığı Floresans *in situ* Hibridizasyonu (FISH) tekniği ile saptanmıştır.

Bilgi ve arkadaşları (2009), ana ıslatma sıvısında bulunan bakterilere, farklı tuz konsantrasyonlarında %0.4 oranında Derbio DB 99 (kuaternize edilmiş bileşikler

içeren) bakterisitinin etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar bakterisit içeren ana ıslatma sıvısında proteolitik ve lipolitik bakteri sayısını  $10^4$  kob/ml olarak bulmuşlardır.

Rangarajan ve arkadaşları (2003), *Bacillus*, *Chromobacter*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Lactobacillus* ve *Serratia* cinslerine ait bakterileri ıslatma sıvısından izole ederek, ıslatmanın ilk aşamasında bakteriyel popülasyonun hızlıca azaldığını ve zamanla artma eğilimi gösterdiğini belirtmişlerdir.

Pfleiderer ve arkadaşları (1988), ıslatma sıvılarından *Bacillus*, *Chromobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Sarcina*, *Staphylococcus* ve *Serratia* cinslerine ait bakteri türlerini izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Çek Cumhuriyet'ine ait kuru tuzlanmış inek derileri ve Hindistan kökenli keçi derileri ile yapılan bir çalışmada ıslatılmış derilerde bakteri gelişimi olduğu görülmüştür. Kullanılan ıslatma sıvısında görülen ve deriler üzerinde delik oluşumuna neden olan bakteri türleri *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus anthracoides*, *Bacillus pumilus* ve *Pseudomonas aeruginosa* olarak açıklanmıştır. Ayrıca bu çalışmada derilerin ıslatmada uzun süreli bekletilmesi gerektiği durumlarda dezenfektan ilavesinin deri işlentisindeki önemi vurgulanmıştır (Orlita, 2004).

Uğur (2006), ön ve ana ıslatma sıvılarından Gram-negatif ve tuza toleranslı bakteriler izole etmiştir. Ön ıslatma sıvısındaki bakteri sayısı genellikle  $10^4$ - $10^5$  kob/ml arasında, ana ıslatma sıvısındaki bakteri sayısı ise  $10^6$ - $10^7$  kob/ml arasında tespit edilmiştir. Ana ıslatma sıvılarından proteolitik bakteri, lipolitik bakteri, proteolitik tuza toleranslı bakteri ve lipolitik tuza toleranslı bakteri izole ederek bu bakteriler üzerine 50 dakika süre ile 2A doğru elektrik akımı uygulayarak doğru elektrik akımının antibakteriyel etkisini araştırmıştır. Dört ana ıslatma sıvısındaki bakteriler 50 dakikada inaktive olurken, tüm ilk ıslatma sıvısında ve 3 ana ıslatma sıvısındaki bakteriler 20-30 dakikada inaktive olmuşlardır. Tüm ıslatma sıvısındaki bakterilerin doğru elektrik akımı ile tamamen öldüğünü ve ıslatma sıvısındaki mikroorganizmaların inaktivasyonu için doğru elektrik akımının kullanılmasının etkili bir yöntem olduğunu belirtmiştir.

Muthusbramanian ve Mitra (2006), derilerde bulunan mikroorganizmaları ve zararı önlemek için bronopol'ü (2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol) ıslatma sıvılarında bakterisit

olarak kullanmışlardır. Yapılan çeşitli deneyler deri ağırlığının, örneğin alındığı deri kısmının ve depolanma süresinin, ıslatma sıvısı miktarının ve sıcaklığın ıslatma üzerine etkili olabileceğini göstermiştir. Okamura ve Kawamura (1965), ıslatma işlemi koşullarının ıslatma sıvısındaki uçucu azot miktarı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Islatma işleminden sonra, ıslatma sıvısındaki toplam azot ve uçucu azot miktarlarını ayrı ayrı belirlemişlerdir. Islatma süresinin uzatılmasının, sıcaklığın yükselmesinin ve deri tazeliğinin ıslatma sıvısındaki uçucu azot miktarının artmasına neden olduğunu açıklamışlardır. Bunun yanında deri ağırlığının, deri kısmının ve ıslatma sıvısı miktarının ıslatma sıvısındaki uçucu azot miktarının artması ile ilişkisi olmadığını da ortaya koymuşlardır.

Yapıcı (2008), ana ıslatma aşamasında bakterisit ile birlikte bir fungusit kullanımının mikrobiyal yüke etkilerini incelemiştir. Araştırmacı çalışmasında bu amaçla potasyum dimetil ditiyokarbamat ve dörtlü bileşikler içeren bakterisitler ile farklı konsantrasyonlarda 2-tiosiyanometiltio benzotiazol bazlı fungusit kullanmıştır. Ana ıslatma işleminin sonunda alınan ıslatma sıvılarında, toplam aerobik bakteri sayıları, proteolitik ve lipolitik bakteri sayıları, toplam aerobik, proteolitik ve lipolitik fungus sayıları ayrı ayrı belirlenmiştir. Araştırmacı %0.5 oranında potasyum dimetil ditiyokarbamat içeren bakterisit, %0.5 oranında 2-tiosiyanometiltio benzotiazol bazlı fungusit ile birlikte kullanıldığı zaman, tek başına kullanımından daha etkili olduğunu saptamıştır. Bu iki antimikrobiyalin kullanılmasıyla sinerjistik bir etkinin oluştuğu, ana ıslatma sıvısındaki fungus sayısının önemli oranda azaldığı ve ortamda bakteri üremesinin görülmediği belirtilmiştir.

## **1.8 ENTEROBACTERIACEAE FAMILİYASI HAKKINDA GENEL BİLGİ**

*Enterobacteriaceae* familyası, biyokimyasal özelliklerine, antijenik yapılarına, nükleik asit hibridizasyonu ve sekanslarına göre sınıflandırılmış 53 cins ve 318 türe sahiptir. Bu familyaya ait 53 cins; *Arsenophonus*, *Biostraticola*, *Brenneria*, *Buchnera*, *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Calymmatobacterium*, *Cedecea*, *Citrobacter*, *Cosenzaea*, *Cronobacter*, *Dickeya*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Ewingella*, *Gibbsiella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Levinea*, *Lonsdalea*, *Mangrovibacter*, *Moellerella*, *Morganella*, *Obesumbacterium*, *Pantoea*,

*Pectobacterium*, *Phaseolibacter*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Pragia*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Raoultella*, *Saccharobacter*, *Salmonella*, *Samsonia*, *Serratia*, *Shigella*, *Shimwellia*, *Sodalis*, *Tatumella*, *Thorsellia*, *Trabulsiella*, *Wigglesworthia*, *Xenorhabdus*, *Yersinia* ve *Yokenella*'dır. Bu cinslerden 26 tanesinin insanlarda enfeksiyonlarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Özellikle DNA hibridizasyonu gibi yeni teknolojik uygulamalar, *Enterobacteriaceae* sınıflandırmasında sayısız değişikliklere neden olmaktadır (Hong ve ark., 2007). *Enterobacteriaceae* familyasında bazısı sıradışı ve nadir olmak üzere birçok yeni cins ve türler keşfedilmiş ve birçok tür diğer cinslere transfer edilmiştir. Örneğin; *Enterobacter sakazakii*, artık *Cronobacter sakazakii* olarak sınıflandırılmaktadır (Iversen ve ark., 2007).

Tüm *Enterobacteriaceae* üyeleri aerob ve fakültatif anaeroblardır. Çoğu tür 37 °C'de gelişebilirken, bazı türler 25-30 °C'de daha iyi gelişim gösterirler. *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri sporsuz, glikozu fermente eden, nitratı nitrite indirgeyen (*Erwinia* cinsinin bazı suşları hariç), katalaz pozitif, oksidaz negatif, 0.3-1.0x1.0-6.0 µm boyutlarında, çomak şekilli Gram-negatif bakterilerdir. Genelde Gram-negatif çomakları seçen besiyerlerinde iyi üremektedirler. Mac Conkey agar, Endo agar, Eosin-Metilen Blue (EMB) agar besiyerleri bu amaçla geliştirilmiştir. Besiyerinde mukoid koloniler *Klebsiella* gibi kapsüllü enterik bakterileri; yeşil röfle ya da metalik parlaklık veren koloniler *E.coli* cinsi bakterileri; besiyerinde yayılma gösterenler ise *Proteus* cinsi bakterileri tanımlamaktadır. Familyayı oluşturan bazı türlerin peritriköz kirpikleri vardır ve bu türler hareketlidirler. *Tatumella*, *Shigella* ve *Klebsiella* türleri ise hareketsizdirler. Bazı suşlar tek karbon ve enerji kaynağı olan D-glukoz'da gelişirken, diğer suşlar gelişmek için amino asitlere ya da vitaminlere ihtiyaç duymaktadırlar. *Enterobacteriaceae* familyasının bazı üyeleri D-glukoz ve diğer farklı karbonhidratların fermantasyonu sırasında asit üretirler (Holt ve ark., 1994; Tünger ve ark., 2003; Ewing ve ark., 1980).

Familya üyelerinin tanımlanmaları için bazı biyokimyasal özelliklerinden de yararlanılmaktadır:

- Türlerin ayrımında laktozu fermente etme özelliğinden yararlanılmaktadır. *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* cinsleri laktozu fermente edebilirken, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus* ve *Yersinia* cinslerine ait türler laktozu fermente edemez.

- Safra tuzlarına direnç özelliği bu familyayı oluşturan cins ve türlerin ayrımı için kullanılmaktadır. *Salmonella* ve *Shigella* safra tuzlarına dirençlidir. Normal florada bulunan diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri ise safra tuzları ile inhibe olurlar.
- *Salmonella* ve *Proteus* cinsleri hidrojen sülfür oluşturmaktadırlar (Tünger ve ark., 2003).

Doğada, toprakta, suda ve birçok canlının barsak florasında yaygın olarak bulunan *Enterobacteriaceae* familyasındaki *Salmonella*, *Shigella*, ve *Yersinia* cinsleri insanlar için her zaman patojendirler. Florada yer alan *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, ve *Proteus mirabilis* türleri buldukları normal vücut bölgelerinden ayrıldıklarında enfeksiyonlara neden olmaktadır (Tünger ve ark., 2003).

*Enterobacteriaceae* familyası koliform ve koliform olmayan *Enterobacteriaceae* olmak üzere 2 alt gruba ayrılır. Koliformlar, *E. coli* ve diğer Gram-negatif enterik flora içeren (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia* ve *Citrobacter*), sporsuz, aerobik ya da fakültatif anaerobik bakterilerdir. Laktozu 48 saat içinde fermente eder, gaz ve asit üretirler. Koliform olmayanlar normal flora ya da patojenlerden oluşmakta (*Proteus*, *Morganella*, *Providencia* ve *Edwardsiella*), laktozu ya hiç fermente edememekte ya da yavaş fermente etmektedirler (Talaro ve Chess, 2014). Familyanın hücre duvarında LPS (lipopolisakkarit) yapıda bulunan polisakkaritlerle özelleşen somatik antijenler (O-antijenleri) ve hareketli kökenlerde kirpik antijenleri (H- antijenleri) bulunmaktadır. Bazı cinslerde ise kapsüle ait antijenler görülebilmektedir (*E. coli*, *Klebsiella* -K antijeni, *S. typhi*, *Citrobacter* -Vi antijeni). Bu antijenler tür ayırımında ve epidemiyolojik takipte çok önemlidir (Tusdata, 2010).

## **1.8.1 Çalışmamızda İslatılmış Derilerden İzole Edilerek Tanımlanan *Enterobacteriaceae* Familyası'na Ait Bakteriler Hakkında Genel Bilgiler**

### **1.8.1.1 *Enterobacter* Cinsi**

*Enterobacter* cinsinin şimdiye kadar tanımlanmış 28 türü ve 2 alt türü bulunmaktadır. Sadece 10 türü klinik materyallerden izole edilmektedir. Dışkı florasında bulunan Gram-negatif enterik basillerdir. *Enterobacter* cinslerinin bazılarında kapsül vardır. Peritrik flagellaları ile hareketli oluşları ve ornitin dekarboksilasyonu yapmaları

*Klebsiella* cinsinden ayırt edilmelerini sağlamaktadır. H<sub>2</sub>S oluşturmeyen fakültatif anaeroblardır. Glukoz ve laktozu fermente ederek asit ve gaz üretmektedirler. Çoğunun sitrat ve Voges-Proskauer testi pozitif, triptofandan indol üretimi ve metil kırmızısı testi ise negatiftir. Genellikle karbon ve enerji kaynağı olarak sitrat ve malonat kullanılmaktadır. DNase, Tween 80, esteraz ve lipaz üretmezler. Gelişmeleri için optimum sıcaklık 30 °C'dir (Richard, 1984; Koneman, 1997; <http://www.bacterio.net/>, 2015).

Klinik örneklerden en sık izole edilen türler *E. cloacae*, *E. aerogenes* ve *E. sakazakii* (*Cronobacter sakazakii*)'dir. İnsanlarda özellikle *Enterobacter cloacae* ve *Enterobacter aerogenes* alt solunum yolu enfeksiyonları, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları (UTI- Urinary Tract Infection), endokardit, karın içi enfeksiyonlar, septik artrit, kemik iliği iltihabı ve göz enfeksiyonlarını da kapsayan çeşitli enfeksiyonlardan sorumlu nozokomiyal patojenlerdir (Fraser ve ark., 2009; Tusdata, 2010).

*Enterobacter* cinsleri toprakta, suda, bitkilerde ve ayrıca insan ve hayvanların kalın bağırsağı ve dışkıında bulunmaktadır. *E. cloacae* ve *E. agglomerans*'ın sebep olduğu, toplardamar içine verilen sıvıyla bulaşan, bakteriyemi salgınları görülmüştür. *E. cloacae*'nin ısıya dirençli enterotoksin üreten suşları vardır. *E. sakazakii* (*Cronobacter sakazakii*), yeni doğanlarda menenjit ve bakteriyemiden sorumludur, ayrıca beyin apsesi, pnömoni ve yara enfeksiyonlarından da izole edilmiştir (Unat, 1986; Madigan ve ark., 2015). *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter sakazakii*), genellikle üreaz negatif ve jelatinaz pozitifdir. Sarı pigment üretmesi tanımlanmasında önemlidir, bu sarı pigment en iyi 25 °C'de oluşturulmaktadır (Brenner, 2005).

### **1.8.1.2 Proteus Cinsi**

*Proteus* cinsinin şimdiye kadar tanımlanmış 8 türü bulunmaktadır ve bunlardan 3 tanesi (*Proteus mirabilis*, *Proteus penneri* ve *Proteus vulgaris*) hastalıklara neden olmaktadır. *Proteus* türleri hareketli, üreaz enzimi ve H<sub>2</sub>S üretimleri pozitif ve laktoz fermente edemeyen bakterilerdir. Peritrik flagellaları ile *Enterobacteriaceae* ailesinin en hareketli cinsi oldukları için besiyerlerinde (kanlı agar) halkalar oluşturarak yayılım göstermektedirler. Kültürlerde kokuşmuş balık veya lağım kokusu gibi tipik kokuları

vardır (Murray, 2009; Tünger ve ark., 2003; <http://www.bacterio.net/>, 2015). Triptofandan indol üretimi ve ornitin dekarboksilaz testleri ile iki türe ayrılırlar. *P. mirabilis* indol negatif ve ornitin dekarboksilaz pozitif iken, *P. vulgaris* indol pozitif ve ornitin dekarboksilaz negatiftir. *P. mirabilis* bu cins içinde en sık idrar yolu enfeksiyonu oluşturan türdür. *P. vulgaris*'in bazı O antijenleri (OX2, OX19) ile *Rickettsia*'ların ortak antijenleri bulunmaktadır. Bu yüzden riketsiyozların serolojik tanısında *Proteus*'lardan yararlanılmaktadır. Weil-Felix reaksiyonu riketsiyal antijenler ile *Proteus*'ların O antijenleri arasındaki çapraz reaksiyonu gösteren bir aglutinasyon testidir (Madigan ve ark., 2015). *Proteus* cinsi bakteriler üreaz enzimine sahip oldukları için, idrardaki üreyi parçalayıp amonyak oluşturmaktadırlar. Böylece idrar alkali hale gelmekte ve böbrek taşı oluşumuna neden olabilmektedirler. Ayrıca alkali idrarda fagositoz yeteneği azaldığı için enfeksiyon oluşumu kolaylaşmaktadır (Tünger ve ark., 2003).

#### **1.8.1.3 Providencia Cinsi**

Normal bağırsak florası üyesi olan *Providencia* cinsine ait 10 tür bulunmakta olup sadece 3 tür (*Providencia alcalifaciens*, *Providencia rettgeri* ve *Providencia stuartii*) insanlarda hastalık yapmaktadır. *P. stuartii* ve *P. rettgeri* özellikle immun sistemi baskılanmış hastalarda hayatı tehdit eden ağır enfeksiyonlara yol açabilmektedirler. Son yıllarda, uzun süreli üriner kateter kullanımına bağlı olarak gelişen üriner sistem enfeksiyonlarında ve bakteriyemilerde sık karşılaşılan etkenlerden biri de *P. stuartii*'dir (Töreci, 2008; <http://www.bacterio.net/>, 2015). Tüm suşlar hareketli, Gram-negatif kapsülsüz çomakçıklardır. Kanlı agar ve Mac Conkey agarda üreyen koloniler renksiz, düz, 2-3mm çapındadırlar ve halkalar oluşturmazlar. Laktozu fermente edemezler. Fermente olabilen karbonhidratlardan az miktarda gaz üretirler. H<sub>2</sub>S üretemezler, üre ve jelatini hidrolize edemezler. Sitrata kullanabilir ve D-mannitolü fermente edebilirler (Bilgehan, 2004; O'Hara ve ark., 2000).

#### **1.8.1.4 Morganella Cinsi**

*Morganella* cinsi 2 tür içermektedir. Hastane enfeksiyonlarında, immun sistemi baskılanmış hastalarda ve yeni doğanda enfeksiyon etkeni olarak bilinen, üriner sistem ve yara enfeksiyonlarına yol açan türü *Morganella morganii*'dir. İnsanlarda dışkı, yara, balgam, göz, safra, mide ve idrardan izole edilmektedirler (Murray, 2007; Euzéby,

2013; <http://www.bacterio.net/>, 2015). Nutrient agarda 35 °C'de 24 saatte üreyen koloniler 1-2 mm çapında, grimsi, opak, yuvarlak, konveks ve düz kenarlıdırlar.

22 °C'de iyi gelişim göstermektedirler. Peritrik flagellaları ile genellikle hareketli, sporsuz, kapsülsüz, Gram-negatif çomakçıklardır. Bazı suşlar 30 °C'nin üzerinde flagella oluşturmamaktadırlar. *M. morganii* biyokimyasal açıdan hareketli olmayan *Salmonella*'ya benzeyebilmektedir. %2 ve daha az agar içeren plak besiyerlerinde yayılarak üreyebilirler fakat halka oluşturmazlar. *Morganella*, H<sub>2</sub>S oluşturmaması, jelatinaz ve lipaz enzimlerini bulundurmaması ile *Proteus* türlerinden, ornitin dekarboksilaz enzimine sahip olması ile *Providencia* türlerinden ayrılmaktadır. Üre indol pozitif olup, glukozu kullanarak asit ve gaz üretmektedirler. Ayrıca mannoz, galaktoz ve trehalozdan da asit üretebilmektedirler (Murray, 2009; Bilgehan 2004; Jensen ve ark., 1992).

#### **1.8.1.5 Citrobacter Cinsi**

*Citrobacter* cinsi 12 tür içermekte olup 10 türü klinik materyallerden elde edilmiştir. Normal flora üyesi olarak insan ve hayvan dışkılarında bulunabilmektedirler. Sıradan bir besiyerinde kolayca büyüebilmektedirler (Euzéby, 2013; <http://www.bacterio.net/>, 2015). Peritrik flagellaları ile hareketli, sporsuz ve kapsülsüzdürler. Mukoid ya da pürüzlü suşlar oluşabilmesine rağmen koloniler genellikle gri, pürüzsüz ve nemlidirler. Bazı suşları biyokimyasal olarak *Salmonella*'ya benzemektedir. Klinik örneklerden en sık *C. freundii* ve *C. diversus* (*C. koseri*) izole edilmektedir *C. freundii* H<sub>2</sub>S oluşturduğu için *Salmonella* ile karışabilir. *Salmonella*'dan, KCN varlığında üreyebilmeleri, lizin dekarboksilaz ve ONPG negatif olmaları ile ayrılırlar. Metil kırmızısı reaksiyonu pozitif, Voges- Proskauer reaksiyonu negatif, glikozdan gaz oluşturan, laktozu geç fermente eden ya da edemeyen, üreyi yavaş ve zayıf hidrolize edebilen bakterilerdir. Eskülin, arabinoz, glukoz, galaktoz, gliserol, inositol, laktoz, levuloz, maltoz, mannitol, mannoz, rafinoz, ramnoz, salisin, sorbitol, nişasta, sukroz, trehaloz ve ksilozdan asit ve gaz üretmektedirler (Koneman, 1997; MacFaddin, 2000). *C. freundii*, özellikle bağışıklık sistemi yetersiz olan hastalarda diareye ve ağır sepsislere yol açabilmektedir. *Citrobacter* menenjit, hemen hemen yalnızca *C. koseri* ile ilişkilidir ve en sık yeni doğanda görülmektedir. Menenjit olgularının %75'inde beyin apsesi gelişmektedir (Töreci, 2008).

#### 1.8.1.6 *Serratia* Cinsi

Toplamda 18 türü ve 4 alt türü bulunmaktadır. Çoğunlukla klinik materyallerden izole edilen 2 türü; *Serratia marcescens* ve *Serratia liquefaciens*'tir. *S. marcescens* prodigiosin denilen bir pigment üretmektedir. Pigment üretimi, tür tipi ve inkübasyon süresine bağlı olarak türler arasında oldukça değişkenlik göstermektedir. Pigment üretmeyen koloniler *Enterobacteriaceae* familyasının diğer üyeleriyle benzerlik göstermektedirler. Çoğu *Serratia* türü hareketli olup peritrik flagellaları bulunmaktadır. Fakültatif anaerop, H<sub>2</sub>S oluşturmeyen, laktozu yavaş fermente eden bakterilerdir. Hücreleri çomak şeklinde ve 0.5-0.8 µm x 1.0-5.0 µm çapındadır. Optimal gelişim sıcaklığı 37 °C olup 5-40 °C arasında da gelişebilmektedirler. *Serratia* cinsi gaz oluşumu ile glukoz ve sükröz fermantasyonu yönünden pozitif, indol ve üre üretimi bakımından negatiftir. Klinik örneklerden en sık izole edilen tür olan *S.marcescens* anaerop besiyeri oluşturmada kullanılmaktadır. Dezenfektanlara nispeten dirençlidir. *Enterobacteriaceae* ailesinde spor oluşturabilen tek organizma, *S. marcescens*'in alt türü olan *S. marcescens subsp. sakuensis*'dir (Murray, 2009; Tusdata, 2010). *S.marcescens* hastane enfeksiyonları şeklinde; solunum yolları ve yara enfeksiyonlarına, en sık da üriner sistem enfeksiyonlarına yol açan fırsatçı bir patojendir. Aynı zamanda bakteriyemiye de yol açabilmektedir. *Serratia liquefaciens*, *Serratia fonticola*, *Serratia odorifera*, *Serratia plymuthica* ve *Serratia rubidaea* türleri *Serratia marcescens*'e kıyasla daha az hastalık yapıcıdır (Bilgehan, 2004; Abbott, 2007).

#### 1.8.1.7 *Ewingella* Cinsi

Gram-negatif, peritrik flagellalı, çomak şeklinde fırsatçı patojenlerdir. Fakültatif anaerobik olup pigment oluşturmazlar. Optimum gelişme gösterdikleri sıcaklık 26 °C'dir. *Ewingella americana* insanlarda nadir görülen bir patojendir. Polimikrobik bakteriyemi, peritonit, idrar yolu enfeksiyonları gibi hastane kökenli enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Balgam, kan ve yaradan izole edilebilmektedir. Aynı zamanda *Agaricus bisporus* kültür mantarının patojeni olup "iç sap nekrozu" denilen esmerleşme bozukluğuna neden olmaktadır. Doğal kaynağı bilinmemekle beraber hayvanlardan (salyangoz ve sümüklü böcek bağırsak içeriği), havuçtan ve vakumlu paketlenmiş etlerden izole edilmiştir. Laktozu fermente etmektedir. Voges-Proskauer, metil kırmızısı

ve sitrat üretimi bakımından pozitifdir. H<sub>2</sub>S üretimi, üre hidrolizi, lipaz, DNaz, arjinin dehidroliz, lizin ve ornitin dekarboksilaz testlerinin negatif olmasıyla diğer enterobakterlerden kolayca ayırt edilebilmektedir (Reyes ve ark., 2004; Dwarkin ve ark., 2006).

## **1.9 ANTİBİYOTİKLER HAKKINDA GENEL BİLGİLER**

### **1.9.1 Antibiyotik ve Antibiyotik Direnci**

Antibiyotikler çeşitli mikroorganizma türleri (bakteriler, mantarlar, actinomyces) tarafından sentezlenen ve diğer mikroorganizmaların gelişmesini engelleyen veya onları öldüren doğal maddelerdir. Önceden antibiyotiğe duyarlı olan bir suş zamanla test edilen antibiyotiğe karşı direnç gösterebilir. Çoğu antimikrobiyal ilaç direnci için genetik değişimle transfer edilebilen direnç genleri gerekmektedir. Tüm mikroorganizmaları inhibe eden bir antibiyotik olmadığı için, bazı mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı doğal olarak dirençlidirler. Birçok Gram-negatif bakteri hücre duvarı yapıları nedeniyle vankomisin ve metisiline doğal direnç göstermektedir. Bir antibiyotik çeşidine karşı duyarlılığını kaybeden bakteri türü, o antibiyotiğe yakın kimyasal yapıda olan veya benzer etki mekanizmasına sahip olan diğer bir antibiyotiğe karşı da direnç kazanabilir. Bu olaya çapraz-direnç adı verilmektedir. Çapraz dirence örnek olarak, tetrasiklinlere direnç kazanmış Gram-negatif bakterilerin, benzer etki mekanizmasına sahip olan kloramfenikol'a da direnç göstermeleri verilebilmektedir.

Mikroorganizmaların, genetik değişimlere bağlı olarak önceden duyarlı oldukları bir antibiyotiğe karşı direnç kazanmaları sonucu kazanılmış direnç ortaya çıkmaktadır. Bu antibiyotik direnci genetik olarak ya kromozomal DNA'da ya da direnç plazmitlerinde kodlanmıştır. Bakterilerde en sık görülen antibiyotik direnci plazmid kaynaklıdır. Bakteri kromozomunda veya plazmitlerinde bulunan direnç genleri, yavru hücrelere bakteri bölünmesi ile aktarılmaktadır. Plazmidler konjugasyon ile diğer bakterilere aktarılabilir (Tünger ve ark., 2003; Madigan ve ark., 2015; Bilgehan, 1994; Yüce, 2001).

*Enterobacteriaceae* üyelerindeki (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Enterobacter* spp.) antibiyotik direncinin en önemli kaynağı, beta-laktam

antibiyotiklerini hidrolize eden ve inaktif hale getiren  $\beta$ -laktamaz enzimleridir.  $\beta$ -laktamazlar en çok Gram-negatifler tarafından sentezlenirler. Bir antibiyotiğin etkili olduğu mikroorganizma grubunu antibakteriyel spektrum tanımlamaktadır. Geniş spektrumlu antibiyotikler, çok sayıda Gram-negatif ve Gram-pozitif mikroorganizmaya etkilidir. Dar spektrumlu antibiyotiklerin etkili olduğu mikroorganizma sayısı sınırlıdır. Bakteriyostatik etki, mikroorganizmaların üreme ve gelişmelerinin durdurulmasıdır ve minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ile ifade edilmektedir. MİK, bir bakterinin üremesini ve gelişimini durduran en küçük antibiyotik konsantrasyonudur. Bakterisidal etki ise mikroorganizmanın öldürülmesidir ve minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK) ile ifade edilmektedir. MBK, bir bakteriyi öldürebilen en düşük antibiyotik konsantrasyonudur (Tünger ve ark., 2003; Demirtürk ve Demirdal, 2004; Madigan ve ark., 2015).

**Tablo 1.2.** Etkilerine Göre Antibiyotikler (Tünger ve ark., 2003).

<i>Bakterisidal Etkililer</i>	<i>Bakteriyostatik Etkililer</i>
Beta-laktamlar	Tetrasiklinler
Aminoglikozidler	Sülfonamidler
Vankomisin	Kloramfenikol
Rifampin	Makrolidler
Kinolonlar	Klindamisin

### 1.9.2 Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları ve Sınıflandırılması

Antimikrobiyal maddeler etki mekanizmalarına göre 5 kategoriye ayrılmaktadır;

1. Hücre duvarı sentezini engelleyenler (inhibe edenler)
2. Sitoplazmik membranın yapı ve fonksiyonunu engelleyenler
3. Protein sentezini engelleyenler
4. Bakteri metabolizmasını bozanlar (Antimetabolitler)
5. Nükleik asit sentezini engelleyenler (Tünger ve ark., 2003).

## **1.9.2.1 Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu: Beta-laktamlar ve Glikopeptidler**

### **1.9.2.1.1. Beta-laktam antibiyotikler**

Bu grupta yer alan tüm antibiyotikler yapılarında beta-laktam halkası içermektedirler. Beta-laktam antibiyotikler, hücre duvarı sentezini engelleyerek ve kısmen de otolitik enzimleri aktive ederek bakterisidal etki göstermektedirler. Streptokoklar hariç hemen her bakteride bulunmaktadır. Bir kısmı bakteri kromozumunda doğal olarak bulunurken, bazıları da plazmid gibi genetik eleman nakli ile alınmaktadır. Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler ve monobaktamlar bu grupta yer almaktadır (Leblebicioğlu ve ark., 2008, Tünger ve ark., 2003).

#### **A) Penisilinler**

Penisilin grubu antibiyotikler tıp alanında kullanılan en eski antibiyotiklerdir. Bu antibiyotik grubu, transpeptidasyonda görevli penisilin bağlayan protein (PBP)'lere bağlanarak hücre duvarı sentezinde transpeptidaz enzimin baskılanmasına neden olmaktadır. Enzimin baskılanması, bakteri hücre duvarı yapısında bulunan peptidoglikan tabakalarına monomerlerin eklenmesini engellemektedir. Sonuç olarak bakteri hücre duvarının bütünlüğü bozulmakta, sitoplazma zarı parçalanmakta, bakterinin dış ortama olan direnci kaybolmakta ve hücre ölümü meydana gelmektedir (Balcı, 2007). Gram-pozitif bakterilerde lipid dış membranın olmayışı antibiyotiklerin bakteriye ulaşımını farklılaştırmaktadır. Bazı antibiyotik bağlanmaları hücre ölümüne, bazıları da hücre morfolojisinin değişimine neden olmaktadır (Leblebicioğlu ve ark., 2008).

#### **B) Sefalosporinler**

*Cephalosporium acremonium* isimli bir mantardan elde edilerek antibakteriyel tedavi süreçlerinde sıklıkla kullanılan antibiyotik türlerinden biridir. Penisilinler gibi bakteri hücre duvarı oluşumundaki basamakları katalizleyen ve PBP olarak bilinen enzimleri inhibe ederek bakterisidal etki göstermektedirler. Sefalosporinler, antimikrobiyal etkinliklerine göre birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü kuşak olarak sınıflandırılmaktadırlar. Kuşak sayısı arttıkça Gram-pozitif etkinlik azalmakta, Gram-

negatif etkinlik artmaktadır. Genel olarak üçüncü kuşak sefalosporinlerin Gram-negatif aerop bakterilere karşı etkinliği birinci kuşaktakilerden çok daha fazladır. Tüm sefalosporinler streptokoklara karşı etkilidirler. *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia* spp.'in yaptığı beta-laktamazlar sefalosporinleri inaktive edebilmektedir. Sefalosporinler Gram-negatif bakteri hücre duvarından porinleri kullanarak geçmektedirler. Porinlerin sayı veya çapında olan değişiklikler bakteriyel dirençle sonuçlanmaktadır. Özellikle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter cloacae* suşlarında sefalosporinlere karşı porin geçirgenliğindeki azalma sonucu direnç görülmektedir (Leblebicioğlu ve ark., 2008; Öncül, 2002).

### **C) Karbapenemler**

Karbapenemler, Gram-negatif ve Gram-pozitif aerob ve anaerob bakteriler üzerinde etkili ve etki spektrumları en geniş beta laktamlardır. Klinik kullanıma giren ilk karbapenem türevi olan en geniş spektrumlu antibiyotik imipenemdir. Diğer bir karbapenem antibiyotik ise meropenemdir ve imipenemden farklı olarak nörotoksik etkisi yoktur. Meropenemin Gram-negatif, imipenemin Gram-pozitif etkinliği biraz daha fazladır. Her ikisi de Gram-negatif enterik bakteriler, non-fermantatif bakterilerden *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* türlerine çok etkindirler. Gram-pozitif bakterilerden streptokoklara, pnömokoklara, stafilokoklara (metisiline duyarlı olanlar) çok iyi etkinlik gösterirler (Tünger ve ark., 2003). Karbapenemler, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacteroides fragilis* ve *Serratia*'lar tarafından salgılanan çinko metalloenzimlere duyarlıdır. Birçok beta-laktamaz türüne dirençlidirler. Ertapenem ve doripenem de bu grupta yer almaktadır (Leblebicioğlu ve ark., 2008).

### **D) Monobaktamlar**

Monobaktamlar yapılarında bulunan monosiklik yapıdaki çekirdek nedeniyle diğer beta-laktamlardan farklılık gösteren *Chromobacterium* spp., *Agrobacterium* spp., *Gluconobacterium* spp., *Flexibacterium* spp. ve *Pseudomonas* spp. gibi toprakta yaşayan bakteriler tarafından üretilmektedirler. Aztroenam, *Chromobacter violaceum*'dan elde edilen ve halen kullanılmakta olan tek monobaktamdır, sadece Gram-negatif bakteriler üzerinde etkilidir. Bu antibiyotik hücre zarından geçerek

penisilin bağlayan proteinlere (PBP) bağlanmaktadır. Gram-pozitif veya anaerobik bakterilerde PBP'ye bağlanamadığı için antibakteriyel etkinliği yoktur (Balcı, 2007).

#### **1.9.2.1.2 Glikopeptidler**

Glikopeptidler hücre duvarı sentezinde beta-laktam antibiyotiklerin etkilediği evrenin daha öncesinde etkili olmaktadır. Glikopeptidlerin etkisi, üremekte olan bakterilere olmaktadır ve bakterisit etki gösteren bir antibiyotik grubudur. Bu bakterisitik etki sadece Gram-pozitif ve bazı Gram-negatif bakterilerde görülmektedir. Glikopeptidler sitoplazma zarının permeabilitesini değiştirerek ve RNA sentezini inhibe ederek de bakteriye zarar vermektedirler (Gold, 1996).

İlk kez 1956 yılında penisiline dirençli stafilokoklara etkililiği sonucunda kullanıma giren glikopeptid antibiyotik vankomisindir. Bakterilerin hücre duvarı sentezinin ikinci aşamasını engelleyerek etki etmektedir. Duyarlı mikroorganizmaların sitoplazmik membran permeabilitesini bozmakta ve kısmen de RNA sentezini önleyerek antimikrobiyal etki göstermektedir. Vankomisin sadece Gram-pozitif bakteriler üzerine etkili dar spektrumlu ve bakterisidal bir antibiyotiktir. Gram-negatif bakterilere etkisi yoktur (Tünger ve ark., 2003).

#### **1.9.2.2 Sitoplazmik membranın yapı ve fonksiyonunu inhibe edenler**

Polimiksinler gibi bazı polipeptid antibiyotikler deterjan gibi davranıp, bakteri hücre membranını bozmaktadırlar. Poliyen antibiyotikler ise, mantar ve hayvan hücre membranlarındaki steroller üzerinde etki göstermektedirler (Aslan, 1999).

#### **1.9.2.3 Protein sentezinin inhibisyonu**

##### **A) Aminoglikozidler**

Aminoglikozidler beta-laktam antibiyotikler ile sinerjik etkileşim göstermektedirler. Elde edilmiş ve kullanıma giriş tarihlerine göre streptomisin, neomisin, kanamisin, gentamisin, tobramisin, sisomisin, amikasin, netilmisin ve izepamisin bu gruptaki antibiyotikleri oluşturmaktadırlar. Aminoglikozidler, özellikle Gram-negatif bakteri ribozomlarında 30S alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe etmekte ve mRNA'daki genetik bilginin yanlış okunmasına yol açarak bakterisidal etki göstermektedirler. Sadece aerob bakterilere etkilidirler (Tünger ve ark., 2003).

## **B) Makrolidler**

Makrolidler genellikle *Streptomyces* türleri tarafından üretilen benzer yapıdaki antibiyotiklerin oluşturduğu homojen bir gruptur. Etki mekanizmaları, 70S bakteri ribozomunun 50S alt birimine bağlanarak protein sentezinin inhibisyonudur. Mikroorganizmanın türüne, üreme dönemine ve yoğunluğuna bağlı olarak bakteriyostatik veya bakterisidal etki gösterebilirler. Eritromisin, azitromisin, klaritromisin ve spiramisin bu grupta yer almaktadır. Eritromisin, makrolidlerin en eski üyesi olup Gram-pozitif kok ve basiller ile Gram-negatif kokları içeren dar bir antibakteriyel spektruma sahiptir. *Enterobacteriaceae* familyasındaki bakteriler eritromisine dirençlidir (Leblebicioğlu ve ark., 2008; Tünger ve ark., 2003).

## **C) Linkozamidler**

Linkozamidlerin grubunda linkomisin ve klindamisin bulunmaktadır. Mikroorganizmaların 50S'lik ribozomal alt birimlerine bağlanarak protein sentezini engellemektedirler. Ribozomlarda aynı bölgeye bağlandıkları için, birlikte kullanıldıklarında linkozamidler, kloramfenikol ve makrolidler antagonistik etki göstermektedirler. Etki spektrumu içine *S.aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar, *S. pyogenes* ve *S. pneumoniae* gibi Gram-pozitif koklar ve anaerob bakteriler girmektedir (Tünger ve ark., 2003).

## **D) Tetrasiklinler**

Tetrasiklinler, Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere, aerobik ve anaerobiklere, spiroketlere, mikoplazma, riketsiya, klamidy ve bazı protozoonlara etkili geniş spektrumlu antibiyotiklerdir ve bakteriyostatik etki göstermektedirler. Protein sentezini inhibe ederek bakteri çoğalmasını engellemektedirler. Ribozomal 30S alt birimine bağlanarak, aminoaçil-tRNA'nın ribozomal akseptör bölgeye tutunması önlenir ve böylece peptid zincirine yeni aminoasitler eklenemez (Leblebicioğlu ve ark., 2008; Strohl ve ark., 2006).

## **E) Kloramfenikol**

Kloramfenikol duyarlı bakterilerde protein sentezini 50S ribozoma olan etkisi ile inhibe ederek bakteriyostatik etki göstermektedir. Etki spektrumu içine birçok Gram-pozitif kok, gonokoklar, *Salmonella* türleri, *Haemophilus influenzae*, *Vibrio cholerae*, anaerob bakteriler, *Mycoplasma* ve *Rickettsia*'lar girmektedir (Tünger ve ark., 2003).

### **1.9.2.4 Bakteri metabolizmasını bozanlar (Antimetabolitler)**

Hücrenin önemli metabolitlerine bağlanarak enzim inhibisyonu sağlamakta veya nükleik asitler gibi önemli moleküllerin arasına girerek etki göstermektedirler. Trimetoprim, sülfonamidler ve sülfonlar bu grupta bulunmaktadır. Sülfametoksazol folik asit sentezinin birinci basamağı olan paraaminobenzoik asitten (PABA) dihidrofolik asit oluşumunu, trimetoprim ise folik asit sentezinin ikinci basamağında dihidrofolik asitten tetrahidrofolik asit oluşumunu engellemektedir. Böylece bakteriyel DNA ve RNA sentezi durmakta ve bakteriler ölmektedir. Sülfametoksazol ve trimetoprim tek başlarına bakteriyostatik etkili iken, kombinasyonu olan trimetoprim/sülfametoksazol bakterisidal etkilidir (Aslan, 1999; Tünger ve ark., 2003).

### **1.9.2.5 Nükleik asit sentezini inhibe edenler**

#### **A) Kinolonlar**

Tümü sentetik olarak elde edilen antibakteriyel ilaçlardır. Kinolonlar, DNA-giraz enzimini inhibe ederek bakterisid etki göstermektedirler. Kinolonların etkisine maruz kalan bakteriler bölünemezler, anormal şekilde uzayıp ölürlür. Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere etkilidirler. İlk sentezlenen kinolon olan nalidiksik asit, *in vitro* koşullarda sadece *Enterobacteriaceae* familyasına etkili olup idrarda yüksek yoğunluklara ulaşarak idrar yolu enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Florokinolonlar (Ofloksasin, siprofloksasin, enoksasin, norfloksasin, pefloksasin ve levofloksasin) da bu grupta yer almaktadır (Tünger ve ark., 2003; Leblebicioğlu ve ark., 2008).



## BÖLÜM 2

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 2.1 MATERYAL

##### 2.1.1 Araştırma Olanakları

Fen Edebiyat Fakültesi Bitki Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan Distile Su Cihazı (GFL), otomatik pipetler, Terazi (Sartorius Analytic), Etüv (Nüve EN500), Otoklav (Web MLW), Pasteur Fırını (Kermanlar), Vorteks Tüp Karıştırıcısı (Nüve), Mikroskop (Olympus), Santrifüj (Sigma), Buzdolabı (Arçelik), Çalkalamalı Etüv (Edmund Bühler), pH Metre (WTW), Biyogüvenlik Kabini, Desikatör ve Çeker Ocak'tan faydalanılmıştır.

##### 2.1.2 Kullanılan Besiyerleri, Kimyasallar, Test Kitleri ve Antibiyotikler

%0.85 NaCl İçeren Steril Fizyolojik Tuzlu Su, NaCl, Kalsiyum Klorür ( $\text{CaCl}_2$ ), Kristal Viyole Çözeltisi, %95 Etil Alkol Çözeltisi, Safranin Çözeltisi, Oksidaz Test Ajanı, Katalaz Test Ajanı (%3  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), Eozin Metilen Mavisi (EMB) Agar Besiyeri, İndol Besiyeri, Kovaks Ayırıcı, Metil Kırmızısı Ayırıcı, Voges Proskauer Ayıraçları, 0.5 No'lu McFarland Solüsyonu, Triple Sugar Iron Agar Besiyeri, Triptik Soy Agar (%4 jelatin), Fenol Kırmızısı, %10'luk Ferrik Klorür ( $\text{FeCl}_3$ ) Ayırıcı, Aminoasit Dekarboksilaz Besiyeri, Bromkresol Moru Solüsyonu, Kresol Kırmızısı Solüsyonu, %1'lik L-Alanin Solüsyonu, %1'lik L-Lizin Solüsyonu, %1'lik L-Prolin Solüsyonu, Kazein Besiyeri, Pepton Broth Besiyeri, Nitrat Besiyeri, Nessler Ayırıcı, Tween 80 Agar Besiyeri, Agar, Mueller Hinton Broth Besiyeri, Mueller Hinton Agar Besiyeri, Tryptone (Trypton), Enzimatik Pepton, Mineral Yağ, API 20E Kitleri, Alkol, Durham Tüpü, 0.45  $\mu\text{m}$  Membran Filtre İçeren Şırıngalar, 200 ve 1000  $\mu\text{l}$ 'lik Otoklova Dayanıklı Otomatik Pipet Uç Kutusu, 18 ml'lik Cam Tüpler, Amikasin (30 $\mu\text{g}$ ), Ampisilin (10  $\mu\text{g}$ ), Ampisilin/sulbaktam (10/10  $\mu\text{g}$ ; 20  $\mu\text{g}$ ), Amoksisilin/klavulanik asit (20/10  $\mu\text{g}$ ; 30  $\mu\text{g}$ ), Sefalotin (30  $\mu\text{g}$ ), Sefoksitin (30  $\mu\text{g}$ ), Seftazidim (30  $\mu\text{g}$ ), Seftriakson (30  $\mu\text{g}$ ), Sefuroksim sodyum (30  $\mu\text{g}$ ), İmipenem (10  $\mu\text{g}$ ), Kloramfenikol (30  $\mu\text{g}$ ), Siprofloksasin (10  $\mu\text{g}$ ), Gentamisin (10  $\mu\text{g}$ ), Kanamisin (30  $\mu\text{g}$ ), Meropenem (10  $\mu\text{g}$ ),

Nalidiksik asit (30 µg), Norfloksasin (10 µg), Ofloksasin (5 µg), Piperasilin/Tazobaktam 10:1 (110 µg), Streptomisin (10 µg), Sülfametoksazol/Trimetoprim (25 µg), Tetrasiklin (30 µg), Tobramisin (10 µg) ve Aztreonam (30 µg)

#### **2.1.2.1 %0.85 NaCl içeren steril fizyolojik tuzlu su**

Sodyum klorür.....: 0.85 g

Distile su.....: 100 ml

121 °C’de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir.

#### **2.1.2.2 Eozin Metilen Blue Agar (EMB)**

Eozin Yellowish.....: 0.4 g

Pepton.....: 10.0 g

Di potasyum hidrojen fosfat.....: 2.0 g

Laktoz.....: 5.0 g

Sükroz.....: 5.0 g

Metilen mavisi.....: 0.07 g

Agar agar.....: 13.5 g

Distile su.....: 1000 ml

pH.....: 7.0

121 °C’de otoklavda steril edilmiştir.

#### **2.1.2.3 Gram’ın İyot Çözeltisi**

İyot kristalleri .....:1 g

Potasyum iyodür (KI).....: 2 g

Distile su.....: 300 ml

İyot ve potasyum iyodür bir havanda ezilip, azar azar distile su ilave edilerek eritilmiştir. Tamamı eridikten sonra distile su ile 300 ml’ye tamamlanmıştır. Çözelti kahverengi şişede muhafaza edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

#### **2.1.2.4 Kristal Viyole Çözeltisi**

##### **Çözelti A**

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

##### **Çözelti B**

Amonyum okzalat .....: 0.8 g  
Distile su.....: 80 ml

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

#### **2.1.2.5 %95 Etil Alkol Çözeltisi**

Etil alkol.....: 95 ml  
Distile su.....: 100 ml

#### **2.1.2.6 Safranin Çözeltisi**

%95'lik etil alkol .....: 100 ml  
Safranin .....: 2.5 g  
Distile su.....: 100 ml  
(Norrell ve Messley, 1997).

#### **2.1.2.7 Oksidaz Test Ajanı**

Dimetil-p-fenilen diamin dihidroklorid..: 1 g  
Distile su.....: 100 ml

#### **2.1.2.8 Katalaz Test Ajanı (%3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Hidrojen peroksit.....: 3 ml  
Distile su.....: 100 ml

### 2.1.2.9 İndol Besiyeri

Tripton.....: 10 g  
Kalsiyum klorür.....: 0.01 M  
Sodyum klorür.....: 5.0 g  
Distile su.....: 1000 ml  
pH.....:7.5

Tüplere 2 ml olarak konularak, 5 dakika 121 °C’de otoklavda steril edilmiştir.

### 2.1.2.10 Kovaks Ayıracı

Paradimetilaminobenzaldehit.....: 5 g  
İzoamil alkol.....: 75 ml  
Hidroklorik asit.....: 25 ml

Paradimetilaminobenzaldehit alkolde eritildikten sonra yavaş yavaş asit katılmıştır (Kovacs, 1928).

### 2.1.2.11 Metil Kırmızısı Ayıracı

% 95’lik etil alkol.....: 300 ml  
Metil kırmızısı.....: 0.1 g  
Distile su.....: 200 ml

Metil kırmızısı alkolde eritildikten sonra distile su ilave edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

### 2.1.2.12 Voges Proskauer Ayıraçları

#### A Ayıracı

$\alpha$ -naftol .....: 6 g  
Etanol.....: 100 ml

#### B ayıracı

Distile su.....: 100 ml  
Potasyum hidroksit (KOH).....: 40 g

### 2.1.2.13 Tween 80 Agar Besiyeri

Pepton.....	: 10 g
Sodyum klorür.....	: 0.1 g
Kalsiyum klorür.....	: 0.1 g
Tween 80.....	: 10 g
Agar.....	: 15 g
Distile su.....	: 1000 ml
pH.....	: 7.0

121 °C’de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir (Beşe, 1974). Tween 80, otoklavdan sonra steril koşullarda eklenmiştir.

### 2.1.2.14 Jelatin Besiyeri (%4 Jelatin Tyriptic Soy Agar)

Tripton.....	: 15 g
Phytone (Soytone).....	: 5 g
Sodyum klorid.....	: 5 g
Agar.....	: 20 g
Distile su.....	: 1000 ml
pH.....	: 7.0

121 °C’de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir (Barnett ve Venghaus, 1989; Birbir ve ark., 2002).

### 2.1.2.15 0.5 No’lu McFarland’ın Hazırlanması

0.18 M Sülfürik asit .....	: 9.95 ml
0.048 M Baryum klorür .....	: 0.05 ml

0.5 No’lu Standart McFarland bulanıklık çözeltisini hazırlamak için 9.95 ml 0.18 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (sülfürik asit) çözeltisine 0.05 ml 0.048 M BaCl<sub>2</sub> (baryum klorür) çözeltisi ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır (Çetin, 1980).

### **2.1.2.16 Mueller Hinton Broth Besiyeri**

Nişasta.....: 1.5 g

Et özütü.....: 2.0 g

Kazein (hidrolizat).....: 17.5 g

Distile su.....: 1000 ml

121 °C’de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir (Barnett ve Venghaus, 1989; Birbir ve ark., 2002).

### **2.1.2.17 Mueller Hinton Agar Besiyeri**

Et özütü.....: 2.0 g

Kazein (hidrolizat).....: 17.5 g

Nişasta.....: 1.5 g

Agar agar.....: 17.0 g

Distile su.....: 1000 ml

121 °C’de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir (Barnett ve Venghaus, 1989; Birbir ve ark., 2002).

### **2.1.2.18 Aminoasit Dekarboksilaz Besiyeri**

Pepton.....: 5 g

Et özütü.....: 5 g

Glukoz.....: 0.5 g

Pridoksal.....: 0.005 g

Distile su .....: 1000 ml

### **Bromkresol Moru Solüsyonu**

Bromkresol moru.....: 0.2 g

Distile su.....: 100 ml

### **Kresol Kırmızısı Solüsyonu**

Kresol kırmızısı.....: 0.2 g

Distile su.....: 100 ml

Piridoksal, amino asit dekarboksilaz için bir enzim kofaktörüdür. Dekstroz fermente olabilen bir karbonhidrattır. Bromkresol moru ve kresol kırmızı pH indikatörleridir. Aminoasit Dekarboksilaz Besiyeri hazırlandıktan sonra içerisine 5 ml bromkresol moru ve 2.5 ml kresol kırmızısı solüsyonundan ilave edilip karıştırılmıştır. Daha sonra 2.7 ml olacak şekilde tüplere dağıtılarak 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

### **2.1.2.19 Amino asit Solüsyonları**

#### **%1'lik L-Lizin Solüsyonu**

L-Lizin.....: 10 g  
Distile su.....: 100 ml

#### **%1'lik L-Glisin Solüsyonu**

L-Glisin.....: 10 g  
Distile su.....: 100 ml

#### **%1'lik L-Alanin Solüsyonu**

L-Alanin.....: 10 g  
Distile su.....: 100 ml

#### **%1'lik L-Prolin Solüsyonu**

L-Prolin.....: 10 g  
Distile su.....: 100 ml

#### **%1'lik L-Fenilalanin Solüsyonu**

L-Fenilalanin.....: 10 g  
Distile su.....: 100 ml

#### **%1'lik L-Tirozin Solüsyonu**

L-Tirozin.....: 10 g  
Distile su.....: 100 ml

### **%1'lik L-Aspartik asit Solüsyonu**

L-Aspartik asit.....: 10 g  
Distile su.....: 100 ml

### **2.1.2.20 Kazein Besiyeri**

#### ***A Eriyiği***

Triptone.....: 20 g  
Agar.....: 20 g  
Distile su.....: 500 ml

#### ***B Eriyiği***

Distile su.....: 500 ml  
Skim milk.....: 20 g

Bu iki ayrı eriyik erlende 10 dakika 121 °C'de steril edilmiştir. Otoklavlama işlemi bittiğinde karıştırılarak steril petri kaplarına dökülmüştür.

### **2.1.2.21 Nessler Ayracı**

Civa iyodür.....: 100 gr  
Potasyum iyodür.....:70 gr  
Potasyum hidroksit.....:100 gr  
Distile su.....: 1000 ml

Bir litrelik erlende civa iyodür ve potasyum iyodür 400 ml distile suda eritilmiştir. Ayrı bir erlende 500 ml distile suda potasyum hidroksit eritilip soğutulmuştur. Civa ve potasyum iyodür solüsyona katılmıştır. Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Kahverengi bir çöküntü ve berrak bir üst sıvı ayrılmıştır. Berrak sıvı bir şişeye aktarılıp etiketlenmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

### 2.1.2.22 Nitrit Test Ayıraçları

#### A Ayıracı

Sülfanilik asit.....: 8 g

Asetik asit (5 N).....: 1000 ml

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

#### B Ayıracı

N, N,-dimetil-1-naftilamin.....: 6 ml

Asetik asit (5 N).....: 1000 ml

(Harley ve Prescott, 2002).

### 2.1.2.23 API 20E Test Kiti

Kit içeriği; API 20E stribi, inkübasyon kutusu, sonuç tablosu, ampul içerisinde NaCl %0.85 süspansiyon ortamı (5 ml) ve mineral yağdan oluşmaktadır (Tablo 2.1).

**Tablo 2.1.** API 20E Test Kiti Ayıraçlar, Ortamlar ve İçerikleri

Ayıraçlar, Ortamlar	İçerikleri	
TDA ayıracı (5 ml)	Demir klorür	3.4 g
	Distile su	100 ml
JAMES ayıracı (5 ml)	Bileşik J2183	0.5 g
	HCl	100 ml
Zn ayıracı	Çinko tozu	10 g
VP 1 ayıracı (5 ml)	Potasyum hidroksit	0.4 g
	Distile su	100 ml
VP 2 ayıracı (5 ml)	$\alpha$ -naftol	6 g
	Etanol	100 ml

## 2.2. YÖNTEM

Çalışmamız sırasıyla aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:

- 1) Tuzla Organize Deri Sanayisi'ndeki Farklı Tabakhanelerden İslatılmış Deri Örneklerinin Toplanması,
- 2) İslatılmış Deri Örneklerinin pH' larının Ölçümü,
- 3) İslatılmış Derilerde Bulunan *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait Türlerin İzolasyonu
- 4) İzolasyonu Yapılan *Enterobacteriaceae* İzolatlarının API Yöntemi ile Tanımlanması ( $\beta$ -galaktosidaz, Arjinin Dihidrolaz, Lizin Dekarboksilaz, Ornitin Dekarboksilaz, Sitrat Testi, Hidrojen Sülfür Testi, Üre Hidrolizi, Triptofan Deaminaz, Triptofandan İndol Oluşumu, Voges-Proskauer Testi, Jelatinaz Testi, Glukoz, Mannitol, İnositol, Sorbitol, Rhamnoz, Sukroz, Melibioz, Amigdalın ve Arabinozdan Asit Üretimi),
- 5) İslatılmış Derilerden İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait Türlerin Biyokimyasal Testlerinin Yapılması (Oksidaz Testi, Katalaz Testi, Proteaz, Lipaz Kazeinaz, Metil Kırmızısı Testi, Nitratın Nitrite İndirgenmesi ve Nitrattan Gaz Oluşturma Testi, Dekarboksilaz Testi [L-arjinin, L-sistein, L-glisin, L-alanin, L-tirozin, L-prolin ve L-hidroksiprolin], Peptondan Amonyak Oluşumu),
- 6) İslatılmış Derilerden İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait Türlerin Farklı Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması.

### 2.2.1 Farklı Tabakhanelerden İslatılmış Deri Örneklerinin Toplanması

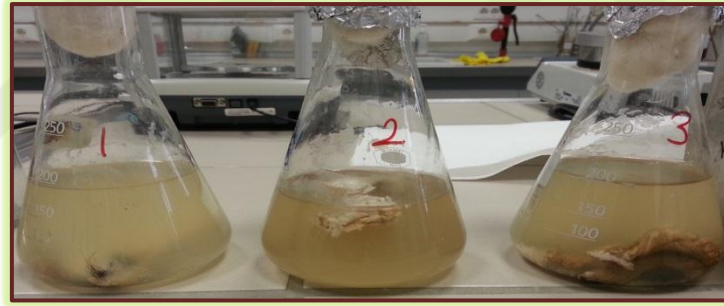
Kullanılan ıslatılmış deriler, Tuzla-İstanbul Deri Organize Sanayi Bölgesi'ndeki farklı tabakhanelerden sağlanmıştır. Tabakhane tutulan derilerin tuzlanmış olarak depolama süreleri ve ıslatılmış derilerin hayvanın hangi kısmından alındığı saptanmıştır. Deri örnekleri aseptik şartlarda alınarak, steril poşet ve kaplara konularak, buz çantasında buz aküleri ile soğuk tutularak en kısa zamanda laboratuvara getirilmiştir.

### 2.2.2 Islatılmış Deri Örneklerinin pH'larının Ölçümü

Islatılmış derilerden 5'er gram deri örneği alınarak ayrı ayrı erlenlere konulmuştur. Erlenlerin üzerlerine 20 °C'deki steril distile sudan 100 ml eklenerek 1 saat süre ile çalkalayıcıda çalkalanmıştır ve standart pH metre ile pH'ları okunmuştur (Türk Standartları, 1984; Birbir, 1991).

### 2.2.3 Islatılmış Derilerdeki *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait Türlerin İzolasyonu

Islatılmış derilerdeki *Enterobacteriaceae* familyasına ait türlerin toplam sayılarının belirlenmesi için plağa yayma yöntemi kullanılmıştır (Harley ve Prescott, 2002). Öncelikle her bir deri örneğinden 10'ar gram alınarak, ayrı ayrı 90 ml'lik %0.85 oranında steril tuzlu su bulunduran erlenler içerisine konulmuş ve çalkalayıcı etüvde 25 °C'de 100 rpm'de 60 dakika çalkalanmıştır.



Şekil 2.1. Deri Örnekleri ve Süspansiyonları.

Deri süspansiyonlarından 1 ml alınarak içlerinde 9 ml steril fizyolojik tuzlu su bulunan tüplere eklenmiştir ve  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  ve  $10^{-4}$  lük seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hem direkt solüsyondan hem de her bir dilüsyondan 0.1 ml alınarak plağa yayma yöntemi ile Eozin Metilen Blue (EMB) Agara ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan petripler 37 °C'de 1-2 gün etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda üreyen kolonilere Gram boyama, katalaz ve oksidaz testleri yapılmıştır. Saf kültürler elde edilene kadar plağa yayma yöntemiyle ekim işlemi tekrarlanmıştır. Saf kültürlerin Gram boyamaları yapılarak Gram-negatif çomaklar belirlenmiş, oksidaz negatif ve katalaz pozitif koloniler *Enterobacteriaceae* üyesi olarak değerlendirilmiştir.

### 2.2.3.1 Hareket İncelemesi

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

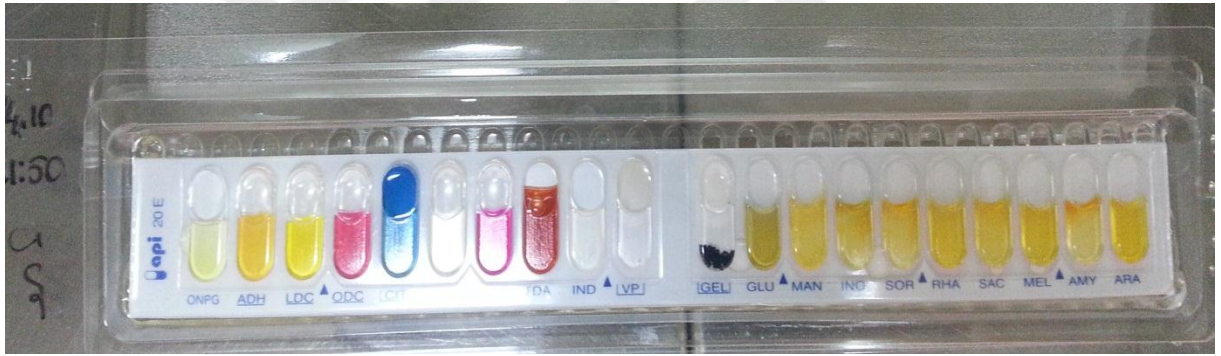
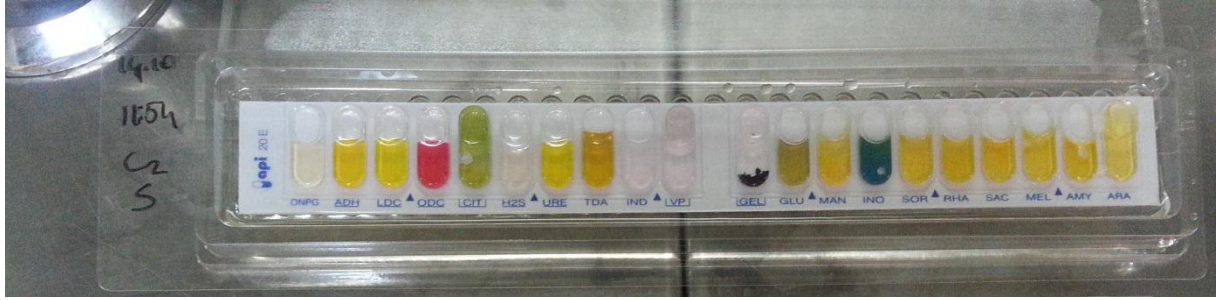
### 2.2.3.2 Gram Boyama

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

### 2.2.4 İzolasyonu Yapılan *Enterobacteriaceae* İzolatlarının API Yöntemi ile Tanımlanması ( $\beta$ -galaktosidaz, Arjinin Dihidrolaz, Lizin Dekarboksilaz, Ornitin Dekarboksilaz, Sitrat Testi, Hidrojen Sülfür Testi, Üre Hidrolizi, Triptofan Deaminaz, Triptofandan İndol Oluşumu, Voges-Proskauer Testi, Jelatinaz Testi, Glukoz, Mannitol, İnositol, Sorbitol, Rhamnoz, Sukroz, Melibioz, Amigdalın ve Arabinozdan Asit Üretimi)

Mikroorganizmaların doğru ve hızlı tanımlanabilmesi için birçok ticari sistem geliştirilmiştir. *Enterobacteriaceae* ve zor üremeyen Gram-negatif çomaklar için standart hale getirilmiş API 20E de bunlardan birisidir. Saf kültürlerden alınan koloniler

inokülasyon sıvısı içerisinde (steril 5 ml %0.85 NaCl içeren fizyolojik tuzlu su solüsyonu) McFarland No. 0.5 yoğunluğunda süspansiyon edilip API® 20E Test (bioMérieux, Inc, France) kitinin içerisinde hazır olarak bulunan 20 adet mikrotüp (ONPG, ADH, LDC, ODC, CIT, H<sub>2</sub>S, URE, TDA, IND, VP, GEL, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA) içine inoküle edilmiştir. CIT, VP ve GEL kuyucukları bakteriyal süspansiyon ile tamamen doldurulmuş, anaerobik ortam yaratmak için ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S ve URE testleri kuyucuklarının üst kısımları mineral yağ ile örtülmüştür. 37 °C'de 24 ve 48 saatlik inkübasyon sırasında, metabolizma sonucu kendiliğinden ya da reaktiflerin (TDA, JAMES ayırıcı, VP1-VP2, NIT1-NIT2) eklenmesiyle renk değişimleri oluşmuştur. β-galaktosidaz (ONPG) testinde sarı renk; Arjinin Dihidrolaz (ADH), Lizin Dekarboksilaz (LDC), Ornitin Dekarboksilaz (ODC) testlerinde kırmızı/turuncu renk oluşumu; Sitrat kullanımında (CIT) inkübasyon sonucu mavi-yeşil/ mavi renk oluşumu; Hidrojen Sülfür (H<sub>2</sub>S) testinde kuyucukta siyah çökelti/inci çizgi oluşumu; Üre hidrolizinde (URE) kırmızı/turuncu renk oluşumu; Triptofan Deaminaz (TDA) testinde kuyucuğa TDA ayırıcı damlatıldığında hemen kırmızımsı kahverengi renk oluşumu; Triptofandan İndol oluşumu (IND) testinde damlatılan James ayırıcı ile kuyucukta pembe renk oluşumu pozitif reaksiyonlar olarak değerlendirilmiştir. Voges-Proskauer (VP) testinde kuyucuğa sırasıyla VP1-VP2 ayıraçları damlatılarak 2-10 dakika kadar beklenmiştir. Bekleme süresi sonunda pembe/kırmızı renk oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Jelatinaz (GEL) testinde kuyucuk içinde yaygın bir şekilde meydana gelen siyah pigment oluşumu pozitif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir. Glukozdan asit üretimi (GLU) testinde sarı/grimsi sarı renk oluşumu; Mannitol (MAN), İnositol (INO), Sorbitol (SOR), Rhamnoz (RHA), Sukroz (SAC), Melibioz (MEL), Amigdalın (AMY) ve Arabinozdan (ARA) asit üretimi testlerinde ise sarı renk oluşumu pozitif reaksiyonlar olarak değerlendirilmiştir. Reaksiyonlar okuma tablosuna göre okunup, APIWeb programı ile bilgisayarda tür tayini yapılmıştır (Brenner, 2005; Madigan ve ark., 2015; Harley ve Prescott, 2002).



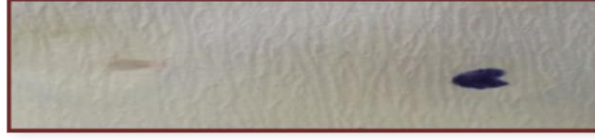
Şekil 2.2. API 20E Test Sonucuna Örnekler.

**2.2.5 İslatılmış Derilerden İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait Türlerin Biyokimyasal Testlerinin Yapılması (Oksidaz Testi, Katalaz Testi, Proteaz, Lipaz, Kazeinaz, Metil Kırmızısı Testi, Nitratın Nitrite İndirgenmesi ve Nitrattan Gaz Oluşturma Testi, Dekarboksilaz Testi [L-arjinin, L-sistein, L-glisin, L-alanin, L-tirozin, L-prolin ve L-hidroksiprolin], Peptondan Amonyak Oluşumu)**

#### **2.2.5.1 Oksidaz Testi**

Oksidaz testi için 1-2 damla %1'lik dimetil-p-fenilendiamin hidroklorid solüsyonu filtre kağıdının üzerine konularak filtre kağıdının emmesi sağlanmıştır. Steril bir platin öze

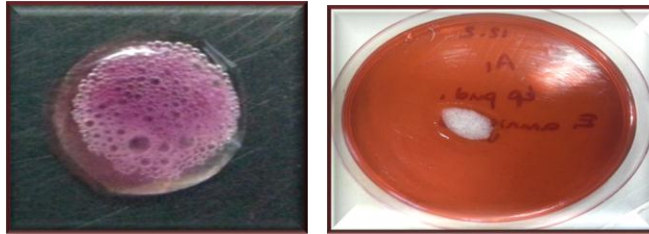
yardımıyla koloniden alınarak filtre kağıdının üzerine yayılmıştır. 10 saniye içinde gözlenen mavi renk oluşumu oksidaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).



**Şekil 2.3.** Oksidaz Testleri.

#### **2.2.5.2 Katalaz Testi**

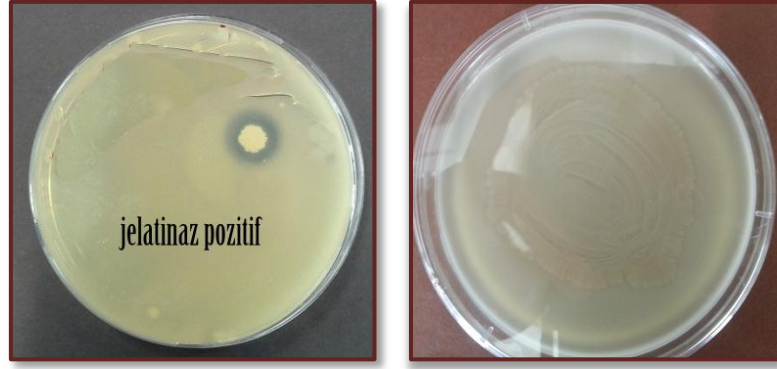
Katalaz testi hem mikroorganizmanın geliştiği besiyerinde hem de üreyen koloniler lam üzerine alınarak yapılmıştır. Besiyerinde gelişen saf koloniler lama konularak üzerine birkaç damla %3 hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) eriyiği damlatılmıştır. Lam üzerinde bakterinin bulunduğu bölgede gaz kabarcıklarının görülmesi; besiyerindeki koloni üzerinde %3 hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ilavesinden sonra gaz kabarcıklarının meydana gelmesi pozitif katalaz reaksiyonu olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).



**Şekil 2.4.** Lam Üzerinde ve Petri Kabında Pozitif Katalaz Testi.

#### **2.2.5.3 Proteaz aktivitesi**

Besiyerinde gelişen izolatlardan steril öze ile alınarak steril Jelatin Agar besiyeri üzerine ekimler yapılmış ve petriler 37 °C'de 48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra petrinin üzerini örtecek şekilde doymuş amonyum sülfat solüsyonu dökülmüştür. Koloniler etrafında gözlenen şeffaf bölgeler pozitif proteolitik aktivite olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Sanchez-Porro, 2005).



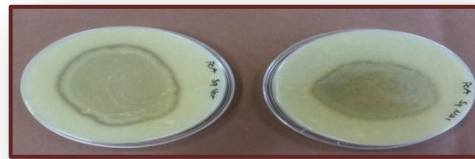
**Şekil 2.5.** Proteaz Aktivitesi.

#### **2.2.5.4 Lipaz aktivitesi**

Besiyerinde gelişen izolatlardan steril öze ile alınarak steril Tween 80 Agar besiyeri üzerine düz bir çizgi halinde ekimler yapılmış ve petriler 37 °C'de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerinde gelişen kolonilerin etrafında opak zonların görülmesi pozitif lipolitik aktivite olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).

#### **2.2.5.5 Kazeinaz aktivitesi**

Besiyerinde gelişen izolatlardan steril öze ile alınarak steril Kazein besiyerine dairesel olarak izolatların saf kültürleri ekilmiş ve petriler 37 °C'de 7 gün etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerinde gelişen kolonilerin etrafında şeffaf bir proteoliz zonu oluşması kazeinaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).



**Şekil 2.6.** Kazeinaz Aktivitesi.

### 2.2.5.6 Metil Kırmızısı Testi

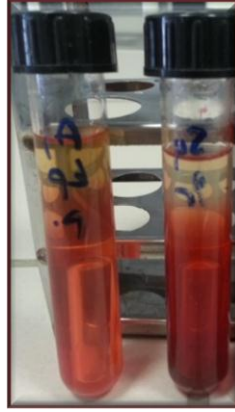
Besiyerinde gelişen saf kolonilerden hazırlanan bakteri süspansiyonundan steril uçlu otomatik pipet yardımı ile 200 µl alınarak 10 ml steril MR-VP besiyeri içeren tüplere konulmuş ve 37 °C’de 24-48 saat etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda bu besiyerinden 3’er ml 2 adet steril tüplere alınarak tüpün bir tanesine metil kırmızısı testi için 0.5 ml metil kırmızısı solüsyonundan eklenmiştir. Tüp içinde kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002).



Şekil 2.7. Metil Kırmızısı Testi.

### 2.2.5.7 Nitratın Nitrite İndirgenmesi ve Nitrattan Gaz Oluşturma Testi

Steril Nitrat besiyeri ve Durham tüpü içeren deney tüplerine izolatlar ekilerek 37 °C’de 1-5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra Durham tüpleri içerisinde gaz birikimi olması nitratın indirgenmesi sırasında gaz oluşması şeklinde değerlendirilmiştir. Ayrıca tüplere nitrit test ayıracı A ve B’nin eklenmesi ile nitratın nitrite indirgenip indirgenmediği kontrol edilmiş ve 30 saniyede kırmızı renk oluşumu nitritin oluştuğu şeklinde değerlendirilmiştir. Kırmızı renk oluşumu görülmeyen tüplere 0.001 g çinko tozu eklenmesi ile kırmızı rengin oluşması negatif (nitratın nitrite indirgenmemesi), kırmızı renk oluşmaması pozitif (nitratın nitrite indirgenmesi) olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Sanchez-Porro, 2005; Gonzalez ve ark., 1978; Quesada ve ark., 1982).



**Şekil 2.8.** Nitratın Nitrite İndirgenmesi.

#### **2.2.5.8 Aminoasit Dekarboksilaz Testi**

İçerisinde %1'lik farklı aminoasit (L-tirozin, L-lizin, L-glisin, L-alanin, L-prolin, L-fenilalanin, L-aspartik asit) solüsyonlarını içeren Aminoasit dekarboksilaz besiyerinin bulunduğu tüplere izolatlar ekilmiş ve üzerlerini 1 cm örtecek kadar mineral yağ dökülmüştür. Bu besiyerleri 37 °C'de 1 hafta inkübe edilmiştir. Besiyeri renginin mora dönüşmesi mikroorganizmanın aminoasidi kullanarak alkali son ürünler oluşturduğunu, dolayısıyla pozitif test sonucunu göstermiştir.



**Şekil 2.9.** Aminoasit Dekarboksilasyon Testi.

### **2.2.5.9 Peptondan amonyak oluşumu**

Pepton buyyon besiyeri homojen süspansiyon elde edilinceye kadar kaynatıldıktan sonra, kapaklı deney tüplerine paylaştırılarak otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Bakteriler, Pepton buyyon besiyeri içeren steril tüplere inoküle edilerek 37 °C'de 24-48 saat etüvde bekletilmiştir. Bu süre sonunda tüplere 5-6 damla Nessler ayırıcı damlatılmıştır. Kahverengi renk ve presipitat oluşumu pozitif, renk değişimi olmaması ise negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Harley ve Prescott, 2002; Beşe, 1974; Tamer ve ark., 1989).

### **2.2.6 Islatılmış Derilerden İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait Türlerin Farklı Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması**

Islatılmış derilerden izole edilen *Enterobacteriaceae* familyasına ait türlerin tanımlaması yapıldıktan sonra saf bakteri kolonileri ayrı ayrı Mueller Hinton Broth besiyerine ekilmiş ve tüpler 37 °C'de 24 saat etüvde bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra her bir bakterinin 10<sup>8</sup> kob/ml yoğunluğundaki süspansiyonları, 0.5 No'lu McFarland bulanıklık tüpüne göre %0.85'lik tuzlu su ile hazırlanmıştır. Saf izolatların her birinden steril eküvyon çubuk ile alınarak Mueller Hinton Agar besiyerine homojen bir şekilde plağa yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. *Enterobacteriaceae* familyasına ait türlerin saf izolatların antibiyotik duyarlılıklarını araştırmak için antibiyotik diskleri steril pens ile alınarak, ekim yapılmış olan Mueller Hinton Agar besiyerinin üzerine, diskler arasında boşluklar kalacak şekilde yerleştirilmiştir. Ekim yapılan ve antibiyotik diski yerleştirilen petri kapları 37 °C'de 24 saat etüvde bekletilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda disklerin etrafındaki inhibisyon zonları (mm) ölçülerek, saf izolatların hangi antibiyotiğe hassas, dirençli veya orta duyarlı oldukları CLSI ve EUCAST standartlarına göre değerlendirilmiştir (Balows ve ark., 1991; Bauer ve ark., 1966; CLSI, 2014; EUCAST, 2014).

**Aminoglikozoid grubu;** Amikasin (30µg), Gentamisin (10 µg), Kanamisin (30 µg), Tobramisin (10 µg), Streptomisin (10 µg),

**β-laktam/β-laktamaz inhibitör kombinasyonları;** Ampisilin/sulbaktam (10/10 µg; 20 µg), Amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg; 30 µg), Piperasilin/Tazobaktam 10:1 (110 µg),

**Karbapenem grubu;** Meropenem (10 µg), İmipenem (10 µg),

**Sefalosporin grubu;** Sefoksitin (30 µg), Seftriakson (30 µg), Seftazidim (30 µg), Sefalotin (30 µg), Sefuroksim sodyum (30 µg),

**Florokinolon grubu;** Siprofloksasin (10 µg), Norfloksasin (10 µg), Ofloksasin (5 µg),

**Folik asit sentezini engelleyen grup;** Trimetoprim/Sülfametoksazol (25 µg),

**Kinolon grubu;** Nalidiksik asit (30 µg),

**Monobaktam grubu;** Aztreonam (30 µg),

**Fenikol grubu;** Kloramfenikol (30 µg),

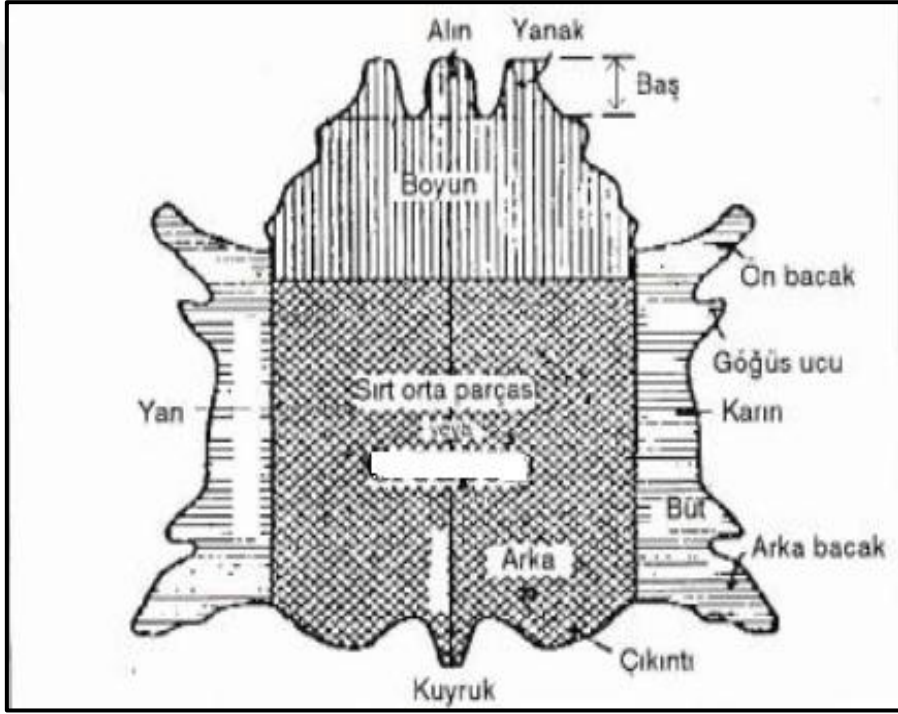
**Penisilin grubu;** Ampisilin (10 µg),

**Tetrasiklin grubu;** Tetrasiklin (30 µg) olmak üzere 24 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılıklar Kirby-Bauer disk difüzyon ile CLSI (2014) kriterlerine göre yapılmıştır.

## BÖLÜM 3

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızda kullanılan 15 adet ıslatılmış deri örneği (5 adet koyun, 10 adet sığır derisi) Kasım, Ocak, Mart ve Haziran aylarında Tuzla Deri Organize Sanayi Bölgesi'nde yer alan farklı tabakhanelerden toplanmıştır (Tablo 3.1). Deri örnekleri hayvanların etek, sağrı, arka kasık ve arka bacak kısımlarından alınmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Derinin Kısımları (MEGEP, 2007).

**Tablo 3.1.** Islatılmış Deri Örnekleri Hakkında Bilgiler.

<b>Örnek No</b>	<b>Hayvan Türü</b>	<b>Kullanılan Sığır ve Koyun Derilerinin Kısımları</b>	<b>Örneğin Alındığı Tarih</b>
<b>K*-1</b>	Koyun	Sağrı	Kasım (2013)
<b>K-2</b>	Koyun	Etek	Kasım (2013)
<b>K-3</b>	Koyun	Arka kasık	Kasım (2013)
<b>K-4</b>	Koyun	Sağrı	Mart (2014)
<b>K-5</b>	Koyun	Arka bacak	Mart (2014)
<b>S**-1</b>	Sığır	Etek	Ocak (2014)
<b>S-2</b>	Sığır	Sağrı	Ocak (2014)
<b>S-3</b>	Sığır	Etek	Ocak (2014)
<b>S-4</b>	Sığır	Etek	Ocak (2014)
<b>S-5</b>	Sığır	Sağrı	Mart (2014)
<b>S-6</b>	Sığır	Arka kasık	Mart (2014)
<b>S-7</b>	Sığır	Arka bacak	Mart (2014)
<b>S-8</b>	Sığır	Arka kasık	Haziran (2014)
<b>S-9</b>	Sığır	Arka kasık	Haziran (2014)
<b>S-10</b>	Sığır	Arka bacak	Haziran (2014)

\* K:Koyun Derisi, \*\* S:Sığır Derisi

Çalışmamızda kullandığımız ıslatılmış derilerin, genellikle 12-18 saat süren ön ve ana ıslatma aşamalarından geçtiği belirlenmiştir. Araştırmacılar, ıslatma süresinin en az 1.5 saat en fazla 48 saat olabileceğini açıklamışlardır (Rangarajan ve ark., 2003; Orlita, 2004). Madigan ve arkadaşları (2009), çoğu bakterinin üremesi için gerekli olan sürenin 0.5 ile 6 saat arasında değişebileceğini belirtmişlerdir. Bu süre dikkate alındığında 12-18 saatlik zaman diliminde bakteri sayısının önemli bir sayıya ulaşması beklenmektedir. Bu durum kaliteli deri üretimi için avantajlı değildir.

Tuzlanmış derilerde, taze derilerde bulunan çok sayıda bakterinin, önemli bir kısmının depolama esnasında yaşamlarına devam ettiği ve derilerde bulunan bakterilerin ıslatma aşamasında ıslatma suyuna geçtiği belirtilmiştir (Berber, 2009). Yeni yüzülmüş hayvan derisinin 1 gramında yaklaşık  $10^6$  bakteri vardır. Deri saf su ile 2 defa yıkandığında, bakteri sayısının %90 oranında azaldığı açıklanmıştır. Derinin durumu ıslatma tankındaki suda bulunan bakterilerin sayısını etkilemektedir. Kana bulaşmış, gübresi fazla olan ve uygun şekilde konserve edilmemiş derilerde bakteri çoğalması daha hızlı olmaktadır. ıslatma suyundaki oksijen miktarı da bakteri sayısının artmasını hızlandırmaktadır. Hayvandan yeni yüzülmüş deri işlenirken mümkün olduğunca az havalandırılmış ıslatma suyu kullanılması gerekliliği vurgulanmıştır. Ayrıca ıslatma sırasında görülen bakteri faaliyetinin deriye zarar vermemesi için ön ıslatmanın kısa sürede tamamlanması, su ısısının ıslatma süresine uygun olması ve gerektiğinde antimikrobiyal madde kullanılması gerektiği belirtilmiştir. ıslatma sıvısında kullanılan enzimler; kollajen dokuda bulunmayan çözünebilir proteinleri deriden uzaklaştırmakta, hidrofil gruplar oluşturarak ıslatmayı hızlandırmakta ve mamul derinin daha yumuşak olmasını sağlamaktadır. ıslatmayı kolaylaştıran enzimlerin 28-30 °C sıcaklıkta ve pH 9.00-11.00 arasında etkili olduğu ve pH ayarlaması için soda veya sodyum hidroksit kullanılabileceği belirtilmiştir. Enzim kullanımı ile kuru derilerin 12-48 saatte, tuzlu salamura derilerin ise 4 saatte ıslatılabildiği açıklanmıştır (<http://bloggmleather.blogspot.com.tr/2014/03/deri-uretimi-ıslatma-yumusatma-full.html>, 2015).

Aldığımız deri örneklerinin buldukları ıslatma tanklarına bakterisit, ıslatıcı, enzim, yağ giderici, damar açıcı, aldehit, pH düzenleyici, sabun, soda, amonyum sülfat ve foril konulduğu saptanmıştır.

Çevre dökümanlarında (1996) yer alan bilgiler doğrultusunda tabakhanelerdeki atık suların pH'sının 10.00-12.00 arasında olduğu bilinmektedir. Berber (2009), 19 adet ana ıslatma sıvı örneği alarak pH değerlerini incelemiştir. Araştırmacı pH değerlerinin 7.00-10.00 arasında değiştiğini belirtmiştir. Bizim çalışmamızda da 15 adet ıslatılmış deri örneğinin pH değerleri ölçülmüş ve değerlerin 7.00-10.00 arasında olduğu görülmüştür. İncelenen koyun derilerinin sadece 1 adedinde pH'ın bazik (8.86), sığır derilerinin 5 adedinde pH'ın bazik (8.00-10.00) olduğu saptanmıştır (Tablo 3.2).

**Tablo 3.2.** Koyun ve Sığır Deri Örneklerinin pH Değerleri.

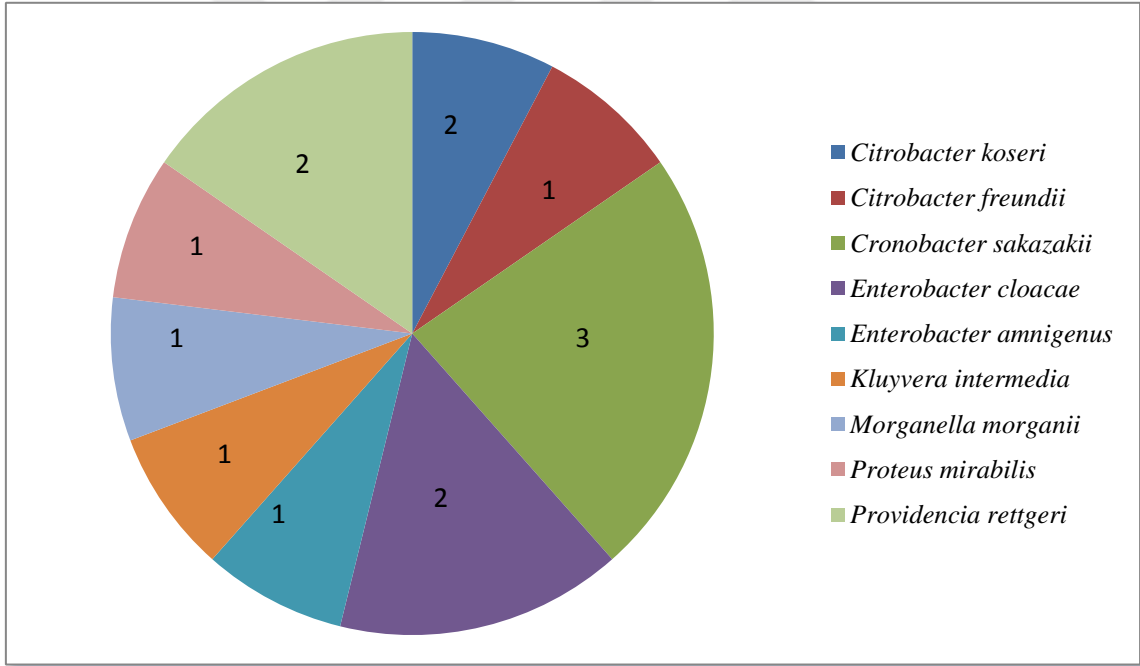
Örnek No	Koyun Derileri					Sığır Derileri									
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>pH</b>	7.00	7.07	8.86	7.02	7.80	7.60	7.77	7.39	7.15	9.50	10.00	7.50	9.00	8.50	8.00

**Tablo 3.3.** İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait İzolatların İslatılmış Deri Örneklerinde Bulunma Sıklıkları.

İzolatların API Test Sonuçlarına Göre Benzedikleri Türler	K1	K2	K3	K4	K5	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	Toplam
<b><i>Citrobacter</i> cinsi</b>																
<i>Citrobacter freundii</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Citrobacter koseri</i>	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	3
<b><i>Cronobacter</i> cinsi</b>																
<i>Cronobacter sakazakii</i>	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	4
<b><i>Enterobacter</i> cinsi</b>																
<i>Enterobacter amnigenus</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<b><i>Ewingella</i> cinsi</b>																
<i>Ewingella americana</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1
<b><i>Kluyvera</i> cinsi</b>																
<i>Kluyvera intermedia</i>	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<b><i>Morganella</i> cinsi</b>																
<i>Morganella morganii</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	3
<b><i>Proteus</i> cinsi</b>																
<i>Proteus mirabilis</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<b><i>Providencia</i> cinsi</b>																
<i>Providencia rettgerii</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<b><i>Serratia</i> cinsi</b>																
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	4
<i>Serratia plymuthica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	1
<i>Serratia rubidae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	1
<b>Toplam</b>	6	1	3	2	2	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	26

K:Koyun Derisi , S:Sığır Derisi

Tuzla Deri Organize Sanayi Bölgesi'nden alınan koyun ve sığır deri örneklerinden *Citrobacter freundii* (1 izolat), *Citrobacter koseri* (3 izolat), *Cronobacter sakazakii* (4 izolat), *Enterobacter amnigenus* (1 izolat), *Enterobacter cloacae* (1 izolat), *Ewingella americana* (1 izolat), *Kluyvera intermedia* (2 izolat), *Morganella morganii* (3 izolat), *Proteus mirabilis* (1 izolat), *Providencia rettgerii* (3 izolat), *Serratia marcescens* (4 izolat), *Serratia plymuthica* (1 izolat), *Serratia rubidae* (1 izolat) olmak üzere toplam 9 cins ve 13 farklı tür izole edilerek API 20E test kiti ile tanımlanmıştır (Tablo 3.3). Koyun derilerinden 7 cins (*Citrobacter*, *Cronobacter*, *Enterobacter*, *Kluyvera*, *Morganella*, *Proteus* ve *Providencia*) ve 9 farklı *Enterobacteriaceae* türü izole edilmiştir. En fazla miktarda izole edilen tür *Cronobacter sakazakii* olmuştur (Şekil 3.2).

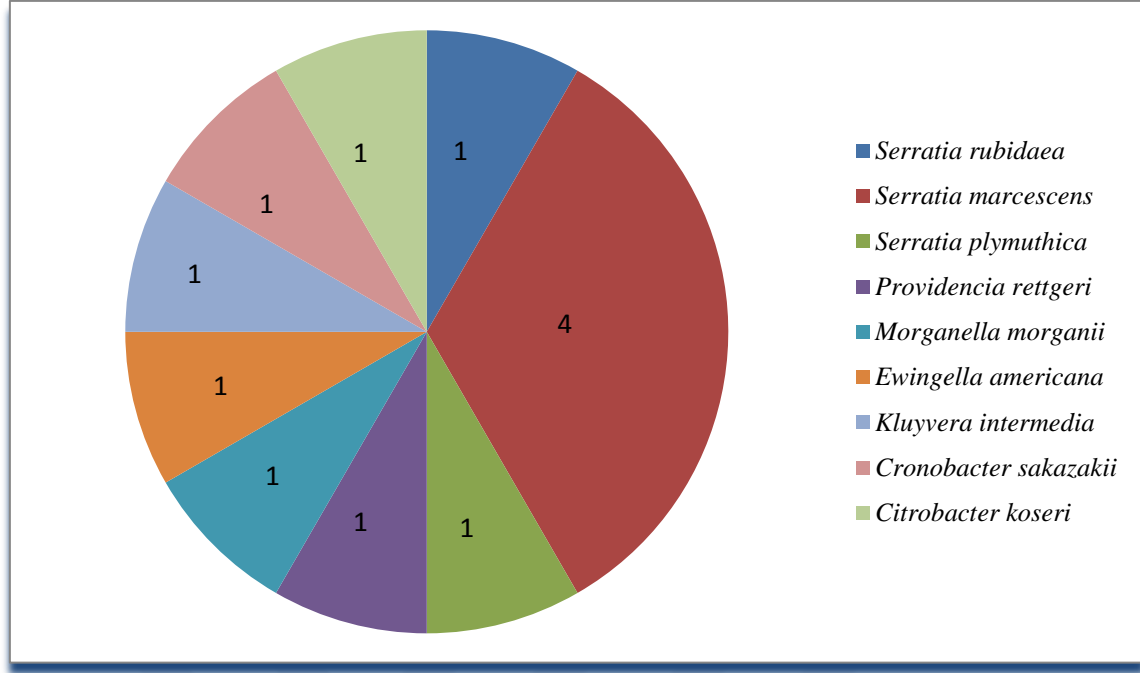


**Şekil 3.2.** Islatılmış Koyun Derilerinden İzole Edilen, *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait İzolatların Tür Sayıları.

Aslan ve Birbir (2012) tuzlanmış derilerden izole ederek tanımladıkları 668 adet bakterinin 268 adedinin (%40.12) Gram-negatif, 400 adedinin (%59.88) Gram-pozitif olduğunu belirtmişlerdir. İzole edilerek tanımlanan toplam 668 adet bakterinin 118 adedinin (%17.66) *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteriler olduklarını tespit etmişlerdir. Bu 118 bakterinin 66 adedi *Enterobacter* (%55.9), 14 adedi *Hafnia* (%11.9), 9 adedi *Escherichia* (%7.6), 7 adedi *Citrobacter* (%5.9), 5 adedi *Pantoea* (%4.2), 5 adedi *Yersinia* (%4.2), 4 adedi *Salmonella* (%3.4), 3 adedi *Erwinia* (%2.5), 2 adedi *Klebsiella* (%1.7), 1 adedi *Edwardsiella* (%0.9), 1 adedi *Proteus* (%0.9) ve 1 adedi *Serratia* (%0.9) cinsine ait bakteriler olarak tanımlanmıştır. *Enterobacteriaceae* familyasına ait izole edilen bakterilerden sayıca en fazla olan cinsin *Enterobacter*, en fazla izole edilen 3. cinsin ise *Escherichia* (9 adet) cinsi olduğunu saptamışlardır. *Escherichia* cinsine ait 9 izolatin tamamı *Escherichia coli* olarak tanımlanmıştır.

Birbir ve Ilgaz (1996) 25 adet ıslatılmış deri örneğinden *Bacillus liquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus megaterium*, *Kurthia virabilis*, *Micrococcus rubens*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aureginosa*, *Staphylococcus aëurus* ve *Staphylococcus epidermidis* türlerini izole etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda da ıslatılmış sığır derilerinden 7 cins (*Citrobacter*, *Cronobacter*, *Ewingella*, *Kluyvera*, *Morganella*, *Providencia* ve *Serratia*) ve 9 farklı *Enterobacteriaceae* türü izole edilmiştir. En fazla sayıda izole edilen tür ise *Serratia marcescens* olmuştur (Tablo 3.3).



**Şekil 3.3.** Islatılmış Sığır Derilerinden İzole Edilen, *Enterobacteriaceae* Familyasına Ait İzolatların Tür Sayıları.

Çalışmamızda *Citrobacter koseri*, *Cronobacter sakazakii*, *Kluyvera intermedia*, *Morganella morganii* ve *Providencia rettgerii* hem koyun hem de sığır derilerinden izole edilmişlerdir (Tablo 3.2 ve 3.3).

Birbir ve Ulusoy (2014) tuzlanmış koyun ve sığır derilerinden *Enterobacteriaceae* familyasına ait 10 cins ve 20 farklı tür izole etmişlerdir. İzole ettikleri cinslerin *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Hafnia*, *Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia* ve *Yersinia* olduklarını belirtmişlerdir.

*Citrobacter* cinsine ait bakteri türleri genellikle su, toprak, gıda, hayvan ve insan bağırsak sistemlerinde bulunmaktadır. Yapılan gözlemler sonucu, Gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların %0.8'inin *Citrobacter* kaynaklı olduğu anlaşılmıştır (Jones ve ark., 2000). Koyun ve sığırların içtikleri sulardan, yaşadıkları topraklardan, yedikleri yemlerden bu cinse ait bakteri türlerinin hayvanlara bulaşması sonucu, çalışmamız için temin ettiğimiz derilerden *Citrobacter freundii* ve *Citrobacter koseri* izole ettiğimizi düşünmekteyiz. Kato ve arkadaşları (1993), *Citrobacter freundii*'nin ilk kez nefrotik sendromlu bir hastada bakteriyel peritonite (karın zarı

iltihabı) neden olduğunu bildirmişlerdir. *Citrobacter freundii* enfeksiyonları evcil ve vahşi karasal ve sucül memelilerde, kaplumbağalarda, kurbağalarda ve çiftlik balıklarında tanımlanmıştır (Ocholi ve ark., 1989; Wright ve Whitaker, 2001; Galarneau ve ark., 2003; Jeremić ve ark., 2003; Steele ve ark., 2005; Fernández ve ark., 2011). Churria ve arkadaşları (2014), *C. freundii*'nin ilk kez papağanlarda büyük ve mikroskobik lezyonlar oluşturarak ani ölüme neden olan enfeksiyonlara yol açtığını saptamışlardır. *Citrobacter koseri* bağışıklığı bastırılmış hastalarda ve yenidoğanlarda bakteriyemi ve menenjitte neden olabilen fırsatçı bir patojendir (Doran, 1999).

*Cronobacter sakazakii* yenidoğanlarda menenjit, bakteriyemi ve nekrotizan kolit ile ilişkilidir. Aynı zamanda beyin apsesi, solunum ve yara enfeksiyonlarından izole edilmiştir (Tille, 2014, Mahon ve ark., 2015). *Cronobacter sakazakii* tahıl, çikolata, patates unu, makarna ve sütlü bebek mamalarında yaygındır (Biering ve ark., 1989; Simmons ve ark., 1989; Kandhai ve ark., 2004).

Doğada yaygın olarak bulunan *Enterobacter cloacae* çoğunlukla insanlardan, bitkilerden, böceklerden, sudan, topraktan ve kanalizasyondan izole edilmektedir (Clementino ve ark., 2001; Jang ve Nishijima, 1990; Marchini ve ark., 2002; Richard, 1984). *Enterobacter cloacae* hastane enfeksiyonlarına neden olabilen fırsatçı bir insan patojeni olduğu gibi aynı zamanda, sayısız bitki türünün (mısır, karaağaç, elma, papaya, hindistan cevizi, zencefil, orkide, maş fasulyesi) de patojenidir (Sanders ve Sanders, 1997; Rossiter ve ark., 1983; Murdoch ve Campana, 1983; Nishijima ve ark., 1987; Nishijima ve ark., 2004; Wick ve ark., 1987; Takahashi ve ark., 1997). Doğada her yerde bulunan *Enterobacter amnigenus* sudan ve topraktan izole edilmektedir. Ayrıca kan, dışkı, balgam ve yaralar dahil olmak üzere çeşitli klinik örneklerden de izole edilmiştir (Farmer ve ark., 1985).

Derilerini temin ettiğimiz koyunlara içtikleri sulardan, yaşadıkları topraklardan, kanalizasyonlardan *Enterobacter* cinsine ait bakteriler bulaşması sonucu, çalışmamızda ıslatılmış koyun derilerinden *Enterobacter cloacae* ve *Enterobacter amnigenus* izole ettiğimizi düşünmekteyiz.

*Ewingella americana*, özellikle hastane enfeksiyonları ile ilişkili olup *Enterobacteriaceae* familyası üyeleri arasında klinik örneklerden ilk izole edilen tek türdür. Bu organizma insanlarda nadiren enfeksiyona neden olmaktadır. Yara, balgam, idrar, dışkı, kan ve konjiktiva dahil olmak üzere çeşitli klinik örneklerden tespit edilmiştir (Grimont ve ark., 1983; Farmer ve ark., 1985; Heizmann ve Michel, 1991). *Ewingella americana*'nın ekolojik nişi ve doğal kaynağı bilinmemektedir fakat hayvanlardan, havuçlardan ve hatta vakumlu paketlenmiş etlerden izole edilmiştir (Muller ve ark., 1995; Lyon ve Milliet; 2000; Hamilton-Miller ve Shah; 2001; Helps ve ark., 1999).

Bu türün çalışmamızda kullandığımız derilere hayvanların idrar ve dışıklarından bulaşmış olabileceği düşüncesindeyiz.

*Kluyvera intermedia* içme ve yüzey sularından, kirlenmemiş topraktan izole edilebilmektedir. İnsanlarda hastalık meydana getirdiğine dair herhangi bir kanıt bulunmamaktadır (VUMIE, 2012). Bu türün çalışmamızda kullanılan derilerin temin edildiği hayvanlara içtikleri sulardan veya yaşadıkları topraklardan geçmiş olabileceğini düşünmekteyiz.

*Morganella morganii*'nin insanlarda ve bazı hayvanlarda pnömoni, peritonit, ampiyem, perikardit, artropati, endoftalmi, menenjit ve yara enfeksiyonu gibi geniş çaplı semptomlara neden olduğu bilinmektedir (Ono ve ark., 2001; Abdalla ve ark., 2006; Roels ve ark., 2007; Atalay ve ark., 2010). Kedi, sığır, tavuk ve sağlıklı insan dışıklarında düşük sayıda bulunan *Morganella morganii*, sığ su foklarının ve deniz fillerinin göz lezyonlarından, solunum hastalığı bulunan yılanlardan ve tavuklardan izole edilmiştir (Phillips, 1955; Lin ve ark., 1993; Thornton ve ark., 1998; Hawkey ve ark., 1986b; Tanaka ve ark., 1995; Muller, 1972; Prasad ve Pandey, 1966;). Araştırmacılar ilk kez *Morganella morganii*'nin tavuklarda ara sıra görülen ölümcül bir enfeksiyona neden olduğunu saptamışlardır (Zhao ve ark., 2012). Ho ve arkadaşları (2005), Ludwig's anjinine (hızla yayılan, potansiyel olarak öldürücü etkisi olan, ağız tabanı ve boyunda görülen bir enfeksiyon) ve boyun enfeksiyonuna ilk kez *Morganella morganii*'nin neden olduğunu saptadıkları bir çalışma yapmışlardır.

Arka bacak, arka kasık ve sağrı gibi anüse yakın yerlerden aldığımız ıslatılmış sığır ve koyun derilerinden bu bakteri türünü izole etmemizin, hayvanların dışkılarındaki *Morganella morganii* varlığından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

*Proteus* cinsine ait bakteri türleri erkeklerde, hayvanlarda ve çevrede yaygın olarak görülmektedir. Kanalizasyon, toprak, dışkı, bahçe sebzeleri ve diğer birçok malzemeden kolayca elde edilmektedir (Gus Gonzalez ve ark., 2006). Durmaz ve arkadaşları (1994) ülkemizde Beyin Omurilik Sıvılarından (BOS) izole edilen ve menenjitte neden olan bakterilerin %2'sinin *Proteus* türleri olduğunu bildirmişlerdir. *P. mirabilis* memeli bağırsak sisteminin normal flora üyesidir ve insan, köpek, maymun, domuz, koyun, sığır, rakun, kedi, sıçan ve diğer memelilerden izole edilmiştir (Guentzel, 1991). Çalışmamızda ıslatılmış koyun derilerinden izole ettiğimiz *Proteus mirabilis*'in hayvanın yaşadığı topraktan ve dışkısından arka kasık, bacak, sağrı ve etek kısımlarına bulaşmış olabileceğini tahmin etmekteyiz. Sıklıkla idrar ve ekstraintestinal kültürlerden izole edilebilen *Proteus mirabilis* daha çok neonatal (yeni doğan) yaş gurubunda olmak üzere nadiren menenjit oluşturmaktadır (Chang ve ark., 2000).

*Providencia* cinsine ait bakteri türleri sinekler, kuşlar, kediler, köpekler, sığırlar, koyunlar, guinea domuzları ve penguenlerde bulunmakta olup piton, engerek ve boa yılanlarında yerleşmiş bir oral floraya sahiptirler. Süt ineklerinde *Providencia stuartii* enfeksiyonu neonatal (yenidoğan) ishale, köpeklerde *Providencia alcalifaciens* enfeksiyonu ince bağırsak iltihabına neden olmaktadır. *Providencia rettgeri* timsahlarda menenjit ve septisemiden, tavuklarda ise ince bağırsak iltihabından izole edilmiştir. *Providencia* cinsine ait bakteri türleri su, toprak ve kanalizasyonlarda da bulunmaktadır (Janda ve Abbott, 2006). İnsanlarda bu bakteri türleri idrar, dışkı, kan, balgam, deri ve yara kültürlerinden izole edilmiştir (Krake ve Tandon, 2004).

Tüm bu bilgiler, çalışmamızda kullandığımız ıslatılmış koyun ve sığır derilerine hayvanların yaşadıkları topraklardan, kanalizasyonlardan *Providencia rettgeri* bulaşmış olabileceğini ve bu nedenle derilerden bu türü izole etmemizi kanıtlar niteliktedir.

İlk kez Myonsun ve arkadaşları (2005), yaptıkları çalışma ile *Providencia rettgeri*'nin mide ve bağırsak iltihabında önemli bir rol oynadığını ve insanlarda ishale neden

olduğunu ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar bu çalışma ile yine ilk kez, *Providencia rettgeri*'nin yetişkinlerde bir enteropatojen olduğunu keşfetmişlerdir.

*Serratia* cinsine ait bakteri türleri bakteriyemiye yol açarak, solunum sistemi ve üriner sisteme yerleşerek cerrahi yaralarda, deri ve yumuşak dokularda nozokomiyal enfeksiyonlar yapmaya eğilimlidirler. *Serratia marcescens* insanlardan sıkça izole edilen *Serratia* türüdür (Acar, 1986; Ania, 2002; Edmond ve ark.; 1999). *Serratia marcescens* menenjit, idrar yolu enfeksiyonları, zatürre gibi merkezi sinir sistemi hastalıklarına, solunum yolu hastalıklarına, endokardit gibi kan dolaşımı enfeksiyonlarına ve birçok farklı türde yara enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Gale ve Sonnenwirth, 1962; Aronson ve Alderman, 1943; Lancaster, 1962; Taylor ve Keane, 1962). Ayrıca yenidoğanlarda ve çocuklarda hastane kökenli göz enfeksiyonlarına da neden olduğu bilinmektedir (Samonis ve ark., 2011). *S. marcescens*, özellikle lens takan bireyler arasında önemli bir göz patojenidir (Das ve ark., 2007). *Serratia plymuthica* insanlarda solunum sisteminden, kan kültürlerinden, katater ucu kültürlerinden, cerrahi yara kültürlerinden, periton sıvısından izole edilmiştir (Horowitz ve ark., 1987; Carrero ve ark., 1995). *Serratia rubidaea* solunum sisteminden, kandan, safra ve yara örneklerinden izole edilmiştir (Ewing ve ark., 1973).

Elde ettiğimiz tüm izolatların çeşitli biyokimyasal testleri yapılmıştır. Bu testler hem API 20E'de bulunanlar hem de bizim laboratuvarımızda hazırlayarak yaptığımız biyokimyasal testlerdir. API 20E'de bulunan testler; hidrojen sülfür (H<sub>2</sub>S) üretimi, Voges Proskauer testi, triptofandan indol üretimi, üre hidrolizi ve sitrat kullanımı testidir. Laboratuvarımızda hazırlayarak yaptığımız testler ise; peptondan amonyak (NH<sub>3</sub>) oluşumu, proteaz, lipaz, kazeinaz, metil kırmızısı testi, nitratın nitrite indirgenmesi, katalaz ve oksidaz aktivite testleridir. Ayrıca çalışmamızda derilerde bulunan aminoasitlerin aminoasit dekarboksilasyon deneyleri yapılmıştır (Tablo 3.4). Araştırmacılar tarafından hayvan derilerinde bulunan aminoasitlerin yüzdeleri glisin (%32.9), prolin (%12.6), alanin (%10.9), hidroksiprolin (%9.5), glutamik asit (%7.4), arjinin (%4.9), aspartik asit (%4.7), serin (%3.6), lizin (%2.9), lösin (%2.4), fenilalanin (%1.3), histidin (%0.5), tirozin (%0.3) ve sistein (%0.1) olarak belirtilmiştir (Eastoe, 1955). Dekarboksilaz aktivitesi mikroorganizmaların tanımlanmasını ve belirlenmesini sağlayan geleneksel bir biyokimyasal test yöntemidir (Falkow, 1958).

**Tablo 3.4.** Islatılmış Deri Örneklerinden İzole Edilen İzolatların Gram Reaksiyonları, pH 7’de Gelişimleri ve Biyokimyasal Test Sonuçları.

İzolatların Karakteristik Özellikleri	<i>Cronobacter sakazakii</i>	<i>Ewingella americana</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter amnigenus</i>	<i>Klayvera intermedia</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Serratia plymuthica</i>	<i>Serratia rubidaea</i>	Pozitif İzolat Yüzdesi (%)
Gram Boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
pH 7.0’de Gelişim	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
<b>Protein Katabolizmasıyla İlişkili Testler</b>														
Proteaz Aktivitesi	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	31
Triptofandan İndol Üretimi	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	23
Üreaz Aktivitesi	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	39
H <sub>2</sub> S Üretimi	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	15
NH <sub>3</sub> Oluşumu	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	23
Kazeinaz Aktivitesi	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	85
<b>Nitratın Nitrite İndirilmesi</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
<b>Aminoasit Dekarboksilasyon</b>														
L-alanin	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	38
L-prolin	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	23
L-aspartik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
L-lisin	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	7
L-tirozin	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	15
L-fenilalanin	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	38
L-glisin	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	23
<b>Enzimatik Aktiviteler</b>														
Oksidaz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100
Lipaz Aktivitesi	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	31
<b>Fermentasyon Testleri</b>														
Sitratın Tek Karbon Kaynağı Olarak Kullanımı	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	77
Voges-Proskauer Testi	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	54
Metil Kırmızısı Testi	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	85

Çalışmamızda *Enterobacteriaceae* familyasına ait izolatların derilerde bulunan L-fenilalanin, L-aspartik asit, L-glisin, L-alanin, L-tirozin, L-prolin ve L-lisin amino asitlerini parçalayıp parçalamadıkları araştırılmıştır. L-alanin *Citrobacter koseri*, *Serratia marcescens*, *Serratia rubidaea*, *Enterobacter amnigenus* ve *Kluyvera intermedia* tarafından parçalanmış, L-aspartik asit hiçbir izolat tarafından parçalanmamıştır. L-prolin *Cronobacter sakazakii*, *Serratia marcescens* ve *Kluyvera intermedia* tarafından, L-lisin sadece *Serratia marcescens* tarafından, L-tirozin sadece *Enterobacter amnigenus* ve *Kluyvera intermedia* tarafından, L-fenilalanin *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Serratia plymuthica* ve *Kluyvera intermedia* tarafından, L-glisin ise *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri* ve *Kluyvera intermedia* tarafından parçalanmıştır. *Cronobacter sakazakii* kullanılan aminoasitlerden sadece L-prolini, *Citrobacter freundii* sadece L-glisini, *Citrobacter koseri* L-alanin, L-fenilalanin ve L-glisini, *Serratia marcescens* L-alanin, L-prolin ve L-lisini, *Enterobacter cloacae* sadece L-fenilalanini, *Enterobacter amnigenus* L-alanin ve L-tirozini, *Kluyvera intermedia* L-alanin, L-prolin, L-tirozin, L-fenilalanin ve L-glisini, *Serratia plymuthica* sadece L-fenilalanini ve *Serratia rubidaea* sadece L-alanini parçalamıştır. *Providencia rettgeri*, *Ewingella americana*, *Proteus mirabilis* ve *Morganella morganii* ise hiçbir aminoasiti parçalayamamışlardır (Tablo 3.4). Koyun derilerinden (K1,K2,K4) en sık izole edilen *Cronobacter sakazakii* sadece L-prolini; sığır derilerinden (S5,S6,S8,S9) en sık izole edilen *Serratia marcescens*'in ise 4 aminoasidi (L-alanin, L-prolin, L-lisin ve L-fenilalanin) parçaladığı dikkat çekmektedir. Sığır (S1) ve koyun (K3) derilerinden izole edilen *Kluyvera intermedia*'nın 5 farklı aminoasidi (L-alanin, L-prolin, L-tirozin, L-fenilalanin ve L-glisin) parçaladığı dikkat çekmektedir (Tablo 3.5). *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Photobacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella* cinsleri bir veya daha fazla aminoasidi dekarboksile edebilmektedirler (Brink ve ark., 1990). İzole edilen tüm izolatlar pH 7.00'de optimum gelişip, oksidaz-negatif ve katalaz-pozitif olarak bulunmuştur. Tüm izolatlar nitratı nitrite indirgemişlerdir. 13 izolattan sadece *Citrobacter freundii* ve *Proteus mirabilis* H<sub>2</sub>S üretmişlerdir. Islatılmış derilerden izole edilen izolatların %31'i proteaz ve lipaz pozitif, %85'i kazeinaz pozitif, %39'u üreaz pozitif olarak bulunmuştur. İzolatların %77'si sitratı kullanırken, %23'ü triptofandan

indol üretmiş ve peptondan amonyak oluşturmuşlardır. İzolatların %85'i ve %54'ü sırasıyla Metil-kırmızısı ve Voges-Proskauer testleri bakımından pozitif özellik göstermişlerdir. Koyun derilerinde en fazla miktarda rastlanan *Cronobacter sakazakii* sadece kazeinaz enzimi üretmiş, proteaz, üreaz ve lipaz enzimlerini üretememiştir. Sığır derilerinde en fazla miktarda rastlanan *Serratia marcescens* ise lipaz, proteaz ve kazeinaz enzimlerini üretmiş, üreaz enzimi üretememiştir. İncelenen 15 deri örneğinin 1 adet koyun ve 6 adet sığır derisi olmak üzere %47'sinde proteolitik ve lipolitik bakterilerin varlığı gözlenmiştir (Tablo 3.4 ve 3.5).

**Tablo 3.5.** Derinin Yapısında Bulunan Proteinler, Yağlar ve Aminoasitlerle İlgili Testler.

İzolatların Karakteristik Özellikleri	<i>Cronobacter sakazakii</i>	<i>Ewingella americana</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter amnigenus</i>	<i>Kluyvera intermedia</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Serratia plymuthica</i>	<i>Serratia rubidaea</i>
<b>Protein Katabolizmasıyla İlişkili Testler</b>													
Proteaz Aktivitesi	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
Üreaz Aktivitesi	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
NH <sub>3</sub> Oluşumu	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+
Nitratin Nitrite İndirgenmesi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Enzimatik aktiviteler</b>													
Lipaz Aktivitesi	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
<b>Aminoasit Dekarboksilasyon testleri</b>													
L-alanin	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+
L-prolin	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
L-aspartik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-lisin	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
L-tirozin	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
L-fenilalanin	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-
L-glisin	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<b>Deri Türü ve No.</b>	<b>K1 K2 K4 S2</b>	<b>S10</b>	<b>K1</b>	<b>K3 K5 S3</b>	<b>K1</b>	<b>K1 K3 S5</b>	<b>S5 S6 S8 S9</b>	<b>K1</b>	<b>K4</b>	<b>K3 S1</b>	<b>K1 K5 S1</b>	<b>S7</b>	<b>S4</b>

Ulusoy (2014) tuzlanmış koyun ve sığır derilerinden izole ettiği *Enterobacteriaceae* familyasına ait izolatların (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Edwardsiella*, *Hafnia*, *Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia* ve *Yersinia*) %45'inin proteaz, %30'unun lipaz, %35'inin üreaz pozitif olduğunu, %35'inin triptofandan indol ürettiğini, %70'inin sitratı karbon kaynağı olarak kullandığını, %65'inin Voges-Proskauer testi bakımından pozitif özellik gösterdiğini ve izolatların hiçbirinin H<sub>2</sub>S üretemediğini belirtmiştir.

Oppong ve arkadaşları (2006) yaptıkları bir çalışmada ham ve ıslatılmış derilerden proteaz pozitif *Proteus vulgaris* ve proteaz negatif *Citrobacter freundii* izole etmişlerdir.

Shede ve arkadaşları (2008) ham deriden *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Shigella boydii*, *Pantoea agglomerans* ve *Photobacterium luminescens* izole etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise 85 adet deriden *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter liquefaciens*, *Citrobacter* ve *Serratia* türlerinin izole edildikleri görülmüştür (Newton ve ark., 1977).

Daha önceki çalışmalarda tuzlanmış derilerde bulunan Gram-pozitif (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus* ve *Bacillus*) ve Gram-negatif (*Hafnia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter*) bakteriler incelenmiş olmasına rağmen ıslatılmış derilerdeki *Enterobacteriaceae* familyasına ait türlerin tanımlaması yapılmamıştır.

Antibiyotik kullanımının en önemli etkisinin araştırılması için yapılan çalışmalarda, antibiyotiklerin kullanılmasıyla birlikte hem patojenik bakterilerin hem de doğal flora bakterilerinin antibiyotiklere karşı dirençlerinin arttığı gözlenmiştir. Nourseothricin ve apramisin gibi antibiyotikleri kullanan hayvanlarda, bu antibiyotiklere karşı direnç genleri hem hayvanlardaki bakterilerde hem de insanlarda doğal floradaki *Salmonella* ve *Shigella*'da bulunmuştur. Bu sonuç dirençli suşların insanlar ve hayvanlar arasında direnç genlerini aktarabildiğine işaret etmektedir. Besi hayvanlarında antibiyotik kullanımı ile antibiyotiklere dirençli suşlar seçilmekte ve gıda zinciri yoluyla da bu direnç insanlara nakledilmektedir. Bu nedenle hayvan yemlerinde büyüme faktörü olarak antibiyotik kullanımının %30'a, hatta bazı ülkelerde %50'ye kadar düşürülmesi

önerilmektedir. Büyütme faktörü olarak antibiyotik yerine prebiyotik ve probiyotiklerin geliştirilerek kullanılması önemle vurgulanmaktadır (Bogard ve Stobberingh, 2000).

Avrupa Birliği ülkelerinde antibiyotik gruplarından tetrasiklinler, penisilinler, sülfonamidler, makrolidler, polimiksinler, amfenikoller, trimetoprimler, linkozamidler, aminoglikozitler ve flurokinolonlar hayvanlarda kullanılmaktadır. Tetrasiklinler, penisilinler, sülfonamidler, makrolidler, trimetoprimler, linkozamidler, 1., 2., 3., ve 4. kuşak sefalosporinler, monobaktamlar, flurokinolonlar ve karbapenemler insanlarda kullanılmaktadır (ECDC/EFSA/EMA, 2015).

Yapılan literatür araştırması sonucunda, ıslatılmış derilerden izole edilen *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteri türlerinin farklı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının ve hassasiyetlerinin daha önceden test edilmediği görülmüştür. Bu nedenle çalışmamızda ön ve ana ıslatmaya maruz kalmış derilerden izole edilen *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteri türlerinin (*Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Cronobacter sakazakii*, *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter cloacae*, *Ewingella americana*, *Kluyvera intermedia*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia rettgerii*, *Serratia marcescens*, *Serratia plymuthica* ve *Serratia rubidae*) 24 farklı antibiyotiğe (Ampisilin/sulbaktam (10/10µg; 20µg), Sefalotin (30µg), Sefoksitin (30µg), Seftazidim (30µg), Seftriakson (30µg), Sefuroksim sodyum (30µg), Kloramfenikol (30µg), Siprofloksasin (10µg), Gentamisin (10µg), İmipenem (10µg), Kanamisin (30µg), Meropenem (10µg), Nalidiksik asit (30 µg), Norfloksasin (10µg), Ofloksasin (5µg), Piperasilin/Tazobaktam 10:1 (110µg), Spiramisin (100µg), Streptomisin (10µg), Sülfametoksazol/Trimetoprim (25µg), Tetrasiklin (30µg), Tobramisin (10µg), Amikasin (30µg), Aztreonam (30µg), Amoksisilin/Klavulanik asit 2:1 (30µg)) karşı duyarlılıkları ve dirençleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile saptanmıştır. Sonuçlar 2014 CSLI standartlarına göre değerlendirilmiştir.

Dünya Sağlık Organizasyonu (WHO) listesinde (2012) çalışmamızda kullandığımız aminoglikozitler (amikasin, streptomisin, tobramisin, kanamisin, gentamisin), penisilinler (ampisilin), β-laktam/β-laktamaz inhibitor kombinasyonları (amoksisilin-kluvanat, ampisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam), karbapenemler (imipenem, meropenem), 3. kuşak sefalosporinler (seftriakson, seftazidim), kinolonlar ve flurokinolonlar (nalidiksik asit, siprofloksasin, norfloksasin, ofloksasin) ve

monobaktamlar (aztreonam) “kritik öneme sahip antimikrobiyaller” olarak tanımlanmıştır. Fenikoller (kloramfenikol), 1. ve 2. kuşak sefalosporinler (sefalotin, sefuroksim sodyum, sefoksitin) ve folik asit sentezi inhibitörü (trimetoprim-sulfametoksazol) antibiyotikler “çok önemli antimikrobiyaller” olarak, 3. ve 4. kuşak sefalosporinler, florokinolonlar ve makrolidler ise “yüksek öncelikli kritik antimikrobiyaller” olarak tanımlanmıştır.

Kacaniova ve arkadaşları (2011) tarafından yapılan çalışmalarda antibiyotikli yemlerle beslenen hayvanların sindirim kanalında ve sütlerinde, bu sütlerden yapılan süt ürünlerinde antibiyotiklere dirençli *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinin bulunduğu ispatlanmıştır. İncelenen 21 adet süt örneğinde *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakterilerin %57.14’ünün ampisiline, %14.28’nin streptomisin ve tetrasikline, %9.52’sinin kloramfenikole dirençli olduğu; peynir örneklerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakterilerin ise %84’ünün ampisiline, %24’ünün tetrasikline; diğer süt ürünlerindeki bakterilerin %66.66’sının ampisiline, %52.38’inin tetrasikline, %14.28’inin streptomisine dirençli olduğu belirtilmiştir.

**Tablo 3.6.** Islatılmış Koyun Derilerinden İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Türlerinin Antibiyotiklere Olan Duyarlılıkları.

Koyun derilerinden izole edilen türler	<i>Morganella morganii</i>	<i>Providencia rettgerii</i>	<i>Cronobacter sakazakii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Kluyvera intermedia</i>	<i>Enterobacter amnigenus</i>	R %	I %	S %
<b>Aminoglikozidler</b>												
Amikasin	S	S	S	S	S	S	S	I	S	-	11	89
Tobramisin	S	S	S	S	R	S	S	S	S	11	-	89
Kanamisin	S	R	S	S	S	S	S	I	S	11	11	78
Gentamisin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	100
Streptomisin	R	I	R	R	R	R	S	R	S	67	11	22
<b>Amfenikoller</b>												
Kloramfenikol	R	R	S	R	S	R	I	I	S	45	22	33
<b>Florokinolonlar</b>												
Ofloksasin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	100
Siprofloksasin	S	R	S	R	R	S	R	I	R	56	11	33
Norfloksasin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	100
<b>Folik asit sentezi inhibitörü</b>												
Sülfametoksazol /Trimetoprim	S	S	S	S	I	R	S	S	S	11	11	78
<b>Karbapenemler</b>												
Imipenem	S	I	I	S	R	S	S	I	S	11	33	56
Meropenem	S	S	S	R	S	S	S	S	S	11	-	89
<b>Kinolonlar</b>												
Nalidiksik asit	S	R	I	I	R	R	R	S	S	45	22	33
<b>Monobaktamlar</b>												
Aztreonam	S	R	R	R	R	R	R	R	R	89	-	11
<b>Penisilinler</b>												
Ampisilin	R	R	S	R	R	R	R	R	S	78	-	22

**Tablo 3.6.** Devamı.

Sefalosporinler												
Sefalotin (1.Kuşak)	R	S	R	R	R	R	S	R	S	67	-	33
Sefoksitin (2.Kuşak)	R	S	S	R	S	S	S	S	S	22	-	78
Sefuroksim sodyum (2.Kuşak)	R	S	R	S	S	R	S	S	S	33	-	67
Seftazidim (3.Kuşak)	S	R	R	S	R	R	S	I	I	45	22	33
Seftriakson (3.Kuşak)	S	R	R	R	R	S	R	I	S	56	11	33
Tetrasiklinler												
Tetrasiklin	R	R	S	S	R	S	S	S	S	33	-	67
$\beta$ -laktam/ $\beta$ -laktamaz inhibitörleri												
Piperasilin/ Tazobaktam	S	I	R	R	S	R	S	S	S	33	11	56
Amoksisilin/ Klavulanik asit	R	R	R	R	R	I	S	I	S	56	22	22
Ampisilin/ Sulbaktam	R	S	S	S	R	S	S	S	S	22	-	78
Toplam dirençlilik, orta hassaslık ve hassaslık	9R 0I 15S	10R 3I 11S	8R 2I 14S	11R 1I 12S	13R 1I 10S	10R 1I 13S	5R 1I 18S	4R 8I 12S	2R 1I 21S			

R: Dirençli, I: Orta duyarlı, S: Duyarlı

Koyun derilerinden izole edilen *Providencia rettgeri*, *Cronobacter sakazakii*, *Kluyvera intermedia*, *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Morganella morganii* ve *Proteus mirabilis* Gentamisin, Ofloksasin ve Norfloksasin'e karşı %100 duyarlı olarak tespit edilmişlerdir. Aynı zamanda bu türlerin Amikasin'e %11'inin orta duyarlı, %89'unun duyarlı olduğu; Tobramisin ve Meropenem'e %11'inin dirençli ve %89'unun duyarlı olduğu; Siprofloksasin ve Seftriakson'a %56'sının dirençli, %11'inin orta duyarlı ve %33'ünün duyarlı olduğu; Sülfametoksazol/Trimetoprim'e ve Kanamisin'e %11'inin hem dirençli hem de orta duyarlı, %78'inin duyarlı olduğu; Imipenem'e %11'inin dirençli, %33'ünün orta duyarlı ve %56'sının duyarlı olduğu; Ampisilin'e %78'inin dirençli ve %22'sinin duyarlı olduğu; Sefoksitin ve Ampisilin/sulbaktam'a %22'sinin dirençli ve %78'inin duyarlı

olduğu; Seftazidim, Nalidiksik asit ve Kloramfenikol'e %45'inin dirençli, %22'sinin orta duyarlı ve %33'ünün duyarlı olduğu; Sefalotin'e %67'sinin dirençli ve %33'ünün duyarlı olduğu; Sefuroksim sodyum ve Tetrasiklin'e %33'ünün dirençli ve %67'sinin duyarlı olduğu; Piperasilin/Tazobaktam'a %33'ünün dirençli, %11'inin orta duyarlı ve %56'sının duyarlı olduğu; Amoksisilin/Klavulanik asit'e %56'sının dirençli, %22'sinin hem orta duyarlı hem de duyarlı olduğu; Streptomisin'e %67'sinin dirençli, %11'inin orta duyarlı ve %22'sinin duyarlı olduğu; Aztreonam'a %89'unun dirençli ve %11'inin duyarlı olduğu görülmüştür.

**Tablo 3.7.** İslatılmış Sığır Derilerinden İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Türlerinin Antibiyotiklere Olan Duyarlılıkları.

Sığır derilerinden izole edilen türler	<i>Morganella morganii</i>	<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Cronobacter sakazakii</i>	<i>Serratia rubidae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia plymuthica</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Kluyvera intermedia</i>	<i>Ewingella americana</i>	R %	I %	S %
<b>Aminoglikozidler</b>												
Amikasin	S	S	S	S	S	S	S	I	S	-	11	89
Tobramisin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	100
Kanamisin	S	R	S	I	I	S	S	I	S	11	33	56
Gentamisin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	100
Streptomisin	R	I	R	S	R	S	S	R	S	45	10	45
<b>Amfenikoller</b>												
Kloramfenikol	R	R	S	R	S	I	I	I	I	33	44	23
<b>Florokinolonlar</b>												
Ofloksasin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	100
Siprofloksasin	S	R	S	S	S	S	R	I	S	22	11	67
Norfloksasin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	100
<b>Folik asit sentezi inhibitörü</b>												
Sülfametoksazol/Trimetoprim	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	100

**Tablo 3.7.** Devamı.

<b>Karbapenemler</b>												
Imipenem	S	I	I	S	S	S	S	I	S	-	33	67
Meropenem	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	-	100
<b>Kinolonlar</b>												
Nalidiksik asit	S	R	I	R	S	I	R	S	I	33	33	34
<b>Monobaktamlar</b>												
Aztreonam	S	R	R	R	I	R	R	R	R	78	11	11
<b>Sefalosporinler</b>												
Sefalotin (1.Kuşak)	R	S	R	S	S	S	S	R	S	33	-	67
Sefoksitin (2.Kuşak)	R	S	S	R	S	S	S	S	S	22	-	78
Sefuroksim sodyum (2. Kuşak)	R	S	R	S	R	R	S	S	I	45	10	45
Seftazidim (3.Kuşak)	S	R	R	I	S	I	S	I	R	33	33	34
Seftriakson (3.Kuşak)	S	R	R	S	S	R	R	I	R	56	11	33
<b>Penisilinler</b>												
Ampisilin	R	R	S	R	R	I	R	R	I	67	22	11
<b>Tetrasiklinler</b>												
Tetrasiklin	R	R	S	S	R	R	S	S	I	45	10	45
<b><math>\beta</math>-laktam/<math>\beta</math>- laktamaz inhibitörleri</b>												
Piperasilin/ Tazobaktam	S	I	R	R	S	I	S	S	S	22	22	56
Amoksisilin/ Klavulanik asit	R	R	R	S	R	R	S	I	S	56	11	33
Ampisilin/ Sulbaktam	R	S	S	R	S	S	S	S	S	22	-	78
Toplam dirençlilik, orta hassaslık ve hassaslık	9R 0I 15S	10R 3I 11S	8R 2I 14S	7R 2I 15S	5R 2I 17S	5R 5I 14S	5R 1I 18S	4R 8I 12S	3R 5I 16S			

R: Dirençli, I: Orta duyarlı, S: Duyarlı

Sığır derilerinden izole edilen *Providencia rettgeri*, *Cronobacter sakazakii*, *Kluyvera intermedia*, *Citrobacter koseri*, *Morganella morganii*, *Serratia rubidaea*, *Serratia marcescens*, *Serratia plymuthica* ve *Ewingella americana* Tobramisin, Gentamisin, Ofloksasin, Norfloksasin, Sülfametoksazol/Trimetoprim, Meropenem antibiyotiklerine karşı %100 duyarlı olarak tespit edilmiştir. Bu türlerin Amikasin'e karşı %11'inin orta duyarlı, %89'unun duyarlı olduğu; Kloramfenikol'e %33'ünün dirençli, %44'ünün orta duyarlı ve %23'ünün duyarlı olduğu; Imipenem'e %33'ünün orta duyarlı ve %67'sinin duyarlı olduğu; Aztreonam'a %78'inin dirençli %11'inin hem dirençli hem de duyarlı olduğu; Ampisilin'e %67'sinin dirençli, %22'sinin orta duyarlı ve %11'inin duyarlı olduğu; Sefoksitin ve Ampisilin/sulbaktam'a %22'sinin dirençli ve %78'inin duyarlı olduğu; Seftazidim'e %33'ünün hem dirençli hem de orta duyarlı, %34'ünün duyarlı olduğu; Sefalotin'e %33'ünün dirençli %67'sinin duyarlı olduğu; Tetrasiklin, Sefuroksim sodyum ve Streptomisin'e %45'inin dirençli ve duyarlı, %10'unun ise orta duyarlı olduğu; Piperasilin/Tazobaktam'a %22'sinin hem dirençli hem de orta duyarlı %56'sının duyarlı olduğu; Amoksisilin/Klavulanik asit ve Seftriakson'a %56'sının dirençli, %11'inin orta duyarlı ve %33'ünün duyarlı olduğu; Nalidiksik asit'e %33'ünün hem dirençli hem de orta duyarlı ve %34'ünün duyarlı olduğu; Kanamisin'e %11'inin dirençli, %33'ünün orta duyarlı ve %56'sının duyarlı olduğu; Siproflaksasin'e %22'sinin dirençli, %11'inin orta duyarlı ve %67'sinin duyarlı olduğu görülmüştür.

Kurtoğlu ve arkadaşları (2008), klinik örneklerden (idrar, yara, balgam, sperm, apse, kan ve BOS sıvısı) izole ettikleri *Proteus mirabilis* suşlarının ampisilin (%52.6), amoksisilin klavulanat (%28.1), sefuroksim (%24.2), siprofloksasin(%8.4), norfloksasin (%3.7), amikasin (%9.3), gentamisin (%14.8), aztreonam (%3.3) ve imipenem (%1.6) antibiyotiklerine dirençlerini inceleyerek en etkili antimikrobiklerin amikasin, norfloksasin, aztreonam, siprofloksasin ve imipenemin en etkili antibiyotikler olduklarını saptamışlardır. İris ve arkadaşları (2002), *P.mirabilis* suşlarına karşı en etkili antibiyotiklerin seftazidim, seftriakson, imipenem, ofloksasin, piperasilin/tazobaktam, amikasin ve siprofloksasin olduklarını, aynı zamanda bu suşların ampisilin-sulbaktam, kloramfenikol ve trimetoprim-sulfametoksazole yüksek oranda dirençli olduklarını bildirmişlerdir.

Baykan ve arkadaşları (1994) yaptıkları bir çalışmada *P. mirabilis* suşunun ampisiline %38, gentamisine %90, imipeneme %71, nalidiksik aside %88, sefalotine % 33,

seftriaksona %76, siprofloksasine %95 ve tetrasikline %3 oranında duyarlı olduğunu saptamışlardır. Kaygusuz ve arkadaşları 2001 yılında yaptığı çalışmada idrar örneklerinden izole edilen *P. mirabilis* suşlarında norfloksasine hiç direnç görülmediğini, siprofloksasine ise %17 direnç oluştuğunu tespit etmişlerdir. Chow ve arkadaşları (1979) *Proteus mirabilis*'in trimetoprim-sulfametoksazol, ampisilin, sefalotin, tetrasiklin, kloramfenikol ve streptomisine dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda *Proteus mirabilis* tobramisine, streptomisine, siprofloksasine, imipeneme, nalidiksik aside, aztreonama, seftazidime, seftriaksona, sefalotine, tetrasikline, ampisiline, ampisilin-sulbaktama ve amoksisilin/klavulanik aside dirençli; amikasine, kanamisine, gentamisine, kloramfenikole, oflaksasine, norfloksasine, meropeneme, sefoksitine, sefuroksim sodyuma ve piperasilin/tazobaktama duyarlı; trimetoprim-sulfametoksazole ise orta duyarlı bulunmuştur (Tablo 3.6).

*Citrobacter koseri* kloramfenikol, kanamisin, gentamisin, streptomisin ve tetrasikline duyarlı olarak tesbit edilmiştir (Gross ve ark., 1973). Kurtoğlu ve arkadaşları (2011) hastanede yatmakta olan hastalardan *Citrobacter freundii* ve *Citrobacter koseri* izole ederek antimikrobiyal duyarlılık durumlarını araştırmışlardır. Bu bakterilerin en sık duyarlı oldukları antimikrobiyal ajanların amikasin (%100), meropenem (%100), imipenem (%96) ve piperasilin/tazobaktam (%96) olduklarını saptamışlardır. Arens ve arkadaşları (1997), yaptıkları bir çalışmada hastalardan *Citrobacter freundii* ve *Citrobacter koseri* izole ederek, bu bakterilerde ampisilin, piperasilin/tazobaktam, sefuroksim, imipenem, gentamisin, tobramisin, amikasin ve ofloksasin antibiyotiklerinin duyarlılıklarını incelemişlerdir. *Citrobacter freundii* ve *Citrobacter koseri* sadece ampisiline dirençli, diğer antibiyotiklere duyarlı olarak tespit edilmişlerdir. Çalışmamızda her 2 bakteri türü amikasin, tobramisin, kanamisin, gentamisin, ofloksasin, norfloksasin, trimetoprim-sulfametoksazol, imipenem, sefuroksim sodyum, seftazidim, tetrasiklin ve ampisilin/sulbaktama duyarlı; siprofloksasin, aztreonam, seftriakson ve ampisiline dirençli bulunmuştur. *Citrobacter freundii* streptomisin, kloramfenikol, meropenem, sefoksitin, sefalotin, piperasilin/tazobaktam ve amoksisilin/klavulanata direnç gösterirken, *C. koseri* bu antibiyotiklere duyarlılık göstermiştir. *Citrobacter freundii* nalidiksik aside, *C. koseri* ise kloramfenikole orta duyarlı olarak bulunmuştur (Tablo 3.6).

Genellikle *Cronobacter sakazakii* suşları ampisilin, sefoksitin, amikasin, kloramfenikol ve nalidiksik aside duyarlıdır, fakat suşların %87'si sefalotine dirençlidir (Farmer et al., 1980). Lai ve arkadaşları (2001) 1995 Ocak ayından 1996 Aralık ayına kadar geçen sürede çeşitli hastalardan izole ettikleri *Cronobacter sakazakii*'nin çeşitli antibiyotiklere olan duyarlılıklarını tespit etmişlerdir. *Cronobacter sakazakii*'yi ampisiline hem dirençli hem orta dirençli; gentamisin, ofloksasin ve piperasilin-tazobaktama hem dirençli hem duyarlı; seftazidime dirençli; amikasin, tetrasiklin, kloramfenikol ve trimetoprim-sulfametoksazole duyarlı bulmuşlardır.

Çalışmamızda *Cronobacter sakazakii* ve *Enterobacter amnigenus* tetrasiklin, amikasin, gentamisin, tobramisin, kanamisin, gentamisin, kloramfenikol, ofloksasin, norfloksasin, trimetoprim-sulfametoksazol, meropenem, sefoksitin, tetrasiklin, ampisilin/sulbaktam ve ampisiline duyarlı; aztreonama dirençli bulunmuşlardır. Ayrıca *Cronobacter sakazakii* streptomisine, sefuroksim sodyuma, seftiriaksona, sefalotine, piperasilin/tazobaktama, amoksisilin/kluvanata dirençli; imipenem ve nalidiksik aside orta duyarlı olarak tespit edilmiştir. *Enterobacter amnigenus* sadece seftazidime orta duyarlı ve siprofloksasine dirençli olarak bulunmuştur.

Chamberland ve arkadaşları (1992), *Enterobacter cloacae*'nin ampisilin, sefoksitin ve sefalotine dirençli; *Enterobacter amnigenus*'un tetrasiklin, amikasin, gentamisin, tobramisin, streptomisin, kanamisin, ampisilin/sulbaktam, amoksisilin/kluvanat, piperasilin/tazobaktam, sefoksitim, seftazidim, seftriakson, meropenem, imipenem, aztreonam, siprofloksasin, norfloksasin, ofloksasin, trimetoprim-sulfametoksazol ve kloramfenikole duyarlı ve orta dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Stock ve ark. (2003), *Serratia plymuthica* ve *Serratia rubidaea*'yi sefuroksim sodyuma dirençli, amikasin, gentamisin, tobramisin, amoksisilin/kluvanat, piperasilin/tazobaktam, seftriakson, seftazidim ve aztreonama duyarlı; *S. plymuthica*'yı tetrasikline orta dirençli olarak bulmuşlardır.

Çalışmamızda *Serratia rubidaea*, *Serratia plymuthica* ve *Serratia marcescens* amikasin, tobramisin, gentamisin, ofloksasin, siprofloksasin, norfloksasin, trimetoprim-sulfametoksazol, imipenem, meropenem ve sefalotine duyarlı şekilde bulunmuşlardır. *Serratia rubidaea* ve *Serratia marcescens* kanamisine orta duyarlı ve ampisiline dirençli; *Serratia plymuthica* ve *Serratia marcescens* sefoksitine duyarlı, tetrasikline,

amoksisilin/kluvanata dirençli tespit edilmişlerdir. Ayrıca *Serratia marcescens* streptomisine dirençli, aztreonama orta duyarlı, piperasilin/tazobaktam ve ampisilin/sulbaktama duyarlı tespit edilmiştir. *Serratia plymuthica* kloramfenikol, nalidiksik asit, seftazidim, piperasilin/tazobaktam ve ampisiline orta duyarlı bulunmuştur.

*Providencia rettgeri* genel olarak gentamisin ve tobramisine dirençli fakat amikasinine duyarlıdır. İdrardan izole edilen *P. rettgeri* cinsleri sefuroksim, siprofloksasin ve amoksisilin-kluvanata duyarlıdır (Cornaglia ve ark., 1995). Yapılan çalışmalarda *M. morgani* seftazidim, aztreonam, imipenem, tazobaktam, siprofloksasin, tobramisin ve gentamisine duyarlı; genellikle sefalotin, amoksisilin-kluvanat, amikasin ve ampisiline dirençli bulunmuştur (Biedendach ve ark., 1993; Lee ve Liu, 2006).

Ulusoy (2014) tuzlanmış sığır ve koyun derilerinden izole ettiği *Enterobacteriaceae* familyası üyelerine çalışmamızda kullandığımız 24 adet antibiyotiği uygulamıştır. İzolatların yarısından fazlası kloramfenikol, aztreonam, sefuroksim sodyum, sefalotin, seftazidim, nalidiksik asit ve ampisiline karşı dirençli; izolatların yarısından azı kanamisin, ampisilin/sulbaktam, piperasilin/tazobaktam ve seftriaksona karşı dirençli bulunmuştur. İzolatların çoğu imipenem, meropenem, ofloksasin, siprofloksasin, amikasin, tobramisin, gentamisin, trimetoprim-sulfametoksazol, sefoksitin, amoksilin/kluvanat, streptomisin ve tetrasikline karşı hassas; tamamı ise norfloksasine karşı hassas bulunmuştur. Çalışmamızdaki izolatların da tamamı benzer şekilde gentamisin, ofloksasin ve norfloksasin'e karşı %100 duyarlı olarak tespit edilmiştir.

## BÖLÜM 4

### SONUÇLAR

Hayvanın kesiminden sonra deride bulunan bakteriler sayıca artarak besinlerini deriden karşılamaktadırlar. Bu durumda derideki kollajen lifleri parçalanarak kullanılamaz hale gelmektedir. Mamül deri elde etmek için ham derilerin kimyasallarla bir takım işlemlere tabi tutulmaları gerekmektedir. Bu işlemlerden ilki “ıslatma” işlemidir. Islatma işlemi kuru derilerde yapılıyor ise ıslatıcı, antibakteriyel ve su almayı hızlandırıcı maddeler kullanılması gerekmektedir. Islatma işlemi ne kadar erken bitirilirse deri o kadar daha iyi korunmuş olur. Çalışmalarımızda elde edilen verilere göre ıslatmada kullanılan antimikrobiyal maddelerin bakteri gelişimini tamamen ortadan kaldıramadığı görülmektedir. Islatılmış koyun ve sığır derilerinin saptanan pH değerleri sırasıyla; 7.00-8.86;7.15-10.00 olarak ölçülmüştür. Bu değerlerin bakteri gelişimi için oldukça uygun olduğu saptanmıştır. Islatılmış derileri temin ettiğimiz fabrikalarda antimikrobiyal madde olarak MIRECIDE-SR/50 tuzlu ham derilerin ıslatılmasında, toplam deri ağırlığı üzerinden 100-400 ppm (%0.01-0.04); kuru ham derilerde ise 200-1000 ppm (%0.02-0.1) arası kullanılmaktadır. Bir başka antimikrobiyal madde olan PREVENTOL Z-L ise 2 saatlik ön ıslatma aşamasında yaklaşık 500 ppm (%0.05), ana ıslatma aşamasında 2000 ppm (%0.2) miktarda kullanılmaktadır. Islatma aşamasında antimikrobiyal madde kullanılmasına rağmen topladığımız 5 adet koyun ve 10 adet sığır derisi olmak üzere toplamda 15 adet deriden *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteriler izole edilmiş ve izolatlar API® 20E Test (bioMérieux, Inc, France) kiti ile tanımlanmıştır.

Derilerden izole ettiğimiz bakterilerin %31'inin hem proteolitik hem de lipolitik aktivite gösterdiği saptanmıştır. İncelenen deri örneklerinin %47'sinde proteaz ve lipaz üreten bakterilerin varlığı gözlenmiştir. Koyun derilerinde proteaz ve lipaz üreten bakterilerin oranı %20 iken, sığır derilerinde bu oranın %60 olduğu gözlenmiştir (Tablo 3.4 ve 3.5). Bu sonuçlar bize deri kalitesini olumsuz etkileyen bakterilerin deriler üzerinde bulunduğunu göstermektedir. Derilerin yapısında bulunan aminoasitlerden alanin, izole edilen bakteriler tarafından koyun derilerinde %80, sığır derilerinde %70; prolin koyun derilerinde %80, sığır derilerinde %60; lisin sadece sığır derilerinde %40; tirozin koyun derilerinde %40, sığır derilerinde %10; fenilalanin koyun derilerinde %80, sığır

derilerinde %70; glisin koyun derilerinde %80, sığır derilerinde %20 oranında kullanılmıştır. Koyun ve sığır derilerinden izole edilen bakteriler aspartik asidi kullanamamışlardır. Lisin ise sadece sığır derilerinden izole edilen bakteriler tarafından kullanılmıştır (Tablo 3.5). Sonuç olarak deri kalitesini olumsuz yönde etkileyen bakteriler deri üzerinde bulunan aminoasitleri kullanmışlardır.

Islatmada kullanılan antimikrobiyal maddeler derilerde bulunan tüm bakterileri öldürememektedir. Kullanılan antimikrobiyal maddeler bazı bakteriler üzerine bakterisitik, bazıları üzerine bakteriyostatik etki göstermiş olabilir. Islatma aşamalarında biyosid kullanılmasına rağmen, ıslatmadan çıkmış derilerden bakteri izole etmemiz, kimyasalların yetersiz konsantrasyonundan veya ıslatma sıvısındaki fazla organik içerik miktarından ötürü yeterli derecede etki gösterememesinden de kaynaklanabilir.

Antibiyotiğe dirençli bakteriler hayvandan hayvana ya da hayvandan insana geçerek hayvanlarda ve insanlarda antibiyotiğe dirençli bakterilerin yaygınlaşmasına neden olmaktadır. Bu mikroorganizmalar hayvanlarda ve insanlarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Antibiyotiklerin doğru kullanımı antibiyotik dirençli bakterilerin yayılmasını ve ortaya çıkmasını azaltmaktadır. Penisilinlerle başlayan tedavi sürecinden yaklaşık otuz yıl sonra bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç gelişiminden bahsedilmeye başlanmıştır (Yarsan, 2012). Günümüzde bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç gelişimi önemini korumakta olup önümüzdeki yıllarda da önemini devam ettirecektir. Bu yüzden çalışmamızda tanımladığımız *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakterilerin, hayvanlarda ve insanlarda tedavi amaçlı kullanılan 24 farklı antibiyotiğe olan dirençleri belirlenmiştir. Sefalosporinlerde kuşak sayısı arttıkça Gram-negatif bakterilere karşı etkinlik artmaktadır (Leblebicioğlu ve ark., 2008). Genel olarak üçüncü kuşak sefalosporinlerin Gram-negatif aerop bakterilere karşı etkinliği birinci kuşaktakilerden çok daha fazladır. Sefalosporinlerin Gram-pozitif ve Gram-negatif etkili olduğu belirtilmiştir. Tüm sefalosporinler streptokoklara karşı etkilidirler. Sefalosporinler Gram-negatif bakteri hücre duvarından porinleri kullanarak geçmektedirler. Özellikle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter cloacae* suşlarında sefalosporinlere karşı porin geçirgenliğindeki azalma sonucu direnç görülmektedir (Leblebicioğlu ve ark., 2008; Öncül, 2002). Karbapenemlerden meropenem ve imipenem *Enterobacteriaceae* türlerine karşı etkili antibiyotiklerdir. Tetrasiklinlerin Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere etkili olduğu açıklanmıştır (Leblebicioğlu ve

ark., 2008). Kinolon grubunda yer alan nalidiksik asidin sadece *Enterobacteriaceae* familyasına etkili olduğu belirtilmiştir (Tünger ve ark., 2003).

Çalışmamızda incelenen koyun (2-13 antibiyotiğe dirençli) ve sığır (3-11 antibiyotiğe dirençli) derilerinin tamamında, çalışmamızda kullanılan bazı antibiyotiklere dirençli bakterilerin olduğu saptanmıştır. Islatılmış 5 adet koyun derilerinden izole edilen bakterilerin en yüksek direnç oranları sırasıyla; monobaktam grubunda (Aztreonam) %89, penisilin grubunda (Ampisilin) %78 ve aminoglikozidlerde (Streptomisin) ve sefalosporinlerde (Sefalotin) %67 olarak saptanmıştır (Tablo 3.6). Islatılmış 10 adet sığır derilerinden izole edilen bakterilerin ise en yüksek direnç oranları %78 oranla monobaktam (Aztreonam) ve %67 oranla penisilin grubunda (Ampisilin) görülmüştür (Tablo 3.7). Aztreonamın sadece Gram-negatif bakteriler üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir (Balcı, 2007). Ancak bizim çalışmamızda hem sığır hem de koyun derilerinden elde edilen izolatların en fazla direnç oluşturduğu antibiyotik aztreonam olmuştur.

Çalışma sonuçlarımız derilerde farklı antibiyotiklere karşı dirençli *Enterobacteriaceae* üyelerinin var olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Antimikrobiyal maddelerin doğru bir şekilde kullanılması ile derilerde antibiyotiklere dirençli suşların gelişimi kontrol altına alınabilir. Bakterilere etkisi olmayan dar spektrumlu antimikrobiyal maddeler ıslatma işlemi esnasında kesinlikle kullanılmamalıdır. Bu antimikrobiyallerin bakterisitik etkisi olanları kullanılmalıdır. Tuzlanmış derilerde bakteristatik etkili antimikrobiyaller kullanıldığında, bu antimikrobiyaller ıslatma aşamasında deriden uzaklaşmaktadırlar. Bu durumda sadece üremeleri engellenmiş bakteriler, tekrar aktif hale geçerek sayılarını arttırabilmektedirler. Bu yüzden antimikrobiyal madde seçiminde bakterileri öldürebilecek (bakterisitik etkili) olanlar belirlenmelidir. Uzun süren ıslatma işlemlerinde bir kez antimikrobiyal madde kullanılması yerine işlem boyunca birkaç kez antimikrobiyal madde eklenmesi daha uygun olabilecektir. Islatma sıvılarında aynı antimikrobiyallerin kullanılması sonucu, ıslatma tankında bulunan bakterilerin kullanılan antimikrobiyale karşı direnç geliştirme olasılığının olduğu göz önüne alınmalıdır. Bu sebeple bakterisitlerin antibakteriyel aktiviteleri farklı dönemlerde test edilmelidir.



## KAYNAKLAR

1. Abbott, SL.: *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and other Enterobacteriaceae*. In: Murray, editor. Manual of Clinical Microbiology. 9 ed. Washington: ASM; p. 698-715, **2007**.
2. Abdalla, J., Saad, M., Samnani, I., Lee, P., Moorman, J.: Central nervous system infection caused by *Morganella morganii*. Am. J. Med. Sci. 331, 44–47, **2006**.
3. Acar, JF.: *Serratia marcescens* infections. Infect Control; 7: 273-278, 1986 Ania B J: *Serratia*. Copyright 2002, eMedicine.com, Inc, **2002**.
4. Akay, T.: Genel histoloji. Palme Yayıncılık, s.56-60, Ankara, **1995**.
5. Alpaut, A.: Tatbiki Dericilik, İstiklal Matbaası, Ankara, s. 108–110, **1957**.
6. Ania, B J.: *Serratia*. Copyright 2002, eMedicine.com, Inc, **2002**.
7. Arens, S., Verhaegen J., Verbist L. “Differentiation and susceptibility of *Citrobacter* isolates from patients in a university hospital”. Clinical Microbiology and Infection, Vol 3 No.1 February **1997**.
8. Aronson, J. D., Alderman I.: The occurrence and bacteriological characteristics of *S. marcescens* from a case of meningitis. J. Bacteriol. 46:261–267, **1943**.
9. Artan, E.: *Akkaraman ve dağlıç derilerinin yapı özelliklerinin birbiriyle ve işlenmiş deri kalitesi ile ilişkisi* (Doktora Tezi). İ.Ü.Vet. Fak. Histoloji ve Embriyoloji A.B.D. İstanbul, **1979**.
10. Aslan, B.: *Streptomyces Türlerinin İzolasyonu, Karakterizasyonu ve Antibiyotik Üretimi Üzerine Çalışmalar*. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi, Adana, **1999**.
11. Atalay, H., Güney, I., Solak, Y., Almaz, E.: First case of CAPD-related peritonitis caused by *Morganella morganii*. Perit. Dial. Int. 30, 119–121, **2010**.
12. Bailey, D.G. and Birbir, M.: “Study of the Extremely Halophilic Microorganisms Found on Commercially Brine-Cured Cattle Hides”,

- The Journal of the American Leather Chemists Association*, 88–285, **1993**.
13. Bailey, D.G., Birbir, M.: “The Impact of Halophilic Organisms on the Grain Quality of Brine Cured Hides”, *Journal American Leather Chemists Association*, 91–47, **1996**.
  14. Baka, Deri ve Deri Ürünleri Sektörü Raporu, **2012**.
  15. Bal, A.: Deri ve Deri Mamülleri Sanayii Araştırması, Sümerbank Genel Müdürlüğü, Araştırma Planlama ve Koordinasyon Bölümü, s. 4, **1979**.
  16. Balcı, R.S.: “Seyhan Baraj Gölü ‘nün bakteriyolojik kirlilik düzeyinin belirlenmesi ve *Enterobacteriaceae* üyelerinde antibiyotik dirençliliği” Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, **2007**.
  17. Balows, A., Hausler, W.J., Herrmann K.L., Isenbergend H.D., Shadmony H.J. *Manual Clinical Microbiology*. 5th edit. American Society for Microbiology. Washington, D.C. **1991**.
  18. Barnett, M.E.: Venghaus, J.D.: “Microbiology Laboratory Exercises“, Wm.C. Brown Publishers Dubugue, Iowa, 292, **1989**.
  19. Bauer, A.W., Kirby, W. M., Sherris, J.C., Turck, M.: *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method*. American Journal of Clinical Pathology 45:493-496, **1966**.
  20. Baykan, M., Karabayraktar, A., Baysal, B., Şengil, AZ.: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Proteus* suşlarının tür tayini ve değişik antibiyotiklere duyarlılıkları. ANKEM Derg; 8:108, **1994**.
  21. Berber, D.: “Tuzlarda, Tuzlanmış ve Islatılmış Ham Derilerdeki Bakteriyel Popülasyonun İncelenmesi”, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 27-40, **2009**.
  22. Berber, D.; Birbir, M.; Hacıoglu, H.: “Efficacy Assessment of Bactericide Containing Didecyldimethylammonium Chloride on Bacteria Found in Soak Liquor at Different Exposure Times”, *JALCA*, 105, 354, **2010**.

23. Beşe, M.: “Mikrobiyolojide Kullanılan Biyokimyasal Testler ve Besiyerleri”, Ankara Üniv. Vet. Fak., Ankara Üniv. Basımevi, Ankara, 298, **1974**.
24. Biedenbach, D. J., R. N. Jones, and Erwin, M. E.: Interpretive accuracy of the disk diffusion method for testing newer orally administered cephalosporins against *Morganella morganii*. J. Clin. Microbiol. 31:2828– 2830, **1993**.
25. Biering, G., Karlsson, S., Clark, N.C., Jonsdottir, KE., Ludvigsson, P., Steingrimsson, O.: Three cases of neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii* in powdered milk. J Clin Microbiol; 27:2054-6, **1989**.
26. Bilgehan, H.: “Klinik Mikrobiyolojik Tanı”, Barış Yayınları, Fakülteler Kitabevi, 4. Baskı 425-432, **2004**.
27. Bilgehan, H.: Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. Fakülteler Kitap Evi Barış Yayınları, 589:145-178, **1994**.
28. Bilgi, S.T., Yapıcı, B.M., Yapıcı, A.N.: Determination of Bacterial and Fungal Numbers in Floats of Pre-tanning Operations. African Journal of Biotechnology 8:1602-1607, **2009**.
29. Birbir, M.: “Deri Endüstrisinde Kullanılan İşlenmiş ve İşlenmemiş Sığır Derilerinde Derinin Kalitesine Etki Eden Mikroorganizmaların İzolasyonu Ve İdentifikasyonu”, *Doktora Tezi*, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, **1991**.
30. Birbir, M., Ilgaz, A.: “Isolation and Identification of Bacteria Adversely Affecting Hide and Leather Quality”, *J. Soc. Leather Tec. Chem.*, 80:147-153, **1996**.
31. Birbir, M.; Kalli, N.; Johannson, C.: “Examination of Salt Quality of Şereflikoçhisar Lake Used in the Turkish Leather Industry”, *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 86, 112-117, **2002**.
32. Birbir, Y., Birbir, M.: “Inactivation of Extremely Halophilic Hide-Damaging Bacteria via Low-Level Direct Electric Current”, *Journal of Electrostatics*, 64, 791-795, **2006**.

33. Brink, B. J., Damink, C., Joosten, H. M. L. J., Huis in't Veld, J. H. J.: Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 11: 73-84, **1990**.
34. Brenner, D.J.: "Family I.*Enterobacteriaceae*", *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, Krieg, N.R.; Holt J.G. Editors.; Williams &Wilkins, Baltimore, MD, 587-850, **2005**.
35. Carrero, P., ve ark. Report of six cases of human infection by *Serratia plymuthica*. *J. Clin. Microbiol.* 33:275–276, **1995**.
36. Chamberland, S., L'Ecuyer, J., Lessard, C., Bernier, M., Provencher, P., Bergeron, M.G.: CS Group: Antibiotic susceptibility profiles of 941 Gram-negative bacteria isolated from septicemia patients throughout Canada, *Clin Infect Dis* 15:615, **1992**.
37. Chang Chien, H.Y., Chiu, N.C., Li, W.C., Huang, F.Y.: Characteristics of neonatal bacterial meningitis in a teaching hospital in Taiwan from 1984-1997. *J Microbiol Immunol Infect* 33 (2): 100-4, **2000**.
38. Chow, A.W., Taylor, P.R., Yoshikawa, T.T., Guze, L.B.: "A nosocomial outbreak of infections due to multiply resistant *Proteus mirabilis*: role of intestinal colonization as a major reservoir." *J. Infect. Dis.* 139: 621–627, **1979**.
39. Churria, C.D.G., Arias, N., Origlia, J., Netri, C., Marcantoni, H., Piscopo, M., Loyola, M.H. and Petruccelli, M.: "*Citrobacter freundii* infection in two captive Australian king parrots (*Alisterus scapularis*)" *Journal of Zoo and Aquarium Research* 2(2) **2014**.
40. Clementino, M.M., de Filippis, I., Nascimento, C.R., Branquinho, R., Rocha, C.L., Jang, E.B., Nishijima, K.A.: "Identification and attractancy of bacteria associated with *Dacus dorsalis* (Diptera, Tephritidae)." *Environ. Entomol.* 19:1726-1731, **1990**.
41. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 24th informational supplement. CLSI document M100-S24. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, **2014**.

42. Cornaglia, G., Frugoni S., Mazzariol A., Piacentini E., Berlusconi A., Fontana R.: Activities of oral antibiotics on *Providencia* strains isolated from institutionalized elderly patients with urinary tract infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:2819–2821. **1995**.
43. Covington, A.: Tanning Chemistry: The Science Of Leather, *The Royal Society Of Chemistry, Uk.*, 195p, **2009**.
44. Çetin, E.T.: “Genel ve Pratik Mikrobiyoloji”, İstanbul Üniversitesi, 3.Baskı, Sermet Matbaası, İstanbul, **1973**.
45. Çetin, E.T.: “Dezenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon İşlemleri ve Hastanede Uygulanışları”, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Matbaası, İstanbul, Türkiye, 21-28, 83-92, **1980**.
46. Dahl, S.: “Prevention of Microbiological Deterioration of Leather”, *Leather Chem. Ass.*, 51:103-117, **1956**.
47. Das, S., Sheorey, H., Taylor, H.R., Vajpayee, R.B.: Association between cultures of contact lens and corneal scraping in contact lens related microbial keratitis. *Arch. Ophthalmol.* 125:1182–1185, **2007**.
48. Demirtürk, N., Demirdal, T.: Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. *Kocatepe Tıp Dergisi* 5 sf:17-21, **2004**.
49. Doran, TI.: The role of *Citrobacter* in clinical disease of children: review. *Clin Infect Dis* 28:384–394, **1999**.
50. Durmaz, G., Bolatlı, T., Kiraz, N., Koçoğlu, T., Akgün, Y., Akşit, F.: Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde 1982-1993 yılları arasında yapılan BOS kültürlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni* 28: 223-7, **1994**.
51. Dwarkin, E. et al.: “The Prokaryotes”, Volume 6, 3rd ed. Pp:14, **2006**.
52. Eastoe, J.E.: “The Amino acid Composition of Mammalian Collagen and Gelatin”, *Biochemical Journal*, 61, 589-600, **1955**.
53. ECDC/EFSA/EMA; First Joint Report on the Integrated Analysis of the Consumption of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Bacteria from Humans and Food-producing Animals. Stockholm/Parma/London:ECDC/EFSA/EMA, *EFSA Journal*, 13 (1), 4006, 114, **2015**.

54. Edmond, MB., Wallace, SE., McClish, DK., Pfaller, MA., Jones, RN., Wenzel, RP.: Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. *Clin Infect Dis* 29:239-244, **1999**.
55. Euzéby, JP.: List of prokaryotic names with standing in nomenclature - Genus *Morganella*. **2013**.
56. Ewing, W.H., Davis, B.R., Fife, M.A., Lessel, E.F.: Biochemical characterization of *Serratia liquefaciens* (Grimes and Hennerty) Bascomb et al. (formerly *Enterobacter liquefaciens*) and *Serratia rubidaea* (Stapp) comb. nov. and designation of type and neotype strains. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 23:217–225, **1973**.
57. Ewing, W.H., Farmer, J.J., 3rd, Brenner, D.J.: Proposal of *Enterobacteriaceae* fam.nov., nom. rev. to replace *Enterobacteriaceae* Rahn 1937, nom. fam. cons. (Opin. 15, Jud. Comm. 1958), which lost standing in nomenclature on 1 January 1980. *International Journal of Systematic Bacteriology*; 30:674-5, **1980**.
58. Falkow, S.N.: Activity of lysine decarboxylase as an aid in the identification of *Salmonellae* and *Shigellae*. *Amer. J. Clin. Path.* 29, 598-600, **1958**.
59. Farmer, J.J., III. Asbury, M. A., Hickman-Brenner, F. W., Brenner, D. J., Enterobacteriaceae study group. *Enterobacter sakazakii*: A new species of “*Enterobacteriaceae*” isolated from clinical specimens. *International Journal of Systematic Bacteriology* 30:569–584, **1980**.
60. Farmer J.J., 3rd, Davis, B.R., Hickman-Brenner, F.W., McWhorter, A., Huntley-Carter, G.P., Asbury, M.A., Riddle C., Wathen-Grady, H.G., Elias, C., Fanning, G.R., Steigerwalt, A.G., O'Hara, C.M., Morris, G.K., Smith, P.B., Brenner, D.J.: Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol.* 21:46–76, **1985**.
61. Fernández, A., Vela, A.I., Andrada, M., Herraez, P., Díaz-Delgado, J., Domínguez, L., Arbelo, M.: *Citrobacter freundii* septicemia in a stranded newborn Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*). *Journal of Wildlife Diseases* 47: 1043–1046, **2011**.

62. Forests, C.P.: Recovery Of Better Quality Reusable Salt From Soak Liquor Of Tanneries In Solar Evaporation pans. 2,3, January **2009**.
63. Fraser, L.S., Arnett, M., Sinave, P.C.: *Enterobacter* Infections, e medicine from WebMD, **2009**.
64. Galarneau, J.R., Fortin, M., Lapointe, J.M., Girard, C.: *Citrobacter freundii* septicemia in two dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 15: 297–299, **2003**.
65. Gale, D., Sonnenwirth, A.C.: Frequent human isolations of *Serratia marcescens*. *Arch. Intern. Med.* 109:414–421, **1962**.
66. Gonzales, C.; Gutierrez, C.; Ramirez, C.: “*Halobacterium vallismortis* sp. nov. An Amyolytic and Carbohydrate-Metabolizing Extremely Halophilic Bacterium”, *Canadian Microb.*, 24:710-715, **1978**.
67. Grimont, P.A, Farmer, J.J, 3rd, Grimon,t F., Asbury, M.A., Brenner, D.J., Deval, C.: *Ewingella americana* gen. nov., sp. nov., a new *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *Ann Microbiol (Paris)* 134:39–52, **1983**.
68. Gross, R.J., Rowe, B., Easton, J.A.: “Neonatal meningitis caused by *Citrobacter koseri*”. *J. clin. Path.*, 26, 138-139, **1973**.
69. Guentzel, M.N.: *Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter* and *Proteus*. In: S. Baron (Ed.) *Medical Microbiology*, 3rd ed. Churchill Livingstone. New York, NY. 377–387, **1991**.
70. Gus Gunzalez Bronze, M.S., Drevets, D.A., Glatt, A., Mylonakis, E., Burke, A.C, *Surgical Wound Infection*, available in <http://www.emedicine.com/MED/topic1929.htm>.**2006**.
71. Gökçesu, Z.: *Deri Teknikleri*, YA-PA Yayınları, İstanbul: **2002**.
72. Hamilton-Miller, J.M.T., Shah, S.: Identity and antibiotic susceptibility of enterobacterial flora of salad vegetables. *Int. J. Antimicrob. Agents* 18, 81-83, **2001**.
73. Harley, J.P., Prescott, L.M.: “*Laboratory Exercises in Microbiology*”, 5th Ed. The McGraw-Hill Companies, New York, NY, **2002**.

74. Harmancıoğlu, M., Dikmelik, Y.: Ham deri. Teknik Ofset, İzmir, **1993**.
75. Hawkey, P.M., Penner, J.L., Inton, A.H.L., Hawkey, C.A., Crisp, L.J., Inton M.H.: Speciation, serotyping, antimicrobial sensitivity and plasmid content of Proteaeae from the environment of calf-rearing units in South West England. J. Hyg. (London) 97:405–417, **1986b**.
76. Heizmann, W.R., Michel, R.: Isolation of *Ewingella americana* from a patient with conjunctivitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis.; 10:957–959, **1991**.
77. Helps, C.R., Harbour, D.A., Corry, J.E.L.: PCR-based ribosomal DNA detection technique for *Clostridium estertheticum* causing spoilage in vacuum-packed chill-stored beef. Int. J. Food Microbiol. 52, 57-65, **1999**.
78. Ho M., Tsai K., Yen, S., Lu, C., Chen, C.: “A rare cause of Ludwig’s angina by *Morganella morganii*” Journal of Infection 53, e191ee194, **2006**.
79. Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T.: editors. Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore: Williams and Wilkins; p. 175-222, **1994**.
80. Hong Nhung, P., Ohkusu, K., Mishima, N., Noda, M., Monir Shah, M., Sun, X., et al.: Phylogeny and species identification of the family *Enterobacteriaceae* based on dnaJ sequences. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease; 58:153-61, **2007**.
81. Horowitz, H.W., ve ark.: *Serratia plymuthica* sepsis associated with infection of central venous catheter. J. Clin. Microbiol. 25:1562–1563, **1987**.
82. Iversen, C., Lehner, A., Mullane, N., Bidlas, E., Cleenwerck, I., Marugg, J., et al.: The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb. nov. *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii*, comb. nov., *Cronobacter sakazakii* subsp. *malonaticus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii*

- sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter* genomospecies 1. BMC Evol Biol; 7:64, **2007**.
83. İris, E.N., Dinç, E., Şimşek, F., Kepekçi, P., Yıldırım, T.: Toplum kökenli üriner sistem infeksiyonu etkeni Gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere direnç oranları ANKEM Derg; 16:109, **2002**.
84. İTKİB; “Türk Deri ve Deri Ürünleri Sanayiinin Güncel Durumu”, İTKİB Genel Sekreterliği, AB-GB Anlaşmalar Şubesi, **1997**.
85. J.E. Reyes et al. / FEMS Microbiology Ecology 47:291-296, **2004**.
86. Janda, J.M., Abbott, L.S.: The *Enterobacteria*, 2nd ed., Washington, D.C: ASM Press, pp. 279-299, **2006**.
87. Jang, E.B., Nishijima, K.A.: Identification and Attractancy of Bacteria Associated with *Dacus dorsalis* (Diptera: Tephritidae), 1726-1731, **1990**.
88. Jensen, K.T., Frederiksen, W., Hickman-Brenner, F.W., Steigerwalt, A.G., Riddle, C.F., Brenner, D.J.: Recognition of *Morganella* subspecies, with proposal of *Morganella morganii* subsp. *morganii* subsp. nov. and *Morganella morganii* subsp. *sibonii* subsp. nov. Int J Syst Bacteriol; 42:613-20, **1992**.
89. Jeremić S., Jakić-Dimić D., Veljović L.J.: *Citrobacter freundii* as a cause of disease in fish. *Acta Veterinaria* 53: 399–410, **2003**.
90. Jones, C.: The manufacture of vegetable tanned light leathers Part 1, *World Leather*, 80-83p, **2000**.
91. Jones, R.N., Jenkins, S.G., Hoban, D.J., Pfaller, M.A., Ramphal, R.: In vitro efficacy of six cephalosporins tested against *Enterobacteriaceae* isolated at 38 North American medical centers participating in the sentry Antimicrobial Surveillance Program, 1997 – 1998. Int J Antimicrob Agents; 15:111-118, **2000**.
92. Kačániová, M., Juhaníaková, L.: Microorganisms in confectionary products. In Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, vol. 1, no. 1, p. 57-69, **2011**.
93. Kanagaraj, J., Sundar, V.J., Muralidharan, C., Sadulla, S.: “Alternatives to Sodium Chloride in Prevention of Skin Protein

- Degradation-a Case Study”, *Journal of Cleaner Production*, 13:825-831, **2005**.
94. Kanagaraj, J., Sastry, T.P., Rose, C.: “Effective Preservation of Raw Goat Skins for the Reduction of Total Dissolved Solids”, *Journal of Cleaner Production*, 13:959-964, **2005**.
95. Kandhai, M.C., Reij, M.W., Gorris, L.G., Guillaume-Gentil, O., Van Schothorst, M.: “Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households.” *Lancet*; 363:39-40, **2004**.
96. Karaboz, İ.: *Deri Mikrobiyolojisi Ders Teksiri*. E.Ü. Fen Fakültesi, **1994**.
97. Kato, A., Ohtake, T., Furuya, R., Nakajima, T., Ohura, M., Kumagai, H., Kimura, M., Hishida, A., Kaneko, E.: Spontaneous bacterial peritonitis in an adult patient with nephrotic syndrome. *Intern Med* 32, 719–721, **1993**.
98. Kaygusuz, S., Apan, T.Z., Kılıç, D.: Toplum Kökenli Üriner Sistem İnfeksiyonu Etkeni Gram-Negatif Bakterilerde Çeşitli Antibiyotiklere Direnç. *Ankem Derg*; 15(4): 753-759, **2001**.
99. Kılıçoğlu, S.: “Ham Deri”, *Dericilik Araş. Enst. Yay. No. 2*, İstanbul, **1991**.
100. Koneman, E.W., Allen, S.D. and Janda, W.M.: “The Gram Positive Cocci: Part II Streptococci, Enterococci and The Streptococci Like Bacteria”. In *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5th Edt., Philadelphia, Lippincott, 577-629, **1997**.
101. Kovacs, N.: “Eine vereinfachte methods zum nachwers der indolbildung durch bakterien, *Z. Inmuforsch*, 55:311-314, **1928**.
102. Krake, P.R., Tandon, N.: “Infective endocarditis due to *Providencia stuartii*,” *South Med. J.*, 97, 10, 1022-1023, **2004**.
103. Kurtoğlu, M.G., Bozkurt, H., Güdücüoğlu, H., Bayram, Y., Berктаş, M.: “Klinik örneklerden izole edilen *Proteus mirabilis* suşlarının antimikrobiale ajanlara duyarlılıkları”. *Genel Tıp Derg*; 18(1):23-26, **2008**.

104. Kurtoğlu, M.G., Opus, A., Özdemir, M., Baysal, B.: “Isolation of *Citrobacters* in Various Infections and Their Antimicrobial Sensitivity Rates”. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 17 (Suppl A): S99-S104, **2011**.
105. Lai, K.K., D.M.D., M.D.: *Enterobacter sakazakii* Infections among Neonates, Infants, Children, and Adults Case Reports and a Review of the Literature. 80: 113-22, 2001 Vol. 80, No. 2 **2001**.
106. Lancaster, L.J.: Role of *Serratia* species in urinary tract infections. *Arch. Intern. Med.* 109:536–539, **1962**.
107. Leather Tanning and Finishing Effluent Limitations Guidelines; Pretreatment Standart New and Existing Sources, Leather Tanning and Finishing Effluent Limitations Guideline U.S. Environmental Protection Agency, Federal Register Environmental Documents, Federal Register: July 8, 61, Number 131, **1996**.
108. Leblebicioğlu, H., Usluer, G., Ulusoy, S.: “Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler” Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, **2008**.
109. Lee, I.K, Liu, J.W.: “Clinical characteristics and risk factors for mortality in *Morganella morganii* bacteremia”. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection = Wei Mian yu gan ran za zhi* [39(4):328-334, **2006**].
110. Lin, M.Y., Cheng, M.C., Huang, K.J., Tsai, W.C.: Classification, pathogenicity, and drug susceptibility of hemolytic gram-negative bacteria isolated from sick or dead chickens. *Avian Dis.* 37:6–9, **1993**.
111. Lyon, W.J., Milliet, J.B.: Microbial flora associated with Louisiana processed frozen and fresh nutria (*Myocastor coypus*) carcasses. *J. Food Sci.* 65, 1041-1045, **2000**.
112. MacFaddin, J.F.: Gram - Negative *Enterobacteriaceae* and other Intestinal Bacteria. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; p. 732-802, **2000**.
113. Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlop, P.V., Clarck, D.P.: “Brock Biology of Microorganisms”, Twelfth Edition., Pearson Benjamin Cummings., 329-417, **2009**.

114. Madigan, M.T., Martinko, J.M.: Enteric Bacteria In Brock Biology of Microorganisms, 14<sup>th</sup> ed., Pearson prentice Hall, USA. Pp: 351, **2015**.
115. Mahon, C.R., Lehman, D.C., Manuselis, G., Textbook of Diagnostic Microbiology, 5<sup>th</sup> ed., Elsevier. Pp: 430, **2015**.
116. Marchini, D., Rosetto, M., Dallai, R., Marri, L.: Bacteria associated with the oesophageal bulb of the medfly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Curr. Microbiol. 44:120-124, **2002**.
117. MEGEP, Giyim Üretim Teknolojisi, “Derinin Yapısı”, Ankara, **2007**.
118. MEGEP, Kimya Teknolojisi, “İslatmaya Hazırlık”, Ankara, **2008**.
119. Mirzaagha, P.; Louire, M.; Sharma, R.; Yanke, J.L., Topp, E. ve McAllister, A.T.: *Distribution and characterization of ampicillinand tetracycline-resistant Escherichia coli fromfeedlot cattle fed subtherapeutic antimicrobials*, BMC Microbiology, 1-15, **2011**.
120. Muller, H.E.: The aerobic flora of reptiles with special reference to the *Enterobacteria* of snakes. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. 1 Orig. 222:487-495, **1972**.
121. Muller, H.E., Fanning, G.R., Brenner, D.J.: Isolation of *Ewingella americana* from mollusks. Curr. Microbiol. 31, 287-290, **1995**.
122. Murdoch, C.W., Campana, R.J.: Bacterial species associated with wetwood of elm. Phytopathology 73:1270-1273, **1983**.
123. Murray, P., Baron, E.J., Jorgensen, J., Pfaller, M., Landry, M.L.: *Manual of Clinical Microbiology*, 5<sup>th</sup> ed, ASM Press, Washington DC. Pp: 323, **2007**.
124. Murray, Pr (ed), *Manual of Clinical Microbiology*, 9<sup>th</sup> ed, 2007. Başustaoğlu A (çeviri editörü), Klinik Mikrobiyoloji, Atlas Kitapçılık, Ankara. Pp: 649, **2009**.
125. Muthusubramania, N.L., Mitra, R.B.: “A Cleaner Production Method For The Synthesis of Bronopol - A Bactericide That is Useful in Leather Making.” *Journal of Cleaner Production*. 14: 536-538, **2006**.
126. Myonsun, Y., Junko, M., Motoki, O., Kazuhiro, T., Hirozane, M., Kazuhiro, M., Kwon-Sam, P., Takahiro, O., Takeshi, H.: “Importance

- of Providencia species as a major cause of travellers' diarrhoea*"  
Journal of Medical Microbiology, 54, 1077–1082, **2005**.
127. Nashya, E.H.A., Osman, O., Mahmoud, A.A., Ibrahim, M.: "Molecular spectroscopic study for suggested mechanism of chrome tanned leather", Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 88:171- 176p, **2012**.
  128. Newton, G.L., Booram, C.V., Barker, R.W. and Hale, O.M.: "Dried *Hermetia illucens* larvae meal as a supplement for swine.", J. Anim. Sci. 44: 395-400, **1977**.
  129. Nishijima, K.A., Couey, H.M., Alvarez, A.M.: "Internal yellowing, a bacterial disease of papaya fruits caused by *Enterobacter cloacae*.", Plant Dis. 71:1029-1034, **1987**.
  130. Nishijima, K.A., Alvarez, A.M., Hepperly, P.R., Shintaku, M.H., Keith, L.M., Sato, D.M., Bushe, B.C., Armstrong, J.W., Zee, F.T.: Association of *Enterobacter cloacae* with rhizome rot of edible ginger in Hawaii. Plant Dis. 88:1318-1327, **2004**.
  131. Norrell, S.A., Messley, K.E.: "Microbiology Laboratory Manual Principles and Applications", Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, **1997**.
  132. Ocholi, R.A., Chima, J.C., Spencer, T.H.I.: Concurrent infection of a patas monkey (*Erythrocebus patas*) by *Citrobacter freundii* and *Trichuris trichiura*. *Journal of Wildlife Diseases* 25: 124–125, **1989**.
  133. O'Hara, C.M., Brenner, F.W., Miller, J.M.: Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clin Microbiol Rev*; 13:534-46, **2000**.
  134. Okamura, H., Kawamura, A.: Studies on Raw Hide and Skin: XIX. On the Variation of Volatile Nitrogen in Soaking Liquor. Japanese Society of Animal Science. *Nihon Chikusan Gakkaiho* 36(10), 426-430, **1965**.
  135. Ono, M., Namimatsu, T., Ohsumi, T., Mori, M., Okada, M., Tamura, K.: Immunohistopathologic demonstration of pleuropneumonia

- associated with *Morganella morganii* in a piglet. Vet. Pathol. 38, 336–339, **2001**.
136. Oppong, D., Bryant, S., Rangarajan, R., Steele, S., Radwell, D and Hyllengren, L.; Application of Molecular Techniques to Identify Bacteria Isolated from the Leather Industry. *JALCA* 101, 140-145, **2006**.
137. Orlita, A.: “Microbial Biodeterioration of Leather and Its Control: A Review”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 53:157-163, **2004**.
138. Öncü, C.: “Dericilik Temel Bilgileri”, A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 322, Ankara Üniversitesi Basımevi, s.39, **1968**.
139. Öncül, O.: Antibiyotikler 1.İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyumu, 31: 23-28, **2002**.
140. Özçörekçi, M., Öngüt, E.: “Dünya’da ve Türkiye’de Deri ve Deri Ürünleri Sanayinin Gelişme Eğilimleri ve Geleceği”, ISBN 975 – 19-3701 – 9, s.65, **2005**.
141. Özel, S.: Deri-Deri Mamulleri Sanayi Ham-Deri-Mamul Deri ve Deri Konfeksiyon, Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, s. 37, **1987**.
142. Pfleiderer, E., Reiner, R.: “Microorganisms in Processing of Leather in Biotechnology”, Rehm, H.J.; Reed, G.Eds; VCH Weinheim, Germany, 66, 729-743, **1988**.
143. Phillips, J.E.: “In vitro studies of *Proteus* organisms of animal origin.” *J. Hyg. (London)* 53:26–31, **1955**.
144. Polkade, A.V.: “Molecular and Phylogenetic Studies on Microbial Diversity of Raw Buffalo Hide to be Used in Leather Manufacturing”, *Doctorate Thesis*, University of Pune, Faculty of Science, India, Pune 104, **2007**.
145. Prasad, L.B., Pandey, S.P.: Isolation of *Proteus morganii* from an atypical form of fatal gastro-enteritis in cattle. *Ind. Vet. J.* 43:767–770, **1966**.

146. Quesada, E.; Ventosa, A.; Valera, R.F.; Cormenza, A.R.: “Types and Properties of Some Bacteria Isolated from Hypersaline Soils”, *J. Appl. Bacteriol.* 53, 155-161, **1982**.
147. Rangarajan, R., Didato, T.D. and Bryant, S.: “Measurement of Bacterial Populations in Typical Tannery Soak Solutions by Traditional and New Approaches”, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 98 477-485, **2003**.
148. Reyes, J.E., Venturini, M.E., Oria, R. and Blanco, D. “Prevalence of *Ewingella americana* in retail fresh cultivated mushrooms (*Agaricus bisporus*, *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus*) in Zaragoza (Spain),” *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 47, no. 3, pp. 291–296, **2004**.
149. Richard, C.: “ Genus IV. *Enterobacter* ”, in: Krieg, N.R.; Holt, J.G.(Eds.); *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 1, Williams & Wilkins, U.S.A. 465, **1984**.
150. Roels, S., Wattiau, P., Fretin, D., Butaye, P., Vanopdenbosch, E., “Isolation of *Morganella morganii* from a domestic rabbit with bronchopneumonia.” *Vet. Rec.* 161, 530-531, **2007**.
151. Rossiter, M.C., Howard, D.J., Bush, G.L. Symbiotic bacteria of *Rhagoletis pomonella*. Pages 77-84 in: *Fruit Flies of Economic Importance*. R. Cavalloro, ed. A. A. Balkema, Rotterdam. 27, **1983**.
152. Samonis, G., ve ark.: 10 January “*Serratia* infections in a general hospital: characteristics and outcomes.” *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect.* Dis. doi: 10.1007/s10096-010-1135-4, **2011**.
153. Sanchez-Porro, C.: “Caracterization Bioquímica y Molecular de la Haloproteasa CP1 Producida por *Pseudoalteromonas ruthenica*”, *Doktora Tezi*, İspanya, 102-144, **2005**.
154. Sanders, W.E., ve Sanders, C.C.: *Enterobacter* spp.: Pathogens poised to flourish at the turn of the century. *Clin. Microbiol. Rev.* 10:220-241, **1997**
155. Shede, P.N., Kanekar, P.P., Polkade, A.V., Dhakephalkar, P.K. and Sarnaik, S.S.: “ Bacterial Succession On Raw Buffalo Hide and Their

- Degradative Activities During Ambient Storage”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62, 65-74, **2008**.
156. Simmons, B.P., Gelfand, M.S., Haas, M., Metts, L., Ferguson, J.: “*Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula.” *Infect Control Hosp Epidemiol*;10:398-401, **1989**.
157. Steele, C.M., Brown, R.N., Botzler, R.G.: “Prevalences of zoonotic bacteria among seabirds in rehabilitation centers along the Pacific coast of California and Washington, USA.” *Journal of Wildlife Diseases* 41: 735–744, **2005**.
158. Stock, I., Burak, S., Sherwood, K J., Grüger, T., Wiedemann, B.: Natural antimicrobial susceptibilities of strains of ‘unusual’ *Serratia* species: *S. ficaria*, *S. fonticola*, *S. odorifera*, *S. plymuthica* and *S. rubidaea*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 51, 865–885, **2003**.
159. Strohl, W.A., Rouse, H., Fisher, B.D.: Lippincott’s Illustrate Reviews: Microbiology (R. A. HARVEY ve P. A. CHAMPE editör). Nobel Tıp Kitapevleri. 516:44-47, **2006**.
160. Şenses, İ.Ü.: “Kürk Teknolojisi”, Pendik Dericilik Araştırma Enstitüsü, Ders Notları, **1987**.
161. Takahashi, Y., Takahashi, K., Sato, M., Watanabe, K., Kawano, T.: Bacterial leaf rot of Odontioda orchids caused by *Enterobacter cloacae*. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 63:164-169, **1997**.
162. Talaro, K.P., Chess, B.: “Foundations in Microbiology”, Mc Graw Hill, 9th Edition, **2014**.
163. Tamer, A.Ü., Altan, Y., Gucin, F.: “Gülveren köyü (Erzurum-Şankaya) florasında belirlenen bazı parazit funguslar”. *Anadolu Üniversitesi Fen Edeb. Fakültesi Dergisi*. Ankara. 1:45-55, **1989**.
164. Tanaka, M., Takuma, H., Kokumai, N., Oishi, E., Obi, T., Hiramatsu, K., Shimizu, Y.: “Turkey *rhinotracheitis* virus isolated from broiler chicken with swollen head syndrome in Japan.” *J. Vet. Med. Sci.* 57:939–941, **1995**.

165. Taylor, G., Keane, P.M.: “Cross-infection with *Serratia marcescens*.” J. Clin. Pathol. 15:145–147, **1962**.
166. Temel Britannica, 5. cilt, s. 198, **1992**.
167. Thornton, S.M., Nolan, S., Gulland, F.M.: “Bacterial isolates from California sea lions (*Zalophus californianus*), harbor seals (*Phoca vitulina*), and northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*) admitted to a rehabilitation center along the central California coast”, 1994–1995. J. Zoo. Wildl. Med. 29:171–176, **1998**.
168. Tille M.P., Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 13<sup>th</sup> ed., Elsevier, Pp: 309, **2014**.
169. Toptaş, A.; “Deri Teknolojisi”, Sade Ofset Matbaacılık, İstanbul: **1993**.
170. Toptaş, A.: “Deride Kalite Tespiti”, Sade Ofset ve Matbaacılık, İstanbul, Türkiye, 13-23, **1998**.
171. Toptaş, A.: “Deri İşlentisinde Hata Kaynakları”, ReinLeader-Okkimya, Sade Ofset ve Matbaacılık, İstanbul, Türkiye, 65-71, **2004**.
172. Töreci, K.: *Enterobacteriaceae*, Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, ed: Topçu, A., Söyletir, G., Doğanay, M., 3.baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, Pp: 1555, **2008**.
173. TS 4122.: “Mamül Deriler. pH Tayini”, UDK 675:543.257.1, Türk Standartları Enstitüsü, **1984**.
174. Tusdata Mikrobiyoloji 1, 1. Sayı, 94-108, **2010**.
175. Tünger, A., Çavuşoğlu, C., Korkmaz, M.: “Asya Mikrobiyoloji”, Asya Tıp Yayıncılık, 3. Baskı, 97-118, **2003**.
176. Uğur, G.: “Deri Islatma Sıvılarındaki Bakterilerin Doğru Elektrik Akımı ile İnaktivasyonu”, *Yüksek Lisans Tezi*, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, **2006**.
177. Unat, E.K., Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi syf: 609-610, **1986**.
178. Van de Bogaard, A.E, Stobberingh, E.: “Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans.” Int. J. Antimicrobial Agents, 14: 327-35, **2000**.

179. Weiss, E.F.; Thornton, R.L.: "Growth and Control of Microbiological Activity During Hide Curing Process", Buckman Laboratories Inc., 18, **1984**.
180. WHO Critically Important Antimicrobials for Human Medicine-3rd revision 2011. In World Health Organization, 1-32, **2012**.
181. Wick, R.L., Rane, K.K., Sutton, D.K.: "Mung bean sprout disease caused by *Enterobacter cloacae*." (Abstr.) *Phytopathology* 77:123. 39, **1987**.
182. Wright, K.M., Whitaker, B.R.: (eds) *Amphibian Medicine and Captive Husbandry*. Malabar, Florida: Krieger Publishing Company, **2001**.
183. Yapıcı, A.N.: "The effect of using a fungicide along with bactericide in the main soaking float on microbial load", *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (21), pp. 3922-3926, 5 November, **2008**.
184. Yapıcı, A.N., Yapıcı, B.M., Karaboz, I., Tozan, M.: "An in vitro Assessment of The Effectiveness of Some Bactericides on Bacteria Isolated from Soaking Float", *Asian Journal of Chemistry* Vol. 21, No. 2, 1521-1525, **2009**.
185. Yapıcı, Binnur D.D.: "Islatma ve yumuşatma basamağındaki alkalifilik mikroorganizmaların sayımı ve izolasyonu." X. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, Çanakkale, 4-7 Ekim **2011**.
186. Yarsan, E.: *Veteriner Hekimlikte Antibiyotikler: Antibiyotiklere Direnç ve Direncin Çok Yönlü Etkileri*, Ankara, **2012**.
187. Yüce, A.: "Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları", *Klinik Dergisi*, 14:41, **2001**.
188. Zhao, C., Tang, N., Wua, Y., Zhang, Y., Wub, Z., Li, W., Qin, X., Zhao, J., Zhang, G.: "First reported fatal *Morganella morganii* infections in chickens" *Veterinary Microbiology* 156, 452-455, **2012**.
189. <http://www.bacterio.net/>, Erişim Tarihi **2016**.
190. <http://bloggmleather.blogspot.com.tr/2014/03/deri-uretimi-islalma-yumusatma-full.html>, Erişim Tarihi **2016**.

191. <http://dericilik.blogcu.com/islatma-ve-kireclik-islemleri/2313562>,  
Erişim Tarihi **2016**.
192. [http://www.vumicro.com/vumie/help/index.htm#VUMICRO/  
Purpose.htm](http://www.vumicro.com/vumie/help/index.htm#VUMICRO/Purpose.htm), Erişim Tarihi **2016**.





## ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında İstanbul’da doğdum. İlk öğrenimimi Nurettin Teksan İlköğretim Okulu’nda, orta öğrenimimi Göztepe İhsan Kurşunoğlu Anadolu Lisesi’nde tamamladım.

2007 yılında Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü’nü kazandım. 2012 yılında lisansımı tamamlayarak aynı yıl Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında “Mikrobiyoloji” yüksek lisans eğitimime başladım.

### Stajlar:

- Hacı Mustafa Tarman Anadolu Lisesi (2012-2013 Eğitim Öğretim yılı)
- Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Acil Mikrobiyoloji Laboratuvarı  
(Temmuz- Ağustos 2014)

### Araştırma Projeleri:

- “İslatılmış derilerdeki *Enterobacteriaceae* familyasına ait türlerin izolasyonu, tanımlanması ve farklı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi ” adlı yüksek lisans bilimsel araştırma projesi

### Sertifika Bilgileri:

**Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi– 14-15 Nisan 2016**

2. Çevre ve Ekoloji Çalıştayı (Katılım Sertifikası)

**Marmara Üniversitesi – 8 Aralık 2015**

Turnitin İntihal Önleme Programı Eğitimi (Katılım Sertifikası)

**Ege Üniversitesi – 21-22 Mayıs 2015**

3. International Leather Engineering Congress (Poster Bildirimi)

**Marmara Üniversitesi Sağlık Birimleri Enstitüsü – 30 Kasım-1 Aralık 2012**

II. Kök Hücre Sempozyumu (Katılım Sertifikası)

**Global Village English Center Vancouver – 23 Haziran-23 Temmuz 2010**

İngilizce Kursu Katılım Sertifikası

**Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü – 5 Mart 2010**

I. Kök Hücre Sempozyumu (Katılım Sertifikası)