

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ANKARA'DA SATIŞA SUNULAN PROBİYOTİK GIDALARDAN İZOLE
EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİK
DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ**

Seda SEYİRT

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2022**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANKARA'DA SATIŞA SUNULAN PROBİYOTİK GIDALARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİLİK DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

Seda SEYİRT

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Pınar ŞANLIBABA
Eş Danışman: Doç. Dr. Başar UYMAZ TEZEL

Bu çalışmada 18 farklı markaya ait parti numaraları ve son kullanma tarihleri birbirinden farklı olan, 37 çeşit probiyotik süt ürünü ile 10 çeşit probiyotik gıda takviyesi olmak üzere toplam 80 örnek *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. sayımı amacıyla kullanılmıştır. Analize alınan toplam 15 probiyotik süt ürünü ile probiyotik gıda takviyesinde canlı hücre sayımı yapılamamıştır. Ambalaj üzerinde belirtilen canlı probiyotik kültür sayımları ile tez çalışması kapsamında yapılan canlı hücre sayımlarının 4 örnekte uyumlu olmadığı belirlenmiştir. 61 örnekte ise ürün ambalaj bilgileri üzerinde yer alan sayıda veya bu sayının üzerinde canlı probiyotik hücre sayımı yapılmıştır. 52 adet *Lactobacillus* spp. ve 28 adet *Bifidobacterium* spp. suşu 16S RNA dizi analizi ile moleküler düzeyde tanımlanmıştır. *Lactobacillus* spp. suşlarının %100'ü metisiline, %96,15'i vankomisine, %92,30'u sefoksitine, %40,38'i kanamisine, %38,46'sı sefazoline, %38,46'sı siprofloksasine, %36,53'ü trimetoprim, %36,53'ü norfloksasine, %25'i eritromisine, %28,84'ü enrofloksasine, %23,07'si ampisiline, %17,30'u rifampine, %17,30'u tetrasikline, %15,38'i penisilin G'ye, %15,38'i klindamisine, %15,38'i gentamisine, %9,61'i streptomisine ve %7,69'u kloramfenikole karşı dirençlilik göstermiştir. *Bifidobacterium* spp. suşlarının ise %100'ü vankomisine, %96,42'si sefoksitine, %96,42'si metisiline, %67,85'i sefazoline, %57,14'ü kanamisine, %50'si trimetoprim, %42,85'i penisilin G'ye, %39,28'i ampisiline, %39,28'i tetrasikline, %32,14'ü streptomisine, %28,57'si klindamisine, %25'i enrofloksasine, %25'i norfloksasine, %25 eritromisine, %14,28'i siprofloksasine, %3,57'si gentamisine, %7,14'ü kloramfenikole ve %7,14'ü rifampine karşı dirençlilik göstermiştir.

Haziran 2022, 114 sayfa

Anahtar Kelimeler: Probiyotik gıdalar, laktik asit bakterileri, izolasyon, antibiyotik dirençlilik

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISITANCE LEVEL OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM PROBIOTIC FOODS SOLD IN ANKARA

Seda SEYİRT

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Pınar ŞANLIBABA
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Başar UYMAZ TEZEL

In this study, a total of 80 samples, 37 types of probiotic dairy products and 10 types of probiotic food supplements, whose lot numbers and expiration dates of 18 different brands were different from each other, were collected to count *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. Viable cell count could not be performed in 15 probiotic products. It was determined that living probiotic culture counts stated on the package and living cell counts made within the scope of the thesis study were not compatible in 4 samples. In 61 samples, the number of living probiotic cells was counted at or above the number indicated on the product packaging information. 52 *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. were identified at the molecular level by 16S RNA sequencing analysis. Antibiotic resistance of *Lactobacillus* spp. strains was determined as 100% methicillin, 96.15% vancomycin, 92.30% cefoxitin, 40.38% to kanamycin, 38.46% to cefazolin, 38.46% to ciprofloxacin, 36.53%, to trimethoprim, 36.53% to norfloxacin, 25% to erythromycin, 28.84% to enrofloxacin, 23.07% to ampicillin, 17.30% to rifampin, 17.30% to tetracycline, 15.38% penicillin G, 15.38% to clindamycin, 15.38% to gentamicin, 9.61% to streptomycin and 7.69% to chloramphenicol. Antibiotic resistance of *Bifidobacterium* spp. strains was determined as 100% vancomycin, 96.42% cefoxitin, 96.42% to methicillin, 67.85% to cefazolin, 57.14% to kanamycin, 50% to trimethoprim, 42.85% to penicillin G, 39.28% to ampicillin, 39.28% to tetracycline, 32.14% to streptomycin, 28.57% to clindamycin, 25% to enrofloxacin, 25% to norfloxacin , 25% to erythromycin, 14.28% to ciprofloxacin, 3.57% to gentamicin, 7.14% to chloramphenicol and 7.14% to rifampin.

June 2022, 114 pages

Key Words: Probiotic foods, lactic acid bacteria, isolation, antibiotic resistance

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin her aşamasında yardım ve desteğini esirgemeyen, değerli bilgilerinden yararlandığım danışman hocam sayın Doç. Dr. Pınar ŞANLIBABA'ya (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı),

Çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve desteğini esirgemeyen sayın Doç. Dr. Başar UYMAZ TEZEL'e (Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bayramiç Meslek Yüksekokulu),

Çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan ve deneyimleriyle yol gösteren Esra ŞENTÜRK ve Elif ÇAKMAK'a; laboratuvarında birlikte çalıştığım, yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Gülsüm ATASOY ve Gamze ERGEZEN'e; destek ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Behiye Ebru ŞAHİNER'e,

Hayatım boyunca maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan ve beni hiç yalnız bırakmayan sevgili annem Emine SEYİRT, babam Doğan SEYİRT, kardeşlerim Eda SEYİRT ve Furkan SEYİRT'e

sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Seda SEYİRT
Ankara, Haziran 2022

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Probiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi	3
2.2 Probiyotik Kültür Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar	4
2.2.1 Bakteriler	4
2.2.2 Mayalar	6
2.2.3 Küfler	7
2.3 Probiyotik Mikroorganizmaların Seçim Kriterleri	8
2.4 Probiyotik Gıdaların İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi	9
2.5 Antibiyotik Dirençlilik	11
2.5.1 Beta-laktamlar	12
2.5.2 Makrolidler	13
2.5.3 Tetrasiklinler	13
2.5.4 Kinolonlar	14
2.5.5 Aminoglikozitler	14
2.5.6 Sülfonamidler	15
2.5.7 Glikopeptidler	15
2.5.8 Oksazolidinonlar	15
2.6 Probiyotik Mikroorganizmalarda Antibiyotik Dirençlilik Mekanizması	16
2.6.1 Lactobacillus cinsi bakterilerinin antibiyotik dirençliliği	18
2.6.2 Bifidobacterium cinsi bakterilerinin antibiyotik dirençliliği	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	26
3.1 Materyal	26

3.1.1 Gıda örnekleri	26
3.1.2 Referans bakteriler	26
3.1.3 Çalışmada kullanılan besiyerleri ve kimyasallar	26
3.1.4 Antibiyotikler	27
3.1.5 Stok kültürlerin hazırlanması.....	27
3.2 Yöntem	29
3.2.1 Örneklerin analize hazırlanması	29
3.2.2 Probiyotik gıdalarda canlı probiyotik sayısının belirlenmesi	29
3.2.3 İzolatların biyokimyasal olarak tanımlanması.....	31
3.2.3.1 Gram boyama	31
3.2.3.2 Katalaz testi	31
3.2.4 Lactobacillus spp. ve Bifidobacterium spp. izolatlarının stok kültürlerinin hazırlanması	31
3.2.5 Muhtemel Lactobacillus spp. ve Bifidobacterium spp. izolatlarının 16S rRNA dizi analizi ile tür düzeyinde moleküler olarak tanımlanması.....	32
3.2.5.1 Genomik DNA İzolasyonu	32
3.2.5.2 16S rRNA gen bölgesinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması	33
3.2.5.3 16S rRNA gen bölgelerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi	33
3.2.5.4 PZR ürünlerinin dizilenmesi ve değerlendirilmesi	35
3.2.6 Antibiyotik dirençlilik düzeylerinin saptanması	35
3.2.7 İstatistiksel analizler	36
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	37
4.1 Probiyotik gıdalardan laktik asit bakterilerinin izolasyonu	37
4.2 Lactobacillus spp. ve muhtemel Bifidobacterium spp. izolatlarının biyokimyasal tanımlamasının yapılması	60
4.3 Lactobacillus spp. ve Bifidobacterium spp. 16S RNA dizi analizi ile moleküler düzeyde tanımlanması	73
4.4 Antibiyotik Duyarlılık Testleri	82
4.4.1 Lactobacillus spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri.....	83
4.4.2 Bifidobacterium spp. suşlarının antibiyotik duyarlılıkları	92
5. SONUÇLAR	100
KAYNAKLAR	102
ÖZGEÇMİŞ	114

SİMGELER DİZİNİ

dk	Dakika
h	Saat
g	Gram
mg	Miligram
KOB	Koloni Oluşturan Birim
mL	Mililitre
mM	Milimetre
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
vd	Ve diğerleri
µL	Mikrolitre
%	Yüzde
UV	Ultraviole
pH	Asitlik Derecesi
kb	Kilobaz
V	Volt
mM	Milimolar
spp.	Species

Kısaltmalar

ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection)
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
FAO	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
GRAS	Generally Recognized as Safe (İnsan ve hayvan tüketiminde güvenilir)
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
LAB	Laktik Asit Bakterileri
Gr (-)	Gram negatif

Gr (+)	Gram pozitif
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute (Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
RNA	Ribonükleik Asit
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
dNTP	Nükleotit Trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1 Lactobacillus spp. ve Bifidobacterium spp. suşlarına ait canlı hücre sayımlarının yapıldığı petri ortamları	61
Şekil 4.2 Lactobacillus spp. ve Bifidobacterium spp. suşlarının PZR ile çoğaltılan 16S rRNA fragmentleri	73
Şekil 4.3 Lactobacillus Lb3-1 suşunun antibiyotik zon görünümü	83
Şekil 4.4 Lactobacillus Lb64-1 suşunun antibiyotik zon görünümü	83
Şekil 4.5 Bifidobacterium Bf31-1 suşunun antibiyotik zon çapları	92
Şekil 4.6 Bifidobacterium Bf10-5 suşunun antibiyotik zon çapları	92



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar	4
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan besiyerleri, katkılar ve kimyasallar	27
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan antibiyotikler ve disk konsantrasyonları	28
Çizelge 3.3 Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan karşıım	33
Çizelge 3.4 Laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılık sınırları	36
Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan probiyotik süt ürünleri ve gıda takviyeleri.....	37
Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL)	43
Çizelge 4.3 MRS + %0,05 Sistein agar besiyerinden izole edilen muhtemel Lactobacillus spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları.....	62
Çizelge 4.4 MRS+NNLP agar besiyerinden izole edilen muhtemel Bifidobacterium spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları	69
Çizelge 4.5 Lactobacillus spp. suşlarının 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre tür düzeyinde tanımlaması	74
Çizelge 4.6 Lactobacillus spp. olarak tanımlanan türler ile ürün etiketinde yer alan tür bilgilerin karşılaştırılması... ..	77
Çizelge 4.7 Bifidobacterium spp. suşlarının 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre tür düzeyinde tanımlaması	80
Çizelge 4.8 Bifidobacterium spp. olarak tanımlanan türler ile ürün etiketinde yer alan tür bilgilerin karşılaştırılması... ..	81
Çizelge 4.9 Lactobacillus spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri	84
Çizelge 4.10 Lactobacillus spp. suşlarının antibiyotik dirençlilik yüzdeleri	88
Çizelge 4.11 Lactobacillus spp. suşlarının antibiyotik dirençlilik düzeylerine ait istatistiki veriler	91
Çizelge 4.12 Bifidobacterium spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri	93
Çizelge 4.13 Bifidobacterium spp. suşlarının antibiyotik dirençlilik yüzdeleri.....	95
Çizelge 4.14 Bifidobacterium spp. suşlarının antibiyotik dirençlilik düzeylerine ait istatistiki veriler.....	98
Çizelge 4.15 Bakteri türleri ile antibiyotiklerin karşılaştırılması.....	99

1. GİRİŞ

Probiyotikler yeterli düzeyde tüketildiğinde konakçının sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösteren canlı mikroorganizmalardır. Probiyotik olarak kullanılacak olan suşların genel özellikleri özetle bağırsak epiteline tutunabilmeli, safra tuzuna ve gastrik aside dirençli olmalı, gastrointestinal sistemde canlılığını sürdürebilmeli ve çoğalabilmeli, patojenik olmamalı ve tüketimi güvenli olmalıdır. Probiyotik olarak birçok farklı mikroorganizma grubu kullanılabilmekle birlikte, en yaygın kullanılan suşlar laktik asit bakterileridir.

Probiyotiklerin bağırsak sağlığının iyileştirilmesi, çeşitli hastalıkların önlenmesi ve/veya tedavi edilmesi sürecinde etkin rol oynaması, alerjik semptomların azaltılması gibi sağlık üzerinde birçok yararlı etkisi bulunmaktadır. Probiyotik gıdaların sağlık üzerine gösterdikleri yararlı etkiler kullanılan suşun türüne göre değişmekle birlikte, gastrointestinal sistemde canlı kalabilmesine ve çoğalabilmesine bağlıdır.

Günümüzde tüketicilerin probiyotiklere olan ilgisinin artmasıyla birlikte birçok farklı probiyotik ürün marketlerde satışa sunulmaya başlanmıştır. Probiyotikler genellikle güvenli olarak kabul edilselerde son zamanlarda probiyotiklerin güvenliği ile ilgili ciddi endişeler oluşmaya başlamıştır. Gıda sanayinde starter kültür olarak kullanılacak olan kültürlerin seçiminde en önemli seçim basamaklarından birisi de antibiyotik dirençliliğidir. Probiyotik mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı doğal dirençlilik fenotipine sahip olması istenmektedir. Ancak probiyotiklerin konjugatif plazmitlerde ve transpozonlarda bulunan kazanılmış antibiyotik direnç genlerine sahip olduğu ve bu genlerin yatay yayılma için yüksek potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir. Bu noktada ise en önemli endişe kaynaklarından birisi de bu direnç genlerinin gıda kaynakları patojenlere transfer edilebilmesi ve bu dirençliliğin yayılması olarak görülmektedir. Probiyotik gıdalarda kullanılan mikroorganizmalardaki antibiyotik direnç genlerinin varlığının sıkı bir şekilde izlenmesi gerekmektedir.

Bu kapsamda planlanan tez çalışmasındaki amacımız;

1. Ankara’da satışa sunulan probiyotik ürünlerinden ve probiyotik gıda takviyelerinden hedef probiyotik LAB kültürü olarak *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşlarının sayımı ve izolasyonu,
2. İzole edilen *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşlarının biyokimyasal ve moleküler düzeyde tanımlamasının yapılması,
3. Bu suşların antibiyotik dirençlilik düzeylerinin fenotipik olarak belirlenmesidir.



2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Probiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi

Yaşam için anlamına gelen probiyotik kelimesi ilk kez Lilly ve Stillwell (1965) tarafından bir mikroorganizmanın salgıladığı ve diğer mikroorganizmaların gelişimini teşvik eden maddeleri tanımlamak için kullanılmıştır. Yıllar içerisinde birçok farklı probiyotik tanımı yapılmıştır. Fuller (1989) probiyotikleri ‘konakçının bağırsak mikrobiyel dengesini iyileştirerek yararlı etki sağlayan canlı mikrobiyel yem takviyesi’ olarak tanımlamıştır. 1974 yılında Parker (1974) probiyotikleri “bağırsak mikrobiyel dengesine katkıda bulunan organizmalar ve maddeler” olarak, Havenaar ve Huis in’t Veld (1992) ise “insan veya hayvan doğal mikroflorasını iyileştirerek yararlı etki sağlayan canlı mikroorganizma kültürü” olarak tanımlamıştır. Dünya Sağlık Örgütü’ne (WHO: World Health Organization) göre ise probiyotikler “yeterli düzeyde alındığında konakçı üzerinde yararlı etki sağlayan canlı mikroorganizmalardır” (FAO/WHO 2001).

Yirminci yüzyılın başlarında Nobel ödüllü Elie Metchnikoff, Bulgar köylülerinin sağlıklı ve uzun ömürlü olmasının nedeninin *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* türlerini içeren yoğurt tüketiminden kaynaklandığını öne sürmüştü ve probiyotik kavramının temelini atmıştır. 1930’lu yılların başlarında, Japon mikrobiyolog Shirota, insan gastrointestinal sisteminden geçerek hayatta kalan laktik asit bakterisi (LAB) suşlarını ilk kez izole etmiştir. 1935’te *Lactobacillus casei* Shirota suşu kullanılarak Yakult adlı ilk ticari fermente süt içeceği geliştirilmiştir. Bu ürün, dünya çapında popülerliğini halen sürdürmektedir (Soccol vd. 2014, Gopal 2022).

Son yıllarda probiyotiklere olan ilginin artmasıyla birlikte probiyotik ürün çeşitliliği de artmıştır. Genellikle probiyotik ürünler denildiği zaman ilk olarak akla yoğurt, peynir ve kefir gibi süt bazlı ürünler geliyor ise de günümüzde kahvaltılık tahıllar, bebek maması, meyve suyu gibi birçok üründe probiyotik nitelik kazandırılabilir (Kechagia vd. 2013, Sharma vd. 2014).

2.2 Probiyotik Kültür Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Günümüzde probiyotik olarak kullanılan birçok farklı mikroorganizma türü vardır. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri probiyotik kültür olarak en yaygın kullanılan bakterilerdir. Ayrıca *Bacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Lactococcus* spp., *Streptococcus* spp. ve *Propionibacterium* spp. cinsine ait bakteri türleri de probiyotik kültür olarak kullanılmaktadır (Soccol vd. 2014, Gowri vd. 2016). Çizelge 2.1’ de probiyotik olan kullanılan mikroorganizma türleri özetlenmiştir (Gowri vd. 2016, Gopal 2022).

Çizelge 2.1 Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar

<i>Lactobacillus</i> türleri	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. johnsonii</i> , <i>Lb. reuterii</i> , <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lb. salivarius</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. crispatus</i>
<i>Bifidobacterium</i> trleri	<i>Bif. breve</i> , <i>Bif. longum</i> subsp. <i>infantis</i> , <i>Bif. longum</i> subsp. <i>longum</i> , <i>Bif. adolescentis</i> , <i>Bif. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Bif. bifidum</i>
Diğ�er trler	<i>Ent. faecium</i> , <i>Ent. faecalis</i> , <i>Bac. cereus</i> , <i>Bac. coagulans</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Clostridium butyricum</i> , <i>Sac. boulardii</i> , <i>Sac. cerevisiae</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i> , <i>Str. thermophilus</i> , <i>E.coli</i>

2.2.1 Bakteriler

Probiyotik olarak kullanılan bakterilerin çoğunluğunu LAB oluşturmaktadır (Argyri vd. 2013). LAB mikroaerofilik, spor oluşturmayan, Gram pozitif ve katalaz negatif özellik göstermektedir (Khaneghah vd. 2020). LAB grubunda yer alan *Lactobacillus*, ilk keşfedilen probiyotik kültürdür. Probiyotik etkiye sahip diğ er LAB suşları ise *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Pediococcus* spp. ve *Leuconostoc* spp. cinslerinde yer alan türlerdir (de Melo Pereira vd. 2018).

Bakteriyel probiyotiklerin büyük bir kısmını temel olarak uzun ve güvenli kullanım geçmişı ile GRAS (genellikle güvenli olarak kabul edilir) statüsüne sahip olan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri oluşturmaktadır. Bu türlerin dışında *Str. thermophilus*, *Str. acidophilus*, *Lc. lactis*, *Enterococcus* SF68 ve *E. coli* Nissle 1917 ticari olarak kullanılan diğer probiyotik bakterilerdir (Tsai vd. 2019, Lucatto vd. 2020).

Lactobacillus suşlarının laktik asit üretmesi ve aynı zamanda GRAS statüsüne sahip olmasından dolayı, gıdalarda uzun bir kullanım geçmişı vardır. Ayrıca günümüzde besin takviyesi olarak da kullanımına olan ilgi giderek artmaktadır. Günümüzde *Lactobacillus* cinsine dâhil edilmiş yaklaşık 315 tür bulunmaktadır. Bunlardan sadece *Lb. rhamnosus*, *Lb. johnsonii*, *Lb. plantarum*, *Lb. sporogens*, *Lb. reuteri*, *Lb. casei*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. salivarius*, *Lb. johnsonii* ve *Lb. acidophilus* türleri probiyotik suş olarak tanımlanmıştır. Bunlar arasında da *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. reuteri* ve *Lb. rhamnosus* probiyotik ürünlerde sıklıkla kullanılan türlerdir (Tsai vd. 2019, Jeong vd. 2022).

Bifidobacterium spp. insan gastrointestinal sisteminde doğal olarak bulunan Gram pozitif ve spor oluşturmeyan bakterilerdir. Bifidobakteriler yoğurt, süt, bebek maması, peynir ve diyet takviyeleri gibi çeşitli gıda ürünlerinde probiyotik kültür olarak kullanılmaktadır (Russell vd. 2011). Yaygın olarak kullanılan türler arasında *Bif. bifidum*, *Bif. bifidus*, *Bif. lactis*, *Bif. longum*, *Bif. breve* (Yakult) ve *Bif. infantis* bulunmaktadır (Tsai vd. 2019).

Bacillus spp. Gram pozitif, aerobik ve endospor oluşturan mikroorganizma grubudur (de Melo Pereira vd. 2018). Spor oluşturma özelliğinden dolayı *Lactobacillus* gibi spor oluşturmeyan bakterilere kıyasla bazı avantajlara sahiptir. Sporlar ısıya ve düşük gastrik pH'a karşı yüksek stabilite göstermektedir. Ayrıca uzun raf ömrüne sahip gıdalarda canlılığını uzun süre muhafaza edebilmektedir (Cutting 2011).

Enterococcus suşlarının probiyotik özellikleri konusunda bilim dünyasında günümüzde halen daha tartışmalar devam etmekte olup, bu konuda yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Güvenlik endişeleri nedeniyle sınırlı sayıda *Enterococcus* suşu ticarileştirilmiştir.

Birçok suş ise GRAS statüsüne ulaşamamıştır. Bu suşlardan sadece *Ent. feacium* M74 ve *Ent. feacium* SF-68 suşları çeşitli gıda takviyelerinde probiyotik kültür olarak kullanılmaktadır (Hanchi vd. 2018).

2.2.2 Mayalar

Asidik ortamlara karşı direnç, bağışıklık sisteminin uyarılması ve modülasyonu, bağırsak epitel bütünlüğünün iyileştirilmesi ve besin biyoyararlanımının geliştirilmesi gibi probiyotik özelliklere sahip olmasının yanı sıra (Souza vd. 2021), maya kültürlerinin antibakteriyel, antifungal, antitümör ve antiinflamatuvar özelliklerine de sahip olması, mayaların probiyotik kültür olarak kullanımını sağlamıştır (Saadat vd. 2020). Ayrıca mayaların yüksek protein içeriği ile birlikte B vitamini, eser mineraller ve çeşitli bağışıklık uyarıcı bileşikler sentezleme özelliklerinden dolayı, probiyotik kültür olarak kullanımına olan ilgi günümüzde giderek artmaktadır. Mayalar gastrointestinal geçişe, çoğu antibiyotiğe ve endüstriyel proses koşullarına karşı da dirençlidir (Joshi ve Thorat 2011, de Melo Pereira vd. 2018).

Mayaların probiyotik kültür olarak kullanılmasının en önemli nedenlerinden biri, antibiyotiklere karşı doğal olarak dirençlilik fenotipi göstermesidir. Antibiyotiğe dirençli *Lactobacillus* suşlarında görülen en önemli güvenlik sorunu, dirençli genlerin patojenik bakterilere aktarılmasıdır. Ancak maya ve bakteriler arasında gen transferinin nadir olarak gözlenmesinden dolayı, mayaların probiyotik kültür olarak kullanımları güvenli kabul edilmektedir (Shruthi vd. 2022).

Sac. cerevisiae var. *boulardii* EFSA (European Food Safety Authority: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) tarafından onaylanan QPS (Qualified Presumption of Safety: Nitelikli Güvenlik Varsayımı) statüsüne sahiptir ve sağlığa yararlı etkilerinden dolayı probiyotik kültür olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca insan kullanımı için ticarileştirilen tek maya suşudur. *Sac. cerevisiae* dışında *Pichia* spp., *Metschnikowia* spp., *Yarrowia* spp., *Candida* spp., *Debaryomyces* spp., *Isaatchenkia* spp. ve *Kluyveromyces* spp. suşları da probiyotik özellik gösteren maya cinsleridir (Vohra vd. 2016).

Sac. boulardii, probiyotik olarak yaygın kullanılan ve genellikle liyofilize şekilde veya termal yolla kurutularak hazırlanmış ve ticari olarak kapsüllerde satışı yapılan canlı bir maya türüdür. Çoğunlukla *Sac. cerevisiae*'ya benzese de spesifik fenotipik farklılıklarından dolayı daha yüksek asit ve ısı toleransına sahiptir. Patojenik mikroorganizmalara karşı çeşitli direnç mekanizmalarına sahiptir. Bunlar;

- Bağırsak mikrobiyel homeostazının düzenlenmesi,
- Gastrointestinal bariyerin stabilizasyonu, emilimi ve beslenmeyi destekleyen enzimatik aktivitenin işlevi ve indüksiyonu,
- Lokal ve sistemik bağışıklık tepkilerinin modülasyonu,
- Patojenlerin bağırsak translokasyonunun azaltılması,
- Bakteriyel virülans faktörlerinin nötralizasyonu,
- Bakteri kolonizasyonuna müdahale eden konakçı hücre yapışmasının baskılanması,
- Toksin reseptörü bağlanma bölgelerinin inhibisyonudur (Kelesidis ve Pothoulakis 2012, Sen ve Mansel 2020).

2.2.3 Küfler

Küfler gıda, gıda bileşeni, enzim ve ilaç üretiminde uzun yıllardır starter kültür olarak kullanılmaktadır. Bazı küf türlerinin miselleri vitamin, diyet lifi, esansiyel amino asitleri ve lipitleri içermektedir (Barzee vd. 2021). Probiyotik olarak kullanılan küfler *Aspergillus niger* ve *Asp. oryzae* türleridir (Bilginer ve Çetin 2019). *Asp. oryzae* suşları bira, damıtma ve fırıncılık gibi birçok endüstriyel uygulamada kullanılmasına rağmen, probiyotik kültür olarak kullanımı sadece çiftlik hayvanları üzerinde sınırlıdır (Lee vd. 2006). Ayrıca yapılan bir çalışmada *Asp. cristatus* H-1 ve *Asp. cristatus* H-5 suşlarının asidik ortamlara, safra tuzlarına ve gastrointestinal koşullara karşı direnç gösterdiği saptanmış ve bu suşlar potansiyel probiyotik adaylar olarak kabul edilmiştir (Wang vd. 2022a).

2.3 Probiyotik Mikroorganizmaların Seçim Kriterleri

FAO/WHO' ya göre bir mikroorganizmanın probiyotik olarak tanımlanabilmesi için gerekli olan bazı özel koşullara sahip olması gerekmektedir (FAO/WHO 2002). Bunlar:

1. Probiyotik suşun cins ve türü belirlenerek, suş kimliği değerlendirilmelidir.
2. Probiyotik suşun mide asiditesine, safra asidine ve sindirim enzimlerine karşı dirençliliği, patojenik bakterilere karşı antimikrobiyel aktiviteleri, epitel hücrelerine yapışma ve yüzeylere patojen yapışmasını azaltma yeteneği değerlendirilmelidir.
3. Probiyotik bir suşun antibiyotik dirençliliği, metabolik aktiviteleri, konakçı üzerindeki yan etkileri, toksin üretimi ve hemolitik aktivitesi belirlenerek, güvenlik değerlendirilmesi yapılmalıdır.
4. Konakçıdaki yararlı sağlık etkileri doğrulanmalıdır.

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak tanımlanabilmesi için gerekli özellikler ise aşağıda maddelenmiştir (Martinez vd. 2015, Abatenh vd. 2018).

1. Güvenli ve stabil olmalı, patojenik ve toksik olmamalıdır.
2. Konakçının sağlığını olumlu yönde etkilemelidir.
3. Bağırsak patojenlerine karşı antimikrobiyel maddeler salgılayabilmelidir.
4. Düşük pH ve safra asidine karşı dirençli olmalıdır.
5. Bağırsak epitel yüzeylerine ve mukozal yüzeylere yapışmalı ve böylelikle patojenlerin yapışmasını ve kolonizasyonunu önlemelidir.
6. Bağırsak mikroflorasını yenileyebilmeli, sindirimi kolaylaştırmalı ve hızlandırabilmelidir.
7. Gastrointestinal sistemden geçişte hayatta kalmalı ve burada kolonize olabilmelidir.
8. Antikanserojen ve antimutajenik aktiviteye sahip olmalı ve ayrıca kolesterol düşürücü etki gösterebilmelidir.
9. Yüksek hücre canlılığına sahip olmalıdır
10. Antibiyotik dirençlilik fenotipine sahip olmalıdır.
11. Bağırsıklığı baskılanmış kişiler için bile güvenilir nitelikte olmalıdır.

Probiyotiklerin konakçı üzerindeki yararlı etkilerinin görülebilmesi, gastrointestinal sistemden geçişte hayatta kalmasına ve burada kolonize olabilmesine bağlıdır. Bu

nedenle gastrointestinal sistemden geçişte canlılığını sürdürebilmesi probiyotik mikroorganizmaların en önemli bir özelliğidir (Russell vd. 2011). Ayrıca probiyotiklerin bağırsakta çoğalabilme yeteneğine de sahip olması gerektiği belirlenmiştir (Huys vd. 2013).

Antibiyotik dirençliliğinin ve direnç genlerinin aktarılabirliliğinin belirlenmesi probiyotik suşların güvenliğinin değerlendirilmesinde oldukça önemlidir (Sanders vd. 2010). Probiyotik *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşları genetik olarak oldukça stabil kabul edilselerde antibiyotik direnç genlerinin potansiyel transfer riski probiyotik ürünün üretim ve depolama koşullarında değerlendirilmelidir (Shanahan 2012). Ayrıca probiyotiklerin klinik olarak kullanılan ilaçlara karşı direnci kodlayan aktarılabirli direnç genlerini de taşıması önerilmektedir (FAO/WHO 2001).

2.4 Probiyotik Gıdaların İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi

Probiyotik gıdaların ve besinlerin biyoyararlanımının artırılması, bağırsak sağlığının geliştirilmesi, bağışıklık tepkisinin artırılması, serum kolesterol düzeyinin azaltılması, kanserin önlenmesi, laktoz intoleransının azaltılması, duyarlı bireylerdeki alerjilerin önlenmesi veya azaltılması gibi birçok yararlı etkisi bulunmaktadır. Chorn's hastalığı, ülseratif kolit, irritabl bağırsak sendromu gibi gastrointestinal sistem hastalıkları, diyabet ve obezite gibi metabolik hastalıklar üzerinde de olumlu etkisinin olduğu belirtilmektedir. Ayrıca antimutajenik, antikanserojenik, antiinflamatuvar, antioksidatif, hipokolesterolemik, antihipertansif, antiosteoporoz ve immünomodülatör etkilerinin olduğu da bildirilmiştir (Argyri vd. 2013, Kechagia vd. 2013, Lee vd. 2014, Özdemir ve Demirel 2017, Jeong vd. 2022).

Probiyotikler bağırsak bütünlüğünü ve bağışıklık sistemini geliştirerek bağırsakta sağlıklı bir mikrobiyel dengenin korunmasını sağlar. Bağırsak mikrobiyotasının dengesini bakteriyosin gibi antimikrobiyel maddeler üreterek patojenlerin çoğalmasını azaltarak ve yararlı bakteri sayısını artırarak iyileştirirler (Jha vd. 2020). Probiyotikler aynı zamanda bağırsak geçirgenliğini modüle ederek ve biyoaktifmetabolitler üreterek diğer organlar üzerinde de olumlu etki yaratmaktadır (Chiang ve Pan 2012). Probiyotik

gıda ürünlerinin kan basıncı kontrolünün sağlanmasına ve serum kolesterol seviyesini düşürerek koroner kalp hastalıklarının önlenmesine katkı sağlayabileceği belirlenmiştir (Kechagia vd. 2013).

Yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanlarda yapılan çalışmalarda *Lb. acidophilus* ve *Lb. casei* içeren probiyotik gıda tüketiminin, diyabetin ilerlemesini önemli ölçüde geciktirdiği (Evivie vd. 2017); *Lb. rhamnosus*, *Lb. acidophilus* ve *Bif. bifidum* türlerini içeren probiyotik bir karışım ile yapılan tedavi sonrasında ise insülin duyarlılığının arttığı gözlenmiştir (Azad vd. 2018).

Messaoudi vd. (2011), 30 gün boyunca *Lb. helveticus* R0052 ve *Bif. longum* R0175 suşlarını içeren probiyotik gıda tüketen gönüllü bireylerin anksiyete ve depresyonla ilgili davranışlarını gözlemlemişler ve bu bireylerde olumlu etkiler görüldüğü belirlenmiştir. Psikolojik durumu kötü olan 124 sağlıklı insanla yapılan bir çalışmada ise, *Lb. casei* içeren yoğurt tüketiminin bireylerde psikolojik açıdan olumlu yönde iyileştirici etki yarattığı bildirilmiştir (Cerdó vd. 2017).

Sac. boulardii suşunun, sağlıklı bireylerin bağırsak mikroflora bileşimini geliştirdiği ve bağışıklık sistemini iyileştirdiği saptanmıştır (Sen ve Mansel 2020). Ayrıca probiyotik *Bif. breve* suşunun endotoksin seviyesinde önemli bir düşüş sağladığı ve obezite tedavisi için umut verici olduğu gözlemlenmiştir (Lee vd. 2014). Benzer şekilde probiyotik *Ent. faecium* suşunun ise domuz gribi virüslerinin çoğalmasını önlediği ve konakçıyı domuz gribi virüsü enfeksiyonundan koruduğu belirlenmiştir (Wang vd. 2013).

Lactobacilli, enterococci ve bifidobacteria türlerinin çeşitli ishal türlerini önlediği, şiddetini azalttığı veya iyileştirdiği de saptanmıştır (Rosales-Hartshorn vd. 2015). 0-11 yaş aralığındaki atopik dermatitli çocuklara probiyotik *Lb. salivarius* LS01 tedavisinin uygulandığı bir çalışmada ise atopik dermatit ve kaşıntı değerlerinde önemli ölçüde iyileşme olduğu görülmüştür (Jeong vd. 2022).

Probiyotikler, laktoz intoleransı olan bireylerde ince bağırsaktaki hidrolitik kapasiteyi ve kolonik fermantasyonu artırarak laktoz sindirimini desteklemektedir. Ayrıca fermente gıdalarda laktoz konsantrasyonunu azaltmakta ve ince bağırsaktaki aktif laktaz enzimini artırabilmektedir (Abatenh vd. 2018, Oak vd. 2019).

Probiyotiklerin sağlık üzerindeki yararlı etkileri kullanılan suş, gıdanın tüketim düzeyine ve bireyin fizyolojik durumuna göre değişmektedir (Ezema 2013). Probiyotik suşların her biri farklı düzeylerde koruyucu etkinlik sağlamaktadır. Bu nedenle ticari probiyotik ürünlerde birden fazla türde probiyotik suş kullanımı yoluna gidilmektedir (Jha vd. 2020).

2.5 Antibiyotik Dirençlilik

Antibiyotikler mikroorganizmaların büyümesini engelleyen veya mikroorganizmaları öldüren maddelerdir. Antibiyotikler kimyasal yapılarına, mekanizmalarına veya etki spektrumlarına göre sınıflandırılmaktadır. Bakterilerin büyümesini engelleyen antibiyotiklere “bakteriyostatik”, bakterileri öldüren antibiyotiklere ise “bakterisid” denir. Kimyasal yapılarına göre antibiyotikler beta-laktamlar, makrolidler, tetrasiklinler, kinolonlar, aminoglikozitler, sülfonamidler, glikopeptitler ve oksazolidinonlar olarak sınıflandırılmaktadır (Etebu ve Ariekpar 2016).

Son yıllarda antibiyotiklere dirençli patojenik bakterilerde önemli düzeyde artış görülmektedir. Antibiyotiğe dirençli bakteriyel patojenlerin ortaya çıkması ve direncin hızlı bir şekilde yayılması dünya çapında ciddi bir tehlike oluşturmaktadır. Ayrıca patojenik bakterilerde görülen çoklu antibiyotik direnci, enfeksiyonların tedavisini giderek zorlaştırmaktadır (Frieri vd. 2017).

Probiyotiklerin glikopeptid, aminoglikozit, monolaktam ve florokinon gibi birçok antibiyotik grubuna dirençli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bazı probiyotik suşların plazmitlerinde antibiyotik direnç geni taşıdığı ve direnç genlerini diğer mikroorganizmalara aktarma potansiyelinin bulunduğu bildirilmiştir. Probiyotik

mikroorganizmalar tarafından direnç genlerinin patojen mikroorganizmalara aktarılması ve direnç genlerinin yayılması ise endişelere neden olmaktadır (Zheng 2017, Ku vd. 2020).

2.5.1 Beta-laktamlar

Beta-laktam grubu antibiyotikler, kendilerini penisilin bağlayıcı protein enzimlerine bağlayarak peptidoglikan sentezine müdahale ederler. Böylece bakteri hücresinde lizise ve ölüme neden olurlar. Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler bu antibiyotik sınıfında yer alır. Çeşitli bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Adzitey 2015). Bu grupta penisilin ilk keşfedilen antibiyotiktir. Bu antibiyotik sınıfının içinde penisilin G, penisilin V, oksasilin (dikloksasilin), metisilin, nafsilin, ampisilin, amoksisilin, karbenisilin, piperasilin, mezlosilin ve ticarcillin yer alır.

Penisilin G, Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Nafsilin ve oksasilin Gram pozitif bakterilere karşı etkilidir ve metisiline duyarlı stafilokokların tedavisinde kullanılmaktadır. Ampisilin ve amoksisilin doğal penisilinlere benzer bir aktiviteye sahiptir ve birçok Gram negatif bakteriye karşı da etkilidir (Etebu ve Ariekpar 2016).

Yapısal olarak penisilinlere benzeyen sefalosporinlerin 5 farklı jenerasyonu vardır ve her jenerasyon bir önceki jenerasyondan daha yüksek bir aktivite spektrumuna sahiptir. Örneğin ikinci jenerasyon olan sefoksitin birinci jenerasyon olan sefazoline göre Gram negatiflere karşı daha geniş bir aktiviteye sahiptir. Sefotaksim, seftazidim ve seftriakson Gram negatiflere karşı gelişmiş ancak Gram pozitiflere karşı ise değişken aktiviteye sahip üçüncü jenerasyon sefalosporinlerdir. Dördüncü jenerasyon olan sefepim ve sefpirome ise klinik olarak önemli Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin büyük bölümüne karşı aktiviteye sahipken; beşinci jenerasyon olan seftarolin ise metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a karşı gelişmiş aktiviteye sahiptir (Watkins ve Bonomo 2017).

Monobaktamlar aerobik Gram negatiflere karşı etkiliyken, Gram pozitif ve anaeroblara karşı etkili değildir. Gram pozitif ve Gram negatif anaerobik bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan karbapenemler ise beta-laktamlar arasında en geniş antibakteriyel aktiviteye sahiptir (Adzitey 2015, Etebu ve Arikekpar 2016, Watkins ve Bonomo 2017).

2.5.2 Makrolidler

Makrolidler çeşitli *Streptomyces* cinsi mikroorganizmalar tarafından üretilen, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı etkili olan antibiyotiklerdir. Özellikle *Mycoplasma*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia* türleri ile *Rickettsia*'nın tedavisinde kullanılmaktadırlar. Ayrıca penisilin duyarlılığı olan hastalarda da tercih edilmektedir (Etebu ve Arikekpar 2016).

Makrolidler lakton çekirdeğindeki atom sayısına göre 14 (eritromisin A, B, C, D, E ve F, oleandomisin, roksitromisin, diritromisin, klaritromisin ve fluritromisin), 15 (azitromisin) ve 16 (josamisin, rosaramisin, rokitamisin, kitasamisin, mirosamisin, spiramisin ve tilosin) üyeli makrolid olmak üzere üç farklı gruba ayrılır. Azitromisin *Streptomyces erythreus* türü tarafından üretilen, eritromisine göre daha geniş bir aktivite spektrumuna sahip bir antibiyotiktir (Kanfer vd. 1998).

2.5.3 Tetrasiklinler

Tetrasiklinler geniş aktivite spektrumuna sahip, bakteriyostatik etki gösteren ve sık kullanılan antibiyotiklerdir. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin yanı sıra mikoplazma, klamidy, riketsiya ve protozoan parazitlerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı da etkilidirler. Tetrasiklinler hücre içine girerek ribozomun 30S alt birimine geri dönüşümlü olarak bağlanırlar ve aminoasil transferinin DNA'ya bağlanmasını engellerler. Böylece protein sentezini engelleyerek hücre büyümesine engel olurlar. Son zamanlarda tetrasiklinlerin veterinerlik ve beşerî tıpta yanlış ve gereksiz kullanım

oranının artmasıyla paralel bir şekilde bu antibiyotik grubuna karşı dirençlilik fenotipinde de artış görülmüştür (Daghrir ve Drogui 2013).

2.5.4 Kinolonlar

Çeşitli enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan kinolonlar *Mycobacterium* dahil Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı geniş aktivite spektrumuna sahip olan antibiyotiklerdir. Bu grupta yer alan antibiyotikler; norfloksasin, levofloksasin, gatifloksasin, nalidiksik asit, trovafloksasin, sparfloksasin, moksifloksasin, gemifloksasin, trovafloksasin ve garenoxasindir. Kinolonlar topoizomerez IV ve DNA giraz enzimini bozarak ve bakteriyel kromozomların kırılmasını sağlamakta, nükleik asit sentezini engelleyerek bakteri ölümüne neden olmaktadır. Kinolonların fazla kullanılması bakterilerin kinonlara karşı direnç kazanmasına neden olmuştur. Kinolon direncine neden olan mekanizmalar, kromozomal mutasyon veya plazmit kaynaklıdır (Pham vd. 2019).

2.5.5 Aminoglikozitler

Aminoglikozitler aktinomisetlerden üretilen geniş aktivite spektrumuna ve hızlı bakterisidal aktiviteye sahip doğal veya yarı sentetik antibiyotiklerdir. Streptomisin, neomisin, kanamisin, gentamisin, netilmisin, tobramisin ve amikasin antibiyotikleri bu grupta yer alır. Özellikle *Enterobacteriaceae* familyasının üyeleri başta olmak üzere çeşitli Gram negatif ve Gram pozitif mikroorganizmalara karşı etkilidirler. Aminoglikozitler protein sentezini inhibe ederek antibakteriyel aktivite gösterirler (Krause vd. 2016).

Aminoglikozit grubundaki keşfedilen ilk antibiyotik olan streptomisin, tüberküloz tedavisinde kullanılmıştır. Streptomisine göre daha az toksik olan gentamisin *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Shigella* ve *Salmonella* gibi Gram negatif mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlarda yaygın kullanılmaktadır (Etebu ve Ariekpar 2016).

2.5.6 Sülfonamidler

Sülfonamidler DNA ve RNA sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösteren antibiyotik grubudur. Yaygın olarak insanların ve hayvanların tedavisinde kullanılırlar. *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Neisseria*, *Shigella*, *Salmonella*, *Nocardia*, *Chlamydia* ve *Clostridium* cinsleri dâhil geniş bir antibakteriyel spektruma sahiptirler. Trimetoprim ve sülfametizol, sülfonamid grubunda yer alan antibiyotiklerdendir (Baran vd. 2011, Adzitey 2015). İdrar yolu enfeksiyonları, kulak enfeksiyonları, bronşit, bakteriyel menenjit, bazı göz enfeksiyonları, *Pneumocystiscarinii* pnömonisi, gezgin ishali gibi birçok enfeksiyonun tedavisinde kullanılmaktadır (García-Galán vd. 2008).

2.5.7 Glikopeptitler

Glikopeptitler Gram pozitif patojenlerin neden olduğu ağır enfeksiyonların tedavisi için oldukça önemlidir. *Staphylococci*, *Streptococci*, *Enterococci* ve *Clostridia* gibi Gram pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Vankomisin ve taykoplanin uzun yıllardır bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan glikopeptit antibiyotiklerdendir. Peptidoglikan sentezini inhibe ederek antibakteriyel etki gösterirler (Pootoolal vd. 2002, Butler vd. 2014). Vankomisin, çoklu antibiyotik dirençli patojen mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde oldukça etkilidir. Bu nedenle vankomisin direncinin artması, enfeksiyonların tedavi edilebilirliğini tehdit ettiği için endişeye neden olmaktadır (Zhou vd. 2005).

2.5.8 Oksazolidinonlar

Oksazolidinonlar protein sentezini inhibe ederek antibakteriyel etki gösterirler. Linezolid klinik olarak kullanımı onaylanan ilk oksazolidinon antibiyotiğidir. Linezolidler antibiyotiklere karşı dirençli Gram pozitif patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde glikopeptit ve streptogramin antibiyotiklerine alternatif olarak görülmektedir. Metisiline dirençli *Staph. aureus*, vankomisine dirençli

enterokoklar ve penisiline dirençli *Str. pneumoniae* gibi birçok dirençli patojene karşı etkilidir (Diekema ve Jones 2001).

2.6 Probiyotik Mikroorganizmalarda Antibiyotik Dirençlilik Mekanizması

Bakterilerde antibiyotiklere karşı doğal ve kazanılmış olmak üzere iki tür direnç mekanizması vardır. Direnç mekanizması antibiyotiğe, hedef bölgesine, bakteri türüne ve plazmit ya da kromozomal mutasyonla ilişkili olup olmamasına bağlıdır (Sharma vd. 2014). Doğal dirençlik, mikroorganizma türü veya cinsi için karakteristik olup, doğal olarak oluşan bir özelliktir. Kazanılmış direnç ise genetik mutasyon sonucu veya diğer bakterilerden dirençli DNA'nın alınmasıyla oluşur. Probiyotik suşların aktarılamayan antibiyotik direncine sahip olması genellikle güvenlik riski oluşturmaz. Bu nedenle eğer probiyotik suş antibiyotikle ilişkili diyare tedavisinde koruyucu bir ajan olarak kullanılacaksa, suşun aktarılamayan antibiyotik direncine sahip olması istenen bir özellik olabilmektedir (Huys vd. 2013).

Bakterilerin belirli bir antibiyotiğe karşı doğal olarak dirençli olmasında enzimatik inaktivasyon, aktif pompa sistemi ve dış membran geçirgenliğinin değiştirilmesi, bakteri hedef bölgesinin değişmesi ve hücre içi metabolik düzenleme mekanizmaları etkilidir (Meral ve Korukluoğlu 2014). Antibiyotiğe duyarlı olan bakteriler, genetik mutasyon veya diğer bakterilerden direnç genlerinin yatay transferi ile direnç kazanmaktadır (Huddleston 2014). Kromozomal mutasyon, bakteri kromozomunda kendiliğinden oluşur ve bakteri hücresinde yapısal değişimlere neden olur. Hücrelerin antibiyotik geçirgenliğini azaltarak veya antibiyotiğin hedefini değiştirerek bakterilerin antibiyotiğe karşı direnç kazanmasını sağlar (Meral ve Korukluoğlu 2014).

Direnç genlerinin yatay transferi konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon olmak üzere üç ana mekanizma ile gerçekleşir. Plazmitler, transpozonlar, integronlar ve bakteriyofajlar yatay gen transferinde önemli mobil genetik elemanlardır. Bu genetik elemanlar antibiyotik direnç genlerini içerir ve genetik materyalin tür içi ve türler arası transferinden sorumludur (Huddleston 2014). Plazmitler ekstrakromozomal DNA parçasıdır. Transpozonlar ise, bakterilerin farklı bölgelerine yerleşebilen; kromozomdan

plazmite, plazmitten plazmite, plazmitten kromozomal DNA'ya veya bakteriyofaja aktarılabilen DNA parçası olarak tanımlanır (Meral ve Korukluoğlu 2014). Ayrıca, transpozon bakterilerde antibiyotik direncinin türler arasında en sık yayılmasına neden olan genetik elemandır (Varankovich vd. 2015). Konjugatif transpozonlar aracılığıyla tetrasiklin, kloramfenikol, kanamisin ve eritromisin antibiyotik direncinin belirli bakteri türlerinde sıklıkla aktarıldığı belirlenmiştir (Imperial ve Ibana 2016). Plazmitlerin yatay transferinin ana mekanizması konjugasyondur. Konjugasyon olayı sırasıyla hücreden hücreye temas, çiftleşme oluşumu ve plazmit DNA'nın bir konjugatif pilus yoluyla transferi ile gerçekleşir (Huddleston 2014). Transdüksiyon direnç genlerinin bakteriyofaj aracılığı ile aktarımıdır. Transformasyonda ise bakteri ortamında bulunan DNA hücre içine alınarak direnç genleri aktarılır (Meral ve Korukluoğlu 2014).

İçsel direncin yatay yayılma için düşük potansiyel sunduğu kabul edilmektedir. Aynı şekilde kromozomal mutasyonla kazanılmış dirençte düşük yatay yayılma riskine sahiptir. Ancak mobil genetik elemanlarda bulunan kazanılmış direncin, yatay yayılma için en yüksek potansiyeli bulunmaktadır (Fraqueza 2015).

Probiyotikler kromozomlarında içsel direnç geni taşıdıkları için ya da antibiyotiklerin hedef bölgesinden yoksun olmalarından dolayı, antibiyotiklere doğal olarak dirençli olabilirler. Antibiyotik tedavisi sonrasında bağırsak mikrobiyotasının yenilenmesine yardımcı olmak amacıyla kullanılacak olan probiyotiklerin, doğal antibiyotik direncine sahip olması istenmektedir. Ayrıca probiyotiklerde kazanılmış direnç genlerinin konjugatif plazmitlerde ve transpozonlarda bulunduğu belirlenmiştir. Probiyotiklerde kazanılmış direnç, içsel dirence göre yatay yayılma için daha yüksek bir potansiyele sahip olduğundan, probiyotik suşların antibiyotik direnci değerlendirilirken suşların doğru tanımlanması ve içsel dirençle kazanılmış direncin ayırt edilmesi önemlidir (Li vd. 2020).

Baumgardner vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, probiyotiklerde aktarılabılır *van(A)*, *tet(M)*, *tet(K)*, *erm(B)*, *erm(T)*, *sul1*, *sul2* ve *dfrG* direnç genleri tanımlanmıştır. Hammad ve Shimamoto (2010) tarafından yapılan çalışmada ise, probiyotik

takviyelerden izole edilen suşların analiz edilen antibiyotiklere karşı düşük düzeyde doğal direnç sahip olduğu belirlenmiş ve antibiyotik direnç geni tespit edilememiştir.

2.6.1 *Lactobacillus* cinsi bakterilerinin antibiyotik dirençliliği

Lactobacillus türleri genellikle kloramfenikol, eritromisin, kinopristin, linkomisin, klindamisin ve tetrasiklin gibi protein sentezini inhibe eden antibiyotikler ile amoksisilin, ampisilin, penisilin G ve kloksasilin gibi beta-laktam antibiyotiklerine karşı duyarlıdır. Genellikle sefalosporinlere, aminoglikozitlere ve vankomisine karşı ise yüksek düzeyde dirençlilik gösterirler. Farklı laktobasil türlerinin streptomisine ve kolistine doğal olarak dirençli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca amikasin, kanamisin ve gentamisine karşı doğal direnç gösterme eğilimindedirler (Toomey vd. 2010, Gueimonde vd. 2013, Fraqueza 2015, Gunyakti ve Asan-Ozusaglam 2019, Das vd. 2020).

Karasu vd. (2010), test edilen *Lb. plantarum* suşlarının tamamının gentamisin, streptomisin ve kanamisine dirençli; Marcó vd. (2014) ise *Lb. plantarum* suşlarının gentamisin, eritromisin, ampisilin ve kloramfenikole karşı duyarlı olduğunu belirlemiştir. Hütt vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Lactobacillus* suşlarının ampisilin, kloramfenikol, eritromisin, gentamisin, tetrasiklin ve vankomisine duyarlı olduğu saptanmıştır. Kim vd. (2020), *Lb. rhamnosus* MG316 suşunun kanamisin ve kloramfenikole dirençli; ampisilin, eritromisin ve klindamisine duyarlı olduğunu belirlemiştir.

Lactobacillus türlerinin tetrasikline dirençli olan suşlarında *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(Q)*, *tet(W)*, *tet(S)*, *tet(K)*, *tet(36)*, *tet(L)*, *tet(Z)* ve *tet(O/W/32/O/W/O)* direnç genleri belirlenmiştir. *tet(K)* ve *tet(L)* genleri olmak üzere çoğu direnç geninin plazmit kodlu olduğu; *tet(M)*, *tet(O)* ve *tet(Q)* direnç genlerinin ise kromozomal olarak kodlandığı tespit edilmiştir (Das vd. 2020). Ayrıca *Lactobacillus* türlerinin aminoglikozide dirençli suşlarında *aph(200)*, *lnu(A)*, *aph(2)*, *ant(6)*, *aaa(60)*, *aph(3)-IIIa* ve *aac(6)* direnç genleri, eritromisine dirençli suşlarında ise *erm(B)* ve *msrA / B* genleri tespit edilmiştir (Toomey vd. 2010, Fatahi-Bafghi vd. 2022).

Fatahi-Bafghi vd. (2022) probiyotik *Lb. reuteri* suşunda *tet(L)*, *tet(W)* ve *dfrG* genlerini tanımlamıştır. Ayrıca, *Lactobacillus* türlerinde *tet(W)* geninin en yaygın direnç geni olduğu belirlenmiştir. Egervärn vd. (2010) probiyotik *Lb. reuteri* ATCC 55730 suşundan tetrasiklin direnç geni olan *tet(W)* geninin enterokok, bifidobakteri ve laktobasil suşlarına aktarılabilişliliğini araştırmış ve *tet(W)* aktarımı tespit edememiştir.

Belicová vd. (2013), analiz edilen tüm *Lb. plantarum* suşlarının ampisilin, gentamisin, tetrasiklin ve kloramfenikole duyarlı, sadece üç suşun eritromisine dirençli olduğunu belirlemiştir. Başka bir çalışmada ise, peynirden izole edilen tüm *Lb. plantarum* suşları gentamisin, eritromisin ve kloramfenikole duyarlı, tetrasikline ise oldukça dirençli bulunmuştur. Ayrıca suşların *tet(M)* geni taşıdığı da tespit edilmiştir (Zago vd. 2011). Benzer şekilde, *Lb. plantarum* suşlarında tetrasiklin direnci yaygın olarak gözlenmiştir (Cebeci vd. 2003).

Klare vd. (2007), probiyotik *Lb. rhamnosus* ve *Lb. paracasei* suşlarının streptomisine karşı yüksek düzeyde direnç gösterdiğini belirlemiştir. Ayrıca *Lb. rhamnosus*, *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum* ve *Lb. acidophilus* suşlarının fusidik aside doğal olarak dirençli, *Lb. reuteri* suşunun ise duyarlı olduğunu belirlemiştir. Pithva vd. (2014) *Lb. rhamnosus* suşlarının oksasilin, penisilin, ampisilin, amikasin, kloramfenikol, klindamisin, eritromisin, gentamisin, kanamisin, netilin, tetrasiklin, siprofloksasin, ko-trimoksazol, nitrofurantoin ve norfloksasin antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğunu saptamışlardır.

Casarotti vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, vankomisin ve gentamisine *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının duyarlı, *Lb. fermentum* ve *Lb. casei* suşlarının ise dirençli olduğu belirlenmiştir. Streptomisine çoğu suş duyarlıyken, tüm suşlar kanamisine karşı dirençli bulunmuştur. Çalışmada *van(A)* ve *van(B)* direnç genleri suşlar arasında sıklıkla gözlenmiştir.

Lb. gasseri suşunun probiyotik özelliklerinin araştırıldığı çalışmada ise, suşun amikasin, gentamisin, kanamisin, nalidiksik asit ve ofloksasin antibiyotiklerine karşı dirençli, ancak amoksisiline, kloramfenikol, kloksasillin, penisilin G ve eritromisine karşı duyarlı

olduğunu bulunmuştur (Gunyakti ve Asan-Ozusaglam 2019). Potansiyel probiyotik *Lb. rhamnosus* suşları vankomisin, ko-trimoksazol, metronidazol, gentamisin ve streptomisine karşı dirençli iken; pencillin G, ampisilin, rifampisin, tetrasiklin, kloramfenikol ve eritromisine karşı ise duyarlı bulunmuştur (Charteris vd. 2001).

Zhou vd. (2005) laktobasil türlerinde doğal vankomisin dirençliliğini tespit etmiştir. Benzer şekilde Nawaz vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada, *Lactobacillus* suşlarının vankomisine karşı doğal dirençli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Mater vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada, ise *in vitro* koşullar altında farelerin bağırsaklarında vankomisin direnç genlerinin *Enterococcus* suşlarından probiyotik *Lb. acidophilus* suşuna ilk kez transferi gözlenmiştir. Bu çalışma, insan sindirim sisteminde de probiyotik kültürlerle vankomisin direnç gen transferinin gerçekleşebileceği endişesi yaratmıştır.

Wong vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada, probiyotik diyet takviyelerinden izole edilen *Lactobacillus* suşlarının antibiyotik dirençliliği değerlendirilmiştir. Çalışmadaki bir diyet takviyesinden izole edilen *Lb. acidophilus* ve *Lb. salivarius* suşlarının gentamisin, streptomisin ve siprofloksasine dirençli olduğu belirlenmiştir. Diğer diyet takviyelerinde ise farklı üretim parti numarasına bağlı olarak streptomisin, aztreonam, gentamisin ve siprofloksasin antibiyotiklerine direnç gözlenmiştir. Ayrıca probiyotik diyet takviyelerinden izole edilen tüm suşların vankomisine dirençli olduğu belirlenmiştir.

Sharma vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada da probiyotik ticari ürünlerden izole edilen *Lb. rhamnosus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. reuteri*, *Lb. plantarum* ve *Lb. fermentum* suşlarının antibiyotik dirençliliğini değerlendirilmiştir. İzole edilen suşların nalidiksik asit, vankomisin, kanamisin, taykoplanin, ko-trimoksazol, amikasin, streptomisin, norfloksasin, sefepim ve nitrofurantoin antibiyotiklerine yüksek düzeyde direnç gösterdiği; levofloksasin, azitromisin, kloramfenikol, amoksiklav, sulfaktam, oksasilin, ofloksasin, sikloksasin antibiyotiklerine karşı ise düşük düzeyde direnç gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca suşlar sefatrikson, seftazidim, sefadroksil, sefotaksim, sefalotin, sefoperazon ve netillin antibiyotiklerine duyarlı bulunmuştur. Bu çalışma

sonucunda probiyotik suşlarda antibiyotik direncinin yaygın olarak görüldüğü belirlenmiş ve probiyotik suşların güvenliğinin değerlendirilmesinde antibiyotik dirençliliğinin dikkate alınması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

Wang vd. (2022b) tarafından yapılan çalışmada ise sekiz ticari probiyotik pastilden izole edilen *Lactobacillus* suşlarının antibiyotik dirençliliği analiz edilmiştir. İzole edilen tüm suşlar, taykoplanin ve ko-trimoksazol antibiyotiklerine dirençli, eritromisine ise duyarlı bulunmuştur. Probiyotik pastillerin biri dışında izole edilen tüm suşlarda streptomisin ve tobramisin antibiyotiklerine karşı direnç gözlenmiştir. Penisilin G'ye direnç sadece bir pastilden izole edilen suşlarda saptanmıştır. Florokinonlara ve eritromisine dirençli suş bulunmamasına rağmen; *mefA*, *parC* veya *gyr(A)*, *ermB* ve plazmit kodlu *erm(T)* genleri tanımlanmıştır. Ayrıca trimetoprim, kloramfenikol, kinupristin, vankomisin ve streptomisine dirençli olan suşlarda ise *dfrD*, *cat-TC*, *vatE*, *aadE*, *vanX* ve *aph(3'')-III* ve *ant(2'')-I* genleri tanımlanmıştır.

Probiyotik ürünlerden izole edilen *Lactobacillus* suşlarının antibiyotik dirençliliğinin değerlendirildiği başka bir çalışmada, tüm suşlar ampisiline duyarlı bulunmuştur. *Lb. paracasei*, *Lb. salivarius* ve *Lb. plantarum* suşlarında doğal vankomisin direnci tanımlanmıştır. Ek olarak, *Lb. salivarius* suşunda eritromisin direnci belirlenmiştir (Blandino vd. 2008).

Yöresel yoğurtlardan izole edilen potansiyel probiyotik *Lactobacillus* suşlarının antibiyotik duyarlılığının araştırıldığı başka bir çalışmada Bogra yoğurdundan izole edilen suşların amoksisiline duyarlı, kanamisin, nalidiksik asit, metronidazol ve tetrasikline dirençli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca suşlar gentamisin, klindamisin ve azitromisine orta düzeyde duyarlı bulunmuştur. Khulna yöresine ait olan yoğurttan izole edilen suşlar ise gentamisin, klindamisine duyarlı; amoksisilin, tetrasiklin, kanamisin, nalidiksik asit, metronidazol ve azitromisine dirençli bulunmuştur (Hoque vd. 2010).

Kumari vd. (2022), test edilen *Limosilactobacillus reuteri* NCDC958 ve *Lacticaseibacillus rhamnosus* NCDC95 suşlarının siprofloksasin, ko-trimoksazol ve

nalidiksik aside doğal dirençli olduğunu belirlemiştir. Ayrıca suşların antibiyotik direncinin güvenlik açısından risk oluşturmadığı kabul edilmiştir.

2.6.2 *Bifidobacterium* cinsi bakterilerinin antibiyotik dirençliliği

Bifidobacterium türleri ampisilin, penisilin G, sefalosporin, basitrasin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin, nitrofurantoin ve tetrasiklin antibiyotiklerine duyarlı; kanamisin, gentamisin, streptomisin, nalidiksikasit, norfloksasin, vankomisin, sülfonamidler, fusidik asit, trimetoprim, metronidazol, polimiksin B ve kolitsin antibiyotiklerine karşı ise dirençlidir (Li vd. 2020). Ayrıca *Bifidobacterium* türlerinin siprofloksasin, nalidiksik asit, mupirosin, streptomisine ve aminoglikozitlere karşı doğal dirence sahip olduğu bildirilmektedir. Ek olarak bifidobakterilerin linkozamidler, makrolidler, streptogramin B ve tetrasiklin antibiyotik direnç genlerini transpozonlarda taşıdığı belirlenmiştir (Gueimonde vd. 2013, Imperial ve Ibana 2016). Bifidobakterilerde *tet(W)*, *tet(M)*, *tet(O)* ve *erm(X)* direnç genleri tanımlanmıştır (Raeisi vd. 2018).

Georgieva vd. (2015), analiz edilen tüm *Bifidobacterium* suşlarının ampisilin, gentamisin, eritromisin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğunu raporlamışlardır. Blandino vd. (2008) tarafından yapılan çalışmada ise probiyotik ürünlerden izole edilen *Bifidobacterium* suşları ampisilin, sefotaksim ve eritromisine duyarlı bulunmuştur. Zhou vd. (2005) dört *Bif. lactis* Bb12 suşundan sadece birinin vankomisine dirençli olduğunu belirlemiştir. *Bif. breve* türünün diğer *Bifidobacterium* türlerine göre çeşitli antibiyotiklere karşı daha yüksek direnç gösterdiği bildirilmektedir (Ammor vd. 2008).

Probiyotik *Bif. breve* Yakult suşunun antibiyotik duyarlılığının değerlendirildiği başka bir çalışmada, sadece streptomisine karşı direnç gözlenmiştir. Streptomisin direncinin kromozomal mutasyondan kaynaklandığı ve aktarılma potansiyelinin olmadığı bildirilmiştir (Kiwaki ve Sato 2009).

Cao vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada *Bifidobacterium* suşlarının genellikle beta-laktamlara, glikopeptitlere, kloramfenikol ve rifampisine duyarlı olduğu belirlenmiştir. Suşların aminoglikozit, polipeptit, kinolon ve mupirosin antibiyotiklerine dirençli olduğu; eritromisin, tetrasiklin, fusidik asit, metronidazol, klindamisin ve trimetoprim antibiyotiklerine ise farklı düzeylerde direnç gösterdiği bildirilmiştir. Suşların plazmitlerinde *cmX* ve *tet(Q)* direnç genleri tanımlanmıştır. Ayrıca çalışmada *tet(W)* ve *erm(X)* genleri en sık tespit edilen direnç genleridir.

Xiao vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada Japon marketlerinde satılan gıdalardan ve takviyelerden probiyotik *Bifidobacterium* suşları izole edilmiş ve suşların antibiyotik duyarlılığı test edilmiştir. Suşların genellikle kloramfenikol, ampisilin, vankomisin ve linezolid antibiyotiklerine duyarlı, aminoglikozit antibiyotiklerine karşı ise doğal dirençli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca suşlar eritromisin, klindamisin, rifampisin, tetrasiklin ve trimetoprim antibiyotiklerine karşı farklı seviyelerde duyarlılık göstermiştir. Tüm *Bif. animalis* subsp. *lactis* suşlarının tetrasikline dirençli olduğu ve *tet(W)* geni taşıdığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda izolatlar güvenlik açısından risksiz bulunmuştur. Ancak *tet(W)* geninin daha detaylı araştırılması gerektiği bildirilmiştir.

Kim vd. (2018) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Bif. bifidum* BGN4 ve *Bif. longum* BORI suşlarının antibiyotik duyarlılığı ve direnç genlerinin aktarılabilirliği değerlendirilmiştir. *Bif. bifidum* BGN4 suşu gentamisine karşı dirençli bulunmuş ve bu suştaki dirençlilik geninin, gentamisin direncini duyarlı olan *Lb. acidophilus* ATCC 4356 suşuna konjugasyon yoluyla aktarılmadığı belirlenmiştir. *Bif. longum* BORI suşunun tetrasikline dirençli olduğu ve suşun kromozomunda *tet(W)* geni taşıdığı bildirilmiştir. Benzer şekilde *Bif. longum* BORI suşunun tetrasiklin direncini, tetrasikline duyarlı olan *Lb. fermentum* AGBG1 suşuna konjugasyon yoluyla aktarmadığı da gözlenmiştir. Çalışma sonucunda *Bif. bifidum* BGN4 ve *Bif. longum* BORI suşlarının probiyotik olarak kullanımın potansiyelinin yüksek olduğu bildirilmiştir.

Lu vd. (2021) *Bif. lactis* BL-99 suşunun ampisilin, gentamisin, streptomisin, eritromisin, penisilin G, tetrasiklin ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğunu bildirmiştir. *Bif. animalis* subsp. *lactis* suşlarının ise tetrasikline orta derecede dirençli olduğu ve transpozaz *tet(W)* direnç geni taşıdığı belirlenmiştir (Gueimonde vd. 2010).

Raeisi vd. (2018) probiyotik süt ürünlerinden izole edilen bifidobakterilerin antibiyotik dirençliliğini ve direnç genlerinin diğer mikroorganizmalara aktarılabirliğini araştırmıştır. İzole edilen tüm suşlar amoksisilin, ampisilin, sefoksitin, kloramfenikol, penisilin, eritromisin, linkomisin, linezolid, sülfametoksazol ve vankomisine duyarlılık göstermiştir. *Bif. animalis* subsp. *lactis* suşlarının tümünde *tet(W)* direnç geni tanımlanmıştır. Ancak bu suşlardan *Enterococcus* türlerine *tet(W)* geni aktarımı gözlenmemiştir.

Benzer şekilde Ku vd. (2020) tarafından yapılan başka bir çalışmada, *Bif. animalis* subsp. *lactis* AD011 suşunun antibiyotik duyarlılığını ve direnç genlerinin aktarılabirliliği araştırılmıştır. Suşun tetrasikline dirençli olduğu bulunmuştur. *Bif. animalis* subsp. *lactis* suşunda plazmit kodlu aktarılabir direnç geni tanımlanmamış ve bu suşun tetrasiklin direnç genini, tetrasikline duyarlı olan *Lb. fermentum* AGBG1 suşuna konjugasyon yoluyla aktaramadığı belirlenmiştir. Farklı bir çalışmada ise probiyotik *Bif. animalis* subsp. *lactis* ve *Bif. longum* suşlarında hareketli genetik elementlerde kodlanan *tet(W)* direnç genleri tespit edilmiş ve direnç genlerinin diğer mikroorganizmalara transfer edilme riski olduğu belirlenmiştir (Fatahi-Bafghi vd. 2022).

Kim vd. (2020) tarafından *Bif. breve* MG729 suşunun tetrasikline, *Bif. animalis* subsp. *lactis* MG741 suşunun ise gentamisin ve streptomisine dirençli, ayrıca her iki suşunda ampisilin, eritromisin ve klindamisin antibiyotiklerine duyarlı olduğunu bildirmiştir.

Wei vd. (2012) tarafından yürütülen çalışmada ise *Bif. longum* JDM301 suşunun vankomisin, amoksisilin, sefalotin, kloramfenikol, eritromisin, ampisilin, sefotaksim, rifampisine duyarlı; siprofloksasin, amikasin, gentamisin ve streptomisine ise doğal

dirençli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu suşta tetrasiklin direnç geni tanımlanmış ve genin diğerk bakterilere transfer edilebilirliğinin araştırılması gerektiğı özellikle vurgulanmıştır.

Mättö vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada, tetrasikline dirençli *Bifidobacterium* suşları tespit edilmiştir. Ayrıca eritromisin ve klindamisine de direnç gösteren suşlar belirlenmiştir. Çalışmada probiyotik kültür olarak kullanım potansiyeli araştırılacak olan *Bifidobacterium* suşlarında antibiyotik dirençlilik özelliğinin mutlaka araştırılması gerektiğı vurgulanmıştır.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Gıda örnekleri

Ankara’da satışa sunulan farklı süt bazlı probiyotik gıdalar ve probiyotik gıda katkıları son kullanım tarihine ve üretim parti numaralarına dikkat edilerek, farklı zamanlarda ve farklı satış yerlerinden satın alınmıştır. Tez çalışması kapsamında hedef probiyotik LAB kültürü olarak *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşları seçilmiş ve bu kültürlerin kullanıldığı probiyotik ürünler tercih edilmiştir. Probiyotik gıdalar ve probiyotik gıda katkıları ambalajı içerisinde aseptik koşullara dikkat edilerek ve soğuk zincir korunarak Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarına getirilmiştir. Probiyotik gıdalar herhangi bir depolama işlemine tabi tutulmaksızın, aynı gün içinde gıdalarda izolasyon çalışmalarına başlanmıştır.

3.1.2 Referans bakteriler

Tez çalışmasında Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonlarından temin edilen *Lactobacillus plantarum* LMG2003, *Lactobacillus sake* NCDO2714, *Bifidobacterium longum*, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ve *Escherichia coli* LMG3083 (ETEC) suşları şahit suşlar olarak kullanılmıştır.

3.1.3 Çalışmada kullanılan besiyerleri ve kimyasallar

Tez çalışması kapsamında kullanılan besiyerleri, katkıları ve kimyasallar Çizelge 3.1’de yer almaktadır.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan besiyerleri, katkıları ve kimyasallar

BESİYERİ ADI	KODU	FİRMA
MRS Agar	1.10660.0500	MERCK
MUELLER-HINTON Agar	1.05437.0500	MERCK
MRS broth	1.10661.0500	MERCK
Disodyum hidrojen fosfat	1.06586.0500	MERCK
Potasyum di hidrojen fosfat	1.04873.1000	MERCK
Nalidiksik asit	N8878	SIGMA-ALDRICH
Lityum klorür	310468	SIGMA-ALDRICH
Tween 80	8.22187.0500	MERCK
L-Sisteinhidroklörürmonohidrat	1.02839.0100	MERCK
Paromomisin sülfat tuzu	P9297	SIGMA
Neomisin sülfat	1.06254.0100	MERCK
Etanol	1.00983.2511	MERCK
Gliserol	1.04092.2500	MERCK
Hidrojen Peroksit	1.08597.2500	MERCK
Gram-Boyama Seti	1.11885.0001	MERCK

3.1.4 Antibiyotikler

Tez çalışmasında antibiyotik duyarlılık testleri ticari olarak temin edilen toplam 18 adet antibiyotik disk (BIOANALYSE) kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotikler ve disk konsantrasyonları Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

3.1.5 Stok kültürlerin hazırlanması

Tez çalışması kapsamında probiyotik gıdalardan izole edilen *Lactobacillus* spp. izolatları %40 oranında steril gliserol içeren MRS broth ortamlarında; *Bifidobacterium* spp. izolatları ise benzer şekilde %40 oranında steril gliserol içeren MRS+%0,05 Sistein (de Man Rogosa Sharpe) broth ortamlarında -20°C’de muhafaza edilmiştir. Tez çalışması süresince *Bifidobacterium* spp. suşları MRS+%0,05 Sistein broth ortamında, anaerobik şartlarda 37°C’de 18-24 h; *Lactobacillus* spp. suşları ise MRS broth ortamında, aerobik şartlarda 37°C’de 18-24 h geliştirildikten sonra denemeye alınmıştır.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan antibiyotikler ve disk konsantrasyonları

GRUBU	ANTİBİYOTİK	KATALOG NUMARASI	DİSK KONSANTRASYONU (µg/disk)
Beta laktam	Ampisilin	ASD00200	10
	Metisilin	ASD05430	5
	Penisilin G	ASD07400	10
Sefalosporin	Sefazolin	ASD01300	30
	Sefoksitin	ASD01900	30
Fenikol	Kloramfenikol	ASD02800	30
Florokinolon	Enrofloksasin	ASD03600	5
	Siprofloksasin	ASD03000	5
	Norfloksasin	ASD06500	10
Linkozamit	Klindamisin	ASD03310	2
Makrolit	Eritromisin	ASD03700	15
Aminoglikozit	Gentamisin	ASD04300	10
	Kanamisin	ASD04700	30
	Streptomisin	ASD08400	10
Rifamisin	Rifampin	ASD07800	5
Tetrasiklin	Tetrasiklin	ASD08900	30
Trimetoprim	Trimetoprim	ASD09300	5
Glikopeptit	Vankomisin	ASD09400	30

3.2 Yöntem

3.2.1 Örneklerin analize hazırlanması

Soğuk zincir altında aseptik koşullara dikkat edilerek laboratuvara getirilen süt bazlı probiyotik gıdalar ve probiyotik gıda takviyeleri aynı gün içinde analize tabi tutulmuştur. Probiyotik gıdalar kapakları aseptik koşullara dikkat edilerek açılmış ve steril kaplarda net ağırlıkları 10 g veya 10 mL olacak şekilde tartılmış ve üzerine 90 mL Mitsuoka Buffer ilave edilerek homojenize edilmiştir. Tablet, kapsül veya saşe formunda satış yerlerinden temin edilen probiyotik gıda takviyeleri ise net ağırlıkları 1 g olacak şekilde steril kaplarda tartılmış ve üzerine 99 mL Mitsuoka Buffer ilave edilerek homojenize edilmiştir. Tez çalışmasında probiyotik kültürlerde enkapsülasyon matriksini çözmek amacıyla formüle edilmiş olan Mitsuoka Buffer kullanılmıştır. Homojenizasyon işleminin ardından her bir örnek 37°C’de 30 dk inkübe edilmiş ve daha sonra aynı buffer çözeltisi ile 10^{-7} ’e kadar seri dilüsyonları hazırlanmıştır (Champagne vd. 2011, Vinderola vd. 2019).

Mitsuoka Buffer çözeltisinin hazırlanması:

Potasyum di hidrojen fosfat	8,1 g
Disodyum hidrojen fosfat	10,8 g
L-Sisteinhidroklörürmonohidrat	0,9 g
Tween-80	0,9 g

İçerik tartılmış ve 1800 mL saf su ile tamamlanmıştır. Otoklavda 121°C’de 15 dk sterilizasyon işlemi uygulanmıştır.

3.2.2 Probiyotik gıdalarda canlı probiyotik sayısının belirlenmesi

Tez çalışmasındaki öncelikli amacımız olan probiyotik LAB suşlarından *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşlarının ürünlerdeki sayısı tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu amaç için analize alınan probiyotik ürünler etiket bilgilerine dikkat edilerek içeriğinde

Lactobacillus spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşlarının bulunduğu ürünler tercih edilmiştir.

Lactobacillus spp. türlerinin sayımı MRS + %0,05 Sistein agar besiyerine yayma kültürel sayım yöntemi kullanılarak ekimler yapılmıştır. 37°C’de 3 gün inkübasyona bırakılan petrilere 30-300 koloni bulunduranlar dikkate alınarak canlı hücre sayımı yapılmış ve sonuçlar KOB/g veya KOB/mL olarak hesaplanmıştır (Todorov vd. 1999).

Bifidobacterium spp. türlerinin sayımı için ise MRS-NNLP (neomisin sülfat, nalidisik asit, lityum klorit ve paronomisin sülfat ilave edilmiş) agar besiyerine dökme yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır. 37°C’de 3 gün anaerobik koşullarda inkübasyona bırakılan petrilere 30-300 koloni bulunduranlar dikkate alınarak canlı hücre sayımı yapılmış ve sonuçlar KOB/g veya KOB/mL olarak hesaplanmıştır (Todorov vd. 1999).

Ürün etiket bilgisine göre ürün birden fazla probiyotik kültür içeriyorsa üründen hazırlanan seri dilüsyonlardan hem MRS+%0,05 Sistein agara hem de MRS-NNLP agar besiyerine ekim yapılmıştır. İzolatların ön tanımlanmasının yapılabilmesi amacıyla her petriden tipik koloni morfolojisine sahip olanlardan rastgele 5 koloni seçilmiştir. Muhtemel *Bifidobacterium* spp. izolatları MRS + %0,05 Sistein broth ortamına aktarılmış ve anerobik şartlarda 37°C’de 18-24 h inkübe edilmiştir. Muhtemel *Lactobacillus* spp. izolatları ise MRS broth ortamına inokule edilerek aerobik şartlarda 37°C’de 18-24 h inkübasyona bırakılmıştır (Todorov vd. 1999).

MRS-NNLP Agar besiyerinin hazırlanması: 20,46 g MRS agar tartılmış ve 288 mL’ye saf suyla tamamlanmıştır. Otoklavda 121°C’de 15 dk sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işlemi sonrasında katkıları ilave edilmiştir.

MRS-NNLP agar besiyeri hazırlanırken kullanılan katkıları:

Lityum klorür	0,9 g
Nalidik asit	4,5 mg
Neomisin sülfat	0,03 g
Paromomisin sülfat tuzu	0,06 g
L-Sisteinhidroklorürmonohidrat	0,15 g

Tüm katkıları tartılmış ve 12 mL saf suyla tamamlanmıştır. Katkıları membran filtre ile sterilize edilmiştir.

3.2.3 İzolatların biyokimyasal olarak tanımlanması

3.2.3.1 Gram boyama

Seçilen kolonilerin morfolojik olarak tanımlanmasında öncelikli olarak Gram boyama testi yapılmıştır. Gram pozitif boyanma özelliği gösteren izolatlardan çubuk morfolojisine sahip olanlar muhtemel *Lactobacillus* spp.; eğri çubuk morfolojisinde sahip olanlar ise muhtemel *Bifidobacterium* spp. suşları olarak tanımlanmıştır.

3.2.3.2 Katalaz testi

Muhtemel *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. izolatları steril öze yardımıyla temiz bir lam üzerine aktarılmıştır. Lam üzerini kaplayacak şekilde %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) çözeltisi damlatılarak gaz çıkışı olup olmadığı kontrol edilmiştir. Kabarcıkların görülmesi durumunda katalaz pozitif, kabarcık oluşmaması durumunda ise katalaz negatif olarak değerlendirme yapılmıştır (Temiz 2000).

3.2.4 *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. izolatlarının stok kültürlerinin hazırlanması

Gram pozitif ve katalaz negatif özellik gösteren izolatlar muhtemel *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. olarak tanımlanmıştır. Bu izolatların stok kültürleri 3.1.5'te belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

3.2.5 Muhtemel *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. izolatlarının 16S rRNA dizi analizi ile tür düzeyinde moleküler olarak tanımlanması

Morfolojik ve biyokimyasal olarak muhtemel *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. olarak tanımlanan izolatlara, 16S rRNA dizi analizi uygulanmıştır.

3.2.5.1 Genomik DNA izolasyonu

Lactobacillus spp. ve *Bifidobacterium* spp. izolatlarında genomik DNA izolasyonu için Cell CV mini (Gene All, Katalog No: 106-101) kitinden yararlanılmıştır. Genomik DNA izolasyonunda izlenen protokol aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir.

1. Bakteri kültürleri uygun sıvı besiyeri ortamında 37°C’de 18 h geliştirilmiştir. İnkübasyon sonunda bakteri kültürleri (yaklaşık 2×10^9 KOB/mL) 1,5 mL hacmindeki steril mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır.
2. 6000 devirde 10 dk boyunca santrifüj işlemi uygulanmış ve üst sıvı ortamı uzaklaştırılmıştır.
3. Dipte kalan pellet kısmı üzerine 180 µL lizozim enzim solüsyonu (30 mg/mL) ilave edilmiş ve bu çözelti içinde pelet çözündürülerek 37°C’de 30 dk inkübasyonda bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda inkübasyon sıcaklığı 56°C’ye çıkarılmış ve 30 dk yeniden inkübe edilmiştir.
4. Bu karışımın üzerine 180 µL etanol eklenmiş ve karışım kolona aktarılmıştır.
5. Kolona aktarılan karışım daha sonra 8000 devirde 1 dk santrüj işlemine tabi tutulmuştur.
6. Kolon üzerine 600 µL Buffer BW eklenmiş ve daha sonra yeniden 8000 devirde 30 saniye santrifüj edilmiştir.
7. Kolon üzerine 700 µL Buffer TW eklenmiş ve daha sonra yeniden 8000 devirde 30 saniye santrifüj edilmiştir.
8. Bu işlemlerin ardından kolona herhangi bir solüsyon eklenmeden 14000 devirde 1 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır.
9. Kolon yeni bir 1,5 mL’lik mikrosantrifüj tüplerine aktarılmış ve üzerine 200 µL Buffer AE eklenmiştir. Bu ortam 14000 devirde 1 dk santrifüj edilmiştir.

10. Elde edilen DNA örneği -20°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.5.2 16S rRNA gen bölgesinin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması

Genomik DNA izolasyon işlemini takiben 16S rRNA gen bölgesinin PZR reaksiyonu ile çoğaltılması aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada PCR 2X Master kiti (WizPure, Katalog No: 1401) ve Applied Biosystems™ Pro Flex Thermal Cyclers cihazı kullanılmıştır. 16S rRNA gen bölgesinin çoğaltılmasında 16S ileri (27F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) ve 16S geri (907R: CCGTCAATTCCTTTRAGTTT) evrensel primer dizileri kullanılmıştır. Toplam 20 µL hacimde olacak şekilde PZR karışımı hazırlanmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan karışım

PCR 2X MasterMix	10 µL
İleri Primer	0,5 µL
Geri Primer	0,5 µL
Genomik DNA	2 µL
Moleküler destile su	7 µL
TOPLAM HACİM	20 µL

Hazırlanan 20 µL hacmindeki PZR karışımı, steril 0,2 mL’lik PZR tüplerine aktarılmıştır. PZR tüpleri cihazdaki kuyucuklara yerleştirilerek, bir çevrimi 95°C’de 5 dk (denatürasyon), 95°C’de 30 saniye (çift zincirin açılması), 52°C’de 30 saniye (primerlerin bağlanması), 72°C’de 30 saniye (zincir uzaması) ve 72°C’de 5 dk (son uzama) olarak gerçekleştirilen toplam 35 döngülük PZR protokolü uygulanmıştır. Son aşamada ise, elde edilen PZR ürünlerinin saflaştırılmasında ExoSAP-IT Express PCR Cleanup Reagents (Thermo, Katalog No: 75001.200.UL) Kiti kullanılmıştır.

3.2.5.3 16S rRNA gen bölgelerinin agaroz jel elektroforezinde görüntülenmesi

PZR’de amplifiye edilen gen bölgelerinin elektroforezi için, %1 agaroz içeren jel hazırlanmıştır. Agaroz jeli hazırlanmak amacıyla, 1 g agaroz 100 mL 1X Tris-Asetat elektroforez tamponu (TEB) içine aktarılmıştır. Mikrodalga fırın yardımıyla jel

içeriğinin tamamen çözünmesi sağlanmış ve jelin oda sıcaklığında 45-50°C'ye kadar soğuması beklenilmiştir. Daha sonra jel ortamı elektroforez tankına dökülmüş ve akışkan haldeki jel içine elektroforez tarakları yerleştirilmiştir. Jel içerisindeki agarozun polimerize olmasını sağlamak amacıyla, oda sıcaklığında 30-40 dk beklenmiştir. Agarozun polimerizasyonu sağlandıktan sonra elektroforez tankına jelin üzerini tamamen kapatacak miktarda TEB tampon eklenmiştir. Elektroforez tarakları iki ucundan nazikçe tutularak, jele zarar vermeden hafifçe hareket ettirilmek suretiyle jelden çekilerek alınmıştır. Agaroz jel üzerindeki ilk kuyucuğa 2 µL 1 kb'lık DNA ladder marker yüklenmiştir. Devamındaki diğer kuyucuklara ise araştırılan örneklerden sırasıyla 10'ar µL DNA örneği ile 2µL 6X DNA yükleme boyası karışımları dikkatlice yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 110 V'luk elektrik akımında 40-45 dk süreyle gerçekleştirilmiştir. Marker boyanın agaroz jel sistemini terk etmesinden sonra, elektroforez işlemi sonlandırılmıştır. Ortamdan alınan jeller 0,2 µg/mL etidyum bromür içeren TEB tampon içine aktararak, yaklaşık 60 dk boyunca beklenmiştir. Boyanan DNA bantları 366 nm dalga boyundaki UV ışık altında translüminatör kullanılarak incelenmiş ve agaroz jeller Kodak Gel Logic 200 Imaging System kullanılarak fotoğraflanmıştır.

DNA Ladder Marker Çözeltisinin Hazırlanması

DNA ladder	1 µL
6X DNA yükleme boyası	1 µL
Deiyonize su	4 µL

Tris-Asetat Tamponu (1X) (TEB) Hazırlanması

Tris	4,84 g
Sodyum Asetat	4,08 g
EDTA	0,37 g
Destile Su	1000 mL
pH	8,0 ± 0,02

3.2.5.4 PZR ürünlerinin dizilenmesi ve değerlendirilmesi

16S rRNA gen bölgesine ait PZR ürünlerinin çift yönlü DNA dizi analizi, hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Dizi analiz sonuçları BLAST (Basic Local Alingment Search Tool/ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/web>) programına aktarılmıştır. *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşları için NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanında yer alan diziler ile benzerliği karşılaştırılmıştır. Benzerlik yüzdesi kontrol edilerek, aranan dizi sırasının hangi türe ait olabileceği belirlenmiştir.

3.2.6 Antibiyotik dirençlilik düzeylerinin saptanması

Antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesinde Bauer vd. (1966) tarafından önerilen antibiyotik disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. Test edilecek izolatlar gelişme koşullarına dikkat edilerek 18 h geliştirilmiş ve daha sonra kültürlerin hücre yoğunluğu 1×10^6 KOB/mL ($A_{600}=0,08-0,1$) düzeyinde ayarlanmıştır. *Lactobacillus* spp. suşları için 10 mL'lik MRS broth besiyerine; *Bifidobacterium* spp. suşları için ise 10 mL'lik MRS+%0,05 Sistein broth besiyerine inokülasyon yapılmıştır. Aynı ayrı hazırlanan 90 mL'lik Mueller-Hinton Agar ortamları dökme sıcaklığına gelince (45°C) bu ortama, ayrı ayrı hücre yoğunluğu 1×10^6 KOB/mL düzeyinde ayarlanmış kültür içeren 10 mL'lik MRS broth veya 10 mL'lik MRS+%0,05 Sistein broth inoküle edilmiştir. Homojen bir şekilde karışması sağlanarak ve eşit miktarlarda 5 ayrı petri plağına dağıtılmıştır. Agar katılaştıktan sonra her plağa 4 veya 5 adet antibiyotik diski yerleştirilerek 37°C 'de 24-48 h süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Disk difüzyonu için, 18 farklı antibiyotik kullanılmış olup, bu antibiyotikler ticari olarak temin edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda antibiyotik disklerinin etrafında oluşan zonların çapı cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Ölçülen zon çapları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI 2003) ile Charteris vd. (1998) tarafından bildirilen standartlara göre dirençli (R), az hassas (I) ve duyarlı (S) olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan antibiyotik disklerine ait duyarlılık sınırları Çizelge 3.4'te gösterilmiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Escherichia coli* LMG3083 (ETEC) suşları şahit suşlar olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.4 Laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılık sınırları

ANTİBİYOTİKLER	ZON ÇAPI (mm)		
	Duyarlı	Az Hassas	Dirençli
Ampisilin	≥ 16	13-15	≤ 12
Metisilin	≥ 23	14-22	≤ 11
Penisilin G	≥ 28	20-27	≤ 19
Sefazolin	≥ 18	16-17	≤ 15
Sefoksitin	≥ 18	15-17	≤ 14
Kloramfenikol	≥ 18	14-17	≤ 13
Enrofloksasin	≥ 21	17-20	≤ 16
Siprofloksasin	≥ 19	14-18	≤ 13
Norfloksasin	≥ 19	14-18	≤ 13
Klindamisin	≥ 12	9-11	≤ 8
Eritromisin	≥ 18	14-17	≤ 13
Gentamisin	≥ 13	-	≤ 12
Kanamisin	≥ 18	14-17	≤ 13
Streptomisin	≥ 15	12-14	≤ 11
Rifampin	≥ 18	15-17	≤ 14
Tetrasiklin	≥ 19	15-18	≤ 14
Trimetoprim	≥ 15	12-14	≤ 11
Vankomisin	≥ 17	15-16	≤ 14

3.2.7 İstatiksel analiz

Tez çalışması kapsamında yapılan bütün çalışmalar paralelli olarak çalışılmıştır. Antibiyotik dirençlilik testlerinde nicel veriler ortalama ve standart sapma test istatistikleri ile özetlenmiştir. Antibiyotik gruplarına ilişkin karşılaştırmalar tekrarlı ölçümlerde varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiş olup Greenhouse-Geisser test istatistiğine ilişkin p değeri yorumlanmıştır. Etki büyüklüğü ise eta-kare istatistiği ile verilmiştir. Varyans analizi sonucu anlamlı çıktığı durumda antibiyotik grupları ikiye ayrılarak karşılaştırılmış ve ilgili p istatistiğinde Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır.

Antibiyotiklerin suş gruplarına ilişkin karşılaştırmaları ise bağımsız iki örneklem t testi ile çözümlenmiştir. Anlamlılık düzeyi %5 olarak kabul edilmiş olup tüm çözümler SPSS (versiyon 26) ile yapılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Probiyotik gıdalardan laktik asit bakterilerinin izolasyonu

Tez çalışması kapsamında 18 farklı markaya ait, parti numaraları ve son kullanma tarihleri birbirinden farklı, 37 çeşit probiyotik süt ürünü (kefir, sade veya meyve katkılı yoğurt, ayran) ve 10 çeşit probiyotik gıda takviyesi (kapsül, damla veya şase formunda) temin edilmiştir. Bu bağlamda 70 adeti probiyotik süt ürünü, 10 adeti probiyotik gıda takviyesi olmak üzere toplamda 80 adet örnek analize alınmıştır. Aynı marka ve/veya probiyotik süt ürünleri parti numaralarının farklı olmasına dikkat edilerek, farklı çalışma dilimlerinde analize alınmıştır. Çizelge 4.1’de tez çalışmasında kullanılan probiyotik gıda örneklerinin ve gıda takviyelerinin harflerle kodlanmış markası, ürünün çeşidi ve ürünün ambalajında yer alan probiyotik mikroorganizma ile ilgili bilgiler verilmiştir.

Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan probiyotik süt ürünleri ve gıda takviyeleri

Ürün Markası	Ürün Çeşidi	Ürün Ambalaj Bilgileri
A marka	Probiyotik yoğurt (sade)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.
	Probiyotik yoğurt (incirli yulafı)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.
	Probiyotik yoğurt (sade)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
	Probiyotik ayran	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>
	Probiyotik yoğurt (hurma chialı)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.
	Probiyotik yoğurt (kayısı)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.
	Probiyotik yoğurt (çilekli)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.
B marka	Kefir (sade)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>

Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan probiyotik süt ürünleri ve gıda takviyeleri (devam)

Ürün Markası	Ürün Çeşidi	Ürün Ambalaj Bilgileri
B marka	Kefir (orman meyveli)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>
	Kefir (şeftalili ananaslı)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>
	Kefir (çilekli)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>
	Kefir (aronya karadut)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>
C marka	Kefir (sade)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
	Kefir (çilekli)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
	Kefir (laktozsuz)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
	Kefir (ballı muzlu)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
	Kefir (yaban mersinli)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
	Kefir (orman meyveli)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
	Kefir (çikolatalı)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
	Kefirli yoğurt (kayısı-keten tohumu)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
	Kefirli yoğurt (çilekli)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
	Kefirli yoğurt (yaban mersinli)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
D marka	Kefir (sade)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5
	Kefir (orman meyveli)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5
	Kefir (çilekli)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5

Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan probiyotik süt ürünleri ve gıda takviyeleri (devam)

Ürün Markası	Ürün Çeşidi	Ürün Ambalaj Bilgileri
E marka	Kefir (sade)	En az $2,5 \times 10^{10}$ KOB/g <i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefirgranum</i> <i>Lactobacillus parakefir</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus shelveticus</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
F marka	Yoğurt (çilekli)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>
	Shot	En az 5×10^7 KOB/mL <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>
	Yoğurt (elmalı tarçınlı)	En az 2×10^7 KOB/g <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>
	Yoğurt (sade)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>
G marka	Kefir (sade)	En az 1×10^6 KOB/mL <i>Bifidobacterium bifidum</i>
H marka	Kefir (sade)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i>

Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan probiyotik süt ürünleri ve gıda takviyeleri (devam)

Ürün Markası	Ürün Çeşidi	Ürün Ambalaj Bilgileri
H marka	Kefir (çilekli)	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i>
K marka	Saşe formunda gıda takviyesi	5×10^9 KOB/1 saşe <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>
L marka	Saşe formunda gıda takviyesi	800 mg poşet (2 poşet/gün) <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>
M marka	Kapsül formunda gıda takviyesi	10^{10} KOB/kapsül <i>Lactobacillus plantarum</i> 299v
	Tablet formunda gıda takviyesi	10^9 KOB/tablet <i>Lactobacillus plantarum</i> HEAL9 <i>Lactobacillus paracasei</i> 8700:2
N marka	Kapsül formunda gıda takviyesi	10×10^9 KOB/kapsül <i>Lactobacillus acidophilus</i> L1 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> liobif <i>Bifidobacterium longum</i> LBL-01 <i>Saccharomyces boulardii</i>
P marka	Tablet formunda gıda takviyesi	$2,3 \times 10^9$ KOB/tablet <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium breve</i>
	Damla formunda gıda takviyesi	5×10^8 KOB/ damla (6 damla/gün) <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>
	Saşe formunda takviye edici gıda	$2,5 \times 10^9$ KOB/saşe <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>

Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan probiyotik süt ürünleri ve gıda takviyeleri (devam)

Ürün Markası	Ürün Çeşidi	Ürün Ambalaj Bilgileri
R marka	Saşe formunda takviye edici gıda	En az 5×10^9 KOB/saşe <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i> B94
S marka	Kefir (çilekli)	En az 1×10^7 KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i>
T marka	Süzme peynir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
Y marka	Kefir (orman meyveli)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
	Kefir (çilekli)	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma
Z marka	Kapsül formunda takviye edici gıda	10×10^9 KOB/kapsül <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-14 <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> Lr-32 <i>Bifidobacterium longum</i> BI-05 <i>Bifidobacterium infantis</i> Bi-26 <i>Bifidobacterium lactis</i> BI-04 <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> Bb-06 <i>Lactobacillus plantarum</i> Lp-115 <i>Lactobacillus bulgaricus</i> Lb-87 <i>Lactobacillus reuteri</i> 1E1 <i>Lactobacillus paracasei</i> Lpc-37 <i>Lactobacillus brevis</i> Lbr-35 <i>Streptococcus thermophilus</i> St-21

Analize alınacak probiyotik gıda ve gıda takviyelerinin belirlenmesinde, probiyotik monokültür (*Lactobacillus* spp. veya *Bifidobacterium* spp.) veya karışık probiyotik kültür (*Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp.) içeren ürünlerin seçilimine dikkat edilmiştir. Bu bağlamda çalışmaya alınan örneklerin ambalaj bilgileri incelendiğinde 2 adetinde (36 ve 41 numaralı örnekler) mono kültür olarak *Lactobacillus* spp. türlerini içerirken, 13 adetinde (1, 2, 11,22, 26, 30, 31, 32, 39, 40, 47, 62 ve 64 numaralı örnekler) ise mono kültür olarak *Bifidobacterium* spp. türlerini içermektedir. 23 adet örneğin etiket bilgisinde probiyotik içerik olarak sadece “Probiyotik Mikroorganizma” yazarken, 42 adet örneğin ise etiket bilgisinde probiyotik mikroorganizma içeriği cins

ve tür düzeyinde listelenmiştir. Çalışma kapsamında analize alınan 80 adet örneğin tamamında ambalaj bilgisinde mikroorganizma sayısı “En az 1×10^6 KOB/g veya KOB/mL” olarak ifade edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi’nin 2006/34 nolu tebliğinde, 25/8/2002 tarihli ve 24857 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi-Gıda Maddelerinin Genel Etiketleme ve Beslenme Yönünden Etiketleme Kuralları Tebliğinin 4.‘üncü maddesinde yer alan "Etiketleme" tanımı değiştirilerek ve "Bileşik bileşen" tanımından sonra gelmek üzere probiyotik bakteri, prebiyotik, probiyotik gıda, prebiyotik gıda ve sağlık beyanı tanımları eklenmiştir. Aynı tebliğde probiyotik gıda, ‘İçerisinde raf ömrü sonuna kadar yeterli miktarda canlı probiyotik mikroorganizma ($1,0 \times 10^6$ KOB/g) bulunduran ve bu canlılığı muhafaza eden ürün’; probiyotik bakteri ise ‘Besinlerle alınan ve belirli miktarda alındığında bağırsak florasını dengeleyip konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalar’ olarak tanımlanmaktadır. Aynı tebliğde ‘Gıda Bileşenleri ile İlgili Sağlık Beyan’ tablosuna göre, bir gıda bileşeni olarak probiyotik bakteri ‘Gıdanın en az $1,0 \times 10^6$ KOB/g canlı probiyotik bakteri içermesi’ şeklindeki beyan koşulu ile, ‘Bu gıda probiyotik bakteri içerir. Probiyotik bakteriler sindirim sistemini düzenlemeye ve bağışıklık sistemini desteklemeye yardımcı olur’ ibaresine ambalaj etiketinde yer verilebilir (TGK 2006/34). Bu bağlamda tez çalışmasında kullanılan örneklerin ambalaj etiketinde verilmesi gereken bilgilerin, Türk Gıda Kodeksinin belirlediği gereklilikleri karşıladığı belirlenmiştir.

Tez çalışmasına dâhil edilen örneklerdeki canlı hücre sayımları ile ürün ambalaj bilgileri kıyaslanarak Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
1	A marka probiyotik yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	Tespit edilemedi	-
2	A marka incirli yulaflı probiyotik yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	Tespit edilemedi	-
3	(*)B marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,8 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	1
4	(*)C marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$1,7 \times 10^8$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. 1×10^8 KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	2
5	A marka probiyotik yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus rhamnasus</i>	$2,8 \times 10^8$ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. 2×10^8 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	3
6	(*)D marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	$8,6 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	4

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
7	E marka sade kefir	En az $2,5 \times 10^{10}$ KOB/mL <i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefiranum</i> <i>Lactobacillus parakefiri</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$1,5 \times 10^4$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp. $2,8 \times 10^8$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp.	5
8	(*)A marka probiyotik ayran	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10^7 KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	6

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
9	F marka çilekli yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>	$8,1 \times 10^8$ KOB/ g <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	7
10	F marka probiyotik shot	En az 5×10^7 KOB/mL <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>	$5,5 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	8
11	G marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Tespit edilemedi	-
12	(*)D marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	$4,5 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	9
13	(*)C marka çilekli kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$6,8 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp. $5,7 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp.	10
14	(*)C marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$7,7 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $7,6 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	11
15	C marka laktozsuz kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$3,4 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $4,1 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	12

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
16	(*)B marka orman meyveli kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$2,5 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	13
17	(*)B marka şeftalili ananaslı kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,4 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	14
18	(*)B marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$5,2 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $1,6 \times 10^6$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	15
19	(*)C marka kefirli kayısı ve keten tohumlu yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$3,3 \times 10^7$ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. $4,5 \times 10^6$ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	16
20	F marka elmalı tarçınlı probiyotik yoğurt	En az 2×10^7 KOB/g <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>	$1,6 \times 10^8$ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	17

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
21	(*)F marka sade probiyotik yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>	$5,5 \times 10^7$ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	18
22	(*)H marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i>	Tespit edilemedi	-
23	(*)A marka probiyotik ayran	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$4,4 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	19
24	(*)C marka ballı muzlu kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	1×10^8 KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $6,8 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	20
25	(*)C marka çilekli kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	7×10^7 KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $6,7 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	21
26	A marka hurmalı chialı yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	Tespit edilemedi	—
27	(*)C marka yaban mersinli kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	8×10^7 KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $8,9 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	22
28	(*)B marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	4×10^7 KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	23

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
29	(*)B marka çilekli kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$3,4 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	24
30	H marka çilekli kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i>	Tespit edilemedi	—
31	A marka kayısıli probiyotik yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	Tespit edilemedi	—
32	(*)A marka çilekli probiyotik yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	Tespit edilemedi	—
33	(*)F marka probiyotik yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i>	Tespit edilemedi	—
34	(**)K marka probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda	5×10^9 KOB/1 saşe <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>	$1,2 \times 10^8$ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. $3,9 \times 10^6$ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	30

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
35	(**)L marka probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda	800 mg/poşet (2 poşet/ gün) <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	6×10^7 KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. $1,2 \times 10^7$ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	31
36	(**)M marka probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda	10^{10} KOB/kapsül <i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	1×10^{11} KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp.	32
37	(**)N marka probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda	10×10^9 KOB/g <i>Lactobacillus acidophilus</i> L1 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> liobif <i>Bifidobacterium longum</i> LBL-01 <i>Saccharomyces boulardii</i>	9×10^9 KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. $6,4 \times 10^9$ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	33
38	(**)P marka probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda (Tablet)	$2,3 \times 10^9$ KOB/tablet <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium breve</i>	$8,9 \times 10^8$ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. $5,8 \times 10^8$ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	34

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
39	(**)P marka probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda (Damla)	5×10 ⁸ KOB/damla (6 damla/gün) <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Tespit edilemedi	-
40	(**)R marka probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda	En az 5×10 ⁹ KOB/şase <i>Bifidobacterium animalis</i> spp. <i>lactis</i> B94	Tespit edilemedi	-
41	(**)M marka probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda	10 ⁹ KOB/tablet <i>Lactobacillus plantarum</i> HEAL9 <i>Lactobacillus paracasei</i> 8700:2	7,8×10 ⁹ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp.	37
42	(**)P marka probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda (Şase)	2,5×10 ⁹ KOB/şase <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>	9,3×10 ⁸ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. 2×10 ⁷ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	38
43	C marka orman meyveli kefir	En az 1×10 ⁶ KOB/g probiyotik mikroorganizma	6×10 ⁷ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	39
44	(*)A marka probiyotik ayran	En az 1×10 ⁶ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Tespit edilemedi	-

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
45	(*)B marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,3 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	41
46	(*)D marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	$2,2 \times 10^8$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	42
47	(*)A marka çilekli yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	Tespit edilemedi	-
48	(*)C marka yaban mersinli kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$2,4 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $3,9 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	44
49	(*)C marka ballı muzlu kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$5,8 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $3,5 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	45
50	(*)C marka çilekli kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$5,1 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $6,2 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	46
51	(*)D marka orman meyveli kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12, <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	$9,4 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	47

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
52	(*)B marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,6 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	48
53	S marka çilekli kefir	En az 1×10^7 KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,3 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	49
54	(*)D marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	$4,7 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	50
55	C marka çikolatalı kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	1×10^8 KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $9,3 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	51
56	(*)C marka kefirli kayısı- keten tohumlu yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$4,4 \times 10^7$ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. $5,6 \times 10^6$ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	52
57	(*)B marka orman meyveli kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$9,6 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	53
58	(*)A marka probiyotik ayran	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$7,3 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	54
59	(*)D marka çilekli kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	$4,7 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $2,8 \times 10^9$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	55

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
60	(*)C marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$2,4 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $3,4 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	56
61	(*)T marka probiyotik süzme peynir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$3,2 \times 10^6$ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	57
62	(*)A marka çilekli probiyotik yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	Tespit edilemedi	-
63	(*)B marka şeftalili ananaslı kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	2×10^7 KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	59
64	(*)H marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i>	Tespit edilemedi	-
65	(*)C marka yaban mersinli kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$2,5 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp. 4×10^7 KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp.	61
66	(*)C marka ballı muzlu kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	2×10^6 KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $2,8 \times 10^5$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	62
67	Y marka çilekli kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$3,1 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $5,2 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	63
68	Y marka orman meyveli kefir	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	2×10^7 KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. $2,8 \times 10^7$ KOB/mL <i>Bifidobacterium</i> spp.	64

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
69	(*)B marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$3,4 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	65
70	(*)B marka orman meyveli kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,8 \times 10^8$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	66
71	(*)B marka çilekli kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$2,8 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	67
72	(*)B marka şeftalili ananaslı kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,8 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	68

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
73	(**)Z marka probiyotik mikroorganizma içeren takviye edici gıda	10×10^9 KOB/kapsül <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-14 <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> Lr-32 <i>Bifidobacterium longum</i> BI-05 <i>Bifidobacterium infantis</i> Bi-26 <i>Bifidobacterium lactis</i> BI-04 <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> Bb-06 <i>Lactobacillus plantarum</i> Lp-115 <i>Lactobacillus bulgaricus</i> Lb-87 <i>Lactobacillus reuteri</i> 1E1 <i>Lactobacillus paracasei</i> Lpc-37 <i>Lactobacillus brevis</i> Lbr-35 <i>Streptococcus thermophilus</i> St-21	7×10^9 KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. $3,7 \times 10^8$ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	69
74	(*)D marka sade kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	$6,5 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	70
75	B marka aronya karadutlu kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	$6,1 \times 10^7$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	71

Çizelge 4.2 Probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayım sonuçları (KOB/g, KOB/mL) (devam)

Örnek Numarası	Alınan Örnek	Ambalaj bilgisi	Yapılan sayım sonucu	İzolat Numarası
76	(*)D marka orman meyveli kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	$7,5 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	72
77	(*)D marka çilekli kefir	En az 1×10^6 KOB/g <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	$8,3 \times 10^6$ KOB/mL <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. tespit edilemedi	73
78	C marka kefirli çilekli yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$3,9 \times 10^7$ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. $8,6 \times 10^6$ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	74
79	C marka kefirli yaban mersinli yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	$1,2 \times 10^7$ KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. $6,6 \times 10^5$ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	75
80	(*)C marka kefirli kayısı ve keten tohumlu yoğurt	En az 1×10^6 KOB/g probiyotik mikroorganizma	2×10^8 KOB/g <i>Lactobacillus</i> spp. $1,3 \times 10^8$ KOB/g <i>Bifidobacterium</i> spp.	76

(*): Aynı markaya ait ürünün farklı parti numarası

(**): Takviye edici gıdalar

Çizelge 4.2 incelendiğinde analize alınan 80 adet örnekten 65 adetinde *Lactobacillus* spp. ve/veya *Bifidobacterium* spp. sayımı yapılmıştır. Canlı sayımı yapılabilen örneklerin tamamında MRS + %0,05 Sistein agar besiyerinde sayım yapılırken, 31 örnekte MRS-NNLP agar besiyerinde muhtemel *Bifidobacterium* spp. sayımı yapılmıştır. Toplam 15 örnekte (13 adet probiyotik süt ürünü ve 2 adet probiyotik gıda takviyesi) canlı hücre tespit edilememiştir. Bu örneklerin ambalaj bilgileri incelendiğinde ise 2 tanesinin (33 ve 44 numaralı örnekler) karışık kültür (*Bifidobacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp.) içerdiği; 13 tanesinin (1, 2, 11, 22, 26, 30, 31, 32, 39, 40, 47, 62 ve 64 numaralı örnekler) ise üretiminde monokültür (*Bifidobacterium* spp.) kullanıldığı görülmektedir.

Çalışmanın bu aşamasında elde olunan sonuçlar ile örneklerin ambalajında verilen etiket bilgileri karşılaştırıldığında; etiketinde mono kültür *Lactobacillus* spp. probiyotik mikroorganizma olduğu belirtilen 2 adet örnekte canlı sayımı yapılırken; içeriğinde mono kültür *Bifidobacterium* spp. olduğu belirtilen probiyotik süt ürünü ve gıda takviyelerinin hiçbirinde *Bifidobacterium* spp. tespit edilememiştir. Etiket bilgisinde içeriği “probiyotik mikroorganizma” olarak bildirilen 23 adet örneğin 21 adetinde hem *Lactobacillus* spp. ve hem de *Bifidobacterium* spp. sayımı yapılırken, 2 adetinde (43 ve 61 numaralı örnekler) sadece *Lactobacillus* spp. sayımı yapılmıştır. Etiket bilgisinde probiyotik mikroorganizma içeriği cins ve tür düzeyinde belirtilen 42 adet örneğin ise sadece 9 adetinde her iki kültürün sayımı ve izolasyonu yapılırken; 2 adetinde canlı hücre tespit edilememiştir.

Çizelge 4.2 incelendiği zaman canlı hücre sayımı yapılabilen ürünlerde, ambalaj üzerinde belirtilen canlı probiyotik kültür sayıları ile tez çalışması kapsamında yapılan canlı hücre sayımlarının 7, 34, 38 ve 42 numaralı örneklerde uyumlu olmadığı, yani ambalaj bilgilerinde belirtilen canlı hücre sayısından daha düşük canlı sayısı içerdiği saptanmıştır. 61 örnekte ise ürün ambalaj bilgileri üzerinde belirtilen sayıda veya bu sayının üzerinde canlı probiyotik hücre sayımı yapılmıştır. Üretiminde *Bifidobacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp. kültürlerinin birlikte kullanıldığı belirtilen 42 üründe yapılan sayımlarda ise, 31 örnekte (3, 6, 8, 9, 10, 12, 16, 17, 20, 21, 23, 28, 29, 42, 45, 46, 51,

52, 53, 54, 57, 58, 63, 69, 70, 71, 72, 74, 75, 76 ve 77 nolu örnekler) sadece *Lactobacillus* spp. kültürleri sayılabilmektedir.

Tüketim anında probiyotik ürünlerde 10^6 - 10^8 KOB/g ya da 10^8 - 10^{10} KOB/g canlı hücre sayısının olması beklenmektedir (Moreno vd. 2006, Champagne vd. 2011). Tez çalışması kapsamında sayımı yapılabilen tüm probiyotik örneklerin en az 10^6 KOB/g probiyotik bakteri içerdiği belirlenmiştir.

Gueimonde vd. (2004) tarafından yapılan çalışmada ise, fermente sütler probiyotik *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. varlığı açısından değerlendirilmiştir. Çalışmada analiz edilen ürünlerin etiketinde belirtilen tüm probiyotik bakterileri içerdiği, ancak iki fermente sütte etikette belirtilmeyen mikroorganizma grubunun bulunduğu belirlenmiştir. Bazı ürünlerde ise 10^6 KOB/mL'nin altında *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. sayısı belirlenmiştir. Moreno vd. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada da analiz edilen fermente süt ürünlerinde laktik asit bakteri sayısının 10^8 ile 10^9 KOB/g arasında değiştiği saptanmıştır. Ayrıca aynı çalışmada ürün etiketinde bifidobakteri içerdiği belirtilen fermente süt ürünlerinde canlı hücre sayısının 10^4 - 10^7 KOB/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. Drago vd. (2010) ise incelenen on üç ticari probiyotik ürünün sadece dördünün etikette belirtilen sayıda ve türde bakteri içerdiğini bildirmiştir. Weese ve Martin (2011) tarafından yapılan çalışmada ise hayvanlarda kullanılmak üzere pazarlanan 25 ticari probiyotik ürünün etiket bilgileri ve mikroorganizma içeriği değerlendirilmiştir. Çalışmada probiyotik ürünlerdeki canlı hücre sayısının 0 - 2×10^9 KOB/g arasında değiştiği ve ürünlerin %32'sinin etiketinde bir veya daha fazla mikroorganizma isminin yanlış yazıldığı belirlenmiştir. Ürünlerin sadece %8'inin etikette belirtilen mikroorganizmaları içerdiği ve bu ürünlerde de etikette belirtilen canlı bakteri sayısının olması gereken sayıyı karşıladığı veya aştığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde Angelakis vd. (2011) probiyotik içeceklerde 1×10^7 - 3×10^8 KOB/g; probiyotik yoğurtlarda 10^7 - 8×10^7 KOB/g canlı hücre tespit etmiştir. Bunesova vd. (2015) ise analiz edilen 13 farklı probiyotik takviyesinin tümünün *Bifidobacterium* spp. içerdiğini gözlemlemiş ve ürünlerdeki toplam canlı hücre sayısının 10^5 - 10^{10} KOB/g arasında değiştiğini belirlemiştir. Fredua-Agyeman vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada da analiz edilen tüm ticari probiyotik ürünlerin canlı

probiyotik mikroorganizma içerdiği, ancak analiz edilen yedi üründen sadece üçünün belirtildiği sayıda veya daha fazla sayıda probiyotik bakteri içerdiği belirlenmiştir. Çalışmada etiketinde birden fazla probiyotik bakteri türü içerdiği belirtilen ürünlerin, hiçbirinin etikette belirtilen probiyotiklerin tümünü içermediği de görülmüştür. Lewis vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, bifidobakteriyel probiyotik ürünlerin çoğunun etiketlerinde belirttikleri içerik listesiyle tutarsızlık gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada 16 probiyotikten sadece 1'i ürün etiketinde belirtilen bifidobakterileri içerdiği gözlenmiştir. Morovic vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada ise 52 probiyotik ticari diyet takviyesi değerlendirilmiş; ürünlerin bir kısmının etiketinde belirtilen türleri içermediği ve hatta etiketinde belirtilmeyen türleri de içerdiği tespit edilmiştir. 17 tanesinin etiketinde belirtilen miktarın altında bulunduğu; sadece 30 ürünün etiketinde belirtilen mikroorganizma türlerini içerdiği saptanmıştır. Ayrıca çalışmada birden fazla kültür içeren ürünlerde çoğunlukla *Lb. acidophilus* ve *Bif. animalis* subsp. *lactis* bulunduğu gözlenmiştir. Vecchione vd. (2018) tarafından yapılan başka bir çalışmada probiyotik ürünlerden 4 tanesinin etiketle uyumlu, 5 tanesinin etikette belirtilenden daha fazla, bir ürünün ise etikette belirtilenden daha az sayıda canlı hücre sayısına sahip olduğu belirlenmiştir. Başka bir araştırmacı grubu tarafından yapılan çalışmada ise analiz edilen probiyotik diyet takviyelerinin %11,53'ünde canlı bakterinin saptanamadığı, ürünlerin %7,69'unun 10^2 KOB/g ve %38,46'sının ise 10^5 - 10^6 KOB/g canlı bakteri içerdiği belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada analiz edilen probiyotik diyet takviyelerinin %42'sinden fazlasının kabul edilemeyecek düzeyde mikrobiyel kontaminasyon içerdiği saptanmıştır (Marinova vd. 2019). Polonya'da yaygın olarak kullanılan 10 ticari probiyotik ürünün analiz edildiği başka bir çalışmada ise probiyotik ürünlerden 5'inin etikette belirtilen sayıda canlı bakteriye sahip olmadığı ve test edilen ürünlerin 3'ünde etikette belirtilen probiyotik suşların tamamını içermediği belirlenmiştir. Çalışmada 4 adet *Bifidobacterium* içerdiği belirtilen ürünlerin sadece 2'sinin *Bifidobacterium* içerdiği saptanmıştır (Korona-Glowniak vd. 2019). Başka bir çalışmada ise ticari probiyotik takviyelerin %29,41'nin hatalı veya daha düşük hücre sayımına; %23,52'sinin ise etiket bildirimine göre farklı mikroorganizma içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir (Ullah vd. 2019). Syromyatnikov vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada da probiyotik ürünlerin %70'inden fazlasının ürün bileşiminde bildirilmeyen bakteri türlerini içerdiği; %29'unda ise üreticiler tarafından beyan edilen

mikroorganizma türlerini içermediği belirlenmiştir. Tez çalışmamızda elde olunan verilerle uyumlu olarak probiyotik ürünlerdeki en yaygın bakteri cinsinin *Lactobacillus* olduğu; ürün etiketinde beyan edilmesine rağmen tüm ürünlerde *Bifidobacterium* cinsi bakterilerin bulunmadığı belirlenmiştir. Ayrıca kapsül ve poşet formundaki takviye edici gıda örneklerinde içerdiği belirtilen *Bifidobacterium* cinsini içermediği belirlenmiştir.

Tez çalışması kapsamında ise probiyotik içeceklerde $1,3 \times 10^6$ - $2,8 \times 10^9$ KOB/mL; probiyotik yoğurtlarda ise $3,3 \times 10^7$ - $8,1 \times 10^8$ KOB/g arasında değişen sayılarda canlı hücre tespit edilmiştir. Tez çalışmamızda elde olunan veriler, yukarıda kısaca özetlenen literatür verilerini destekler niteliktedir (Gueimonde vd. 2004, Moreno vd. 2006, Drago vd. 2010, Angelakis vd. 2011, Weese ve Martin 2011, Goldstein vd. 2014, Bunesova vd. 2015, Fredua-Agyeman vd. 2016, Lewis vd. 2016, Morovic vd. 2016, Vecchione vd. 2018, Marinova vd. 2019, Ullah vd. 2019, Korona-Glowniak vd. 2019, Syromyatnikov vd. 2022).

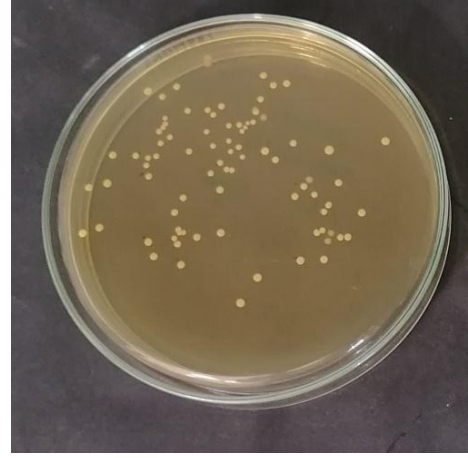
MRS-NNLP agarda muhtemel *Bifidobacterium* spp. canlı sayımı için çalışmada elde olunan sonuçlar ile literatür verilerinin uyumlu olduğu görülmektedir (Korona-Glowniak vd. 2019, Syromyatnikov vd. 2022). Bu durum kültürlerin üretim süreçlerinde, teknolojik proseslerdeki hassasiyetlerinin yanı sıra üretici firmanın üretim, depolama ve dağıtım zincirinde yaşanan aksaklıklar, satıcı firma tarafından ürünün depolama kurallarına uymaması gibi nedenlerle açıklanabilir.

4.2 *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. izolatlarının biyokimyasal tanımlamasının yapılması

Canlı hücre sayımı yapılabilen her bir örnek için *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. bakımından tipik koloni morfolojine sahip 5'er koloni seçilmiştir (Şekil 4.1). İzolatların ön tanımlanmasında öncelikli olarak Gram boyama ve katalaz testi uygulanmıştır. Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'de sırasıyla 315 adet muhtemel *Lactobacillus* spp. izolatı ile 155 adet muhtemel *Bifidobacterium* spp. izolatına ait gram boyama, morfolojik görüntü ve katalaz testi sonuçları verilmiştir.



Bifidobacterium spp.



Lactobacillus spp.

Şekil 4.1 *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşlarına ait canlı hücre sayımlarının yapıldığı petri ortamları

MRS + %0,05 Sistein agar besiyerinde, 65 örnekte canlı kültür sayımı yapılabilmiş ve toplam 315 muhtemel *Lactobacillus* spp. izole edilmiştir. 11.1, 11.2, 11.3, 11.5, 12.3 izolatları dışındakilerin Gram (+) ve katalaz (-) olduğu belirlenmiştir. Ancak bu izolatların mikroskopta morfolojik profilleri incelendiğinde, 38 adetinin kok morfolojisine sahip olduğu saptanmıştır. 5.1, 5.3, 5.5, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 10.1, 10.2, 10.3, 10.4, 11.1, 11.2, 11.3, 11.5, 12.3, 16.1, 16.2, 16.3, 17.1, 17.2, 17.3, 17.4, 17.5, 18.1, 18.2, 18.3, 18.4, 18.5, 33.5, 38.4, 38.5 nolu izolatlar çalışma kapsamı dışında bırakılmıştır. Mikroskobik inceleme sonucunda 277 izolatın ise çubuk morfolojisine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.3). 41 ve 42 nolu izolatlar gelişmediği için gram boyama ve katalaz testi yapılamamıştır.

Çizelge 4.3 MRS + %0,05 Sistein agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Lactobacillus* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları

İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
1	1.1	+	Çubuk	-
	1.2	+	Çubuk	-
	1.3	+	Çubuk	-
	1.4	+	Çubuk	-
	1.5	+	Çubuk	-
2	2.1	+	Çubuk	-
	2.2	+	Çubuk	-
	2.3	+	Çubuk	-
	2.4	+	Çubuk	-
	2.5	+	Çubuk	-
3	3.1	+	Çubuk	-
	3.2	+	Çubuk	-
	3.3	+	Çubuk	-
	3.4	+	Çubuk	-
	3.5	+	Çubuk	-
4	4.1	+	Çubuk	-
	4.2	+	Çubuk	-
	4.3	+	Çubuk	-
	4.4	+	Çubuk	-
	4.5	+	Çubuk	-
5	5.1	+	Kok	-
	5.2	+	Çubuk	-
	5.3	+	Kok	-
	5.4	+	Çubuk	-
	5.5	+	Kok	-
6	6.1	+	Çubuk	-
	6.2	+	Çubuk	-
	6.3	+	Çubuk	-
	6.4	+	Çubuk	-
	6.5	+	Çubuk	-
7	7.1	+	Kok	-
	7.2	+	Kok	-
	7.3	+	Kok	-
	7.4	+	Kok	-
	7.5	+	Kok	-
8	8.1	+	Kok	-
	8.2	+	Kok	-
	8.3	+	Kok	-
	8.4	+	Kok	-
	8.5	+	Kok	-
9	9.1	+	Çubuk	-
	9.2	+	Çubuk	-
	9.3	+	Çubuk	-
	9.4	+	Çubuk	-
	9.5	+	Çubuk	-

Çizelge 4.3 MRS + %0,05 Sistein agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Lactobacillus* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları (devam)

İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
10	10.1	+	Kok	-
	10.2	+	Kok	-
	10.3	+	Kok	-
	10.4	+	Kok	-
	10.5	+	Çubuk	-
11	11.1	-	Kok	-
	11.2	-	Kok	-
	11.3	-	Kok	-
	11.4	+	Çubuk	-
	11.5	-	Kok	-
12	12.1	+	Çubuk	-
	12.2	+	Çubuk	-
	12.3	-	Kok	-
	12.4	+	Çubuk	-
	12.5	+	Çubuk	-
13	13.1	+	Çubuk	-
	13.2	+	Çubuk	-
	13.3	+	Çubuk	-
	13.4	+	Çubuk	-
	13.5	+	Çubuk	-
14	14.1	+	Çubuk	-
	14.2	+	Çubuk	-
	14.3	+	Çubuk	-
	14.4	+	Çubuk	-
	14.5	+	Çubuk	-
15	15.1	+	Çubuk	-
	15.2	+	Çubuk	-
	15.3	+	Çubuk	-
	15.4	+	Çubuk	-
	15.5	+	Çubuk	-
16	16.1	+	Kok	-
	16.2	+	Kok	-
	16.3	+	Kok	-
	16.4	+	Çubuk	-
	16.5	+	Çubuk	-
17	17.1	+	Kok	-
	17.2	+	Kok	-
	17.3	+	Kok	-
	17.4	+	Kok	-
	17.5	+	Kok	-
18	18.1	+	Kok	-
	18.2	+	Kok	-
	18.3	+	Kok	-
	18.4	+	Kok	-
	18.5	+	Kok	-

Çizelge 4.3 MRS+%0,05 Sistein agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Lactobacillus* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları (devam)

İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
19	19.1	+	Çubuk	-
	19.2	+	Çubuk	-
	19.3	+	Çubuk	-
	19.4	+	Çubuk	-
	19.5	+	Çubuk	-
20	20.1	+	Çubuk	-
	20.2	+	Çubuk	-
	20.3	+	Çubuk	-
	20.4	+	Çubuk	-
	20.5	+	Çubuk	-
21	21.1	+	Çubuk	-
	21.2	+	Çubuk	-
	21.3	+	Çubuk	-
	21.4	+	Çubuk	-
	21.5	+	Çubuk	-
22	22.1	+	Çubuk	-
	22.2	+	Çubuk	-
	22.3	+	Çubuk	-
	22.4	+	Çubuk	-
	22.5	+	Çubuk	-
23	23.1	+	Çubuk	-
	23.2	+	Çubuk	-
	23.3	+	Çubuk	-
	23.4	+	Çubuk	-
	23.5	+	Çubuk	-
24	24.1	+	Çubuk	-
	24.2	+	Çubuk	-
	24.3	+	Çubuk	-
	24.4	+	Çubuk	-
	24.5	+	Çubuk	-
30	30.1	+	Çubuk	-
	30.2	+	Çubuk	-
	30.3	+	Çubuk	-
	30.4	+	Çubuk	-
	30.5	+	Çubuk	-
31	31.1	+	Çubuk	-
	31.2	+	Çubuk	-
	31.3	+	Çubuk	-
	31.4	+	Çubuk	-
	31.5	+	Çubuk	-
32	32.1	+	Çubuk	-
	32.2	+	Çubuk	-
	32.3	+	Çubuk	-
	32.4	+	Çubuk	-
	32.5	+	Çubuk	-

Çizelge 4.3 MRS+%0,05 Sistein agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Lactobacillus* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları (devam)

İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
33	33.1	+	Çubuk	-
	33.2	+	Çubuk	-
	33.3	+	Çubuk	-
	33.4	+	Çubuk	-
	33.5	+	Kok	-
34	34.1	+	Çubuk	-
	34.2	+	Çubuk	-
	34.3	+	Çubuk	-
	34.4	+	Çubuk	-
	34.5	+	Çubuk	-
37	37.1	+	Çubuk	-
	37.2	+	Çubuk	-
	37.3	+	Çubuk	-
	37.4	+	Çubuk	-
	37.5	+	Çubuk	-
38	38.1	+	Çubuk	-
	38.2	+	Çubuk	-
	38.3	+	Çubuk	-
	38.4	+	Kok	-
	38.5	+	Kok	-
39	39.1	+	Çubuk	-
	39.2	+	Çubuk	-
	39.3	+	Çubuk	-
	39.4	+	Çubuk	-
	39.5	+	Çubuk	-
44	44.1	+	Çubuk	-
	44.2	+	Çubuk	-
	44.3	+	Çubuk	-
	44.4	+	Çubuk	-
	44.5	+	Çubuk	-
45	45.1	+	Çubuk	-
	45.2	+	Çubuk	-
	45.3	+	Çubuk	-
	45.4	+	Çubuk	-
	45.5	+	Çubuk	-
46	46.1	+	Çubuk	-
	46.2	+	Çubuk	-
	46.3	+	Çubuk	-
	46.4	+	Çubuk	-
	46.5	+	Çubuk	-
47	47.1	+	Çubuk	-
	47.2	+	Çubuk	-
	47.3	+	Çubuk	-
	47.4	+	Çubuk	-
	47.5	+	Çubuk	-

Çizelge 4.3 MRS+%0,05 Sistein agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Lactobacillus* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları (devam)

İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
48	48.1	+	Çubuk	-
	48.2	+	Çubuk	-
	48.3	+	Çubuk	-
	48.4	+	Çubuk	-
	48.5	+	Çubuk	-
49	49.1	+	Çubuk	-
	49.2	+	Çubuk	-
	49.3	+	Çubuk	-
	49.4	+	Çubuk	-
	49.5	+	Çubuk	-
50	50.1	+	Çubuk	-
	50.2	+	Çubuk	-
	50.3	+	Çubuk	-
	50.4	+	Çubuk	-
	50.5	+	Çubuk	-
51	51.1	+	Çubuk	-
	51.2	+	Çubuk	-
	51.3	+	Çubuk	-
	51.4	+	Çubuk	-
	51.5	+	Çubuk	-
52	52.1	+	Çubuk	-
	52.2	+	Çubuk	-
	52.3	+	Çubuk	-
	52.4	+	Çubuk	-
	52.5	+	Çubuk	-
53	53.1	+	Çubuk	-
	53.2	+	Çubuk	-
	53.3	+	Çubuk	-
	53.4	+	Çubuk	-
	53.5	+	Çubuk	-
54	54.1	+	Çubuk	-
	54.2	+	Çubuk	-
	54.3	+	Çubuk	-
	54.4	+	Çubuk	-
	54.5	+	Çubuk	-
55	55.1	+	Çubuk	-
	55.2	+	Çubuk	-
	55.3	+	Çubuk	-
	55.4	+	Çubuk	-
	55.5	+	Çubuk	-
56	56.1	+	Çubuk	-
	56.2	+	Çubuk	-
	56.3	+	Çubuk	-
	56.4	+	Çubuk	-
	56.5	+	Çubuk	-

Çizelge 4.3 MRS +%0,05 Sistein agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Lactobacillus* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları (devam)

İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
57	57.1	+	Çubuk	-
	57.2	+	Çubuk	-
	57.3	+	Çubuk	-
	57.4	+	Çubuk	-
	57.5	+	Çubuk	-
59	59.1	+	Çubuk	-
	59.2	+	Çubuk	-
	59.3	+	Çubuk	-
	59.4	+	Çubuk	-
	59.5	+	Çubuk	-
61	61.1	+	Çubuk	-
	61.2	+	Çubuk	-
	61.3	+	Çubuk	-
	61.4	+	Çubuk	-
	61.5	+	Çubuk	-
62	62.1	+	Çubuk	-
	62.2	+	Çubuk	-
	62.3	+	Çubuk	-
	62.4	+	Çubuk	-
	62.5	+	Çubuk	-
63	63.1	+	Çubuk	-
	63.2	+	Çubuk	-
	63.3	+	Çubuk	-
	63.4	+	Çubuk	-
	63.5	+	Çubuk	-
64	64.1	+	Çubuk	-
	64.2	+	Çubuk	-
	64.3	+	Çubuk	-
	64.4	+	Çubuk	-
	64.5	+	Çubuk	-
65	65.1	+	Çubuk	-
	65.2	+	Çubuk	-
	65.3	+	Çubuk	-
	65.4	+	Çubuk	-
	65.5	+	Çubuk	-
66	66.1	+	Çubuk	-
	66.2	+	Çubuk	-
	66.3	+	Çubuk	-
	66.4	+	Çubuk	-
	66.5	+	Çubuk	-
67	67.1	+	Çubuk	-
	67.2	+	Çubuk	-
	67.3	+	Çubuk	-
	67.4	+	Çubuk	-
	67.5	+	Çubuk	-

Çizelge 4.3 MRS+%0,05 Sistein agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Lactobacillus* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları (devam)

İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
68	68.1	+	Çubuk	-
	68.2	+	Çubuk	-
	68.3	+	Çubuk	-
	68.4	+	Çubuk	-
	68.5	+	Çubuk	-
69	69.1	+	Çubuk	-
	69.2	+	Çubuk	-
	69.3	+	Çubuk	-
	69.4	+	Çubuk	-
	69.5	+	Çubuk	-
70	70.1	+	Çubuk	-
	70.2	+	Çubuk	-
	70.3	+	Çubuk	-
	70.4	+	Çubuk	-
	70.5	+	Çubuk	-
71	71.1	+	Çubuk	-
	71.2	+	Çubuk	-
	71.3	+	Çubuk	-
	71.4	+	Çubuk	-
	71.5	+	Çubuk	-
72	72.1	+	Çubuk	-
	72.2	+	Çubuk	-
	72.3	+	Çubuk	-
	72.4	+	Çubuk	-
	72.5	+	Çubuk	-
73	73.1	+	Çubuk	-
	73.2	+	Çubuk	-
	73.3	+	Çubuk	-
	73.4	+	Çubuk	-
	73.5	+	Çubuk	-
74	74.1	+	Çubuk	-
	74.2	+	Çubuk	-
	74.3	+	Çubuk	-
	74.4	+	Çubuk	-
	74.5	+	Çubuk	-
75	75.1	+	Çubuk	-
	75.2	+	Çubuk	-
	75.3	+	Çubuk	-
	75.4	+	Çubuk	-
	75.5	+	Çubuk	-
76	76.1	+	Çubuk	-
	76.2	+	Çubuk	-
	76.3	+	Çubuk	-
	76.4	+	Çubuk	-
	76.5	+	Çubuk	-

Çizelge 4.4 MRS+NNLP agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Bifidobacterium* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları

İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
2	2.1	+	Eğri çubuk	-
	2.2	+	Eğri çubuk	-
	2.3	+	Kok	-
	2.4	+	Eğri çubuk	-
	2.5	+	Eğri çubuk	-
3	3.1	+	Eğri çubuk	-
	3.2	+	Eğri çubuk	-
	3.3	+	Eğri çubuk	-
	3.4	+	Eğri çubuk	-
	3.5	+	Eğri çubuk	-
5	5.1	+	Kok	-
	5.2	+	Kok	-
	5.3	+	Kok	-
	5.4	+	Kok	-
	5.5	+	Kok	-
10	10.1	+	Kok	-
	10.2	+	Kok	-
	10.3	+	Kok	-
	10.4	+	Kok	-
	10.5	+	Eğri çubuk	-
11	11.1	+	Kok	-
	11.2	+	Eğri çubuk	-
	11.3	+	Kok	-
	11.4	+	Kok	-
	11.5	+	Kok	-
12	12.1	+	Eğri çubuk	-
	12.2	+	Eğri çubuk	-
	12.3	-	Kok	-
	12.4	+	Eğri çubuk	-
	12.5	+	Eğri çubuk	-
15	15.1	+	Eğri çubuk	-
	15.2	+	Eğri çubuk	-
	15.3	+	Eğri çubuk	-
	15.4	+	Eğri çubuk	-
	15.5	+	Eğri çubuk	-
16	16.1	+	Kok	-
	16.2	+	Kok	-
	16.3	+	Eğri çubuk	-
	16.4	+	Eğri çubuk	-
	16.5	+	Eğri çubuk	-
20	20.1	+	Eğri çubuk	-
	20.2	+	Eğri çubuk	-
	20.3	+	Eğri çubuk	-
	20.4	+	Eğri çubuk	-
	20.5	+	Eğri çubuk	-

Çizelge 4.4 MRS + NNLP agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Bifidobacterium* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları (devam)

İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
21	21.1	+	Eğri çubuk	-
	21.2	+	Eğri çubuk	-
	21.3	+	Eğri çubuk	-
	21.4	+	Eğri çubuk	-
	21.5	+	Eğri çubuk	-
22	22.1	+	Eğri çubuk	-
	22.2	+	Eğri çubuk	-
	22.3	+	Eğri çubuk	-
	22.4	+	Eğri çubuk	-
	22.5	+	Eğri çubuk	-
30	30.1	+	Eğri çubuk	-
	30.2	+	Eğri çubuk	-
	30.3	+	Eğri çubuk	-
	30.4	+	Eğri çubuk	-
	30.5	+	Eğri çubuk	-
31	31.1	+	Eğri çubuk	-
	31.2	+	Eğri çubuk	-
	31.3	+	Eğri çubuk	-
	31.4	+	Eğri çubuk	-
	31.5	+	Eğri çubuk	-
33	33.1	+	Eğri çubuk	-
	33.2	+	Eğri çubuk	-
	33.3	+	Eğri çubuk	-
	33.4	+	Eğri çubuk	-
	33.5	+	Eğri çubuk	-
34	34.1	+	Eğri çubuk	-
	34.2	+	Eğri çubuk	-
	34.3	+	Eğri çubuk	-
	34.4	+	Eğri çubuk	-
	34.5	+	Eğri çubuk	-
38	38.1	+	Kok	-
	38.2	+	Kok	-
	38.3	+	Kok	-
	38.4	+	Kok	-
	38.5	+	Kok	-
44	44.1	+	Eğri çubuk	-
	44.2	+	Eğri çubuk	-
	44.3	+	Eğri çubuk	-
	44.4	+	Eğri çubuk	-
	44.5	+	Eğri çubuk	-
45	45.1	+	Eğri çubuk	-
	45.2	+	Eğri çubuk	-
	45.3	+	Eğri çubuk	-
	45.4	+	Eğri çubuk	-
	45.5	+	Eğri çubuk	-

Çizelge 4.4 MRS + NNLP agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Bifidobacterium* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları (devam)

İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
46	46.1	+	Eğri çubuk	-
	46.2	+	Eğri çubuk	-
	46.3	+	Eğri çubuk	-
	46.4	+	Eğri çubuk	-
	46.5	+	Eğri çubuk	-
51	51.1	+	Eğri çubuk	-
	51.2	+	Eğri çubuk	-
	51.3	+	Eğri çubuk	-
	51.4	+	Eğri çubuk	-
	51.5	+	Eğri çubuk	-
52	52.1	+	Eğri çubuk	-
	52.2	+	Eğri çubuk	-
	52.3	+	Eğri çubuk	-
	52.4	+	Eğri çubuk	-
	52.5	+	Eğri çubuk	-
55	55.1	+	Eğri çubuk	-
	55.2	+	Eğri çubuk	-
	55.3	+	Eğri çubuk	-
	55.4	+	Eğri çubuk	-
	55.5	+	Eğri çubuk	-
56	56.1	+	Eğri çubuk	-
	56.2	+	Eğri çubuk	-
	56.3	+	Eğri çubuk	-
	56.4	+	Eğri çubuk	-
	56.5	+	Eğri çubuk	-
61	61.1	+	Eğri çubuk	-
	61.2	+	Eğri çubuk	-
	61.3	+	Eğri çubuk	-
	61.4	+	Eğri çubuk	-
	61.5	+	Eğri çubuk	-
62	62.1	+	Eğri çubuk	-
	62.2	+	Eğri çubuk	-
	62.3	+	Eğri çubuk	-
	62.4	+	Eğri çubuk	-
	62.5	+	Eğri çubuk	-
63	63.1	+	Eğri çubuk	-
	63.2	+	Eğri çubuk	-
	63.3	+	Eğri çubuk	-
	63.4	+	Eğri çubuk	-
	63.5	+	Eğri çubuk	-
64	64.1	+	Eğri çubuk	-
	64.2	+	Eğri çubuk	-
	64.3	+	Eğri çubuk	-
	64.4	+	Eğri çubuk	-
	64.5	+	Eğri çubuk	-

Çizelge 4.4 MRS + NNLP agar besiyerinden izole edilen muhtemel *Bifidobacterium* spp. izolatlarının biyokimyasal test sonuçları (devam)

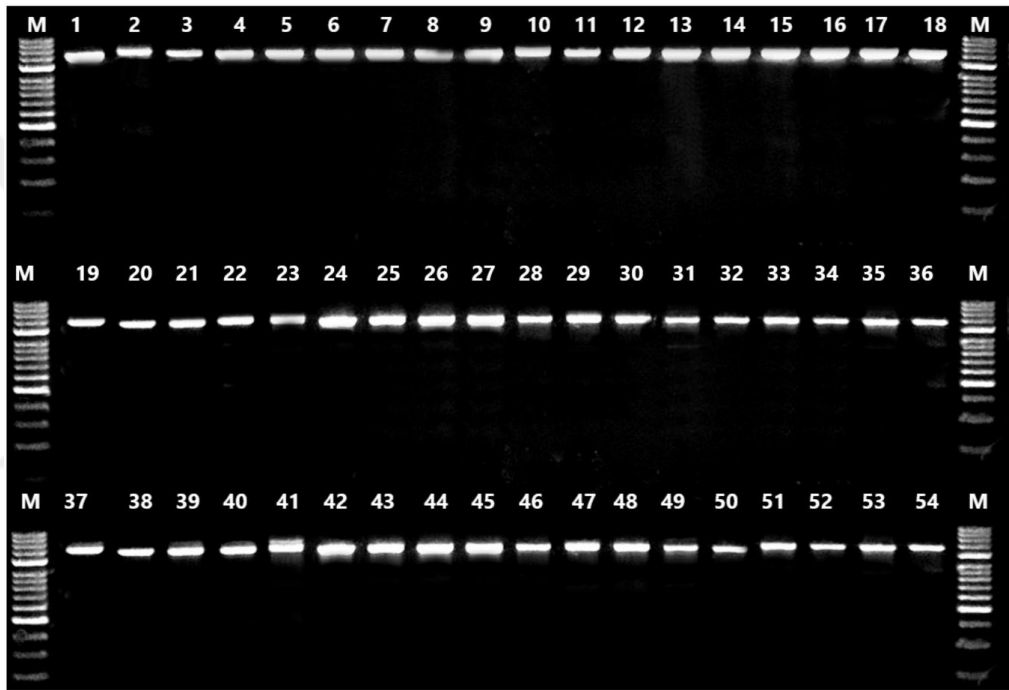
İzolat numarası	Gram Boyama	Morfoloji	Katalaz Testi	
69	69.1	+	Eğri çubuk	-
	69.2	+	Eğri çubuk	-
	69.3	+	Eğri çubuk	-
	69.4	+	Eğri çubuk	-
	69.5	+	Eğri çubuk	-
74	74.1	+	Eğri çubuk	-
	74.2	+	Eğri çubuk	-
	74.3	+	Eğri çubuk	-
	74.4	+	Eğri çubuk	-
	74.5	+	Eğri çubuk	-
75	75.1	+	Eğri çubuk	-
	75.2	+	Eğri çubuk	-
	75.3	+	Eğri çubuk	-
	75.4	+	Eğri çubuk	-
	75.5	+	Eğri çubuk	-
76	76.1	+	Eğri çubuk	-
	76.2	+	Eğri çubuk	-
	76.3	+	Eğri çubuk	-
	76.4	+	Eğri çubuk	-
	76.5	+	Eğri çubuk	-

MRS-NNLP agar besiyerinden toplam 155 muhtemel *Bifidobacterium* spp. izole edilmiştir. 12.3 numaralı izolat dışında kalan tüm izolatların Gram (+) ve katalaz (-) olduğu belirlenmiştir. Ancak *Bifidobacterium* spp. izolatlarının mikroskopta morfolojik profilleri incelendiği zaman 22 izolatın kok morfolojisine sahip olduğu saptanmıştır. Bu kapsamda 2.3, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 10.1, 10.2, 10.3, 10.4, 11.1, 11.3, 11.4, 11.5, 12.3, 16.1, 16.2, 38.1, 38.2, 38.3, 38.4, 38.5 nolu izolatlar tez çalışması kapsamı dışında bırakılmıştır. Mikroskobik inceleme sonucunda 133 izolatın ise çubuk morfolojisine sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.4).

Canlı sayımı yapılabilen probiyotik süt ürünü ve/veya probiyotik gıda katkısı örneklerini temsil edecek şekilde seçilen izolatlara 16S rRNA dizi analizi ile moleküler tanımlama yapılmıştır.

4.3 *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşlarının 16S RNA dizi analizi ile moleküler düzeyde tanımlanması

Morfolojik ve biyokimyasal olarak muhtemel *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. olarak tanımlanan toplam 80 izolata, 16S rRNA dizi analizi uygulanmıştır (Şekil 4.2). PZR ile çoğaltılan 16S rRNA gen bölgesinin çift yönlü DNA dizi analizi sonuçları, BLAST programı kullanılarak NCBI veri tabanında bulunan 16S rRNA dizileriyle benzerlik oranları karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.2 *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. suşlarının PZR ile çoğaltılan 16S rRNA fragmentleri

M	: Marker DNA
1-40	: Lb21-1, Lb38-1, Lb12-4, Lb64-1, Lb52-1, Lb34-3, Lb74-3, Lb14-4, Lb67-3, Lb13-2, Lb1-2, Lb39-4, Lb2-4, Lb32-1, Lb51-5, Lb73-1, Lb3-1, Lb46-1, Lb23-1, Lb62-2, Lb70-1, Lb5-2, Lb63-1, Lb72-3, Lb65-2, Lb48-3, Lb33-1, Lb16-4, Lb69-3, Lb30-3, Lb24-4, Lb71-2, Lb44-3, Lb66-2, Lb22-2, Lb75-2, Lb45-5, Lb37-5, Lb4-3, Lb11-4
41-54	: Bf30-2, Bf52-1, Bf61-1, Bf3-2, Bf64-3, Bf44-2, Bf2-5, Bf51-4, Bf74-3, Bf45-1, Bf31-1, Bf16-5, Bf56-5, Bf12-4

52 adet *Lactobacillus* spp. suşuna ait tür düzeyinde tanımlama sonuçları Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5 *Lactobacillus* spp. suşlarının 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre tür düzeyinde tanımlaması

No	Bakteri Kodu	İleri (F)	Benzerlik oranı (%)	Geri (R)	Benzerlik oranı (%)	16S rRNA Dizisine Göre Yapılan Tanı
1	Lb1-2	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	97	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
2	Lb2-4	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
3	Lb3-1	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	98	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
4	Lb4-3	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	97	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	98	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>
5	Lb5-2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>jonggajibkimchii</i>	98	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>jonggajibkimchii</i>	97	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>jonggajibkimchii</i>
6	Lb6-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
7	Lb10-5	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	96	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
8	Lb11-4	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
9	Lb12-4	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	97	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	98	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
10	Lb13-2	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	99	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
11	Lb14-4	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	98	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
12	Lb15-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	99	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	99	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
13	Lb16-4	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	97	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
14	Lb19-2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
15	Lb20-4	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	97	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
16	Lb21-1	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	99	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
17	Lb22-2	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	99	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	97	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
18	Lb23-1	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	98	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	98	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>

Çizelge 4.5 *Lactobacillus* spp. suşlarının 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre tür düzeyinde tanımlaması (devam)

No	Bakteri Kodu	İleri (F)	Benzerlik oranı (%)	Geri (R)	Benzerlik oranı (%)	16S rRNA Dizisine Göre Yapılan Tanı
19	Lb24-4	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	98	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	99	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>
20	Lb30-3	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	99	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
21	Lb31-2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	99	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
22	Lb32-1	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	98	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	98	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
23	Lb33-1	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	97	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>
24	Lb34-3	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	99	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	99	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
25	Lb37-5	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	98	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	98	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
26	Lb38-1	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	98	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	98	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>
27	Lb39-4	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	97	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
28	Lb44-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	98	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	99	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
29	Lb45-5	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	100	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	97	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
30	Lb46-1	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	98	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	99	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>
31	Lb48-3	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	98	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	97	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
32	Lb51-5	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	100	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
33	Lb52-1	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>
34	Lb54-5	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	98	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	96	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
35	Lb55-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	99	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
36	Lb56-5	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	96	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	96	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
37	Lb61-3	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	100	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
38	Lb62-2	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	100	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	97	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
39	Lb63-1	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	97	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	100	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>

Çizelge 4.5 *Lactobacillus* spp. suşlarının 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre tür düzeyinde tanımlaması (devam)

No	Bakteri Kodu	İleri (F)	Benzerlik oranı (%)	Geri (R)	Benzerlik oranı (%)	16S rRNA Dizisine Göre Yapılan Tanı
40	Lb64-1	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	99	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
41	Lb65-2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	99	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
42	Lb66-2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	98	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	99	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
43	Lb67-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	98	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	99	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
44	Lb68-1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	100	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
45	Lb69-3	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	100	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	98	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
46	Lb70-1	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	99	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
47	Lb71-2	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	98	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	99	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
48	Lb72-3	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	97	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	99	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>
49	Lb73-1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	98	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	99	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
50	Lb74-3	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	98	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
51	Lb75-2	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	98	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	99	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
52	Lb76-1	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	97	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	99	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>

Çizelge 4.6’da probiyotik ürünlerin etiket bilgilerinde yer alan bakterilerin tür bilgileri ile tez çalışmamızda elde olunan tür düzeyindeki tanımlalar karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.6 *Lactobacillus* spp. olarak tanımlanan türler ile ürün etiketinde yer alan tür bilgilerin karşılaştırılması

No	Bakteri Kodu	16S rRNA Dizisine Göre Yapılan Tanı	Ürün Etiket Bilgisi
1	Lb1-2	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
2	Lb2-4	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Probiyotik mikroorganizma
3	Lb3-1	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
4	Lb4-3	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
5	Lb5-2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>jonggajibkimchii</i>	<i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefiranum</i> <i>Lactobacillus parakefiri</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
6	Lb6-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
7	Lb10-5	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Probiyotik mikroorganizma
8	Lb11-4	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Probiyotik mikroorganizma
9	Lb12-4	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	Probiyotik mikroorganizma
10	Lb13-2	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
11	Lb14-4	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
12	Lb15-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
13	Lb16-4	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Probiyotik mikroorganizma
14	Lb19-2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
15	Lb20-4	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Probiyotik mikroorganizma
16	Lb21-1	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Probiyotik mikroorganizma
17	Lb22-2	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Probiyotik mikroorganizma
18	Lb23-1	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
19	Lb24-4	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
20	Lb30-3	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus casei</i>
21	Lb31-2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>

Çizelge 4.6 *Lactobacillus* spp. olarak tanımlanan türler ile ürün etiketinde yer alan tür bilgilerin karşılaştırılması (devam)

No	Bakteri Kodu	16S rRNA Dizisine Göre Yapılan Tanı	Ürün Etiket Bilgisi
22	Lb32-1	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
23	Lb33-1	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
24	Lb34-3	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
25	Lb37-5	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus paracasei</i>
26	Lb38-1	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
27	Lb39-4	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Probiyotik mikroorganizma
28	Lb44-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Probiyotik mikroorganizma
29	Lb45-5	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Probiyotik mikroorganizma
30	Lb46-1	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	Probiyotik mikroorganizma
31	Lb48-3	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
32	Lb51-5	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Probiyotik mikroorganizma
33	Lb52-1	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Probiyotik mikroorganizma
34	Lb54-5	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
35	Lb55-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
36	Lb56-5	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Probiyotik mikroorganizma
37	Lb61-3	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Probiyotik mikroorganizma
38	Lb62-2	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Probiyotik mikroorganizma
39	Lb63-1	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Probiyotik mikroorganizma
40	Lb64-1	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Probiyotik mikroorganizma
41	Lb65-2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
42	Lb66-2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
43	Lb67-3	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
44	Lb68-1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
45	Lb69-3	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus brevis</i>
46	Lb70-1	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>

Çizelge 4.6 *Lactobacillus* spp. olarak tanımlanan türler ile ürün etiketinde yer alan tür bilgilerin karşılaştırılması (devam)

No	Bakteri Kodu	16S rRNA Dizisine Göre Yapılan Tanı	Ürün Etiket Bilgisi
47	Lb71-2	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
48	Lb72-3	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
49	Lb73-1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
50	Lb74-3	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Probiyotik mikroorganizma
51	Lb75-2	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	Probiyotik mikroorganizma
52	Lb76-1	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	Probiyotik mikroorganizma

Lactobacillus spp. türlerinin adlandırma sistematğinde yapılan güncellemeler sonucunda; *Lb. rhamnosus*'un güncel adı *Lacticaseibacillus rhamnosus* ve *Lb. plantarum*'un güncel adı *Lactiplantibacillus plantarum* olarak değiştirilmiştir (Masiá vd. 2021). Çizelge 4.6 incelendiği zaman Lb3-1, Lb32-1, Lb33-1, Lb34-3, Lb37-5, Lb38-1 ve Lb69-3 kodlu bakterilerde güncel isimlendirmenin ürün etiket bilgilerine yansıtılmadığı görülmektedir. Lb3-1, Lb6-3, Lb15-3, Lb19-2, Lb31-2, Lb32-1, Lb33-1, Lb34-3, Lb37-5, Lb38-1, Lb55-3, Lb65-2, Lb66-2, Lb67-3, Lb68-1, Lb69-3 ve Lb73-1 kodlu bakteri izolatlarında yapılan tür düzeyindeki tanımlamalar ürün etiket bilgileri ile uyumlu bulunmuştur. Ancak Lb1-2, Lb4-3, Lb13-2, Lb14-4, Lb23-1, Lb24-4, Lb30-3, Lb48-3, Lb54-5, L70-1, Lb71-2 ve Lb72-3 kodlu bakteri izolatlarında yapılan tür düzeyindeki tanımlamalar ürün etiket bilgileri ile uyumlu bulunmamıştır. Ürün etiket bilgilerinde sadece “probiyotik mikroorganizma” olarak tanımlanan ürünlerden izole edilen Lb2-4, Lb10-5, Lb11-4, Lb12-4, Lb16-4, Lb20-4, Lb21-1, Lb22-2, L39-4, Lb44-3, Lb45-5, Lb46-1, Lb51-5, Lb52-1, Lb56-5, Lb61-3, Lb62-2, Lb63-1, Lb64-1, Lb74-3, Lb75-2 ve Lb76-1 kodlu bakteri izolatlarında ise ürün etiket bilgileri detaylı bir şekilde verilmediğinden dolayı karşılaştırma yapılamamıştır. Lb5-2 suşunda yapılan tür düzeyindeki tanımlama ise ürün etiket bilgileri ile kısmen uyumlu bulunmuştur. Zira tanımlanan suş ismi (*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *jonggajibkimchii*), ürün etiketinde yer alan türün (*Leuconostoc mesenteroides*) bir alt türünü oluşturmaktadır.

28 adet *Bifidobacterium* spp. suşuna ait tür düzeyinde tanımlama sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 *Bifidobacterium* spp. suşlarının 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre tür düzeyinde tanımlaması

No	Bakteri Kodu	İleri (F)	Benzerlik oranı (%)	Geri (R)	Benzerlik oranı (%)	16S rRNA Dizisine Göre Yapılan Tanı
1	Bf2-5	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	98	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	98	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
2	Bf3-2	<i>Bifidobacterium longum</i>	99	<i>Bifidobacterium longum</i>	97	<i>Bifidobacterium longum</i>
3	Bf10-5	<i>Bifidobacterium lactis</i>	100	<i>Bifidobacterium lactis</i>	95	<i>Bifidobacterium lactis</i>
4	Bf11-2	<i>Bifidobacterium lactis</i>	97	<i>Bifidobacterium lactis</i>	100	<i>Bifidobacterium lactis</i>
5	Bf12-4	<i>Bifidobacterium infantis</i>	96	<i>Bifidobacterium infantis</i>	98	<i>Bifidobacterium infantis</i>
6	Bf16-5	<i>Bifidobacterium infantis</i>	98	<i>Bifidobacterium infantis</i>	99	<i>Bifidobacterium infantis</i>
7	Bf20-3	<i>Bifidobacterium longum</i>	99	<i>Bifidobacterium longum</i>	98	<i>Bifidobacterium longum</i>
8	Bf21-2	<i>Bifidobacterium longum</i>	99	<i>Bifidobacterium longum</i>	96	<i>Bifidobacterium longum</i>
9	Bf22-5	<i>Bifidobacterium infantis</i>	98	<i>Bifidobacterium infantis</i>	95	<i>Bifidobacterium infantis</i>
10	Bf30-2	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	98	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	100	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
11	Bf31-1	<i>Bifidobacterium longum</i>	97	<i>Bifidobacterium longum</i>	98	<i>Bifidobacterium longum</i>
12	Bf33-3	<i>Bifidobacterium infantis</i>	100	<i>Bifidobacterium infantis</i>	97	<i>Bifidobacterium infantis</i>
13	Bf34-3	<i>Bifidobacterium breve</i>	97	<i>Bifidobacterium breve</i>	97	<i>Bifidobacterium breve</i>
14	Bf44-2	<i>Bifidobacterium breve</i>	98	<i>Bifidobacterium breve</i>	98	<i>Bifidobacterium breve</i>
15	Bf45-1	<i>Bifidobacterium lactis</i>	98	<i>Bifidobacterium lactis</i>	99	<i>Bifidobacterium lactis</i>
16	Bf46-1	<i>Bifidobacterium breve</i>	98	<i>Bifidobacterium breve</i>	99	<i>Bifidobacterium breve</i>
17	Bf51-4	<i>Bifidobacterium longum</i>	97	<i>Bifidobacterium longum</i>	98	<i>Bifidobacterium longum</i>
18	Bf52-1	<i>Bifidobacterium infantis</i>	97	<i>Bifidobacterium infantis</i>	97	<i>Bifidobacterium infantis</i>
19	Bf55-4	<i>Bifidobacterium infantis</i>	98	<i>Bifidobacterium infantis</i>	98	<i>Bifidobacterium infantis</i>
20	Bf56-5	<i>Bifidobacterium breve</i>	99	<i>Bifidobacterium breve</i>	100	<i>Bifidobacterium breve</i>
21	Bf61-1	<i>Bifidobacterium longum</i>	99	<i>Bifidobacterium longum</i>	97	<i>Bifidobacterium longum</i>
22	Bf62-1	<i>Bifidobacterium infantis</i>	100	<i>Bifidobacterium infantis</i>	96	<i>Bifidobacterium infantis</i>
23	Bf63-1	<i>Bifidobacterium longum</i>	100	<i>Bifidobacterium longum</i>	98	<i>Bifidobacterium longum</i>
24	Bf64-3	<i>Bifidobacterium longum</i>	98	<i>Bifidobacterium longum</i>	98	<i>Bifidobacterium longum</i>

Çizelge 4.7 *Bifidobacterium* spp. suşlarının 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına göre tür düzeyinde tanımlaması (devam)

No	Bakteri Kodu	İleri (F)	Benzerlik oranı (%)	Geri (R)	Benzerlik oranı (%)	16S rRNA Dizisine Göre Yapılan Tanı
25	Bf69-2	<i>Bifidobacterium lactis</i>	98	<i>Bifidobacterium lactis</i>	99	<i>Bifidobacterium lactis</i>
26	Bf74-3	<i>Bifidobacterium longum</i>	97	<i>Bifidobacterium longum</i>	99	<i>Bifidobacterium longum</i>
27	Bf75-1	<i>Bifidobacterium infantis</i>	99	<i>Bifidobacterium infantis</i>	100	<i>Bifidobacterium infantis</i>
28	Bf76-3	<i>Bifidobacterium longum</i>	99	<i>Bifidobacterium longum</i>	98	<i>Bifidobacterium longum</i>

Çizelge 4.8’de probiyotik ürünlerin etiket bilgilerinde yer alan bakterilerin tür bilgileri ile tez çalışmamızda elde olunan tür düzeyindeki tanımlalar karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.8 *Bifidobacterium* spp. olarak tanımlanan türler ile ürün etiketinde yer alan tür bilgilerin karşılaştırılması

No	Bakteri Kodu	16S rRNA Dizisine Göre Yapılan Tanı	Ürün Etiket Bilgisi
1	Bf2-5	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Probiyotik mikroorganizma
2	Bf3-2	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Bifidobacterium</i> spp.
3	Bf10-5	<i>Bifidobacterium lactis</i>	Probiyotik mikroorganizma
4	Bf11-2	<i>Bifidobacterium lactis</i>	Probiyotik mikroorganizma
5	Bf12-4	<i>Bifidobacterium infantis</i>	Probiyotik mikroorganizma
6	Bf16-5	<i>Bifidobacterium infantis</i>	Probiyotik mikroorganizma
7	Bf20-3	<i>Bifidobacterium longum</i>	Probiyotik mikroorganizma
8	Bf21-2	<i>Bifidobacterium longum</i>	Probiyotik mikroorganizma
9	Bf22-5	<i>Bifidobacterium infantis</i>	Probiyotik mikroorganizma
10	Bf30-2	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
11	Bf31-1	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium longum</i>
12	Bf33-3	<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
13	Bf34-3	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium breve</i>
14	Bf44-2	<i>Bifidobacterium breve</i>	Probiyotik mikroorganizma
15	Bf45-1	<i>Bifidobacterium lactis</i>	Probiyotik mikroorganizma
16	Bf46-1	<i>Bifidobacterium breve</i>	Probiyotik mikroorganizma
17	Bf51-4	<i>Bifidobacterium longum</i>	Probiyotik mikroorganizma
18	Bf52-1	<i>Bifidobacterium infantis</i>	Probiyotik mikroorganizma
19	Bf55-4	<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i>

Çizelge 4.8 *Bifidobacterium* spp. olarak tanımlanan türler ile ürün etiketinde yer alan tür bilgilerin karşılaştırılması (devam)

No	Bakteri Kodu	16S rRNA Dizisine Göre Yapılan Tanı	Ürün Etiket Bilgisi
20	Bf56-5	<i>Bifidobacterium breve</i>	Probiyotik mikroorganizma
21	Bf61-1	<i>Bifidobacterium longum</i>	Probiyotik mikroorganizma
22	Bf62-1	<i>Bifidobacterium infantis</i>	Probiyotik mikroorganizma
23	Bf63-1	<i>Bifidobacterium longum</i>	Probiyotik mikroorganizma
24	Bf64-3	<i>Bifidobacterium longum</i>	Probiyotik mikroorganizma
25	Bf69-2	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>
26	Bf74-3	<i>Bifidobacterium longum</i>	Probiyotik mikroorganizma
27	Bf75-1	<i>Bifidobacterium infantis</i>	Probiyotik mikroorganizma
28	Bf76-3	<i>Bifidobacterium longum</i>	Probiyotik mikroorganizma

Bf33-3 ve Bf55-4 kodlu bakteri izolatlarında yapılan tür düzeyindeki tanımlamalar ürün etiket bilgileri ile uyumlu bulunmamıştır. Ancak Bf3-2, Bf30-2, Bf31-1, Bf34-3 ve Bf69-2 kodlu bakteri izolatlarında yapılan tür düzeyindeki tanımlamalar ürün etiket bilgileri ile uyumlu bulunmuştur. Ayrıca ürün etiket bilgilerinde sadece “probiyotik mikroorganizma” olarak tanımlanan ürünlerden izole edilen Bf2-5, Bf10-5, Bf11-2, Bf12-4, Bf16-5, Bf20-3, Bf21-2, Bf22-5, Bf44-2, Bf45-1, Bf46-1, Bf51-4, Bf52-1, Bf56-5, Bf61-1, Bf62-1, Bf63-1, Bf64-3, Bf74-3, Bf75-1 ve Bf76-3 kodlu bakteri izolatlarında ise ürün etiket bilgileri detaylı bir şekilde verilmediğinden dolayı karşılaştırma yapılamamıştır.

4.4 Antibiyotik Duyarlılık Testleri

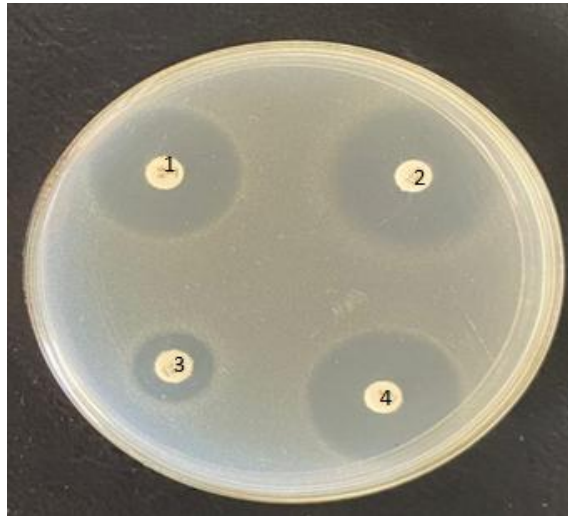
Bauer vd. (1966) tarafından önerilen antibiyotik disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Suşların antibiyotik duyarlılık düzeylerini belirleyebilmek için 18 farklı antibiyotik seçilmiştir. Ölçülen zon çapları Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI, 2003) ile Charteris vd. (1998) tarafından bildirilen standartlara göre dirençli (R), az hassas (I) ve duyarlı (S) olarak değerlendirilmiştir.

4.4.1 *Lactobacillus* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri

52 adet *Lactobacillus* spp. suşunun antibiyotiklere karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm) Çizelge 4.9’de, antibiyotik duyarlılık yüzdeleri Çizelge 4.10’de ve agar ortamındaki zon görüntüleri ise Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’de verilmiştir. Antibiyotiklere karşı duyarlı, az hassas ve dirençlilik gösteren suşlar Çizelge 4.9’de farklı renklerle işaretlenerek gösterilmiştir.



Şekil 4.3 *Lactobacillus* Lb3-1 suşunun antibiyotik zon görünümü
(1: penisilin G, 2: kloramfenikol, 3: streptomisin, 4: rifampin)



Şekil 4.4 *Lactobacillus* Lb64-1 suşunun antibiyotik zon görünümü
(1: rifampin, 2: kanamisin, 3: streptomisin, 4: penisilin G)

Çizelge 4.9 *Lactobacillus* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri

Suş No	ANTİBİYOTİK																	
	Ampisilin	Sefazolin	Sefoksitin	Kloramfenikol	Siprofloksasin	Klindamisin	Enrofloksasin	Eritromisin	Gentamisin	Kanamisin	Metisilin	Norfloksasin	Penisilin G	Rifampin	Streptomisin	Trimetoprim	Tetrasiklin	Vankomisin
Lb1-2	32	24	0	35	23	33	21	42	21	14	0	19	38	40	19	16	42	0
Lb2-4	25	14	0	35	34	45	30	50	25	14	0	25	35	45	25	45	43	0
Lb3-1	28	19	0	41	33	45	30	50	26	17	0	30	40	42	20	40	47	0
Lb4-3	37	23	0	33	12	18	11	36	21	16	0	0	28	26	17	0	0	0
Lb5-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lb6-3	0	52	0	44	0	40	0	0	32	22	0	0	0	30	30	0	0	54
Lb10-5	25	23	0	36	29	50	27	48	25	12	0	23	40	43	25	46	44	0
Lb11-4	52	50	40	40	22	30	18	50	21	16	0	17	60	40	21	18	45	0
Lb12-4	23	25	0	32	27	45	25	45	25	20	0	21	37	38	20	47	38	0
Lb13-2	41	21	0	40	0	26	20	50	26	17	0	13	46	25	19	0	53	0
Lb14-4	34	16	0	36	22	20	25	40	22	14	0	21	41	38	18	10	38	0
Lb15-3	36	20	0	40	0	47	24	58	25	15	0	20	50	41	18	40	50	0
Lb16-4	36	20	0	40	20	22	19	40	22	16	0	18	40	40	20	15	42	0
Lb19-2	52	50	46	31	21	34	20	52	20	16	0	15	54	41	20	26	40	0
Lb20-4	18	16	0	31	26	43	25	44	24	18	0	21	31	38	19	41	37	0
Lb21-1	26	25	0	35	26	47	25	45	24	19	0	22	39	40	21	45	40	0

Dirençli



Az Hassas



Duyarlı



Çizelge 4.9 *Lactobacillus* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri (devam)

Suş No	ANTİBİYOTİK																	
	Ampisilin	Sefazolin	Sefoksitin	Kloramfenikol	Siprofloksasin	Klindamisin	Enrofloksasin	Eritromisin	Gentamisin	Kanamisin	Metisilin	Norfloksasin	Penisilin G	Rifampin	Streptomisin	Trimetoprim	Tetrasiklin	Vankomisin
Lb22-2	20	19	0	40	20	42	15	50	26	16	0	18	40	46	21	39	50	0
Lb23-1	37	23	0	30	19	21	19	41	18	13	0	13	42	43	19	10	36	0
Lb24-4	51	52	42	35	21	44	18	48	20	12	0	14	60	40	21	39	36	0
Lb30-3	51	25	0	34	20	38	21	49	20	15	0	15	49	41	23	30	40	0
Lb31-2	37	21	0	34	19	25	20	43	21	14	0	18	38	32	16	10	39	0
Lb32-1	36	24	12	32	10	20	13	25	23	14	0	0	28	25	14	52	26	0
Lb33-1	40	22	0	36	25	22	25	40	23	15	0	23	42	40	17	0	45	0
Lb34-3	34	0	0	28	10	14	14	31	20	14	0	0	26	25	13	28	20	0
Lb37-5	27	0	0	27	10	14	19	32	20	13	0	0	20	22	12	48	17	0
Lb38-1	13	11	0	30	23	31	23	43	21	11	0	20	45	34	20	21	30	0
Lb39-4	30	18	0	36	27	47	45	45	20	13	0	18	38	40	21	45	40	0
Lb44-3	20	18	0	41	25	48	25	50	30	22	0	25	40	34	27	50	45	0
Lb45-5	0	19	0	32	30	43	27	47	22	17	0	19	33	45	22	42	39	0
Lb46-1	21	16	0	38	29	50	25	46	25	20	0	20	35	42	25	35	40	0
Lb48-3	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lb51-5	35	19	0	35	26	41	25	50	22	14	0	20	43	44	17	24	40	0

Dirençli



Az Hassas



Duyarlı



Çizelge 4.9 *Lactobacillus* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri (devam)

Suş No	ANTİBİYOTİK																	
	Ampisilin	Sefazolin	Sefoksitin	Kloramfenikol	Siprofloksasin	Klindamisin	Enrofloksasin	Eritromisin	Gentamisin	Kanamisin	Metisilin	Norfloksasin	Penisilin G	Rifampin	Streptomisin	Trimetoprim	Tetrasiklin	Vankomisin
Lb52-1	11	10	0	41	26	40	24	45	25	20	0	23	35	38	18	25	40	0
Lb54-5	0	50	0	40	10	54	20	0	40	24	0	20	70	11	50	76	0	0
Lb55-3	46	50	56	49	0	44	15	0	28	10	0	10	74	10	36	0	70	60
Lb56-5	40	30	0	43	24	43	23	46	22	14	0	25	45	48	18	34	45	0
Lb61-3	32	11	0	33	24	37	27	44	22	14	0	21	40	40	20	29	41	0
Lb62-2	13	11	0	37	25	38	27	48	20	15	0	21	50	40	24	44	40	0
Lb63-1	36	11	0	38	25	39	30	46	21	12	0	24	45	42	20	44	43	0
Lb64-1	31	10	0	33	26	36	29	41	17	11	0	22	34	36	14	26	36	0
Lb65-2	0	0	0	58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	35	0	0	0
Lb66-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	70	0	50	0	0	0
Lb67-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0
Lb68-1	0	0	0	42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	0	0	24	0
Lb69-3	22	17	0	32	13	18	21	36	20	13	0	0	32	23	18	0	18	0
Lb70-1	0	0	0	46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	40	0	60	0
Lb71-2	70	50	0	44	12	0	10	0	44	24	0	14	70	13	0	0	60	0
Lb72-3	40	58	0	32	11	60	20	0	33	20	0	12	72	0	26	0	60	0

Dirençli



Az Hassas



Duyarlı



Çizelge 4.9 *Lactobacillus* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri (devam)

Suş No	ANTİBİYOTİK																	
	Ampisilin	Sefazolin	Sefoksitin	Kloramfenikol	Siprofloksasin	Klindamisin	Enrofloksasin	Eritromisin	Gentamisin	Kanamisin	Metisilin	Norfloksasin	Penisilin G	Rifampin	Streptomisin	Trimetoprim	Tetrasiklin	Vankomisin
Lb73-1	0	0	0	42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	26	0	0	0
Lb74-3	21	11	0	41	17	19	20	40	19	11	0	12	44	40	22	13	45	0
Lb75-2	14	0	0	35	17	23	20	40	18	12	0	17	41	37	21	15	40	0
Lb76-1	20	13	0	40	26	45	25	58	21	12	0	20	50	33	20	40	50	0

Dirençli



Az Hassas



Duyarlı



Çizelge 4.10 *Lactobacillus* spp. suşlarının antibiyotik dirençlilik yüzdeleri

ANTİBİYOTİKLER	Dirençli (%)	Az hassas (%)	Duyarlı (%)
Ampisilin	23,07	5,76	71,15
Metisilin	100	0	0
Penisilin G	15,38	3,84	80,76
Sefazolin	38,46	7,69	53,84
Sefoksitin	92,30	0	7,69
Kloramfenikol	7,69	0	92,30
Enrofloksasin	28,84	23,07	48,07
Siprofloksasin	38,46	3,84	57,69
Norfloksasin	36,53	19,23	44,23
Klindamisin	15,38	0	84,61
Eritromisin	25	0	75
Gentamisin	15,38	0	84,61
Kanamisin	40,38	40,38	19,23
Streptomisin	9,61	7,69	82,69
Rifampin	17,30	1,92	80,76
Tetrasiklin	17,30	3,84	78,84
Trimetoprim	36,53	1,92	61,53
Vankomisin	96,15	0	3,84

Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10 incelendiği zaman, *Lactobacillus* spp. suşlarının %100'ü metisiline, %96,15'i vankomisine, %92,30'u sefoksitine, %40,38'i kanamisine, %38,46'sı sefazoline, %38,46'sı siprofloksasine, %36,53'ü trimetoprime, %36,53'ü norfloksasine, %25'i eritromisine, %28,84'ü enrofloksasine, %23,07'si ampisiline, %17,30'u rifampine, %17,30'u tetrasikline, %15,38'i penisilin G'ye, %15,38'i klindamisine, %15,38'i gentamisine, %9,61'i streptomisine ve %7,69'u kloramfenikole karşı dirençlilik göstermiştir.

Lactobacillus spp. suşlarının %92,30'u kloramfenikole, %84,61'i klindamisine, %84,61'i gentamisine, %82,69'u streptomisine, %80,76'sı rifampine, %80,76'sı penisilin G'ye, %78,84'ü tetrasikline, %75'i eritromisine, %71,15'i ampisiline, %61,53'ü trimetoprime, %57,69'u siprofloksasine, %53,84'ü sefazoline, %48,07'si enrofloksasine, %44,23'ü norfloksasine, %19,23'ü kanamisine, %7,69'u sefoksitine ve %3,84'ü vankomisine karşı duyarlılık göstermiştir.

Lactobacillus spp. suşlarının %40,38'i kanamisine, %23,07'si enrofloksasine, %19,23'ü norfloksasine, %5,76'sı ampisiline, %3,84'ü penisilin G'ye, %7,69'u sefazoline, %7,69'u streptomisine, %3,84'ü tetrasikline, %3,84'ü siprofloksasine, %1,92'si rifampine ve %1,92'si trimetoprimene orta düzeyde dirençlilik göstermiştir.

Tez çalışmasında 7 numaralı örnekten izole edilen ve *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *jonggajibkimchii* olarak tanımlanan Lb5-2 kodlu izolat ile 71 numaralı örnekten izole edilen ve *Lactobacillus acidophilus* olarak tanımlanan Lb67-3 kodlu izolat test edilen tüm antibiyotiklere karşı dirençli bulunmuştur.

Pinto vd. (2006) ise *Lactobacillus* suşlarının tamamının streptomisin, gentamisin ve siprofloksasine karşı dirençli; eritromisin, ampisilin, penisilin, tetrasiklin ve kloramfenikole ise duyarlı olduğunu tespit etmiştir. Bu çalışmada suşların tamamının streptomisin, gentamisin ve siprofloksasine dirençli olarak bulunması tez çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ile uyumlu bulunmamıştır. Ancak tez çalışmamızda eritromisin, ampisilin, penisilin, tetrasiklin ve kloramfenikole yüksek düzeyde duyarlılık gözlenmiştir. Başyigit Kılıç ve Karahan (2010) ise probiyotik kültürlerin %89'unda vankomisin direnci saptamışlardır. Bujnakova vd. (2014) tarafından izole edilen 16 *Lactobacillus* suşunun tetrasiklin, gentamisin, eritromisin, klindamisin, streptomisin, kloramfenikol, kanamisin, ampisilin, penisilin, vankomisin ve rifampisine duyarlı olduğunu bildirmiştir. Leite vd. (2015) kefirde izole ettikleri *Lactobacillus* suşlarının tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, ampisiline duyarlı, vankomisine dirençli olduğunu belirlemişlerdir. Ünal Turhan ve Erginkaya (2016) tarafından yapılan çalışmada ise *Lactobacillus* suşlarının %20'si tetrasikline, %20'si ampisiline, %20'si vankomisine, %20'si gentamisine ve %80'i siprofloksasine dirençli ve suşların tamamının eritromisin ve kloramfenikole karşı duyarlı olduğu bulunmuştur. Bu veriler, tez çalışmamızda elde edilen düşük oranda tetrasiklin, ampisilin ve gentamisin dirençliliği ile paralellik göstermektedir. Ancak tez çalışmamızda suşların %38,46'sı siprofloksasine, %96,15'i vankomisine karşı direnç göstermesi bakımından farklılık yaratmaktadır. Ahmed vd. (2017) izole ettikleri probiyotik kültürlerin %100'ünün vankomisine karşı dirençlilik gösterdiğini belirtmiştir. Çalışmamızda ise %96,15 oranında vankomisin dirençliliği belirlenmiştir. Koh vd. (2018) tarafından kefirde izole edilen *Lactobacillus* suşlarının

vankomisine dirençli olduğu belirlenmiştir. Talib vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada ise kefirde izole edilen *Lactobacillus* izolatlarının antibiyotik duyarlılığı analiz edilmiş ve tüm izolatların vankomisin ve gentamisine doğal olarak dirençli olduğu ve bu yüzden direncin türler arasında aktarılamayacağı belirlenmiştir. Ayrıca çalışmadaki tüm izolatlar 31-55 mm çapında oluşturdukları inhibisyon bölgeleriyle ampisilin, penisilin ve tetrasikline karşı duyarlı bulunmuştur. Mantzourani vd. (2019) kefirde izole edilen 10 *Lactobacillus* suşunun tamamının vankomisine ve tetrasikline, 6 suşun klindamisine ve 7 suşun ise eritromisine direnç gösterdiğini; Purutoğlu vd. (2020) geleneksel kefir tanelerinden üretilen kefirde izole edilen *Lactobacillus* suşlarının kloramfenikol, eritromisin, tetrasiklin, ampisilin, penisiline duyarlı olduğunu saptamışlardır. Koçak ve Çiftçi (2020) *Lactobacillus* izolatlarının %58,3'ü trimetoprim, %8,3'ü ampisilin, enrofloksasin ve eritromisine karşı dirençli olduğunu saptamıştır. Bu bulgulara göre tez çalışmamızda daha yüksek oranda ampisilin, enrofloksasin ve eritromisin dirençliliği; daha düşük oranda ise trimetoprim dirençliliği belirlenmiştir.

Tez çalışmamız kapsamında elde olunan veriler ile yukarıda kısaca özetlenen literatür verileri uyumlu bulunmuştur (Pinto vd. 2006, Başyigit Kılıç ve Karahan 2010, Bujnakova vd. 2014, Han vd. 2015, Leite vd. 2015, Ünal Turhan ve Erginkaya 2016, Ahmed vd. 2017, Koh vd. 2018, Talib vd. 2019, Mantzourani vd. 2019, Purutoğlu vd. 2020, Koçak ve Çiftçi 2020).

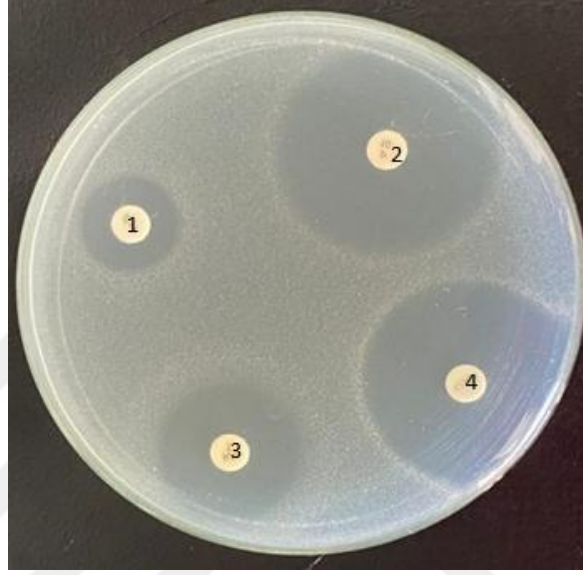
Lactobacillus spp. suşlarına ilişkin antibiyotik gruplarının ortalamaları karşılaştırıldığında tümel test sonucu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($F=49,039$; $p<0,001$). Etki büyüklüğü ($\eta^2=0,49$) değerinin yüksek değerde olduğu yani ölçüm sonuçlarındaki değişkenliğin kaynağının antibiyotik türleri olduğu anlaşılmaktadır (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 *Lactobacillus* spp. suşlarının antibiyotik dirençlilik düzeylerine ait istatistiki veriler

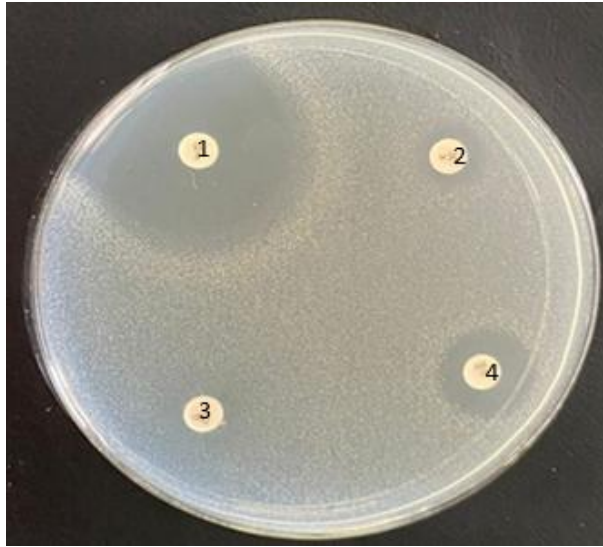
Antibiyotikler	Ort±Std Sapma	Std Hata	Ortalmanın %95 Güven Aralığı		F*	p	Eta-Kare
			LowerBound	UpperBound			
Metisilin	0±0	0,000	0,000	0,000	49,039	<0,001	0,490
Vankomisin	2,19±11,08	1,537	-0,894	5,278			
Sefoksitin	3,77±12,54	1,739	0,278	7,261			
Kanamycin	13,1±6,5	0,902	11,286	14,907			
Norfloksasin	14,02±9,35	1,296	11,417	16,621			
Siprofloksasin	16,63±10,84	1,503	13,617	19,652			
Sefazolin	19,56±16,2	2,246	15,048	24,067			
Streptomisin	20,35±10,16	1,409	17,518	23,174			
Enrofloksasin	18,56±10,19	1,414	15,720	21,395			
Gentamisin	20±9,91	1,374	17,241	22,759			
Ampisilin	25,25±17,27	2,394	20,443	30,057			
Trimetoprim	23,23±19,89	2,758	17,693	28,769			
Klindamisin	30,4±17,01	2,359	25,667	35,140			
Rifampin	31,08±13,67	1,896	27,270	34,884			
Eritromisin	33,35±20,28	2,813	27,700	38,992			
Kloramfenikol	34,29±11,41	1,583	31,111	37,466			
Tetrasiklin	34,12±18,48	2,563	28,970	39,260			
Penisilin G	37,12±19,79	2,745	31,605	42,626			
*Greenhouse-Geisser Test istatistiği							

4.4.2 *Bifidobacterium* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri

28 adet *Bifidobacterium* spp. suşunun antibiyotiklere karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm) Çizelge 4.12’de, antibiyotik duyarlılık yüzdeleri Çizelge 4.13’de ve agar ortamındaki zon görüntüleri ise Şekil 4.5 ve Şekil 4.6’de verilmiştir.



Şekil 4.5 *Bifidobacterium* Bf31-1 suşunun antibiyotik zon çapları
(1: streptomisin, 2: penisilin G, 3: rifampin, 4: kloramfenikol)



Şekil 4.6 *Bifidobacterium* Bf10-5 suşunun antibiyotik zon çapları
(1: eritromisin, 2: kanamisin, 3: trimetoprim, 4: ampisilin)

Çizelge 4.12 *Bifidobacterium* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri

Suş No	ANTİBİYOTİK																	
	Ampisilin	Sefazolin	Sefoksitin	Kloramfenikol	Siprofloksasin	Klindamisin	Enrofloksasin	Eritromisin	Gentamisin	Kanamisin	Metisilin	Norfloksasin	Penisilin G	Rifampin	Streptomisin	Trimetoprim	Tetrasiklin	Vankomisin
Bf2-5	35	25	0	30	17	36	17	44	18	13	0	15	40	38	11	23	33	0
Bf3-2	29	18	0	30	21	22	18	30	18	12	0	20	33	32	16	0	32	0
Bf10-5	18	11	0	25	21	28	23	36	14	10	0	19	37	27	16	0	31	0
Bf11-2	15	10	0	36	19	20	20	37	20	13	0	18	43	40	20	15	45	0
Bf12-4	15	10	0	32	20	20	20	35	19	11	0	26	37	32	17	0	35	0
Bf16-5	16	16	0	30	17	20	20	34	15	14	0	18	40	33	20	13	40	0
Bf20-3	10	10	0	28	21	38	22	41	16	10	0	16	37	18	12	0	37	0
Bf21-2	14	10	0	44	22	40	22	44	17	10	0	17	42	42	26	15	42	0
Bf22-5	0	0	0	0	56	0	0	54	20	20	0	0	0	0	0	60	45	0
Bf30-2	0	0	0	43	22	0	0	60	31	30	10	0	54	54	30	60	46	0
Bf31-1	16	10	0	31	25	22	30	31	18	10	0	22	37	25	17	0	35	0
Bf33-3	12	7	0	32	26	22	27	34	16	10	0	23	34	23	16	16	35	0
Bf34-3	31	14	0	26	8	9	16	29	18	13	0	0	25	24	14	27	20	0
Bf44-2	0	8	0	45	26	0	25	0	22	13	0	20	0	47	27	0	0	0

Dirençli



Az Hassas



Duyarlı



Çizelge 4.12 *Bifidobacterium* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık düzeyleri (devam)

Suş No	ANTİBİYOTİK																	
	Ampisilin	Sefazolin	Sefoksitin	Kloramfenikol	Siprofloksasin	Klindamisin	Enrofloksasin	Eritromisin	Gentamisin	Kanamisin	Metisilin	Norfloksasin	Penisilin G	Rifampin	Streptomisin	Trimetoprim	Tetrasiklin	Vankomisin
Bf45-1	0	0	0	45	0	0	0	0	22	0	0	0	0	42	30	25	0	0
Bf46-1	25	13	0	40	26	52	21	47	22	19	10	22	0	42	0	25	0	0
Bf51-4	0	32	0	32	22	46	0	0	19	14	0	17	0	45	0	0	0	0
Bf52-1	9	9	0	31	30	20	27	32	14	0	0	25	36	29	12	0	31	0
Bf55-4	30	10	0	35	25	0	18	44	22	19	10	20	0	49	0	25	0	0
Bf56-5	33	32	0	37	25	47	24	46	20	13	0	18	0	48	0	25	0	0
Bf61-1	30	13	0	42	27	57	22	0	16	11	0	20	0	48	17	0	0	0
Bf62-1	35	12	0	45	26	0	20	52	21	18	0	20	0	50	0	43	0	0
Bf63-1	0	11	0	43	31	45	27	0	20	18	10	18	0	47	0	0	0	0
Bf64-3	0	40	0	42	0	0	0	0	20	21	0	25	0	46	52	0	0	0
Bf69-2	60	34	17	31	17	24	20	47	26	24	0	0	38	28	17	12	22	0
Bf74-3	38	25	0	35	20	26	18	41	21	15	0	22	38	41	15	11	37	0
Bf75-1	42	24	0	36	21	33	17	49	27	17	0	10	42	45	16	0	47	0
Bf76-3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0	0	0

Dirençli



Az Hassas



Duyarlı



Çizelge 4.13 *Bifidobacterium* spp. suşlarının antibiyotik dirençlilik yüzdeleri

ANTİBİYOTİKLER	Dirençli (%)	Az hassas (%)	Duyarlı (%)
Ampisilin	39,28	10,71	50
Metisilin	96,42	0	3,57
Penisilin G	42,85	3,57	53,57
Sefazolin	67,85	3,57	28,57
Sefoksitin	96,42	3,57	0
Kloramfenikol	7,14	0	92,85
Enrofloksasin	25	35,71	39,28
Siprofloksasin	14,28	10,71	75
Norfloksasin	25	28,57	46,42
Klindamisin	28,57	3,57	67,85
Eritromisin	25	0	75
Gentamisin	3,57	0	96,42
Kanamisin	57,14	14,28	28,57
Streptomisin	32,14	10,71	57,14
Rifampin	7,14	0	92,85
Tetrasiklin	39,28	0	60,71
Trimetoprim	50	7,14	42,85
Vankomisin	100	0	0

Bifidobacterium spp. suşlarının %100'ü vankomisine, %96,42'si sefoksitine, %96,42'si metisiline, %67,85'i sefazoline, %57,14'ü kanamisine, %50'si trimetoprime, %42,85'i penisilin G'ye, %39,28'i ampisiline, %39,28'i tetrasikline, %32,14'ü streptomisine, %28,57'si klindamisine, %25'i enrofloksasine, %25'i norfloksasine, %25 eritromisine, %14,28'i siprofloksasine, %3,57'si gentamisine, %7,14'ü kloramfenikole ve %7,14'ü rifampine karşı dirençlilik göstermiştir (Çizelge 4.12, Çizelge 4.13).

Bifidobacterium spp. suşlarının %35,71'i enrofloksasine, %28,57'si norfloksasine, %14,28'i kanamisine, %10,71'i siprofloksasine, %10,71'i streptomisine, %10,71'i ampisiline, %7,14'ü trimetoprime, %3,57'si penisilin G'ye, %3,57'si sefazoline, %3,57'si sefoksitine ve %3,57'si klindamisine orta düzeyde dirençli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Çizelge 4.13).

Bifidobacterium spp. suşlarının %96,42'si gentamisine, %92,85'i rifampine, %92,85'i kloromfenikole, %75'i siprofloksasine, %75'i eritromisine, %67,85'i klindamisine,

%60,71'i tetrasikline, %57,14'ü streptomisine, %53,57'si penisilin G'ye, %50'si ampisiline, %46,42'si norfloksasine, %42,85'i trimetoprim, %39,28'i enrofloksasine, %28,57'si sefazoline, %28,57'si kanamisine ve %3,57'si metisiline karşı duyarlılık göstermiştir (Çizelge 4.12, Çizelge 4.13).

Tez çalışmamızda 80 numaralı örnekten izole edilen ve *Bifidobacterium longum* olarak tanımlanan Bf76-3 kodlu izolatın metisilin dışındaki tüm antibiyotiklere karşı direnç göstermiştir.

Bifidobakteriler genellikle kloramfenikole duyarlı; aminoglikozitlere karşı ise dirençlidir (Mayrhofer vd. 2011). Benzer şekilde tez çalışmamızda suşların kloramfenikole yüksek oranda duyarlı olduğu belirlenmiştir. Ancak suşların %3,57'si gentamisine, %57,14'ü kanamisine ve %32,14'ü streptomisine karşı dirençli bulunmuştur.

Moubareck vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada ise tüm *Bifidobacterium* suşlarının penisilin G'ye duyarlı olduğu belirlenmiştir. Kastner vd. (2006) yoğurttan izole edilen *Bifidobacterium* suşlarının gentamisine, kanamisine, streptomisine, tetrasikline dirençli olduğunu belirlemiştir. Masco vd. (2006) tüm *Bifidobacterium* suşlarının kloramfenikol, eritromisin, rifampisin ve vankomisine duyarlı; gentamisine ise dirençli olduğunu belirlemiştir. Drago vd. (2013) tarafından probiyotik ürünlerden izole edilen 4 *Bifidobacterium* suşunun tamamının eritromisine ve penisiline duyarlı; 1 suşun tetrasikline, 3 suşun ise gentamisine dirençli olduğunu bildirmiştir. Awasti vd. (2016) analiz edilen tüm *Bifidobacterium* suşlarının penisilin G, ampisilin ve kloramfenikole duyarlı olduğunu bulmuştur. Ünal Turhan ve Erginkaya (2016) tarafından yapılan bir çalışmada *Bifidobacterium* spp. suşlarının vankomisin, tetrasiklin, ampisilin ve siprofloksasine karşı dirençli; eritromisin, gentamisin ve kloramfenikole ise duyarlı olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda da tüm suşlar vankomine karşı dirençli bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızdaki suşların eritromisin, gentamisin ve kloramfenikole karşı yüksek oranda duyarlı olduğu saptanmıştır. Zou vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada izole edilen tüm bifidobakteriyel suşların ampisilin ve kloramfenikole duyarlı; kanamisin, streptomisin ve vankomisine dirençli olduğu bildirilmiştir. Xu vd.

(2018) tarafından yapılan bir çalışmada da *Bifidobacterium* suşlarının %43,48'i tetrasikline, %13,04'ü gentamisine, %10,87'si rifampine, %8,7'si kloramfenikole, %4,35'i vankomisine %4,35'i eritromisine direnç göstermiştir. Kloramfenikol, rifampin ve tetrasiklin dirençliliği tez çalışmamızda elde olunan verilerle uyumlu bulunmuştur. Rozman vd. (2020) *Bifidobacterium* suşlarının tetrasiklin ve siprofloksasine karşı fenotipik direnç gösterdiğini yaptıkları çalışmada saptamışlardır. Yasmin vd. (2020) izole edilen 8 *Bifidobacterium* suşunun tamamının ampisilin, kloramfenikol, eritromisin, penisilin, tetrasiklin ve vankomisine duyarlı; kanamisin ve gentamisine dirençli ve 1 suş dışında streptomisine dirençli olduğunu bulmuştur.

Yukarıda öztlenen literatür verileri ile tez çalışmamızda elde olunan veriler genel olarak uyumlu bulunmuştur (Moubareck vd. 2005, Kastner vd. 2006, Masco vd. 2006, Mayrhofer vd. 2011, Drago vd. 2013, Awasti vd. 2016, Ünal Turhan ve Erginkaya 2016, Zou vd. 2016, Xu vd. 2018, Rozman vd. 2020, Yasmin vd. 2020).

Bifidobacterium spp. suşlarına ilişkin antibiyotik gruplarının ortalamaları karşılaştırıldığında tümel test sonucu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($F=18,417$; $p<0,001$). Etki büyüklüğü ($\eta^2=40,6$) değerinin yüksek değerde olduğu yani ölçüm sonuçlarındaki değişkenliğin kaynağının antibiyotik türleri olduğu anlaşılmaktadır (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14 *Bifidobacterium* spp. suşlarının antibiyotik dirençlilik düzeylerine ait istatistikî veriler

Antibiyotik	Ort±Std Sapma	Std Hata	Ortalmanın %95 Güven Aralığı		F*	p	Eta-Kare
			LowerBound	UpperBound			
Vankomisin	0±0	0,000	0,000	0,000	18,417	<0,001	0,406
Sefoksitin	0,61±3,21	0,607	-0,639	1,853			
Metisilin	2,29±5,54	1,048	0,136	4,435			
Trimetoprim	14,11±17,61	3,328	7,278	20,936			
Kanamisin	13,5±6,72	1,271	10,892	16,108			
Gentamisin	19±5,33	1,008	16,932	21,068			
Streptomisin	14,32±12,14	2,293	9,616	19,027			
Sefazolin	14,43±10,71	2,023	10,277	18,580			
Norfloksasin	15,39±8,8	1,662	11,982	18,803			
Enrofloksasin	16,93±9,61	1,816	13,203	20,654			
Ampisilin	18,32±16,08	3,039	12,086	24,557			
Siprofloksasin	21,11±10,78	2,038	16,926	25,288			
Tetrasiklin	21,89±18,91	3,573	14,562	29,224			
Penisilin G	21,89±19,82	3,745	14,209	29,577			
Klindamisin	22,39±18,12	3,424	15,368	29,417			
Eritromisin	30,96±19,63	3,710	23,352	38,577			
Kloramfenikol	33,07±11,16	2,109	28,743	37,400			
Rifampin	35,54±13,9	2,626	30,148	40,924			
*Greenhouse-Geisser Test istatistiği							

Antibiotikler ile bakteri türleri arasında istatistiki bir karşılaştırma yapılmıştır. Metisilin için *Bifidobacterium* spp. ortalaması *Lactobacillus* spp. ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Ancak penisilin G, streptomisin, trimetoprim ve tetrasiklin için ise *Lactobacillus* spp. ortalamaları *Bifidobacterium* spp. ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15 Bakteri türleri ile antibiyotiklerin karşılaştırılması

	<i>Lactobacillus</i> spp. (n=52)	<i>Bifidobacterium</i> spp. (n=28)	t*	p
Ampisilin	25,25±17,27	18,32±16,08	1,753	0,084
Sefazolin	19,56±16,2	14,43±10,71	1,506	0,136
Sefoksitin	3,77±12,54	0,61±3,21	1,717	0,091
Kloramfenikol	34,29±11,41	33,07±11,16	0,458	0,648
Siprofloksasin	16,63±10,84	21,11±10,78	-1,764	0,082
Klindamisin	30,4±17,01	22,39±18,12	1,964	0,053
Enrofloksasin	18,56±10,19	16,93±9,61	0,695	0,489
Eritromisin	33,35±20,28	30,96±19,63	0,507	0,614
Gentamisin	20±9,91	19±5,33	0,587	0,559
Kanamisin	13,1±6,5	13,5±6,72	-0,262	0,794
Metisilin	0±0	2,29±5,54	-2,182	0,038
Norfloksasin	14,02±9,35	15,39±8,8	-0,640	0,524
Penisilin G	37,12±19,79	21,89±19,82	3,280	0,002
Rifampin	31,08±13,67	35,54±13,9	-1,383	0,171
Streptomisin	20,35±10,16	14,32±12,14	2,362	0,021
Trimethoprim	23,23±19,89	14,11±17,61	2,034	0,045
Tetrasiklin	34,12±18,48	21,89±18,91	2,799	0,006
Vankomisin	2,19±11,08	0±0	1,426	0,160

* Bağımsız iki örneklem t testi

5. SONUÇLAR

Tez çalışması kapsamında;

- 18 farklı markaya ait, parti numaraları ve son kullanma tarihleri birbirinden farklı, 37 çeşit probiyotik süt ürünü (kefir, sade veya meyve katkılı yoğurt, ayran) ve 10 çeşit probiyotik gıda takviyesi (kapsül, damla veya şase formunda) temin edilmiştir. Bu bağlamda 70 adeti probiyotik süt ürünü, 10 adeti probiyotik gıda takviyesi olmak üzere toplamda 80 adet örnek analize alınmıştır. Analize alınacak probiyotik gıda ve gıda takviyeler temin edilirken, probiyotik monokültür (*Lactobacillus* spp. veya *Bifidobacterium* spp.) veya karışık probiyotik kültür (*Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp.) içeren ürünler tercih edilmiştir.
- Toplamda 65 örnekte *Lactobacillus* spp. ve/veya *Bifidobacterium* spp. bakımından canlı hücre sayımı yapılmıştır
- Toplam 15 örnekte (13 adet probiyotik süt ürünü ve 2 adet probiyotik gıda takviyesi) canlı hücre tespit edilememiştir.
- Etiketinde mono kültür *Lactobacillus* spp. probiyotik mikroorganizma olduğu belirtilen 2 adet örnekte canlı sayımı yapılırken; içeriğinde mono kültür *Bifidobacterium* spp. olduğu belirtilen probiyotik süt ürünü ve gıda takviyelerinin hiçbirinde *Bifidobacterium* spp. tespit edilememiştir.
- Probiyotik mikroorganizma içeriği ambalaj bilgisinde ‘probiyotik mikroorganizma’ olarak bildirilen 23 adet örneğin 21 adetinde hem *Lactobacillus* spp. hem de *Bifidobacterium* spp. sayımı yapılırken; üretiminde karışık kültürün birlikte kullanıldığı ve ambalaj bilgisinde probiyotik mikroorganizma içeri cins ve/veya tür düzeyinde belirtilen 42 adet ürünle yapılan sayımlarda ise; 31 örnekte sadece *Lactobacillus* spp. kültürleri sayılabilirken, *Bifidobacterium* spp. tespit edilememiştir.
- Canlı hücre sayımı yapılabilen ürünlerde, ambalaj üzerinde belirtilen canlı probiyotik kültür sayıları ile tez çalışması kapsamında yapılan canlı hücre sayımlarının 4 farklı örnekte uyumlu olmadığı, yani ambalaj bilgilerinde belirtilen canlı hücre sayısından daha düşük canlı sayısı içerdiği saptanmıştır. 61 örnekte ise

ürün ambalaj bilgileri üzerinde yer alan sayıda veya bu sayının üzerinde canlı probiyotik hücre sayımı yapılmıştır.

- 52 adet *Lactobacillus* spp. ve 28 adet *Bifidobacterium* spp. suşu 16S RNA dizi analizi ile moleküler düzeyde tanımlanmıştır.
- *Lactobacillus* spp. suşlarının %100'ü metisiline, %96,15'i vankomisine, %92,30'u sefoksitine, %40,38'i kanamisine, %38,46'sı sefazoline, %38,46'sı siprofloksasine, %36,53'ü trimetoprim, %36,53'ü norfloksasine, %25'i eritromisine, %25'i enrofloksasine, %23,07'si ampisiline, %17,30'u rifampine, %17,30'u tetrasikline, %15,38'i penisilin G'ye, %15,38'i klindamisine, %15,38'i gentamisine, %9,61'i streptomisine ve %7,69'u kloramfenikole karşı dirençlilik göstermiştir.
- *Bifidobacterium* spp. suşlarının %100'ü vankomisine, %96,42'si sefoksitine, %96,42'si metisiline, %67,85'i sefazoline, %57,14'ü kanamisine, %50'si trimetoprim, %42,85'i penisilin G'ye, %39,28'i ampisiline, %39,28'i tetrasikline, %32,14'ü streptomisine, %28,57'si klindamisine, %25'i enrofloksasine, %25'i norfloksasine, %25 eritromisine, %14,28'i siprofloksasine, %3,57'si gentamisine, %7,14'ü kloramfenikole ve %7,14'ü rifampine karşı dirençlilik göstermiştir.
- 7 ve 71 numaralı probiyotik süt ürünlerinden izole edilen ve sırasıyla *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *jonggajibkimchii* (Lb5-2) ve *Lactobacillus acidophilus* (Lb67-3) olarak tanımlanan suşlar test edilen tüm antibiyotiklere karşı dirençli bulunmuştur.
- 80 numaralı probiyotik süt ürününden izole edilen ve *Bifidobacterium longum* (Bf76-3) olarak tanımlanan suşun ise metisilin dışında test edilen tüm antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegay, Z., Tefera, G. ve Aynalem, E. 2018. Health benefits of probiotics. *Journal of Bacteriology and Infectious Diseases*, 2(1), 8-27.
- Adzitey, F. 2015. Antibiotic Classes and Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates from Selected Poultry; a mini review. *World's Veterinary Journal*, 5(3), 36-41.
- Ahmed, S., Islam, M. R., Ferdousi, J. ve Iqbal, T. S. 2017. Probiotic *Lactobacillus* sp. with bioremediation potential of toxic heavy metals. *Bangladesh Journal of Microbiology*, 34(1), 43-46.
- Ammor, M. S., Flórez, A. B., Van Hoek, A. H. A. M., de Los Reyes-Gavilán, C. G., Aarts, H. J. M., Margolles, A. ve Mayo, B. 2008. Molecular Characterization of Intrinsic and Acquired Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology and Biotechnology*, 14, 6-15.
- Angelakis, E., Million, M., Henry, M. ve Raoult, D. 2011. Rapid and accurate bacterial identification in probiotics and yoghurts by MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Food Science*, 76(8), M568-M572.
- Argyri, A. A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K. A. G., Tsakalidou, E., Nychas, G. J. E., Panagou, E. Z. Ve Tassou, C. C. 2013. Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. *Food Microbiology*, 33 (2), 282-291.
- Awasti, N., Tomar, S. K., Pophaly, S. D., Lule, V. K., Singh, T. P. ve Anand, S. 2016. Probiotic and functional characterization of bifidobacteria of Indian human origin. *Journal of applied microbiology*, 120(4), 1021-1032.
- Azad, M. A. K., Sarker, M., Li, T. ve Yin, J. 2018. Probiotic species in the modulation of gut microbiota: an overview. *Biomed Research International*, 2018, 1-8.
- Baran, W., Adamek, E., Ziemiańska, J. ve Sobczak, A. 2011. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. *Journal of Hazardous Materials*, 196, 1-15.
- Barzee, T. J., Cao, L., Pan, Z. ve Zhang, R. 2021. Fungi for future foods. *Journal of Future Foods*, 1(1), 25-37.
- Başıyigit, K. G. ve Karahan, A. G. 2010. Identification of lactic acid bacteria isolated from the fecal samples of healthy humans and patients with dyspepsia and determination of their pH, bile and antibiotic tolerance properties. *Journal of Molecular Microbiology Biotechnology*, 18, 220-229.
- Bauer, A.W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., Turk, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45; 493-496.
- Baumgardner, R. M., Berreta, A. ve Kopper, J. J. 2021. Evaluation of commercial probiotics for antimicrobial resistance genes. *The Canadian Veterinary Journal*, 62(4), 379-383.

- Belicová, A., Mikulášová, M. ve Dušinský, R. 2013. Probiotic potential and safety properties of *Lactobacillus plantarum* from Slovak Bryndza cheese. *BioMed Research International*, 2013, 1-8.
- Bilginer, H. ve Çetin, B. 2019. Probiyotikler ve Belirlenmelerinde Kullanılan in vitro Testler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi.*, 50 (3), 312-325.
- Blandino, G., Milazzo, I. ve Fazio, D. 2008. Antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products available in Italy. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 20(4), 199–203.
- Bujnakova, D., Strakova, E. ve Kmet, V. 2014. In vitro evaluation of the safety and probiotic properties of Lactobacilli isolated from chicken and calves. *Anaerobe*, 29, 118-127.
- Bunesova, V., Musilova, S., Geigerova, M., Pechar, R. ve Rada, V. 2015. Comparison of mupirocin-based media for selective enumeration of bifidobacteria in probiotic supplements. *Journal of microbiological methods*, 109, 106-109.
- Butler, M. S., Hansford, K. A., Blaskovich, M. A., Halai, R. ve Cooper, M. A. 2014. Glycopeptide antibiotics: Back to the future. *Journal of Antibiotics*, 67, 631-644.
- Cao, L., Chen, H., Wang, Q., Li, B., Hu, Y., Zhao, C., Hu, Y., ve Yin, Y. 2020. Literature-based phenotypic survey and in silico genotype investigation of antibiotic resistance in the genus *Bifidobacterium*. *Current Microbiology*, 77, 4104-4113.
- Casarotti, S. N., Carneiro, B. M., Todorov, S. D., Nero, L. A., Rahal, P. ve Penna, A. L. B. 2017. In vitro assessment of safety and probiotic potential characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from water buffalo mozzarella cheese. *Annals of Microbiology*, 67, 289-301.
- Cebeci, A. ve Gürakan, C. 2003. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology*, 20(5), 511-518.
- Cerdó, T., Ruiz, A., Suárez, A. ve Campoy, C. 2017. Probiotic, prebiotic, and brain development. *Nutrients*, 9(11), 1-19.
- Champagne, C. P., Ross, R.P., Saarela, M., Hansen, K. F. ve Charalampopoulos, D. 2011. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices, *International Journal of Food Microbiology*, 149, 185–193.
- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L. ve Collins, J. K. 2001. Gradient diffusion antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic lactobacilli. *Journal of Food Protection*, 64(12), 2007-2014.
- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L. ve Collins J. K. 1998. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *Journal of Food Protection*, 61(12), 1636-1643.
- Chiang, S. S. ve Pan, T. M. 2012. Beneficial effects of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 and its fermented products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93, 903-916.

- CLSI. 2003. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test; 8th ed., Approved Standard M2-A8., CLSI, Wayne, PA, USA.
- Cutting, S. M. 2011. *Bacillus* probiotics. Food Microbiology, 28(2), 214-220.
- Daghrir, R. ve Drogui, P. 2013. Tetracycline antibiotics in the environment: a review. Environmental Chemistry Letters, 11, 209-227.
- Das, D. J., Shankar, A., Johnson, J. B. ve Thomas, S. 2020. Critical insights into antibiotic resistance transferability in probiotic *Lactobacillus*. Nutrition, 69, 1-6.
- de Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Júnior, A. I. M., Thomaz-Soccol, V. ve Soccol, C. R. 2018. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. Biotechnology Advances, 36(8), 2060-2076.
- Diekema, D. J. ve Jones, R. N. 2001. Oxazolidinone antibiotics. The Lancet, 358(9297), 1975-1982.
- Drago, L., Mattina, R., De Vecchi, E. ve Toscano, M. 2013. Phenotypic and genotypic antibiotic resistance in some probiotics proposed for medical use. International Journal of Antimicrobial Agents, 41(4), 396-397.
- Drago, L., Rodighiero, V., Celeste, T., Rovetto, L. ve De Vecchi, E. 2010. Microbiological evaluation of commercial probiotic products available in the USA in 2009. Journal of Chemotherapy, 22(6), 373-377.
- Egervärn, M., Lindmark, H., Olsson, J. ve Roos, S. 2010. Transferability of a tetracycline resistance gene from probiotic *Lactobacillus reuteri* to bacteria in the gastrointestinal tract of humans. Antonie Van Leeuwenhoek, 97, 189–200.
- Etebu, E. ve Arikekpar, I. 2016. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research, 4, 90-101.
- Evivie, S. E., Huo, G. C., Igene, J. O. Ve Bian, X. 2017. Some current applications, limitations and future perspectives of lactic acid bacteria as probiotics. Food & Nutrition Research, 61(1), 1-16.
- Ezema, C. 2013. Probiotics in animal production: A review. Journal of Veterinary Medicine and Animal Health, 5(11), 308-316.
- FAO/WHO. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. 1-33, Cordoba, Argentina.
- FAO/WHO. 2002. Food and Agriculture Organization – World Health Organization. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. 37-50, London, Ontario, Canada.
- Fatahi-Bafghi, M., Naseri, S. ve Alizehi, A. 2022. Genome analysis of probiotic bacteria for antibiotic resistance genes. Antonie Van Leeuwenhoek. 115, 375-389.

- Fraqueza, M. J. 2015. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dry-fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 212, 76-88.
- Fredua-Agyeman, M., Parab, S., ve Gaisford, S. 2016. Evaluation of commercial probiotic products. *British Journal of Pharmacy*, 1(1), 84-89.
- Frieri, M., Kumar, K. ve Boutin, A. 2017. Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*, 10(4), 369-378.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66(5), 365-78.
- García-Galán M. J., Díaz-Cruz, M. S. ve Barceló, D. 2008. Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics. *Trends in Analytical Chemistry*, 27(11), 1008-1022.
- Georgieva, R., Yocheva, L., Tserovska, L., Zhelezova, G., Stefanova, N., Atanasova, A., Danguleva, A., Ivanova, G., Karapetkov, N., Rumyan, N. ve Karaivanova, E. 2015. Antimicrobial activity and antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. intended for use as starter and probiotic cultures. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(1), 84-91.
- Goldstein, E. J., Citron, D. M., Claros, M. C. ve Tyrrell, K. L. 2014. Bacterial counts from five over-the-counter probiotics: are you getting what you paid for? *Anaerobe*, 25, 1-4.
- Gopal, P. K. 2022. Probiotics: Application of Probiotics in Dairy Products: Established and Potential Benefits. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 4, 359-368.
- Gowri, R. S., Meenambigai, P., Prabhavathi, P., Rajeswari, P.R. ve Yesudoss, A. 2016. Probiotics and its Effects on Human Health-A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(4), 384-392.
- Gueimonde, M., Delgado, S., Mayo, B., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., ve de los Reyes-Gavilán, C. G. 2004. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. *Food Research International*, 37(9), 839-850.
- Gueimonde, M., Flórez, A. B., van Hoek, A. H., Stuer-Lauridsen, B., Strøman, P., de los Reyes-Gavilán, C. G. ve Margolles, A. 2010. Genetic basis of tetracycline resistance in *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(10), 3364-3369.
- Gueimonde, M., Sánchez, B., de los Reyes, C. G. ve Margolles, G. A. 2013. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 4(202), 1-6.
- Gunyakti, A. ve Asan-Ozusaglam, M. 2019. *Lactobacillus gasseri* from human milk with probiotic potential and some technological properties. *LWT-Food Science and Technology*, 109, 261-269.
- Hammad, A. M. ve Shimamoto, T. 2010. Towards a compatible probiotic-antibiotic combination therapy: assessment of antimicrobial resistance in the Japanese probiotics. *Journal of Applied Microbiology*, 109(4), 1349-1360.

- Han, J., Chen, D., Li, S., Li, X., Zhou, W. W., Zhang, B. ve Jia, Y. 2015. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. Italian Journal of Food Science, 27(3), 282-289.
- Hanchi, H., Mottawea, W., Sebei, K. ve Hammami, R. 2018. The genus *Enterococcus*: between probiotic potential and safety concerns—an update. Frontiers in Microbiology, 9, 1791.
- Havenaar, R. ve Huis in't Veld, J. H. J. 1992. Probiotics: A general view. In: The Lactic Acid Bacteria. The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease, Elsevier Applied Science, 151–170.
- Hoque, M. Z., Akter, F., Hossain, K. M., Rahman, M. S. M., Billah, M. M. ve Islam, K. M. D. 2010. Isolation, identification and analysis of probiotic properties of *Lactobacillus* spp. from selective regional yoghurts. World Journal of Dairy & Food Sciences, 5(1), 39-46.
- Huddleston, J. R. 2014. Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: potential spread of antibiotic resistance genes. Infection and Drug Resistance, 7, 167-176.
- Huys, G., Botteldoorn, N., Delvigne, F., De Vuyst, L., Heyndrickx, M., Pot, B., Dubois, J. J. ve Daube, G. 2013. Microbial characterization of probiotics—Advisory report of the Working Group “8651 Probiotics” of the Belgian Superior Health Council (SHC). Molecular Nutrition & Food Research, 57, 1479-1504.
- Hütt, P., Lapp, E., Štšepetova, J., Smidt, I., Taelma, H., Borovkova, N., Oopkaup, H., Ahelik, A., Rööp, T., Hoidmets, D., Samuel, K., Salumets, A. ve Mändar, R. 2016. Characterisation of probiotic properties in human vaginal lactobacilli strains. Microbial Ecology in Health and Disease, 27(1), 1-9.
- Imperial, I. C. V. J. ve Ibana, J. A. 2016. Addressing the antibiotic resistance problem with probiotics: Reducing the risk of its double-edged sword effect. Frontiers in Microbiology, 7, 1-10.
- Jeong, J. J., Park, H. J., Cha, M. G., Park, E., Won, S. M., Ganesan, R., Gupta, H., Gebru, Y. A., Sharma, S. P., Lee, S. B., Kwon, G. H., Jeong, M. K., Min, B. H., Hyun, J. Y., Eom, J. A., Yoon, S. J., Choi, M. R., Kim, D. J. ve Suk, K. T. 2022. The *Lactobacillus* as a probiotic: focusing on liver diseases. Microorganisms, 10, 1-20.
- Jha, R., Das, R., Oak, S. ve Mishra, P. 2020. Probiotics (direct-fed microbials) in poultry nutrition and their effects on nutrient utilization, growth and laying performance, and gut health: a systematic review. Animals, 10(10), 1-18.
- Joshi, V. S. ve Thorat, B. T. 2011. Formulation and cost-effective drying of probiotic yeast. Drying Technology, 29(7), 749-757.
- Kanfer, I., Skinner, M. F. ve Walker, R. B. 1998. Analysis of macrolide antibiotics. Journal of Chromatography A, 812(1-2), 255-286.
- Karasu, N., Şimşek, Ö. ve Çon, A. H. 2010. Technological and probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditionally produced fermented vegetables. Annals of Microbiology, 60, 227-234.

- Kastner, S., Perreten, V., Bleuler, H., Hugenschmidt, G., Lacroix, C. ve Meile, L. 2006. Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food. *Systematic and applied microbiology*, 29(2), 145-155.
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N. ve Fakiri, E. M. 2013. Health Benefits of Probiotics: A Review. *ISRN Nutrition*, 2013,1-7.
- Kelesidis, T. ve Pothoulakis, C. 2012. Efficacy and safety of the probiotic *Saccharomyces boulardii* for the prevention and therapy of gastrointestinal disorders. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 5(2), 111–125.
- Khaneghah, A. M., Abhari, K., Eş, I., Soares, M.B., Oliveira, R. B. A., Hosseini, H., Rezaei, M., Balthazar, C. F., Silva, R., Cruz, A. G., Ranadheera, C. S. ve Sant'Ana, A. S. 2020. Interactions between probiotics and pathogenic microorganisms in hosts and foods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 95, 205–218.
- Kim, H., Kim, J. S., Kim, Y., Jeong, Y., Kim, J. E., Paek, N. S. ve Kang, C. H. 2020. Antioxidant and probiotic properties of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* of human origins. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 25, 421-430.
- Kim, M. J., Ku, S., Kim, S. Y., Lee, H. H., Jin, H., Kang, S., Li, R., Johnston, T. V., Park, M. S. ve Ji, G. E. 2018. Safety evaluations of *Bifidobacterium bifidum* BGN4 and *Bifidobacterium longum* BORI. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1-22.
- Kiwaki, M. ve Sato, T. 2009. Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium breve* strains and genetic analysis of streptomycin resistance of probiotic *B. breve* strain Yakult. *International Journal of Food Microbiology*, 134(3), 211-215.
- Klare, I., Konstabel, C., Werner, G., Huys, G., Vankerckhoven, V., Kahlmeter, G., Hildebrandt, B., Müller-Bertling, S., Witte, W. Ve Goossens, H. 2007. Antimicrobial susceptibilities of *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus* human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59(5), 900-912.
- Koçak, Y. ve Çiftçi, A. 2020. Tavuk Kökenli *Enterococcus faecium* ve *Lactobacillus* Türlerinin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 5(3), 356-365.
- Koh, W. Y., Utra, U., Ahmad, R., Rather, I. A. ve Park, Y. H. 2018. Evaluation of probiotic potential and anti-hyperglycemic properties of a novel *Lactobacillus* strain isolated from water kefir grains. *Food science and biotechnology*, 27(5), 1369-1376.
- Korona-Glowniak, I., Siwiec, R., Luszczewska-Sierakowska, I., Maciejewski, R., Wrobel, R. ve Malm, A. 2019. Microbiological evaluation of 10 commercial probiotic products available in Poland. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 32, 121-124.
- Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R. ve Connolly, L. E. 2016. Aminoglycosides: an overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6, 1-18.

- Ku, S., Yang, S., Lee, H. H., Choe, D., Johnston, T. V., Ji, G. E. ve Park, M. S. 2020. Biosafety assessment of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* AD011 used for human consumption as a probiotic microorganism. *Food Control*, 117, 1-9.
- Kumari, M., Patel, H. K., Kokkiligadda, A., Bhushan, B. ve Tomar, S. K. 2022. Characterization of probiotic lactobacilli and development of fermented soy milk with improved technological properties. *LWT-Food Science and Technology*, 154, 1-9.
- Lee, K. W., Lee, S. K. ve Lee, B. D. 2006. *Aspergillus oryzae* as probiotic in poultry-A review. *International Journal of Poultry Science*, 5(1), 1-3.
- Lee, S. J., Bose, S., Seo, J. G., Chung, W. S., Lim, C. Y. ve Kim, H. 2014. The effects of co-administration of probiotics with herbal medicine on obesity, metabolic endotoxemia and dysbiosis: a randomized double-blind controlled clinical trial. *Clinical Nutrition*, 33(6), 973-981.
- Leite, A. M., Miguel, M. A. L., Peixoto, R. S., Ruas-Madiedo, P., Paschoalin, V. M. F., Mayo, B. ve Delgado, S. 2015. Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 98(6), 3622-3632.
- Lewis, Z. T., Shani, G., Masarweh, C. F., Popovic, M., Frese, S. A., Sela, D. A., Underwood, M. A. ve Mills, D. A. 2016. Validating bifidobacterial species and subspecies identity in commercial probiotic products. *Pediatric Research*, 79(3), 445-452.
- Li, T., Teng, D., Mao, R., Hao, Y., Wang, X. ve Wang, J. 2020. A critical review of antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Food Research International*, 136, 1-16.
- Lilly, D. M. ve Stillwell, R. H. 1965. Probiotics: Growth-promoting factors produced by microorganisms, *Science*, 147, 747-748.
- Lu, H., Zhao, W., Liu, W. H., Sun, T., Lou, H., Wei, T., Hung, W. L. ve Chen, Q. 2021. Safety Evaluation of *Bifidobacterium lactis* BL-99 and *Lacticaseibacillus paracasei* K56 and ET-22 *in vitro* and *in vivo*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 686541.
- Lucatto, J. N., Silva-Buzanello, R. A., Mendonça, S. N. T. G., Lazarotto, T. C., Sanchez, J. L., Bona, E. ve Drunkler, D. A. 2020. Performance of different microbial cultures in potentially probiotic and prebiotic yoghurts from cow and goat milks. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 144-156.
- Mantzourani, I., Chondrou, P., Bontsidis, C., Karolidou, K., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtoglou, E., Galanis, A. ve Plessas, S. 2019. Assessment of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from kefir grains: Evaluation of adhesion and antiproliferative properties in *in vitro* experimental systems. *Annals of Microbiology*, 69, 751-763.
- Marcó, M. B., Zacarías, M. F., Vinderola, G., Reinheimer, J. A. ve Quiberoni, A. 2014. Biological and probiotic characterisation of spontaneous phage-resistant mutants of *Lactobacillus plantarum*. *International Dairy Journal*, 39(1), 64-70.

- Marinova, V. Y., Rasheva, I. K., Kizheva, Y. K., Dermenzhieva, Y. D. ve Hristova, P. K. 2019. Microbiological quality of probiotic dietary supplements. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 33(1), 834–841.
- Martinez, R. C. R., Bedani, R. ve Saad, S. M. I. 2015. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. *British Journal of Nutrition*, 114, 1993–2015.
- Masco, L., Van Hoorde, K., De Brandt, E., Swings, J. ve Huys, G. 2006. Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium* strains from humans, animals and probiotic products. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(1), 85-94.
- Masiá, C., Geppel, A., Buldo, P. ve Jensen, P. E. 2021. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on Physicochemical Properties of Fermented Plant-Based Raw Materials. *Foods*, 10, 573.
- Mater, D.D. G., Langella P, Corthier G ve Flores, M. J. 2008. A Probiotic *Lactobacillus* strain can acquire vancomycin resistance during digestive transit in mice. *Journal of Molecular Microbiology Biotechnology*, 4, 123–127.
- Mättö, J., van Hoek, A. H., Domig, K. J., Saarela, M., Floréz, A. B., Brockmann, E., Amtmann E., Mayo, B., Aarts H. J. M. ve Danielsen, M. 2007. Susceptibility of human and probiotic *Bifidobacterium* spp. to selected antibiotics as determined by the Etest method. *International Dairy Journal*, 17(9), 1123-1131.
- Mayrhofer, S., Mair, C., Kneifel, W. Ve Domig, K. J. 2011. Susceptibility of bifidobacteria of animal origin to selected antimicrobial agents. *Chemotherapy Research and Practice*, 1-6.
- Meral, H. ve Korukluoğlu, M. 2014. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 71-82.
- Messaoudi, M., Violle, N., Bisson, J. F., Desor, D., Javelot, H. Ve Rougeot, C. 2011. Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. *Gut Microbes*, 2(4), 256-261.
- Moreno, Y., Collado, M. C., Ferrús, M. A., Cobo, J. M., Hernández, E., ve Hernández, M. 2006. Viability assessment of lactic acid bacteria in commercial dairy products stored at 4 C using LIVE/DEAD® Bac Light TM staining and conventional plate counts. *International journal of food science & technology*, 41(3), 275-280.
- Morovic, W., Hibberd, A. A., Zabel, B., Barrangou, R. ve Stahl, B. 2016. Genotyping by PCR and high-throughput sequencing of commercial probiotic products reveals composition biases. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1-11.
- Moubareck, C., Gavini, F., Vaugien, L., Butel, M. J. ve Doucet-Populaire, F. 2005. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55, 38-44.
- Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., Moore, J. E., Millar, B. C. ve Xu, J. 2011. Characterization and Transfer of Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria from Fermented Food Products. *Current Microbiology*, 62, 1081-1089.

- Oak, S. J. ve Jha, R. 2019. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(11), 1675-1683.
- Özdemir, A. ve Demirel, Z. B. 2017. Beslenme ve Mikrobiyota İlişkisi. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Reserach*, 1, 25-33.
- Parker, R. B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story, *Animal Nutrition Health*, 29, 4-8.
- Pham, T. D., Ziora, Z. M. ve Blaskovich, M. A. 2019. Quinolone antibiotics. *Medchemcomm*, 10(10), 1719-1739.
- Pinto, M. G. V., Franz, C. M., Schillinger, U. ve Holzapfel, W. H. 2006. *Lactobacillus* pp. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *International Journal of Food Microbiology*, 109(3), 205-214.
- Pithva, S., Shekh, S., Dave, J. ve Vyas, B. R. M. 2014. Probiotic attributes of autochthonous *Lactobacillus rhamnosus* strains of human origin. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173(1), 259-277.
- Pootoolal, J., Neu, J. ve Wright, G. D. 2002. Glycopeptide antibiotic resistance. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 42(1), 381-408.
- Purutoğlu, K., İspirli, H., Yüzer, M. O., Serencam, H. ve Dertli, E. 2020. Diversity and functional characteristics of lactic acid bacteria from traditional kefir grains. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 57-66.
- Raeisi, S. N., Ghoddusi, H. B., Boll, E. J., Farahmand, N., Stuer-Lauridsen, B., Johansen, E., Sutherland, J. P. ve Ouoba, L. I. I. 2018. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria from probiotic milk products and determination of the genetic basis of tetracycline resistance in *Enterococcus* species after in vitro conjugation with *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. *Food Control*, 94, 205-211.
- Rosales-Hartshorn, M. U. 2015. Probiotic cultures as functional foods. *Advances in Food Technology and Nutritional Sciences*, 1(6), 124-129.
- Rozman, V., Lorbeg, P. M., Accetto, T. ve Matijašić, B. B. 2020. Characterization of antimicrobial resistance in lactobacilli and bifidobacteria used as probiotics or starter cultures based on integration of phenotypic and in silico data. *International Journal of Food Microbiology*, 314, 1-11.
- Russell, D. A., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. ve Stanton, C. 2011. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 149(1), 88-105.
- Saadat, Y. R., Khosroushahi, A. Y., Movassaghpour, A. A., Talebi, M. ve Gargari, B. P. 2020. Modulatory role of exopolysaccharides of *Kluyveromyces marxianus* and *Pichia kudriavzevii* as probiotic yeasts from dairy products in human colon cancer cells. *Journal of Functional Foods*, 64, 103675.
- Sanders, M. E., Akkermans, L. M., Haller, D., Hammerman, C., Heimbach, J., Hörmannspurger, G., Huys, G., Levy, D. D., Lutgendorff, F., Mack, D., Phothirath, P., Solano-Aguilar, G. ve Vaughan, E. 2010. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes*, 1(3), 164-185.

- Sen, S. ve Mansel, T. J. 2020. Yeasts as probiotics: Mechanisms, outcomes, and future potential. *Fungal Genetics and Biology*, 137, 1-8.
- Shanahan, F. 2012. A Commentary on the safety of probiotics. *Gastroenterology Clinics of North America*. 41(4), 869–876.
- Sharma, P., Tomar, S. K., Goswami, P., Sangwan, V., Singh, R. 2014. Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Research International*, 57, 176–195.
- Sharma, P., Tomar, S. K., Sangwan, V., Goswami, P. ve Singh, R. 2016. Antibiotic resistance of *Lactobacillus* sp. isolated from commercial probiotic preparations. *Journal of Food Safety*, 36(1), 38–51.
- Shruthi, B., Deepa, N., Somashekaraiah, R., Adithi, G., Divyashree, S. ve Sreenivasa, M.Y. 2022. Exploring biotechnological and functional characteristics of probiotic yeasts: A review. *Biotechnology Reports*, 34, 1-11.
- Soccol, C., Prado, M., Garcia, L., Rodrigues, C., Medeiros, A. ve Soccol, V. 2014. Current Developments in Probiotics. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 7(1), 11-20.
- Souza, H. F. D., Carosia, M. F., Pinheiro, C., Carvalho, M. V. D., Oliveira, C. A. F. D. ve Kamimura, E. S. 2021. On probiotic yeasts in food development: *Saccharomyces boulardii*, a trend. *Food Science and Technology*, 42, 1-7.
- Syromyatnikov, M., Nesterova, E., Gladkikh, M. ve Popov, V. 2022. Probiotics analysis by high-throughput sequencing revealed multiple mismatches at bacteria genus level with the declared and actual composition. *LWT-Food Science and Technology*, 156, 1-8.
- Talib, N., Mohamad, N. E., Yeap, S. K., Hussin, Y., Aziz, M. N. M., Masarudin, M. J., Sharifuddin. S. A., Hui, Y. W., Ho, C. L. ve Alitheen, N. B. 2019. Isolation and characterization of *Lactobacillus* spp. from kefir samples in Malaysia. *Molecules*, 24, 1-18.
- Temiz, A. 2000. Gıdalarda İndikatör Mikroorganizmalar. Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, İzmir.
- TGK, 2006. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinin Genel Etiketleme Ve Beslenme Yönünden Etiketleme Kuralları Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ, Tebliğ No: (2006/34), Yayınlandığı Resmi Gazete: Resmi Gazete: 07.07.2006-26221.
- Todorov, S., Onno, B., Sorokine, O., Chobert, J. M., Ivanova, I. ve Dousset, X. 1999. Detection and characterization of a novel antibacterial substance produced by *Lactobacillus plantarum* ST 31 isolated from sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 48, 167-177.
- Toomey, N., Bolton, D. ve Fanning, S. 2010. Characterisation and transferability of antibiotic resistance genes from lactic acid bacteria isolated from Irish pork and beef abattoirs. *Research in Microbiology*, 161(2), 127-135.
- Tsai, Y. L., Lin, T. L., Chang, C. J., Wu, T. R., Lai, W. F., Lu, C. C. ve Lai, H. C. 2019. Probiotics, prebiotics and amelioration of diseases. *Journal of Biomedical Science*, 26(3), 1-8.

- Ullah, M., Raza, A., Ye, L. ve Yu, Z. 2019. Viability and composition validation of commercial probiotic products by selective culturing combined with next-generation sequencing. *Microorganisms*, 7, 1-14.
- Ünal Turhan, E. ve Enginkaya, Z. 2016. Probiyotik gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 22(7), 620-627.
- Varankovich, N. V., Nickerson, M. T. ve Korber, D. R. 2015. Probiotic-based strategies for the therapeutic and prophylactic use against multiple gastrointestinal diseases. *Frontiers in Microbiology*, 6 (685), 1-14.
- Vecchione, A., Celandroni, F., Mazzantini, D., Senesi, S., Lupetti, A. ve Ghelardi, E. 2018. Compositional quality and potential gastrointestinal behavior of probiotic products commercialized in Italy. *Frontiers in Medicine*, 5, 1-9.
- Vinderola, G., Jorge Reinheimer, J. ve Salminen, S. 2019. The enumeration of probiotic issues: From unavailable standardised culture methods to a recommended procedure? *International Dairy Journal* 96, 58-65.
- Vohra, A., Syal, P. ve Madan, A. 2016. Probiotic yeasts in livestock sector. *Animal Feed Science and Technology*, 219, 31-47.
- Wang, X., Cui, Y., Sang, C., Wang, B., Yuan, Y., Liu, L., Yahong, Y. ve Yue, T. 2022a. Fungi with potential probiotic properties isolated from Fuzhuan brick tea. *Food Science and Human Wellness*, 11(3), 686-696.
- Wang, Y., Dong, J., Wang, J., Chi, W., Zhou, W., Tian, Q., Hong, Y., Zhou, X., Ye, H., Tian, X., Hu, R. ve Wong, A. 2022b. Assessing the drug resistance profiles of oral probiotic lozenges. *Journal of Oral Microbiology*, 14(1), 2019992.
- Wang, Z., Chai, W., Burwinkel, M., Twardziok, S., Wrede, P., Palissa, C., Esch, B. ve Schmidt, M. F. G. 2013. Inhibitory influence of *Enterococcus faecium* on the propagation of swine influenza A virus in vitro. *PloSONE*, 8, 1-8.
- Watkins, R. R. ve Bonomo, R. A. 2017. β -Lactam antibiotics. In: *Infectious diseases*. Cohen, J., Powderly, W. G. ve Opal, S. M. (eds), *Infectious diseases*, 1203-1216, Elsevier. ISBN: 9780702062858
- Weese, J. S. ve Martin, H. 2011. Assessment of commercial probiotic bacterial contents and label accuracy. *The Canadian veterinary journal*, 52(1), 43-46.
- Wei, Y. X., Zhang, Z. Y., Liu, C., Malakar, P. K., Guo, X. K. 2012. Safety assessment of *Bifidobacterium longum* JDM301 based on complete genome sequences. *World Journal of Gastroenterology*, 18 (5), 479-488.
- Wong, A., Ngu, D. Y., Dan, L. A., Ooi, A. ve Lim, R. L. 2015. Detection of antibiotic resistance in probiotics of dietary supplements. *Nutrition Journal*, 14(95), 1-6.
- Xiao, J. Z., Takahashi, S., Odamaki, T., Yaeshima, T. ve Iwatsuki, K. 2010. Antibiotic susceptibility of bifidobacterial strains distributed in the Japanese market. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74(2), 336-342.
- Xu, F., Wang, J., Guo, Y., Fu, P., Zeng, H., Li, Z., Pei, X., Liu, X. Wang, S. 2018. Antibiotic resistance, biochemical typing, and PFGE typing of *Bifidobacterium*

strains commonly used in probiotic health foods. Food Science and Biotechnology, 27(2), 467-477.

- Yasmin, I., Saeed, M., Khan, W. A., Khaliq, A., Chughtai, M. F. J., Iqbal, R., Tehseen, S., Naz, S., Liaqat, A., Mehmood, T., Ahsan, S. ve Tanweer, S. 2020. In vitro probiotic potential and safety evaluation (Hemolytic, cytotoxic activity) of *Bifidobacterium* strains isolated from raw camel milk. Microorganisms, 8, 1-21.
- Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suárez, V., Vinderola, G., Reinheimer, J. ve Giraffa, G. 2011. Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. Food Microbiology, 28(5), 1033-1040.
- Zheng, M., Zhang, R., Tian, X., Zhou, X., Pan, X. ve Wong, A. 2017. Assessing the Risk of Probiotic Dietary Supplements in the Context of Antibiotic Resistance. Probiotics and its Effects on Human Health-A Review. Frontiers in Microbiology, 8(908), 1-8.
- Zhou, J. S., Pillidge, C. J., Gopal, P. K. ve Gill, H. S. 2005. Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. International Journal of Food Microbiology, 98(2), 211-217.
- Zuo, F., Yu, R., Feng, X., Chen, L., Zeng, Z., Khaskheli, G. B., Ma, H. ve Chen, S. 2016. Characterization and in vitro properties of potential probiotic *Bifidobacterium* strains isolated from breast-fed infant feces. Annals of Microbiology, 66(3), 1027-1037.