

**FARKLI BÖLGESEL SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN, BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ VE BAZI GIDA
KAYNAKLI PATOJENLER ÜZERİNDEKİ
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İlknur GÜNEY

Danışman

Doç. Dr. Gökhan AKARCA

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Ocak 2023

Bu tez çalışması 19.FEN.BİL.13 numaralı proje ile BAPK tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FARKLI BÖLGESEL SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN, BİYOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİ VE BAZI GIDA KAYNAKLI PATOJENLER
ÜZERİNDEKİ
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

İlknur GÜNEY

Danışman

Doç. Dr. Gökhan AKARCA

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Ocak 2023

TEZ ONAY SAYFASI

İlknur GÜNEY tarafından hazırlanan “Farklı Bölgesel Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin, Biyokimyasal Özellikleri ve Bazı Gıda Kaynaklı Patojenleri Üzerindeki Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 13 / 01 / 2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Gökhan AKARCA

Başkan : Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Gökhan AKARCA
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Özge ÖZCAN
Kırklareli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Meslek Yüksekokulu

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
..... /..... /..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. İbrahim EROL

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI
Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

13 / 01 / 2023

İlknur GÜNEY

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI BÖLGESEL SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN, BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ VE BAZI GIDA KAYNAKLI PATOJENLER ÜZERİNDEKİ ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

İlknur Güney

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Gökhan AKARCA

Üretim esnasında gıdalar, farklı sebeplere bağlı olarak patojen mikroorganizmalar aracılığıyla kontamine olmakta ve dolayısıyla gıdalarda bozulma süreci hızlanmaktadır. Bu gıdalar tüketildiği takdirde gıda kaynaklı bazı hastalıklara sebep olmaktadır. Gıdaların bu kontaminasyondan korunması amacıyla, fiziksel ve kimyasal metotlar kullanılmaktadır. Bunlar arasında, genellikle kimyasal koruyucular kullanılmasına rağmen, tüketici tarafından olumsuz düşünceler ve ön yargılar olduğu için, güvenilir koruyucular daha fazla önem arz etmektedir.

Bu araştırmada, güvenilir koruyucu arayışında, günlük hayatımızda tükettiğimiz süt ve süt ürünlerinden (peynir, yoğurt, tereyağı) izole edilen laktik asit bakterilerinin ürettikleri organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi bileşiklerin, patojen mikroorganizmalar ve antibiyotikler üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Araştırmamızda Afyonkarahisar ili ve çevresindeki köylerde geleneksel olarak üretilen süt ürünlerinden; 30 farklı yoğurt, peynir ve tereyağı örnekleri alınmıştır. Alınan numunelerden yapılan izolasyon işlemleri sonucunda, 20 farklı laktik asit bakterisi izole edilmiş olup, izolatlar API 50 CHL ve API 20 STREP test kitleri ile doğrulanmıştır.

Tanımlanan 20 farklı laktik asit bakterisi %100 oranında gram pozitif, %100 oranında

katalaz negatif, %95 oranında; %4 tuz içeren ortamda gelişebilme, %90 oranında; %6 tuz içeren ortamda gelişebilme, %40 oranında; %8 tuz içeren ortamda gelişebilme, %35 oranında; %10 tuz içeren ortamda gelişebilme kabiliyetleri tespit edilmiştir. Ayrıca %65 oranında; 4,8 pH içeren ortamda gelişebilme, %75 oranında; 6,5 pH içeren ortamda gelişebilme, %45 oranında; 9,8 pH içeren ortamda gelişebilme kabiliyetleri de tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak, %60 oranında; 10°C’de gelişirken, %100 oranında; 37°C’de, %55 oranında ise 45°C’de geliştiği tespit edilmiştir.

Çalışmamızda izole edilen laktik asit bakterilerinin, lipolitik aktivitesi, Blue Agar ortamında yapılan analizlerde %80 oranında tespit edilmişken, 20/80 MRS Agar ortamında yapılan analizlerde %60 oranında tespit edilmiştir. Proteolitik aktivitesi, KK Agar ortamında %40 oranında tespit edilirken, jelatin içeren MRS agar ortamında %5 oranında tespit edilmiştir. Nitrat redüktaz aktivitesi ise %55 oranında tespit edilmiştir.

İzole edilen 20 farklı laktik asit bakterisinin, 10 farklı patojen bakteri üzerindeki antibakteriyel etkisi ve 11 farklı antibiyotik üzerindeki antibiyotik direnci tespit edilmiştir. En yüksek antimikrobiyal etki; 16,12 mm zon çapı ile *Salmonella Typhimurium*’a karşı, *Pediococcus acidilactici* örneğinde tespit edilmiştir.

2023, x + 71 sayfa

Anahtar Kelimeler: Laktik asit bakterisi, *Salmonella Typhimurium*, *Streptococcus kefir*, Penicillin, İzolasyon.

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF THE BIOCHEMICAL PROPERTIES AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM DIFFERENT REGIONAL DAIRY PRODUCTS ON SOME FOODBORNE PATHOGENS

İlknur GÜNEY

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Doç. Dr. Gökhan AKARCA

During production, foods are contaminated by pathogenic microorganisms due to different reasons, and thus the deterioration process in foods is accelerated. If these foods are consumed, they cause some food-borne diseases. Physical and chemical methods are used to protect foods from this contamination. Among these, although chemical preservatives are generally used, reliable preservatives are more important because there are negative thoughts and prejudices by the consumer.

In this study, the effect of compounds such as organic acids, hydrogen peroxide and bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from milk and dairy products (cheese, yoghurt, butter) that we consume in our daily lives on pathogenic microorganisms and antibiotics were investigated in the search for reliable preservatives.

In our research, traditionally produced dairy products in Afyonkarahisar province and its surrounding villages; 30 different yoghurt, cheese and butter samples were taken. As a result of the isolation procedures made from the samples taken, 20 different lactic acid bacteria were isolated and the isolate was confirmed with API 50 CHL and API 20 STREP test kits.

The 20 different lactic acid bacteria identified were 100% gram positive, 100% catalase

negative, %95; Developing in an environment containing %4 salt, %90; Developing in an environment containing %6 salt, %40; Developing in an environment containing %8 salt, at a rate of %35; Their ability to grow in an environment containing %10 salt has been determined. In addition, at the rate of %65; Developing in an environment containing 4,8 pH, %75; Developing in an environment containing 6,5 pH, at a rate of 45%; Their ability to grow in an environment containing 9,8 pH has also been determined. In addition to these, at the rate of %60; While developing at 10°C, %100; It was determined that it developed at 37°C and %55 at 45°C.

While the lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated in our study was %80 in the analyzes performed in Blue Agar medium, it was detected in %60 in the analyzes performed in 20/80 MRS Agar medium. While its proteolytic activity was detected at a rate of %40 in KK Agar medium, it was detected at a rate of %5 in MRS agar medium containing gelatin. Nitrate reductase activity was found to be %55.

The antibacterial effect of isolated 20 different lactic acid bacteria on 10 different pathogenic bacteria and antibiotic resistance on 11 different antibiotics were determined. The highest antimicrobial effect; It was detected in *Pediococcus acidilactici* specimen against *Salmonella Typhimurium* with a zone diameter of 16,12 mm.

2023, x + 71 pages

Keywords: Lactic acid bacteria, *Salmonella Typhimurium*, *Streptococcus kefir*, Penicillin, Isolation.

TEŞEKKÜR

Annem Candan GÜNEY abim İlker GÜNEY her aşamada her zorlukta destek olduğunuz için size minnettarım. Canım babam Yunus GÜNEY ve canım dedem Karani GÜNEY her zaman kalbimdesiniz. Araştırmanın konu araştırması aşamasından deneysel çalışma aşamasında, sonuçların değerlendirilmesi ve tez yazımı esnasında yapmış olduğu büyük katkılarından dolayı tez danışmanım ve yol gösteren hocam Sayın Doç. Dr. Gökhan AKARCA ‘ya çok teşekkür ederim. Araştırmam esnasında gerekli ekipmanlar ve diğer konularda desteklerini esirgemeyen hocam Dr. Öğr. Üyesi Recep KARA’ya teşekkürü müteşekkürüm. Araştırma ve yazım süresince yardımlarını esirgemeyen dostlarım ve meslekdaşlarım Sayın Sena ERDUR ve Fatma BAYTAL’a her konuda öneri ve eleştirileriyle yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim. Yorulduğumda yetişemediğimde bana nefes aldırın Cansel AYDIN’a da ayrıca teşekkürü borç bilirim.

Bu tez çalışması Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAPK) tarafından 19.FEN.BİL.13 nolu proje olarak desteklenmiştir. Kuruma teşekkürü borç bilirim.

İlknur GÜNEY
Afyonkarahisar, 2023

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	2
2.1 Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri	2
2.1.1 Laktik Asit Bakteri Tanımı	2
2.1.2 Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması.....	3
2.1.3 Süt Teknolojisi Açısından Önemli Bazı Laktik Asit Bakteri Türleri.....	5
2.1.3.1 Lactococcus	5
2.1.3.2 Leuconostoc.....	5
2.1.3.3 Streptococcus.....	6
2.1.3.4 Lactobacillus	8
2.1.3.5 Pediococcus	10
2.1.3.6 Bifidobacterium.....	11
2.1.4 Laktik Asit Bakterileri Kullanım Alanları	12
2.2 Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Antimikrobiyal Bileşikler	12
2.2.1 Organik Asit, Asetaldehit, Etanol	13
2.2.2 Hidrojen Peroksit	14
2.2.3 Karbondioksit.....	15
2.2.4 Diasetil	15
2.2.5 Bakteriyosinler	16
2.3 LAB Tarafından Üretilen Bakteriyosinlerin Gıda Endüstrisinde Kullanımı	18
2.4 Gıda Sanayisi Açısından Önemli Bazı Patojen Bakteriler.....	19
2.4.1 Salmonella.....	19
2.4.2 Esherichia coli	21
2.4.3 Listeria.....	24
2.4.4 Bacillus cereus	25

2.4.5 Staphylococcus aureus	26
2.5 Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotik Dirençlilik Mekanizması.....	28
2.6 Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Mekanizması	29
3. MATERYAL ve METOT	30
3.1 Materyal	30
3.1.1 Laktik Asit İzolasyon ve İdentifikasyonu	30
3.1.1.1 Laktik Asit Şüpheli Bakterilerinin Eldesi	30
3.1.1.2 Laktik Asit Bakterilerinin Gram Boyaması.....	31
3.1.1.3 Laktik Asit Bakterilerinin Mikroskopik Görüntüleri	31
3.1.1.4 Katalaz Testi.....	31
3.1.1.5 Farklı Sıcaklıklarda Üreme	32
3.1.1.6 Farklı pH Değerlerinde Üreme.....	32
3.1.1.7 Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Üreme	32
3.1.1.8 Farklı Şeker Türlerinde Fermantasyonları	33
3.1.1.9 İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Doğrulanması.....	33
3.2 Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Analizleri	34
3.2.1 Laktik Asit İçeren Disklerin Hazırlanması	34
3.2.2 Patojen Bakterilerin Hazırlanması	34
3.2.3 İnokulumların Hazırlanması.....	35
3.2.4 Disk Difüzyon Metodunun Uygulanması	35
3.2.5 Antibiyotik İçeren Disklerin Hazırlanması	36
3.2.6 İnokulumların Hazırlanması.....	36
3.2.7 Disk Difüzyon Metodunun Uygulanması	37
3.3 Laktik Asit Bakterilerinin Proteolitik Aktivitesi	37
3.4 Laktik Asit Bakterilerinin Lipolitik Aktivitesi	38
3.5 Laktik Asit Bakterilerinin Nitrat-Redüktaz Aktivitesi.....	38
4. BULGULAR	40
4.1 Laktik Asit Bakterilerinin Gram Boyaması, Farklı Sıcaklık, Tuz, pH ve Şeker Değerlerinde Üremesi	40
4.2 Lipolitik, Proteolitik ve Nitrat- Redüktaz Aktivite Değerleri	43
4.3 Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Gıda Patojenleri Üzerindeki Antibakteriyel Etkileri	44
4.4 Laktik Asit bakterilerinin Antibiyotik Disklere Karşı Duyarlılıkları	47

5. TARTIŞMA ve SONUÇ	50
5.1 Sonuç	55
6. KAYNAKLAR.....	57



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

dH ₂ O	Distile su
CO ₂	Karbondioksit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
OH [·]	Hidroksil radikali
NaCl	Sodyum klorür
NH ₃	Amonyak
µL	Mikrolitre
°C	Santigrat derece
g	Gram
%	Yüzde
a _w	Su Aktivitesi
cm	Santimetre
mm	Milimetre
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
atm	Atmosfer
r.p.m	Dakikada Devir Sayısı

Kısaltmalar

AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ATP	Adenozin Trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Food and Drug
G+C	Guanin + Sitozin
GRAS	Generally Recognized As Safe
Kob	Koloni Oluşturma Birimi
LAB	Laktik Asit Bakterileri
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Muller Hilton Broth
pH	Potansiyel Hidrojen
Subsp	Subspecies
ST	Streptococcus thermophilus Isolation Agar
TOS	Propionate Agar
vb	Ve Benzeri

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 LAB'ın taksonomik özellikleri ve sınıflandırılması	4
Çizelge 2.2 Streptokokların klinik semptomlarına göre tarihsel sınıflandırılması.....	7
Çizelge 2.3 Lactobacillus cinsi LAB'ın fermentasyon karakterlerine göre sınıflandırılmasına önemli örnekler	10
Çizelge 2.4 LAB tarafından üretilen bazı bakteriyosinler.....	17
Çizelge 3.1 LAB besiyeri ve inkübasyon koşulları.....	30
Çizelge 3.2 Patojen bakteriler, ATCC numaraları, kullanılan besiyeri ve inkübasyon şartları	34
Çizelge 3.3 Kullanılan antibiyotik disklerin kodları ve türleri.....	36
Çizelge 3.4 NIT 1 ve NIT 2 solüsyonlarının hazırlanması	38
Çizelge 4.1 LAB'ın gram boyaması, farklı sıcaklık, tuz, pH derecelerinde üreme değerleri ile şeker fermentasyon sonuçları	41
Çizelge 4.2 LAB'ın lipolitik, proteolitik ve nitrat-redüktaz aktivitelerinin belirlenmesi	42
Çizelge 4.3 İzole edilen LAB'ın bazı gıda kaynaklı patojenler bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkileri (mm zon çapı)	43
Çizelge 4.4 İzole edilen LAB'ın bazı gıda kaynaklı patojenler bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisi analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri	45
Çizelge 4.5 İzole edilen LAB'ın bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi(mm zon çapı)	46
Çizelge 4.6 İzole edilen LAB'ın bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının değerlendirilmesi	49
Çizelge 4.7 İzole edilen LAB'ın bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıkları analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri.....	49

1. GİRİŞ

Laktik asit bakterileri (LAB) sütte bulunan laktozu fermentasyon yoluyla laktik aside metabolize eden ve bu metabolizma sonucunda başta laktik asit olmak üzere, diğer bazı organik asitler, CO₂, etanol vb. metabolitleri üreten bakteri grubu olarak tanımlanmaktadır. Bu bakteriler gram pozitif, katalaz negatif, stokromu olmayan, aerobik olmayan fakat aerotolerant, genellikle hareketsiz, mikroskopik görüntüsü kok veya basil olan bakterilerdir (İşleroğlu vd. 2008, Tatlı 2009). Gıda biyokimyası LAB'ın gıda ile ilişkilendirilmesi ve güvenli gıda olarak tanımlanmasından sonra yoğun bir şekilde LAB'a odaklanmıştır (Garcia vd. 2010). LAB'ın antimikrobiyal peptitler üreterek gıda patojenlerini hedef almalarından kaynaklı olarak uluslararası alandaki önemi giderek artmakta olup gıda güvenliği konusunda dikkat çekmeye başlamıştır (Cleveland vd. 2001).

LAB'ın ürettiği metabolitlerden olan bakteriosinler, ribozomal şekilde sentezlenen, geniş bir inhibisyon spektromu gösteren, protein yapısında bileşikler olup, özellikle üretici türle yakından ilişki kuran mikroorganizmalar üzerinde bakteriyostatik veya bakteriyosidal etki göstermektedir (Hammami vd. 2007, Garcia vd. 2010). Bakteriyosinler ürettikleri metabolitleri çoğu zaman logaritmik fazdan durağan faza geçiş esnasında sentezlemektedirler (Hammami vd. 2007).

Yıllardır farkında olmadan LAB ve ürettiği bakteriyosinler insanlar tarafında tüketilmiş olup bu bakteriyosinler geçmişten günümüze güvenilir olarak kullanılmaktadır. Bakteriyosinlerin inhibisyon çeşitliliği, bakterisidal etki mekanizması, teknolojik koşullara (pH, NaCl, ısı işlem vb.) tolerans gösterebilmesi, ökaryotik hücreler karşısında toksisitesinin düşük olması besinlerdeki biyokoruyucu özelliğini güçlendirmiştir. Peynirde geç şişmeden sorumlu olduğu 1950'lerin başında tespit edilen *Clostridium tyrobutyricum*'u inhibe etmesi için kullanılan nisin önemli bir bakteriyosindir. Ayrıca öncül gıda maddelerinin üretiminde bakteriyosin uygulama örnekleri, tarım ve su ürünleri yetiştiriciliği ve veterinerlik alanlarında da yaygın olarak kullanılmaktadır (Garcia vd. 2010).

LAB tarafından üretilen bazı metabolitler (organik asit, diasetil, asetoin, H₂O₂, reuterin, antifungal peptitler ve bakteriyosinler) antimikrobiyal etki göstermektedir (Visser vd. 1986, Holzapfel vd. 1995).

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri

2.1.1 Laktik Asit Bakteri Tanımı

LAB, karbonhidrat fermantasyonu sonucunda, son ürün olarak başlıca laktik asit üreten mikroorganizmalar olup, doğada yaygın olarak bulunmaktadır (Sağlam ve Karahan 2017). Ayrıca çeşitli fermente gıdaların üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Buna ek olarak LAB tanımı, sütte bulunan laktozu fermentasyon sonucu laktik asit olarak oluşturan ve bunun sonucunda sütü ekşiterek koagüle eden bakteri grubuna verilen isim olarak da karşımıza çıkmaktadır (Khalid 2011). Saf kültürü yapılan ilk laktik asit bakterisi 1873 yılında izole edilmiş olup *Bacterium lactis* (muhtemelen *Lactococcus lactis*), J. Lister tarafından bulunmuştur (Salminen vd. 2004).

LAB, gram pozitif, basil veya kok şekline sahip, nitrat redüktaz aktiviteleri genellikle negatif sonuç gösteren, hareketsiz ve spor oluşturmeyen özellikler göstermektedir (Stiles ve Holzapfel 1997). LAB'ın farklı habitatlarda bulunabilmelerinin temel sebebi, yüksek tuz konsantrasyonlarına (%25 NaCl), farklı sıcaklık derecelerine (0-50°C), düşük ve yüksek pH değerlerine (2,8-9,6 pH) ve farklı safra tuzu konsantrasyonlarına dayanıklılıkları ile ilişkilendirilmektedir. LAB, kok, çomak veya ovoid şeklinde bulunabilmekte olup gelişim sağladığı sıcaklık değerlerine göre termofil ve mezofil özellik göstermektedir (Darsanaki vd. 2013).

LAB, farklı biyosentez yollarından yoksun olup yüksek miktarda nitrojen kaynağı içeren ve karbonhidratlar, aminoasitler, vitaminler, mineraller açısından zengin besin maddelerine ihtiyaç duyarlar (Holzapfel ve Wood 2014, Cubas-Cano vd. 2018). Laktik asit fermantasyonu, fermentasyon sonucunda üretilen son ürünlere göre, zorunlu homofermentatif, zorunlu heterofermentatif ve fakültatif heterofermentatif olmak üzere üç grup altında toplanmaktadır (Holzapfel ve Wood 2014). Bu bakteriler güvenli bakteriler sınıfında kabul edilirken koruyucu kültür olarak gıdalarda bulunan bozulma etmeni ve patojen bakterileri inhibe etmekte ve/veya rafta kalma süresini uzatmaktadır. Ayrıca starter kültür olarak kullanılarak, gıdanın duyuşal özellikleri üzerinde olumlu etkiler sağlamaktadır (Aslım 1994).

LAB'ın gıda ve sağlık üzerinde gösterdiği koruyucu etkisi göz önüne alınıp bu suşlarının araştırılarak, marketlerde fonksiyonel gıda adı altında satışa sunulması son yıllarda önem arz etmektedir (Ertekin 2007). Yine son zamanlarda probiyotik özelliklerinden dolayı ortaya çıkan türler arasında özellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* kültürleri yer almaktadır. Probiyotik özellik gösteren LAB uzun zamandır bilimsel araştırmaların konusu olmuş ve endüstride kullanılan suşlar arasında *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus gasseri* ve *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* ve *Bifidobacterium infantis* bulunmaktadır (Soomro vd. 2002). Probiyotik bakterilerin, laktik asit ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal etki gösteren metabolitler ve patojen mikroorganizmaların bağırsak mukozasında tutunmasını önleyen bariyerler oluşturmalarıdan dolayı gastrointestinal sistem üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır (Ehrman vd. 2002).

2.1.2 Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması

LAB'ın bir grup olarak ilk tanımlanması, koliform bakterilerle birlikte LAB sütü fermente ve koagüle etme özellikleri üzerine yapılmıştır. 1901 yılında *Lactobacillus* mikroorganizmalarının gram pozitif olarak tanımlanması ile koliform bakteriler LAB grubundan ayrılmıştır. 1919 yılında Orla Jensen, LAB'ı gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmayan, kok, kokobasil, karbonhidratları ve yüksek alkollerini başlıca laktik asit oluşturarak fermente eden bir grup olarak tanımlamış ve 7 tane soy ileri sürmüştür (Stiles ve Holzapfel 1997).

Bakterilerin klasik taksonomisi; morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik (farklı sıcaklık değerlerinde gelişme, farklı pH değerinde gelişme ve farklı tuz konsantrasyonlarında gelişime ve karbonhidrat katabolizması) özellikleri üzerine dayanmıştır (Stiles ve Holzapfel 1997). Günümüzde bakterilerin taksonomisindeki büyük değişiklikler, önemli düzeyde bakteri DNA'sındaki nükleotit oranları (G+C içeriği) ile belirlenmektedir. G+C içeriği kesin olmamasına (%50'den daha az) rağmen, geniş dizilimli cinslerin alt dallarına ayrılmasında iyi bir göstergedir (Stackebrand ve Teuber 1988). Ayrıca izole edilen genlerinin elektroforetik özellikleri, DNA: DNA hibridizasyonu ve RNA'nın yapısı ve sıralanması gibi moleküler özellikler taksonomide kullanılan başlıca çok önemli tekniklerdir. Bunlar LAB'ın

taksonomisinde çok önemli değişikliklerin yapılmasına neden olmuştur (Stiles ve Holzapfel 1997, Gobbetti vd. 2005).

Son yıllarda genetik çalışmalar sonucu ortaya çıkan sınıflandırmada gıdalarda önem arz eden başlıca LAB soyları: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella*'dır. Yeni oluşturulmuş LAB soyları *Carnobacterium*, *Weissella*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Atopobium* ve *Albiococcus*'dur (Stiles ve Holzapfel 1997, Endo ve Okada 2005).

Çizelge 2.1 LAB'ın taksonomik özellikleri ve sınıflandırılması (Yörük ve Güner 2011).

Tür	Şekil	Katalaz	Nitrat İndirgemesi	Fermantasyon	Cinsler
<i>Betabacterium</i>	Çubuk	-		Heterofermantatif	<i>Weissella</i> <i>Lactobacillus</i>
<i>Thermobacterium</i>	Çubuk	-		Homofermantatif	<i>Lactobacillus</i>
<i>Streptobacterium</i>	Çubuk	-		Homofermantatif	<i>Carnobacterium</i> <i>Lactobacillus</i>
<i>Streptococcus</i>	Kok	-		Homofermantatif	<i>Enterococcus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Vagococcus</i>
<i>Betacoccus</i>	Kok			Heterofermantatif	<i>Leuconostoc</i> <i>Weissella</i> <i>Oenococcus</i>
<i>Microbacterium</i>	Çubuk	+	+	Homofermantatif	<i>Brochotrix</i>
<i>Tetracoccus</i>	Kok	+ ^a	+	Homofermantatif	<i>Tetragenococcus</i> <i>Pediococcus</i>

^a: Genelde katalaz negatif reaksiyon gösteren pediokokların bazı türleri yanlış pozitif sonuçlara yol açan pseudokatalaz üretirler.

2.1.3 Süt Teknolojisi Açısından Önemli Bazı Laktik Asit Bakteri Türleri

2.1.3.1 *Lactococcus*

Lactococcus cinsi bakteriler gram pozitif, katalaz negatif, homofermentatif, mikroaerofilik, hareketsiz, fakültatif anaerob, spor oluşturmeyen, çiftler veya kısa zincirler halinde bulunan kok şekline sahip bakterilerdir. 10°C’de gelişebilirlerken, 45°C nin üzerinde gelişim gösterememektedirler (Samaržija vd. 2001, Casalta ve Montel 2008, Tokatlı 2013).

Lactococcus lactis spp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* daha çok çiğ süt ve ısıl işlem aşamasından geçmemiş peynirlerden izole edilen türlerdir. Bunun dışında starter kültür olarak, süt ürünlerinde kullanılan türler *Lactococcus lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* ‘dir (Smit vd. 2005). Vitamin ve aminoasit gibi metabolitler üreten sınırlı bir anabolizmaya sahip olan *Lactococcus* türlerinin, gelişebilmesi için gerekli olan faktörlerin büyük çoğunluğunu çevreden sağlanmalıdır (Stiles ve Holzapfel 1997). Sütün fermentasyonu esnasında *Lactococcus* türleri, laktozu homofermentatif olarak laktik aside dönüştürmesi sonucu enerji sağlamaktadır. Fakat şeker molekülünden elde ettiği enerjinin miktarı yeterli olmadığı için, enerji kazanımlarını arttırmak amacıyla metabolik yolu çok hızlı bir biçimde kullanmaktadır. Bu aşamadan sonra süt ürünlerinde, pH hızlı bir şekilde düşmekte ve buna asidifikasyon ismi verilmektedir. Ayrıca bu durum sonucunda proteoliz, aminoasitlerin alkol, aldehit, keton gibi tat bileşenlerine dönüşmesine, sitrat kullanımına ve yağ metabolizmasına katkıda bulunmaktadır (Smit vd. 2005).

Lactococcus lactis, *Lactococcus* cinsine ait gıda endüstride önemli bir yere sahip olan, çiğ süt ve süt ürünlerinde bulunan ayrıca bitkisel gıdalardan da izole edilebilen LAB türlerinden biri olarak bilinmektedir. Gıdalarda starter kültür olarak kullanılan *Lactococcus lactis*, fermente süt ürünlerinde bazı patojenler karşısında inhibe edici etkiye sahiptir (Demir 2014, Khemariya vd. 2017). *Lactococcus lactis*’in varyeteleri lantibiyotik, nisin gibi önem arz eden bakteriosinleri üretmektedirler (Stiles ve Holzapfel 1997)

2.1.3.2 *Leuconostoc*

Leuconostoc cinsi bakteriler, gram pozitif, katalaz negatif, heterofermentatif, fakültatif anaerob, zincir ve grup şeklinde pleomorfik (kok veya mercimek şeklinde) ve ekzopolisakkarit (dekstran, levan) üretme kabiliyeti ile önem arz etmektedir (Dimic 2006, Tokatlı 2013).

Leuconostoc türleri sütün doğal yapısında ve bitkilerin florasında yaygın olarak bulunmakta ve gıda endüstrisinde süt ürünlerine reolojik ve hoş kokulu özelliklerin kazandırılması amacıyla starter kültür olarak kullanılmaktadır. Bu bakteriler karbonhidratları fermente ederek, laktik asite ek olarak, CO₂, etanol, laktat, asetaldehit gibi metabolitleri de üretmektedir. Buna ek olarak süt ürünlerinde diasetil (aroma) üretme yeteneği sayesinde gıda sanayisinde geniş kullanım alanı bulunmaktadır. Büyük gözenekli yapıya sahip özel üretimli peynirlerde gözenek yapısının oluşmasında *Leuconostoc* türleri önem kazanmıştır. Ürettikleri ekzopolisakkarit (EPS) sayesinde gıdalarda koruyucu özellik gösterirken, oligosakkarit, mannitol, bakteriyosin ve bazı vitamin türlerini de sentezleyebilmektedir (Cardamone vd. 2011).

2.1.3.3 *Streptococcus*

Streptococcus cinsi bakteriler, *Streptococcaceae* familyasına ait, gram pozitif, katalaz negatif, fakültatif anaerobik, bazı türleri mikroaerofilik mikroorganizmalardır (Ektik 2022). Fermentatif metabolizmaları sonucu homofermentatif olarak glukozu (L+) laktik asite dönüştürmektedir. Bu gruba ait bazı türler, malik ve sitrik asit gibi organik asitleri serin ve arginin gibi aminoasitleri fermente ederler. Bu cinsler 10°C'nin altında gelişmez ancak 45°C ve üzerinde gelişir, %6,5 NaCl çözeltilisinde, 9,6 pH ve %0,1 metilen mavili sütte gelişim göstermezlerken, arjininden NH₃ oluşturmazlar. Beta hemolitik negatiftirler. Ayrıca bu cinsin en önemli temsilcisi *Streptococcus thermophilus*' dur (Kılıç 2001).

Streptococcus grubu bakteriler kanlı agarda hemoliz yapma özelliğine ve koloni morfolojisine (düzgün (S), pürüzlü yüzeyli (R) ve mukoid (M)), biyokimyasal özelliklerine, immünolojik özelliklerine ve ekolojik davranışlarına göre sınıflandırılabilir (Ustaçelebi 1999).

Lancefield (1933) Streptokokları, C polisakkarit antijeni yapısını temel alarak sınıflandırmış ve serolojik olarak A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V guruplarına

ayırmıştır. İnsanda en sık rastlanan A, B, C ve G grupları beta hemoliz, D grubu nonhemoliz ya da gama hemoliz yapan streptokoklardır (Ustaçelebi 1999).

Brown (2004) ise streptokokları kanlı agar besiyerinde yapmış olduğu hemoliz özelliğine göre alfa, beta veya gama streptokoklar şeklinde sınıflandırmıştır (Ustaçelebi 1999).

Beta Hemolitik Streptokoklar; Kanlı agar besiyerinde 37°C’de 10-24 saat inkubasyon sonunda oluşan küçük koloniler etrafında dar, şeffaf ve tam olan bir hemoliz meydana gelir. Mikroskop altında incelendiğinde bu alanda eritrositler görülmez. *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus equi* ve *Streptococcus agalactiae* bu grupta yer almaktadır.

Alfa hemoliz veya Viridans Streptokoklar; Kanlı agarda 18-24 saatlik inkübasyon sonucunda kültürde üreyen koloniler etrafında, yeşilimsi renkli, kolayca gözlenebilen bir hemolizin varlığı gözlenir. Mikroskop altında incelendiğinde eritrositlerin bozulmadığı görülmektedir. *S. agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus bovis* ve *Streptococcus equinum* bu grupta yer almaktadır.

Gama ve Hemolitik Olmayan Streptokoklar; kanlı agarda 18-24 saatlik inkübasyon sonunda kültürü edilen mikroorganizmaların koloni etrafında herhangi bir hemolizlik görülmez. *Streptococcus fecalis* ve *Streptococcus fecum* bu gruptadır (Cahan 2019). Sherman tarafından streptokoklar, biyokimyasal yapılarına, üreme özelliğine, hemoliz özelliğine, bulundukları yerlere ve antijenik yapılarına göre streptokokları Piyojenik, Viridans, Laktik ve Enterokoklar olarak sınıflandırmıştır (Çizelge 2.2). Günümüzde *S. pyogenes*; A grubu, beta hemolitik ve piyojenik streptokok olarak adlandırılır.

Çizelge 2.2 Streptokokların klinik semptomlarına göre tarihsel sınıflandırılmaları (Cahan 2019).

Sherman 1937	Jones 1978	Bridge ve Sneath 1983	Bergey’s 1986	Schleifer ve KilpperBalz 1987
Piyojenik	Piyojenik	Piyojenik, Parapiyojenik	Piyojenik	Piyojenik

Çizelge 2.2 (Devam) Streptokokların klinik semptomlarına göre tarihsel sınıflandırmaları (Cahan 2019).

	<i>Pneumococci</i>	<i>Pneumococci</i>		<i>Streptococcus oralis</i> grup (<i>Streptococcus miilleri</i> 'de dahil)
Viridans	Oral	Viridans, Paraviridans	Oral	<i>Streptococcus mutans</i> grup
	Diğer streptokoklar Anaerobik Streptokok	Termofilik	Diğer türler ve Anaerobik streptokok	Diğer streptokoklar, Streptokok olmayanlar
Enterokoklar	Fekal	Enterokokal	Enterokok	Enterokok (ayrı bir grup)
Laktik	Laktik	Laktik	Laktik asit kokları	<i>Lactococcus</i> (ayrı bir grup)

2.1.3.4 *Lactobacillus*

Lactobacillus cinsi bakteriler, basil şeklinde, gram pozitif, spor oluşturmeyen ve katalaz negatif, oksidaz negatif, genellikle hareketsiz olmasına karşın hareketli türleri peritrik flagella ile hareket eden bakterilerdir. Bu cins bakteriler 2-53°C'de (en ideal 30-40°C) gelişmekte, hafif asidik ortamda hızlı çoğalarak *Streptococcus*'lardan daha çok asit oluşturmakta ve %1-3 oranında laktik asit oluşturarak pH'yı 3,2-3,5'e kadar düşürmektedirler. Proteolitik aktiviteleri de yüksektir (Tekinşen ve Atasever 1994, Ünlütürk ve Turantaş 1999, Kıran 2006). Oksijeni kullanma yeteneklerine göre mikroaerofilik ya da anaerob olup %5 CO₂ içeren ortamda gelişebilmektedirler. Genellikle katalaz ve oksidaz aktiviteleri negatif sonuç göstermekte olan bu türler, bitki, toprak, süt ürünleri ve bağırsak florasında yaygın olarak bulunmakta ve fermente et, süt ve sebze ürünlerinin üretiminde önemli rol oynamaktadırlar (Ünlütürk ve Turantaş 1999).

Lactobacillus cinsi bakteriler fermentasyon karakterlerine göre üç grup altında incelenmektedir. Bunlar, zorunlu homofermantatif, zorunlu heterofermantatif ve fakültatif heterofermantatif'dir (Stiles ve Holzapfel 1997).

Birinci grupta zorunlu homofermantatif *Lactobacillus* türleri yer almakta olup, bu grup bakteriler Orla-Jensen'in yapmış olduğu sınıflandırmada *Thermobacterium* grubu olarak adlandırılmıştır. Termofil türleri içeren bu bakterilerin en uygun gelişme sıcaklığı 40°C'iken 10°C'nin altındaki sıcaklıklarda gelişemez ve %3 kadar laktik asit üretebilmektedirler. Homofermantatif *Lactobacillus* türleri heksoz şekerlerden başlıca laktik asit üretirken, pentoz şekerler ve glukonatları fermente edemezler (Tunail 2009, Şen vd. 2004). Orla-Jensen'in tanımladığı ilk bakteri olan *Lactobacillus helveticus* peynir üretiminde istenen birçok özelliğe sahip olup, çiğ süt ve çiğ süttten üretilen ürünlerden sıklıkla izole edilmektedir. Bu tür bakteriler 55°C gibi yüksek sıcaklıklarda da gelişebilmektedir. Ayrıca süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterileri arasında proteolitik aktivitesi en yüksek bakteri grubu olmaları nedeniyle diğer laktik asit bakterilerinden kolaylıkla ayrılabilirler (Kiernan vd. 2000, Quigley vd. 2013, Callanan vd. 2008). *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus acidophilus* gıda sanayi açısından önemli süt ürünlerinde bulunan laktobasil türleridir. *Lb. delbrueckii* spp. *bulgaricus* yoğurt prosesinde, *Lactobacillus helveticus* emmental, gorgonzola ve mozzarella tarzındaki peynir türlerinin üretimde kullanılmaktadır. *Lactobacillus acidophilus* kullanılarak elde edilen acidophilus sütü gıda sanayinin yanında probiyotik kültür olarakta kullanılmaktadır (Yaygın ve Kılıç 1993, Stiles ve Holzapfel 1997).

İkinci grupta fakultatif heterofermantatif *Lactobacillus* türleri yer almakta olup, bu bakteriler Orla-Jensen'in yapmış olduğu sınıflandırmada *Streptobacterium* grubu olarak adlandırılmıştır. Heterofermantatif *Lactobacillus* türleri'nin en uygun gelişme sıcaklığı 30°C olup heksoz şekerlerden %1,5 kadar laktik asit üretebilmekte iken, glikoz bulunmadığı zamanlarda laktik asit, etanol, asetik asit ve formik asit üreten türlere de sahiptir (Şen vd. 2004, Tunail 2009). Gıda sanayisinde önemli olan *Lactobacillus casei*, ekşi hamur ve salamura peynirlerin fermantasyonu esnasında önem arz etmektedir (Stiles ve Holzapfel 1997).

Üçüncü grupta ise zorunlu (obligant) heterofermantatif *Lactobacillus* türleri yer almakta olup, Orla-Jensen'in yapmış olduğu sınıflandırmada *Betabacterium* grubu olarak adlandırılmıştır. Bu grup bakteriler gıda bozulmalarına sebep olan LAB türlerini içermektedir. Zorunlu heterofermantatif *Lactobacillus* türleri laktik aside ek olarak asetik asit ve diğer organik asitler, etil alkol ve CO₂ üretmektedir (Şen vd. 2004, Tunail 2009).

Çizelge 2.3 *Lactobacillus* cinsi LAB'ın fermantasyon karakterlerine göre sınıflandırılmasında önemli örnekleri

<i>Thermobacterium</i>	<i>L. delbureckii</i> subsp. <i>delbureckii</i>
	<i>L. delbureckii</i> subsp. <i>lactis</i>
	<i>L. delbureckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
	<i>L. acidophilus</i>
	<i>L. helveticus</i>
	<i>L. salivarius</i>
<i>Streptobacterium</i>	<i>L. casei</i> . subsp. <i>casei</i>
	<i>L. casei</i> . subsp. <i>rhamnosus</i>
	<i>L. casei</i> . subsp. <i>tolerans</i>
	<i>L. plantarum</i>
<i>Betabacterium</i>	<i>L. sake</i>
	<i>L. bifementas</i>
	<i>L. viridans</i>
	<i>L. fermentum</i>
	<i>L. buchneri</i>
	<i>L. brevis</i>
	<i>L. kefir</i>

2.1.3.5 *Pediococcus*

Pediococcus grubu bakteriler, gram pozitif, hareketsiz, mikroaerofilik, fermantatif ve kok şekline sahip tekli (monokok), çiftli (diplokok), kısa zincir veya dörtlü (tetrakok) oluşturan hücrelere sahiptir. 0,6-1 µm boya sahip bu bakteri türlerinin, sitokromları yoktur ve buna bağlı olarak katalaz negatiftir. *Pediococcus* türü bakteriler nitrojen kaynağı olarak amonyum tuzlarını kullanamazlar. Buna ek olarak nitratı nitrite indirgeyemezler. *Pediococcus* türüne sahip bakteriler oksijene karşı toleransı, türe göre değişiklik göstermekte olup bazı türler yüzey kültürlerde gelişirken bütün türler %10 CO₂ içeren atmosferde iyi gelişmektedirler. Bitki türlerinin üzerinde, çeşitli gıda ürünlerinde *lactobasiller* ve *leuconostoclar*la birlikte bulunmaktadır.

Gıda endüstrisinde *Pediococcus* cinsinin çoğu türü, fermente ürünler için starter kültür olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal aktivitenin yanı sıra fitaz aktivitesi, galaktoz fermantasyon kabiliyeti, EPS üretimi ve aroma üretimi gibi çeşitli teknolojik yönler, bu kültürleri endüstriyel olarak faydalı mikroorganizmalar haline getirmiştir. Bu sebeple sebze, silaj, et ürünleri, süt ve süt ürünleri gibi fermente ürünlerde starter, non-starter ya da ilave probiyotik kültürler olarakda sıklıkla kullanılmaktadır (Stiles ve Holzapfel 1997, Şahin 2003, Mavhungu 2006).

2.1.3.6 *Bifidobacterium*

Bifidobacterium türü bakteriler; gram pozitif, zorunlu anaerobik, hareketsiz, filomentöz olmayan, *Bifidobacterium indicum* ve *Bifidobacterium asteroites* hariç diğer türlerinin katalaz aktivitesi negatif, spor oluşturmayan ve polimorfik-çubuk şekline sahip bakterilerdir. *Bifidobacterium* türü bakteriler; insan ve hayvanların mide ve bağırsak kanalında, dışkı (gaita) örneklerinde, arıların bağırsak florasında, kanalizasyonlarda, ayrıca anne sütüyle beslenen bebeklerin bağırsak florasında (%99 oranında) bulunmaktadır. *Bifidobacterium* spp. türüne ait bakteriler fermantasyon esnasında monosakkarit ve disakkaritler için fruktoz-6-fosfat fosfoketalaz yolunu kullanmaktadırlar. Ayrıca çoğu bitki kökenli ürünlerde bulunan oligosakkaritler, ksiloz, riboz, arabinoz, sükroz, selüloz vs. gibi karbonhidrat türlerini de kullanabilmektedirler. *Bifidobacterium* türü bakterilerin probiyotik etkisinin sağlık üzerindeki önemi hakkında araştırmalar yapılmış olup, bu tür bakterileri içinde barındıran ürünlerin, tüketilmesinin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı güvenilir gıda olarak anılmakta ve ‘generally safe’(GRAS) statüsünde kabul edilmektedir (Margolles vd. 2011).

Bifidobacterium türü bakteriler bağırsak sisteminin doğal mikroflorasında bulunan patojen mikroorganizmalar karşısında koruyucu bir rol oynayarak insanların bağırsak florasında olması gereken doğal dengeyi sağlamaktadır. Bu sebeple *Bifidobacterium* türü bakteriler probiyotik gruba dahil edilmektedir. *Bifidobacteriu bifidum* ve *Bifidobacterium lonhum* ‘bifidus sütü’ ve ‘bifidus yoğurdu’ adı verilen fermente ürünlerin üretiminde starter kültür olarak kullanılmaktadır. *Bifidobacterium*’ların, günlük diyet ve sağlık üzerinde gösterdiği yararlı etkilerinden dolayı süt sanayide kullanımına önem verilen probiyotik mikroorganizmalardır (Fenderya ve Akalın 2003).

2.1.4 Laktik Asit Bakterileri Kullanım Alanları

LAB, gıda sanayisinde uzun yıllardan beri ‘gıda sınıfı organizmalar’ olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir. Gıdalardaki tat, aroma ve tekstür oluşumunda olumlu etki göstermektedir. Bu etkilere ek olarak zararlı mikroorganizmaları inhibe etme özelliğine sahip olduğu için koruyucu kültür olarak geniş kullanım alanına sahiptir. Fermente et ve balık ürünleri (örn. sucuk, salam), süt ve süt ürünleri (örn. peynir, kefir), tahıl ürünleri (örn. ekmek, boza), şarap ve sebzeler (örn. lahana ve salatalık turşusu) gibi çoğu gıdanın doğal yapısında bulunmaktadır. Bu özelliklere ek olarak starter kültür olarak eklendiği gıdaların olgunlaşma esnasında, üretim prosesinde ürün dayanıklılığının artırılması açısından ve fermente gıda ürünlerinde karmaşık yapı gösteren tat bileşenlerinin ve lezzetinin oluşması amacıyla kullanılmaktadır (Jeevaratnam vd. 2005).

LAB’ın probiyotik olarak kullanılmasının yanı sıra, enzim ve metabolitler gibi makromoleküllerin üretimi amacıyla endüstriyel açıdan önem arz etmektedir (Klaenhammer vd. 2002).

2.2 Laktik Asit Bakterileri Tarafından Üretilen Antimikrobiyal Bileşikler

Homofermantatif karbonhidrat metabolizmasının son ürünü olan LAB’ın, gıdalarda bozulma etkeni olan patojen mikroorganizmalar karşısında gösterdiği antagonistik etki, yaklaşık on yıldır ayrıntılı bir şekilde araştırılmaktadır. Heterofermantatif LAB tarafından heksoz katabolizması sonucunda oluşan eşit molarlarda laktik asit, asetik asit veya etanol ve CO₂ benzeri metabolitler koruyucu ve antagonistik etki göstermektedir. Bu etki, düşük pH değerinden kaynaklanmakta olup, sahip olduğu karbonhidrat metabolizmanın sonucunda üretilen düşük miktarda H₂O₂ ve diasetil açığa çıkmaktadır. Oluşturduğu bu maddelerin antimikrobiyal etki göstermesi gıdaların korunmasında önemli rol oynamaktadır (Toksoy ve Beyatlı 1999).

LAB’ın ürettiği organik asit, asetaldehit, etanol, diasetil, karbondioksit, H₂O₂ ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddeler, gıdaların korunmasında önemli rol oynamaktadır. Gıdalarda bozulmaya sebebiyet veren patojen mikroorganizmalar karşısında bakteriyosinler doğal koruma sağlamaktadır. Bunun yanı sıra bakteriyosinlerin sahip olduğu ısı stabiliteleri

sayesinde yüksek sıcaklık değerlerinde işleme tabi olan birçok gıda maddesinin kullanılabilirliğini sağlamaktadır (Smit vd. 2002, Jeevaratnam vd. 2005).

2.2.1 Organik Asit, Asetaldehit, Etanol

LAB, laktik asidi homofermantasyon yoluyla sentezlerken, çok az miktarda laktik asit, CO₂ ve etanolü heterofermantasyon yoluyla sentezlemektedir. Hücre zarından geçen laktik asit ve asetik asit, hücre içine nüfuz ederek sitoplazmanın asitliğini arttırmakta ve pH değerini düşürmektedir. Buna bağlı olarak, gıdalarda bozulma etmeni olan patojen mikroorganizmanın (*Pseudomonas*) ve istenmeyen bakterilerin (*Salmonella* spp. ve *Listeria* spp.) DNA'sının bozulmasına neden olarak, bakterilerin gelişimini sınırlamakta veya inaktive etmektedir (Şimşek vd. 2001).

Organik asitlerin patojen mikroorganizmalar üzerine gösterdiği inhibitör etkinin bağlı olduğu üç potansiyel vardır. Bunlar;

1. Güçlü asitler, düşük eksternale sahip olan pH değerine rağmen hücre membranından geçememektedir. Hücre yüzeyinde bulunan enzimler, sahip oldukları düşük pH nedeniyle enzimlerin yapısını bozarak inhibitör etki göstermektedir. Ayrıca, hücre içinde ve dışındaki, pH değeri farkının fazla olduğu durumlarda, hücre zarının proton geçirgenliği sonucu sitoplazmik pH değerinde düşüşe de sebebiyet verebilmektedir.

2. Zayıf asitler, hücre membranından kolaylıkla geçebilmektedir. Bu asitlerin birincil etki mekanizması, sitoplazmik pH değerini düşürerek gerçekleşmektedir. Fakat doğrudan disosiyasyon olmamış yapılar da metabolizma üzerinde inhibitör etki göstermektedir.

3. Sülfid, nitrat, karbonat gibi asit potansiyeline sahip iyonlar, düşük pH değerinde potansiyel inhibitör etki göstermektedir (Çon ve Gökalp 2000).

Hidrofobik özellik gösteren ve çözünmemiş laktik asit ve asetik asit formları, bakteri içerisine nüfuz ederek hücre içinde çözünmektedir. Bunun sonucunda sitoplazma üzerinde pH düşüşü gerçekleşmekte olup, hücre ölümü yaşanmaktadır (Ray ve Bhunia 2014).

Konu hakkında yapılan bir çalışmada, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas* ssp. ve *Staphylococcus aureus* bakterileri karşısında laktik, asetik ve propiyonik asit gibi organik asitlerin gösterdiği antimikrobiyal etki araştırılmıştır. Bu araştırma sonucu bu organik asitlerin tek başına ayrı ayrı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve eşit konsantrasyonlarda hazırlanmış organik asitlerin disosiye olmayan formları karşılaştırıldığında, laktik asitin etkisine kıyasla asetik asitin ve propiyonik asitin antimikrobiyal etkisinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Taniguchi vd. 1998).

2.2.2 Hidrojen Peroksit

Laktik asit fermentasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2), istikrarlı yapıya sahip olmayan termodinamik özellik göstermekte olup, bakteriyel enzimatik aktiviteyi yok etmekte ve bazı mikroorganizmaları inhibe edici özellik göstermektedir. H_2O_2 'nin sahip olduğu antimikrobiyal etki, enzim denatürasyonu sonucu oluşan sülfidril gruplarının oksidasyonu ve membran lipid peroksidasyonu ile membran geçirgenliğinin artmasından kaynaklanmaktadır. H_2O_2 , membran lipidleri ve hücre proteini üzerinde güçlü oksitleyici etkiye sahip olduğu için, mikroorganizmalar üzerinde inhibisyon gerçekleştirmektedir (Byczkowski ve Gessner 1988, Çadircı ve Çitak 2005).

H_2O_2 'nin sahip olduğu güçlü oksitleyici etki, antimikrobiyal aktivite gösteren LAB tarafından sentezlenen oksijen, laktat, pürivat, $NADH^+$ varlığında gerçekleşmektedir (Holzapfel vd. 1995). Yüksüz olan H_2O_2 , kolayca hücre içerisine nüfuz etmekte ve bunun sonucunda hidroksi radikallerin hücre içerisinde gerçekleştirdiği indirgenme reaksiyonlarından kaynaklı olarak kalıtım materyaline etki ederek, hücrenin ölümüne sebebiyet vermektedir (Lindgren ve Dobrogosz 1990). H_2O_2 'nin bakteriler, mayalar, küfler, virüsler ve bakteri sporlarına karşı antagonistik etki spektrumu oldukça geniştir (Russel vd. 1992).

Katalaz enzimine sahip olmayan LAB'ın bulunduğu ortamda biriken H_2O_2 , *S. aureus* ve *Pseudomonas* ssp. benzeri patojen mikroorganizmalar karşısında antimikrobiyal etki göstermektedir. Bakteri membranlarını bozmada etkili role sahip bu bileşiğe en duyarlı bakteri grubu gram negatif bakterilerdir (Adams ve Nicolaides 1997).

H_2O_2 'nin *Escherichia coli* DNA'sı üzerindeki etki mekanizması, denatürasyona sebep olarak,

kromozomik replikasyonu engelleyen nükleotid bazları açığa çıkarması ve DNA zinciri üzerinde kırılmalara sebebiyet vermesinden kaynaklanmaktadır (Kılıç 2001). H_2O_2 'nin hücreler üzerinde gösterdiği inhibitör etki, konsantrasyon miktarı, muamele süresi, mikrobiyel yük, sıcaklık, pH, inorganik iyonlar, UV veya diğer koruyucu maddelerin uygulanması gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (Çon ve Gökalg 2000).

2.2.3 Karbondioksit

Çoğu zaman heterofermentatif LAB aracılığıyla üretilen karbondioksit (CO_2), enzimatik dekarboksilasyonu önlemek amacıyla anaerobik ortam oluşturarak, membran lipitinde birikmesi sonucunda membran geçirgenliğinde hasara sebebiyet vermektedir. Ayrıca CO_2 gram negatif psikrotrofik bakterilerin gelişmesini inhibe etmektedir (Farber 1991, Ammor vd. 2006).

CO_2 'in mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon etki mekanizması, genel olarak üç şekilde açıklanabilir. Birinci yöntem ortamdan O_2 'nin uzaklaştırılması olup en basit olanıdır. İkinci yöntem ortamın pH'ının düşmesi veya CO_2 'in gıdanın sulu fazında çözünerek karbonik asidin oluşumudur (Butler 1982). Karbonik asit ise parçalanarak bikarbonat ve karbonat iyonlarının oluşumuna neden olmaktadır. Üçüncü yöntem ise CO_2 'in mikroorganizmaların metabolizmalarına olan direk etkisidir (Daniels vd. 1985). CO_2 molekülü sahip olduğu bu antimikrobiyal etkiler sayesinde, gıdaların korunması amacıyla kullanılan modifiye atmosfer paketleme (MAP) sistemlerinin başlıca bileşenidir. Bu sistemde, gram negatif bakterilerin gram pozitif bakteriler karşısında daha hassas olduğu tespit edilmiştir (Salminen ve Wright 2004).

Antimikrobiyal etkiye sahip olan CO_2 , bulunduğu ortamda küf gibi obligant aerobik mikroorganizmaların üremesini inhibe etmektedir (Adams ve Nicolaidis 1997). CO_2 özellikle gram negatif, psikrotrofik bakterileri sayısını % 10'a kadar, toplam bakteri sayısını ise % 50'ye kadar azaltmakta olup, % 20-50'lik bir antifungal özellik göstermektedir (Yang 2000, Sezer 2007).

2.2.4 Diasetil

Diasetil, LAB tarafından sitrat fermentasyonu sonucunda üretilen aroma veren bir bileşiktir (Jay 1982, Ammor vd. 2006). Süt ve süt ürünlerinde, özellikle tereyağında nadiren de meyve sularında oluşan aroma bileşenlerinin başında yer almaktadır. Diasetil'in üretimi, ortam bileşenleri, pH değeri ve inkübasyon sıcaklığı gibi faktörlere bağlı olarak farklılık göstermektedir (Demirci 2013).

LAB türlerinin başlıca dört cinsi olarak sayılan *streptokoklar*, *leukonostoklar*, *laktobasiller* ve *pediocoklar* tarafından sentezlenme yeteneğine sahip olan diasetil'in antibakteriyel etki mekanizması, mayalar, gram negatif bakteriler, LAB ve gram pozitif bakteriler üzerindedir. Gram negatif bakterilerin ortamda gelişimini arginin ile reaksiyona girmesi sonucunda engellemektedir. (Jay 1982, Ammor vd. 2006).

GRAS statüsünde sınırlı kullanıma sahip olan diasetilin antimikrobiyal etki gösterebilmesi için yüksek miktarlarda kullanılması gerekmektedir. Gıdalarda katkı maddesi olarak yüksek miktarlarda kullanılan diasetil, ürünün duyu özelliklerinde olumsuz etkilere sebep olmaktadır. Ayrıca diasetil, yüksek uçucu özelliğe sahip olması nedeniyle çeşitli malzemelerin ve yüzeylerin temizliğinde de kullanılmaktadır (Daeschel 1989).

2.2.5 Bakteriyosinler

Bakteriosin terimi ilk kez 1925 yılında Gratia'nın araştırması üzerine *E.coli* tarafından üretilen 'kolisin' ile literatüre girmiştir (Gratia 1925). Tanım olarak Bakteriyosin, çeşitli bakteriler tarafından ribozomal şekilde sentezlenen, antimikrobiyal aktivite gösteren peptit veya proteinlerdir (Jack vd. 1995, Cotter vd. 2005, Zendo vd. 2010).

Bakteriyosinlerin sınıflandırılması üretici organizma türü ve kimyasal yapısına göre yapılmasına karşın, günümüzde bazı değişikliklere uğramış olsa da, çoğunlukla Klaenhammer'in (1993) yaptığı sınıflandırma daha çok tercih edilmektedir. Bu sınıflandırmada bakteriyosinler, moleküler büyüklüklerine, termostabilitelerine, enzimatik duyarlılıklarına, post translasyonel olarak modifiye olan aminoasit varlığına ve gösterdiği etki mekanizmalarına göre olacak şekilde 4 gruba ayrılmaktadır (Klaenhammer 1993).

Çizelge 2.4 LAB tarafından üretilen bazı bakteriyosinler

Üretilen Bakteriyosin	Üretici laktik asit bakterisi
Sınıf Ia	
Nisin A	<i>Lactococcus lactis</i>
Nisin Z	<i>Lactococcus lactis</i>
Lactocin S	<i>Lactobacillus sake</i>
Lactocin 481	<i>Lactococcus lactis</i>
Carnocin U149	<i>Carnobacterium piscicola</i>
Salivacirin A	<i>Streptococcus salivarius</i>
Sınıf Ib	
Mutacin A	<i>Streptococcus mutans</i>
Sınıf IIa	
Peiocin PA-1	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Pediocin ACh	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Mesentericin Y105	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Sakacin A	<i>Lactobacillus sake</i>
Enterocin A	<i>Enterococcus faecium</i>
Carnobacteriocin BM1	<i>Carnobacterium piscicola</i>
Leucocin A	<i>Leuconostoc gelidum</i>
Sınıf IIb	
Laktocoin M	<i>Lactococcus cremoris</i>
Enterocin L50A ve L50B	<i>Enterococcus faecium</i>
Lactacin F	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
Acidocin J1132	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Plantaricin S	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Sınıf IIc	
Acidocin B	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Enterocin P	<i>Enterococcus faecium</i>
Bacteriocin 31	<i>Enterococcus faecalis</i>
Sınıf III	
Helveticin J	<i>Lactobacillus helveticus</i>
Enterolysin	<i>Enterococcus faecalis</i>
Caseicin 80	<i>Lactobacillus casei</i>
Sınıf IV	
Mesenterocin 52	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Lactocin 27	<i>Lactobacillus helveticus</i>

Bakteriyosinlerin güvenli gıda üretiminde biyokoruyucu olarak kullanılması yeni bir yaklaşım olarak kabul görülmüştür (Parada vd. 2007). LAB'ların ürettiği nisin, pediosin, laktokoksin A vb. bakteriyosinler gram pozitif bakterilerin hücre membranı üzerinde yüksek antimikrobiyal etkiye sahiptirler. LAB, gıdalarda bozulmaya sebep olan patojen bakterilere karşı geniş spektrumda antimikrobiyal etki gösteren metabolitler üretmekte olup, gıdalarda doğrudan veya bu kültürlerin saflaştırılması sonucu elde edilen ürünler olarak iki farklı şekilde gıda

üretiminde kullanılmaktadır. Bu grup içinde bulunan ve gıda üretiminde yasal olarak kullanılmasına onay verilen tek bakteriyosin türü nisin'dir (De Vuyst ve Vandamme 1994, Cleveland vd. 2001, Heng vd. 2007). Nisin, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından güvenli kabul edilen (GRAS) onayı almış ve koruyucu olarak gıda katkı maddesi olması sebebiyle 50'den fazla ülkede kullanılmaktadır. Özellikle fermente süt ürünleri, yumurta ürünleri, konserve sebzeler, salata sosları ve fermente alkollü içkilerin üretimi ve muhafazası esnasında başarılı şekilde kullanılmaktadır (Galvez vd. 2007, Heng vd. 2007).

2.3 LAB Tarafından Üretilen Bakteriyosinlerin Gıda Endüstrisinde Kullanımı

Gıdaların korunması açısından LAB ve bu bakteriler tarafından sentezlenen bakteriyosin ve benzeri metabolitler önem teşkil etmektedir. Gıdaların korunması amacıyla kullanılan bakteriyosinlerde aranan bazı özellikler (Kurt ve Zorba 2005, Galvez vd. 2007);

- Güvenilir olarak kabul edilmiş olmaları,
- Ökaryotik hücrelerde etkin olup, toksik etki göstermemeleri,
- Bağırsak mikrobiyotasında etkilisi az olup, proteazlar tarafından inaktif hale gelmeleri,
- Farklı pH değerlerine ve farklı sıcaklık değerlerine karşı tolerans göstermeleri,
- Çoğu gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaya karşısında oldukça geniş olan antimikrobiyal etkiye sahip olmaları,
- Bakteriyosidal etkiyi, bakteriyal sitoplazmik zara etki ederek göstermeleri,
- Çoğunlukla plazmid kodlu olan, genetik manipülasyonu kolaylaştırmaları olarak sayılabilir.

Bunların yanısıra gıdaların korunması amacıyla bakteriyosinlerin kullanılmasının birçok yararı bulunmaktadır. Bunlar;

- 1) Gıda zehirlenmesi riskini düşürmek,
- 2) Gıda üretiminde önemli etkiye sahip olan çapraz kontaminasyon riskini azaltmak,
- 3) Gıdaların mevcut olan raf ömrü süresini arttırmak,
- 4) Gıdaları maruz kaldığı yüksek sıcaklıklardan korumak,
- 5) Gıdalarda meydana gelen bozulmalardan kaynaklı ortaya çıkan ekonomik kayıpları minimum düzeye indirmek,
- 6) Üretimde kullanılan kimyasal koruyucuların miktarını azaltmak,
- 7) Gıdaların işlenmesine bağlı olarak artan maliyetleri düşürmek,

8) Değişen ve bilinçlenen tüketici taleplerini karşılayabilmek amacıyla alternatif gıda koruma yöntemleri sağlamak şeklinde sıralanmaktadır (Messaoudi vd. 2013).

Bakteriyel bir ürünün bakteriyosin olarak tanımlanabilmesi için; biyolojik yönden aktif bir proteine sahip olması, bakterisit etki göstermesi, dar bir inhibisyon spektrumuna sahip olması, spesifik hücre reseptörlerine tutunması, üretimin ve konakçı hücre bağıışıklılığının plazmid kökenli genetik determinantlara bağlı olması gerekmektedir (Tagg vd. 1976).

LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin araştırılması amacıyla yapılan çalışmalarda, et fermentasyonunun ön aşamalarında, *Listeria monocytogenes* sayısında azalma sağladığı tespit edilmiştir (Foegeding vd. 1992). Ayrıca LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin bazı antibiyotiklerin yerine kullanılabileceği de düşünülmektedir. Bakteriyosinler patojen mikroorganizmalara karşı doğal koruyucu olarak da kullanılabilmektedirler (Galvez vd. 2007, Rauta vd. 2013). Tüm dünyada önemli bir problem olan, patojen mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç, sürekli olarak yeni antibiyotiklerin keşfedilmesi gereksinimini peşinde getirmektedir. Bu durum hem maliyet artışına hem de zaman kaybına sebebiyet vermektedir.

LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin antibiyotik türlerinin yerine kullanılabilmek potansiyelinin olması, bu maddeleri hem sağlık hem de gıda sektörü açısından oldukça önemli bir duruma getirmektedir (Yang vd. 2014).

2.4 Gıda Sanayisi Açısından Önemli Bazı Patojen Bakteriler

2.4.1 *Salmonella*

Salmonella cinsine ait ilk bakteri ondokuzuncu yüzyılda tanımlanmış olup *Salmonella typhi* patojen olarak ilk defa 1880 yılında insanların lenf nodülü ve dalağında bulunmuştur. Bununla birlikte ilk izolasyonu ve morfolojik olarak ilk tanımlamayı Gaffky 1884'de yapmıştır olup, 1885 yılında Salmon ve Smithy *Salmonella Choleraesuis*'i izole etmiş bu cinse *Salmonella* adı verilmiştir (Halkman 2019).

Enterobacteriaceae familyasının üyelerinden olan *Salmonella* serotipleri, fakültatif anaerob, fermentatif, gram pozitif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, üreaz negatif, kapsül ve spor oluşturmeyen, basil formda, peritrik flagella ile hareketli (*Salmonella pullorum* ile *Salmonella gallinarum* hariç) ve hafif yuvarlak uçlu bakterilerdir. Laktozu fermente edemezler, glikoz içeren ortamlarda kolay gelişirler ve glikoz fermantasyonu sonucunda gaz oluştururlar (Doyle ve Beuchat 2007, Güzel Seydim 2016, Halkman 2019, Çapan 2020).

Salmonella spp'nin optimum gelişme sıcaklığı, 35-37°C aralığında olan bu bakteriler, 5- 46° C gibi geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilmektedirler. 4,5- 9,4 pH aralığında üremesine rağmen en ideal gelişme değeri 6,5- 7,5 pH'dır. Ayrıca 4,5 ve altındaki pH değerlerine karşı duyarlı bakterilerdir. Soğuk koşullara dayanıklıdır. Su aktivitesinin 0,940 a_w olduğu ortamda gelişim gösterememekte ve pastörizasyon sıcaklığında ölmektedirler. %7 gibi yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanıklılık gösteren serotiplere sahip olsa bile genellikle tuza duyarlıdır. %3- 4 NaCl konsantrasyonu bu bakterilerin canlılığını yitirmesi için yeterlidir (Güzel Seydim 2016, Çapan 2020).

Salmonella doğal olarak insan ve hayvan bağırsak sisteminde, kanalizasyon sularında, çiftlik hayvanlarında, evcil hayvanlarda (kuş, kedi, köpek, kaplumbağa), kurbağalarda, yılan ve diğer yabani hayvanlarda, böceklerde bağırsak mikroflorasının bir üyesi olarak da bulunmaktadır. Özellikle kirli sularda bulunan bu bakteri, kirli sular ile enfekte olmuş gıdaların tüketilmesi ile tekrar insanlara bulaşabilmektedir (Ray ve Bhunia 2016, Halkman 2019). Salmonellozis etkeni olarak; mandıra ürünleri, yumurtalar, kümes hayvanlarının olduğu yerler örnek gösterilebilmektedir. Ayrıca *Salmonella* türlerinin çeşitli gıdalarda kolaylıkla hayatta kalabilmesi ve doğada yaygın olarak bulunabilmesi insan sağlığı açısından güçlü bir tehdit olarak gösterilebilmektedir. *Salmonella*'lar vektörlerle yayılabilmekte olup, vektör dışkıları ile haftalarca, hatta aylarca bu yayılımını devam ettirebilmektedir. Çevresel koşullarda uzun süre hayatta kalabilen *Salmonella* türleri bu sebeple önemli bir enfeksiyon kaynağı haline gelmektedir (Aksoy 2015, Çapan 2020).

İnsanların kontamine olmuş gıdayı tüketmesi sonucu vücuda alınan *Salmonella* etkeni, öncelikle ince bağırsakta kolonize olmakta daha sonra ise diğer intestinal dokulara yayılım göstermektedir. Etken bağırsaklara yerleştikten sonra önce endotoksin üretimi gerçekleşmekte

ve bunu takiben yangısal reaksiyonlar sonucu diyare meydana gelmektedir (Güzel Seydim 2016, Ray ve Bhunia 2016, Halkman 2019, Çapan 2020).

Kontamine gıdanın tüketilmesini takiben 2-48 saat sonra gastroenterit, ateş, sepsis gibi semptomlar görülmekte ve bu belirtiler 4-7 gün arasında devam etmektedir (Güzel Seydim 2016, Halkman 2019).

Salmonella enfeksiyonlarının önüne geçmek için öncelikle bakterinin bulaşması önlenmelidir. Bunun için gıda üretimi yapan yerlerde, çalışanlara ek olarak tüketiciler de bilinçlendirilmelidir. Gıdalara uygulanan pastörizasyon, minimum 71,7°C'de 15 sn olarak uygulanmalı ve uygulanan ısı işlem sonrasında gıdanın tekrar kontamine olmasını engellemek amacıyla kullanılan alet ve ekipmanların (kesme tahtası, bıçak vs.) temizliği ve kişisel hijyen sağlanmalıdır. Hemen tüketilmeyecek gıdalar hızla 3- 4°C'ye soğutulmalıdır. Bu gıdalar buzdolabında tutulacaksa tüketilmeden önce yeterince ısıtılmalıdır (Ray ve Bhunia 2016, Çapan 2020).

2.4.2 *Esherichia coli*

Enterobacteriaceae familyasına ait koliform grubuna dahil olan bu bakteriler, gram negatif, fakültatif anaerob, oksidaz negatif, hareketsiz veya hareketli (peritrik kamçılı), basiller şeklinde, kıvrımlı, kapsüllü, fimbriyalı, endospor oluşturmeyen, aerobik ve anaerobik ortamlarda gelişebilen bakterilerdir. İlk kez 1885 yılında Dr. Theodore Escherich tarafından yeni doğan dışkılarından izole edilmiştir (Çapan 2020).

Esherichia coli'nin birincil kaynağı, insanlar ve sıcakkanlı hayvanların bağırsak mikroflorası olup, bu canlıların bağırsaklarında yüksek oranda bulunmaktadır. Bu bakterinin gıdalarda varlığı akla dışkı (fekal) bulaşma riskini doğurmaktadır. Bağırsakların doğal mikroflorasında bulunan çoğu *Esherichia coli* suşu zararsız olup, sağlıklı bireylerde nadiren hastalığa sebebiyet vermektedir. Fakat bazı patojenik *Esherichia coli* suşları sağlıklı ve bağışıklığı zayıf olan kişilerde ve hayvanlarda, birtakım hastalıklara sebebiyet vermektedir. Bağırsak, safra ve idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, dizanteri, hemolitik üremik hastalık tablosu, pnömoni ve sepsis başlıca neden olduğu hastalıklardır (Croxen vd. 2013, Gomes vd. 2016, Ray ve Bhunia 2016, Güzel Seydim 2016, Halkman 2019, Çapan 2020).

Escherichia coli halk sağlığı açısından önemli bir problem olan diyare, özellikle yeni doğanlarda ve küçük çocuklarda morbidite (hastalık) ve mortaliteye (lm) sebebiyet vermektedir. Düşük ve orta gelirli ülkelerde, olumsuz yaşam koşullarından (yetersiz su, eğitim, temizlik gibi) kaynaklı ölümcül diyare hastalıklarına sık rastlanmaktadır. Virülans faktörlerine göre yapılan sınıflandırmada, gastrointestinal hastalıklara neden olan *Escherichia coli*’nin bilinen 6 adet virotipi bulunmaktadır. Bunlar, Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC), Enterotoksijenik *Escherichia coli* (ETEC), Enteroinvasiv *Escherichia coli* (EIEC), Enteropatojenik *Escherichia coli* (EPEC), Enteroaggregavite *Escherichia coli* (EAEC) ve Difüz aderans *Escherichia coli* (DAEC)’dir. EPEC ve ETEC suşları gıda kaynaklı toksikoenfeksiyon yaparken, diğer türler enfeksiyon etmenidir (Güzel Seydim 2016, Ray ve Bhunia 2016).

EPEC, İnsanlardaki diyareye sebep olan suş olarak tanımlanan ilk türdür. Sanitasyonun yetersiz olduğu durumlarda 10 yaş altı çocuklarda diyareye sebebiyet vermekte ve bu durum ocuk diyaresi olarak anılmaktadır. Bu bakteriler çocuklar dışında tavşan, köpek, ineklerde de etkili olduğu tespit edilmiştir. EPEC başlıca konağı insan olun, toksin oluşturmayan, invazif ilerleme gösteren bir bakteridir. Belirtilerin ortaya çıkması için 10^6 - 10^9 kob/mL bakterinin sindirim sistemine alınması yeterlidir. Hastalık semptomları, sulu ve yoğun diyare, kusma ve düşük ateşdir. Belirtiler kontamine gıdanın, vücut içerisine alınmasından minimum 12 saat sonrasında ortaya çıkabilmektedir (Güzel Seydim 2016, Ray ve Bhunia 2016, apan 2020).

ETEC, genellikle sanitasyon koşulları yetersiz olan ülkelere seyahat eden kişilerde tespit edilmektedir. Bu nedenle bu türün neden olduğu hastalık ‘turist ishali’ olarak bilinmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise yeni doğanlarda hastalık etkeni olmakta ve yılda yüz binlerce çocuğun ölümüne sebebiyet vermektedir. rettiği toksinler yüksek sıcaklıklara dayanıklı olup, bu toksinlerin vcoda alınmasından kaynaklı enfeksiyonlar oluşmaktadır. Gıdalarla bulaşabilmekte ve insanlarla taşınmaktadırlar. Yaşlılarda ve yeni doğanlarda semptomların ortaya çıkması için daha düşük enfektif doz gerekmekte olup minimal bulaş sayısı 10^8 - 10^9 kob/g’dır. Belirtiler, toksin üretimine bağlı olarak 12-72 saat aralığında kendini gösterebilmektedir. rettiği toksinlerden biri olan LT toksini, kolera benzeri işlev görmekte, hastalık belirtileri de hafif kolera şeklinde seyretmektedir. Baş ağrısı, mide bulantısı, karın ağrısı, ateş, sıvı kaybı, keyifsiz hal ve nadiren kusma temel belirtileridir. Özellikle ocuklarda, lme sebebiyet verme nedeni dehidrasyondur (apan 2020).

EIEC, *Shigella* benzeri dizanteri ve diyareye sebebiyet veren suşlar olup genellikle hareketsizdir. Laktoz, lisin ve dekarboksilaz negatiftir, invaziftir ve toksin üretmez. İnsanlar tarafından taşınmakta, dışkıyla gıdalara bulaşmakta ve böylelikle salgınlara sebebiyet vermektedir. Minimal enfektif dozu 10^6 - 10^9 kob/g'dır. Mide krampları, baş ağrısı, üşüme, yoğun sulu-kanlı diyare bilinen en önemli belirtileridir ve 8–24 saat (ortalama 11 saat) içinde ortaya çıkmakta olup semptomlar 7–12 gün sürebilmektedir. Enfeksiyonu geçiren kişiler taşıyıcı olarak hastalığı uzun süre yayabilirler (Güzel Seydim 2016).

EAEC, genellikle gelişmekte olan ülkelerde görülmekte ve çocuklarda, yetişkin bireylerde diyare etkenidir. Mukozlu diyare en etkili semptomları arasında olup belirtiler kontamine gıdanın tüketiminden 7-22 saat içerisinde ortaya çıkmaktadır. Hastalık bazen 14 güne kadar sürebilmektedir. Toksin üretmesine rağmen invazif değildir (Güzel Seydim 2016, Ray ve Bhunia 2016, Çapan 2020).

DAEC, 1-5 yaş aralığındaki çocuklarda diyareye neden olur, toksin üretmez ve invazif değildir (Güzel Seydim 2016).

EHEC, bu türe ait en önemli üye olan *Esherichia coli* O157:H7 olup, ölümle sonuçlanan çoğu gıda kaynaklı enfeksiyonlardan sorumludur. Diğer *Esherichia coli* türleri gibi optimum 30–42°C arasında üreme gösterirken, *Esherichia coli* O157:H7 diğer *Esherichia coli*'lerin geliştiği 44-45°C'da oldukça yavaş gelişmektedir. Bu türün sebep olduğu hastalığın tanımlanmasında en önemli semptom şiddetli kanlı diyaredir. Shiga benzeri toksinler üreten bu türün insanlarda oluşturduğu semptomlar; ani mide krampları, ateş, kusma ve sulu diyaredir. İshal zamanla kanlı diyareye dönebilmektedir. Semptomların belirtileri ortalama 3-9 günde ortaya çıkmaktadır. Genellikle koyun, keçi, köpek, martı, tavuk, kedi gibi hayvan dışkılarında tespit edildiği için hayvansal gıdalar risk etmenidir. Çiğ süt, salata, mayonez, fermente sert salam, bazı meyveler, çiğ sosis, filizler, sığır kıyması, kuzu eti, kümes hayvanlarının etleri riskli gıdalar olarak bilinmektedir. Ayrıca toprak ve sulama yapılan sular aracılığıyla da gıdalara bulaşabilmektedir (Güzel Seydim 2016, Ray ve Bhunia 2016, Çapan 2020).

Önlem için, hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulmalı, yeterli ısıtma işlemi ve yeterli soğutma işlemleri kullanılmalı ve gıdalar uygun koşullarda muhafaza edilmelidir. Çapraz bulaşmalar

mümkün olduğunca önlenmelidir. Mutfaklarda kullanılan ekipmanlar ve çalışma tezgâhlarının temizliğinin yeterli olup olmadığına dikkat edilmelidir (Ray ve Bhunia 2016, Çapan 2020).

2.4.3 *Listeria*

Listeria cinsi bakteriler, gram ve katalaz testleri pozitif, oksidaz negatif, çubuk şeklinde, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerobik, 20-25°C’de kültüre edildiği zaman hareketli(peritrik flagella), mikroaerofilik koşullarda da üreyebilen bir bakteri grubudur (Denis ve Ramet 1989).

Hammaddeden, gıda üretim prosesi basamaklarının herhangi bir aşamasına kadar birçok şekilde ortamı kontamine etmekte ve yetersiz hijyen koşullarında ortamda gelişim göstermektedir (Gilmour vd. 2010, Halkman 2019).

Listeria bacilli sınıfı, *Bacillales* takımı ve *Listeriaceae* ailesine aittir. Bu aile içerisinde; *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria welshimeri*, *Listeria ivanovii* ve *Listeria grayi*, *Listeria rocourtiae*, *Listeria weihenstephanensis* ve *Listeria marthii* cinsleri bulunmaktadır. Bu türler içinde *Listeria ivanovii*. insanlarda hastalığa neden olabilmektedir. (Ray ve Bhunia 2016).

Listeria monocytogenes 1981 yılında ilk kez Kanada’da lahana salatası tüketimiyle dikkat çekmiş ve günümüzde gıda kaynaklı enfeksiyonlar sonucunda, %30-40 mortalite oranına sebebiyet vermesinden dolayı önem arz etmektedir. *Listeria monocytogenes*, çürüyen sebzeler, su, toprak, kırsal, kentsel ortamlar, silaj, yemler, kanalizasyon suları ve hayvansal dışkıları gibi birçok yerde bulunmasına rağmen insanlarda görülen listeriozis genelde gıda kaynaklıdır (Güzel Seydim 2016, Çapan 2020).

Listeriozis salgınlarının büyük çoğunluğu; *Listeria monocytogenes* ile kontamine olmuş pastörize süt, çiğ süt ve süt ürünleri, lahana salatası, yumuşak peynirler, hindi sosis, söğüş et, yetersiz pişirilen tavuk, et, süt, deniz ürünleri ve taze ürünlerin tüketiminden kaynaklanmaktadır. Çiğ gıda ürünlerinin tüketiminden önce uygulanan yetersiz ısı işlem, buzdolabında uzun süre muhafaza ve ısı işlem gören gıdanın tekrar kontamine olması bu bakterinin insanlara bulaşmasında önemli kaynakları oluşturmaktadır. İnsanlarda görülen

listeriozisin %99'unun temel sebebi gıdalardır (Gilmour vd. 2010, Halkman 2019, Çapan 2020).

2.4.4 *Bacillus cereus*

Bacillaceae familyasına ait *Bacillus cereus*, gram pozitif, çubuk şekilli, çoğu hareketli, spor oluşturan, fakültatif anaerob bakterilerdir. Bu bakterinin sporları elips şeklinde olup, terminal veya santral formda bakterilerdir. *Bacillus cereus*'un ilk tanımlanması 1887 yılında gerçekleşmiştir. Ayrıca, gıda kaynaklı hastalık etmeni olan bir bakteri olarak tanımlanması 1949 yılında gerçekleşmiştir (Erkmen 2017).

Çoğunlukla 4-50°C gibi geniş sıcaklık aralığında gelişebilmekte olup en iyi gelişime sıcaklığı 28-35°C arasındadır. Psikrotolerant *Bacillus cereus*'lar süt ve süt ürünlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Bazı termofilik suşları 75°C sıcaklıkta bile gelişebilmektedir. Ortalama gelişim pH'ı 4,9-9,3 aralığında olup en uygun gelişme değeri 7,0 pH'dır. 0,950 a_w ve üzeri su aktivitesinde gelişebilen bu bakterinin bazı türleri, %10 NaCl içeren ortamlarda gelişmektedir. *Bacillus anthracis* dışındaki diğer türler gibi *Bacillus cereus* da hareket yeteneğine sahiptir. Bu bakteri toprak kökenli olup, yetişkin bireylerin %10'unun gastrointestinal sistemde doğal olarak bulunmaktadır (Ray ve Bhunia 2016, Çapan 2020).

Toprak kökenli olan bu bakteriler tarafından oluşan sporlar, rüzgâr aracılığıyla çevreye yayılabilmektedir (Halkman 2019). Ayrıca soğuk ve sıcak ortamlara, dezenfektan kullanımına bile dayanıklı olan sporları sayesinde çeşitli ortamlarda, hayatta kalabilmektedir (Gu vd. 2019).

Bacillus cereus'un diyare ve emetik olmak üzere iki tipi bulunmakta ve bu türler kontamine gıdanın tüketiminden sonra 8-24 saat içerisinde belirti vermektedir. Toksin oluşumu için 10⁵-10⁸ kob/g-mL hücrenin vücuda alınması gerekmektedir. Gıdanın tüketimiyle, sindirim sistemine alınan canlı ve toksik hücreler ince bağırsağa ulaştığında burada kolonize olmaktadır. Toksin pH 2-11 arası değerlerde kararlıdır ve 126°C'lerdeki ısıda aktivitesini korumaktadır. Toksinin inaktive olması için 56°C'de 5 dakika boyunca ısı işlem uygulanması gerekmektedir. Belirtiler hücre veya toksini içeren gıdanın tüketilmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Bulantı, kusma ve halsizlik gözlemlenen en önemli belirtileridir. Hastalık 8-24

saat boyunca sürebilmektedir. Gıda zehirlenmesine sebep; et ürünleri, kızartılmış veya pişirilmiş pirinç, mısır ve mısır nişastası, hububatlı gıdalar, şehriye, hamur, makarna, pizza, puding türleri ve patates püresi gibi gıdalardır (Ray ve Bhunia 2016, Erkmen 2017, Çapan 2020). Ancak az sayıda bulunan bakteri patojen özellik göstermemektedir (Erkmen 2017).

Doğada oldukça yaygın bulunan bu bakteriye gıdalarda sıklıkla rastlanmaktadır. Bakterinin gıda ile bulaşmasını önlemek amacıyla; riskli gıdaların tüketilmeden önce küçük porsiyonlar halinde hazırlanması, gıdalara yeterli ısıtma işlemi uygulanması, gıda hemen tüketilmeyecekse pişirme sonrası hızlı soğutma uygulanması, uygun sıcaklıklarda muhafaza edilmesi, tekrar ısıtma işlemi uygulanırken 75°C'nin üzerinde ısıtma yapılması, çapraz bulaşmayı önlemek amacıyla kullanılan alet ve ekipmanın yeterli temizliğinin sağlanması gerekmektedir. (Erkmen 2017).

2.4.5 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus gram pozitif, fakültatif anaerobik (*Staphylococcus saccharolyticus* anaerobik türü hariç), hareketsiz, katalaz pozitif, sporsuz ve kapsülsüz, mikroskoptaki görüntüsü yuvarlak üzüm salkımı şeklinde olan bir bakteridir. Cins adını Yunancada üzüm anlamına gelen '*Staphylo*' kelimesinden almaktadır. Stafilokoklar peptidoglikan tabakası ile teikoik asitler içeren sıradan bir gram pozitif hücre duvarı yapısına sahiptir (Doyle ve Beuchat 2007, Demirci 2014, Ray ve Bhunia 2016, Güzel Seydim 2016, Bhunia 2018, Bitrus vd. 2018, Halkman 2019).

Staphylococcus aureus, aerobik ortamlarda çoğalma yeteneğine sahip olup fermantatif metabolizma yeteneği de göstermektedir. Karbonhidratları fermente ederek hızlı bir şekilde metabolite edebilmektedir. Hücre dışında proteaz üretme yeteneğine sahip olan ve proteinleri parçalayan bu bakteri, uzun süre vücut dışında canlılığını koruyabilen tek insan patojeni bakteridir (Ray ve Bhunia 2016, Halkman 2019, Çapan 2020).

Geniş bir sıcaklık aralığında üreme yeteneğine sahip olan *Staphylococcus aureus*, ideal gelişme sıcaklığı 35-37°C arasındadır (Bhunia 2018). Bu bakteri mezofilik karakterde olmasına rağmen bazı suşları 5-10°C arasındaki sıcaklıklarda da gelişme özelliğine sahiptir. pH 4,5-9,3 aralığında gelişmekte ancak uygun gelişme pH'sı 7,0-7,5'dir. Bunun yanı sıra

bakterinin gelişebilmesi için su aktivite değeri aerobik ortamda 0,830-0,860 a_w , aneorobik ortamda ise 0,900 a_w olması gerekmektedir (Demirci 2014, Bitrus vd. 2018, Halkman 2019). *Staphylococcus aureus* birçok kimyasal bileşik, toksin ve enzim üretebilmekte olup, ürettiği ekzotoksinlerine enterotoksin adı verilmektedir. Uygun koşullar altında A, B, C1, C2, C3, D, E, G, H toksinlerinden birini veya birkaçını oluşturabilmektedirler. Enterotoksin A, en toksik olan türü iken B türü ısıya en dayanıklı olanıdır. Bakteri suşlarının bakteriyofajlara karşı farklı dirençleri olmakla birlikte, büyük çoğunluğu hemolisin, termonükleaz, koagülaz türü enzimler üretebilmektedir. Ürettiği bu enzimler *Staphylococcus aureus*'un tanınmasında büyük önem teşkil etmektedir (Güzel Seydim 2016, Ray ve Bhunia 2016).

Dünyada insanlar üzerinde yaşanan bakteriyel etkili hastalıkların en önemli etkenlerinden biri olan *Staphylococcus aureus* deri enfeksiyonları, kas ve kemik iltahaplanmaları (osteomiyelit, endokardit), pnömoni ve gıda zehirlenmelerine; kümes hayvanlarında septisemiye; artrite, atlarda botryomikoz, köpeklerde dermatit gibi klinik hastalıklara sebebiyet vermektedir. Gıdanın tüketilmesi sonucunda vücuda alınan enterotoksin mide mukozası reseptörlerini irrite ederek, vegal sinir ve sempatik sinirleri uyarmakta, kusma merkezlerini etkilenecek, şiddetli epigastik ağrı, bulantı, kusma ve pirozise yol açmaktadır. İnsanın doğal florasının bir bileşeni olan bu bakteri, her 100 kişiden biri taşımakta olduğundan, küreselleşmiş bir halk sağlığı sorunudur (Qiu vd. 2010, David vd. 2012, Bhattacharya vd. 2015, Bitrus vd. 2018, Bhunia 2018, Çapan 2020).

Staphylococcus aureus %90 oranla koagülaz pozitif enterotoksin üretmesinin yanı sıra üretmeyen türlerde içermektedir. Koagülaz aktivitesi önemli olan bu bakteri insanların nazofaringeal boşluğunda bulunmakta ve bu bakterilerin sadece %20 'si enterotoksin oluşturmakta ve bu suşlar gastroentrite neden olmaktadır. Bakterinin çoğalma hızı toksin gelişimi ile doğru orantılı olup, zehirlenmeye neden olacak toksinin üretilmesi için minimum 10^5 - 10^6 kob/g bakteri hücresinin vücuda alınması gerekmektedir. Toksine bağlı etkiler çoğu zaman 4 saat gibi kısa bir sürede ortaya çıkıp, hassas tüketici gruplarında daha düşük toksin ve daha düşük bakteri seviyelerinde etkili olabilmektedir (Ray ve Bhunia 2016, Güzel Seydim 2016, Halkman 2019).

Gıda maddesinde bulunan *Staphylococcus aureus*'un, sağlık problemine sebep oluşturabilecek sayıya ulaşmaması için bazı önlemler alınmalıdır. Bunlar; gıda maddesinin kontrollü ve hızlı

soğutulması ve pişmiş gıdaların parçalar halinde 75°C'ye ısıtılarak tüketilmesi, gıda üretiminde çalışan portör kişilerin gıda ile temas etmemesi ve personellerin eğitilmesi, yeterli pişirme ve ısıl işlem uygulamaları sayılabilmektedir (Ray ve Bhunia 2016, Güzel Seydim 2016, Halkman 2019, Çapan 2020).

2.5 Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotik Dirençlilik Mekanizması

Antibiyotik tanım olarak, bakterileri düşük yoğunlukta bile öldürebilen ya da gelişimini etkileyen, mantarlar, antinomisetler ve bakteriler gibi canlı yapılar tarafından oluşturulan veya sentezlenen maddelerdir (Yüce 2001).

Antibiyotik direnci, gereksiz ve uygunsuz kullanılan antibiyotiğin, mikroorganizmanın bazı suşlarına etki gösterirken, antibiyotiğe duyar gösteren bir suşun çeşitli direnç mekanizmasından birine dirençli hale dönmesinden kaynaklanmaktadır (Demirtürk ve Demirdal 2004). 1940'lı yıllarda, bazı adalardan alınan toprak ve dışkı örneklerinden, tetrasiklin ve streptomisine karşı dirençli bakterilerin tespit edilmesi; antibiyotik direncinin sadece yaygın antibiyotik kullanımından kaynaklı olmadığı sonucunu edilmiştir. Bu bakterilerin maruz kaldığı olumsuz çevre koşulları karşısında yaşamını sürdürmek amacıyla kullandığı savunma mekanizması da bu direncin bir parçası olarak kabul edilmiştir (Yüce 2001).

Antibiyotiklerin direnç mekanizması 3 grupta incelenebilir. Bunlar;

- 1) Hedef mikroorganizmada gerçekleşen değişimden kaynaklanan direnç,
- 2) Hücre duvarındaki geçirgenliğinin azalmasından kaynaklanan direnç,
- 3) Enzimatik olarak yıkıma uğrayan antibiyotikten kaynaklanan direnç olarak ayrılmaktadır (Gögebakan 2003).

Antibiyotikler etki mekanizmasına göre ise 5 sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar;

- 1) Hücre duvarı sentezini engelleyerek etki mekanizması oluşturanlar,
- 2) Protein sentezini engelleyerek etki mekanizması oluşturanlar,
- 3) Sitoplazmik membranın yapı ve fonksiyonunu engelleyerek etki mekanizması oluşturanlar,
- 4) Nükleik asit inhibitörleri ve

5) Kimyasal yapılarında bulunan benzerlikler sonucu bakteri metabolizmasını etkileyenler'dir (Akkan 1997).

2.6 Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Mekanizması

GRAS statüsüne ait olan LAB'ın probiyotik özelliğinden faydalanarak kullanılabilmeleri amacıyla antibiyotik direnç mekanizmalarının belirlenmesi FAO /WHO (2002) tarafından önerilmektedir. Aktarılabılır antibiyotik direnç genleri taşımamaları probiyotik suşların en temel şartıdır (Zhou vd. 2007). Günümüzde çeşitli sebeplerden dolayı antibiyotik kullanımı artmakta olup, bunun sonucunda çoğu patojen türü farklı antibiyotiklere karşı direnç göstermektedir (Meral ve Korukoğlu 2014).

Antibiyotik direnç geni, bakterilerde yapısal olarak bulunmakta ya da sonradan edinilen bir özellik olmaktadır. Yapısal direnç, doğal olarak oluşurken, sonradan edinilen direnç ise genetik mutasyonlardan veya diğer bakterilerden gelen yabancı DNA aktarımından kaynaklanmaktadır (Saarela vd. 2000). Edinilmiş antibiyotik dirençlilik geni canlı türlerin habitatlarında (insan ve hayvanların bağırsaklarında) bulunabilmektedir. Antibiyotik direnç geni, üretim esnasında dışkı ile kontamine olmuş hayvansal (et ve süt) ürünlere doğrudan bulaşabilmekte ve bunun sonucunda kontamine olmuş fermente gıdalardan tüketiciye aktarılmaktadır. Fermantasyonda başlıca rol alan laktik asit bakterilerinin gıdalardan edinilmiş oldukları antibiyotik direnci özelliği seçilmiş markerler sayesinde genetik modifikasyonlara (örneğin; metabolik özelliklerine göre gıdaya uyumlu vektör) uğratılabilmektedir (Teuber vd. 1999). Probiyotik niteliği taşıyan LAB'ın yeteri kadar tüketimi sağlandığında, bağırsak mikrobiyal dengesini sağlamakta ve eski formuna dönebilmesinde büyük önem arz etmektedir. Oluşturdukları bu yarardan dolayı zarar veren popülasyonun oluşturduğu etkileri ortadan kaldırabilmektedir (Ouwehand vd. 2002). Bununla birlikte patojenik mikroorganizmalara antibiyotik direnç genlerini transfer etme potansiyelleri unutulmamalıdır. Bilhassa bazı antibiyotik direnç genleri, özellikle de plazmidler tarafından kodlananlar mikroorganizmalar arasında transfer edilebilmektedir. Bu özellik direnç genlerinin probiyotikler tarafından endojen floraya mı yoksa patojenlere mi aktarabildiği sorusunu gündeme getirmektedir (McConnell vd. 1991).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

Araştırmada kullanılan laktik asit bakterileri Afyonkarahisar ili ve yakın çevresindeki köylerde üretilen süt ürünlerinden (peynir, yoğurt, tereyağı) izole edilmiştir.

3.1.1 Laktik Asit İzolasyon ve İdentifikasyonu

3.1.1.1 Laktik Asit Şüpheli Bakterilerinin Eldesi

Bu çalışmada; 30 farklı köy peynir, yoğurt ve tereyağı örneklerinden laboratuvar ortamında ve aseptik koşullar altında ambalajlar açılarak steril poşetlere numuneler alınmıştır. Mikrobiyolojik analizler için her bir numuneden 10'ar g alınarak üzerine 90 mL 1/4 kuvvetinde Ringer (115525, Merck, Almanya) çözeltisi eklendikten sonra stomacherde(Stomacher® 400 UK) 1,5 dakika orta hızda homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan, aynı seyreltme çözeltisi kullanılarak 10^{-6} oranına kadar seyreltmeler yapılmıştır. Seyreltmesi yapılan örnekler Çizelge 3.1'de bulunan agarlara inokülüne edilmiş ve belirtilen inkübasyon koşullarında bekletilmiştir.

Çizelge 3.1 LAB besiyeri ve inkübasyon koşulları.

MRS Agar (Merck,1.10660 , Almanya)	<i>Lactobacillus</i> türlerinin izolasyonu	37°C 'de, 48 saat, anaerob
M17 Agar (Merck, 1.15108, Almanya)	<i>Streptococcus</i> ve <i>Lactococcus</i> türü bakterilerin izolasyonu	37°C'de 48 saat aerob
MRS-D-Sorbitol Agar (Merck, 1.10660, Almanya)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ve <i>Lactobacillus casei</i> izolasyonu	37°C'de, 48 saat, anaerob
ST Agar (Himedia, M948, Hindistan)	<i>Streptococcus</i> izolasyonu	37°C'de, 48 saat, aerob
TOS-Propionate Agar (Merck, 1.00043, Almanya)	<i>Bifidobacterium</i> İzolasyonu	37°C'de, 72 saat, anaerob
MRS Broth (Merck, 1.10661 , Almanya)	Kültürlerin aktivasyonu	37°C'de, 48 saat, anaerob
M17 Broth (Merck, 1.15029, Almanya)	Kültürlerin aktivasyonu	37°C'de, 48 saat, anaerob

MRS:De Man, Rogosa and Sharpe ST:Streptococcus thermophilus Isolation Agar

İnkübasyon sonunda besiyerlerinde gelişen koloniler öncelikle morfolojik özellikleri dikkate alınarak ayrı ayrı Çizelge 3.1 de belirtilen besiyerlerine tekrar inoküle edilmiş ve aynı koşullarda ikinci kez inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda saflık kontrolü yapılan izolatların mikroskopik görünümü, gram boyama sonucu ve katalaz aktiviteleri incelenmiştir.

3.1.1.2 Laktik Asit Bakterilerinin Gram Boyaması

İnkübasyon sonunda saflık kontrolleri yapılan ve gelişmelerini tamamlamış olan bakterilerden temiz lam üzerine, steril öze yardımıyla alınmıştır. Bir damla saf su damlatıldıktan sonra steril öze yardımıyla bakterinin lam üzerinde homojen bir şekilde yayılımı sağlanmıştır. Daha sonra bakterilerin lama yapışmasını sağlamak amacıyla bek alevinde fikse edilmiştir. Fiksasyon işlemi sayesinde lam yüzeyine tutunan bakteriler, ilk olarak 1-2 dakika süreyle kristal viyole ile boyanmıştır. Boya distile su yardımıyla yıkanarak lam yüzeyinden uzaklaştırılmıştır. Sonrasında lugol çözeltisi ile 1 dakika boyanmıştır. Lam yüzeyinde kalan fazla boya tekrar distile su yardımıyla yıkanarak uzaklaştırılmış ve sonra %95'lik etanol ile 15 saniye muamele edilmiştir. Tekrar yıkanan lamın üzerine 30 saniye boyunca safranin ile boyama yapılmıştır. Boyama işlemi sonrasında lam tekrar saf su ile yıkanıp kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan lamlar mikroskop (SOPtop, Mode:OD400UHW-P) altında immersiyon yağı varlığında x100'lük objektif ile incelenmiştir. Gram pozitif bakteriler mavi-mor renkli, gram negatif bakteriler pembe renkli olarak görülmüştür (Hızarcı 2011).

3.1.1.3 Laktik Asit Bakterilerinin Mikroskopik Görüntüleri

Gram boyaması yapılan kültürler mikroskop altında ayrı ayrı incelenerek morfolojik olarak birbirinden ayrılmıştır. Ardında uygun besiyerlerine inokule edilerek Çizelge 3.1'deki koşullarda inkübasyona bırakılmıştır.

3.1.1.4 Katalaz Testi

Bu test sonucunda elde edilen izolatların katalaz enzimine sahip olup olmadıkları belirlenmiştir. Katalaz enzimi, elektron transfer zincirinin sonunda açığa çıkan H_2O_2 'yi parçalayıp, H_2O ve O_2 gazına dönüştürmektedir. Test sonunda kabarcıkların görünmesi O_2 gazının açığa çıktığının işaretidir (Arda 2000, Harley ve Prescott 2002).

Katalaz testi için hazırlanan bu bakterilerden steril öze yardımıyla bir öze dolusu alınarak lam üzerine aktarılmıştır. Ardından bakteri üzerine bir damla %5'lik H₂O₂ damlatıldıktan sonra steril öze yardımıyla dairesel hareketler yapılarak bakterinin H₂O₂ içerisine nüfuz etmesi sağlanmıştır. Ardından kabarcık oluşması veya oluşmaması durumu gözlenmiştir. Kabarcık oluşan bakteriler katalaz pozitif olarak değerlendirilirken , kabarcık oluşmayan bakteriler katalaz enzimi üretmediği için katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Arda 2000, Harley ve Prescott 2002).

3.1.1.5 Farklı Sıcaklıklarda Üreme

Bakteri izolatlarının farklı sıcaklık değerlerinde üremesinin belirlenmesi amacıyla, MRS ve M17 agar ve broth besiyeri hazırlanmıştır. 48 saat inkübasyon sonrasında suşların 10°C-37°C - 45°C'deki gelişimleri incelenmiştir (Facklam vd. 2002).

3.1.1.6 Farklı pH Değerlerinde Üreme

Bakteri izolatların farklı pH aralığında üremesinin belirlenmesi amacıyla hazırlanan MRS Broth – MRS Agar besiyerleri farklı pH değerlerinde (pH:4,8 - pH: 6,5 - pH:9,8) ayarlanmıştır. Daha sonra, test izolatları pipet yardımıyla tüplere, steril öze yardımıyla agarlara inoküle edilip içerisine gaz oluşumunu gözlemlemek amacıyla steril durhan tüpleri atılmıştır. 37°C'de 24-48 saat inkübasyon süresi sonunda bulanıklık oluşan tüpler ve üreme tespit edilen agarlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. Brothların içerisine pH metre (Hanna, HI 2215, Almanya) elektrodu daldırılıp oda sıcaklığında iki farklı okuma yapılmıştır (Tassou vd. 2002, Şimşek 2003, Karagöl 2017). İlk ölçüm öncesinde pH metre, pH 4,0 ve 7,0 tamponları kullanılarak kalibre edilmiştir.

3.1.1.7 Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Üreme

Bakteri izolatlarının farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme özelliklerini belirlemek amacıyla % 4 - %6 - %8 - %10 NaCl içeren MRS ve M17 agar ve broth besiyerleri kullanılmıştır. Saflaştırılarak stoklanan kültürler MRS ve M17 agar ve broth besiyerine, steril bir öze yardımıyla inoküle edilmiştir. 37°C'de 48 saat anaerobik koşullarda inkübasyonun ardından besiyerinde gelişme dereceleri incelenmiştir (Yıldız 2011).

3.1.1.8 Farklı Şeker Türlerinde Fermantasyonları

Bu testin ilk aşamasında, 9'ar mL %1 laktoz, maltoz, sakkaroz, sorbitol, mannitol, glukoz, galaktoz içeren MRS ve M17 Broth ve MRS ve M17 Agar besiyerleri hazırlanmıştır. Hazırlanan tüpler içerisine durham tüpleri ters çevrilerek yerleştirmiştir. Ardından hazırlanan tüpler 121°C'de 1 Atm basınçta 20 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Ardında steril öze yardımıyla yine bir öze dolusu bakteri tüplere inoküle edilmiştir. Hazırlanan besiyerlerine ise laktik asit bakterileri steril öze aracılığıyla ile çizme yöntemi kullanılarak inoküle edilmiştir. Tüpler ve besiyerleri 37°C'de 24-48 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda brothlar içerisindeki durham tüplerindeki gaz oluşumu, bulanıklık ve pH değerleri kontrol edilmiştir. Gaz üreten, bulanıklık oluşturan ve pH değerini düşüren bakteriler heterofermantatif olarak değerlendirilirken, gaz üretmeyen ancak bulanıklık oluşturan ve pH değerini düşüren bakteriler homofermantatif olarak değerlendirmiştir. Herhangi bir değişim gözlenmeyen tüpler ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Besiyerlerinde ise gelişme olup olmadığı kontrol edilmiştir (Arslan 2017).

3.1.1.9 İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Doğrulanması

İzole edilen laktik asit bakterilerin identifikasyonunda üretici firmanın talimatları doğrultusunda API 50 CHL ve API 20 STREP (Bio Merieux, France) test kitleri kullanılmıştır.

İzolasyonu yapılan ve tür özelliklerine bakılan laktik asit bakterilerinin doğrulanması amacıyla kullanılan API 50 CHL ve API 20 STREP kutusu (tepsi ve kapak)'nun kapak kısmında bulunan kuyucuklar yaklaşık 10 ml distile su ile ıslatılmıştır. Burada amaç nemli bir ortam sağlamaktır. Üzerine test kitleri yerleştirildikten sonra kendi besiyerinde inkübasyona bıraktığımız şüpheli laktik asit bakterisinden steril öze yardımıyla 5 mL sıvı içeren API süspansiyon ortamına alınarak homojen bir karışım elde edene kadar karıştırılmıştır. Daha sonra 10 ml süspansiyon API 50 CHL Medium ve API 20 STREP Medium brothuna alınarak homojen bir bulanıklık elde edilmiştir. Elde edilen bulanıklığın derecesi McFarland bulanıklık standardı ile kontrol edilmiştir. İnokulum süspansiyon yoğunluğu 0,5 McFarland standardına eşitlenecek şekilde dansimetre (Biosan 1B, Türkiye) de ayarlanmıştır. Ölçüm öncesinde tampon çözeltileri kullanarak kalibrasyon işlemi yapılmıştır. Elde edilen süspansiyondan kit

kuyucuklarına aktarılmıştır. Kuyucuklar doldurulduktan sonra yüzeyleri mineralli yap ile kaplanarak kit kapakları kapatılmıştır. 37°C’de 24 ve 48 saat sonucunda kuyucukta oluşan renk değişimleri göz önüne alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Kuyucuklarda bulunan karbon kaynağının kullanılması sonucu mavi renkte olan kuyucuklar sarı renge dönmektedir. Bu renk değişimi pozitif olarak değerlendirilirken renk değişimi olmayan kuyucuklar negatif olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar apiwebTM tanımlamasıyla değerlendirilmiştir.

3.2 Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Analizleri

3.2.1 Laktik Asit İçeren Disklerin Hazırlanması

Laktik asit bakterileri spesifik besiyerinde, Çizelge 3.1’ deki koşullara göre inokübasyona bırakılmıştır. Daha sonra besiyeri yüzeyinde tek halde gelişen kolonilerden steril öze yardımı ile alınmıştır. Alınan koloniler steril cam tüplere hazırlanmış fizyolojik tuzlu su içinde süspanse edilerek homojen bir bulanıklık elde edilene kadar karıştırma işlemi devam etmiştir. Elde edilen bulanıklığın derecesi McFarland bulanıklık standardı ile kontrol edilmiştir. İnokulum süspansiyon yoğunluğu 0,5 McFarland standardına eşitlenecek şekilde dansimetre (Biosan 1B, Türkiye) de ayarlanmıştır (Akarca ve Başpınar 2019). Ölçüm öncesinde tampon çözeltileri kullanarak kalibrasyon işlemi yapılmıştır. Hazırlanan laktik asit bakterileri ayrı ayrı steril petri kutularında bulunan boş antibiyogram diskler üzerine (Bio-Disk 316010001) steril uçlu otomatik pipet (Research Plus, Eppendorf, Almanya) yardımı ile 10µL ilave edilmiştir. Laktik asit bakterilerinin boş antibiyogram diskler tarafından emilmesi için petri kutularının (90 mm, Fıratmed, Türkiye) kapakları kapalı şekilde buzdolabında 4°C’de 1 saat süre ile bekletilmiştir.

3.2.2 Patojen Bakterilerin Hazırlanması

Araştırmada kullanılan patojen bakteriler ve özellikleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 Patojen bakteriler, ATCC numaraları, kullanılan besiyeri ve inkübasyon şartları.

Bakteri Adı	ATCC	Kullanılan besiyeri	İnkübasyon şartları
Esherichia coli	(ATCC 25922)	TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) Agar (Merck,1.16122,Almanya)	37 °C’de 16-20 saat

Çizelge 3.2 Patojen bakteriler, ATCC numaraları, kullanılan besiyeri ve inkübasyon şartları.

E. coli 0157 H7	(ATCC 43895)	Sorbitol-MacConkey Agar (Merck,1.09207,Almanya)	37 °C'de 16-20 saat
Salmonella spp	-	XLD(Xylose Lysine Deoxycholate) Agar (Merck,1.05287,Almanya)	37 °C'de 16-20 saat
Salmonella Typhimurium	(ATCC 14028)	XLD(Xylose Lysine Deoxycholate) Agar (Merck,1.05287,Almanya)	37 °C'de 16-20 saat
Salmonella Typhi	(ATCC 19430)	XLD(Xylose Lysine Deoxycholate) Agar (Merck,1.05287,Almanya)	37 °C'de 16-20 saat
Salmonella Enderitis	(ATCC 49223)	XLD(Xylose Lysine Deoxycholate) Agar (Merck,1.05287,Almanya)	37 °C'de 16-20 saat
Listeria monocytogenes	(ATCC 51774)	Oxford- Listeria-Selective Agar (Merck,1.07004,Almanya)	%5 CO ₂ anaerobik ortamda, 37 °C'de 16-20 saat
Listeria ivanovii	(ATCC 19119)	Oxford- Listeria-Selective Agar (Merck,1.07004,Almanya)	%5 CO ₂ anaerobik ortamda, 37 °C'de 16-20 saat
Staphylococcus aureus	(ATCC 6538)	Baird- Parker Agar (Merck,1.05406,Almanya)	37 °C'de 16-20 saat
Bacillus cereus	(ATCC 14579)	VRBD(Violet Red Dextrose)Agar (Merck,1.10275,Almanya)	30 °C 'de 16-24 saat

3.2.3 İnokulumların Hazırlanması

Bu analizde kullanılan patojen bakteriler, spesifik besiyerlerinde üretilmiş ve bir gecelik kültürlerde gelişen kolonilerden steril bir öze yardımıyla alınmıştır. Alınan koloniler cam tüpler içerisindeki fizyolojik tuzlu su çözeltisine süspanse edilerek homojen bir bulanıklık elde edilene kadar karıştırma işlemi devam etmiştir. İnokulum süspansiyon yoğunluğu 0,5 McFarland standardına eşitlenecek şekilde dansimetre (Biosan 1B, Türkiye) kullanılarak ayarlanmıştır (Akarca ve Başpınar 2019).

3.2.4 Disk Difüzyon Metodunun Uygulanması

Hazırlanan patojen bakterilerden steril pipet (Scorex, Acura 825) yardımıyla 0,1 ml (10^6 - 10^7 kob/mL) alınarak Muller Hilton Agar (MH) (Merck 1,05437 Almanya) yüzeyine inokule edilmiştir. Daha sonra steril bir cam drigalski kullanılarak besiyeri yüzeyine homojen olacak bir şekilde yayılmıştır. İnokulumun besiyeri tarafından emilebilmesi amacıyla 10 dk bekletilmiştir. Ardından laktik asit bakterileri inoküle edilmiş diskler (Bio-Disk 316010001)

agar yüzeyine, oluşacak zonların birbirine değmeyeceği kadar uzaklıkta petri üzerine yerleştirilmiştir (Akarca ve Başpınar 2019). Ardından Çizelge 3.2’deki belirtilen koşullarda inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresinin sonrasında disklerin etrafında oluşan zonların çapları dijital kumpas yardımıyla (Mitutoyo, 500-181-30 Japan), yeterli ışık alan bir ortamda, mm cinsinden ölçülmüştür (Akarca ve Başpınar 2019).

3.2.5 Antibiyotik İçeren Disklerin Hazırlanması

Araştırmada izole edilen LAB’nin antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi amacıyla Disk Diffüzyon metodu kullanılmıştır. Bu metotta kullanılan disklerin özellikleri ve kodları Çizelge 3.4’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.3 Kullanılan antibiyotik disklerin kodları ve türleri.

KODU	Antibiyotik türü
CL 30	Cephalexin
Am 10	Ampicillin
FD 10	Fusidic acid
E 15	Erythromycin
C 30	Chloramphenicol
TE 30	Tetracycline
S 10	Streptomycin
L 2	Lincomycin
P 10	Penicillin
DA 2	Clindamycin
AMC 30	Amoxicillin

3.2.6 İnokulumların Hazırlanması

Çalışma esnasında izole edilen laktik asit bakterileri türlerine özgü şekilde gelişim gösterecekleri spesifik besiyerinde Çizelge 3.1’ deki koşullara göre inkübasyona bırakılmıştır. Besiyeri yüzeyinde tek halde gelişen kolonilerden, steril öze yardımı ile alınmıştır. Alınan koloniler steril cam tüplere hazırlanmış fizyolojik tuzlu su içinde süspanse edilerek homojen bir bulanıklık elde edilene kadar karıştırma işlemine devam edilmiştir. Elde edilen bulanıklığın derecesi McFarland bulanıklık standardı ile kontrol edilmiştir. İnokulum süspansiyon yoğunluğu 0,5 McFarland standardına eşitlenecek şekilde dansimetre (Biosan 1B, Türkiye) yardımıyla ayarlanmıştır (Akarca ve Başpınar 2019).

3.2.7 Disk Difüzyon Metodunun Uygulanması

Hazırlanan laktik asit bakterilerinden steril pipet (Scorex, Acura 825) yardımıyla 0,1 mL (10^6 - 10^7 kob/mL) alınarak MH Agar yüzeyine inokule edilmiştir. Steril bir cam drigalski yardımıyla besiyeri yüzeye homojen bir şekilde yayılan laktik asit bakterilerinin besiyeri tarafından tam emilebilmesi amacıyla 10 dk bekletilmiştir. Ardından antibiyotik içeren diskler (Çizelge 3.4) petri yüzeyine, oluşacak zonların birbirine değmeyeceği kadar uzaklıkta yerleştirilmiştir (Akarca ve Başpınar 2019). Petri kutuları antimikrobiyal duyarlılık testleri EUCAST da belirtilen koşullar altında %5 CO₂ anaerobik ortamda, 30°C’de 16-20 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresinin sonrasında disklerin etrafında oluşan zonların çapları dijital bir kumpas yardımıyla (Mitutoyo, 500-181-30 Japan), yeterli ışık alan bir ortamda mm cinsinden ölçülmüştür (Akarca ve Başpınar 2019).

3.3 Laktik Asit Bakterilerinin Proteolitik Aktivitesi

Laktik asit bakterilerinin sahip olduğu proteolitik aktivite yeteneği, 30g/L jeletinaz ilavesi ile modifiye edilmiş MRS agar ve Kalsiyum Kazeinat (KK) agar ortamlarında oluşturdukları zonların incelenmesi sonucunda belirlenmiştir (Landeta vd. 2013).

Jelatin içeren MRS agara ve KK agara ayrı ayrı aktif kültürden 10 µL inoküle edilmiş ve steril cam drigalski yardımıyla besiyeri yüzeye homojen bir şekilde yayılmıştır. Hazırlanan besiyerler 30°C’de 24 s süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda gelişim

özellikleri, besiyerindeki renk değişimi özelliklerine göre pozitif veya negatif olarak belirlenmiştir.

3.4 Laktik Asit Bakterilerinin Lipolitik Aktivitesi

İzole edilen laktik asit bakterilerinin lipolitik aktivite yetenekleri Spirit Blue agar(Himedia, M445, Hindistan) ve %1 Tween 80/Tween 20 içeren MRS agar ortamlarında belirlenmiştir (Landeta vd. 2013).

Hazırlanan agarlara ayrı ayrı aktif kültürlerden 10 µl inoküle edilmiş ve steril cam drigalski yardımıyla besiyeri yüzeye homojen bir şekilde yayılmıştır. Hazırlanan besiyerleri 30°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda suşların gelişme özellikleri, besiyerindeki renk değişimine göre pozitif veya negatif olarak belirlenmiştir.

3.5 Laktik Asit Bakterilerinin Nitrat-Redüktaz Aktivitesi

İzole edilen laktik asit bakterilerinin nitrat-redüktaz aktivitesi % 0.1 g KNO₃ içeren YT agar (Himedia M1369, Hindistan) ortamlarında belirlenmiştir. Hazırlanan besiyerinin katılaşmasından sonra ortasına, steril bir öze yardımıyla 6 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Kullanılacak NIT 1 ve NIT2 solüsyonları çizelge 3.9’da verilmiştir. Yapılan işlem basamakları Şekil 3.1’de verilmiştir (Miralles vd. 1996).

Çizelge 3.4 NIT 1 –NIT 2 solüsyonlarının hazırlanması.

1:1 Solüsyon NIT1	1:1 Solüsyon NIT2
0.8 gr sülfanik asit	0.6 gr N-N-dimetil-1-Naphthylamine
100 mL 5 N asetik asit	100 mL 5 N asetik asit

İzole edilen laktik asit bakterilerinin MRS Broth ortamında bir gecelik inkübasyonu sonrasında steril pipet yardımıyla 0,1 mL (10^6 - 10^7 kob/mL) alınarak santrifüj tüplerine aktarılmıştır. 10000 r.p.m.’de 5 dk süre ile santrifüj işlemi uygulanan tüpler üzerinde oluşan üst faz dökülmüştür. Tüpler üzerine fosfat buffer eklenerek tekrar 10000 r.p.m.’de 5 dk süre ile santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj işlemi uygulanan tüpler üzerinde oluşan üst faz

tekrar dökülmüştür ve tüpler üzerine fosfat buffer eklenerek tekrar 10000 r.p.m.'de 5 dk süre ile santrifüj işlemi uygulanmıştır. Tüpler üzerine tekrardan fosfat buffer eklenerek YT agarda hazırlanan 6mm çaplı kuyucuklar içerisine, hazırlanan sıvıdan 100 µl ilave edilmiştir. Hazırlanan numune sırasıyla 30°C'de 7 saat, 20°C'de 24 saat, 15°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda hazırlanan NIT1 ve NIT2 çözeltileri damlalık yardımıyla kuyucuk üzerine dökülmüştür. İşlem sonrasında kuyucuk üzerinde kırmızı halka oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Miralles vd. 1996).



4. BULGULAR

4.1 Laktik Asit Bakterilerinin Gram Boyaması, Farklı Sıcaklık, Tuz, pH ve Şeker Değerlerinde Üremesi

Afyonkarahisar ili ve yakın çevresinde köylerde üretilen süt ürünlerinden (Peynir, yoğurt, Tereyağı) izole edilen laktik asit bakterilerinin gram boyama, farklı sıcaklıklarda üreme, farklı tuz konsantrasyonlarında üreme, farklı pH değerlerinde üreme ve farklı şeker konsantrasyonlarında üreme değerleri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.



Çizelge 4.1 LAB'ın gram boyaması, farklı sıcaklık, tuz, pH değerlerinde üreme değerleri ile şeker fermentasyon sonuçları.

	Gram boyama	Katalaz testi	%4 Tuz	%6 Tuz	%8 Tuz	%10 Tuz	4.8 pH	6.5 pH	9.8 pH	10°C	37°C	45°C	Laktoz	Maltoz	Sakkaroz	Sorbitol	Mannitol	Glukoz	Galaktoz	Biyokimyasa Tanısı
1	+	-	++	++	--	--	++	++	--	--	++	++	--	++	++	++	--	++	--	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
2	+	-	++	++	--	--	--	++	++	--	++	++	++	++	++	++	++	++	++	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
3	+	-	++	++	--	--	++	--	--	++	++	--	++	++	++	++	++	++	++	<i>Lactobacillus casei</i>
4	+	-	++	++	--	--	--	++	--	--	++	++	--	--	--	--	--	--	--	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. delbrueckii</i>
5	+	-	++	++	--	--	++	++	--	++	++	--	++	++	--	--	--	--	--	<i>Lactobacillus kefir</i>
6	+	-	++	++	++	++	++	++	--	--	++	++	++	++	++	++	++	++	++	<i>Lactobacillus lactis</i>
7	+	-	++	++	--	--	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	<i>Lactobacillus paracasei</i>
8	+	-	++	++	--	--	++	--	--	--	++	++	++	--	--	--	++	++	++	<i>Streptococcus thermophilus</i>
9	+	-	++	++	--	--	++	++	--	--	++	++	++	--	--	--	++	++	++	<i>Streptococcus kefir</i>
10	+	-	++	++	++	++	++	--	++	++	++	--	++	++	++	++	++	++	++	<i>Lactococcus lactis</i>
11	+	-	--	++	++	++	--	--	++	++	++	--	++	--	++	++	++	++	++	<i>Lactococcus cremoris</i>
12	+	-	++	++	--	--	++	--	++	--	++	++	++	--	--	--	--	--	++	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
13	+	-	++	++	++	++	--	++	--	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	<i>Pediococcus acidilactici</i>
14	+	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	++	++	++	++	++	++	++	<i>Lactobacillus paracasei subsp. paracasei</i>
15	+	-	++	--	--	--	++	++	--	++	++	++	++	++	++	++	--	++	++	<i>Lactococcus lactis spp lactis</i>
16	+	-	++	--	++	++	++	++	--	++	++	--	++	++	++	++	++	++	++	<i>Lactobacillus plantum</i>
17	+	-	++	++	--	--	++	++	++	--	++	++	++	++	++	++	++	++	++	<i>Lactobacillus helveticus</i>
18	+	-	++	++	--	--	--	++	--	++	++	--	++	++	++	--	--	++	++	<i>Lactobacillus fermentum</i>
19	+	-	++	++	++	++	--	++	++	++	++	--	++	++	++	++	++	++	++	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
20	+	-	++	++	++	--	--	++	++	++	++	--	++	++	++	++	++	++	++	<i>Leuconostoc lactis</i>

İzole edilen laktik asit bakterilerin identifikasyonu üretici firmanın talimatları doğrultusunda API 50 CHL ve API 20 STREP test kitleri kullanılarak yapılmıştır.

4.2 Lipolitik, Proteolitik ve Nitrat- Redüktaz Aktivite Değerleri

İzole edilen laktik asit bakterilerinin Lipolitik, Proteolitik, Nitraz-Redüktaz aktivite gibi teknolojik özellikleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 LAB’ın lipolitik, proteolitik ve nitrat-redüktaz aktivitelerinin belirlenmesi.

Laktik Asit Bakterileri	Lipolitik Aktivitesi		Proteolitik Aktivitesi		Nitrat-Redüktaz Aktivitesi
	Blue Agar	20/80 MRS Agar	KK Agar	Jelatin İçeren MRS Agar	SONUÇ
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	++	++	++	--	--
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	++	++	--	--	--
<i>Lactobacillus casei</i>	++	--	++	--	--
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	++	--	++	--	++
<i>Lactobacillus kefir</i>	++	++	++	--	--
<i>Lactobacillus lactis</i>	++	--	++	--	++
<i>Lactobacillus paracasei</i>	++	--	--	--	++
<i>Streptococcus thermophilus</i>	++	--	--	--	--
<i>Streptococcus kefir</i>	++	++	--	--	++
<i>Lactococcus lactis</i>	++	--	--	--	++
<i>Lactococcus cremoris</i>	--	--	--	--	++
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	--	--	--	++	++
<i>Pediococcus acidilactici</i>	++	++	++	--	--
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	++	++	++	--	++
<i>Lactococcus lactis</i> spp <i>lactis</i>	--	++	--	--	++
<i>Lactobacillus plantum</i>	++	++	--	--	++
<i>Lactobacillus helveticus</i>	++	++	--	--	++
<i>Lactobacillus fermentum</i>	++	++	--	--	--
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	--	++	--	--	--
<i>Leuconostoc lactis</i>	++	++	++	--	--

4.3 Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Gıda Patojenleri Üzerindeki Antibakteriyel Etkileri

İzole edilen laktik asit bakterilerinin gıda sanayisi açısından önemli bazı patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkileri Çizelge 4.3’de, Laktik asit bakterilerinin, bazı gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri Çizelge 4.4’de verilmiştir

Çizelge 4.3 İzole edilen LAB’ın bazı gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisi (mm zon çapı).

Patojen Bakteri /Laktik Asit Bakterisi	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus kefir</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.30±0.11 ^{Fd}	9.97±0.08 ^{CDEb}	9.53±0.03 ^{DEb}	9.83±0.12 ^{CDEb}	12.99±1.37 ^{Aa}	10.35±0.32 ^{DEa}
<i>Listeria ivanovii</i>	6.00±0.00 ^{If}	6.00±0.00 ^{Ie}	6.00±0.00 ^{Ie}	7.13±0.09 ^{FGHd}	9.08±0.35 ^{CDcd}	7.77±0.07 ^{EFc}
<i>Listeria monostogenes</i>	6.70±0.12 ^{CDe}	6.00±0.00 ^{De}	7.37±0.24 ^{Cd}	9.07±0.08 ^{Bd}	11.39±1.21 ^{Aab}	9.63±0.03 ^{Bb}
<i>Salmonella Typhimurium</i>	10.50±0.11 ^{DEb}	6.00±0.00 ^{He}	10.53±0.03 ^{DEa}	7.10±0.10 ^{Gd}	8.63±0.29 ^{Fcd}	6.00±0.00 ^{Hd}
<i>Salmonella spp.</i>	7.30±0.12 ^{Jd}	8.53±0.03 ^{GHIJd}	9.00±0.06 ^{EFGHc}	10.27±0.15 ^{BCDEa}	8.83±0.37 ^{FGHIcd}	7.63±0.38 ^{IJc}
<i>Salmonella Typhi</i>	10.90±0.11 ^{Ca}	10.73±0.12 ^{Ca}	10.40±0.21 ^{CDa}	9.43±0.12 ^{DEFc}	9.53±0.35 ^{DEFbcd}	10.37±0.18 ^{CDa}
<i>Salmonella Enderitis</i>	10.06±0.15 ^{ABCc}	9.23±0.14 ^{CDEc}	9.23±0.15 ^{CDEbc}	6.57±0.07 ^{He}	10.28±0.60 ^{Abc}	10.00±0.40 ^{ABCab}
<i>Escherichia coli</i>	6.00±0.00 ^{Cf}	6.00±0.00 ^{Ce}	6.00±0.00 ^{Ce}	6.00±0.00 ^{Cf}	6.00±0.00 ^{Ce}	6.00±0.00 ^{Cd}
<i>Escherichia coli</i> O:157H:7	6.00±0.00 ^{Cf}	6.00±0.00 ^{Ce}	6.00±0.00 ^{Ce}	6.00±0.00 ^{Cf}	6.00±0.00 ^{Ce}	6.00±0.00 ^{Cd}
<i>Bacillus cereus</i>	6.00±0.00 ^{Hf}	6.00±0.00 ^{He}	7.63±0.06 ^{EFd}	6.00±0.00 ^{Hf}	7.85±0.30 ^{Ede}	6.00±0.00 ^{Hd}

a - 1 (↓): Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip değerler istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılık gösterir (P<0.05). A - E (→): Aynı satırda farklı büyük harflere sahip değerler istatistiksel olarak farklılık gösterir (P<0.05)

Çizelge 4.3 (Devam) İzole edilen LAB'ın bazı gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisi (mm zon çapı).

Patojen Bakteri /Laktik Asit Bakterisi	<i>Lactobacillus</i> <i>paracasei</i>	<i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>kefir</i>	<i>Lactococcus</i> <i>lactis</i>	<i>Lactococcus</i> <i>cremoris</i>	<i>Bifidobacterium</i> <i>bifidum</i>	<i>Pediococcus</i> <i>acidilactici</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	10.89±0.35 ^{BCDb}	10.63±0.13 ^{B^{CDEb}}	10.93±0.29 ^{BCa}	6.37±0.07 ^{Fd}	10.79±0.25 ^{BCDa}	9.40±0.10 ^{Eb}	13.68±0.44 ^{Ab}
<i>Listeria ivanovii</i>	8.23±0.17 ^{DEd}	6.00±0.00 ^{Ie}	6.57±0.18 ^{GHle}	6.00±0.00 ^{Ie}	6.33±0.09 ^{Hlf}	7.10±0.12 ^{FGHc}	12.97±0.70 ^{Bb}
<i>Listeria monostogenes</i>	7.55±0.02 ^{Ce}	6.00±0.00 ^{Be}	6.00±0.00 ^{Bf}	6.00±0.00 ^{Be}	9.93±0.28 ^{Bb}	6.00±0.00 ^{Bd}	8.95±0.15 ^{B^c}
<i>Salmonella Typhimurium</i>	7.72±0.03 ^{Ge}	10.05±0.04 ^{Ec}	8.63±0.07 ^{Fc}	8.90±0.15 ^{Fb}	7.70±0.11 ^{Ge}	6.00±0.00 ^{Hd}	16.12±0.72 ^{Aa}
<i>Salmonella spp.</i>	8.34±0.03 ^{GHIJd}	11.27±0.14 ^{Ba}	8.85±0.32 ^{FGHI^c}	8.63±0.06 ^{FGHIJb}	9.17±0.35 ^{EFGHc}	10.73±0.15 ^{BCDa}	13.53±1.13 ^{Ab}
<i>Salmonella Typhi</i>	12.56±0.19 ^{Ba}	6.57±0.07 ^{Id}	9.93±0.12 ^{CDEb}	8.70±0.12 ^{FGb}	8.53±0.12 ^{FGd}	7.27±0.14 ^{Hlc}	9.05±0.20 ^{EFc}
<i>Salmonella Enderitis</i>	9.73±0.26 ^{ABCDc}	6.00±0.00 ^{He}	8.03±0.08 ^{FGd}	10.23±0.19 ^{ABa}	9.63±0.09 ^{ABCDbc}	9.37±0.13 ^{BCDEb}	9.00±0.36 ^{DEc}
<i>Escherichia coli</i>	6.00±0.00 ^{Cg}	6.00±0.00 ^{Ce}	6.00±0.00 ^{Cf}	6.87±0.09 ^{Cc}	6.00±0.00 ^{Cf}	6.00±0.00 ^{Cd}	8.47±0.44 ^{Bc}
<i>Escherichia coli</i> O:157H:7	6.00±0.00 ^{Cg}	6.00±0.00 ^{Ce}	6.00±0.00 ^{Cf}	6.00±0.00 ^{Ce}	6.00±0.00 ^{Cf}	6.00±0.00 ^{Cd}	8.26±0.20 ^{Ac}
<i>Bacillus cereus</i>	6.77±0.14 ^{FGHf}	6.00±0.00 ^{He}	6.00±0.00 ^{Hf}	6.90±0.00 ^{FGHc}	6.50±0.12 ^{GHa}	7.27±0.15 ^{EFGc}	9.48±0.59 ^{CDc}

a - j (↓): Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip değerler istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılık gösterir (P< 0.05). A - E (→): Aynı satırda farklı büyük harflere sahip değerler istatistiksel olarak farklılık gösterir (P<0.05)

Çizelge 4.3 (Devam) İzole edilen LAB'ın bazı gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisi (mm zon çapı).

Patojen Bakteri /Laktik Asit Bakterisi	<i>Lactobacillus</i> <i>paracasei</i> spp. <i>casei</i>	<i>Lactococcus</i> <i>lactis</i> spp. <i>lactis</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>helveticus</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>fermentum</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>rhamnosus</i>	<i>Leuconostoc</i> <i>lactis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	10.74±0.32 ^{BCDcd}	9.68±0.06 ^{CDEc}	11.44±0.17 ^{Ba}	10.58±0.63 ^{BCDEb}	7.57±0.18 ^{Fd}	7.44±0.33 ^{Fe}	10.55±0.43 ^{BCDEb}
<i>Listeria ivanovii</i>	12.75±0.84 ^{Bab}	7.52±0.05 ^{EFgd}	12.07±0.59 ^{Ba}	6.00±0.00 ^{Ie}	8.13±0.15 ^{DEFd}	9.40±0.53 ^{Ccd}	15.87±0.30 ^{Aa}
<i>Listeria monostogenes</i>	9.34±0.33 ^{Bde}	6.00±0.00 ^{De}	9.25±0.20 ^{Bbc}	9.04±0.28 ^{Bc}	9.35±0.19 ^{Bc}	11.30±0.18 ^{Ab}	7.56±0.15 ^{Cd}
<i>Salmonella Typhimurium</i>	11.61±0.32 ^{Cbc}	11.17±0.34 ^{CDB}	9.90±0.36 ^{Eb}	13.97±0.23 ^{Ba}	11.91±0.38 ^{Cab}	9.98±0.47 ^{Ec}	11.10±0.15 ^{CDB}
<i>Salmonella</i> spp.	14.15±1.02 ^{Aa}	7.83±0.12 ^{HIJd}	9.60±0.12 ^{DEFGbc}	10.92±0.18 ^{BCb}	8.58±0.15 ^{GHIJcd}	9.96±0.20 ^{CDEFc}	7.42±0.41 ^{Jd}
<i>Salmonella Typhi</i>	10.68±0.21 ^{Ccd}	13.95±0.88 ^{Aa}	9.32±0.27 ^{EFbc}	10.55±0.24 ^{Cb}	10.92±0.70 ^{Cb}	8.56±0.49 ^{FG d}	7.87±0.06 ^{GHd}
<i>Salmonella Enderitis</i>	9.49±0.52 ^{ABCDEde}	10.31±0.13 ^{Abc}	8.67±0.18 ^{EFc}	9.51±0.40 ^{ABCDEc}	9.23±0.37 ^{CDEc}	7.40±0.10 ^{Ge}	6.00±0.00 ^{He}
<i>Escherichia coli</i>	8.84±0.33 ^{Be}	6.00±0.00 ^{Ce}	6.66±0.41 ^{Cd}	6.00±0.00 ^{Ce}	10.87±0.38 ^{Ab}	6.00±0.00 ^{Cf}	6.00±0.00 ^{Ce}
<i>Escherichia coli</i> O:157H:7	7.98±0.29 ^{Be}	7.35±0.12 ^{Bd}	6.00±0.00 ^{Cd}	7.13±0.03 ^{Bd}	6.00±0.00 ^{Ce}	7.08±0.11 ^{Be}	6.00±0.00 ^{Ce}
<i>Bacillus cereus</i>	8.87±0.32 ^{De}	10.09±0.55 ^{BCbc}	9.62±0.51 ^{CDbc}	11.48±0.19 ^{Cb}	12.23±0.32 ^{Ba}	14.84±0.38 ^{Aa}	8.87±0.64 ^{Dc}

a - e (↓): Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip değerler istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılık gösterir (P<0.05). A - E (→): Aynı satırda farklı büyük harflere sahip değerler istatistiksel olarak farklılık gösterir (P<0.05)

Çizelge 4.4 İzole edilen LAB'ın, bazı gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri.

İnteraksiyon	P Value	r
Laktik Asit Bakteri Türü (L)	<0.0001	0.259**
Patojen Bakteri Türü (P)	<0.0001	-0.305**
L x P	<0.0001	--

r: korelasyon katsayısı, p < 0.0001: İstatistiksel olarak çok fazla anlamlı, p < .01: İstatistiksel olarak fazla anlamlı, p < .05: İstatistiksel olarak anlamlı, p >0.05: İstatistiksel olarak anlamlı değil, ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil, *: p < 0.05 ; **: p <0.01

4.4 Laktik Asit bakterilerinin Antibiyotik Disklere Karşı Duyarlılıkları

İzole edilen laktik asit bakterilerinin insan sağlığı açısından önemli bazı antibiyotikler üzerindeki duyarlılıkları Çizelge 4.5’de, Laktik asit bakterilerinin, bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıkları analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri Çizelge 4.6’da verilmiştir

Çizelge 4.5 İzole edilen LAB’ın bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi (mm zon çapı).

Antibiyotik Türü /Laktik Asit Bakterisi	<i>Lactobacillus</i> <i>bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>casei</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>kefir</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>lactis</i>
Cephalexin	6.00±0.00 ^{Le}	13.45±0.08 ^{Ic}	10.46±0.17 ^{Jgh}	17.09±0.36 ^{Ca}	16.44±0.44 ^{CDcd}	8.91±0.28 ^{Kb}
Ampicillin	10.02±0.32 ^{Dd}	13.66±0.07 ^{Bc}	7.28±0.12 ^{GHi}	12.78±0.43 ^{BCb}	8.45±0.12 ^{FGe}	7.20±0.40 ^{Hb}
Fusidic acid	13.72±0.55 ^{CDEb}	19.77±0.38 ^{Bb}	23.62±2.12 ^{Ac}	18.12±0.84 ^{Ba}	6.00±0.00 ^{Hf}	9.49±0.32 ^{Gb}
Erythromycin	13.19±0.81 ^{Eb}	8.32±0.44 ^{Id}	13.20±0.55 ^{Eef}	14.58±0.37 ^{Cab}	17.75±0.23 ^{ABbc}	11.36±0.12 ^{FGb}
Chloramphenicol	11.41±0.62 ^{EFc}	11.95±0.34 ^{Ec}	8.30±0.12 ^{GHIh}	11.45±3.83 ^{EFcd}	15.38±0.17 ^{CDd}	8.75±0.09 ^{FGHb}
Tetracycline	6.00±0.00 ^{He}	8.97±0.23 ^{Fd}	12.54±0.20 ^{Dfg}	6.00±0.00 ^{Hd}	6.00±0.00 ^{Hf}	6.00±0.00 ^{Hb}
Streptomycin	6.00±0.00 ^{Ie}	20.26±90 ^{BCb}	10.42±0.03 ^{FGgh}	6.00±0.00 ^{I^d}	21.22±1.97 ^{Ba}	27.94±0.24 ^{Aa}
Lincomycin	6.00±0.00 ^{He}	29.85±0.35 ^{Aa}	31.68±0.32 ^{Ab}	10.71±0.52 ^{EFGbc}	8.95±0.88 ^{FGJHe}	26.14±3.15 ^{Ba}
Penicillin	6.00±0.00 ^{Ge}	19.97±1.87 ^{Ab}	17.35±1.12 ^{BCd}	11.11±0.60 ^{Ebc}	6.00±0.00 ^{Gf}	6.00±0.00 ^{Gb}
Clindamycin	6.00±0.00 ^{Je}	12.73±1.01 ^{Fc}	15.41±0.57 ^{DEde}	6.00±0.32 ^{Jd}	19.25±0.81 ^{Bab}	6.00±0.00 ^{Jb}
Amoxicillin	14.44±0.44 ^{Fa}	29.97±0.42 ^{Aa}	32.12±0.18 ^{Aa}	14.27±0.42 ^{Fab}	16.54±0.36 ^{Dcd}	28.11±0.14 ^{Ba}

a - e (↓): Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip değerler istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılık gösterir (P< 0.05). A - I (→): Aynı satırda farklı büyük harflere sahip değerler istatistiksel olarak farklılık gösterir (P<0.05)

Çizelge 4.5 (Devam) İzole edilen LAB'ın bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi (mm zon çapı).

Antibiyotik Türü/ Laktik Asit Bakterisi	<i>Lactobacillus</i> <i>paracasei</i>	<i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>kefir</i>	<i>Lactococcus</i> <i>lactis</i>	<i>Lactococcus</i> <i>cremoris</i>	<i>Bifidobacterium</i> <i>bifidum</i>	<i>Pediococcus</i> <i>acidilactici</i>
Cephalexin	15.41±0.2 ^{DEFb}	10.24±0.63 ^{Je}	6.00±0.00 ^{Le}	13.30±0.23 ^{Ia}	21.73±0.35 ^{Aa}	14.77±0.52 ^{EFGHc}	14.29±0.19 ^{FGHIb}
Ampicillin	15.27±0.37 ^{Ab}	15.59±0.38 ^{Ac}	7.70±0.10 ^{FGHd}	12.08±0.57 ^{Cb}	6.00±0.00 ^{If}	15.36±0.29 ^{Abc}	15.12±0.26 ^{Ab}
Fusidic acid	15.01±0.32 ^{Cb}	18.63±0.69 ^{Bb}	6.00±0.00 ^{He}	12.50±0.12 ^{DEb}	15.70±0.26 ^{Cc}	9.38±0.10 ^{Gf}	10.06±0.18 ^{FGd}
Erythromycin	6.00±0.00 ^{Kd}	6.50±0.29 ^{JKg}	6.00±0.00 ^{Ke}	12.13±0.35 ^{EFb}	6.00±0.00 ^{Kf}	9.34±0.33 ^{Hf}	12.54±0.29 ^{DEc}
Chloramphenicol	16.37±0.47 ^{BCDa}	22.16±1.01 ^{Aa}	6.00±0.00 ^{Ie}	6.00±0.00 ^{Ie}	17.74±0.49 ^{BCDb}	15.79±0.49 ^{CDb}	6.00±0.00 ^{Ie}
Tetracycline	6.00±0.00 ^{Hd}	16.37±0.61 ^{Bc}	14.91±0.55 ^{Ba}	10.58±0.32 ^{Ed}	6.00±0.00 ^{Hf}	13.02±0.40 ^{Dd}	9.12±0.32 ^{Fd}
Streptomycin	8.45±0.43 ^{GHc}	13.28±0.47 ^{DEd}	12.40±0.67 ^{EFb}	8.54±0.07 ^{GHd}	7.09±0.15 ^{Hle}	18.59±0.21 ^{Ca}	18.43±0.75 ^{Ca}
Lincomycin	8.33±0.07 ^{FGHc}	7.75±0.22 ^{GHfg}	11.46±0.49 ^{EFGB}	9.27±0.03 ^{F^{GHd}}	14.59±0.21 ^{DEd}	12.04±0.03 ^{EFGe}	6.00±0.00 ^{He}
Penicillin	8.75±0.13 ^{Fc}	11.08±0.42 ^{Ee}	9.61±0.28 ^{EFc}	10.18±0.23 ^{EFc}	6.00±0.00 ^{Gf}	14.76±0.24 ^{Dc}	6.00±0.00 ^{Ge}
Clindamycin	9.05±0.23 ^{HIc}	8.33±0.38 ^{If}	6.00±0.00 ^{Je}	10.15±0.03 ^{GHc}	6.00±0.00 ^{Jf}	16.33±0.18 ^{CDb}	12.54±0.72 ^{Fc}
Amoxicillin	15.32±0.14 ^{Eb}	18.44±0.44 ^{Cb}	7.65±0.13 ^{Hd}	12.46±0.16 ^{Gb}	16.73±0.36 ^{Dc}	16.37±0.22 ^{DEb}	12.66±0.55 ^{Gc}

a - e (↓): Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip değerler istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılık gösterir (P< 0.05). A - E (→): Aynı satırda farklı büyük harflere sahip değerler istatistiksel olarak farklılık gösterir (P<0.05)

Çizelge 4.5 (Devam) İzole edilen LAB'ın bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi (mm zon çapı).

Antibiyotik Türü /Laktik Asit Bakterisi	<i>Lactobacillus paracasei</i> spp. <i>casei</i>	<i>Lactococcus lactis</i> .spp. <i>lactis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Leuconostoc lactis</i>
Cephalexin	11.00±0.05 ^{Jc}	15.50±0.61 ^{DEcd}	15.42±0.95 ^{DEFc}	16.60±0.78 ^{CDab}	14.05±0.05 ^{GHI^{de}}	15.03±0.26 ^{EFGa}	12.43±0.29 ^{IJb}
Ampicillin	18.60±0.15 ^{Aa}	15.68±0.38 ^{Ac^d}	14.88±0.66 ^{Ac}	9.70±0.15 ^{DEe}	16.43±0.18 ^{A^{bcd}}	8.66±0.12 ^{EFd}	8.33±0.33 ^{FGHc}
Fusidic acid	8.78±0.06 ^{Gd}	14.52±1.91 ^{CDcd}	15.02±0.43 ^{Cc}	14.50±0.23 ^{CDc}	19.52±0.64 ^{B^a}	12.33±0.23 ^{DEc}	11.80±0.32 ^{EFb}
Erythromycin	10.91±0.03 ^{Gc}	13.48±0.29 ^{Dd}	17.15±0.07 ^{Bb}	7.04±0.03 ^{Jf}	18.35±0.07 ^{A^{ab}}	12.90±0.10 ^{DEc}	6.37±0.09 ^{JKd}
Chloramphenicol	11.09±0.23 ^{EFGc}	19.04±0.09 ^{Bab}	18.30±0.67 ^{BCab}	7.17±0.06 ^{HI^f}	18.47±0.09 ^{BC^{ab}}	15.10±0.89 ^{Da}	9.53±0.49 ^{EFGHc}
Tetracycline	14.83±0.42 ^{Cb}	17.15±0.23 ^{Bbc}	7.50±0.21 ^{Gde}	7.73±0.12 ^{Gf}	18.26±0.18 ^{A^{ab}}	6.00±0.04 ^{He}	6.00±0.00 ^{Hd}
Streptomycin	15.27±1.16 ^{Db}	19.03±0.84 ^{BCab}	19.41±0.95 ^{BCa}	11.34±0.24 ^{EFd}	18.62±0.13 ^{C^{ab}}	8.56±0.20 ^{GHd}	12.63±0.07 ^{Eb}
Lincomycin	12.06±0.49 ^{EFGc}	19.57±1.27 ^{Cab}	6.00±0.00 ^{He}	9.09±0.06 ^{FGHe}	16.95±0.18 ^{CD^{bcd}}	14.06±0.13 ^{DEb}	12.16±1.53 ^{EFb}
Penicillin	18.01±0.20 ^{Ba}	20.56±0.57 ^{Aa}	6.00±0.00 ^{Ge}	15.71±0.49 ^{CDb}	14.53±0.08 ^{D^{cde}}	15.83±0.17 ^{CDa}	17.30±0.06 ^{BCa}
Clindamycin	15.02±0.03 ^{Eb}	20.47±0.33 ^{Aa}	8.09±0.06 ^{Id}	17.15±0.52 ^{Ca}	10.31±1.72 ^{Ge}	8.86±0.12 ^{Id}	6.00±0.00 ^{Jd}
Amoxicillin	12.01±0.26 ^{Gc}	18.50±0.07 ^{Cb}	17.17±0.10 ^{Db}	15.53±0.55 ^{Eb}	18.52±0.11 ^{C^{ab}}	14.09±0.21 ^{Gb}	12.34±0.35 ^{Gb}

a - e (↓): Aynı sütunda farklı küçük harflere sahip değerler istatistiksel olarak önemli ölçüde farklılık gösterir (P< 0.05). A - E (→): Aynı satırda farklı büyük harflere sahip değerler istatistiksel olarak farklılık gösterir (P<0.05)

Çizelge 4.6 İzole edilen LAB'ın bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının değerlendirilmesi.

Antibiyotik Türü / Laktik Asit Bakterisi	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>delbrueckii</i>	<i>L. kefir</i>	<i>L. lactis</i>	<i>Lc. paracasei</i>	<i>St. thermophilus</i>	<i>St. kefir</i>	<i>Lc. lactis</i>	<i>Lc. cremoris</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. paracasei</i> spp. <i>casei</i>	<i>Lc. lactis</i> spp. <i>lactis</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. helveticus</i>	<i>L. fermentum</i>	<i>L. rhamnosus</i>	<i>Leu. lactis</i>
Cephalexin	R	R	R	I	I	R	R	R	R	R	S	R	R	R	I	I	I	R	I	R
Ampicillin	R	R	R	R	R	R	I	I	R	R	R	I	I	I	I	R	R	I	R	R
Fusidic acid	R	S	S	I	R	R	I	I	R	R	I	R	R	R	R	I	R	S	R	R
Erythromycin	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	I	R	R
Chloramphenicol	R	R	R	R	I	R	I	S	R	R	I	I	R	R	S	I	R	I	I	R
Tetracycline	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	I	R	R	I	R	R
Streptomycin	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	R	I	I	I	S	S	R	I	R	R
Lincomycin	R	S	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	I	I	R
Penicillin	R	S	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	I	R	I	I
Clindamycin	R	R	I	R	S	R	R	R	R	R	R	I	R	I	S	R	I	R	R	R
Amoxicillin	R	S	S	R	I	S	I	I	R	R	I	I	R	R	I	I	I	I	R	R

*<14 mm zon çapı Dirençli (R) / 14-19 mm zon çapı Orta (I) / >20 mm zon çapı Duyarlı (S)

Çizelge 4.7 İzole edilen LAB'ın, bazı antibiyotiklere karşı duyarlılıkları analizlerine ait varyasyon ve korelasyon analizleri

İnteraksiyon	P Value	r
Laktik Asit Bakteri Türü (L)	<0.0001	0.004
Antibiyotik Çeşidi (A)	<0.0001	-0.053
L x A	<0.0001	--

r: korelasyon katsayısı, p < 0.0001: İstatistiksel olarak çok fazla anlamlı, p < .01: İstatistiksel olarak fazla anlamlı, p < .05: İstatistiksel olarak anlamlı, p >0.05: İstatistiksel olarak anlamlı değil, ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil, *: p < 0.05 ; **: p < 0.01

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Araştırmamızda Afyonkarahisar ili ve çevresindeki köylerde geleneksel olarak üretilen süt ürünlerinden 30 farklı yoğurt, peynir ve tereyağı örnekleri alınmıştır. Alınan numunelerden yapılan izolasyon işlemleri sonucunda 20 farklı laktik asit bakterisi izole edilmiş olup, izolatlar API 50 CHL ve API 20 STREP test kitleri ile doğrulanmıştır.

Tanımlanan 20 laktik asit bakterisi; %100 oranında gram pozitif, %100 oranında katalaz negatif, %95 oranında %4 tuz içeren ortamda gelişebilme, %90 oranında %6 tuz içeren ortamda gelişebilme, %40 oranında %8 tuz içeren ortamda gelişebilme, %35 oranında %10 tuz içeren ortamda gelişebilme kabiliyetleri tespit edilmiştir. Ayrıca %65 oranında 4,8 pH içeren ortamda gelişebilme, %75 oranında 6,5 pH içeren ortamda gelişebilme, %45 oranında 9,8 pH içeren ortamda gelişebilme kabiliyetleri tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak, %60 oranında 10°C’de gelişirken %100 oranında 37°C’de, %55 oranında 45°C’de geliştiği tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmamızda izole edilen laktik asit bakterilerinin, lipolitik aktivitesi, Blue Agar ortamında yapılan analizlerde %80 oranında tespit edilmişken, 20/80 MRS Agar ortamında yapılan analizlerde %60 oranında tespit edilmiştir. Proteolitik aktivitesi, KK Agar ortamında %40 oranında tespit edilirken, jelatin içeren MRS agar ortamında %5 oranında tespit edilmiştir. Nitrat redüktaz aktivitesi ise %55 oranında tespit edilmiştir.

Yapılan varyasyon analiz sonuçlarına göre ; laktik asit bakterilerinin, bazı gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisi üzerinde laktik asit bakteri türü, patojen bakteri türü ve laktik asit bakteri türü patojen bakteri türü etkileşimlerinin çok fazla anlamlı olduğu ($p<0.0001$) tespit edilmiştir. Aynı şekilde yapılan korelasyon analizleri sonucuna göre ise; laktik asit bakterilerinin, bazı gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi üzerinde laktik asit bakteri türünün pozitif yönde çok fazla ($r: 0.566$), Patojen Bakteri Türünün ise negatif yönde ($r:-0.305$) çok fazla korelatif etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada kullanılan farklı laktik asit bakteri türlerinin, aynı patojen türü üzerindeki

ve aynı laktik asit bakteri türünün, farklı patojen bakteri türleri üzerindeki antibakteriyel etkileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı olduğu ortaya konulmuştur. ($P < 0.05$).

İzole edilen 20 farklı laktik asit bakterisinin; *Staphylococcus aureus* üzerindeki en yüksek antibakteriyel etki değeri 13,68 mm zon çapı ile *P.acidilactici* örneğinde, en düşük antibakteriyel etki değeri 6,37 mm zon çapı ile *Lc.lactis* örneğinde tespit edilmiştir. *Listeria ivanovii* için en yüksek antibakteriyel etki değeri 15,87 mm zon çapı ile *Leu.lactis* örneğinde, en düşük antibakteriyel etki değeri 6,00 mm zon çapı ile *L.bulgaricus*, *L.acidophilus*, *L.casei*, *St.thermophilus* ve *Lc.lactis* örneklerinde tespit edilmiştir. *Listeria monostogenes* için en yüksek antibakteriyel etki değeri 11,39 mm zon çapı ile *L.kefir* örneğinde, en düşük antibakteriyel etki değeri 6,00 mm zon çapı ile *L.acidophilus*, *St.thermophilus*, *St.kefir*, *Lc.lactis*, *B.bifidum* ve *Lc.lactis* spp. *lactis* örneklerinde tespit edilmiştir. *Salmonella typhimurium* için en yüksek antibakteriyel etki değeri 16,12 mm zon çapı ile *P.acidilactici* örneğinde, en düşük antibakteriyel etki değeri 6,00 mm zon çapı ile *L.acidophilus*, *L.lactis* ve *B.bifidum* örneklerinde tespit edilmiştir. *Salmonella gallinarum* için en yüksek antibakteriyel etki değeri 14,15 mm zon çapı ile *L.paracasei* spp. *casei* örneğinde, en düşük antibakteriyel etki değeri 7,30 mm zon çapı ile *L.bulgaricus* örneğinde tespit edilmiştir. *Salmonella typhi* için en yüksek antibakteriyel etki değeri 13,95 mm zon çapı ile *Lc.lactis* spp. *lactis* örneğinde, en düşük antibakteriyel etki değeri 6,57 mm zon çapı ile *St.thermophilus* örneğinde tespit edilmiştir. *Salmonella enderitis* için en yüksek antibakteriyel etki değeri 10,31 mm zon çapı ile *Lc.lactis* spp. *lactis* örneğinde, en düşük antibakteriyel etki değeri 6,00 mm zon çapı ile *St.thermophilus*, *Leu.lactis* örneklerinde tespit edilmiştir. *Escherichia coli* için en yüksek antibakteriyel etki değeri 10,87 mm zon çapı ile *L.fermentum* örneğinde, en düşük antibakteriyel etki değeri 6,00 mm zon çapı ile *L.bulgaricus*, *L.acidophilus*, *L.casei*, *L.delbrueckii* spp. *delbrueckii*, *L.kefir*, *L.lactis*, *Lc.paracasei*, *St.thermophilus*, *St.kefir*, *Lc.cremoris*, *B.bifidum*, *Lc.lactis* spp. *lactis*, *L.helveticus*, *L.rhamnosus* ve *Leu.lactis* örneklerinde tespit edilmiştir. *Escherichia coli* O:157H:7 için en yüksek antibakteriyel etki değeri 8,26 mm zon çapı ile *P.acidilactici* örneğinde, en düşük antibakteriyel etki değeri 6,00 mm zon çapı ile *L.bulgaricus*, *L.acidophilus*, *L.casei*, *L.delbrueckii* spp. *delbrueckii*, *L.kefir*, *L.lactis*, *Lc.paracasei*, *St.thermophilus*,

St.kefir, *Lc.lactis*, *Lc.cremoris*, *B.bifidum*, *L.plantarum*, *L.fermentum* ve *Leu.lactis* örneklerinde tespit edilmiştir. *Bacillus cereus* için en yüksek antibakteriyel etki değeri 11,48 mm zon çapı ile *L.helveticus* örneğinde, en düşük antibakteriyel etki değeri 6,00 mm zon çapı ile *L.bulgaricus*, *L.acidophilus*, *L.delbrueckii* spp.*delbrueckii*, *L.lactis*, *Str.thermophilus* ve *St.kefir* örneklerinde tespit edilmiştir.

Araştırmamızdan farklı şekilde Kılıç (2017)'ın yaptığı çalışmada, Tulum peynirinden izole edilen *Lb. plantarum* *L. monocytogenes* ATCC 7644' karşı 15 mm zon çapı tespit ettiğini bildirmiştir. Ayrıca tulum peynirinden izole edilen *Lb. plantarum* 9 mm ve köy peynirinden izole edilen *Lc. lactis*; *E. coli* O157:H7'ya karşı 11 mm zon oluşturmuştur. Bu değerler sraştırmamıza kıyasla farklılık göstermekte olup aradaki farkın sebebinin farklı suş kullanılmasında kaynaklandığı düşünülmektedir.

Araştırmamıza benzer şekilde, Hajikhani ve ark (2007), beyaz peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Değerlendirilen tüm enterokok izolatlarının gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterdiklerini belirtmişlerdir. Yine bir başka çalışmada Bilgin (2008), geleneksel olarak üretilen beyaz peynirden izole edilen *E. faceium*'un *L. monocytogenes* ve *B. cereus*'a karşı inhibitör aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Abanoz (2014) ise, yaptığı çalışmada fermente süt ürünlerinden izole ettiği *E. faecalis*'in, *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmiştir.

Laktik asit bakterilerinin gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkileri ürettikleri organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip farklı metabolitlerden kaynaklanmaktadır (Espeche vd. 2012, Fraga Coteló vd. 2013)

Yapılan varyasyon analiz sonuçlarına göre ; laktik asit bakterilerinin, bazı antibiyotik diskler üzerindeki antimikrobiyal etkisi üzerinde laktik asit bakteri türü, antibiyotik disk türü ve laktik asit bakteri türü antibiyotik türü etkileşimlerinin çok fazla anlamlı olduğu ($p<0.0001$) tespit edilmiştir.

Araştırmada kullanılan farklı laktik asit bakteri türlerinin, aynı antibiyotik türü üzerindeki ve aynı laktik asit bakteri türünün farklı antibiyotik türleri üzerindeki antibakteriyel etkileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı olduğu ortaya konulmuştur. ($P<0.05$).

İncelenen 20 farklı laktik asit bakterisinde en yüksek antibiyotik direnci ise 6,00 mm zon çapı ile; cephalexin'e karşı, *L. bulgaricus* ve *St. kefir* örneklerinde tespit edilmiştir. Ampicillin'e karşı, *Lc. cremoris* örneğinde tespit edilmiştir. Fusidic acid'e karşı, *L. kefir* ve *St. kefir* örneklerinde tespit edilmiştir. Erythromycin'e karşı *L. paracasei*, *St. kefir* ve *Lc. cremoris* örneklerinde tespit edilmiştir. Chloramphenicol'a karşı, *St. kefir*, *Lc. lactis* ve *P. acidilactici* örneklerinde tespit edilmiştir. Tetracycline'e karşı *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L. kefir*, *L. lactis*, *L. paracasei*, *Lc. cremoris*, *L. casei* ve *Leu. lactis* örneklerinde tespit edilmiştir. Streptomycin'e karşı *L. bulgaricus* ve *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* örneklerinde tespit edilmiştir. Lincomycin'e karşı, *L. bulgaricus*, *P. acidilactici* ve *L. plantatum* örneklerinde tespit edilmiştir. Penicillin'e karşı *L. bulgaricus*, *L. kefir*, *L. lactis*, *Lc. cremoris*, *P. acidilactici* ve *L. plantatum* örneklerinde tespit edilmiştir. Clindamycin'e karşı *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L. lactis*, *St. kefir*, *Lc. cremoris* ve *Leu. lactis* örneklerinde tespit edilmiştir.

Antibiyotiklere karşı en duyarlı olan laktik asit bakterisi ise 32,12 mm zon çapı ile Amoxicillin'e karşı *L. casei* olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda izole edilen 20 farklı laktik asit bakterisinin; cephalexin'e karşı, %65 oranında dirençli (R) , %30 oranında orta (I) ve %5 oranında duyarlı (S) olduğu tespit edilmiştir. Ampicillin'e karşı, %65 oranında dirençli, %35 oranında orta olduğu tespit edilmiştir. Fusidic acid'e karşı, %60 oranında dirençli, %25 oranında orta ve %15 oranında duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Erythromycin'e karşı, %85 oranında dirençli, %15 oranında orta olduğu tespit edilmiştir. Chloramphenicol'a karşı, %55 oranında dirençli, %35 oranında orta ve %10 oranında duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Tetracycline'e karşı, %85 oranında dirençli, %15 oranında orta olduğu tespit edilmiştir. Streptomycin'e karşı, %55 oranında dirençli, %20 oranında orta ve %25 oranında

duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Lincomycin'e karşı, %70 oranında dirençli, %10 oranında orta ve %20 oranında duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Penicillin'e karşı, %65 oranında dirençli, %25 oranında orta ve %10 oranında duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Clindamycin'e karşı, %70 oranında dirençli, %20 oranında orta ve %10 oranında duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Amoxicillin'e karşı, %40 oranında dirençli, %45 oranında orta ve %15 oranında duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmamıza benzer şekilde Önal vd. (2006) 'nin yaptığı çalışmada geleneksel yöntemlerle ürettiği yoğurttan 25 adet *S. thermophilus* ve 23 adet *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşları izole edilmiştir. 16 farklı antibiyotik türüne duyarlılıkları belirlenmiş ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının antibiyotik duyarlılık testlerinde hücre duvar sentezini inhibe eden aztreonam'a karşı %72 ve protein sentezini inhibe eden netilmisin'e karşı %72, nükleik asit sentezini inhibe eden siprofloksasin'e karşı %96 ve ofloksasin'e karşı %98 antibiyotiklerine dirençli oldukları bildirmiştir. Ayrıca protein sentezini inhibe eden gentamisin'e karşı %76 ve tetrasiklin'e karşı %75 antibiyotiklerine ise duyarlı olduklarını tespit etmiştir. Yaptığı çalışma bu yönleriyle çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Yine benzer şekilde Seyirt (2022)'de yaptığı çalışmada 52 adet *Lactobacillus* spp. ve 28 adet *Bifidobacterium* spp. suşunu 16S RNA dizi analizi ile moleküler düzeyde tanımlanmış olup *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 gösterdiğini tespit etmiştir. *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 gösterdiğini tespit etmiştir. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik türlerine karşı gösterdiği direnç bakımında araştırmamızla benzerlik göstermektedir.

Laktik asit bakterilerinin antibiyotik içeren diskler üzerinde dirençli olmasının sebebi üretmiş olduğu laktik asidin yanı sıra ağırlıklı olarak ürettiği asetik asit, pirüvik asit ve malik asitin ayrıca diasetil ve hidrojen peroksit gibi maddelerin tek başına veya birlikte antibiyotiklere karşı doğal ve kazanılmış direnç oluşturmamasından kaynaklanmaktadır (Harris 1989, Alp 2013, Sharma vd. 2014).

5.1 Sonuç

Çalışmamızda, Afyonkarahisar ilçelerinde üretilen 30 farklı köy peyniri, yoğurt ve tereyağından numunelerinden 20 farklı laktik asit bakterisi izole edilmiş olup, bu bakterilerin gıdalarda bozulma etkeni ve insanlarda zehirlenme etkeni olan patojen bakterilere karşı antibakteriyel etkisi ve antibiyotik içeren disklere karşı oluşturduğu direnç mekanizmaları analiz edilmiştir.

Günlük hayatta tükettiğimiz süt ve süt ürünlerinin ürettiği metabolitlerin sağlık açısından ve gıda güvenliği açısından faydalarından yola çıkarak laktik asit bakterilerinin doğal gıda koruyucusu, fonksiyonel gıda üretimi, doğal yüzey temizleyici gibi farklı fonksiyonlarda kullanılabilip kullanılamayacağı amaçlanmıştır.

Gıda sanayisinde kullanılan kimyasal koruyucuların olumsuz etkilere sebep olması sonucu günümüzde tüketicilerin doğal katkı maddeleri ilave edilerek üretilmiş gıda maddelerini tercih etmeleri, gıdaların daha güvenilir yollar ile muhafazasını mümkün kılmaktadır. Besleyici ve sağlık yaralarının yanı sıra gıdalarda bozulma ve hastalık yapan çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı aktiviteleriyle, laktik asit bakterileri güvenli muhafazanın ilk akla gelen doğal koruyuculardır.

Araştırmamızda laktik asit bakterilerinin gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkileri ürettikleri organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip farklı metabolitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca antibiyotik disklerle yapılan çalışma sonucunda bu disklerin laktik asit bakterileri üzerindeki etkisinin düşük olmasının sebebi üretmiş olduğu laktik asidin yanı sıra ağırlıklı olarak ürettiği asetik asit, pürivik asit ve malik asit sayesinde

antibiyotiklere karşı doğal ve kazanılmış direnç oluşturmasından kaynaklandığı düşünölmektedir.

Çalışmamız sayesinde starter költür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin ve ürettiği metabolitlerinin kullanıldığı fermente ürünler, süt ve süt ürünlerinin yanı sıra yüksek probiyotik içerikli sağlıklı, doğal koruyucular içeren fonksiyonel gıdalar üreterek besleyici olmasının yanı sıra sindirim sistemine yarar sağlacak besinler, kapsüller üretilebileceği gibi çapraz kontaminasyon sonucu ortaya çıkan bulaşıları elemine edebilecek laktik asit bakteri türlerinin izolasyonu yapılmıştır. Buna ek olarak insan metabolizmasının direnç kazandığı antibiyotik türlerine karşı direnç gösteren laktik asit bakteri türlerinin fonksiyonel tedavi amaçlı kullanılıp kullanılamıyacağı yönünde olumlu etkisi tespit edilmiştir. Ayrıca yüzeysel yaralanmalar sonucu oluşan yaraların dış mekan kaynaklı enfeksiyon riskini önleyebileceği düşüncesi sonucu araştırmanın geliştirilebileceği düşünölmüştür.

Sonuç olarak gıdanın uzun süre bozulmadan muhafaza edilebilmesi, sindirimi kolay, sağlıklı, probiyotik içerikli fonksiyonel gıdaların üretilebilmesi amacıyla kullanılabileceği için laktik asit bakterilerine olan ilginin dahada artacağı düşünölmektedir. Bu kapsam doğrultusunda laktik asit bakterilerinin ve ürettiği metabolitlerin daha tedaylı araştırılabileceği kanısına varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

- Abanoz H S, 2014, *Enterococcus faecalis* KT11'in Probiyotik Potansiyelinin Belirlenmesi ve Bakteriyosin Üretimi Üzerine Çalışmalar, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 110s, Eskişehir.
- Adams M R, Nicolaides L, 1997, Review of The Sensitivity of Different Foodborne Pathogens to Fermentation, *Food Control*, 8, 227–239.
- Akarca G, Başpınar E, 2019, Determination of Pomegranate Peel and Seed Extracted in Different Solvents for Antimicrobial Effect, *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7, 46-53.
- Akkan A G, 1997, Antibiyotiklerin Sınıflandırılmaları, Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu, 2-3 Mayıs 1997, İstanbul, 53-62.
- Aksoy D, 2015, *Salmonella* spp. Kökenlerinin Patogenez Determinantları Ve Salmonellozların Moleküler Tanısında Kullanımları, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 133s, Edirne.
- Alp D, 2013, Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri ve Aroma Madde Oluşturma Özelliklerinin Belirlenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 70s, Isparta.
- Ammor S, Touveron G, Dufour E, Chevallier I, 2006, Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Against Spoilage and Pathogenic Bacteria Isolated From The Same Meat Small-Scale Facility 1-Screening and Characterization of The Antibacterial Compounds, *Food Control*, 17, 454- 461.
- Arda M, 2000, Temel Mikrobiyoloji, Medisan Yayınevi, 548s, Ankara.
- Arslan S, 2017, Türkiye'nin Farklı Yörelerinden Toplanan Beyaz Peynir Örneklerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Moleküler Karakterizasyonu, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 116s, Erzurum.

- Aslım B, 1994, *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* Bakterilerinin Metabolik ve Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bazı Fiziksel ve Kimyasal Mutajenlerin Etkisi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 165s, Ankara.
- Bhattacharyal M, Wozniak D J, Stoodley P, Hall-Stoodley L, 2015, Prevention and Treatment of *Staphylococcus aureus* Biofilms, HHS Public Access, 13, 1499–1516.
- Bhunja A K, 2018, Foodborne Microbial Pathogens (Second Edition), Springer, 365p, USA.
- Bilgin H, 2008, Fermente süt ürününden izole edilen bakteriyosinogenik bir bakterinin antimikrobiyal aktivitesi, Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 53s, Tokat.
- Bitrus A, Peter O, Abbas M, Goni M, 2018, *Staphylococcus aureus*: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms, Veterinary Sciences: Research and Reviews, 4, 43-54.
- Butler J N, 1982, Carbon dioxide equilibria and their applications, Routledge, 259s.
- Byczkowski J, Gessner T, 1988, Biological Role of Superoxide Ion-radical. International Journal of Biochemistry, 20, 569–580.
- Cahan Y, 2019, *Streptococcus pyogenes*'in Tanısında Kullanılan Testlerin Karşılaştırılması, Bakteriyofaj İzolasyonu ve Karakterizasyonu, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 94s, Rize.
- Callanan M, Kaleta P, O'Callaghan J, O'Sullivan O, Jordan K, McAuliffe O, vd. 2008, Genome Sequence of *Lactobacillus helveticus*, An Organism Distinguished by Selective Gene Loss and Insertion Sequence Element Expansion. Journal of Bacteriology, 190, 727-735.
- Cardamone L, Quiberoni A, Mercanti D J, Fornasari M E, Reinheimer J A, Guglielmotti D M, 2011, Adventitious Dairy *Leuconostoc* strains with Interesting 96 Technological and Biological Properties Useful for Adjunct Starters, Dairy Science & Technology, 91, 457–470.

- Casalta E, Montel M C, 2008, Safety Assessment of Dairy Microorganisms: The *Lactococcus* Genus, International Journal of Food Microbiology, 126, 271-273.
- Cleveland J, Montville T J, Nes I F, Chikindas M L, 2001, Bacteriocins: Safe, Natural Antimicrobials for Food Preservation, International Journal of Food Microbiology, 71, 1-20.
- Cotter P D, Colin H, Ross R P, 2005, Bacterial Lantibiotics: Strategies to Improve Therapeutic Potential, Current Protein and Peptide Science, 6, 61-75.
- Cubas-Cano E, González-Fernández C, Ballesteros M, Tomás-Pejó E, 2018, Biotechnological Advances in Lactic Acid Production by Lactic Acid Bacteria: Lignocellulose as Novel Substrate, Biofuels, Bioproducts & Biorefining, 12, 290–303.
- Çadırcı B H, Çitak S, 2005, A Comparison of Two Methods Used for Measuring Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria. Pakistan Journal of Nutrition 4, 237-241.
- Çapan G, 2020, Değişik Bakterilerin Taze ve Kurusundan Elde Edilen Ekstraktlarının Bazı Mikroorganizmalar Üzerindeki Antibakteriyel ve Antifungal Etkileri, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 262s, Afyonkarahisar
- Çon A H, Gökalp H Y, 2000, Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyel Metabolitleri ve Etki Şekilleri, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 30s, 180- 190.
- Daeschel M A, 1989, Antimicrobial Substances from Lactic Acid Bacteria for Use as Food Preservatives, Food Technology, 164-167.
- Daniels J A, Krishnamurthy R, Rizvi S S H, 1985, A Review of Carbon Dioxide on Microbial Growth and Food Quality, Journal of Food Protection, 48, 532-537.
- Darsanaki R, Aliabadi M, Chakoosari M, 2013, Antibiotic resistance of lactic acid bacteria: A Review, Scientific Journal of Microbiology, 11, 201–206.
- David M, Medvedev S, Hohmann S, Fwigman B, Daum R, 2012, National Institutes Health, *Staphylococcus aureus* Hospitalizations at US Academic Medical Centers, Increasing Burden of Methicillin-Resistant, 33, 782–789.

- De Vuyst L, Vandamme E J, 1994, Antimicrobial potential of lactic acid bacteria. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria: Microbiology, Genetics and Applications, Blackie, Springer, 539p, London.
- Demir E, 2014, Fermente Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinde Bakteriyosin Üretiminin Karakterizasyonu, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 86s, Aydın.
- Demirci M, 2014, Beslenme (7.Baskı), Hat Baskı, 381s, Tekirdağ.
- Demirci T, 2013, Çeşitli Gıdalardan İzole Edilmiş Farklı Laktik Asit Bakterilerinin Bakteriyosin Üretme Yeteneklerinin ve Bakteriyosin Kısmi Karakteristiklerinin Belirlenmesi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 59s, Konya
- Demirtürk N, Demirdal T, 2004, Antibiyotiklerde Direnç Sorunu, Kocatepe Tıp Dergisi, 5,17- 21.
- Denis F, Ramet J P, 1989, Antibacterial Activity of the Lactoperoxidase System on *Listeria monocytogenes* in Trypicase Soy Broth, UHT Milk And Soft Cheese J.Food, 52, 706.
- Dimic G R, 2006, Characteristics of the *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* strains from fresh vegetables, Acta periodica technologica, 37, 3-11.
- Doyle M P, Beuchat L R, 2007, Food Microbiology (Third Edition), Washington DC, 1038p, USA.
- Ehrmann M A, Kurzak P, Bauer J, Vogel R F, 2002, Characterization of *lactobacilli* Towards Their use as Probiotic Adjuncts in Poultry, J. Appl, Microbiol, 2, 966–975.
- Ektik N, 2022, Klasik (Olgunlaştırılmış) Beyaz Peynir Üretiminin Farklı Aşamalarından Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi, Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 128s, Balıkesir.

- Endo A, Okada S, 2005, Monitoring the Lactic Acid Bacterial Diversity during Schochu Fermentation by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, J. Biosci. Bioengin, 99, 216- 221.
- Erkmen O(Ed.), 2017, Gıda Mikrobiyolojisi, Efil Yayınevi, 549s, Ankara.
- Ertekin Ö, 2007, Farklı Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Nümerik Taksonomisi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 176s, Denizli.
- Espeche M, Pellegrino M, Frola I, Larriestra A, Bogni C, Nader-Macías M E F, 2012, Lactic Acid Bacteria from Raw Milk as Potentially Beneficial Strains to Prevent Bovine Mastitis. Anaerobe, 18, 103-109.
- Facklam R R, Sahm D S, Teixeira L M, 2002, Standard Laboratory Methods For Identifying and Growing Enterococci, In: Manual of Clinical Microbiology, American Society for Microbiology, 350-364, Washington.
- Farber J M, 1991, Microbiological Aspects of Modified-atmosphere Packaging Technology, Journal of Food Protection, 54, 58–70.
- Fenderya S, Akalın A S, 2003, Probiyotik Yoğurtların Bazı Kimyasal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 40, 87-94.
- Foegeding P M, Thomas A B, Pilkington D H, Klaenhemmer T R, 1992, Enhanced Control of *Listeria monocytogenes* by in Situ Produced Pediocin during Dry Fermented Sausage Production, Applied Environmental Microbiology, 58, 884-890.
- Fraga Coteló M, Perelmutter Schein K, Giacaman Salvo S S, Zunino Abirad P M, Carro Techera S B, 2013, Antimicrobial Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Uruguayan Artisan Cheese, Food Science and Technology, 33, 801-804.
- Galvez A, Abriouel H, Lopez R L, Omar N B, 2007, Bacteriocinbased Strategies for Food Biopreservation, International Journal of Food Microbiology, 120, 51-70.
- Garcia P, Roudrigez L, Martinez B, 2010, Food Biopreservation: Promising Strategies using Bacteriocins, Bacteriophages And Endolysins, Trends in Food Sciences and Technology, 21, 373-382.

- Gilmour M, Graham M, Domselaar G, Tyler S, Kent H, Trout-Yakel K, vd, 2010, High-Throughput Genome Sequencing of Two *Listeria monocytogenes* Clinical Isolates During a Large Foodborne Outbreak, BMC Genomics, 11, 1186.
- Gobbetti M, Angelis M, Corsetti A, Cagno R, 2005, Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria, Trends in Food Sci. Technoloji 16, 1-13
- Göğebakan B, 2003, Peynir ve İnsan Örneklerinden Elde Edilen Lactobasillus Cinsi Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Araştırılması. Gaziantep Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 77s, Gaziantep.
- Gratia A, 1925, Sur un Remarquable Exemple d'antagonisme Entre Deux Souches de Colibacille, C R. Seances Society of Biology, 93, 1040–1041.
- Gu J, Sun Q L, Luo J C, Zhang J, Sun L, 2019, A First Study of the Virulence Potential of a Bacillus subtilis Isolate From Deep-Sea Hydrothermal Vent, Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 9, 183.
- Güzel Seydim Z, 2016, Fonksiyonel Beslenme, Sidas Yayıncılık, 381s, İzmir.
- Hajikhani R, Beyatlı Y, Aslım B, 2007, Antimicrobial activity of *Enterococci* strains isolated from white cheese, International Journal of Dairy Technology, 60, 105-108.
- Halkman K(Ed.), 2019, Gıda Mikrobiyolojisi, Başak Matbacılık, 648s, Ankara.
- Hammami R, Zouhir A, Ben Hamida J, Fliss I, 2007, BACTIBASE: a New WebAccessible Database for Bacteriocin Characterization, BMC Microbiology, 7, 89.
- Harley J P, Prescott LM, 2002, Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition, The McGraw–Hill Companies, 466p, New York.
- Harris L J, Daeschel M A, Stiles M E, Klaenhammer T R, 1989, Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*, J. Food Protect, 52, 384-387.
- Heng N C K, Wescombe J A, Burton J P, Jack R W, Tagg J R, 2007, The Diversity of Bacteriocins in Gram-positive Bacteria, Bacteriocins Ecology and Evolution. Riley M A, Chavan M A (eds.), SpringerVerlag, 45-83p, Berlin.

- Hızarcı Ö, 2011, Tulum Peynirinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Anti-listerial Etkilerinin Araştırılması, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 142s, İstanbul
- Holzapfel W H, Geisen R, Schillinger U, 1995, Biological Preservation of Foods with Reference to Protective Cultures, Bacteriocins and F-grade Enzymes, Int J Food Microbiol, 24, 343-362.
- Holzapfel W H, Wood B J B, 2014, Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy, Wiley Blackwell, 632s, Oxford, İngiltere.
- İşleroğlu H, Yıldırım Z, Yıldırım M, 2008, Yöresel peynirden antimikrobiyal aktiviteye sahip laktik asit bakterisinin izolasyonu ve tanısı, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25, 1-6.
- Jack R W, Tagg J R, Ray B, 1995, Bacteriocins of Gram Positive Bacteria, Microbiology Reviews, 59, 171-200.
- Jay J M, 1982, Antimicrobial Properties of Diacetyl, Applied and Enviromental Microbiology, 44, 525-532.
- Jeevaratnam K, Jamuna M, Bawa A S, 2005, Biological Preservation of Foods Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. Journal of Biotechnology, Vol. 4, 446-454 Indian.
- Karagöl M A, 2017, Koyun ve İnek Sütlerinden Üretilen Karın Kaymağı Peynirinin Olgunlaştırılmasıyla Meydana Gelen Değişikliklerin Araştırılması, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 100s, Ordu,
- Khalid K, 2011, An Overview of Lactic Acid Bacteria, International Journal of Biosciences, 1, 1-13.
- Khemariya P, Singh S, Nath G, Gulati A.K, 2017, Probiotic *Lactococcus lactis*: A Review. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 5, 556-562.
- Kılıç E, 2017, Geleneksel Olarak Üretilen Bazı Köy Peynirlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 85s, Sakarya.

- Kılıç S, 2001, Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 542, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.
- Kıran F, 2006, Hücre Duvarı Protein Profilleri ve Plazmid İçeriklerine Göre Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Tanısı, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 142s, Ankara.
- Kiernan R C, Beresford T P, O’Cuinn G, Jordan K N, 2000, Autolysis of *Lactobacilli* During Cheddar Cheese Ripening, Irish Journal of Agricultural and Food Research, 39, 95-106.
- Klaenhammer T R, 1993, Genetics of Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria, Fems Microbiology Reviews, 12, 39-85.
- Klaenhammer T R, Altermann E, Bolotin F A A, Breidt F, Broadbent J, Cano R, vd, 2002, Discovering Lactic Acid Bacteria by Genomics, Springer Link, 82, 29-58.
- Kurt Ş, Zorba Ö, 2005, Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 16, 77-83.
- Landeta G, Curiel J A, Carrascosa A V, Munoz R, Rivas B, 2013, Technological and Safety Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Spanish Dry-Cured Sausages, Meat Science, 95, 272-280.
- Lindgren S E, Dobrogosz W J, 1990, Antagonistic Activities of Lactic Acid Bacteria in Food and Feed Fermentations, Fems Microbiology Reviews, 87, 149–163.
- Margolles A, Madiedo P R, Gavilán C R, Sánchez B, Gueimonde M, 2011, Bifidobacterium In: D. Lui (Eds), Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens, CRC Press, 45-58p, Boca Raton.
- Mavhungu J, 2006, Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from "Ting" in the Northern Province of South Africa, Master of Science University of Pretoria, 74p, Pretoria.
- McConnell M, Mercer A, Tannock G, 1991, Transfer of Plasmid pAM β l Between Members of the Normal Microflora Inhabiting the Murine Digestive Tract and Modification of the Plasmid in a *Lactobacillus reuteri* Host, Microbial Ecology in Health and Disease, 4, 343-355.

- Meral A, Korukoğlu M, 2014, Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28, 71-82.
- Messaoudi S, Manai M, Kergourlay G, Prévost H, Connil N, Chobert J M, vd., 2013, *Lactobacillus Salivarius*: Bacteriocin and Probiotic Activity, Food Microbiology, 36, 296-304.
- Miralles M C, Flores J, Perez-Martinez G, 1996, Biochemical Tests For the Selection of *Staphylococcus* strains as Potential Meat Starter Cultures, Food Microbiology, 13, 227-236.
- Ouwehand A C, Salminen S, Isolauri E, 2002, Probiotics: an Overview of Beneficial Effects, In Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications, Springer, 82, 279-289.
- Önal D, Aslım B, Beyatlı Y, 2006, Yoğurtlardan izole Edilen Muhtemel Probiyotik *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi. 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu, 913.
- Parada J L, Caron C R, Medeiros A B P, Socol C R, 2007, Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Purification Properties and Use as Biopreservatives. Brazilian Archives of Biology and Technology, 50, 521-542.
- Qiu J, Wang D, Xiang H, Freng H, Jiang Y, Xia L vd. 2010, Subinhibitory Concentrations of Thymol Reduce Enterotoxins A and B and α -Hemolysin Production in *Staphylococcus aureus* Isolates, Plos One, 5, 1371.
- Quigley L, O'Sullivan O, Stanton C, Beresford T P, Ross R P, Fitzgerald G F vd. 2013, The Complex Microbiota of Raw Milk, FEMS Microbiology Reviews, 37, 664-698.
- Rauta P R, Dhupal M, Nayak B, 2013, Screening and Characterization of Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from Vegetable Waste and Fish Intestine, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2, 234-244.
- Ray B, Bhunia A, 2014, Fundamental Food Microbiology (5 Edition), CRC Press Boca Raton, 664s, Boca Raton.

- Ray B, Bhunia A, 2016, Temel Gıda Mikrobiyolojisi (5.Baskı), Çev.: Heperkan D, Nobel Akademik Yayıncılık, 608s, Ankara.
- Russel A D, Hogo W B, Ayliffe G A J, 1992, Principles and Practise of Disinfection, Preservation and Sterilization, Balckwell Science, 640s, Oxford.
- Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Mättö J, Mattila-Sandholm T, 2000, Probiotic Bacteria: Safety, Functional and Technological Properties, Journal of Biotechnology, 84, 197-215.
- Sağlam H, Karahan A G, 2017, L aktik Asit Bakterilerinin Plazmidleri ve Bunların Özellikleri, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 10, 252-285.
- Salminen S, Wright A, 2004, Microbiology and Functional Aspects in Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria (Third Edition), CRC Press, 656s, Boca Raton.
- Salminen S, von Wright A, Ouwehand A, 2004, Lactic Acid Bacteria 3rd Edition, CRC Press, 656s, New York.
- Samaržija D, Antunac N, Havranek J L, 2001, Taxonomy, Physiology and Growth of Lactococcus lactis: a review, Mljekarstvo, 51: 35-48
- Seyirt S, 2022, Ankara'da Satışa Sunulan Probiyotik Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilik Düzeyinin Belirlenmesi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 114s, Ankara
- Sezer Ç, 2007, Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bakteriyosin Üretme Yeteneklerinin Araştırılması, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars, Doktora Tezi, 163s, Kafkas
- Sharma P, Tomar S K, Goswami P, Sangwan V, Singh R, 2014, Antibiotic resistance among commercially available probiotics. Food Research International, 57, 176-195.
- Smit G, Vlieg J H, Smit B A, Ayad E H E, 2002, Fermentative Formation of Flavour Compounds by Lactic Acid Bacteria, Australian Journal of Dairy Technology, 57, 61-68.

- Smit G, Smit B A, Engels W J M, 2005, Flavour Formation by Lactic Acid Bacteria and Biochemical Flavour Profiling of Cheese Products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 591-610.
- Soomro A H, Masud T, Anwear K, 2002, Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health- a Review, *Pakistan Journal of Nutrition*, 1, 20-24.
- Stackebrand E, Teuber M, 1988, Molecular Taxonomy and Phylogenetic Position of Lactic Acid Bacteria, *Biochimie*, 70, 317-324.
- Stiles M E, Holzapfel W H, 1997, Lactic Acid Bacteria of Foods and Their Current Taxonomy, *International Journal of Food Microbiology*, 36, 1-29.
- Şahin İ, 2003, Endüstriyel Mikrobiyoloji, 3. Baskı, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları, 137s, Bursa.
- Şen A, Toprak N, Güneş E, Halkman A K, 2004, Bitki Kökenli Laktobasiller Üzerine Bir Araştırma, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 2, 1-6s.
- Şimşek Ö, 2003, Uşak ve Yöresi Ekşi Hamurlarından İzole Edilen Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Bazı Metabolik Özelliklerinin Belirlenmesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 100s, Denizli.
- Şimşek B, Sağdıç O, Karahan A G, 2001, Süt Starter Kültürleri Tarafından Üretilen Bakteriosinlerin Süt Teknolojisindeki Önemleri, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 8, 335-341.
- Tagg J R, Dajani A S, Wannamaker L W, 1976, Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria. *Bacteriological Reviews*, 40, 722-756.
- Taniguchi M, Nakazawa H, Takeda O, Kaneko T, Hoshino K, Tanaka T, 1998, Production of a Mixture of Antimicrobial Organic Acids from Lactose by Coculture of *Bifidobacterium longum* and *Propionibacterium freudenreichii* Biosci. Biotechnol. Biochem, 62, 1522-7.

- Tassou C C, Panagou E Z, Katsaboxakis K Z, 2002, Microbiological and Physicochemical Changes of Naturally Black Olives Fermented at Different Temperatures and NaCl Levels in the Brines. *Food Microbiology*, 19, 605–615.
- Tatlı D, 2009, Geleneksel Süt Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlerinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 82s, Adana.
- Tekinşen O C, Atasever M, 1994, Süt Ürünleri Üretiminde Starter Kültür, Şelçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, 150s, Konya.
- Teuber M, Meile L, Schwarz F, 1999, Acquired Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria from Food. In *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications*, Springer Link, 76, 115-137.
- Tokatlı M, 2013, Ankara Çubuk Yöresi Turşularından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanmaları, Teknolojik ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi ve Starter Olarak Kullanılma Olanaklarının Değerlendirilmesi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 192s, Ankara.
- Toksoy A, Beyatlı Y, 1999, Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Antagonistik İlişkileri Üzerine Bir Araştırma, *Gıda*, 24, 269-275.
- Tunail N, 2009, Mikrobiyoloji, Pelin Ofset, 448 s, Ankara.
- Ustaçelebi Ş, 1999, Temel Ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Tıp Kitabevleri, 1399s, Ankara.
- Ünlütürk A, Turantaş F, 1999, Gıda Mikrobiyolojisi 2.Baskı, Mengi Tan Basımevi, 606s, İzmir.
- Visser R, Holzapfel W H, Bezuidenhout J J, Kotze J M, 1986, Antagonism of Lactic Acid Bacteria against Phytopathogenic Bacteria, *App Environ Microbiol*, 52, 552- 555.
- Yang S C, Lin C H, Sung C T, Fang J Y, 2014, Antibacterial Activities of Bacteriocins: Application in Foods and Pharmaceuticals, *Frontiers in Microbiolgy*, 5, 1-10.

- Yang Z, 2000, Antimicrobial Compounds and Extracellular Polysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: Structure and Properties. Academic Dissertation. Department of food technology University of Helsinki, 61s, Helsinki.
- Yaygın H, Kılıç S, 1993, Süt Endüstrisinde Saf Kültür. Altındağ Matbaacılık, 105s, İzmir.
- Yıldız H, 2011, Turşu Ve Zeytinlerden Laktik Asit Bakterileri İle Mayaların İzolasyonu-İdentifikasyonu Ve Elde Edilen İzolatların Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 134s, Erzurum.
- Yüce A, 2001, Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. Klimik Dergisi, 14, 41-46.
- Yörük G N, Güner A, 2011, Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması ve *Weissella* Türlerinin Gıda Mikrobiyolojisinde Önemi, 6, 163-176.
- Zendo T, Yoneyama F, Sonomoto K, 2010, Lactococcal Membrane Permeabilizing Antimicrobial Peptides, Applied Biotechnology and Microbiology, 88, 19.
- Zhou R, Sun J, Mo H, 2007, Analysis of Functional Properties of *Lactobacillus Acidophilus*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 23, 195-200.