



**T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN BAZI
PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Melda ONUR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

**Temmuz-2021
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır**



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN BAZI
PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Melda ONUR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖNLÜ

Temmuz -2021
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL ve ONAYI

Melda ONUR tarafından hazırlanan “Farklı Kaynaklardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması .../.../... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Güvenliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Özlem OSMANAĞAOĞLU

.....

Ankara Üniversitesi,

Fen Fakültesi,

Biyoloji

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Harun ÖNLÜ

.....

Muş Alparslan Üniversitesi,

Teknik Bilimler MYO,

Gıda İşleme

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Zeynal TOPALCENGİZ

.....

Muş Alparslan Üniversitesi,

Mühendislik-Mimarlık Fakültesi,

Gıda Mühendisliği

Yukarıdaki sonuç;
Enstitü Yönetim Kurulu/...../..... Tarih ve/..... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Sedat BOZARI
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Muş Alparslan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından BAP-20-TBMY-4902-04 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Melda ONUR

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI KAYNAKLARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Melda ONUR

Muş Alparslan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖNLÜ

Laktik asit bakterileri (LAB), heksoz şekerlerinin laktik aside fermentasyonu sürecinde önemli bir rol oynayan ticari olarak önemli bir organizma grubudur ve “genel olarak güvenli kabul edilen” olarak tanımlandıkları için endüstriyel uygulamalarda ve probiyotik olarak yaygın olarak kullanılan organizmalardır. Laktik asit bakterilerini (LAB) izole etmek için farklı gıda, eşek sütü ve anne sütü örnekleri toplanmış ve bu örneklerden 45 bakteri suşu saflaştırılmıştır. Morfolojik tanımlama için gram boyama, katalaz testi, metilen mavisi boyama, moleküler tanımlama için RAPD-PZR ve 16S rRNA gen dizileme yöntemleri kullanıldı. Morfolojik özelliklerine göre 21 izolat gram (+), katalaz (-) kok, 7 izolat gram (+), katalaz (-) laktobasil olarak sınıflandırılmış ve MRS agar plaklarında geliştirilmiştir. Toplam 17 izolat MRS agar üzerinde geliştirilememiştir ve deneysel sürecin geri kalanından çıkarılmıştır. İzolatların moleküler tanımlanması için RAPD-PZR ile OPA-7 primeri kullanıldı. RAPD-PZR bant profillerine göre aynı bant profillerine sahip 15 izolat elimine edilmiş ve 16s rRNA gen dizi analizi için 13 izolat kullanılmıştır. *Lactobacillus sakei* MH1, *Lactococcus garvieae* MH3, *Lactococcus lactis* subs. *cremoris* MH4, *Enterococcus faecium* MH5, *Lactococcus lactis*’ in MH3, MH8, MH9 adlı 3 izolatı, *Weissella confusa*’ nın MH6, MH7 olan 2 izolatı *Pediococcus acidilactici*’ nin MH10, MH11, MH12, MH13 adlı 4 izolatı 16s rRNA gen dizi analizi sonuçlarına göre belirlendi. 13 izolat, antibiyotik duyarlılığı, pepsin, pankreatin, safra tuzları, düşük pH, bakteriyosin üretimi ve hemolitik aktivite altında hayatta kalma açısından karakterize edildi. Disk difüzyon testi sonuçları, izolatların tamamının kanamisine, çoğunun ise gentamisine dirençli olduğunu göstermektedir. MİK test sonuçları izolatların tamamının streptomisine dirençli olduğunu göstermektedir. *Lactobacillus sakei* MH1, *Lactococcus garvieae* MH3, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* MH3, *Weissella confusa* MH7, *Lactococcus lactis* MH8, *Lactococcus lactis* MH9 ve *Pediococcus acidilactici* MH10 pH:2’ de 1 saat ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* hariç tüm izolatlar pH:3’ te üç saat hayatta kaldı. Tüm suşlar bakteriyosin üretim testine göre indikatör mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki göstermemiştir. Tüm suşlar, pankreatin ve farklı safra tuzu (%0.3, %0.5, %1) konsantrasyonunda hayatta kalabilmiş, ancak pepsin (pH:3) varlığında *Enterococcus faecium* MH5; *Weissella confusa* MH6, MH7; *Lactococcus lactis* MH8 and *Lactococcus lactis* MH9 düşük bir yüzdeyle hayatta kalmıştır. Test edilen suşlar, y-hemolitik aktivite gösterdi. Bu sonuçlara göre izolatlarımız gıda ve ilaç endüstrilerinde uygulama için probiyotik potansiyel adaylardır, ancak izolatların diğer probiyotik seçim kriterleri açısından taranması gerekmektedir.

2021, 82 Sayfa

Anahtar Kelimeler: laktik asit bakterileri, probiyotik, in vitro, PZR, süt ve süt ürünleri

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION OF SOME PROBIOTIC PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM DIFFERENT SOURCES

Melda ONUR

Muş Alparslan University
Natural and Applied Science
Department of Food Safety

Advisor: Assist. Prof. Harun ÖNLÜ

Lactic acid bacteria (LAB) are a group of commercially important organisms that play an important role in the fermentation process of hexose sugars into lactic acid and they are widely used in industrial applications and as probiotics since they were designated as “generally recognized as safe” organisms. In order to isolate lactic acid bacteria (LAB), different food, donkey milk, and breast milk samples were collected and 45 bacterial strains were purified from those samples. Gram staining, catalase test, methylene blue staining were used for morphologic identification, RAPD-PCR, and 16S rRNA gene sequencing methods were used for molecular identification. According to morphological characteristics 21 isolates were classified as gram (+), catalase (-) cocci, 7 isolates were classified as gram (+), catalase (-) lactobacilli, and grown well on MRS agar plates. A total of 17 isolates were not grown on MRS agar and excluded from the rest of the experimental process. For molecular identification of isolates, OPA-7 primer was used with RAPD-PCR. According to the RAPD-PCR bant profiles, 15 isolates which have the same bant profiles were eliminated and 13 isolates were used for 16s rRNA gene sequence analysis. *Lactobacillus sakei* MH1, *Lactococcus garvieae* MH3, *Lactococcus lactis* subs. *cremoris* MH4, *Enterococcus faecium* MH5, 3 isolates *Lactococcus lactis* MH3, MH8, MH9, 2 isolates *Weissella confusa* MH6, MH7 4 isolates *Pediococcus acidilactici* MH10, MH11, MH12, MH13 were designated according to 16s rRNA gene sequence analysis results. The 13 isolates were characterized for antibiotic susceptibility, survival under pepsin, pancreatin, bile salts, low pH, bacteriocin production, and hemolytic activity. Disc diffusion test results show that all of the isolates were resistant to kanamycin, and most of resistant to gentamicin. MIC test results show that all of the isolates were resistant to streptomycin. *Lactobacillus sakei* MH1, *Lactococcus garvieae* MH3, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* MH3, *Weissella confusa* MH7, *Lactococcus lactis* MH8, *Lactococcus lactis* MH9 and *Pediococcus acidilactici* MH10 survived in pH:2 at 1 hour, and in pH: 3 all of the isolates except *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* were survived three hours. All strains did not show antimicrobial effect against indicator microorganisms according to the bacteriocin production test. All strains were able to survive in pancreatin and different bile salt (%0.3, %0.5, %1) concentration, but a low percentage survived in the presence of pepsin (pH:3) *Enterococcus faecium* MH5; *Weissella confusa* MH6, MH7; *Lactococcus lactis* MH8 and *Lactococcus lactis* MH9. The tested strains showed γ -hemolytic activity. According to these results, our isolates is probiotic potential candidates for application in the food and pharmaceutical industries, however, isolates should screen for the other probiotic selection criteria.

2021, 82 Pages

Keywords: donkey milk, human milk, lactic acid bacteria, probiotic, traditional fermented food

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında benden bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen, bana her konuda rehberlik eden değerli danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Harun ÖNLÜ' ye, tezimin savunmasında jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren ve katkıda bulunan sayın hocam Dr. Öğretim Üyesi Zeynal TOPALCENGİZ' e, tezimin bütün aşamalarında yanımda olan ve laboratuvar çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Didem TAŞDELEN' e, laboratuvardaki yardımları için Öğr. Gör. Sefa IŞIK ve Hande GÖK' e, istatistiksel analizler sırasındaki yardımlarından dolayı Dr. Öğretim Üyesi Görkem CEYHAN' a, tez örneklerini toplamamda yardımcı olan Veteriner Hekim Hale Dilvin TAŞDEMİR ve çalışma arkadaşlarına, manevi desteğinden ötürü Gökhan ŞAHİN' e, ayrıca eğitimimi tamamlamam konusunda her türlü hassasiyeti gösteren Muş Tarım ve Orman İl Müdürlüğü Gıda ve Yem Şube Müdürü Veteriner Hekim Haluk AYDINOĞLU ve desteklerinden ötürü çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana maddi ve manevi destek olan aileme en içten teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Melda ONUR
MUŞ-2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETİ	3
2.1 LAB' nin tarihçesi.....	3
2.2 Probiyotikler ve seçim kriterleri	4
2.3 LAB' nin önemi	5
2.4 Probiyotik olarak LAB.....	6
2.5 Probiyotik tanımlanmasında kullanılan yöntemler	7
2.6 Prebiyotikler.....	9
2.7 LAB ve Gıda Güvenliği	9
3. MATERYAL ve YÖNTEM	11
3.1 Materyal	11
3.1.1 Bakteriler.....	11
3.1.2 Tampon ve çözeltiler.....	11
3.1.2 Çözelti ve malzemelerin sterilizasyonu	11
3.1.3 Moleküler markörler	11
3.2. Yöntem.....	11
3.2.1 Farklı gıda kaynaklarından örneklerin toplanması.....	11
3.2.2 LAB' nin izolasyonu	12
3.2.3 İzolatların karakterizasyonu	12
3.2.3.1 İzole edilen LAB suşlarının morfolojik yöntemler kullanılarak karakterizasyonu	12
3.2.3.1.1 Katalaz testi	12
3.2.3.1.2 Basit boyama	12
3.2.3.1.3 Gram boyama	13
3.2.3.2 İzolatların genotipik karakterizasyonu	13
3.2.3.2.1 Genomik DNA izolasyonu	13
3.2.3.2.3 Agaroz jel elektroforezi.....	14
3.2.3.2.4 RAPD (Randomly Amplified Polimorphic DNAs) PZR profillerinin belirlenmesi	14
3.2.3.2.5 16S rDNA dizi analizi	15
3.2.3.2.5.1 16S rDNA bölgesinin PZR ile çoğaltılması	15

3.2.3.2.5.2 16S rDNA dizi analizi	15
3.2.4 Suşların bakteriyosin üretim özelliklerinin belirlenmesi	15
3.2.5 İzole edilen LAB suşlarının bazı probiyotik özelliklerinin in vitro koşullarda belirlenmesi	16
3.2.5.1 Suşların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi.....	16
3.2.5.2 Suşların düşük pH değerlerine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi	17
3.2.5.3 Suşların pepsin direnci testi	17
3.2.5.4 Suşların pankreatin direnci testi	17
3.2.5.5 Suşların safra tuzu direnci testi	18
3.2.5.6 Suşların hemolitik aktivite testi.....	18
3.2.6 İstatistiksel analizler.....	18
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA	19
4.1 Farklı kaynaklardan bakteri izolasyonu	19
4.2 Suşların karakterizasyonu	19
4.2.1 Suşların kısmi karakterizasyonu	19
4.2.2 Suşların genotipik karakterizasyonu	19
4.2.2.1 Suşların RAPD PZR profilleri	19
4.2.2.2 Suşların 16s rDNA dizi analizi	23
4.3 Suşların bakteriyosin üretim özellikleri	25
4.4 İzole Edilen LAB Suşlarının Bazı Probiyotik Özellikleri.....	25
4.4.1 Suşların antibiyotik duyarlılıkları	25
4.4.2 Suşların pH dirençleri	32
4.4.3 Suşların pepsin dirençleri	36
4.4.4 Suşların pankreatin dirençleri	38
4.4.5 Suşların safra tuzu dirençleri.....	41
4.4.6 Suşların hemolitik aktiviteleri	46
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	48
5.1 Sonuçlar	48
5.2 Öneriler	49
EKLER	61
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	82

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

bp	:	Baz pair (baz çifti)
cm	:	Santimetre
g	:	Gram
H ₂ O ₂	:	Hidrojen peroksit
HCl	:	Hidroklorik asit
kb	:	Kilobaz
kob	:	Koloni oluşturan birim (cfu)
log	:	Logaritma
M	:	Molar
mg	:	Miligram
ml	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
nm	:	Nanometre
pH	:	Hidrojen konsantrasyonunun logaritması
rpm	:	Dakikadaki devir sayısı
UV	:	Ultraviyole
V	:	Volt
yy	:	yüzyıl
μ	:	Mikro
μg	:	Mikrogram
μm	:	Mikrometre
μL	:	Mikrolitre
α	:	Alfa
β	:	Beta
γ	:	Gama
°C	:	Santigrat (Celcius) derece
%	:	Yüzde
+	:	Artı
-	:	Eksi
I	:	Antibiyotiğe karşı orta duyarlı
R	:	Antibiyotiğe karşı dirençli
S	:	Antibiyotiğe karşı duyarlı
~	:	Yaklaşık olarak
<	:	Küçüktür
>	:	Büyüktür
≤	:	Küçük eşit
≥	:	Büyük eşit

Kısaltmalar

BSH	:	Bile Salt Hydrolize (Safra Tuzu Hidrolaz Enzimi)
CLSI	:	The Clinical and Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	:	Etilendiamin Tetraasetikasit
EFSA	:	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
EtBr	:	Etidyum Bromit
FAO	:	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
GIT	:	Gastrointestinal Sistem
GRAS	:	Generally Recognized as Safe (Genellikle Güvenli Kabul Edilen)
LAB	:	Laktik Asit Bakterileri
WHO	:	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
ISAPP	:	International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği)
PZR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	:	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
MİK	:	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
rDNA	:	Ribozomal DNA
RNA	:	Ribonükleik Asit
SF	:	Serum Fizyolojik
PBS	:	Fosfat tamponlu tuz solüsyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4. 1 Gram boyama görüntüleri.....	21
Şekil 4. 2 OPA7 primeri ile yapılan RAPD PZR jel görüntüsü	22
Şekil 4. 3 Suşların RAPD bant profillerine göre oluşturulmuş filogenetik ağaç görüntüsü	22
Şekil 4. 4 PZR ile çoğaltılmış 16S rDNA bölgelerinin jel görüntüsü	24
Şekil 4. 5 Suşların 16S sekans sonuçlarına göre filogenetik ağaç görüntüsü	25
Şekil 4. 6 Disk difüzyon testi zon görüntüleri	26
Şekil 4. 7 İzole edilen suşların pH:2.0 ve kontrol grubu sonuçları (log kob/ml)	34
Şekil 4. 8 İzole edilen suşların pH:3.0 ve kontrol grubu sonuçları (log kob/ml)	34
Şekil 4. 9 Çalışmada kullanılan suşların pepsin direnç profilleri (log kob/ml).....	37
Şekil 4. 10 Çalışmada kullanılan suşların pankreatin direnç profilleri (log kob/ml)	40
Şekil 4. 11 Çalışmada kullanılan suşların %0,3 safra tuzu sonuçları (log kob/ml).....	43
Şekil 4. 12 Çalışmada kullanılan suşların %0,5 safra tuzu sonuçları (log kob/ml).....	43
Şekil 4. 13 Çalışmada kullanılan suşların %1 safra tuzu sonuçları (log kob/ml).....	44
Şekil 4. 14 Hemolitik aktivite testi sonucundaki bazı örneklerdeki petri görüntüleri.....	46

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Suşlara verilen numaralar, izolasyon kaynakları, katalaz aktivitesi, gram boyama ve morfolojik yapıları	20
Çizelge 4. 2 Suşların 16S rDNA dizi analizi sonucundaki suş adları ve aksesyon numaraları	24
Çizelge 4. 3 Suşların antibiyotik duyarlılık testi zon çapları (mm).....	26
Çizelge 4.4 Suşların MİK testi değerleri (µg/ml) ve dirençleri.....	27
Çizelge 4.5 Çalışmada kullanılan suşların farklı pH değerlerinde canlı hücre sayısı log-kob/ml olmak üzere 0., 1. ve 3. saat dilimlerindeki ölçümleri; kontrol, pH:2 ve pH:3 gruplarındaki zamana göre istatistiksel analiz sonuçları	35
Çizelge 4.6 Canlı hücre sayısının log-kob/ml olmak üzere kontrol, pH:2 ve pH:3 gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan ANOVA analizi sonuçları	35
Çizelge 4.7 Pepsin miktarının kontrol, pepsin pH:2 ve pepsin pH:3 gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan ANOVA analizi sonuçları	37
Çizelge 4.8 Pepsin miktarının kontrol, pepsin pH:2 ve pepsin pH:3 gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan ANOVA analizi sonuçları	38
Çizelge 4.9 Canlı hücre sayılarının kontrol ve pankreatin gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan t testi sonuçları.....	40
Çizelge 4. 10 Kontrol ve pankreatin gruplarına ait canlı hücre sayılarının log-kob/ml olmak üzere 0, 1, 3 ve 4. zaman dilimlerine göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan tekrarlı ANOVA analizi sonuçları	41
Çizelge 4. 11 Safra miktarının kontrol, safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan ANOVA analizi sonuçları.....	44
Çizelge 4.12 Kontrol, safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarına ait canlı hücre sayılarının log-kob/ml olmak üzere 0, 1, 3 ve 4. zaman dilimine göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan tekrarlı ANOVA analizi sonuçları.....	45



1. GİRİŞ

Probiyotikler, uygun miktarda alındıklarında konakçı sağlığı üzerinde faydalı etkiler sergileyen canlı mikroorganizmalardır (FAO ve WHO, 2002). En yaygın olarak kullanılan probiyotikler *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşlarıdır (Diosma ve ark., 2014; Fleet ve Balia, 2006). Bu mikrobiyal gruplar, insan vücudunda karşılaştıkları olumsuz koşullara dayanma (örneğin; tükürük enzimleri, düşük pH ve pankreas suyu), bağırsak epitel hücrelerine tutunma ve konağın mikrobiyotasını düzenlenme yeteneğine sahiptir (de Melo Pereira ve ark., 2018; Liong ve ark., 2015; Marchesi ve ark., 2016; Mathur ve ark., 2020; Zoumpopoulou ve ark., 2017). Konağın, zararlı mikroorganizmalara karşı korunmasında önemli bir rol oynarlar ve ayrıca bağışıklık sistemini güçlendirirler (Agheyisi, 2008; Schultz, 2008; Soccol ve ark., 2010). Probiyotik mikroorganizmaların yüzyıllardır geleneksel olarak tüketilen fermente süt ürünleri ve fermente gıdalarda mevcut olduğu bilinmektedir. Ayrıca gıda endüstrisinde fonksiyonel gıdaların üretiminde bir bileşen olarak kullanılmaktadır (Zucko ve ark., 2020).

Probiyotik olarak kullanılan organizmalar içerisinde en önemli grubu laktik asit bakterileri (LAB) oluşturmaktadır. LAB' nin çok uzun yıllardan beri fermente gıdaların üretiminde kullanılması ve bu gıdalarla birlikte tüketilmesi LAB' nin genel olarak güvenli (GRAS= Generally regard as safety) kabul edilmesini sağlamıştır (Patil ve ark., 2010). Süt ürünleri, etler, sebzeler, ekşi mayalı ekmek gibi ürünlerde bulunmalarının haricinde LAB; ağız boşluğu, vajina ve gastrointestinal sistem gibi insan mukozal yüzeylerinde de yaygın olarak bulunmaktadır. Metabolik faaliyetleri sonucu organik asitler, polioller, ekzopolisakkaritler ve antimikrobiyal bileşikler gibi bir çok yararlı bileşiğin üretimi ile ilişkili olan LAB' nin gıdalardaki temel işlevi laktik asit üretimi ile asitliği arttırmaktır. Ayrıca LAB, aroma bileşenlerinin üretimi ile fermente gıdaların lezzet dokusuna ve besin değerine katkıda bulunur. Ek olarak patojen mikroorganizmaların inhibisyonuna katkıda bulunurlar ve böylece biyokoruyucu kültürler olarak kullanılırlar. Bu nedenle LAB çok çeşitli fermente süt ürünleri, et, balık, meyve, sebze ve tahıl ürünlerinde gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanılır (Bintsis, 2018).

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için insan vücudundaki olumsuz koşullara direnç, epitel hücrelere tutunma kabiliyeti, antimikrobiyal aktivite ve güvenlik değerlendirmesi dahil çeşitli kriterlere uygun olması gerekmektedir.

Bu çalışmada endüstri ve sağlık gibi alanlarda birçok öneme sahip laktik asit bakterileri farklı kaynaklardan (fermente gıda ürünleri, süt ve süt ürünleri) izole edilerek tanımlanmıştır. Suş düzeyinde tanımlanmış bu bakterilerin bazı probiyotik özellikleri araştırılmıştır.



2. KAYNAK ÖZETİ

2.1 LAB' nin tarihçesi

1873 yılında J. Lister tarafından ilk keşfedilen probiyotik, LAB grubu üyesi olan *Lactobacillus* cinsidir. Laktik asit bakterilerinin yararlı etkilerine olan ilgi, 20. yy başlarında (1908) Balkan halkının uzun ömürlülüğünün sık sık fermente süt ürünleri tüketiyor olmalarına bağlayan Rus bilim adamı Elie Metchnikoff ' a (1845 - 1919) dayanmaktadır (Hove ve ark., 1999; Masood ve ark., 2011). Elie Metchnikoff, probiyotiklerin mucidi olarak kabul edilir (Heller, 2001). E. Metchnikoff, fermente süt ürünlerindeki asit üreten organizmaların kalın bağırsakta olumlu etkilere neden olabileceğini ve böylece tüketicinin ömrünün uzamasına yol açabileceğini öne sürmüştür (Hove ve ark., 1999). 1956'da Lilly ve Stillwell, bir mikroorganizmanın başka bir mikroorganizma için bazı büyüme uyarıcıları gizlediğini belirlemişlerdir (Lilly ve Stillwell, 1965; Zendeboodi ve ark., 2020).

Probiyotik terimi ilk olarak Parker tarafından gastrointestinal sistemde mikrobiyal dengeye neden olan maddelerin ve organizmaların tanımlanması için kullanılmıştır (Parker, 1974; Zendeboodi ve ark., 2020). Bu tanımda madde kelimesinin varlığı, antibiyotikleri de içeren geniş bir çağrışımla sonuçlanmıştır (Zendeboodi ve ark., 2020). Fuller, Parker' ın tanımını geliştirmiş ve probiyotiği, doğal bağırsak mikroflorasını düzenleyerek sıcak kanlı hayvan sağlığını olumlu etkileyen canlı bir mikroorganizma olarak tanımlamıştır. Fuller' in tanımı probiyotiklerin yaşayabilirliğine ve hayvanlar üzerindeki olumlu etkisine vurgu yapmıştır (Fuller, 1989; Zendeboodi ve ark., 2020).

Haveenar ve In't Veld, bu mikroorganizmaları "bağırsak mikroflorası özelliklerini iyileştirerek konakçı sağlığını olumlu yönde etkileyen, insanlara veya hayvanlara uygulanan tek veya karışık (mix) kültürler şeklindeki canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlamışlardır (Haveenar ve In't Veld, 1992; Zendeboodi ve ark., 2020). Salminen tanımına göre bir probiyotik, süt ürünlerinde bulunan canlı bir mikroorganizmadır ve konağın sağlığını ve beslenmesini iyileştirmektedir (Salminen, 1996; Zendeboodi ve ark., 2020).

Schaafsma tanımı genişleterek probiyotikleri, yeterli sayıda alındığında ve doğal temel beslenmeden daha fazla tüketildiğinde konakçı üzerinde sağlığa faydası bulunan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlamıştır (Schaafsma, 1996). Salminen, probiyotiğin süt ürünlerinin mikrobiyal kültürü olduğuna dikkat çekmiştir. Bu nedenle, bu tanıma dayanarak gıda matrisi; mikroorganizmayı ve gıdayı probiyotik olarak ele almak için

anahtar bir kriter olmaktadır. Bununla birlikte, süt ürünü olmayan ürünlerde canlı probiyotiklerin varlığı nedeniyle, süt ürünlerini sadece probiyotik matrisi olarak düşünmek haklı değildir (Salminen, 1996). 2001 yılında, Schrezenmeir ve de Vrese, yeterli miktarda alındığında konakçının mikroflorasını değiştirebilen, yaşayabilir hücre içeren karışım olarak tanımlamıştır (Schrezenmeir ve de Vrese, 2001; Zendeboodi ve ark., 2020).

2001 yılında, WHO ve FAO, probiyotikleri “yeterli miktarlarda uygulandıklarında konakçı üzerinde bir sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak kabul etmiştir. Son olarak, 2014 yılında, Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği (ISAPP) ikinci tanımı biraz değiştirdi ve probiyotikleri “yeterli miktarlarda uygulandıklarında konakçı sağlığı üzerinde faydalı etkileri olan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlamıştır. O zamandan beri, bu tanım bilim camiası tarafından yaygın olarak kullanılmış ve çoğu devlet kurumunda ilaçları, yiyecekleri ve takviyeleri probiyotik ürünler olarak değerlendirmek için bir kriter olmuştur. Bu tanımda, canlılık, bir mikroorganizmayı ve ilgili ürünü “probiyotik” olarak düşünmek için en önemli faktörlerden biri olmuştur (Zendeboodi ve ark., 2020).

2.2 Probiyotikler ve seçim kriterleri

Probiyotik mikroorganizmalar genellikle LAB grubu bakterileri olan *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium* ve *Pediococcus* cinslerine ait çeşitli türleri içermektedir. Ayrıca *Bacillus* spp., *Saccharomyces* spp., *Aspergillus* spp. cinslerine ait bazı türler ve *Escherichia coli* suşu Nissle 1917 de uygun probiyotik mikroorganizma türlerindendir (Bhadoria ve Mahapatra., 2011; Kıran ve Osmanagaoğlu., 2012; Agheyisi, 2008; Schultz, 2008; Soccol ve ark., 2010). Probiyotiğin etki mekanizması doğrudan seçilen suşun özelliği ile bağlantılıdır. Seçim yapılırken aday türün genetiği ve fizyolojisi, bağırsaktaki rolleri, diğer mikroflora ile ilişkisi, fonksiyonel aktivitesi önem taşımaktadır. Seçim kriterlerini doğrulamak için in-vivo ve in-vitro testler kullanılabilir (Caselli ve ark., 2012; Modzelewska-Kapituła ve ark., 2008; Shewale ve ark., 2014). Kökeni ve taksonomik kimliği ne olursa olsun, aday suşlarda β -hemolitik aktivitenin ve bağırsak hastalıkları ile ilişkili olan β -glukosidaz, N-asetil- β -glukozaminidaz ve β -glukuronidaz gibi diğer zararlı enzimatik aktivitelerin bulunmadığını doğrulamak için bir dizi in-vitro testine ihtiyaç duyulmaktadır (Dabek ve ark., 2008; Delgado ve ark., 2007; Wedajo, 2015).

Probiyotiklerin anti-kanserojen aktivitesini kanıtlayan *in-vivo* ve *in-vitro* deneyler mevcuttur. Pro ve prebiyotiklerin kanser önleyici özelliklerine ilişkin kanıtlar, hayvanlarda ve insanlarda dışkı enzim aktiviteleri, bilinen kanserojenlerin *in vitro* ve *in vivo* genotoksitesinin inhibisyonu, laboratuvar hayvanlarında kanserojen kaynaklı preneoplastik lezyonların ve tümörlerin baskılanması üzerine yapılan çalışmalardan elde edilmiştir (Burns ve Rowland, 2000; Commane ve ark., 2005).

Probiyotik bakteriler sindirilemeyen karbonhidratları fermente edebilir ve bağırsakta kısa zincirli yağ asitleri üretebilir. Bunlar karaciğerdeki kolesterol sentezini inhibe eder ve/veya kolesterolü plazmadan karaciğere yeniden dağıtır, böylece kandaki lipid seviyelerini azaltır (Ahn ve ark., 2003; De Boever ve ark., 2000; Doncheva ve ark., 2002; Ljungh, 2006). Bazı probiyotik mikroorganizmaların safra tuzu metabolizmasına müdahale ederek kolesterol seviyelerini etkileyebileceği ileri sürülmüştür. Safra tuzlarını hidrolize etme kabiliyeti gösteren *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium*, *Clostridium* ve *Bacteroides* cinslerine dahil birçok tür serum kolesterol seviyelerini düşürmektedir (Smet ve ark., 1994). Ürettikleri BSH (Bile Salt Hydrolase=Safra Tuzu Hidrolaz) enzimi ile konjuge safra tuzlarını dekonjuge safra tuzlarına dönüştürmektedirler. Hidrolize edilen safra tuzları dışkı yoluyla vücuttan atılır. Safra asitlerinin öncüsü olan kolesterol, dışkılama ile kaybedilen safra tuzlarının serum kolesterolünde bir azalmaya yol açması sonucu kaybedilenlerin yerini almak için çoğunlukla safra tuzlarına dönüştürülmektedir (de Melo Pereira ve ark., 2018; Kumar ve ark., 2012; Nguyen ve ark., 2007).

2.3 LAB' nin önemi

Fermantasyon, 6000 yıldan fazla bir süredir gıdanın kalitesini muhafaza etmenin bir yolu olarak kullanılmakla birlikte gıdaların raf ömrünü ve güvenliğini iyileştirmeye hizmet etmiş, insanların kış mevsimleri ve kuraklık dönemlerinde hayatta kalmalarını sağlamıştır. Gıdayı koruma etkisinin yanı sıra fermantasyon; gıdanın duyu kalitesini ve kabul edilebilirliğini artırmanın bir yolu olmuştur (Campbell-Platt, 1994; Holzapfel, 1997). Fermantasyonda rol alan mikroorganizmalar metabolik faaliyetleri sayesinde tat, aroma, görüntü, doku, raf ömrü ve güvenlik gibi karakteristik özelliklerin gelişmesine katkıda bulunurlar. Fermantasyon, starter kültür ilave edilmeden doğal fermentasyon yoluyla da gerçekleşebilmesine rağmen starter kültür ile gerçekleştirilen fermentasyonlar daha standart ve yüksek kalitede ürün üretimine imkan sağlamaktadır (Hammes, 1990; Holzapfel, 1997). Starter kültür; fermentasyon sürecini hızlandırarak ve yönlendirerek

fermente bir gıda üretmek için bir hammaddeye eklenecek en az bir mikroorganizma türünün çok sayıda hücresinin mikrobiyal bir preparasyonu olarak tanımlanabilir. Laktik asit bakteri grubu (LAB), bu süreçlerde merkezi bir rol oynamaktadır ve fermente gıda ve içeceklerin üretiminde uzun ve güvenli bir uygulama ve tüketim geçmişine sahiptir (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Leroy ve De Vuyst, 2004; Ray, 1992).

Fermente gıda üretiminde starter olarak kullanılan ve patojen olmayan LAB cinsleri; *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Oenococcus* ve *Streptococcus* tür (Holzapfel, 2003; Moreno ve ark., 2006; Şengün, 2011). Son zamanlarda, endüstriyel açıdan önemli bir işlevselliğe sahip antimikrobiyal maddeler, şeker polimerleri, tatlandırıcılar, aromatik bileşikler, vitaminler veya faydalı enzimler üreten ve probiyotik özelliklere sahip olan laktik asit bakterileri yeni starter kültürler olarak geliştirilmektedir (Leroy ve De Vuyst, 2004). Gıda koruyucuları, gıda aromaları ve asitleştiricilerin üretiminde ve aynı zamanda ilaç, kozmetik ve biyo-bozunur polilaktik asit polimerlerinin imalatı gibi çeşitli endüstriyel işlemlerde kullanılmaktadır (de Melo Pereira ve ark., 2018; Fröhlich ve ark., 2009). LAB, sindirim süreçlerine ve sağlığa yardımcı olan doğal kültürler olarak tüketicilere pazarlanmaktadır (Colombo ve ark., 2018).

2.4 Probiyotik olarak LAB

Laktik asit bakterileri (LAB), laktik asit üretimiyle karakterize edilir ve birçok endüstriyel ve geleneksel bitki, et ve süt fermentasyonunda baskın mikroorganizma grubudur. Ayrıca LAB, insan mide bağırsak sisteminin (GIT) yerli sakinleridir ve ince bağırsaktaki baskın koloniler arasında olduğu düşünülmektedir (Jensen ve ark., 2012; Marco ve ark., 2006).

Lactobacillus cinsi; gıda koruyucuları, gıda aromaları ve asitleştiricilerin üretiminde ve aynı zamanda ilaç, kozmetik ve biyo-bozunur polilaktik asit polimerlerinin imalatı gibi çeşitli endüstriyel işlemlerde kullanılan, fermentatif ve karbonhidrat fermentasyonunun son ana ürünü olan laktik asit üreten, gram pozitif, aero-tolerant veya anaerobik, asidürik veya asidofilik, spor oluşturmayan, kok veya çubuk formda morfolojiye sahip 183 tanımlanmış türü içermektedir (Abbaszadeh ve ark., 2015; de Melo Pereira ve ark., 2018; Fröhlich ve ark., 2009; Hammes ve Vogel, 1995; Pundir ve ark., 2013). *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. johnsonii*, *L. sakei*, *L. salivarius*, *L. satsumensis*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. lactis*, *L. reuteri* ve *L. rhamnosus* suşları *Lactobacillus* cinsine dahildir (de Melo Pereira ve ark., 2018; Dellaglio

ve ark., 2004; Holzapfel ve Wood, 1995; Naidu ve ark., 1999). Laktobasiller, konakçı hayvan ve insan doğal mikrobiyotlarının bir parçasıdır ve konakçı içinde gastrointestinal sistem (GIT), ürogenital sistem, ağız boşluğu ve cilt gibi çeşitli kısımlarda yer alırlar. Süt ortamında özellikle fermente süt ürünlerinde bol miktarda, doğal olarak bitkilerde ve toprakta bulunurlar (Lahtinen ve ark., 2011; Yang ve ark., 2010). Ağız boşluğundaki laktobasiller zararlı mikroorganizmalara karşı koruma sağlayabilir, ancak asit üreticileri olduklarından dişte aşınmaya neden olabilirler (Haukioja ve ark., 2008; Lahtinen ve ark., 2011). Laktobasiller ayrıca doğal olarak ve sıklıkla anne sütünde de bulunur. Anne sütünden tespit edilen laktobasil türleri arasında *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. gasseri* ve *L. salivarius* mevcuttur (Collado ve ark., 2009; Lahtinen ve ark., 2011). Laktobasil cinsinin üyeleri gıda ve yem üretiminde de yaygın olarak kullanılır (Lahtinen ve ark., 2011). Probiyotik etkileri kanıtlanmış diğer LAB türleri arasında *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* yer almaktadır (de Melo Pereira ve ark., 2018; Wood ve Holzapfel, 1995).

LAB, sınırlı olan amino asit ve B vitaminleri sentezleme yeteneğinden dolayı bitkiler, süt, insan ve hayvan vücutlarının içindeki besin bakımından zengin ortamlar gibi kompleks besin içeren ortamlarda yaşamaya gereksinim duyar (Chopin, 1993; Hofvendahl ve Hahn-Hägerdal, 2000). LAB, glikoz fermantasyonu ile laktik asit ve izolatlarını oluşturma yeteneğine sahiptir. Fermantasyonlarının son ürününe göre homofermantatif veya heterofermantatif olarak gruplandırılırlar. Homofermantatifler, sadece glikoz fermantasyonunun ana ürünü olan laktik asit üretir. Heterofermantatifler ise pentoz monofosfat yolunu kullanarak glikoz fermantasyonundan laktik asidin yanı sıra karbondioksit, asetik asit ve etanol dahil olmak üzere bir dizi ürün üretirler (Carr ve ark., 2002; Kandler, 1983; Müller, 2001). LAB ayrıca, fermente gıdaların kalitesini ve raf ömrünü arttırmak için kullanılan bakteriyosinler, ekzopolisakkaritler ve enzimler gibi sekonder metabolitler üretme yeteneğine sahiptir (de Melo Pereira ve ark., 2018; Leroy ve De Vuyst, 2004).

2.5 Probiyotik tanımlanmasında kullanılan yöntemler

Probiyotik tanımlanmasında fenotipik ve moleküler (genotipik) olmak üzere iki temel yöntem mevcuttur (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011). Fenotipik yöntemler; gen ekspresyonunun ürününün gözlemlenebilir karakterlerini karakterize ederler. Fizyolojik, morfolojik, metabolik, biyokimyasal özellikler, hücre duvarı bileşikleri, ekzopolisakkaritler, faj tiplendirmeleri, hücre yüzeyindeki antijenler, antimikrobiyel

duyarlılık profilleri, karbonhidrat fermantasyonu gibi biyokimyasal testlerdir (Daud Khaled ve ark., 1997; Falsen ve ark., 1999; Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011). Geleneksel biyokimyasal ve fizyolojik testler kullanılarak benzer fizyolojik özellikler gösteren çok sayıda izolatu ayırt etmede bazı kısıtlayıcı etmenlerle karşılaşmaktadır bu yüzden günümüzde, LAB tanımlama çalışmaları; fenotipik yöntemlerden daha kesin ve hassas sonuçlar vermesi sebebiyle moleküler (genotipik) yöntemlere doğru kaymıştır (Berthier ve Ehrlich, 1999; Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011). Moleküler yöntemler birbirine çok yakın akraba türlerin tespiti, türlerin identifikasyonu, starter kültür analizleri, gıdalarda bozulmalara ve gastrointestinal enfeksiyonlara neden olan önemli mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılmaktadır. Bu yöntemin sonuçlarının daha net ve yöntemin tekrarlanabilir olması, kolay uygulanabilir sonuçlarının kolay yorumlanabilmesi nedenlerinden dolayı son yıllarda daha sık kullanılmaktadır (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011).

Bilinmeyen izolatların doğru tiplendirilmesi 16S ribozomal RNA'nın (rRNA) dizi analizi ile elde edilmektedir. Organizmaları sınıflandırmak ve evrimsel ilişkilerini değerlendirmek için kullanılan bu araç ilk olarak Woese ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (O'Sullivan, 2000; Woese, 1987). Mevcut rRNA dizileri veri tabanı artık kapsamlı olup, bilinmeyen izolatların filogenetik konumu üzerinde ayrıntılı çalışmaların yapılmasına izin verir (O'Sullivan, 2000; Olsen ve ark., 1994).

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), genin her iki ucunda evrensel olarak korunan bölgelere yönlendirilen primerler kullanılarak kolonilerden doğrudan 16S rRNA genini amplifiye etmek için kullanılabildiğinden, teknik olarak bu çok uygundur. Yaklaşık 1.5 kb olan tüm PZR amplikonu daha sonra doğrudan dizilenebilir ve rRNA veritabanıyla karşılaştırılabilir (Leblond-Bourget ve ark., 1996; O'Sullivan, 2000; Shah ve Collins, 1989).

Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) yöntemi, 16S rRNA gen sekanslarını atlayarak genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi için etkinliğini kanıtlamış olup mevcut teknikler arasında en yaygın kullanılan moleküler yöntemlerden biridir (Farjana ve ark., 2020; Williams ve ark., 1990). RAPD tekniği, birden fazla kısa primerlerin rastgele hedef sekansına bağlanarak modelin (türün) teşhis değeri ile sonuçlanan bir PZR tabanlı ayırım yöntemidir (Farjana ve ark., 2020; Welsh ve McClelland, 1990). Hatta türler arası ve aynı türler içinde farklılaşma tiplemesi RAPD-PZR sayesinde izlenebilmektedir (Du Plessis ve Dicks, 1995; Farjana ve ark., 2020).

2.6 Prebiyotikler

Yıllar geçtikçe, diyet anlayışımız ve diyetin sağlık üzerindeki etkileri mekanik bir bakış açısı kazanmıştır, çünkü gıdalar sadece temel besin kaynakları değildir, aynı zamanda sağlık açısından çeşitli faydalar içeren ve sağlıklı yaşamla ilişkilendirilen çeşitli bileşikler de sağlar (Neri-Numa ve Pastore, 2020; Thilakarathna ve ark., 2018). Aslında hem sağlık hem de hastalıklar gebelik döneminde ve erken çocukluk dönemlerindeki beslenme, epigenetik süreçler ve sonraki yaşamda da hastalıklarla güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (Canani ve ark., 2011; Neri-Numa ve Pastore, 2020).

1990' larda Gibson ve Roberfroid tarafından tanıtılmış olan prebiyotikler bağırsak mikrobiyal dengesini geliştirerek konağı faydalı bir şekilde etkileyen mikrobiyal gıda takviyeleri olarak tanımlanmış olup koloni mikrobiyotasının bileşimini değiştirmek için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu tür değişiklikler geçici olabilir ve bu nedenle eksojen bakterilerin implantasyonu sınırlı hale gelir. Bunun tersine, prebiyotikler, kolonda yerleşmiş olan bir veya sınırlı sayıda bakteri türünün büyümesini ve / veya aktivitesini seçici olarak uyararak konağı faydalı bir şekilde etkileyen ve böylece konakçı sağlığını iyileştirmeye çalışan sindirilemez gıda bileşenleridir. Prebiyotiklerin alımı, spesifik bakteri sayısını artırarak ve böylece mikrobiyotanın bileşimini değiştirerek, koloninin mikrobiyotasını önemli ölçüde düzenleyebilir. Prebiyotikler genel olarak sindirilemeyen oligosakkaritler ve özellikle fruktooligosakkaritlerdir. Prebiyotiklerin kısa bir beslenme döneminden sonra insan dışkıсында baskın hale gelen endojen bifidobakterilerin büyümesini uyardığı gösterilmiştir ve prebiyotikler büyük olasılıkla fermentasyon ürünleri yoluyla lipid metabolizmasını düzenlemektedirler (Gibson ve Roberfroid, 1995).

2.7 LAB ve Gıda Güvenliği

Gıda güvenliği toplum sağlığının önemli bir parçasıdır. Gıda güvenliğinin sağlanması; işleme, dağıtım ve depolama alanlarında mikrobiyal ve kimyasal kirleticilerin ortadan kaldırılması veya azaltılması ile gerçekleşmektedir (Moradi ve ark., 2020; Valdramidis ve Koutsoumanis, 2016). Gıda kayıplarını en aza indirmek ve yüksek kalitede güvenli gıda sağlamak için koruyucu malzemelerin kullanımı her zaman gıda endüstrisinin odak noktası olmuştur; ancak günümüz tüketicileri, gıda katkı maddeleri konusunda genellikle bir hoşnutsuzluk göstermekte ve onları sağlıksız olarak algılamaktadır (Bearth ve Hartmann, 2017; Moradi ve ark., 2020). Bu anlamda yapay katkı maddelerinin değil de LAB tarafından üretilen doğal antimikrobiyal ajanların

kullanılarak gıda güvenliğinin ve daha sağlıklı ürünlerin geliştirilmesinin sağlanması büyük ilgi görmüştür (Barros ve ark., 2020; Moradi ve ark., 2020). *Saccharomyces boulardii* gibi mayalar da dahil olmak üzere *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Streptococcus* gibi gıdalarda kullanılan bakterilerin bazı geleneksel probiyotik türleri GRAS olarak kabul edilmektedir (Bagchi, 2014; Koirala ve Anal, 2021). Bu yüzden LAB, fermente süt ürünlerinin üretiminde uzun yıllardır güvenle kullanılmaktadır (Salminen ve von Wright, 1998). FAO / WHO çalışma grubu, gıda uygulamalarında kullanılacak probiyotikleri onaylamak için güvenlik değerlendirmesini önermektedir. Çalışma grubu tarafından hazırlanan probiyotik güvenlik değerlendirmesi aşağıdakileri maddeleri içerir:

1. İstenmeyen metabolitlerin üretimi ve değerlendirilmesi (örneğin, D- laktat üretimi ve safra tuzu dekonjugasyonu)
2. Potansiyel antimikrobiyal direnç faktörlerinin varlığı
3. İnsan klinik çalışmalarında olası yan etkiler
4. Tüketicilerdeki olumsuz etkilerin pazar sonrası epidemiyolojik değerlendirmesi
5. Hemolitik aktivite
6. Toksin üretimi ve toksisite (Koirala ve Anal, 2021).

LAB suşları üzerinde mevcut güvenlik çalışmaları sınırlıdır, ancak çoğu Laktobasil türünün ve *Bifidobacterium* suşunun hayvanlar veya insanlar için patojenite ve akut oral toksisite oluşturmadığı bilinmektedir (Kailasapathy ve Rybka, 1997; Momose, 1979; Salminen, 1998; Saxelin, 1997; Wolf ve ark., 1995; Zhou ve ark., 2000).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Bakteriler

Bu çalışmada kullanılan bakteri suşları Muş İlinden temin edilen farklı kaynaklardan (manda sütü, anne sütü, eşek sütü, Muş kaşarı ve ev yapımı fermente ürünler gibi) izole edilmiştir. Çalışma kapsamında izole edilen suşlar MRS (de Man Rogosa Sharpe) sıvı besiyerinde uygun sıcaklıklarda geliştirilerek, uygun koşullarda stoğa alınmış ve çalışmanın ilerleyen aşamalarında kullanılmak üzere -80°C’ de saklanmıştır. Bu besi ortamına ait ve çalışmanın diğer aşamalarında kullanılan diğer besi ortamlarına ait kimyasal bileşenler **EK-1’** de belirtilmiştir. Çalışmanın gerçekleştirilmesi için gerekli olan etik kurul onayı Muş Alparslan Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu tarafından onaylanmıştır, kurul kararı **EK-2’** de verilmiştir.

3.1.2 Tampon ve çözeltiler

Çalışmada kullanılan tampon ve çözeltilerin hazırlanışı **EK-3’** de verilmiştir.

3.1.2 Çözelti ve malzemelerin sterilizasyonu

Çalışma boyunca kullanılan tüm malzemelerin sterilizasyonu için otoklav kullanılmıştır (121°C’ de 15 dakika, MRS; 121°C’ de 15 dakika).

Isıdan etkilenen sıvı malzemelerin sterilizasyonu 0.22 µm çapındaki filtreler (Milex, Milipore, Fransa) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.3 Moleküler markörler

Bu çalışmada kullanılan tüm markörler **EK-4’** de belirtilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1 Farklı gıda kaynaklarından örneklerin toplanması

Gıda ve insan kaynaklı örneklerden aseptik koşullarda alınan numuneler, uygun koşullarda laboratuvar ortamına getirilerek LAB izolasyonu için kullanılmıştır.

3.2.2 LAB' nin izolasyonu

Laboratuvar ortamına getirilen 45 adet gıda örneği serum fizyolojik (SF) ile 10^{-8} seyreltme düzeyine kadar seri dilüsyona tabi tutulmuş ve bu dilüsyonlardan 100 µL alınarak MRS agar üzerine yayma ekim yöntemiyle ekimleri yapılmış ve 37°C de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda koloniler seçilerek steril öze yardımı ile MRS broth besiyerine aktarılmış ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi biten kültürlerin metilen mavisi ile basit boyamaları yapılarak ışık mikroskopunda saflıkları kontrol edilmiş ve saf olduğu belirlenen kültürden 500 µL alınarak içerisinde 500 µL gliserol bulunan eppendorf tüplere eklenmiş diğer çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C' de muhafaza edilmiştir.

3.2.3 İzolatların karakterizasyonu

3.2.3.1 İzole edilen LAB suşlarının morfolojik yöntemler kullanılarak karakterizasyonu

Farklı kaynaklardan izole edilen suşların kısmi karakterizasyonunun yapılabilmesi için katalaz testi, metilen mavisi ile basit boyama ve gram boyama yöntemi uygulanmıştır.

3.2.3.1.1 Katalaz testi

-80°C' de gliserol içerisinde muhafaza edilmiş olan stok kültürlerden 50 µL alınıp 5 ml' lik TGE broth üzerine aşılanmıştır ve 24 saat boyunca etüvde bekletilmiştir. Bakteri gelişimi gözlenen sıvı kültürlerden TGE agar üzerine çizgi ekim yapılmıştır. 37°C' de 24 saat etüvde geliştirilmiş olan kolonilerin üzerine H₂O₂ damlatılmış ve gaz çıkışının gerçekleşip gerçekleşmediği gözlenmiştir. Gaz çıkışı görülen izolatlar katalaz-pozitif, gaz çıkışı görülmeyenler ise katalaz-negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.1.2 Basit boyama

Etüvde 1 gün geliştirilmiş olan her bir sıvı kültürden 5-10 µL alınarak temiz bir lam üzerine yayılmıştır. Örnekler kuruduktan sonra fiksasyon işlemi için bek alevinden 3 kez hızlı bir şekilde geçirilmiştir. Lamın üzerine metilen mavisi damlatılıp 3 dakika bekletildikten sonra saf su ile yıkanmıştır ve kurumaya bırakılmıştır. Lamaların üzerine immersiyon yağı damlatıldıktan sonra ışık mikroskopunda 100X10 büyütme altında bakterilerin morfolojileri incelenmiştir.

3.2.3.1.3 Gram boyama

Etüvde 1 gün geliştirilmiş olan her bir sıvı kültürden 20 µL alınarak temiz bir lam üzerine basit boyamadaki gibi damlatılmıştır. Biraz kuruması beklendikten sonra 3 kere bek alevinden geçirilerek fiksasyon işlemi tamamlanmıştır. Kristal viyole solüsyonu damlatılarak 1 dakika muamele edilmiştir. Boy saf su ile yıkanarak uzaklaştırılmış ve preparat üzerine gram iyodin solüsyonu damlatılarak 1 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda lamın üzerindeki gram iyodin saf su ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Daha sonra 30 saniye boyunca dekolorizer (%96' lık etil alkol) solüsyonu ile muamele edilmiştir. Ardından saf su ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Safranin veya sulu fuksin ile 30 saniye boyandıktan sonra örnekler yıkanarak boyası giderilmiştir. Kurutma kağıdında veya havada kurutulan örneklerin üzerine immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Bu yöntemle mor görünen mikroorganizmalar gram pozitif, pembe-kırmızımsı renkte görülenler ise gram negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.2 İzolatların genotipik karakterizasyonu

3.2.3.2.1 Genomik DNA izolasyonu

TGE sıvı besiyerinde 37°C' de 24 saat geliştirilen aktif kültürler eppendorf tüplere 1000 µL olacak şekilde dağıtılıp 13200 rpm de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant uzaklaştırılmış ve dipteki pelletin üzerine 1000 µL aktif kültür eklenip tekrar santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra 200 µL spheroblast buffer eklenmiş ve 37°C' de 15 dakika boyunca etüvde bekletilmiştir. Süre sonunda önce 50 µL lizis buffer-1 eklenmiş ve ardından 50 µL lizis buffer-2 eklemiştir. Tüpler nazikçe karıştırılarak 65°C' de 5 dakika sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra örneklerin üzerine 100 µL N3 tamponu eklenip 5 dakika boyunca buz içinde bekletilmiştir. Tüpler süre bitiminde +4°C' de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Bu işlem bittikten sonra örneklerdeki süpernatant kısmından 400 µL alınıp steril ve yeni bir eppendorf tüpe aktarılmış ve üzerine 400 µL izopropanol eklenmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldıktan sonra pellet 100 µL %96' lık etanolle yıkanmıştır. Örnekler oda sıcaklığında 16000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pellet %70' lik etil alkol ile yıkanmış ve vortekslenmiştir. Oda sıcaklığında 16000 rpm' de 5 dakika santrifüjlenip süpernatant tekrar uzaklaştırılmıştır. Pellet yarım saat boyunca etüvde kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra üzerine 50 µL steril DNaz RNaz içermeyen su eklenerek -20°C' de saklanmıştır.

3.2.3.2.2 Agaroz jel elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi için %1' lik jel hazırlanmıştır. 0.5 g agaroz 50 ml 1X Tris-Borik asit-EDTA (TBE) elektroforez tamponun içerisine katılarak mikrodalga fırında 2 dakika çözülmüştür. Sıcaklığı yaklaşık 40°C' ye düşürüldükten sonra %4' lük olacak şekilde 2 µL Etidyum bromit çözeltisi katılıp içerisinde homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Elektroforez küvetinin tarakları yerleştirildikten sonra hazırlanmış olan jel küvete dökülmüş ve donması için yarım saat bekletilmiştir. Elektroforez tankının içerisine yüzeyi kapatacak kadar tampon çözelti TBE ilave edilmiştir. Süre sonunda taraklar ortamdan uzaklaştırılmış, kuyucukların oluşması sağlanmıştır. -20°C' de saklanmış olan DNA' lar çözdürülmüş ve yükleme boyası (loading die) eklenerek mikropipet ile jel kuyucuklarına yüklenmiştir. 120 V' da 15 dakika elektroforez gerçekleştirilmiştir. Markör olarak Genmark Gen-100 DNA Ladder 100-3000 bp LC kullanılmıştır. Bu süre sonunda agaroz jel Canon G11 Jel Görüntüleme cihazına yerleştirilerek UV ışık altında 365 nm dalga boyunda fotoğrafları çekilerek kaydedilmiştir. Bu çalışmada agaroz jel elektroforezi yöntemi 16S rDNA ve RAPD PZR ürünlerini yürütmede kullanılmıştır.

3.2.3.2.3 RAPD (Randomly Amplified Polimorphic DNAs) PZR profillerinin belirlenmesi

DNA üzerindeki çoğaltılmış bir nükleotid zincirinin PZR ile çoğaltılması ve agaroz jelde yürütülerek görüntülerin karşılaştırılması prensibine dayanır. Bu yöntemle bant profilleri incelenerek şuşların aynı veya farklı olup olmadığı tespit edilir. RAPD-PZR işlemi için DNA' lar üzerinde farklı bölgelere bağlanıp farklı gen dizilimleri oluşmasına sebep olacak 8-10 nükleotit uzunluğundaki OPA-7 (5'GAAACGGGTG 3') ve OPA14 primerleri kullanılmıştır. PZR tüplerinin içerisine her bir örnek için son hacim 25 µL olacak şekilde sırasıyla 8 µL saf su, 0.5 µL primer, 1 µL MgCl₂, 12.5 µL master mix (BIO-RAD iProof High-Fidelity Master Mix) ve son olarak da 3 µL kalıp DNA eklenmiştir. Tüpler PZR cihazına yerleştirilerek 94°C' de 5 dakika ön denatürasyon işleminin ardından bir döngüsü 94°C' de 1 dakika denatürasyon, 58°C' de 1 dakika primer bağlanması ve 72°C' de 1 dakika 45 saniye uzama basamaklarından oluşan 44 döngü içeren bir işlem gerçekleştirilmiştir. Son işlem olarak 72°C' de 10 dakika olacak şekilde ilave uzama basamağı uygulanmıştır.

3.2.3.2.4 16S rDNA dizi analizi

Bu yöntem ile bakterilerin genotipik karakterizasyon tanımlaması yapılmaktadır. İşlem basamakları; DNA izolasyonu, DNA' nın PZR' da çoğaltılması, baz dizi sırasının belirlenip veri tabanında mevcut olan mikroorganizmaların baz dizi sıraları ile kıyaslanıp isimlendirilmesidir (Osmanagaoglu ve ark., 2010)

3.2.3.2.4.1 16S rDNA bölgesinin PZR ile çoğaltılması

Bakteri kültürlerinden izole edilen genomik DNA örneklerindeki 16S rDNA bölgelerini çoğaltmak amacıyla 27-F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') ve 1492-R (5'-CTA CGG CTA CCT TGT TAC GA-3') primer çifti kullanılmıştır. PZR tüpüne her örnek için toplamda 25 µL olacak şekilde sırasıyla 15,875 µL saf su, 5 µL Taq buffer green, 1 µL dNTP mix, 0,5 µL F primer, 0,5 µL R primer, 1 µL MgCl₂, 0,25 µL Taq polimeraz ve 1 µL kalıp DNA ilave edilmiştir. PZR tüpleri PZR cihazına yerleştirilerek bir döngüsü 94 °C' de 1 dakika denatürasyon, 58°C' de 10 saniye primer bağlanması ve 72°C' de 1 dakika 45 saniye uzama basamaklarından oluşan toplam 35 döngüden oluşan uygulamaya ilaveten 72°C' de 10 dakika ilave uzama basamağı işlemi gerçekleştirilmiştir (Osmanagaoglu ve ark., 2010).

3.2.3.2.4.2 16S rDNA dizi analizi

Örneklerin PZR dizi analizleri BM Labosis (Ankara, Türkiye) tarafından yapılmıştır. Dizi analiz sonuçları FinchTV programında açılmış ve FASTA formatına dönüştürülmüştür. FASTA formatındaki diziler NCBI veri tabanında BLAST programı kullanılarak tanımlanmış olan tüm sekanslarla karşılaştırılmış ve sekansın hangi mikroorganizma türüne ait olabileceği bilgisine ulaşılmıştır. Elde edilen diziler MEGA7 programında işlenerek contigler oluşturulmuş ve NCBI veri tabanında var olan referans diziler kullanılarak 16S rRNA dizi sonuçlarına göre karşılaştırmalı filogenetik ağaç oluşturulmuştur.

3.2.4 Suşların bakteriyosin üretim özelliklerinin belirlenmesi

37°C' de bir gece geliştirilmiş kültürlerden 2000 µL alınıp steril mikrosantrifüj tüplere konulmuştur. Tüpler 12.000 rpm' de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj işleminden sonra mikropipetle süpernatanttan 1000 µL çekilmiş, steril bir tüpe aktarılmış ve pH' sı 5 M NaOH ile pH:7.00 olacak şekilde ayarlanmış ve 0.22 µm çaplı filtrelerden geçirilmiştir. Filtre işleminin ardından örnekler 100°C' de 5 dakika kaynatılmıştır. Bu

deneyde kullanılan indikatör mikroorganizmalar *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 TSA besi ortamında ve laktik asit bakterileri *Pediococcus acidilactici*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus sakei* ise TGE besi ortamında 1 gece 37°C' de geliştirilmiştir. Bu mikroorganizmaların gelişimi için hazırlanan uygun katı besiyerleri petrilere dökülmüştür. Her mikroorganizma için ayrıca yarı katı besi ortamı (%0.75 agar içeren) hazırlanmıştır. 1 gece geliştirilen mikroorganizmalardan yarı katı besi ortamlarına %1 oranında aşılama yapılmıştır ve hazırlanan petrilerin üzerine dökülmüştür. 10 dakika katılaşması için beklenmiştir. Agar donduktan sonra steril cam borular yardımıyla yaklaşık 0.6 cm çapında kuyular açılmıştır. Kontrol olarak pediyosin üreticisi olan *Pediococcus pentasaceus* OZF suşu kullanılmıştır. Hazırlanmış olan süpernatantlardan 10 µL olacak şekilde kuyulara yüklenme yapılmıştır. Sıvının besi ortamına diffüze olması için 30-60 dakika beklenip ve 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda bakteriyosin zonlarının çapı cm cinsinden ölçülmüştür. Zon oluşumunun gözlemlendiği suşlar bakteriyosin pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5 İzole edilen LAB suşlarının bazı probiyotik özelliklerinin in vitro koşullarda belirlenmesi

Bu kapsamda çalışmamız dahilinde suşlar; antibiyotik duyarlılık, pH, pepsin, pankreatin ve safra tuzlarına direnç, hemolitik aktivite testlerine tabi tutulmuştur.

3.2.5.1 Suşların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

Antibiyotik testi için disk diffüzyon ve minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) testleri uygulanmıştır. Öncelikle 37°C' de 18 saat geliştirilmiş aktif kültürler seri dilüsyonlar halinde hazırlanarak 1×10^5 kob/ml olacak şekilde pepton içerisinde seyreltilmiştir. Seyreltilmiş suşlardan 1 ml alınıp TGE agar bulunan petrilere toplam 3 paralel olacak şekilde yayılmıştır. Ardından 6 çeşit antibiyogram diskleri (eritromisin, vankomisin, tetrasiklin, kanamisin, gentamisin ve kloramfenikol) petriye uygun aralıklarla dizildikten sonra 37 °C' de 18 saat inkübasyon için etüve kaldırılmıştır. Antibiyotik diskleri etrafındaki zon çapları mm olarak ölçülmüştür. MİK testinde ise hücre yoğunluğu 1×10^5 kob/ml olan suşlara farklı konsantrasyonlarda (0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 µg/ml) antibiyotikler (vankomisin, amfisilin, penisilin-g ve streptomisin) eklenip 37°C' de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişimin gözlenmediği minimum antibiyotik değeri MİK değeri olarak hesaplanmıştır (Kim ve ark., 2021a; Sharma ve ark., 2017).

3.2.5.2 Suşların düşük pH değerlerine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi

Bu testte midenin asidik ortamına benzer bir pH ortamı oluşturulmuş ve suşların bu ortamdan geçerek bağırsaklara ulaşabilme yeteneği incelenmiştir. İzolatlar 37°C' de 18 saat geliştirilmiş ve izolatlardan 1' er ml eppendorf tüplere alınıp 12000 rpm' de 5 dakika +4°C' de santrifüjlendikten sonra süpernatant uzaklaştırılmıştır. PBS (pH:7.4) tamponu ile çökelti yıkanmıştır. Ardından ikinci kez santrifüj yapılmış ve süpernatant uzaklaştırılıp PBS (pH:7.4) tamponu ile tekrar yıkanmıştır. pH direncinin belirlenmesi için kullanılacak olan PBS tamponu 5M HCl ile pH' ları 2.0 ve 3.0 olacak şekilde ayarlanmıştır. Her suşa ait pellet pH' sı ayarlanan tamponları içeren tüplere eklenmiş ve tüpler vortekslenmiştir. Kontrol olarak; pH değeri 7.4 olan PBS kullanılmıştır. Tüpler 37°C' de inkübasyona bırakılmıştır. 0, 1 ve 3. saatlerde tüplerden alınan numunelerin seri dilüsyonları gerçekleştirilmiş ve 3 paralel halinde TGE katı besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. 37°C' de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra petrilerdeki koloniler sayılmıştır. Değerler logkob/ml olarak hesaplanmıştır (Maragkoudakis ve ark., 2006).

3.2.5.3 Suşların pepsin direnci testi

Suşların canlılık özellikleri üzerinde pepsinin etkisini görebilmek amacıyla 3 mg/ml pepsin (Merck, Almanya) içeren pH:2 ve pH:3 ayarlanmış olan PBS tamponu kullanılmıştır. Çalışmada kontrol grubu olarak pepsin içermeyen pH: 7.4 PBS tamponu kullanılmıştır. Bir gün önceden aktive edilmiş olan kültürlerden 1' er ml alınıp 12000 devirde 5 dakika +4°C' de santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pellet PBS (pH:7.4) ile iki kez yıkandıktan sonra, pepsin içeren PBS tamponlarıyla çözülerek 37°C de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. 0, 1, 3. saatlerde örnekler alınarak seri dilüsyonlara tabi tutulmuş ve 3 paralel halinde TGE katı besiyerine yayma ekimleri yapılmıştır. 37°C' de 48 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra petrilerdeki koloniler sayılmıştır. Değerler logkob/ml olarak hesaplanmıştır (Maragkoudakis ve ark., 2006).

3.2.5.4 Suşların pankreatin direnci testi

Suşların canlılık özellikleri üzerinde pankreatinin etkisini görebilmek amacıyla 1 mg/ml pankreatin (Merck, Almanya) içeren pH: 8.0' a ayarlanmış PBS tamponları ile kontrol grubu olarak pankreatin içermeyen pH: 7.4 olan PBS tamponu kullanılmıştır. Bir gün önceden aktive edilmiş olan kültürlerden 1' er ml alınıp 12000 devirde 5 dakika +4°C' de santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pellet PBS (pH:7.4) tamponu ile iki kez yıkandıktan sonra, hazırlanmış olan PBS tamponlarının içerisinde çözülerek

37°C de 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. 0, 1, 3. ve 4. saatlerde örnekler alınarak seri dilüsyonlara tabi tutulmuş ve 3 paralel halinde TGE katı besiyerine yayma ekimleri yapılmıştır. 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra petrillerdeki koloniler sayılmıştır. Değerler logkob/ml olarak hesaplanmıştır (Maragkoudakis ve ark., 2006).

3.2.5.5 Suşların safra tuzu direnci testi

Suşların canlılık özellikleri üzerinde safra tuzunun etkisini görebilmek amacıyla %0.3, %0.5 ve %0.1 oranında safra tuzu içeren TGE sıvı besiyerleri, kontrol grubu olarak safra tuzu içermeyen TGE sıvı besiyeri kullanılmıştır. Bir gün önceden aktiveleştirilmiş olan kültürlerden 1'er ml alınıp 12000 devirde 5 dakika +4°C' de santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pellet PBS (pH:7.4) tamponu ile iki kez yıkandıktan sonra hazırlanmış olan %0.3, %0.5 ve %0.1 oranında safra tuzu içeren TGE sıvı besiyerlerinin içerisinde çözülerek 37°C de 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. 0, 1, 3. ve 4. saatlerde örnekler alınarak seri dilüsyonlara tabi tutulmuş ve 3 paralel halinde TGE katı besiyerine yayma ekimleri yapılmıştır. 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra petrillerdeki koloniler sayılmıştır. Değerler logkob/ml olarak hesaplanmıştır (Maragkoudakis ve ark., 2006).

3.2.5.6 Suşların hemolitik aktivite testi

37°C' de 24 saat geliştirilmiş şuşlar %5 koyun kanı içeren Colombia agara çizgi ekim yöntemi kullanılarak aşılanmıştır. Kontrol olarak *S. aureus* ve *E.coli* şuşları kullanılmıştır. Petrilere etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda etrafında yeşil zon oluşturan koloniler α -hemolitik, berrak zon oluşturanlar β -hemolitik, zon oluşturmayanlar ise γ -hemolitik aktiviteye sahip olarak değerlendirilmiştir (Maragkoudakis ve ark., 2006).

3.2.6 İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizler için SPSS 24 programında t test ve Anova testleri kullanılmıştır. Post hoc analizi için TUKEY testi kullanılmıştır. Tüm istatistiksel analizler için $p < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

4.1 Farklı kaynaklardan bakteri izolasyonu

Gıda kaynaklı suşlar Muş İlinden alınan sütler (eşek sütü, manda sütü) ile sucuk, manda peyniri, inek peyniri ve Muş kaşarı olmak üzere ev yapımı fermente gıda örneklerinden izole edilmiş olup insan kaynaklı izolat olarak anne sütü ile çalışılmıştır. Sucuk numunesinden 2 adet, inek peyniri numunesinden 5 adet, 4 farklı manda sütü numunesinden 9 adet, manda peyniri numunesinden 3 adet, 2 farklı eşek sütü numunesinden 6 adet, karışık sütler (koyun-keçi-inek) kullanılarak oluşturulmuş Muş kaşarı numunesinden 4 adet, sadece inek sütü kullanılarak oluşturulmuş Muş kaşarı numunesinden 6 adet olmak üzere toplam 35 adet gıda kaynaklı izolat ile çalışmaya başlanmıştır. Ayrıca yeni doğum yapmış 3 ayrı annenin sütünden olmak üzere 10 adet izolat kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan suşlara verilen numaralar ve izolasyon kaynakları Çizelge 4.1’ de belirtilmiştir.

4.2 Suşların karakterizasyonu

4.2.1 Suşların kısmi karakterizasyonu

İzolatların gram boyama, morfolojik yapıları ve katalaz testi sonuçları Çizelge 1 de’ belirtilmiştir. 8, 9, 14, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 27, 32, 33, 35, 41, 42, 43 numaralı örneklerde mikroorganizma üremesi görülmediğinden bu örneklerle çalışmaya devam edilmemiştir. Gram boyama sonuçlarının görüntüleri Şekil 1’ de verilmiştir. Gram (–) ve katalaz pozitif sonuç veren suşlar elenerek çalışmaya dahil edilmemiştir. Gram boyama sonuçlarına ait fotoğraflar Şekil 4.1’ de verilmiştir.

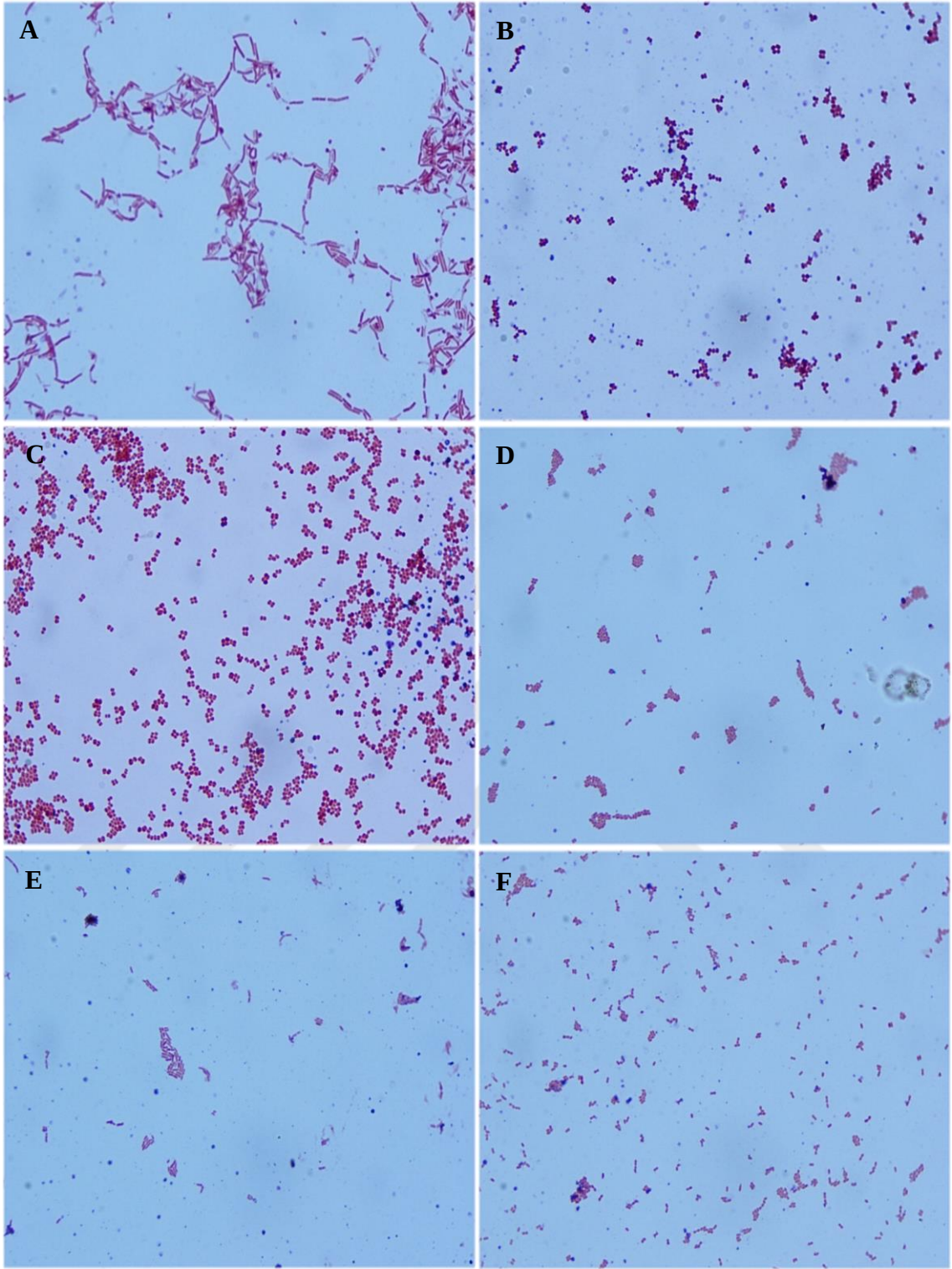
4.2.2 Suşların genotipik karakterizasyonu

4.2.2.1 Suşların RAPD PZR profilleri

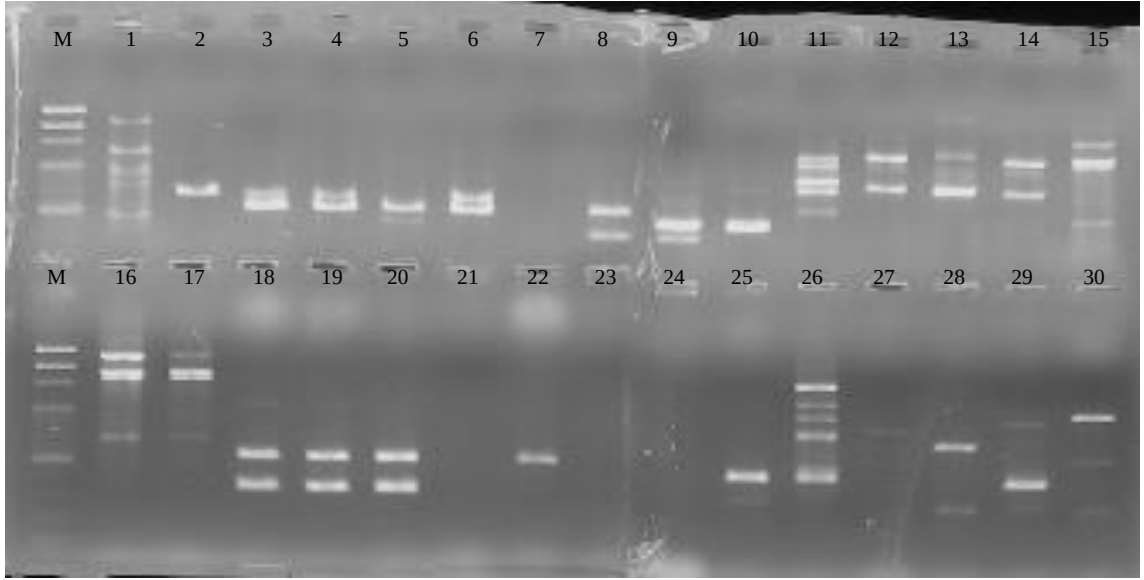
OPA7 ve OPA14 primerleri ve elde edilen genomik DNA’ lar kullanılarak gerçekleştirilen RAPD-PZR sonucunda oluşan ürünler %1’ lik agaroz jelde yürütülmüştür. OPA14 primeri ile ayırt edici özellikte bantlar elde edilemediğinden izolatların RAPD profilleri OPA7 primerine göre değerlendirilmiştir. OPA7 primeri ile gerçekleştirilen RAPD-PZR sonuçlarına ait jel görüntüsü Şekil 4.2’ de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Suşlara verilen numaralar, izolasyon kaynakları, katalaz aktivitesi, gram boyama ve morfolojik yapıları

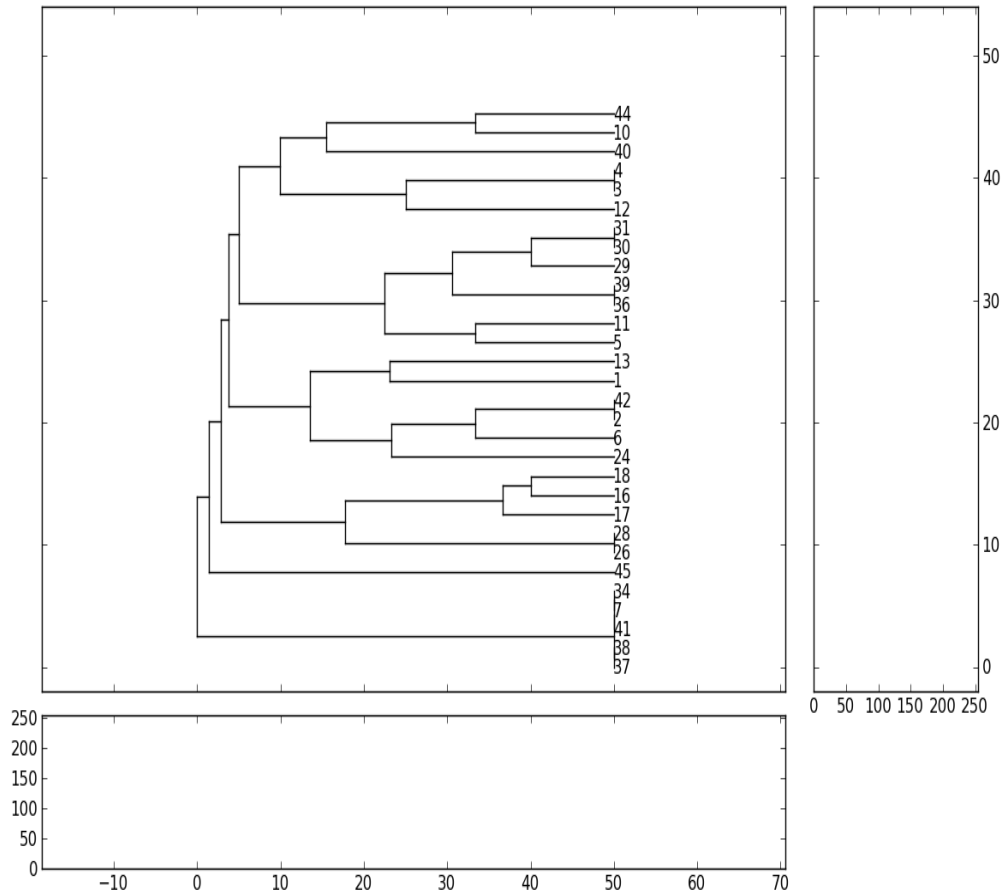
Suş No	İzolasyon Kaynağı	Katalaz Aktivitesi	Gram Boyama	Morfoloji
1	Sucuk	-	+	basil
2	Sucuk	-	+	basil
3	İnek peyniri	-	+	kok
4	İnek peyniri	-	+	kok
5	İnek peyniri	-	+	kok
6	İnek peyniri	-	+	kok
7	İnek peyniri	-	+	kok
8	Manda sütü-a	üreme yok		
9	Manda sütü-a	üreme yok		
10	Manda sütü-b	-	+	kok
11	Manda sütü-b	-	+	kok
12	Manda sütü-c	-	+	kok
13	Manda sütü-c	-	+	kok
14	Manda sütü-d	üreme yok		
15	Manda sütü-d	üreme yok		
16	Manda peyniri	-	+	kok
17	Manda peyniri	-	+	kok
18	Manda peyniri	-	+	kok
19	Manda sütü-a	üreme yok		
20	Eşek sütü	üreme yok		
21	Eşek sütü	üreme yok		
22	Eşek sütü	üreme yok		
23	İnsan anne sütü-a	üreme yok		
24	İnsan anne sütü-a	-	+	basil
25	İnsan anne sütü-a	üreme yok		
26	İnsan anne sütü-b	-	+	basil
27	İnsan anne sütü-b	üreme yok		
28	İnsan anne sütü-b	-	+	basil
29	Eşek sütü	-	+	basil
30	Eşek sütü	-	+	kok
31	Eşek sütü	-	+	kok
32	İnsan anne sütü-a	üreme yok		
33	İnsan anne sütü-a	üreme yok		
34	İnsan anne sütü-b	-	+	basil
35	İnsan anne sütü-c	üreme yok		
36	Muş kaşarı-karışık	-	+	kok
37	Muş kaşarı-karışık	-	+	kok
38	Muş kaşarı-karışık	-	+	kok
39	Muş kaşarı-karışık	-	+	kok
40	Muş kaşarı-inek	-	+	kok
41	Muş kaşarı-inek	üreme yok		
42	Muş kaşarı-inek	üreme yok		
43	Muş kaşarı-inek	üreme yok		
44	Muş kaşarı-inek	-	+	kok
45	Muş kaşarı-inek	-	+	kok



Şekil 4. 1 Gram boyama görüntüleri (A: 1 numaralı izolat = *Lactobacillus sakei* , B: 36 numaralı izolat = *Pediococcus acidilactici*, C: 40 numaralı izolat = *Pediococcus acidilactici*, D: 3 numaralı izolat = *Lactococcus garvieae*, E: 24 numaralı izolat = *Weissella confusa*, F: 31 numaralı izolat = *Lactococcus lactis*)



Şekil 4. 2 OPA7 primeri ile yapılan RAPD PZR jel görüntüsü (M: marker, 1: 1 numaralı izolat, 2: 2 numaralı izolat, 3: 3 numaralı izolat, 4: 4 numaralı izolat, 5: 5 numaralı izolat, 6: 6 numaralı izolat, 7: 7 numaralı izolat, 8: 10 numaralı izolat, 9: 11 numaralı izolat, 10: 12 numaralı izolat, 11: 13 numaralı izolat, 12: 16 numaralı izolat, 13: 17 numaralı izolat, 14: 18 numaralı izolat, 15: 24 numaralı izolat, 16: 26 numaralı izolat, 17: 28 numaralı izolat, 18: 29 numaralı izolat, 19: 30 numaralı izolat, 20: 31 numaralı izolat, 21: 34 numaralı izolat, 22: 36 numaralı izolat, 23: 37 numaralı izolat, 24: 38 numaralı izolat, 25: 39 numaralı izolat, 26: 40 numaralı izolat, 27: 41 numaralı izolat, 28: 42 numaralı izolat, 29: 44 numaralı izolat, 30: 45 numaralı izolat)

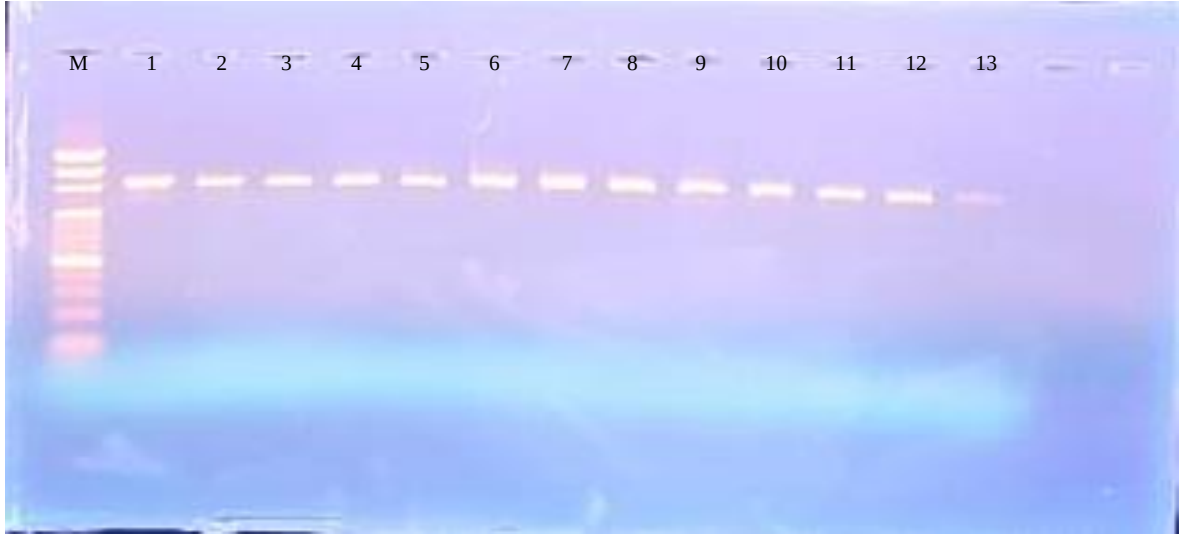


Şekil 4. 3 Suşların RAPD bant profillerine göre oluşturulmuş filogenetik ağaç görüntüsü

Agaroz jeldeki görüntüler karşılaştırılıp farklı profiller gösteren suşlar seçilmiştir. Suşların RAPD-PZR işlemi sonunda elde edilen bant profilleri PyElph 1.4 programı kullanılarak filogenetik ağaç çizilmiştir. Filogenetik ağaçta farklı bant profili sergileyen 1, 3, 10, 13, 16, 24, 26, 29, 31, 36, 39, 40, 44 numaralı toplam 13 adet suş diğer çalışmalara devam edilmek üzere seçilmiştir. Filogenetik ağaç görüntüsü Şekil 4.3' te verilmiştir.

4.2.2.2 Suşların 16s rDNA dizi analizi

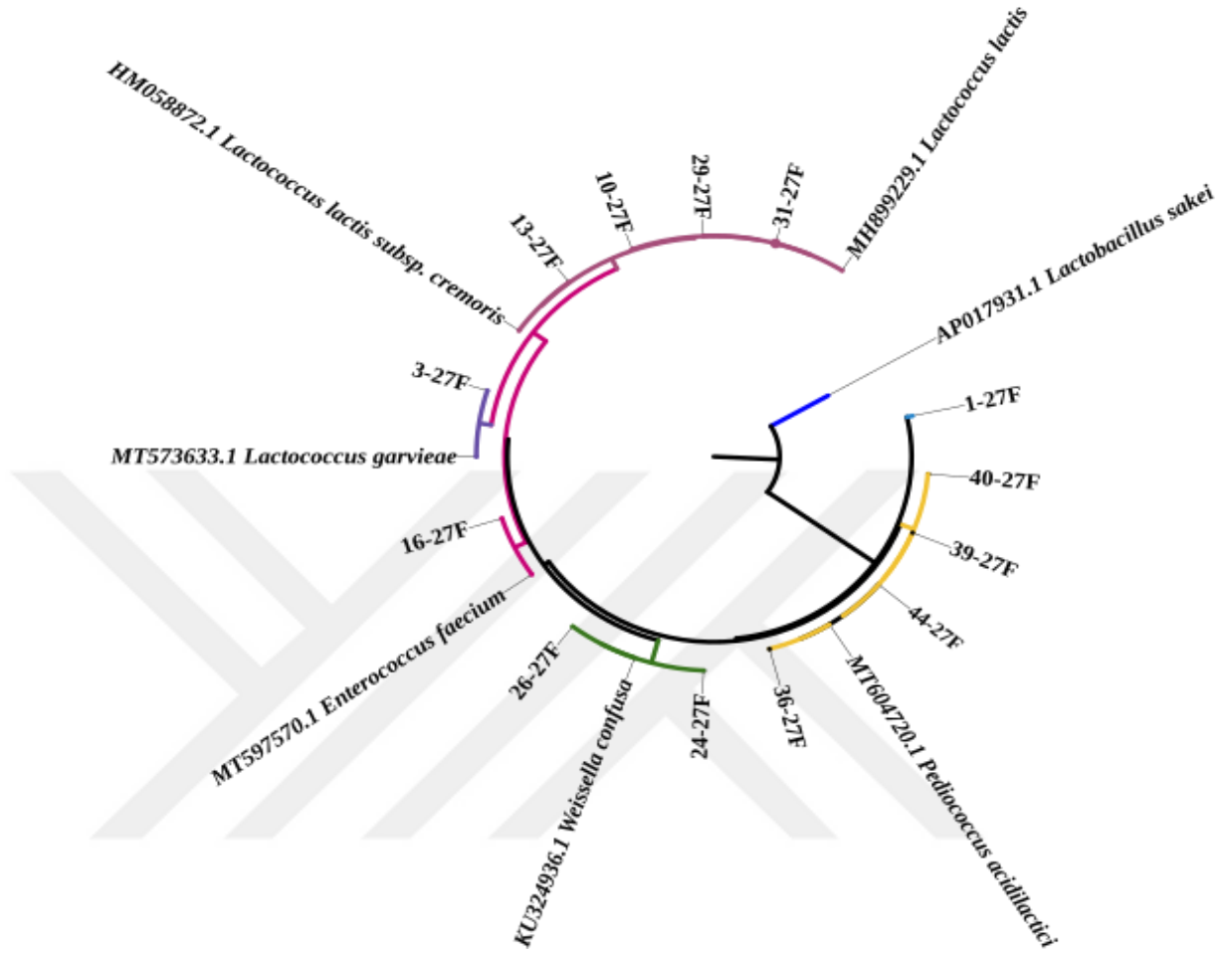
Suşların genotipik karakterizasyonunu belirlemek için toplam 13 adet izolattan elde edilmiş olan genomik DNA' lar 16S rDNA primerleri kullanılarak PZR işlemine tabi tutulmuştur. Oluşan ürünlerin agaroz jel elektroforezi kullanılarak jel görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 4.4). Elde edilen PZR ürünleri BM Labosis (Ankara, Türkiye) firmasından hizmet alımı yapılarak dizilenmiş ve sonuçlar NCBI veri tabanındaki BLAST programında değerlendirilerek suşların moleküler tanımlaması gerçekleştirilmiştir. 13 izolata ait 16S ribozomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu **EK-5'** de belirtilmiştir. Elde edilen dizi sonuçları NCBI veri tabanındaki Genbank bölümüne kaydedilerek suşlar için NCBI aksesyon numaraları alınmıştır. Suşların moleküler tanımlama sonuçları ve alınan aksesyon numaraları Çizelge 2' de verilmiştir. Dizileme sonuçları ve NCBI veri tabanındaki referans suşların dizileri MEGA7 programında işlenmiş ve evrimsel ilişkinin incelenmesi için 16S rRNA gen dizileri kullanılarak Neighbor-Joining yöntemi kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Saitou ve Nei, 1987). Ağaç üzerindeki dal uzunluklarının toplamı 1.029 olarak belirlenmiştir. Taksonomik kümelerle ilişkili olan ağaç üzerindeki dalların yüzdesi bootstrap yöntemi kullanılarak (1000 tekrar) belirlenmiştir (Felsenstein, 1985). Filogenetik ağacın oluşturulması için evrimsel mesafelerle aynı birimlere sahip olan dal uzunluk ölçekleri kullanılmıştır. Evrimsel mesafeler maksimum Kompozit Likelihood metodu kullanılarak hesaplanmıştır (Tamura ve ark., 2004). Analizler 20 nükleotit dizisini içermektedir. Dahil edilen kodon pozisyonları; birinci, ikinci ve üçüncü kodlanmayan bölgelerdir. Bütün pozisyonlardaki açıklıklar ve kayıp veriler elimine edilmiştir. Son işlenen veri seti içerisinde 757 pozisyon bulunmaktadır. Evrimsel analiz MEGA7 (Şekil 4. 4) programı ile gerçekleştirilmiştir (Kumar ve ark., 2016).



Şekil 4. 5 PZR ile çoğaltılmış 16S rDNA bölgelerinin jel görüntüsü (M: marker, 1: 1 numaralı izolat, 2: 3 numaralı izolat, 3: 10 numaralı izolat, 4: 13 numaralı izolat, 5: 16 numaralı izolat, 6: 24 numaralı izolat, 7: 26 numaralı izolat, 8: 29 numaralı izolat, 9: 31 numaralı izolat, 10: 36 numaralı izolat, 11: 39 numaralı izolat, 12: 40 numaralı izolat, 13: 44 numaralı izolat)

Çizelge 4. 2 Suşların 16S rDNA dizi analizi sonucundaki suş adları ve aksesyon numaraları

Suş Kodu	16S rDNA Dizisine Göre Yapılan Tanı	Suş Adı	Aksesyon Numaraları
1	<i>Lactobacillus sakei</i>	MH1	MW633193
3	<i>Lactococcus garvieae</i>	MH2	MW633194
10	<i>Lactococcus lactis</i>	MH3	MW633195
13	<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>	MH4	MW633196
16	<i>Enterococcus faecium</i>	MH5	MW633197
24	<i>Weissella confusa</i>	MH6	MW633198
26	<i>Weissella confusa</i>	MH7	MW633199
29	<i>Lactococcus lactis</i>	MH8	MW633200
31	<i>Lactococcus lactis</i>	MH9	MW633201
36	<i>Pediococcus acidilactici</i>	MH10	MW633202
39	<i>Pediococcus acidilactici</i>	MH11	MW633203
40	<i>Pediococcus acidilactici</i>	MH12	MW633204
44	<i>Pediococcus acidilactici</i>	MH13	MW633205



Şekil 4. 6 Suşların 16S sekans sonuçlarına göre filogenetik ağaç görüntüsü

4.3 Suşların bakteriyosin üretim özellikleri

Örneklerden izole edilen suşların bakteriyosin üretiminin belirlenmesi için yapılan testin sonucunda suşların incelenen indikatör mikroorganizmalara karşı zon oluşturmadağı tespit edilmiştir.

4.4 İzole Edilen LAB Suşlarının Bazı Probiyotik Özellikleri

4.4.1 Suşların antibiyotik duyarlılıkları

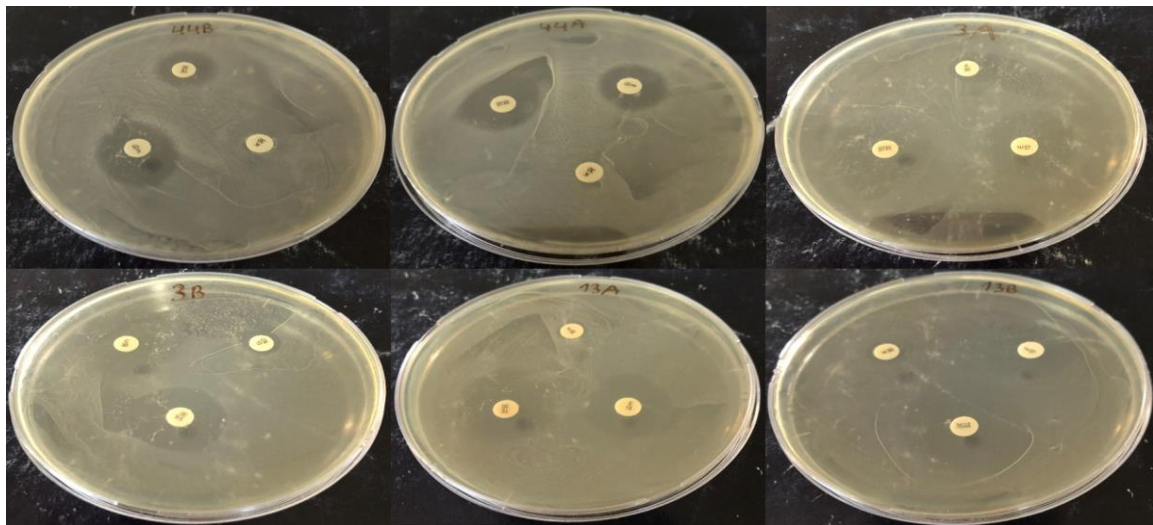
Lactobacillus, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium* ve *Propionibacterium*' un antibiyotik direnç profilleri oldukça farklıdır (her ne kadar türlere özgü kesin modeller tespit edilmemiş olsa da) (Ammor ve ark., 2007). EFSA' nın belirlemiş olduğı 6 antibiyotiğın (eritromisin (15 µg), tetrasiklin (30

μg), kanamisin (30 μg), vankomisin (30 μg), gentamisin (10 μg) ve kloramfenikol (30 μg)) 3 paralel halinde yapılan disk difüzyon testi sonucunda zon çapları mm olarak ölçülmüştür ve sonuçlar Çizelge 3' te verilmiştir. Sonuçlar CLSI (2015) yönergeleri tarafından önerilen break-point'e göre şu şekilde yorumlanmıştır: 14 mm' den küçük veya eşit inhibisyon bölgesine sahip izolatlar dirençli (R), 20 mm' den fazla çapa sahip olanlar duyarlı (S) ve zon çapı 15 ila 19 mm arasında olanlar orta duyarlı (I) olarak kabul edilmiştir (Kim ve ark., 2021a; Sharma ve ark., 2017). Sonuçlara göre tüm suşlarda en çok direnç kanamisine karşı tespit edilirken, suşların eritromisin ve kloroamfenikole orta derece dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 3 Suşların antibiyotik duyarlılık testi zon çapları (mm)

Suş Kodu	Eritromisin15	Tetrasiklin30	Kanamisin30	Va30	Cn10	C30
1	21,5±1,0-S	9,5±1,0-R	7,0±1,0-R	3,5±1,0-R	9,5±1,0-R	15,5±1,0-I
3	22,0±1,0-S	18±1,0-I	11,0±1,0-R	19,5±1,0-I	11,0±1,0-R	23,5±1,0-S
10	20,0±1,0-S	25,5±1,0-S	14,0±1,0-R	18,0±1,0-I	9,0±1,0-R	16,0±1,-I
13	20,5±1,0-S	26,0±1,0-S	8,0±1,0-R	18,0±1,0-I	7,0±1,0-R	19,5±1,0-I
16	12,0±1,0-R	9,0±1,0-R	9,5±1,0-R	16,0±1,0-I	7,5±1,0-R	17,0±1,0-I
24	26,0±1,0-S	20,5±1,0-S	7,5±1,0-R	7,0±1,0-R	11,0±1,0-R	20,0±1,0-S
26	19,5±1,0-I	22,0±1,0-S	4,0±1,0-R	7,0±1,0-R	15,0±1,0-I	22,0±1,0-S
29	19,0±1,0-I	25,0±1,0-S	7,5±1,0-R	5,0±1,0-R	5,0±1,0-R	15,5±1,0-I
31	19,0±1,0-I	9,0±1,0-R	3,5±1,0-R	17,0±1,0-I	7,5±1,0-R	20,0±1,0-S
36	18,5±1,0-I	14,0±1,0-R	-	-	3,5±1,0-R	21,0±1,0-S
39	23,0±1,0-S	7,5±1,0-R	-	-	-	22,0±1,0-S
40	18,0±1,0-I	7,0±1,0-R	3,5±1,0-R	-	4,5±1,0-R	13,0±1,0-R
44	24,0±1,0-S	18,5±1,-I	-	-	-	17,5±1,0-I

"-" Zon görülmemiştir. S: >20 (mm), I: 15–19 (mm), R: ≤14 (mm)



Şekil 4. 7 Disk difüzyon testi zon görüntüleri

Çizelge 4. 4 Suşların MİK testi değerleri (µg/ml) ve dirençleri

Suş Kodu	Vankomisin	Amfisilin	Penisilin-G	Streptomisin
1	R 1024 µg/ml	S 2 µg/ml-S	I <0,5 µg/ml	R 16 µg/ml
3	S <0,5 µg/ml	S <0,5 µg/ml	R 16 µg/ml	R 64 µg/ml
10	S <0,5 µg/ml	S <0,5 µg/ml	R 8 µg/ml	R 128 µg/ml
13	R 512 µg/ml	S <0,5 µg/ml	I <0,5 µg/ml	R 64 µg/ml
16	R 512 µg/ml	I 16 µg/ml	R 4 µg/ml	Yüksek düzey dirençli >2048 µg/ml
24	R 512 µg/ml	S 1 µg/ml	I <0,5 µg/ml	R 1024 µg/ml
26	R 512 µg/ml	S 4 µg/ml	R 2 µg/ml	R 2048 µg/ml
29	R 512 µg/ml	R 16 µg/ml	I <0,5 µg/ml	R >2048 µg/ml
31	R 512 µg/ml	S 4 µg/ml	R 4 µg/ml	R >2048 µg/ml
36	R 512 µg/ml	R 1024 µg/ml	R 1 µg/ml	R 64 µg/ml
39	R 1024 µg/ml	R 2048 µg/ml	I <0,5 µg/ml	R 32 µg/ml
40	R 1024 µg/ml	R 2048 µg/ml	I <0,5 µg/ml	R 128 µg/ml
44	R 2048 µg/ml	I 8 µg/ml	R 4 µg/ml	R 128 µg/ml

R – Dirençli, S - Duyarlı, standart doz, I - Duyarlı, yüksek doz

Suşların antibiyotik direnç profilleri ayrıca MİK testi kullanılarak da belirlenmiştir. MİK testi için vankomisin, amfisilin, penisilin-G ve streptomisin antibiyotikleri kullanılmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4’ te verilmiştir. MİK test sonuçlarının değerlendirilmesi için Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST., 2019) referans alınmıştır. Laktobasil grubu genellikle kloramfenikol, eritromisin, klindamisin ve tetrasiklin gibi proteinlerin sentezini inhibe eden antibiyotiklere duyarlıdır ve aminoglikozitlere (neomisin, kanamisin, streptomisin ve gentamisin) karşı daha dirençlidir (Ammor ve ark., 2007; Charteris ve ark., 1998;

Coppola ve ark., 2005; Zhou ve ark., 2005). Çalışmamızda sucuk örneğinden izole edilen ve *Lactobacillus sakei* olarak tanımlanan izolat disk difüzyon duyarlılık testinde tetrasiklin, kanamisin, vankomisin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı dirençli, eritromisin antibiyotiğine duyarlı ve kloramfenikol antibiyotiğine karşı orta duyarlı olarak tespit edilmiştir. Aynı izolatin MİK testi sonucunda ise vankomisine ve streptomisine karşı dirençli, amfisiline karşı duyarlı, penisiline karşı ise orta duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Park ve ark., (2008) yaptıkları araştırmada *Lactobacillus sakei* Probio 65 suşunun eritromisin, tetrasiklin, kanamisin, gentamisin amfisilin ve streptomisin antibiyotiklerine karşı dirençli olduğunu tespit etmiştir (Park ve ark., 2008). Jena ve ark., (2013) rat intestinal isiteminden izole edilen laktobasiller üzerinde yaptıkları araştırmada kloramfenikol, kinuspristin/dalfopristin, klindamisin, eritromisin, amfisilin, streptomisin, tetrasiklin, kanamisin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı *Lb. sakei* CS3 suşunun duyarlı olduğunu vankomisin antibiyotiğine ise dirençli olduğunu gözlemlemiştir (Jena ve ark., 2013). Mafra ve ark., (2021) yaptıkları araştırmada *Lactobacillus sakei* suşunun amfisilin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), gentamisin (10 µg), imipenem (10 µg), nitrofurantoin (300 µg), tetrasiklin (30 µg), and vankomisin (30 µg)'e karşı duyarlı olduğunu tespit etmiştir (Mafra ve ark., 2020).

L. lactis genellikle Gram pozitif spektrumlu antibiyotiklere (makrolidler, basitrasin, eritromisin, linkomisin, novobiosin, teikoplanin ve vankomisin), geniş spektrumlu antibiyotiklere (rifamfislin, spektinomisin ve kloramfenikol) ve beta laktamlara (penisilin, amfisilin, amoksisilin, piperasilin, tikarsilin ve imipenem) karşı duyarlıdır. Tetrasiklin, sefalotin, nitrofurantoin ve sefotetana duyarlılık değişkendir. Çoğu laktokok türü metronidazole, sefoksitine, trimetoprim, gram negatif spektrumlu antibiyotiklere (fusidik asit, nalidiksik asit ve polimiksin B) ve gentamisin ve kanamisin aminoglikositlerine karşı dirençlidir (Ammor ve ark., 2007; Flórez ve ark., 2005; Temmerman ve ark., 2003). Laktobasillerde olduğu gibi, *L. lactis* suşları kloramfenikol, klindamisin, streptomisin, eritromisin ve tetrasikline direnç göstermektedir (Ammor ve ark., 2007; Flórez ve ark., 2005; Raha ve ark., 2002; Temmerman ve ark., 2003). Çalışmamızda inek peynirinden izole edilen 3 numaralı *L. garvieae* olarak tanımlanan izolatin disk difüzyon duyarlılık testinde eritromisin ve kloramfenikole karşı duyarlı, kanamisin ve gentamisine dirençli, tetrasiklin ve vankomisine karşı orta duyarlı olduğu tespit edilmiştir. MİK testi sonucunda ise bu izolat vankomisin ve amfisiline karşı duyarlı, penisilin ve streptomisine karşı dirençli bulunmuştur. Manda sütünden izole ettiğimiz 10 numaralı *L. lactis* olarak tanımlanan ve 13 numaralı *L. lactis* subs. *cremoris* olarak

tanımlanan izolatların disk difüzyon duyarlılık testlerinde kanamisin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı dirençli, eritromisin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı duyarlı, vankomisin ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı orta duyarlı oldukları tespit edilmiştir. 10 numaralı *L. lactis* olarak tanımlanan izolatın MİK testi sonucunda ise vankomisin ve amfisilin antibiyotiklerine karşı duyarlı, penisilin ve streptomisin antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. 13 numaralı *L. lactis* subs. *cremoris* olarak tanımlanan izolatın MİK testi sonucunda ise vankomisin ve streptomisine karşı dirençli, amfisiline karşı duyarlı ve penisiline karşı orta duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Eşek sütünden izole edilen ve *L. lactis* olarak tanımlanan 29 numaralı izolatın disk difüzyon duyarlılık testinde kanamisin, vankomisin ve gentamisine karşı dirençli, tetrasikline karşı duyarlı, eritromisin ve kloramfenikole karşı orta duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Aynı izolatın MİK testi sonucunda vankomisin, amfisilin, streptomisin antibiyotiklerine dirençli, penisilin antibiyotiğine karşı orta duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Eşek sütünden izole edilen bir diğer *L. lactis* olarak tanımlanan 31 numaralı izolatın disk difüzyon duyarlılık testinde tetrasiklin, kanamisin, gentamisine karşı dirençli, kloramfenikole karşı duyarlı, eritromisin ve vankomisine karşı orta duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Aynı izolatın MİK testi sonucunda vankomisin, amfisilin, penisilin, streptomisin antibiyotiklerine dirençli, amfisilin antibiyotiğine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Karaaslan ve ark., (2016) yaptıkları çalışmada *L. lactis* LMG 7930 suşunun penisilin ve klindamisine duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir (Armas ve ark., 2017; Karaaslan ve ark., 2016). Georgountzos ve ark., (2018) yaptıkları çalışmada *Lactococcus lactis* spp. *lactis* suşunun amfisilin, seftriakson, klindamisin, kloramfenikol, eritromisin, oksasilin, teikoplanin ve vankomisine duyarlı olduğunu tespit etmiştir (Armas ve ark., 2017; Georgountzos ve ark., 2018). Ramalho ve ark., (2019) *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* LL95' in probiyotik ve antioksidan potansiyeli ile fare davranışına etkisi' ni araştırdıkları çalışmada bu suşun amfisilin, kloramfenikol, eritromisin, penisilin, vankomisin antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğunu tetrasiklin antibiyotiğine karşı dirençli olduğunu ve gentamisin antibiyotiğine karşı orta duyarlı olduğunu tespit etmiştir (Ramalho ve ark., 2019). Walther ve ark., (2008)' nın mastitis sütü örneğinden izole ettikleri 31 adet *L. garvieae*, 38 adet *L. lactis* subsp. *lactis* ve 3 adet *L. lactis* subsp. *cremoris* izolatının tamamının amoksisilin-klavulanik asit, enrofloksasin, gentamisin, linezolid, penisilin, trimetoprim-sülfametoksazol ve vankomisine duyarlı olduğunu, yirmi sekiz adet *L. lactis* subsp. *lactis* ve 3 adet *L. lactis* subsp. *cremoris* izolatlarının test edilen 17 antibiyotiğin tümüne (amikasin, amoksisilin-klavulanik asit, sefalotin,

kloramfenikol, klindamisin, enrofloksasin, eritromisin, gentamisin, kanamisin, linezolid, nitrofurantoin, penisilin, kinupristin-dalfopristin; streptomisin, tetrasiklin, trimetoprim-sülfametoksazol, vankomisin) duyarlı olduğunu belirtmişlerdir (Walther ve ark., 2008).

Enterokok grubu, vankomisin, tetrasiklin ve eritromisin dahil olmak üzere çeşitli terapötik antibiyotiklere karşı gelişme direncine sahiptir (Garrido ve ark., 2014; Koluman ve ark., 2009; Kročko ve ark., 2011). Amfisilin ve penisilin gibi β -laktam antibiyotiklere ve linkosaminler, aminoglikozitler ve trimetoprim-sülfametoksazol gibi antibiyotiklere karşı direnç gösterirler (Barbosa ve ark., 2010; Garrido ve ark., 2014). Çalışmamızda manda peyniri örneğinden izole edilen ve *Enterococcus faecium* olarak tanımlanan izolat disk difüzyon duyarlılık testinde eritromisin, tetrasiklin, kanamisin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı dirençli, vankomisin ve kloramfenikol antibiyotiğine karşı orta duyarlı olarak tespit edilmiştir. Aynı izolatın MİK testi sonucunda ise vankomisin, penisilin-G ve streptomisine karşı dirençli, amfisiline karşı ise orta duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Kim ve ark., (2021) Hanwoo sığır etinden izole ettikleri laktik asit bakterileri ile yaptıkları çalışmada *E. faecalis* 12D26 suşunun kanamisin ve tetrasikline karşı dirençli olup kloramfenikol, penisilin ve vankomisine karşı duyarlı olduğunu amfisiline karşı ise orta derecede duyarlı olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca *E. faecalis* 20D48 suşunun kanamisin ve tetrasikline karşı dirençli olup amfisilin, kloramfenikol, penisilin ve vankomisine karşı duyarlı olduğunu ve *E. faecalis* 30D36 suşunun kanamisin ve tetrasikline karşı dirençli olup kloramfenikol, penisilin ve vankomisine karşı duyarlı olduğunu, amfisiline karşı ise orta derecede duyarlı olduğunu tespit etmiştir (Kim ve ark., 2021a).

Weissella'nın vankomisine doğal olarak dirençli olduğu ve ≥ 256 $\mu\text{g/ml}$ 'lik yüksek minimum inhibitör konsantrasyonuna (MİK) sahip olduğu bilinmektedir. *W. confusa*'nın antimikrobiyal duyarlılıkları tam olarak anlaşılamamıştır. Şu ana kadar Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) tarafından *Weissella* türleri için oluşturulmuş antimikrobiyal duyarlılıklara ilişkin standart yöntemler ve yorumlama kriterleri bulunmamaktadır. Penisilin, amfisilin, tetrasiklin, klindamisin, eritromisin, siprofloksasin, daptomisin, imipenem, florokinolonlar (levofloksasin, moksifloksasin), amoksisilin klavulanat, amfisilin-amillibaktam, ve piperaken için düşük MİK'ler kaydedilmiştir. *W. confusa*, seftazidim, kotrimoksazol, rifampin, metronidazol, teikoplanin ve trimetoprim/sülfametoksazole karşı yüksek düzeyde direnç göstermektedir (Kamboj ve ark., 2015). Çalışmamızda anne sütünden izole edilen 24 numaralı *W. confusa* olarak tanımlanan izolatın disk difüzyon duyarlılık testinde kanamisin

vankomisin ve gentamisine dirençli olduğu, eritromisin, tetrasiklin ve kloramfenikole karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. MİK testi sonucunda ise bu izolat vankomisin ve streptomisine karşı dirençli, amfisiline karşı duyarlı, penisilin-g ye karşı ise orta duyarlı bulunmuştur. Bir başka anne sütünden izole ettiğimiz 26 numaralı *W. confusa* olarak tanımlanan izolatın disk difüzyon duyarlılık testinde kanamisin ve vankomisin antibiyotiklerine karşı dirençli, tetrasiklin ve kloramfenikol antibiyotiklerine karşı duyarlı, eritromisin ve gentamisin antibiyotiklerine karşı orta duyarlı oldukları tespit edilmiştir. MİK testi sonucunda ise vankomisin, penisilin ve streptomisin antibiyotiklerine karşı dirençli, amfisilin antibiyotiğine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Reis ve ark., (2016)' nın anne sütünden izole ettikleri *W. confusa* suşlarının ikisinde de amfisilin, kloramfenikol, eritromisin, gentamisin, amoksisilin+klavulanik asit, imipenem ve vankomisine duyarlılık tespit edilmiştir. Suşların birinde tetrasikline direnç ve klindamisine orta derecede duyarlılık tespit edilmiş olup diğer suşta klindamisine karşı duyarlılık tespit edilip tetrasikline karşı orta derecede duyarlılık tespit edilmiştir (Reis ve ark., 2016). Nath ve ark., (2020)' nın geleneksel fermente pirinçten izole ettikleri *Weissella Confusa* GCC_19R1 suşunun gentamisin, tetrasiklin, polimiksin-B, kanamisin, kotrimoksazol, seftriakson, amfisilin, amikasin, klindamisin, penisilin-G, siprooksasin, azitromisin ve polimiksin-B'ye duyarlı olduğunu ayrıca vankomisin, ooksasin, meropenem, noroksasin, rifampsin, streptomisin, metisilin ve sefdinire karşı dirençli bulunduğunu belirtmiştir (Nath ve ark., 2020a).

Gıdalardan izole edilen *Pediococcus* türlerinin antibiyotik duyarlılığına ilişkin veriler çok azdır. Genellikle duyarlılık düzeylerinin türe bağlı olduğu düşünülen penisilin-g, imipenem, gentamisin, netilmisin, eritromisin, klindamisin, rifampin, kloramfenikol, daptomisin ve ramoplanin antibiyotiklerin *Pediococcus* türlerine karşı etkili olduğu belirtilmektedir (Ammor ve ark., 2007; Danielsen ve ark., 2007; Swenson ve ark., 1990; Tankovic ve ark., 1993; Temmerman ve ark., 2003; Zarazaga ve ark., 1999). *Pediococcus* türleri, glikopeptidlere (vankomisin ve teikoplanin) ve streptomisin, kanamisin, tetrasiklin (özellikle *Pediococcus acidilactici*), doksisiklin, siprofloksasin, sülfametoksazol ve trimetoprimülfametoksazole doğal olarak dirençlidir (Ammor ve ark., 2007; Danielsen ve ark., 2007; Swenson ve ark., 1990). Tüm laktamlara, aminoglikositlere, makrolidlere, tetrasiklinlere ve kinolonlara direnç gösteren bazı *Pediococcus* suşları rapor edilmiştir (Tankovic ve ark., 1993; Temmerman ve ark., 2003). Çalışmamızda Muş kaşarı örneklerinden izole edilen 36, 39, 40 ve 44 numaralı *Pediococcus acidilactici* olarak tanımlanan izolatların disk difüzyon ve MİK test

sonuçlarına göre genel olarak tetrasiklin, kanamisin, vankomisin, gentamisine, amfisilin, streptomisin ve penisilin-g' ye karşı dirençli, kloramfenikol ve eritromisine karşı duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Singla ve ark., (2018) çalışmalarında izole ettikleri *P. pentosaceus* ve *P. acidilactici* suşlarının amoksisilin, eritromisin, seftriakson, kloksasilin, sefoperazon, penisilin, netilin, gentamisin ve kloramfenikole karşı ya duyarlı ya da orta derecede dirençli olduğunu ve izolatların çoğunun vankomisine ve nalidiksik aside karşı direnç göstermiş olduğunu belirtmiştir. İki *Pediococcus* türü arasında duyarlılık modelinde önemli bir fark gözlenmediğini bildirmiştir (Singla ve ark., 2018). Kim ve ark., (2021) *P. pentosaceus* KI62 suşunun fizyolojik özellikleri ve anti-diyabetik etkisi üzerine yaptıkları çalışmada *P. pentosaceus* KI62 suşunun uygulanan 16 antibiyotik içerisinde penisilin-G, rifamfisin ve klindamisine karşı daha yüksek hassasiyet ve ayrıca vankomisin ile amfisiline karşı en yüksek direnç gösterdiğini bildirmiştir (Kim ve ark., 2021b).

Çalışmamızdaki bazı suşlar için antibiyotik testleri sonuçlarının literatürdeki sonuçlar ile uyumlu olduğu tespit edilmiş olup bazı suşlar için farklılıklar gözlenmiştir. Antibiyotiklere karşı oluşan bu farklılıkların sebebi; antibiyotik direncinin suştan suşa değişmekte olduğu düşüncesidir.

4.4.2 Suşların pH dirençleri

Bir suşun probiyotik sınıfına dahil edilmesi için mide asidine dayanıklı olması gerekmektedir. Midede kalma süresi yaklaşık 3 saat olduğu için, 3 saat süreyle düşük pH düzeylerinde suşların pH dirençlilik testleri gerçekleştirilmiştir ve test sonuçları Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de verilmiştir (Dunne ve ark., 2001; Vinderola ve Reinheimer, 2003).

pH 2.0 değerinde 1. saatin sonunda 1, 3, 13, 26, 29, 31, 36 suşlarının canlılık seviyesi ortalama 1.5 log iken 3. saatin sonunda hiçbir suştan canlılık gözlenmemiştir.

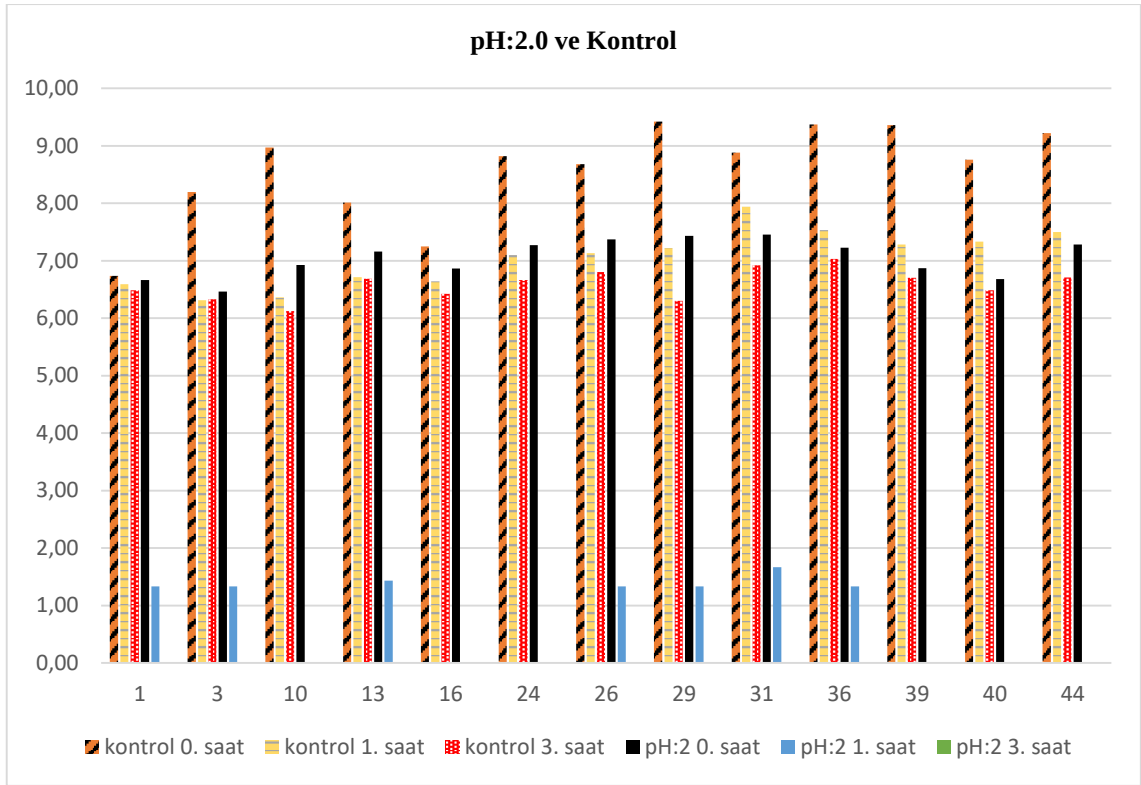
pH 3.0 değerinde 1. saatin sonunda 1 numaralı suştan canlılık düzeyi 2,5 log iken 3, 24, 26, 29, 39, 40 numaralı suşlarda ~6 log , 10 ve 13 numaralı suşlarda ~4.5 log, 16, 31, 36 ve 44 numaralı suşlarda ise ~7 log olarak tespit edilmiştir. 3. saatin sonunda 1 numaralı suştan canlılık seviyesi ~1,5 log iken 3, 16, 31, 36 numaralı suşlarda ~7 log, 10 ve 29 numaralı suşlarda 4.5 log civarında, 24 ve 26 numaralı suşlarda ~3 log, 39, 40 ve 44 numaralı suşlarda ~6 log düzeyinde hesaplanmıştır. 13 numaralı suştan canlılık tespit edilmemiştir.

Kontrol olarak kullanılan pH 7.4' te ise 1. saatin sonunda 1, 3, 10, 13 ve 16 numaralı suşlarda canlılık miktarı ortalama 6.5 log iken 24, 29, 36 numaralı suşlarda

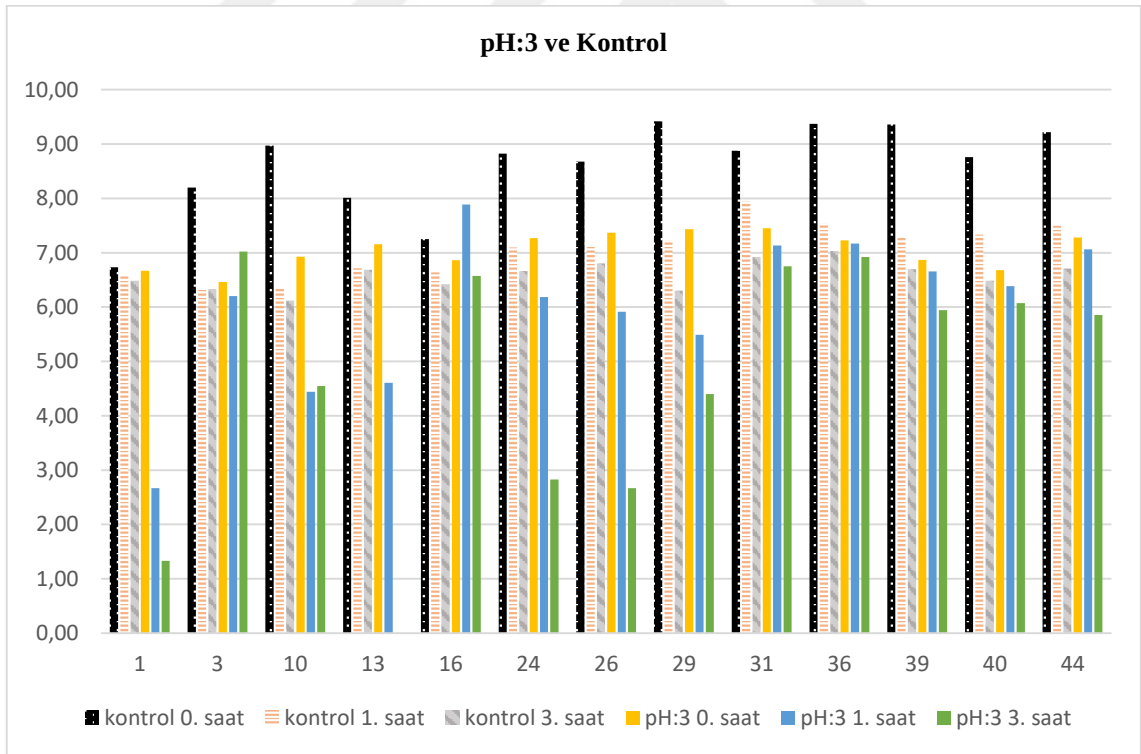
yaklaşık 7 log civarında, 31 numaralı suşta ~8 log, 36, 39, 40 ve 44 numaralı suşlarda ise ortalama 7.5 log olarak bulunmuştur. 3. saatin sonunda ise 1, 3, 13, 16, 24, 29, 39, 40 ve 44 numaralı suşlardaki canlılık yaklaşık 6.5 log seviyesindeyken, 10 numaralı suşta 6 log miktarında ve 26, 31, 36 numaralı suşlarda ortalama 7 log civarında olarak gözlemlenmiştir.

Munoz-Quezada ve ark., (2013)' nın çalışmasında *Ent. faecalis* F1 ve *W. confusa* F8' in pH dirençliliğini araştırmış ve suşların sırasıyla pH 2.5 ve 2.0'a tolerans gösterdiğini belirtmiştir. Probiyotik bakterilerin düşük pH ve safra tuzlarına karşı direnci büyük ölçüde türe bağlıdır (Muñoz-Quezada ve ark., 2013; Reis ve ark., 2016). Bazı laktik bakterilerin asit pH' ına toleransı, bu mikroorganizma grubunda bulunabilen bir enzim olan ATPaz' ın varlığı ile ilgilidir (Lertworapreecha ve ark., 2011; Reis ve ark., 2016).

Bin Masalam ve ark., (2018) yaptıkları çalışmada test ettikleri 46 suşun mevcut asidik şartları, değişken oranlarda tolere ettiğini belirlemiştir. Çalışmada aside en toleranslı suşların, *E. faecium* izolatları arasındaki enterokoklar ve *W. confusa*, *L. casei* MSJ1, *L. futsaii* EMBM2 ve *L. lactis* HadRami9 olduğu tespit edilmiştir. Çalışmadaki 46 LAB suşunun asitlik toleranslarının %52.85 ila %99.55 arasında değişmekte olduğu bildirilmiştir. (Bin Masalam ve ark., 2018). Yapılan bir çalışmada *E. faecium* (R.A2), *E. faecium* (RA73), *E. faecium* (R.A5) ve *L. mesenteroides* (R.A76) suşlarının düşük pH koşullarında canlılığı araştırılmış, pH:3.0 ve pH:4.0 koşullarında 3 saatlik bekleme süresinin ardından tespit edilen bakteri canlılığında önemli bir azalma görülmüştür. Bununla birlikte, 3 saat sonra pH:2.0'de hiçbir canlı koloni tespit edilmemiştir. En yüksek direnç *E. faecium* R.A2 ve R.A5 suşlarında gözlenmiştir (El-Jeni ve ark., 2016). Osmanagaoglu ve ark., (2010) yaptıkları çalışmada *Pediococcus pentosaceus* OZF suşunun bazı probiyotik özelliklerini araştırmış ve pH 3.0 içeren ortama 3 saat sonra maruz kaldıktan sonra suşun canlı kalabildiğini, ancak suşun pH 1' e maruz kaldığında 1. saat sonunda canlılık kaybı gösterdiğini bildirmişlerdir (Osmanagaoglu ve ark., 2010).



Şekil 4. 8 İzole edilen suşların pH:2 ve kontrol grubu sonuçları (log kob/ml)



Şekil 4. 9 İzole edilen suşların pH:3 ve kontrol grubu sonuçları (log kob/ml)

Araştırma kapsamında farklı pH değerlerinin canlı hücre sayısı üzerindeki etkisini incelemek için canlı hücre sayısı log-kob/ml olmak üzere kontrol, pH:2 ve pH:3 gruplarına uygulanan ANOVA analiz sonuçları Çizelge 4.5’ de yer almaktadır.

Çizelge 4. 5 Çalışmada kullanılan suşların farklı pH değerlerinde canlı hücre sayısı log-kob/ml olmak üzere 0., 1. ve 3. saat dilimlerindeki ölçümleri; kontrol, pH:2 ve pH:3 gruplarındaki zamana göre istatistiksel analiz sonuçları

		Kareler toplamı	df	Kareler ortalaması	F	p	Fark
phlog-kob/ml 0	Gruplar arası	20,554	2	10,277			Kontrol>
	Gruplar içi	10,884	36	,302	33,992	,000	pH2,
	Toplam	31,438	38				pH3
phlog-kob/ml 1	Gruplar arası	295,703	2	147,851			Kontrol>
	Gruplar içi	33,003	36	,917	161,277	,000	pH3
	Toplam	328,706	38				>pH2
phlog-kob/ml 3	Gruplar arası	298,942	2	149,471			Kontrol>
	Gruplar içi	64,781	36	1,799	83,063	,000	pH3
	Toplam	363,724	38				>pH2

Çizelge 4.5’ de yer alan sonuçlar incelendiğinde farklı pH değerlerinde canlı hücre sayısının 0., 1. ve 3. saat dilimlerindeki ölçümleri; kontrol, pH:2 ve pH:3 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğunu göstermektedir. Farkın kaynağını belirlemek amacıyla uygulanan **Tukey post hoc** testi sonucunda 0. saat diliminde kontrol grubundaki canlı hücre sayısının pH:2 ve pH:3 gruplarından yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır. 1 ve 3. saat dilimlerinde ise canlı kalma miktarlarının yüksekte düşüğe doğru sırasıyla kontrol, pH:3 ve pH:2 şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Araştırma kapsamında kontrol, pH:2 ve pH:3 gruplarına ait canlı hücre sayısının log-kob/ml olmak üzere 0, 1 ve 3. saat dilimine göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan tekrarlı ANOVA analizi sonuçları Çizelge 4.6’ da yer almaktadır.

Çizelge 4. 6 Canlı hücre sayısının log-kob/ml olmak üzere kontrol, pH:2 ve pH:3 gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan ANOVA analizi sonuçları

		Kareler toplamı	df	Kareler ortalaması	F	p	Fark
Kontrol	Deneklerarası	7,152	12	0,596			
	ölçüm	28,560	2	14,280	69,844	0,000	0>1>3
	Hata	4,907	24	,204			
	Toplam						
deneypH2	Deneklerarası	3,015	12	0,251			
	ölçüm	389,805	2	194,902	1012,83	0,000	0>1>3
	Hata	4,618	24	,192	1		
	Toplam						
deneypH3	Deneklerarası	49,262	12	4,105			
	ölçüm	36,441	2	18,221	11,011	0,000	0>1>3
	Hata	39,714	24	1,655			
	Toplam						

Çizelge 4.6' da yer alan sonuçlar incelendiğinde kontrol, pH:2 ve pH:3 gruplarındaki canlı hücre sayılarının 0, 1 ve 3. saat dilimlerindeki ölçümlerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Farkın kaynağını belirlemek amacıyla uygulanan post hoc testi sonucunda kontrol ve deney gruplarından elde edilen canlı hücre sayılarının süre ilerledikçe azaldığı tespit edilmiştir.

4.4.3 Suşların pepsin dirençleri

Kontrol olarak çalışılan pH 7.4' te 1. saatin sonunda 1, 3, 10, 13, 16, 24, 26, 29, 31 ve 36 numaralı suşlarda canlılık düzeyi ortalama 7.5 log iken 39 ve 44 numaralı suşlarda yaklaşık 8 log ve 40 numaralı suşta ise 4.6 log olarak tespit edilmiştir. 3. Saatin sonunda 1, 3, 10, 13 ve 36 numaralı suşlarda canlılık miktarı yaklaşık 7 log, 16, 24, 26, 29 ve 39 numaralı suşlarda 7.5 log, 31 ve 44 numaralı suşlarda 8 log ve ayrıca 40 numaralı suşta 5 log olarak belirlenmiştir.

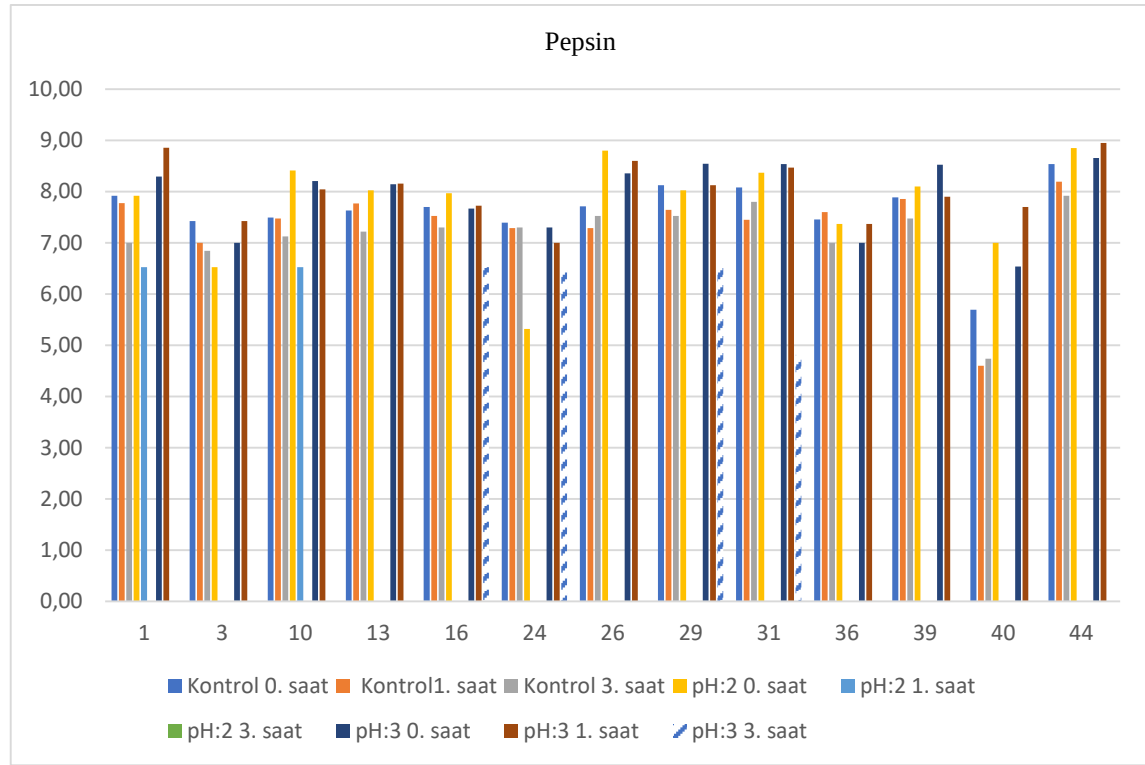
Pepsin içeren pH 2.0 tamponunda 1. saatin sonunda 1 ve 10 numaralı suşlardaki canlılık seviyesi 6.5 log düzeyinde iken diğer suşlarda canlılık gözlenmemiştir. 3. saatin sonunda ise hiçbir suşta canlılık tespit edilmemiştir.

Pepsin içeren pH 3.0 tamponunda 1. saatin sonunda 1 ve 44 numaralı suşların canlılığı ortalama 9 log iken; 3, 16, 36 ve 40 numaralı suşların ortalama 7.5 log; 10, 13, 29 ve 39 numaralı suşların ~8 log; 24 numaralı suşun 7 log; 26 ile 31 numaralı suşlarda ise ortalama 8.5 log olarak belirlenmiştir. Canlılık miktarı 3. saatin sonunda 16, 24 ve 29 numaralı suşlarda 6.5 log; 31 numaralı suşta 4.8 log olarak tespit edilirken diğer suşlarda 3. saatin sonunda canlılık görülmemiştir. Çalışmada kullanılan suşların pepsin direnç profilleri Şekil 4.9' da belirtilmiştir.

El Jeni ve ark., (2016) yaptıkları araştırmada 4 LAB suşunun probiyotik özelliklerini araştırmak için pepsine (pH:2.0 ve 3.0' de) ve pankreatine (pH:8.0' de) dirençliliklerini test etmiştir. 3 mg.ml⁻¹ pepsin içeren pH: 2.0' ye ayarlanmış PBS tamponu içerisinde hiçbir suş hayatta kalmamıştır, fakat pepsin içeren pH 3.0' e ayarlanmış tamponda suşlar canlılığını sürdürmüştür. LAB suşları, pH 8'de pankreatin maruziyetine karşı iyi bir şekilde hayatta kalmış ve canlılık oranları %86 ile %99 arasında değişmiştir. Test edilen 4 LAB arasında, *E. faecium* (R.A2) ve (R.A5) suşları pankreatine en duyarlıyken, *L. mesenteroides* (R.A76) ve *E. faecium* (R.A5) suşları pepsine en duyarlı olarak rapor edilmiştir (El-Jeni ve ark., 2016).

Liu ve ark., (2020) yaklardan izole ettikleri *Lactobacillus sakei*, *Enterococcus hirae*, *Pediococcus acidilactici*, *Weissella confusa* suşlarının probiyotik potansiyeli ve

güvenlik değerlendirmelerini araştırdıkları çalışmalarında bu dört suşun temel olarak pepsin içeren pH 2.0 tamponuna toleranslı olduğunu ve *Pediococcus acidilactici* suşunun pepsin ile aynı ortamda büyüebileceğini bildirmiştir (Liu ve ark., 2020).



Şekil 4. 10 Çalışmada kullanılan suşların pepsin direnç profilleri (log kob/ml)

Araştırma kapsamında pepsin miktarının canlı hücre sayısı üzerindeki etkisini incelemek için kontrol, pepsin pH:2 ve pepsin pH:3 gruplarına uygulanan ANOVA analizi sonuçları Çizelge 4.7’ de yer almaktadır.

Çizelge 4. 7 Pepsin miktarının kontrol, pepsin pH:2 ve pepsin pH:3 gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan ANOVA analizi sonuçları

		Kareler toplamı	df	Kareler ortalaması	F	p	Fark
Pepsin 0. saat	Gruplar arası	,540	2	,270			
	Gruplar içi	23,085	36	,641	0,421	0,659	-----
	Toplam	23,626	38				
Pepsin 1. saat	Gruplar arası	389,887	2	194,944			Kontrol,
	Gruplar içi	85,310	36	2,370	82,264	,000	pH3
	Toplam	475,197	38				>pH2
Pepsin 3. saat	Gruplar arası	355,842	2	177,921			Kontrol
	Gruplar içi	112,431	36	3,123	56,970	,000	>pH3
	Toplam	468,274	38				>pH2

Çizelge 4.7’ de yer alan sonuçlar incelendiğinde pepsin miktarlarının 1 ve 3. saatlerdeki ölçümleri kontrol, pH:2 ve pH:3 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı

farklılık göstermektedir. Farkın kaynağını belirlemek amacıyla uygulanan Tukey post hoc testi sonucunda 1. saat diliminde kontrol ve pH:3 grubundaki canlı hücre sayısının pH:2 grubundakine göre daha yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır. 3. saat diliminde ise canlı hücre sayısı yüksekten düşüğe doğru sırasıyla kontrol, pepsin pH:3 ve pepsin pH:2 şeklinde tespit edilmiştir. Ancak Çizelge 4.7’ de görüldüğü üzere pepsin miktarının 0. saat dilimindeki ölçümlerinde kontrol, pepsin pH:2 ve pepsin pH:3 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. Yani 0. saat diliminde deney ve kontrol gruplarındaki canlı hücre sayıları benzerdir.

Araştırma kapsamında kontrol, pepsin pH:2 ve pepsin pH:3 gruplarına ait canlı hücre sayılarının 0, 1 ve 3. saatlerde farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan tekrarlı ANOVA analizi sonuçları Çizelge 4.8’ de yer almaktadır.

Çizelge 4. 8 Pepsin miktarının kontrol, pepsin pH:2 ve pepsin pH:3 gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan ANOVA analizi sonuçları

		Kareler toplamı	df	Kareler ortalaması	F	p	Fark
Kontrol	Deneklerarası	20,709	12	1,726	15,496	0,000	0>1>3
	ölçüm	1,522	2	,761			
	Hata	1,179	24	,049			
	Toplam						
deneypH2	Deneklerarası	31,499	12	2,625	106,343	0,000	0>1>3
	ölçüm	461,309	2	230,654			
	Hata	52,055	24	2,169			
	Toplam						
deneypH3	Deneklerarası	38,257	12	3,188	50,031	0,000	0,1>3
	ölçüm	321,563	2	160,782			
	Hata	77,128	24	3,214			
	Toplam						

Çizelge 4.8’ de yer alan sonuçlar incelendiğinde kontrol, pepsin pH:2 ve pepsin pH:3 gruplarındaki canlı hücre sayılarının 0, 1 ve 3. saat dilimlerindeki ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir. Farkın kaynağını belirlemek amacıyla uygulanan Tukey post hoc testi sonucunda kontrol ve pepsin pH:2 gruplarından elde edilen canlı hücre sayısı değerlerinin süre ilerledikçe azaldığı görülmektedir. Pepsin pH:3 grubunda ise 0 ve 1. saat dilimlerindeki canlı hücre sayılarının benzer olup, 3. saat diliminden daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

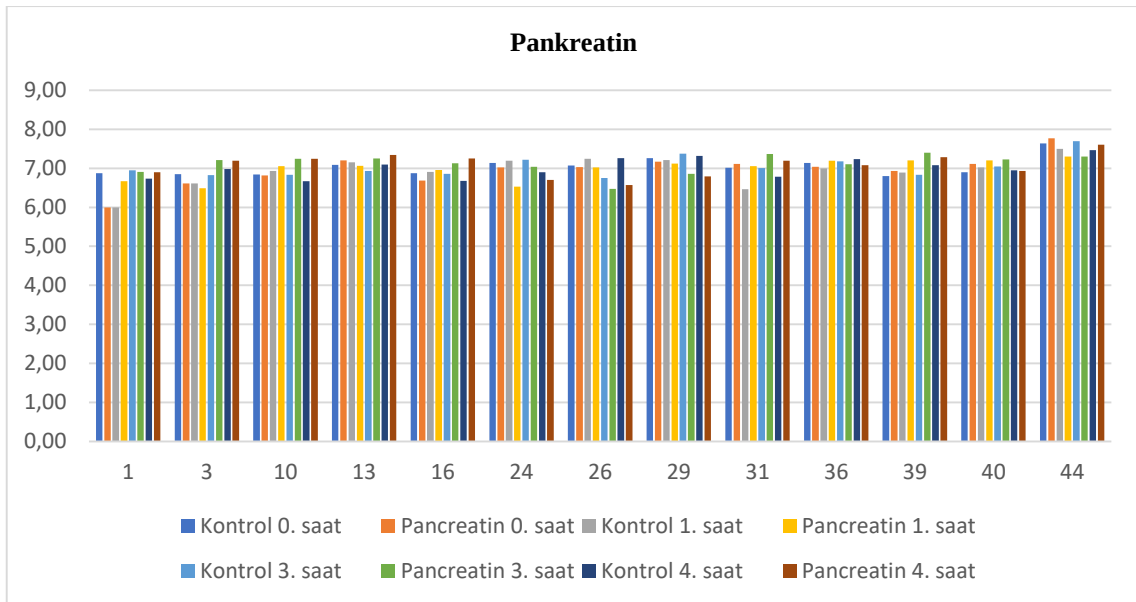
4.4.4 Suşların pankreatin dirençleri

Pankreatin uygulamasının 4. saatin sonunda suşlardaki canlılık seviyesi deney grubu ve kontrol grupları için ortalama ~7 log düzeyinde gözlemlenmiştir. Sonuçlara ait veriler Şekil 4.10’ da verilmiştir. Xia ve ark., (2021) gül reçelinden izole ettikleri 61 LAB

suşunun bazı probiyotik özelliklerini araştırmış ve 5 adet *Pediococcus pantesaceus* suşunun probiyotik özellikler sergilediği bildirmiştir. Yapılan in vitro testler sonucunda *Pediococcus pantesaceus* MP13 olarak tanımlanan izolatin pankreatin ve gastro intestinal sıvı içeren ortamlarda canlılığını sürdürdüğü rapor edilmiştir. Bir çok farklı çalışmada da insanlardan ve fermente gıdalardan izole edilen laktobasil ve pediokok suşlarının pankreatin ve gastro intestinal sıvı içeren ortamlara dirençli olduğu ve canlılıklarını sürdürebildikleri belirtilmiştir (Bove ve ark., 2012; Turchi ve ark., 2013; Xia ve ark., 2021) . El Jeni ve ark., (2016) yaptıkları araştırmada seçilen 4 LAB' nin probiyotik özelliklerini araştırmak için pepsine (pH 2.0 ve 3.0' de) ve pankreatine (pH 8.0' de) dirençlerini test etmiştir. Suşların pH 8' de pankreatin maruziyetine karşı hayatta kaldığını ve canlılık oranlarının %86 ile %99 arasında değiştiğini bildirilmiştir. Test edilen 4 LAB suşundan, *E. faecium* (R.A2), *E. faecium* (RA73), *E. faecium* (R.A5) ve *L. mesenteroides* (R.A76) suşları pankreatine en duyarlı suşlar olarak belirlenmiştir. Osmanagaoglu ve ark., (2010) yaptıkları çalışmada *Pediococcus pentosaceus* OZF suşunun pankreatine dirençli olduğunu ve hücrelerin maruziyetten 4 saat sonra bile 8.76 kob/mL oranında canlılığını koruduğunu belirlemiştir (El-Jeni ve ark., 2016).

Sornsenee ve ark., (2021) üzerinde çalıştıkları 8 *Lactobacillus paracasei*, 1 *Lactobacillus fermentum* ve 1 *Lactobacillus brevis* suşlarının tümünün canlılık değişimini pankreatin varlığında 4 saat boyunca takip etmiş ve suşların pankreatine karşı canlılıklarını yüksek oranda koruduklarını tespit etmiştir. Suşlardan en yüksek canlılık oranını *L. paracasei* T0603' ün gösterdiğini; bunu *L. fermentum* T0701 ve *L. paracasei* T0601 suşlarının izlediğini rapor etmiştir (Sornsenee ve ark., 2021).

Nath ve ark., (2020) fermente süt ürününden izole ettikleri *Lactobacillus plantarum* suşunun probiyotik özelliklerinin in-vitro olarak taranması konulu araştırmalarında *Lactobacillus plantarum* GCC_19M1 suşunun, %0.5 pankreatin içinde 24 saatlik inkübasyondan sonra önemli bir gelişim gösterdiğini bildirmiştir. Test izolatinin canlılık oranı 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonrasında sırasıyla %68.42 ve %55.11 olarak kaydedilmiştir. İnkübasyon süresinin uzamasıyla canlı bakteri sayısında bir azalma da gözlenmiş olduğu belirtilmiştir (Nath ve ark., 2020b).



Şekil 4. 11 Çalışmada kullanılan suşların pankreatin direnç profilleri (log kob/ml)

Araştırma kapsamında canlı hücre sayılarının log-kob/ml olmak üzere kontrol ve pankreatin gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan t testi sonuçları Çizelge 4.9’ da yer almaktadır.

Çizelge 4. 9 Canlı hücre sayılarının kontrol ve pankreatin gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan t testi sonuçları

		n	ortalama	ss	sd	t	p
Log kob 0	Kontrol	13	7,0369	,22790	24	0,586	0,563
	Pankreatin	13	6,9615	,40365			
Log kob 1	Kontrol	13	6,9323	,39049	24	-0,436	0,666
	Pankreatin	13	6,9892	,26206			
Log kob 3	Kontrol	13	7,0392	,26881	24	-0,752	0,459
	Pankreatin	13	7,1162	,25267			
Log kob 4	Kontrol	13	7,0115	,25810	24	-0,652	0,521
	Pankreatin	13	7,0815	,28870			

Çizelge 4.9’ da yer alan sonuçlar incelendiğinde canlı hücre sayılarının 0, 1, 3 ve 4. saat dilimlerindeki ölçümleri kontrol ve pankreatin gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir. Başka bir ifadeyle tüm zaman dilimlerinde kontrol ve pankreatin gruplarındaki canlı hücre sayıları benzerdir.

Araştırma kapsamında kontrol ve pankreatin gruplarına ait canlı hücre sayılarının log-kob/ml olmak üzere 0, 1, 3 ve 4. zaman dilimlerine göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan tekrarlı ANOVA analizi sonuçları Çizelge 4.10’ da yer almaktadır.

Çizelge 4. 10 Kontrol ve pankreatin gruplarına ait canlı hücre sayılarının log-kob/ml olmak üzere 0, 1, 3 ve 4. zaman dilimlerine göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan tekrarlı ANOVA analizi sonuçları

		Kareler toplamı	df	Kareler ortalaması	F	p	Fark
Kontrol	Deneklerarası	2,901	12	,242	0,963	0,421	-----
	ölçüm	,098	3	,033			
	Hata	1,218	36	,034			
	Toplam						
Pankreatinin	Deneklerarası	2,472	12	,206	1,221	0,316	-----
	ölçüm	,211	3	,070			
	Hata	2,073	36	,058			
	Toplam						

Çizelge 4.10’ da yer alan sonuçlar incelendiğinde kontrol ve pankreatin gruplarındaki canlı hücre sayılarının 0, 1, 3 ve 4. saat dilimlerindeki ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir. Başka bir ifadeyle kontrol ve pankreatin gruplarındaki canlı hücre sayıları zamana göre değişim göstermemektedir.

4.4.5 Suşların safra tuzu dirençleri

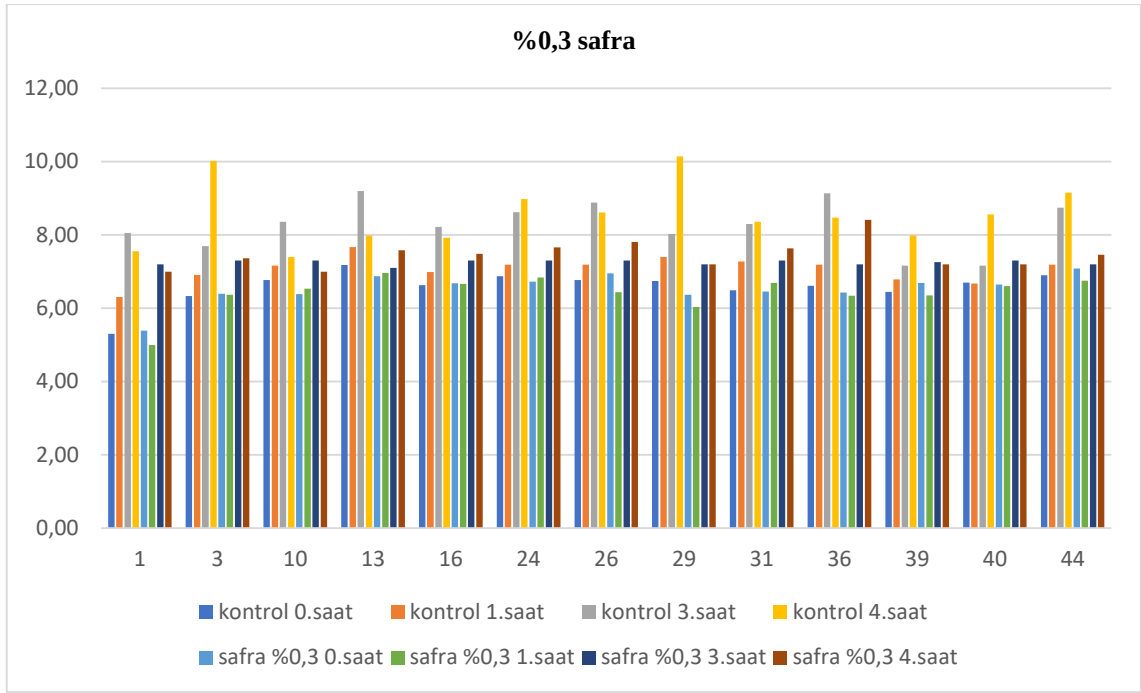
Sindirim sisteminden geçiş sırasında karşılaşılan koşullar altında mikroorganizmaların hayatta kalmaları probiyotikler için istenen özellikler arasındadır. Sindirim sistemi koşullarında hayatta kalması, probiyotiklerin bağırsaktaki etkileri için çok önemlidir. Bu koşullar sindirim sisteminin farklı bölümlerinde farklılık göstermektedir. Midede probiyotikler çok düşük pH’ a, tuzlara, pepsin ve lizozim gibi enzimlere maruz kalmaktadırlar. Bu enzimlerin etkileri, probiyotikler de dahil olmak üzere organizmaların hayatta kalmasını etkilemektedir (Horácková ve ark., 2012; Vizoso Pinto ve ark., 2006). Duodenum ve ince bağırsak ortamları, nötr ila hafif alkali pH’ a geçişi ve safra tuzlarının varlığını, yani diğer stres koşullarına erişimi temsil etmektedir (Horácková ve ark., 2012).

Safra tuzlarına direnç yeteneği, Laktokok ve Enterokok cinsi bakterilerde bulunan safra tuzu hidrolaz enziminin aktivitesi ile ilgilidir. Bu enzim, safra tuzlarının toksik etkilerini azaltabilmekte iken, suşların bağırsakta yaşam sürelerini ve faydalı etkilerini artırabilmektedir (Argyri ve ark., 2013; Reis ve ark., 2016).

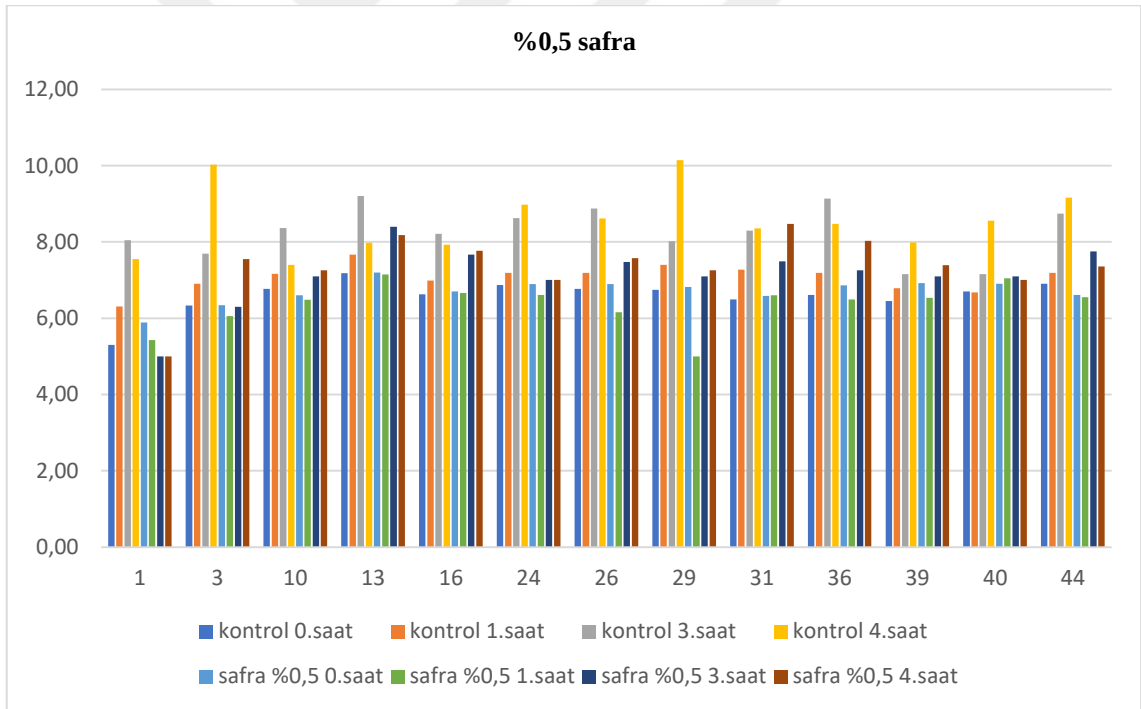
%0.3’ lük safra tuzu denemesinin 4. saatinin sonunda 36 numaralı suşun canlılık düzeyi 8.41 log iken diğer suşların canlılık düzeyleri ortalama 7.5 log seviyesinde bulunmuştur. %0.5’ lik safra tuzu uygulamasında 4. saatin sonunda 1 numaralı suşun canlılık düzeyi 5 log iken diğer suşların canlılık düzeyleri ortalama 7.5 log olarak tespit edilmiştir. %1’ lik safra tuzu denemesinde 4. saatin sonunda 36 numaralı suştaki canlılık 5 log, diğer suşlardaki canlılık ise ortalama 7.5 log seviyesinde hesaplanmıştır. Kontrol

grubunun tüm uygulamalarında 4. saatinin sonunda canlılık düzeyleri 1, 10, 13, 16 ve 39 numaralı suşlarda ortalama 7.5 log; 24, 26, 31, 36 ve 40 numaralı suşlarda ortalama 8.5 log; 44 numaralı suşta 9 log; 3 ve 29 numaralı suşlarda 10 log olarak tespit edilmiştir. Sonuçlara ait veriler Şekil 4.11-13'de verilmiştir.

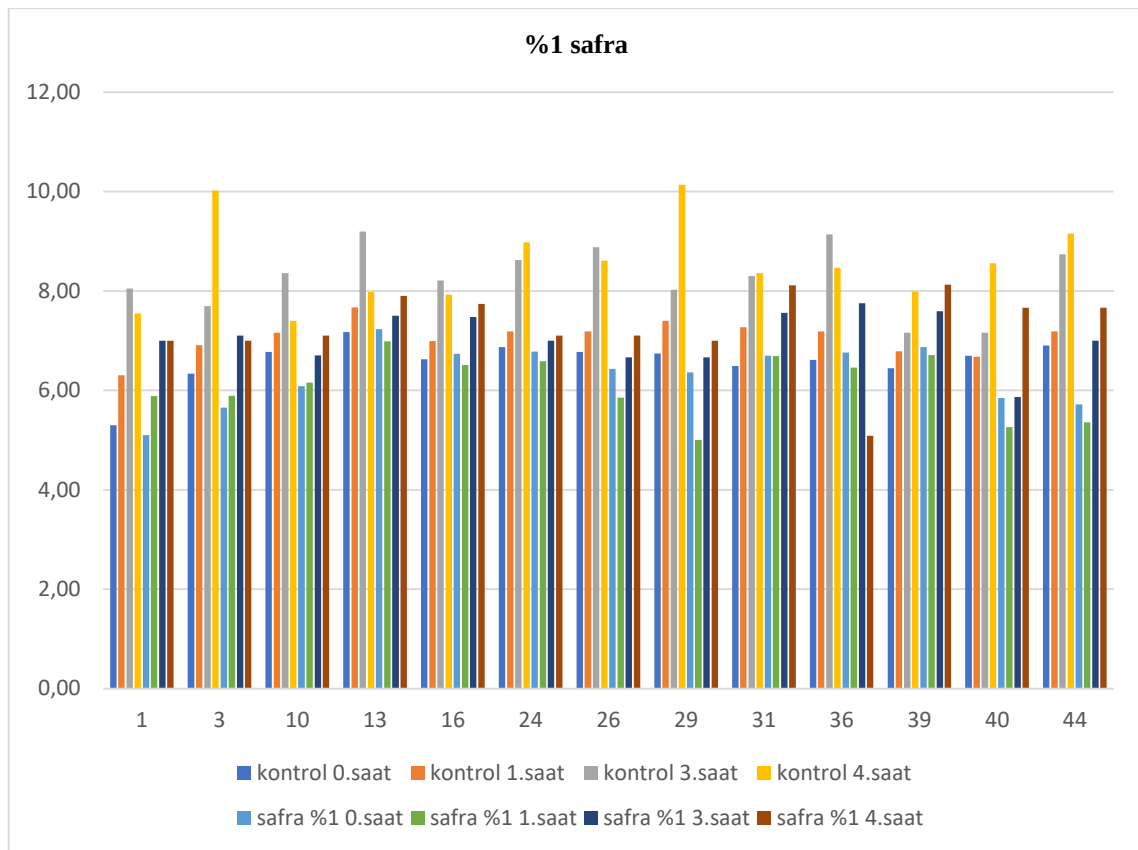
Bin Masalam ve ark., (2018) yaptıkları çalışmada test ettikleri 46 LAB suşunun, safra toleranslarını 4 saat süreyle test etmiştir. Elde edilen sonuçlar, test edilen izolatlar için hayatta kalma yüzdelerinin %37.7 ve %98-99,55 arasında olduğunu göstermiştir. Suşların toplam %71.7' si, önemli bir canlılık kaybı olmaksızın (>%95 sağkalım) safraya toleranslı bulunmuştur. Safra toleranslı suşların çoğu, *Enterococcus faecium* ZiNb3, *E. faecium* Rashad3 ve *E. faecium* SMBM3 gibi enterokoklar ve *Lactobacillus casei* BgShn3, *L. casei* Dwan5, *L. casei* MSJ1, *L. plantarum* EyLan2, *L. acidophilus* Musallam2, *L. paracasei* NMBM1, *Streptococcus equinus* Salam7, *Lactococcus garvieae* Emad4, *L. garvieae* ZSJ5 ve *Weisella confusa* SYary olarak tanımlanan izolatlar olduğu gözlenmiştir (Bin Masalam ve ark., 2018). Yuasa ve ark., (2021) *Lactobacillus plantarum* SI-1 and *L. pentosus* MU-1 suşlarının gastrointestinal ortam şartlarına karşı toleransını araştırmış ve 3 saatlik test süresi sonunda suşların canlılığının önemli oranda azalmadığını tespit etmiştir (Yuasa ve ark., 2021). Sharma ve ark., (2021) deve sütünden izole ettikleri 80 LAB suşu ile yaptıkları çalışmada *E. lactis* and *L. plantarum* suşlarının %0.1, %0.2 ve %0.3 safra tuzu içeren ortamlarda büyüebildiğini ve canlılığını sürdürebildiğini bildirmiştir. Benzer sonuçlar köpeklerden izole edilen *Enterococcus* türleri içinde rapor edilmiştir (Lee ve ark., 2011; Sharma ve ark., 2021; Strompfová ve ark., 2004).



Şekil 4. 12 Çalışmada kullanılan suşların %0,3 safra tuzu sonuçları (log kob/ml)



Şekil 4. 13 Çalışmada kullanılan suşların %0,5 safra tuzu sonuçları (log kob/ml)



Şekil 4. 14 Çalışmada kullanılan suşların %1 safra tuzu sonuçları (log kob/ml)

Araştırma kapsamında farklı safra tuzu konsantrasyonlarının canlı hücre sayısı olan log-kob/ml üzerindeki etkisini incelemek için kontrol, safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarına uygulanan ANOVA analizi sonuçları Çizelge 5’ te yer almaktadır.

Çizelge 4. 11 Safra miktarının kontrol, safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarına göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan ANOVA analizi sonuçları

		Kareler toplamı	df	Kareler ortalaması	F	p	Fark
Log kob 0	Gruplar arası	,981	3	,327	1,540	,216	
	Gruplar içi	10,197	48	,212			
	Toplam	11,178	51				
Log kob 1	Gruplar arası	6,569	3	2,190	7,911	,000	Konrol>safra%0,3, safra%0,5, safra %1
	Gruplar içi	13,286	48	,277			
	Toplam	19,855	51				
Log kob 3	Gruplar arası	12,457	3	4,152	12,188	,000	Konrol>safra0,3, safra0,5, safra 1
	Gruplar içi	16,354	48	,341			
	Toplam	28,811	51				
Log kob 4	Gruplar arası	13,764	3	4,588	8,378	,000	Konrol>safra0,3, safra0,5, safra 1
	Gruplar içi	26,287	48	,548			
	Toplam	40,051	51				

Çizelge 5’ te yer alan sonuçlar incelendiğinde canlı hücre sayılarının 1, 3 ve 4. saat dilimlerindeki ölçümleri kontrol, safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarında

istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğunu göstermiştir. Farkın kaynağını belirlemek amacıyla uygulanan **Tukey post hoc** testi sonucunda 1, 3 ve 4. saat diliminde kontrol grubundaki canlı hücre sayısının miktarının safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarından yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ancak Çizelge 5’ den görüldüğü üzere 0. saat diliminde canlı hücre sayısının kontrol, safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği görülmüştür. Başka bir ifadeyle 0. saat diliminde kontrol, safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarındaki canlı hücre sayısı benzerdir.

Araştırma kapsamında kontrol, safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarına ait canlı hücre sayılarının log-kob/ml olmak üzere 0, 1, 3 ve 4. saat dilimlerine göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan tekrarlı ANOVA analizi sonuçları Çizelge 6’ da yer almaktadır.

Çizelge 4. 12 Kontrol, safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarına ait canlı hücre sayılarının log-kob/ml olmak üzere 0, 1, 3 ve 4. zaman dilimine göre farklılık gösterip göstermediğini incelemek amacıyla uygulanan tekrarlı ANOVA analizi sonuçları

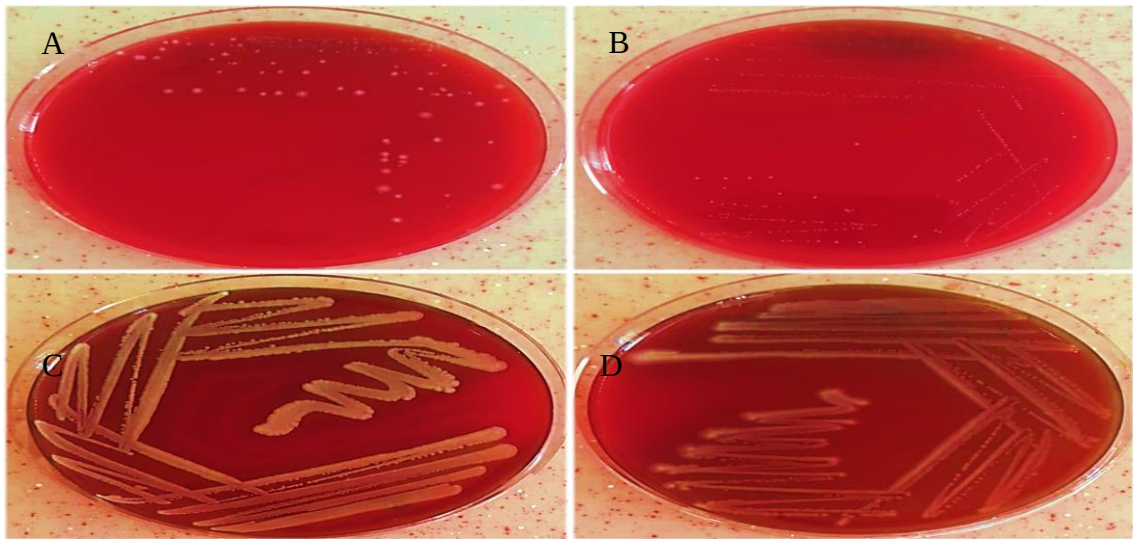
		Kareler toplamı	df	Kareler ortalaması	F	p	Fark
Kontrol	Deneklerarası	7,419	12	,618	39,929	0,000	4,3>1>0
	ölçüm	34,313	3	11,438			
	Hata	10,312	36	,286			
	Toplam						
Safra %0,3	Deneklerarası	3,565	12	,297	37,521		4,3>0,1
	ölçüm	10,174	3	3,391			
	Hata	3,254	36	,090			
	Toplam						
Safra %0,5	Deneklerarası	15,112	12	1,259	14,024		4,3>0>1
	ölçüm	7,795	3	2,598			
	Hata	6,670	36	,185			
	Toplam						
Safra %1	Deneklerarası	9,424	12	,785	14,471		4,3>0,1
	ölçüm	12,502	3	4,167			
	Hata	10,367	36	,288			
	Toplam						

Çizelge 6’ da yer alan sonuçlar incelendiğinde kontrol, safra %0,3, safra %0,5 ve safra %1 gruplarındaki canlı hücre sayılarının 0, 1, 3 ve 4. saat dilimlerindeki ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. Farkın kaynağını belirlemek amacıyla uygulanan post hoc testi sonucunda kontrol grubunda 3 ve 4. saat dilimlerindeki canlı hücre sayılarının benzer; 0. ve 1. saat dilimlerine göre yüksek olduğunu ayrıca 1. saat dilimindeki canlı hücre sayısının da 0. saat dilimine göre yüksek olduğu sonucunu göstermektedir. Safra %0,3 ve safra %1 gruplarında ise 3. ve 4. saat dilimlerindeki canlı

hücre sayılarının benzer ve 0 ile 1. saat dilimlerindeki canlı hücre sayılarından yüksek olduğu belirlenmiştir. Diğer bir sonuçta ise safra %0,5 grubunda 3 ve 4. saat dilimlerindeki canlı hücre sayıları benzer iken 0. ve 1. saat dilimlerine göre yüksek olduğu, ayrıca 0. saat dilimindeki canlı hücre sayısının da 1. saat dilimine göre yüksek olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

4.4.6 Suşların hemolitik aktiviteleri

Probiyotik mikroorganizmalar güvenli olmalıdır, konak vücudunda jelatin sivilaşmasının yanı sıra hemolize neden olmamalıdır. Hemoliz ve jelatin hidrolizi, patojenik bakteriler arasında iki ana virülans faktörü olmaya devam etmektedir. Bakteriyel bir toksin olan hemolisin/sitolisin enterokok suşları tarafından salgılanan virülans faktörlerden biridir. Enterokoklar tarafından üretilen hemolisin insan, at, koyun ve tavşan eritrositlerine karşı hemolitik aktivite göstermektedir. Enterokoklarda hemolisin üretimini determine eden genler plazmid ya da kromozomal DNA üzerinde kodlu olabilmektedir. Hayvan model sistemleri ve insan enfeksiyonları üzerine yapılan çalışmalar hemolisin üretiminin enfeksiyon şiddetini arttırdığını göstermiştir, bu sebeple probiyotik olarak kullanılacak suşlarda hemolitik aktivite varlığı sorun oluşturmaktadır (Giridhara Upadhyaya ve ark., 2009; Koch ve ark., 2004; Morandi ve ark., 2006; Mundy ve ark., 2000; Yoğurtçu, 2011). Yapılan hemolitik aktivite testi sonucunda petrilerde zon oluşumu gözlenmemiş olduğundan tüm suşlar γ -hemolitik olarak değerlendirilmiştir. Hemolitik aktivite testi sonucundaki bazı örneklerdeki petri görüntüleri Şekil 4. 14' de belirtilmiştir.



Şekil 4. 15 Hemolitik aktivite testi sonucundaki bazı örneklerdeki petri görüntüleri (A: 10 numaralı izolat = *Lactococcus lactis*, B: 40 numaralı izolat = *Pediococcus acidilactici*, C: *Staphylococcus aureus* ATCC, D: *Escherichia coli* ATCC 25922)

Hussain ve ark., (2021) el yapımı (Artizanal) süt ürünlerinden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin patojenlere karşı probiyotik ve postbiyotik potansiyelinin değerlendirilmesi konulu çalışmasında *Weissella confusa* PL6, *Enterococcus faecium* PL7, *Lactobacillus delbrueckii* PL11 ve PL13 suşlarının hemolitik aktiviteye sahip olmadığı bildirmiştir (Hussain ve ark., 2021). Abushelaibi ve ark., (2017) deve sütünden izole ettikleri *Lactobacillus plantarum* M2 ve *L. plantarum* KO9 suşlarının kolonilerini çevreleyen kanlı agar plakaları üzerinde şeffaf veya yeşilimsi bir bölgenin oluşmamasından dolayı bu suşları γ -hemolitik veya hemolitik olmayan suşlar olarak sınıflandırmıştır (Abushelaibi ve ark., 2017). Huang ve ark., (2021) Çin’ deki süt ürünlerinden izole edilen probiyotik laktik asit bakterilerinin kısmi karakterizasyonunu araştırdıkları çalışmalarında izole ettikleri *Lb. plantarum* subsp. *plantarum*, *Lb. pentosus*, *Lb. fermentum*, *Lb. paracasei* subsp. *tolerans*, *Lb. pantheris*, *Lac. petauri*, *Str. Parasuis*, *Ent. Olivae* ve *Weissella para-mesenteroides* suşlarını hemolitik aktivite açısından taramıştır ve petrilerdeki kolonilerin çevresinde hiçbir bölge oluşmadığı veya yeşilimsi bir bölge oluşmadığını belirlemiş olup bu suşların hemolitik olmadıklarını veya γ -hemolitik olduklarını bildirmiştir (Huang ve ark., 2021).



5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Disk diffüzyon testi sonucuna göre kullanılmış olan eritromisin, tetrasiklin, kanamisin, vankomisin, gentamisin ve kloramfenikol antibiyotikleri arasından tüm suşlarda en çok direncin kanamisin antibiyotiğine, en az direncin ise eritromisin antibiyotiğine karşı olduğu tespit edilmiştir. Disk diffüzyon testi sonuçları Çizelge 4.3' te verilmiştir. MİK testi sonuçlarına vankomisin, amfisilin, penisilin-g ve streptomisin antibiyotikleri arasından tüm suşların dirençli olduğu antibiyotiğin streptomisin, en az direnç gösterilen antibiyotiğin ise amfisilin olduğu gözlenmiştir. MİK testi sonuçları Çizelge 4.4' te verilmiştir.

pH testi sonuçlarına göre suşlarda en fazla canlılığın pH:3.0'de 1. saatin sonunda olduğu tespit edilmişken, pH:2.0 ortamında 3. saatin sonunda hiçbir suşta canlılık tespit edilmemiştir. pH 2.0' de 1. saatin sonunda suşların yaklaşık olarak yarısı canlı bulunmuş ve en yüksek canlılığın eşek sütünden izole edilmiş 31 numaralı *Lactococcus lactis* MH9 suşunda olduğu belirlenmiştir. pH dirençlilik testi sonuçları Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de verilmiştir.

Suşların pepsine maruz bırakıldığı ortamdaki canlılıkları araştırıldığında en fazla canlılık pH:3.0 tamponunda 1. saatin sonunda görülmüş olup en yüksek canlılığın Muş Kaşarı-karışık (inek, koyun, keçi sütlerinden)'dan izole 44 numaralı *Pediococcus acidilactici* MH13 suşunda olduğu tespit edilmiştir. pH:2.0 tamponundaki pepsin uygulamasında 3. saatin bitiminde canlılık sıfır olarak ölçülmüştür. Tüm suşların pepsin direnç profilleri Şekil 4.9' da belirtilmiştir.

Pankreatin uygulamasında 4. saatin sonunda tüm suşlarda canlılık görülmüş olup en yüksek canlılığın 44 numaralı *Pediococcus acidilactici* MH13 suşunda olduğu en düşük canlılığın ise 26 numaralı *Weissella confusa* MH7 suşunda olduğu belirlenmiştir. Pankreatinin uygulandığı tüm saatler arasında en yüksek canlılık oranının 3. saatin sonunda olduğu gözlenmiştir. Sonuçlara ait veriler Şekil 4.10' da verilmiştir.

%0.3, %0.5 ve %1 olarak uygulanmış safra tuzu ortamlarının tüm saatlerinde suşlar canlı olarak tespit edilmiştir. En yüksek canlılık oranı %0.3' lük safra ortamında ölçülmüş olup en yüksek canlılık gösteren suş 36 numaralı *Pediococcus acidilactici* MH10 olarak belirlenmiştir. En düşük canlılık oranı ise safra tuzunun %1 olduğu ortamda tespit edilmiştir ve en düşük canlılık gösteren suş eşek sütünden izole edilen 29 numaralı

Lactococcus lactis MH8 olarak gözlenmiştir. Sonuçlara ait veriler Şekil 4.11-13’ de verilmiştir.

Bakteriyosin testinin sonucunda suşların incelenen indikatör mikroorganizmalara (*L. monocytogenes*, *M. luteus*, *S. typhimurium*, *E. coli* O157:H7, *P. acidolactici*, *L. lactis*, *L. sakeii*) karşı bakteriyosin üretimi tespit edilememiştir.

Yapılan hemolitik aktivite testi sonucunda hiçbir petride zon oluşumu gözlenmemiş olduğundan tüm suşlar γ -hemolitik olarak değerlendirilmiştir.

Yapılan testler sonucunda izole edilen suşların in vitro olarak istenen özelliklerin çoğuna sahip olduğu ve mevcut potansiyel probiyotik adayları olduğu tespit edilmiş olmakla birlikte, diğer probiyotik seçim kriterlerine göre suşların test edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

5.2 Öneriler

Bu çalışmada probiyotik özellikleri araştırılmak üzere yapılan *in-vitro* analizler ile suşların probiyotik sınıfına dahil edilmesi için önemli veriler elde edilmiş olmasına rağmen, probiyotik seçim kriterlerinin tümü için suşların taranması önerilmektedir.

Çalışmamızda izole edilen suşların fonksiyonel gıdaların ve geleneksel fermente gıda proseslerinin geliştirilmesinde kullanılabilecek potansiyel probiyotik adayları olduğu düşünüldüğünden, gelecekteki çalışmalarda bu özelliklerinin de araştırılması tavsiye edilmektedir.

Çalışmamızda izole ettiğimiz *Lactococcus garvieae* MH2 ve *Weissella confusa* (MH6 ve MH7) suşlarının yapılan literatür taramasında probiyotik özellik gösteren türleri olduğu gibi patojen olan türlerinin de varlığı tespit edilmiştir. Bu suşların ayrıntılı olarak çalışılması ve patojenite özelliği taşıyıp taşımadıklarının araştırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbaszadeh, S., Tavakoli, R., Sharifzadeh, A. and Shokri, H. 2015. Lactic acid bacteria as functional probiotic isolates for inhibiting the growth of *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. niger* and *Penicillium chrysogenum*, *Journal of Medical Mycology*, 25 (4), 263-7.
- Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N.P. and Ayyash, M. 2017. Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk, *LWT - Food Science and Technology*, 79, 316-325.
- Agheyisi, R. 2008. The probiotics market: Ingredients, supplements, foods, Report code: FOD035B, BCC Research, Wellesley, MA, USA.
- Ahn, Y.T., Kim, G.B., Lim, K.S., Baek, Y.J. and Kim, H.U. 2003. Deconjugation of bile salts by *Lactobacillus acidophilus* isolates, *International Dairy Journal*, 13 (4), 303-311.
- Ammor, M.S., Belén Flórez, A. and Mayo, B. 2007. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria, *Food Microbiology*, 24 (6), 559-570.
- Argyri, A.A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K.A., Tsakalidou, E., Nychas, G.J., Panagou, E.Z. and Tassou, C.C. 2013. Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests, *Food Microbiology*, 33 (2), 282-91.
- Armas, F., Camperio, C. and Marianelli, C. 2017. In vitro assessment of the probiotic potential of *Lactococcus lactis* LMG 7930 against ruminant mastitis-causing pathogens, *Plos One*, 12 (1), 1-13, e0169543.
- Bagchi, T. 2014. Traditional food & modern lifestyle: Impact of probiotics, *The Indian journal of medical research*, 140 (3), 333.
- Barbosa, J., Gibbs, P.A. and Teixeira, P. 2010. Virulence factors among enterococci isolated from traditional fermented meat products produced in the North of Portugal, *Food Control*, 21 (5), 651-656.
- Barros, C.P., Guimarães, J.T., Esmerino, E.A., Duarte, M.C.K., Silva, M.C., Silva, R., Ferreira, B.M., Sant'Ana, A.S., Freitas, M.Q. and Cruz, A.G. 2020. Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products, *Current Opinion in Food Science*, 32, 1-8.
- Bearth, A. and Hartmann, C. 2017. Consumers' Perception and Acceptance of Food Additives. in: Reference Module in Food Science, *Elsevier*, 1-5.
- Berthier, F. and Ehrlich, S.D. 1999. Genetic diversity within *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* and design of PCR primers for its detection using randomly amplified polymorphic DNA, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49 (3), 997-1007.
- Bin Masalam, M.S., Bahieldin, A., Alharbi, M.G., Al-Masaudi, S., Al-Jaouni, S.K., Harakeh, S.M. and Al-Hindi, R.R. 2018. Isolation, Molecular Characterization and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria in Saudi Raw and Fermented Milk, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 7970463.
- Bintsis, T. 2018. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics, *AIMS Microbiology*, 4 (4), 665-684.

- Bove, P., Gallone, A., Russo, P., Capozzi, V., Albenzio, M., Spano, G. and Fiocco, D. 2012. Probiotic features of *Lactobacillus plantarum* mutant strains, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96 (2), 431-41.
- Burns, A. and Rowland, I. 2000. Anti-carcinogenicity of probiotics and prebiotics, *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 1 (1), 13-24.
- Campbell-Platt, G. 1994. Fermented foods — a world perspective, *Food Research International*, 27 (3), 253-257.
- Canani, R.B., Di Costanzo, M., Leone, L., Bedogni, G., Brambilla, P., Cianfarani, S., Nobili, V., Pietrobelli, A. and Agostoni, C. 2011. Epigenetic mechanisms elicited by nutrition in early life, *Nutrition Research Reviews*, 24 (2), 198-205.
- Caplice, E. and Fitzgerald, G.F. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation, *International Journal of Food Microbiology*, 50 (1-2), 131-149.
- Carr, F.J., Chill, D. and Maida, N. 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey, *Critical Reviews in Microbiology*, 28 (4), 281-370.
- Caselli, M., Vaira, D., Cassol, F., Calò, G., Vaira, G., Papini, F. and Holton, J. 2012. Recombinant probiotics and their potential in human health, *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, 7 (2).
- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L. and Collins, J.K. 1998. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species, *Journal of Food Protection*, 61 (12), 1636-43.
- Chopin, A. 1993. Organization and regulation of genes for amino acid biosynthesis in lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Reviews*, 12 (1-3), 21-37.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2015. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twentysecond informational supplement. In: CLSI document M100S22. Clinical Laboratory Standard Institute, Wayne.
- Collado, M., Delgado, S., Maldonado, A. and Rodríguez, J. 2009. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR, *Letters in Applied Microbiology*, 48 (5), 523-528.
- Colombo, M., Todorov, S.D., Eller, M. and Nero, L.A. 2018. The potential use of probiotic and beneficial bacteria in the Brazilian dairy industry, *Journal of Dairy Research*, 85 (4), 487-496.
- Commane, D., Hughes, R., Shortt, C. and Rowland, I. 2005. The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 591 (1), 276-289.
- Coppola, R., Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Salzano, G. and Sorrentino, E. 2005. Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese, *Le Lait*, 85 (3), 193-204.
- Dabek, M., McCrae, S.I., Stevens, V.J., Duncan, S.H. and Louis, P. 2008. Distribution of β -glucosidase and β -glucuronidase activity and of β -glucuronidase gene gus in human colonic bacteria, *FEMS Microbiology Ecology*, 66 (3), 487-495.
- Danielsen, M., Simpson, P.J., O'Connor, E.B., Ross, R.P. and Stanton, C. 2007. Susceptibility of *Pediococcus* spp. to antimicrobial agents, *Journal of Applied Microbiology*, 102 (2), 384-9.

- Daud Khaled, A., Neilan, B., Henriksson, A. and Conway, P. 1997. Identification and phylogenetic analysis of *Lactobacillus* using multiplex RAPD-PCR, *FEMS Microbiology Letters*, 153 (1), 191-197.
- De Boever, P., Wouters, R., Verschaeve, L., Berckmans, P., Schoeters, G. and Verstraete, W. 2000. Protective effect of the bile salt hydrolase-active *Lactobacillus reuteri* against bile salt cytotoxicity, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53 (6), 709-714.
- de Melo Pereira, G.V., de Oliveira Coelho, B., Magalhaes Junior, A.I., Thomaz-Soccol, V. and Soccol, C.R. 2018. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria, *Biotechnology Advances*, 36 (8), 2060-2076.
- Delgado, S., O'sullivan, E., Fitzgerald, G. and Mayo, B. 2007. Subtractive screening for probiotic properties of *Lactobacillus* species from the human gastrointestinal tract in the search for new probiotics, *Journal of Food Science*, 72 (8), 310-315.
- Dellaglio, F., Felis, G.E. and Germond, J.-E. 2004. Should names reflect the evolution of bacterial species?, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54 (1), 279-281.
- Diosma, G., Romanin, D.E., Rey-Burusco, M.F., Londero, A. and Garrote, G.L. 2014. Yeasts from kefir grains: isolation, identification, and probiotic characterization, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30 (1), 43-53.
- Doncheva, N.I., Antov, G.P., Softova, E.B. and Nyagolov, Y.P. 2002. Experimental and clinical study on the hypolipidemic and antisclerotic effect of *Lactobacillus bulgaricus* strain GB N 1 (48), *Nutrition research*, 22 (4), 393-403.
- Du Plessis, E.M. and Dicks, L.M. 1995. Evaluation of random amplified polymorphic DNA (RAPD)-PCR as a method to differentiate *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus gallinarum*, *Lactobacillus gasseri*, and *Lactobacillus johnsonii*, *Current Microbiology*, 31 (2), 114-118.
- Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., Feeney, M., Flynn, S., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., O'Sullivan, G.C., Shanahan, F. and Collins, J.K. 2001. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73 (2), 386-392.
- El-Jeni, R., El Bour, M., Calo-Mata, P., Böhme, K., Fernández-No, I.C., Barros-Velázquez, J. and Bouhaouala-Zahar, B. 2016. In vitro probiotic profiling of novel *Enterococcus faecium* and *Leuconostoc mesenteroides* from Tunisian freshwater fishes, *Canadian Journal of Microbiology*, 62 (1), 60-71.
- EUCAST. 2019. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0. <http://www.eucast.org> (Erişim Tarihi: 21 Haziran 2021).
- Falsen, E., Pascual, C., Sjöden, B., Ohlén, M. and Collins, M.D. 1999. Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel *Lactobacillus* species from human sources: description of *Lactobacillus iners* sp. nov, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49 (1), 217-221.
- FAO and WHO. 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf (Erişim Tarihi: 20 Haziran 2021).

- Farjana, M., Hossain, K. and Rahman, S. 2020. Molecular analysis of the isolated probiotic microorganisms from yoghurt samples, distributed in Khulna and Chittagong City of Bangladesh, using RAPD marker, *Journal of Bioscience and Agriculture Research*, 25, 2075-2084.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap, *Evolution*, 39 (4), 783-791.
- Fleet, G. and Balia, R. 2006. The public health and probiotic significance of yeasts in foods and beverages. in: *Yeasts in food and beverages*, Springer, 381-397.
- Flórez, A.B., Delgado, S. and Mayo, B. 2005. Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria isolated from a cheese environment, *Canadian Journal of Microbiology*, 51 (1), 51-8.
- Fröhlich, J., König, H. and Claus, H. 2009. Rapid detection and identification with molecular methods. in: *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Springer, 429-449.
- Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animals, *Journal of Applied Microbiology*, 66, 131-139.
- Garrido, A., Gálvez, A. and Pulido, R. 2014. Antimicrobial resistance in *Enterococci*, *Journal of Infectious Diseases and Therapy*, 2014.
- Georgountzos, G., Michopoulos, C., Grivokostopoulos, C., Kolosaka, M., Vlassopoulou, N. and Lekkou, A. 2018. Infective Endocarditis in a Young Adult due to *Lactococcus lactis*: A Case Report and Review of the Literature, *Case Reports in Medicine*, 2018, 5091456.
- Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics, *The Journal of Nutrition*, 125 (6), 1401-1412.
- Giridhara Upadhyaya, P.M., Ravikumar, K.L. and Umapathy, B.L. 2009. Review of virulence factors of *Enterococcus*: an emerging nosocomial pathogen, *Indian Journal of Medical Microbiology*, 27 (4), 301-5.
- Hammes, W.P. 1990. Bacterial starter cultures in food production, *Food Biotechnology*, 4 (1), 383-397.
- Hammes, W.P. and Vogel, R.F. 1995. The genus *Lactobacillus*. in: *The genera of lactic acid bacteria*, volume 2, B.J.B. Wood, W.H. Holzapfel, Springer, US. Boston, MA, 19-54.
- Haukioja, A., Söderling, E. and Tenovu, J. 2008. Acid production from sugars and sugar alcohols by probiotic lactobacilli and bifidobacteria in vitro, *Caries Research*, 42 (6), 449-453.
- Haveenar, R. and In't Veld, J.H. 1992. Probiotics: A general view in lactic acid bacteria in health and disease. *Elsevier Applied Surface Science*, 1, 151–170.
- Heller, K.J. 2001. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73 (2), 374s-379s.
- Hofvendahl, K. and Hahn-Hägerdal, B. 2000. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources¹, *Enzyme and Microbial Technology*, 26 (2), 87-107.

- Holzapfel, W. 2003. *Enterococci in foods. Functional and safety aspects-Foreword*, Elsevier Science Bv Po Box 211, 1000 Ae Amsterdam, Netherlands.
- Holzapfel, W. 1997. Use of starter cultures in fermentation on a household scale, *Food Control*, 8 (5), 241-258.
- Holzapfel, W. and Wood, B. 1995. Lactic acid bacteria in contemporary perspective. in: *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, volume 2, B.J.B. Wood, W.H. Holzapfel, Springer, US. Boston, MA, 1-6.
- Horáčková, Š., Žaludová, K. and Plocková, M. 2012. Stability of selected lactobacilli in the conditions simulating those in the gastrointestinal tract, *Czech Journal of Food Sciences*, 29, 30-35.
- Hove, H., Nørgaard, H. and Mortensen, P.B. 1999. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract, *European Journal of Clinical Nutrition*, 53 (5), 339-50.
- Huang, L., Goda, H.A., Abdel-Hamid, M., Renye Jr, J.A., Yang, P., Huang, Z., Zeng, Q.-K. and Li, L. 2021. Partial characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Chinese dairy products, *International Journal of Food Properties*, 24 (1), 446-456.
- Hussain, N., Tariq, M., Saris, P.E.J. and Zaidi, A. 2021. Evaluation of the probiotic and postbiotic potential of lactic acid bacteria from artisanal dairy products against pathogens, *The Journal of Infection in Developing Countries*, 15 (1), 102-112.
- Jena, P.K., Trivedi, D., Thakore, K., Chaudhary, H., Giri, S.S. and Seshadri, S. 2013. Isolation and characterization of probiotic properties of Lactobacilli isolated from rat fecal microbiota, *Microbiology Immunology*, 57 (6), 407-16.
- Jensen, H., Grimmer, S., Naterstad, K. and Axelsson, L. 2012. In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria, *International Journal of Food Microbiology*, 153 (1), 216-222.
- Kailasapathy, K. and Rybka, S. 1997. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.-their therapeutic potential and survival in yogurt, *Australian Journal of Dairy Technology*, 52 (1), 28.
- Kamboj, K., Vasquez, A. and Balada-Llasat, J.-M. 2015. Identification and significance of *Weissella* species infections, *Frontiers in Microbiology*, 6.
- Kandler, O. 1983. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, 49 (3), 209-224.
- Karaaslan, A., Soysal, A., Kepenekli Kadayifci, E., Yakut, N., Ocal Demir, S., Akkoc, G., Atici, S., Sarmis, A., Ulger Toprak, N. and Bakir, M. 2016. *Lactococcus lactis* spp *lactis* infection in infants with chronic diarrhea: two cases report and literature review in children, *Journal of Infection in Developing Countries*, 10 (3), 304-7.
- Kim, H., Shin, M., Ryu, S., Yun, B., Oh, S., Park, D.-J. and Kim, Y. 2021a. Evaluation of probiotic characteristics of newly isolated lactic acid bacteria from dry-aged hanwoo beef, *Food Science of Animal Resources*, 41 (3), 468-480.
- Kim, S., Hong, S.P. and Lim, S.D. 2021b. Physiological characteristics and anti-diabetic effect of *Pediococcus pentosaceus* KI62, *Food Science of Animal Resources*, 41 (2), 274-287.
- Kıran, F. and Osmanağaoğlu, Ö. 2011. Laktik asit bakterilerinin (LAB) identifikasyonunda/tiplendirmesinde kullanılan moleküler yöntemler, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 27 (1), 62-74.

- Kıran, F. and Osmanagaoğlu, Ö. 2012. Laktik asit bakterilerinin probiyotik olarak kullanımı, *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 26 (4), 60-67.
- Koch, S., Hufnagel, M., Theilacker, C. and Huebner, J. 2004. Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities, *Vaccine*, 22 (7), 822-830.
- Koirala, S. and Anal, A.K. 2021. Probiotics-based foods and beverages as future foods and their overall safety and regulatory claims, *Future Foods*, 3, 100013.
- Koluman, A., Akan, L. and Cakiroglu, F. 2009. Occurrence and antimicrobial resistance of enterococci in retail food, *Food Control*, 20, 281-283.
- Kročko, M., Čanigová, M., Duckova, V., Artimova, A., Bezekova, J. and Poston, J. 2011. Antibiotic resistance of *Enterococcus* species isolated from raw foods of animal origin in South West part of Slovakia, *Czech Journal of Food Sciences*, 29 (6), 654-659.
- Kumar, M., Nagpal, R., Kumar, R., Hemalatha, R., Verma, V., Kumar, A., Chakraborty, C., Singh, B., Marotta, F. and Jain, S. 2012. Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases, *Experimental Diabetes Research*, 2012.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets, *Molecular Biology and Evolution*, 33 (7), 1870-4.
- Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S. and von Wright, A., 2011, Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects, Fourth Edition, *CRC Press*, Boca Raton, 1-15.
- Leblond-Bourget, N., Philippe, H., Mangin, I. and Decaris, B. 1996. 16S rRNA and 16S to 23S internal transcribed spacer sequence analyses reveal inter-and intraspecific *Bifidobacterium* phylogeny, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46 (1), 102-111.
- Lee, H., Yoon, H., Ji, Y., Kim, H., Park, H., Lee, J., Shin, H. and Holzapfel, W. 2011. Functional properties of *Lactobacillus* strains isolated from kimchi, *International Journal of Food Microbiology*, 145 (1), 155-61.
- Leroy, F. and De Vuyst, L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry, *Trends in Food Science & Technology*, 15 (2), 67-78.
- Lertworapreecha, N., Poonsuk, K. and Chalermchakit, T. 2011. Selection of potential *Enterococcus faecium* isolated from Thai native chicken for probiotic use according to the in vitro properties, *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 33 (1).
- Lilly, D.M. and Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms, *Science*, 147 (3659), 747-748.
- Liong, M.T., Lee, B.H., Choi, S.B., Lew, L.C., Lau, A.S.Y. and Daliri, B.M.E., 2015. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics. In: Venema, K., Carmo, P.A., *Probiotics and Prebiotics*, 429-447.
- Liu, J., Wang, Y., Li, A., Iqbal, M., Zhang, L., Pan, H., Liu, Z. and Li, J. 2020. Probiotic potential and safety assessment of *Lactobacillus* isolated from yaks, *Microbial Pathogenesis*, 145, 104213.
- Ljungh, A., and Wadström, T. 2006. Lactic acid bacteria as probiotics, *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 7(2), 73-89.

- Mafra, J.F., Cruz, A.I.C., Santana, T.S.d., Ferreira, M.A., Araujo, F.M. and Evangelista Barreto, N.S. 2020. Probiotic characterization of a commercial starter culture used in the fermentation of sausages, *Food Science and Technology*, 41(1) 240-246.
- Maragkoudakis, P., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B. and Tsakalidou, E. 2006. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products, *International Dairy Journal*, 16, 189-199.
- Marchesi, J.R., Adams, D.H., Fava, F., Hermes, G.D., Hirschfield, G.M., Hold, G., Quraishi, M.N., Kinross, J., Smidt, H. and Tuohy, K.M. 2016. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier, *Gut*, 65 (2), 330-339.
- Marco, M.L., Pavan, S. and Kleerebezem, M. 2006. Towards understanding molecular modes of probiotic action, *Current Opinion in Biotechnology*, 17 (2), 204-210.
- Masood, M.I., Qadir, M.I., Shirazi, J.H. and Khan, I.U. 2011. Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings, *Critical Reviews in Microbiology*, 37 (1), 91-8.
- Mathur, H., Beresford, T.P. and Cotter, P.D. 2020. Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates, *Nutrients*, 12 (6), 1679.
- Modzelewska-Kapituła, M., Kłębukowska, L., Kornacki, K. and Łukaszuk, W. 2008. Characterization of probiotic properties of *Lactobacillus* strains, *Polish Journal of Natural Sciences*, 23 (2), 366-373.
- Momose, H. 1979. Toxicological studies on *Bifidobacterium longum* BB-536, *Ouyou Yakuri*, 17, 881-887.
- Moradi, M., Kousheh, S.A., Almasi, H., Alizadeh, A., Guimarães, J.T., Yılmaz, N. and Lotfi, A. 2020. Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19 (6), 3390-3415.
- Morandi, S., Brasca, M., Andrighetto, C., Lombardi, A. and Lodi, R. 2006. Technological and molecular characterisation of *Enterococci* isolated from north-west Italian dairy products, *International Dairy Journal*, 16 (8), 867-875.
- Moreno, M.F., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E. and De Vuyst, L. 2006. The role and application of *Enterococci* in food and health, *International Journal of Food Microbiology*, 106 (1), 1-24.
- Mundy, L., Sahm, D. and Gilmore, M. 2000. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, 13 (4), 513.
- Muñoz-Quezada, S., Chenoll, E., Vieites, J.M., Genovés, S., Maldonado, J., Bermúdez-Brito, M., Gomez-Llorente, C., Matencio, E., Bernal, M.J., Romero, F., Suárez, A., Ramón, D. and Gil, A. 2013. Isolation, identification and characterisation of three novel probiotic strains (*Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036) from the faeces of exclusively breast-fed infants, *British Journal of Nutrition*, 109 (2), 51-62.
- Müller, V. 2001. Bacterial fermentation, *Encyclopedia of Life Sciences*, 0001415.
- Naidu, A.S., Bidlack, W.R. and Clemens, R.A. 1999. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB), *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39 (1), 13-126.
- Nath, S., Roy, M., Sikidar, J. and Deb, B. 2020a. Evaluation of the probiotic potential of *Weissella Confusa* isolated from traditional fermented rice, Research Square.

- Nath, S., Sikidar, J., Roy, M. and Deb, B. 2020b. In vitro screening of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented milk product, *Food Quality and Safety*, 4 (4), 213-223.
- Neri-Numa, I.A. and Pastore, G.M. 2020. Novel insights into prebiotic properties on human health: A review, *Food Research International*, 131, 108973.
- Nguyen, T., Kang, J. and Lee, M. 2007. Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects, *International Journal of Food Microbiology*, 113 (3), 358-361.
- O'Sullivan, D.J. 2000. Methods for analysis of the intestinal microflora, *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 1 (2), 39-50.
- Olsen, G.J., Woese, C.R. and Overbeek, R. 1994. The winds of (evolutionary) change: breathing new life into microbiology, *Journal of Bacteriology*, 176 (1), 1.
- Osmanagaoglu, O., Kiran, F. and Ataoglu, H. 2010. Evaluation of in vitro probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* OZF isolated from human breast milk, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2 (3), 162-74.
- Park, C., Youn, M., Jung, Y.-M., Kim, H., Jeong, Y., Lee, H.-K., Kim, H.O., Lee, I., Lee, S., Kang, K. and Park, Y.-H. 2008. New functional probiotic *Lactobacillus sakei* Probio 65 alleviates atopic symptoms in the mouse, *Journal of Medicinal Food*, 11, 405-412.
- Parker, R. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story, *Animal Nutrition Health*, 29, 4-8.
- Patil, M., Pal, A., Anand, T. and Ramana, K. 2010. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from curd and cucumber, *Indian Journal of Biotechnology*, 9.
- Pundir, R.K., Rana, S., Kashyap, N. and Kaur, A. 2013. Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from food samples: an in vitro study, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3 (3), 85.
- Raha, A.R., Ross, E., Yusoff, K., Manap, M.Y. and Ideris, A. 2002. Characterisation and molecular cloning of an erythromycin resistance plasmid of *Lactococcus lactis* isolated from chicken cecum, *Journal of Biochemistry Molecular Biology and Biophysics*, 6 (1), 7-11.
- Ramalho, J., Soares, M., Spiazzi, C., Bicca, D., Soares, V., Pereira, J., Silva, W., Sehn, C. and Cebin, F. 2019. In vitro probiotic and antioxidant potential of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* LL95 and its effect in mice behaviour, *Nutrients*, 11, 901.
- Ray, B. 1992. The need for food biopreservation, *Food Biopreservatives of Microbial Origin*, 19.
- Reis, N.A., Saraiva, M.A., Duarte, E.A., de Carvalho, E.A., Vieira, B.B. and Evangelista-Barreto, N.S. 2016. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from human milk, *Journal of Applied Microbiology*, 121 (3), 811-20.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Molecular Biology and Evolution*, 4 (4), 406-425.
- Salminen, S. 1998. Prebiotic substrates and lactic acid bacteria, *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Fundamental Aspects*, 343-358.

- Salminen, S. 1996. Uniqueness of probiotic strains, *Newsletter-International Dairy Federation*, 18-18.
- Salminen, S. and von Wright, A. 1998. Current probiotics-safety assured?, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 10 (2), 68-77.
- Saxelin, M. 1997. *Lactobacillus* GG—a human probiotic strain with thorough clinical documentation, *Food Reviews International*, 13 (2), 293-313.
- Schaafsma, G. 1996. State of the art concerning probiotic strains in milk products, *IDF Nutr Newsl*, 5, 23-24.
- Schrezenmeir, J. and de Vrese, M. 2001. Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73 (2), 361-364.
- Schultz, M. 2008. Clinical use of *E. coli* Nissle 1917 in inflammatory bowel disease, *Inflammatory Bowel Diseases*, 14 (7), 1012-1018.
- Shah, H. and Collins, M. 1989. Proposal to restrict the genus *Bacteroides* (Castellani and Chalmers) to *Bacteroides fragilis* and closely related species, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 39 (1), 85-87.
- Sharma, A., Lavania, M., Singh, R. and Lal, B. 2021. Identification and probiotic potential of lactic acid bacteria from camel milk, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28 (3), 1622-1632.
- Sharma, C., Gulati, S., Thakur, N., Singh, B.P., Gupta, S., Kaur, S., Mishra, S.K., Puniya, A.K., Gill, J.P.S. and Panwar, H. 2017. Antibiotic sensitivity pattern of indigenous *Lactobacilli* isolated from curd and human milk samples, *3 Biotech*, 7 (1), 53.
- Shewale, R.N., Sawale, P.D., Khedkar, C. and Singh, A. 2014. Selection criteria for probiotics: a review, *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, 9.
- Singla, V., Mandal, S., Sharma, P., Anand, S. and Tomar, S.K. 2018. Antibiotic susceptibility profile of *Pediococcus* spp. from diverse sources, *3 Biotech*, 8 (12), 489.
- Smet, I.D., Hoorde, L.V., Saeyer, N.D., Woestyne, M.V. and Verstraete, W. 1994. In vitro study of bile salt hydrolase (BSH) activity of BSH isogenic *Lactobacillus plantarum* 80 strains and estimation of cholesterol lowering through enhanced BSH activity, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 7 (6), 315-329.
- Soccol, C.R., Vandenberghe, L.P.d.S., Spier, M.R., Medeiros, A.B.P., Yamaguishi, C.T., Lindner, J.D.D., Pandey, A. and Thomaz-Soccol, V. 2010. The potential of probiotics: a review, *Food Technology and Biotechnology*, 48 (4), 413-434.
- Sornsenee, P., Singkhamanan, K., Sangkhathat, S., Saengsuwan, P. and Romyasamit, C. 2021. Probiotic properties of *Lactobacillus* species isolated from fermented palm sap in Thailand, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, PMID: 33595830
- Strompfová, V., Lauková, A. and Ouwehand, A.C. 2004. Selection of enterococci for potential canine probiotic additives, *Veterinary Microbiology*, 100 (1-2), 107-14.
- Swenson, J.M., Facklam, R.R. and Thornsberry, C. 1990. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34 (4), 543-549.
- Şengün, İ.Y. 2011. Lactic acid bacteria used in the production of fermented foods, *Biological Diversity and Conservation*, 4 (1), 42-53.

- Tamura, K., Nei, M. and Kumar, S. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101 (30), 11030.
- Tankovic, J., Leclercq, R. and Duval, J. 1993. Antimicrobial susceptibility of *Pediococcus* spp. and genetic basis of macrolide resistance in *Pediococcus acidilactici* HM3020, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 37 (4), 789.
- Temmerman, R., Pot, B., Huys, G. and Swings, J. 2003. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products, *International Journal of Food Microbiology*, 81 (1), 1-10.
- Thilakarathna, W.W., Langille, M.G. and Rupasinghe, H.V. 2018. Polyphenol-based prebiotics and synbiotics: potential for cancer chemoprevention, *Current Opinion in Food Science*, 20, 51-57.
- Turchi, B., Mancini, S., Fratini, F., Pedonese, F., Nuvoloni, R., Bertelloni, F., Ebani, V.V. and Cerri, D. 2013. Preliminary evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Italian food products, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29 (10), 1913-1922.
- Valdramidis, V.P. and Koutsoumanis, K.P. 2016. Challenges and perspectives of advanced technologies in processing, distribution and storage for improving food safety, *Current Opinion in Food Science*, 12, 63-69.
- Vinderola, C.G. and Reinheimer, J. 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria: Comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance, *Food Research International*, 36, 895-904.
- Vizoso Pinto, M.G., Franz, C.M., Schillinger, U. and Holzapfel, W.H. 2006. *Lactobacillus* spp. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products, *International Journal of Food Microbiology*, 109 (3), 205-14.
- Walther, C., Rossano, A., Thomann, A. and Perreten, V. 2008. Antibiotic resistance in *Lactococcus* species from bovine milk: Presence of a mutated multidrug transporter mdt(A) gene in susceptible *Lactococcus garvieae* strains, *Veterinary Microbiology*, 131 (3), 348-357.
- Wedajo, B. 2015. Lactic acid bacteria: benefits, selection criteria and probiotic potential in fermented food, *Journal of Probiotics & Health*, 03 (02).
- Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers, *Nucleic Acids Research*, 18 (24), 7213-7218.
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Research*, 18 (22), 6531-6535.
- Woese, C.R. 1987. Bacterial evolution, *Microbiological Reviews*, 51 (2), 221.
- Wolf, B., Garleb, K., Ataya, D. and Casas, I. 1995. Safety and tolerance of *Lactobacillus reuteri* in healthy adult male subjects, *Microbial Ecology in Health and Disease*, 8 (2), 41-50.
- Wood, B.J.B and Holzapfel, W.H. 1995. The genera of lactic acid bacteria, The genera of lactic acid bacteria, *Springer*, Boston MA, ISBN: 978-1-4613-7666-8

- Xia, A.-N., Meng, X.-S., Tang, X.-J., Zhang, Y.-Z., Lei, S.-M. and Liu, Y.-G. 2021. Probiotic and related properties of a novel lactic acid bacteria strain isolated from fermented rose jam, *LWT*, 136, 110327.
- Yang, J., Cao, Y., Cai, Y. and Terada, F. 2010. Natural populations of lactic acid bacteria isolated from vegetable residues and silage fermentation, *Journal of Dairy Science*, 93 (7), 3136-3145.
- Yoğurtçu, N.N. (2011). “Tulum peynirinden enterokok suçlarının izolasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi”, Yüksek lisans tezi, *SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, 70.
- Yuasa, M., Shimada, A., Matsuzaki, A., Eguchi, A. and Tominaga, M. 2021. Chemical composition and sensory properties of fermented citrus juice using probiotic lactic acid bacteria, *Food Bioscience*, 39, 100810.
- Zarazaga, M., Sáenz, Y., Portillo, A., Tenorio, C., Ruiz-Larrea, F., Del Campo, R., Baquero, F. and Torres, C. 1999. In vitro activities of ketolide HMR3647, macrolides, and other antibiotics against *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, and *Pediococcus* isolates, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43 (12), 3039.
- Zendeboodi, F., Khorshidian, N., Mortazavian, A.M. and da Cruz, A.G. 2020. Probiotic: conceptualization from a new approach, *Current Opinion in Food Science*, 32, 103-123.
- Zhou, J., Shu, Q., Rutherfurd, K., Prasad, J., Birtles, M., Gopal, P. and Gill, H. 2000. Safety assessment of potential probiotic lactic acid bacterial strains *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lb. acidophilus* HN017, and *Bifidobacterium lactis* HN019 in BALB/c mice, *International Journal of Food Microbiology*, 56 (1), 87-96.
- Zhou, J.S., Pillidge, C.J., Gopal, P.K. and Gill, H.S. 2005. Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains, *International Journal of Food Microbiology*, 98 (2), 211-7.
- Zoumpopoulou, G., Pot, B., Tsakalidou, E. and Papadimitriou, K. 2017. Dairy probiotics: Beyond the role of promoting gut and immune health, *International Dairy Journal*, 67, 46-60.
- Zucko, J., Starcevic, A., Diminic, J., Oros, D., Mortazavian, A.M. and Putnik, P. 2020. Probiotic – friend or foe?, *Current Opinion in Food Science*, 32, 45-49.

EKLER

EK-1 Besiortamları

MRS (deMan Rogosa Sharpe) Besiyeri

<u>Bileşen</u>	<u>Miktar (g/L)</u>
Kazein pepton	10
Et ekstraktı	8
Maya ekstraktı	4
Glukoz	20
Dipotasyum hidrojenfosfat	2
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5
MnSO ₄ .4H ₂ O	0.2
Tween 80	1
Triamonyum sitrat	2
Sodyum asetat	5
pH: 6.8 ± 0.2	

TGE (Trypton, Glukoz, Maya Ekstraktı) Besiyeri

<u>Bileşen</u>	<u>Miktar (g/L)</u>
Trypton	10
Glukoz	10
Maya ekstraktı	10
Tween 80	1
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.05
MnSO ₄ .4H ₂ O	0.05
pH: 6.8 ± 0.2	

TSA (Tryptic Soy Agar) Besiyeri

Bileşen	Miktar (g/L)
Kazein pepton	15
Soya pepton	5
Sodyum klorür	5
Agar-agar	15
pH: 7.3 ± 0.2	

Besiyeri içerikleri uygun miktarda distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Yarı katı besiyeri için %0.75, katı besiyeri için ise %1.5 agar ilave edilmiştir. 121°C’ de 15 dakika süresince sterilizasyon işlemi uygulanmıştır.



EK-2 Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 13.10.2020-E.11836



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu

Sayı : E-10879717-050.01.04-11836
Konu : Kurul Kararı 9-25

13.10.2020

TEKNİK BİLİMLER MESLEK YÜKSEKOKULU MÜDÜRLÜĞÜNE

Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulunun 12.10.2020 tarihli ve 9 sayılı toplantısında alınan 25 numaralı kararı ve değerlendirme formu yazımız ekinde sunulmuştur.
Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Prof. Dr. Cevad SELAM
Kurul Başkanı

Ek:

- 1- Kurul Kararı (1 Sayfa)
- 2- Değerlendirme Formu (1 Sayfa)

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu: BESN37V3A
Adres: Muş Alparslan Üniversitesi Külliyesi 49250- MUŞ
Telefon: (0436) 249 49 49 Faks: (0436) 249 10 22
E-Posta: genel.sektörcelik@alparslan.edu.tr İnternet Adresi: www.alparslan.edu.tr
Kıp Adresi: alparslanuniversitesi@hs01.kcp.tr

Belge Doğrulama: <https://cbys.alparslan.edu.tr/Dogrula/>
Belge için: Yusuf ARTUÇ (Yusuf
ERBAY Vekaletiyle)
Unvanı: Bilgisayar İşletmeni
Tel No: (436) 249 49 49

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Evrak Tarih ve Sayısı: 13.10.2020-11770

T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA VE YAYIN ETİĞİ KURULU

Toplantı Tarihi: 12.10.2020	Toplantı Sayısı: 9	Karar Sayısı: 25
Ek-1 Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu, Kurul Başkanı Prof. Dr. Cevad SELAM başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararı almıştır. KARAR-25: Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Müdürlüğünün 25.09.2020 tarihli ve E.10947 sayılı yazısı okundu ve ekleri incelendi. Yapılan incelemeler sonucunda; Üniversitemiz Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü'nde görev yapmakta Dr. Öğr. Üyesi Harun ÖNLÜ'nün sorumlu araştırmacısı olduğu "Farklı Kaynaklardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi" konulu araştırması Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu tarafından uygun görülmüş olup, durumunun Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Müdürlüğüne bildirilmesine, Oy birliği ile karar verildi.		
BAŞKAN (e-imzalıdır) Prof. Dr. Cevad SELAM Kurul Başkanı		
UYE (e-imzalıdır) Prof. Dr. Harun POLAT Fen Edebiyat Fakültesi Öğr. Üyesi	UYE (e-imzalıdır) Doç. Dr. Hanifi KÖRKOCA SBF Öğr. Üyesi	UYE (e-imzalıdır) Doç. Dr. Binyamin SARIKAYA Eğitim Fakültesi Öğr. Üyesi
UYE (e-imzalıdır) Doç. Dr. Sedat KARDAŞ Fen Edebiyat Fakültesi Öğr. Üyesi	UYE (e-imzalıdır) Doç. Dr. Mehmet SALMAZZEM İslami İlimler Fakültesi Öğr. Üyesi	UYE (e-imzalıdır) Dr. Öğr. Üyesi Demet DENİZ YILMAZ Eğitim Fakültesi Öğr. Üyesi
UYE (e-imzalıdır) Dr. Öğr. Üyesi Recep YILMAZ İİF Öğr. Üyesi	UYE (e-imzalıdır) Dr. Öğr. Üyesi Hasan TASALI SBF Öğr. Üyesi	

1 / 1

MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA VE YAYIN ETİK KURULU DEĞERLENDİRME FORMU

Ek-2

Araştırmanın Başlığı:	"Farklı Kaynaklardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi" adlı çalışma.
Başvuru Formunun Etik Kurula geldiği tarih:	25.09.2020
Başvuru Formunun Etik Kurulda incelendiği tarih:	30.09.2020
Karar tarihi	12.10.2020

SONUÇ

1.	☒ Kabul
2.	☐ Düzeltme gereklidir: Etik sorun olabilecek sorular/maddeler, süreçler ya da unsurlar bulunmaktadır. Açıklama:
3.	☐ Red Gerekçe, Görüş, Tavsiye ve Açıklamalar:

Başvuru dosyasının incelenmesinde hazır bulunan ve araştırmayla doğrudan veya dolaylı olarak ilişkisi bulunmayan Etik Kurul başkan ve üyelerinin ad soyad ve imzaları.

Başkan
(e-imzalıdır)
Prof. Dr. Cevat SELAM

Üye
(e-imzalıdır)
Prof. Dr. Harun POLAT

Üye
(e-imzalıdır)
Doç. Dr. Hamit KÖRKOCA

Üye
(e-imzalıdır)
Doç. Dr. Binyamin SARIKAYA

Üye
(e-imzalıdır)
Doç. Dr. Sedat KARDAŞ

Üye
(e-imzalıdır)
Doç. Dr. Mehmet SALMAZZEM

Üye
(e-imzalıdır)
Dr. Öğr. Üyesi Demet DENİZ YILMAZ

Üye
(e-imzalıdır)
Dr. Öğr. Üyesi Recep YILMAZ

Üye
(e-imzalıdır)
Dr. Öğr. Üyesi Hasan TASALI

EK-3 Tampon ve Çözeltiler**PBS (Fosfat Tampon Solüsyonu)**

Bileşen	Miktar (g/L)
NaCl	2
Na ₂ HPO ₄	0.144
KH ₂ PO ₄	0.024
pH:7.4 ± 0.2	

4

Kristal Viyole stok çözeltisi

Kristal Violet	1 g
Etanol	%95
dH ₂ O	100 mL' ye tamamlanır

Bazik Fuksin stok çözeltisi

Bazik fuksin	3 g
Etanol	%95
dH ₂ O	100 mL' ye tamamlanır

İyot çözeltisi

İyot	1 g
Potasyum İyodür	2 g
Sodyum karbonat %5	60 mL
dH ₂ O	140 mL

Tris-Borik Asit EDTA Tamponu (1X) (pH 8.3)

Tris	10.8 g
Borik asit	5.5 g
EDTA	0.94 g
Distile su	1000ml

Yükleme boyası (Loading die)

Brom fenol blue	0.25 g
Sakkaroz	40 g
Distile su	100 mL

İçerik 100 mL' de çözüldükten sonra 0.22 µm çaplı membran filtreden geçirilmiş ve buzdolabı ısısında saklanmıştır.

Etidyum Bromit çözeltisi

Etidyum Bromit	1 g
Distile su	100 ml

İçerik 100 mL' de çözüldükten sonra 0.22 µm çaplı membran filtreden geçirilmiş ve buzdolabı ısısında saklanmıştır.

%0.7' lik agaroz jel

Agaroz	0.7
1X TBE	100 mL
EtBr	4 µm

Spheroblast Tamponu

Sükroz	10
Lizozim	2
RNaz A	0.4

25 mM Tris (pH: 8.4)

25 Mm EDTA (pH: 8)

Bu bileşenler çözülerek 0.22 µm çaplı membran filtreden geçirilerek -20° C' de stok olarak saklanır.

Lizis Tampon 1

%5 SDS çözeltisi

Lizis Tampon 2

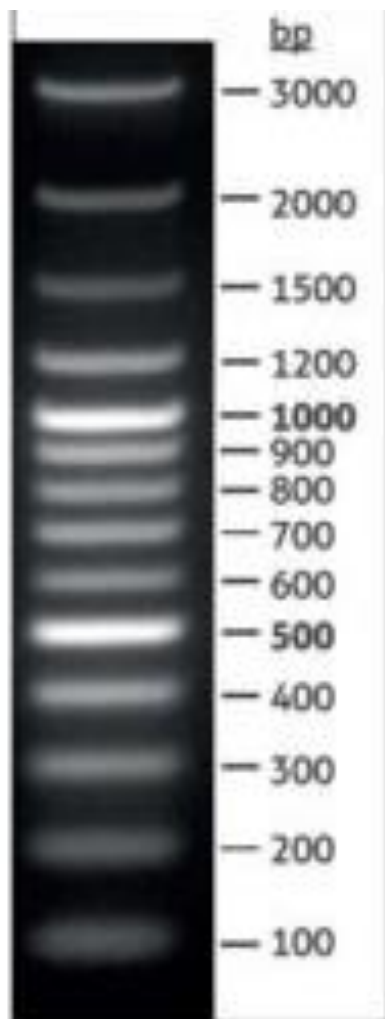
5 M NaCl çözeltisi

N3 Tamponu

5 M Sodyum asetat	60
Asetik asit	11.5
Distile su	28.5

EK-4 Markörler

Gen-100 DNA Ladder 100-3000 bp LC



EK-5

Ek 5A. *Lactobacillus sakei* MH1 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequence

NCBI Blast:Nucleotide Sequence

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diger yer işaretleri Okuma listesi

Job Title Nucleotide Sequence

RID COWMEJH8013 Search expires on 06-10 15:49 pm Download All

Program BLASTN Citation

Database nt See details

Query ID lcl|Query_42549

Description None

Molecule type dna

Query Length 1181

Other reports Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity E value Query Coverage

to to to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download Select columns Show 10

select all 10 sequences selected

GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Lactobacillus sakei DNA complete genome strain: LK-145	Latilactobacillus sakei	1927	9591	98%	0.0	96.66%	19504	
Lactobacillus sakei strain 1786.16S ribosomal DNA gene, partial sequence	Latilactobacillus sakei	1921	1021	98%	0.0	96.58%	148	

Feedback

Aramak için buraya yazın

24°C Güneşli 10:51 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequence

NCBI Blast:Nucleotide Sequence

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diger yer işaretleri Okuma listesi

Job Title Nucleotide Sequence

RID COWMEJH8013 Search expires on 06-10 15:49 pm Download All

Program BLASTN Citation

Database nt See details

Query ID lcl|Query_42549

Description None

Molecule type dna

Query Length 1181

Other reports Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity E value Query Coverage

to to to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Reports Lineage Organism Taxonomy

10 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Latilactobacillus sakei	firmicutes	1927	10	Latilactobacillus sakei hits

Feedback

Aramak için buraya yazın

24°C Güneşli 10:51 9.06.2021

Ek 5B. *Lactococcus garvieae* MH2 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequence x NCBI Blast:Nucleotide Sequence x NCBI Blast:Nucleotide Sequence x +

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diger yer işaretleri Okuma listesi

Job Title Nucleotide Sequence

RID COWTETE7016 Search expires on 06-10 15:52 pm
[Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lcl|Query_57007

Description None

Molecule type dna

Query Length 1171

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude
Type common name, binomial, taxid or group name
[+ Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download [New](#) Select columns Show 10

☒ select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [New](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Lactococcus garvieae strain 1158 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus garvieae	2039	2039	100%	0.0	97.96%	1446	
Lactococcus garvieae strain 1157 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus garvieae	2039	2039	100%	0.0	97.96%	1446	

Aramak için buraya yazın

24°C Güneşli 10:53 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequence x NCBI Blast:Nucleotide Sequence x NCBI Blast:Nucleotide Sequence x +

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diger yer işaretleri Okuma listesi

Job Title Nucleotide Sequence

RID COWTETE7016 Search expires on 06-10 15:52 pm
[Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lcl|Query_57007

Description None

Molecule type dna

Query Length 1171

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude
Type common name, binomial, taxid or group name
[+ Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments **Taxonomy**

Reports Lineage **Organism** Taxonomy

10 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Lactococcus	firmicutes		10	
Lactococcus garvieae	firmicutes	2039	8	Lactococcus garvieae hits

Aramak için buraya yazın

24°C Güneşli 10:54 9.06.2021

Ek 5C. *Lactococcus lactis* MH3 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against a database of sequences. NCBI Blast: Seq4 [organism=Lactococcus] x NCBI Blast: Seq4 [organism=Lactococcus] x +

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diger yer işaretleri Okuma listesi

[Edit Search](#) [Save Search](#) [Search Summary](#) [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

Job Title: Seq4 [organism=Lactococcus lactis subsp. cremoris]...

RID: COWYK779016 Search expires on 06-10 15:54 pm [Download All](#)

Program: BLASTN [Citation](#)

Database: nt [See details](#)

Query ID: Id|Query_36617

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1151

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism: only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions [Graphic Summary](#) [Alignments](#) [Taxonomy](#)

Sequences producing significant alignments [Download](#) [Select columns](#) [Show](#) 10

☒ select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒ Lactococcus lactis strain CE0.6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis	1965	1965	99%	0.0	97.56%	1240	MH899229.1
☒ Lactococcus lactis strain Unkn111 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis	1960	1960	99%	0.0	97.48%	1287	KX884788.1
☒ Lactococcus lactis subsp. lactis strain CE1.9 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis subsp. lactis	1956	1956	99%	0.0	97.47%	1236	MH899229.1

Aramak için buraya yazın

24°C Güneşli 10:56 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against a database of sequences. NCBI Blast: Seq4 [organism=Lactococcus] x NCBI Blast: Seq4 [organism=Lactococcus] x +

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diger yer işaretleri Okuma listesi

[Edit Search](#) [Save Search](#) [Search Summary](#) [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

Job Title: Seq4 [organism=Lactococcus lactis subsp. cremoris]...

RID: COWYK779016 Search expires on 06-10 15:54 pm [Download All](#)

Program: BLASTN [Citation](#)

Database: nt [See details](#)

Query ID: Id|Query_36617

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1151

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism: only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

[Filter](#) [Reset](#)

[Descriptions](#) [Graphic Summary](#) [Alignments](#) **[Taxonomy](#)**

Reports [Lineage](#) [Organism](#) [Taxonomy](#)

10 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Lactococcus	firmicutes		10	
Lactococcus lactis	firmicutes	1965	7	Lactococcus lactis hits
Lactococcus lactis subsp. lactis	firmicutes	1956	3	Lactococcus lactis subsp. lactis hits

Aramak için buraya yazın

24°C Güneşli 10:57 9.06.2021

Ek 5D. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* MH4 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against a database of sequences. NCBI Blast:Seq4 [organism=Lacti...]

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diğer yer işaretleri Okuma listesi

[Edit Search](#) [Save Search](#) [Search Summary](#) [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

Job Title Seq4 [organism=Lactococcus lactis subsp. cremoris]...

RID COX01R03013 Search expires on 06-10 15:55 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lclQuery_31851

Description None

Molecule type dna

Query Length 1110

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[Add organism](#)

Percent Identity E value Query Coverage

to to to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions [Graphic Summary](#) [Alignments](#) [Taxonomy](#)

Sequences producing significant alignments [Download](#) [Select columns](#) [Show](#) 10

☒ select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Lactococcus lactis subsp. cremoris culture-collection IMAU-80692 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus cremoris	1855	1855	100%	0.0	96.59%	1462	HM058872.1
Lactococcus lactis subsp. lactis gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: MJK16	Lactococcus lactis subsp. lactis	1855	1855	100%	0.0	96.59%	1421	AB494737.1
Lactococcus lactis subsp. cremoris strain IMAU50150 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus cremoris	1855	1855	100%	0.0	96.59%	1460	FJ74

Aramak için buraya yazın

24°C Güneşli 10:58 9.06.2021

BLAST® » blastn suite » results for RID-COX01R03013 [Home](#) [Recent Results](#) [Saved Strategies](#) [Help](#)

[Edit Search](#) [Save Search](#) [Search Summary](#) [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

Job Title Seq4 [organism=Lactococcus lactis subsp. cremoris]...

RID COX01R03013 Search expires on 06-10 15:55 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lclQuery_31851

Description None

Molecule type dna

Query Length 1110

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[Add organism](#)

Percent Identity E value Query Coverage

to to to

[Filter](#) [Reset](#)

Reports [Lineage](#) [Organism](#) [Taxonomy](#)

10 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Lactococcus	firmicutes		10	
Lactococcus cremoris	firmicutes	1855	5	Lactococcus cremoris hits

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 10:58 9.06.2021

EK 5E. *Enterococcus faecium* MH5 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against the NCBI database. [NCBI Blast:Seq4 \[organism=Lactococcus\]](#)

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Duraklatıldı

Okuma listesi

[Edit Search](#) [Save Search](#) [Search Summary](#) [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

Job Title: Seq4 [organism=Lactococcus lactis subsp. cremoris]...

RID: C0X7DBJW016 [Search expires on 06-10 15:59 pm](#) [Download All](#)

Program: BLASTN [Citation](#)

Database: nt [See details](#)

Query ID: Idl|Query_41827

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1175

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism: only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions [Graphic Summary](#) [Alignments](#) [Taxonomy](#)

Sequences producing significant alignments [Download](#) [Select columns](#) [Show](#) 10

☒ select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Enterococcus faecium strain 1688 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Enterococcus faecium	2034	2034	99%	0.0	97.80%	1463	MT597570.1
Enterococcus faecium strain 8035 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Enterococcus faecium	2034	2034	99%	0.0	97.80%	1446	MT461219.1
Enterococcus faecium strain 7016 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Enterococcus faecium	2034	2034	99%	0.0	97.80%	1469	MT461219.1

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:00 9.06.2021

Feedback

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against the NCBI database. [NCBI Blast:Seq4 \[organism=Lactococcus\]](#)

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Duraklatıldı

Okuma listesi

[Edit Search](#) [Save Search](#) [Search Summary](#) [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

Job Title: Seq4 [organism=Lactococcus lactis subsp. cremoris]...

RID: C0X7DBJW016 [Search expires on 06-10 15:59 pm](#) [Download All](#)

Program: BLASTN [Citation](#)

Database: nt [See details](#)

Query ID: Idl|Query_41827

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1175

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism: only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions [Graphic Summary](#) [Alignments](#) **[Taxonomy](#)**

Reports [Lineage](#) [Organism](#) [Taxonomy](#)

10 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Enterococcus faecium	firmicutes	2034	10	Enterococcus faecium hits

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:01 9.06.2021

Feedback

EK 5F. *Weissella confusa* MH6 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against the NCBI database. [NCBI Blast:Seq4 \[organism=Lacti\]](#) [NCBI Blast:Seq4 \[organism=Lacti\]](#) [+](#)

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X Diger yer işaretleri Okuma listesi

RID [C0XBF46V013](#) Search expires on 06-10 16:01 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lcl|Query_4667

Description None

Molecule type dna

Query Length 1166

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#) Use up and down arrows to choose an item from the autocomplete.

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download [New](#) Select columns Show 10

☒ select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [New MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒ Weissella confusa strain A7Gaf 16S ribosomal RNA gene, complete sequence	Weissella confusa	2028	2028	100%	0.0	98.11%	1182	KU324936.1
☒ Weissella confusa strain JGB18 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Weissella confusa	2026	2026	99%	0.0	98.03%	1189	MZ057716.1
☒ Uncultured bacterium clone OTU14 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	uncultured bacterium	2019	2019	99%	0.0	97.94%	1499	
☒ Weissella confusa strain 2006 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Weissella confusa	2013	2013	99%	0.0	97.85%	1478	

[Feedback](#)

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:04 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against the NCBI database. [NCBI Blast:Seq4 \[organism=Lacti\]](#) [NCBI Blast:Seq4 \[organism=Lacti\]](#) [+](#)

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X Diger yer işaretleri Okuma listesi

RID [C0XBF46V013](#) Search expires on 06-10 16:01 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lcl|Query_4667

Description None

Molecule type dna

Query Length 1166

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#) Use up and down arrows to choose an item from the autocomplete.

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions **Graphic Summary** **Alignments** **Taxonomy**

Reports **Lineage** **Organism** **Taxonomy**

100 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Bacteria	bacteria		104	
· Weissella	firmicutes		102	
· · Weissella confusa	firmicutes	2028	101	Weissella confusa hits
· · · Weissella sp.	firmicutes	2013	1	Weissella sp. hits
· · · · uncultured bacterium	bacteria	2019	2	uncultured bacterium hits

[Feedback](#)

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:04 9.06.2021

EK 5G. *Weissella confusa* MH7 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequence against a database of sequences. NCBI Blast:Seq4 [organism=Lactococcus lactis subsp. cremoris] x

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X Diger yer işaretleri Okuma listesi

RID: C0XD6A4V016 Search expires on 06-10 16:02 pm Download All

Program: BLASTN Citation

Database: nt See details

Query ID: lcl|Query_1349

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1151

Other reports: Distance tree of results MSA viewer

Organism: only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Weissella confusa strain 2996 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Weissella confusa	2124	2124	99%	0.0	100.00%	1476	MT611928.1
Weissella confusa strain 2995 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Weissella confusa	2124	2124	99%	0.0	100.00%	1485	MT611927.1
Weissella confusa strain 2994 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Weissella confusa	2124	2124	99%	0.0	100.00%	1484	MT611926.1

Feedback

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:05 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequence against a database of sequences. NCBI Blast:Seq4 [organism=Lactococcus lactis subsp. cremoris] x

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X Diger yer işaretleri Okuma listesi

Job Title: Seq4 [organism=Lactococcus lactis subsp. cremoris]... Filter Results

RID: C0XD6A4V016 Search expires on 06-10 16:02 pm Download All

Program: BLASTN Citation

Database: nt See details

Query ID: lcl|Query_1349

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1151

Other reports: Distance tree of results MSA viewer

Organism: only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Reports Lineage Organism Taxonomy

10 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Weissella confusa	firmicutes	2124	10	Weissella confusa hits

Feedback

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:06 9.06.2021

EK 5H. *Lactococcus lactis* MH8 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against a database of sequences. NCBI BlastSeq4 [organism=Lactococcus] x

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Download All

Program: BLASTN Citation

Database: nt See details

Query ID: IclQuery_23247

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1152

Other reports: Distance tree of results MSA viewer

Organism: only top 20 will appear

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download Select columns Show 10

select all 100 sequences selected

GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Lactococcus lactis subsp. lactis strain NM26-6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis su...	1967	1967	99%	0.0	97.33%	1458	HM218132.1
Lactococcus lactis strain Unkn111 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis	1965	1965	100%	0.0	97.25%	1287	KX881768.1
Lactococcus lactis strain 1700 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis	1960	1960	99%	0.0	97.24%	1446	
Lactococcus lactis strain 1682 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis	1960	1960	99%	0.0	97.24%	1444	

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:09 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against a database of sequences. NCBI BlastSeq4 [organism=Lactococcus] x

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

RID: COXN64WG016 Search expires on 06-10 16:07 pm Download All

Program: BLASTN Citation

Database: nt See details

Query ID: IclQuery_23247

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1152

Other reports: Distance tree of results MSA viewer

Organism: only top 20 will appear

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Reports Lineage Organism Taxonomy

50 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Bacteria	bacteria		50	
. Bacilli	firmicutes		47	
. . Lactobacillales	firmicutes		46	
. . . Lactococcus	firmicutes		44	
. . . . Lactococcus lactis	firmicutes		28	
. Lactococcus lactis subsp. lactis	firmicutes	1967	12	Lactococcus lactis subsp. lactis hits
. Lactococcus lactis subsp. lactis bv. diacetylactis	firmicutes	1960	1	Lactococcus lactis subsp. lactis bv. diacetylactis hits
. Lactococcus lactis	firmicutes	1965	28	Lactococcus lactis hits

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:14 9.06.2021

EK 5I. *Lactococcus lactis* MH9 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against a database of sequences. NCBI Blast.Seq4 [organism=Lacti] X

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diger yer işaretleri Okuma listesi

RID: COXR0P5J016 Search expires on 06-10 16:08 pm Download All

Program: BLASTN Citation

Database: nt See details

Query ID: lcl|Query_30881

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1101

Other reports: Distance tree of results MSA viewer

Organism: only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 10

select all 10 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Lactococcus lactis subsp. lactis strain CF1.9 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis subsp. lactis	1868	1868	99%	0.0	97.28%	1236	MH899237.1
Lactococcus lactis subsp. lactis strain NM26-6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis subsp. lactis	1868	1868	98%	0.0	97.70%	1458	HM218132.1
Lactococcus lactis strain Unkn111 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis	1866	1866	99%	0.0	97.28%	1287	KX881768.1
Lactococcus lactis strain 1700 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis	1860	1860	98%	0.0	97.61%	1446	MT597572.1
Lactococcus lactis strain 1682 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis	1860	1860	98%	0.0	97.61%	1444	MT597565.1
Lactococcus lactis strain 1660 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lactococcus lactis	1860	1860	98%	0.0	97.61%	1442	MT597565.1

Feedback

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:15 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against a database of sequences. NCBI Blast.Seq4 [organism=Lacti] X

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diger yer işaretleri Okuma listesi

RID: COXR0P5J016 Search expires on 06-10 16:08 pm Download All

Program: BLASTN Citation

Database: nt See details

Query ID: lcl|Query_30881

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1101

Other reports: Distance tree of results MSA viewer

Organism: only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

+ Add organism

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to

Filter Reset

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Reports Lineage Organism Taxonomy

10 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Lactococcus	firmicutes		10	
. Lactococcus lactis	firmicutes		8	
. . Lactococcus lactis subsp. lactis	firmicutes	1868	2	Lactococcus lactis subsp. lactis hits
. Lactococcus lactis	firmicutes	1866	8	Lactococcus lactis hits

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:16 9.06.2021

EK 5J. *Pediococcus acidilactici* MH10 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against a database of sequences. NCBI Blast:Seq4 [organism=Lacti] x NCBI Blast:Seq4 [organism=Lacti] x +

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X » Diğer yer işaretleri Okuma listesi

RID [C0Y9G39B013](#) Search expires on 06-10 16:17 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lcl|Query_43189

Description None

Molecule type dna

Query Length 1123

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download [New](#) Select columns Show 10

☒ select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [New MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Pediococcus acidilactici strain 2224 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2006	2006	99%	0.0	99.02%	1486	MT604720.1
Pediococcus acidilactici strain 8275 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2006	2006	99%	0.0	99.02%	1464	MT538961.1
Pediococcus acidilactici strain 7541 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2006	2006	99%	0.0	99.02%	1455	MT516145.1
Pediococcus acidilactici strain 7074 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2006	2006	99%	0.0	99.02%	1442	MT516005.1
Pediococcus acidilactici strain PMC85 chromosome, complete genome	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2006	10010	100%	0.0	99.02%	2044083	CP000000.1
Pediococcus acidilactici strain 8613 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Pediococcus acidilactici</i>	2006	2006	99%	0.0	99.02%	1488	MT4...

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:19 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against a database of sequences. NCBI Blast:Seq4 [organism=Lacti] x NCBI Blast:Seq4 [organism=Lacti] x +

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X » Diğer yer işaretleri Okuma listesi

RID [C0Y9G39B013](#) Search expires on 06-10 16:17 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lcl|Query_43189

Description None

Molecule type dna

Query Length 1123

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Reports Lineage Organism Taxonomy

10 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
<i>Pediococcus acidilactici</i>	firmicutes	2006	10	Pediococcus acidilactici hits

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:19 9.06.2021

EK 5K. *Pediococcus pentosaceus* MH11 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequence against the NCBI database. [NCBI Blast.Seq4 \[organism=Lacti\]](#)

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X » Diğer yer işaretleri Okuma listesi

RID: [C0YFS8NE016](#) Search expires on 06-10 16:21 pm [Download All](#)

Program: BLASTN [Citation](#)

Database: nt [See details](#)

Query ID: lcl|Query_13043

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1071

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Organism: only top 20 will appear ☐ exclude
Type common name, binomial, taxid or group name
[+ Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to
[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments

☒ select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [New MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Bacterium QHC53 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	bacterium QHC53	1823	1823	99%	0.0	97.75%	1113	KJ629306.1
Pediococcus acidilactici strain 2224 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1816	1816	99%	0.0	97.65%	1486	MT604720.1
Pediococcus acidilactici strain 8275 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1816	1816	99%	0.0	97.65%	1464	MT538961.1
Pediococcus acidilactici strain 7541 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1816	1816	99%	0.0	97.65%	1455	MT516145.1
Pediococcus acidilactici strain 7074 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1816	1816	99%	0.0	97.65%	1442	MT516145.1
Pediococcus acidilactici strain PMC65 chromosome, complete genome	Pediococcus acidilactici	1816	9059	99%	0.0	97.65%	2044083	CP000000.1

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:23 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequence against the NCBI database. [NCBI Blast.Seq4 \[organism=Lacti\]](#)

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X » Diğer yer işaretleri Okuma listesi

RID: [C0YFS8NE016](#) Search expires on 06-10 16:21 pm [Download All](#)

Program: BLASTN [Citation](#)

Database: nt [See details](#)

Query ID: lcl|Query_13043

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1071

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Organism: only top 20 will appear ☐ exclude
Type common name, binomial, taxid or group name
[+ Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to
[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Reports Lineage Organism Taxonomy

10 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Bacteria	bacteria		10	
. bacterium QHC53	bacteria	1823	1	bacterium QHC53 hits
. Pediococcus acidilactici	firmicutes	1816	9	Pediococcus acidilactici hits

Show organism report for 9 *Pediococcus acidilactici* hit(s)

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#

Blog Support C [Feedback](#)

Aramak için buraya yazın

25°C Güneşli 11:23 9.06.2021

EK 5L. *Pediococcus acidilactici* MH12 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequence against a database of sequences. NCBI Blast: Seq4 [organism=Lacti] X

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diger yer işaretleri Okuma listesi

RID [C0YNA2ZC013](#) Search expires on 06-10 16:24 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lcl|Query_19427

Description None

Molecule type dna

Query Length 1082

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download [New Select columns](#) Show 10 [?](#)

☒ select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [New MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒ Pediococcus acidilactici strain Lact11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1910	1910	99%	0.0	98.70%	1538	FJ905315.2
☒ Pediococcus acidilactici strain WS450 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1910	1910	99%	0.0	98.70%	1475	MW882988.1
☒ Pediococcus acidilactici strain 20560 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1910	1910	99%	0.0	98.70%	1439	MW692623.1
☒ Pediococcus acidilactici strain 2224 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1905	1905	99%	0.0	98.61%	1486	MT604720.1
☒ Pediococcus acidilactici strain 252 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1905	1905	99%	0.0	98.61%	1449	MT57
☒ Pediococcus acidilactici strain 8275 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1905	1905	99%	0.0	98.61%	1464	MT53

Aramak için buraya yazın

26°C Güneşli 11:26 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequence against a database of sequences. NCBI Blast: Seq4 [organism=Lacti] X

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X

Diger yer işaretleri Okuma listesi

RID [C0YNA2ZC013](#) Search expires on 06-10 16:24 pm [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID lcl|Query_19427

Description None

Molecule type dna

Query Length 1082

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Organism only top 20 will appear ☐ exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Reports Lineage Organism Taxonomy

10 sequences selected [?](#)

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Pediococcus acidilactici	firmicutes	1910	10	Pediococcus acidilactici hits

Aramak için buraya yazın

26°C Güneşli 11:26 9.06.2021

EK 5M. *Pediococcus acidilactici* MH13 izolatına ait 16S ribosomal RNA gen diziliminin NCBI veri tabanındaki blast sonucu

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against the NCBI database. [NCBI Blast:Seq4 \[organism=Lacti\]](#)

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X » Diğer yer işaretleri Okuma listesi

RID: [C0YV7UMB016](#) Search expires on 06-10 16:27 pm [Download All](#)

Program: BLASTN [Citation](#)

Database: nt [See details](#)

Query ID: IctQuery_46057

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1061

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Organism: only top 20 will appear ☐ exclude
Type common name, binomial, taxid or group name
[+ Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to
[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download [New Select columns](#) Show 10 [?](#)

☒ select all 10 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [New MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Pediococcus acidilactici strain 2224 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1917	1917	99%	0.0	99.53%	1486	MT604720.1
Pediococcus acidilactici strain 8275 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1917	1917	99%	0.0	99.53%	1464	MT538961.1
Pediococcus acidilactici strain 7541 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1917	1917	99%	0.0	99.53%	1455	MT516145.1
Pediococcus acidilactici strain 7074 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1917	1917	99%	0.0	99.53%	1442	MT516005.1
Pediococcus acidilactici strain PMC65 chromosome, complete genome	Pediococcus acidilactici	1917	9567	99%	0.0	99.53%	2044083	CP000000.1
Pediococcus acidilactici strain 8613 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Pediococcus acidilactici	1917	1917	99%	0.0	99.53%	1488	MT4...

Aramak için buraya yazın

26°C Güneşli 11:30 9.06.2021

Nucleotide BLAST: Search nucleotide sequences against the NCBI database. [NCBI Blast:Seq4 \[organism=Lacti\]](#)

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

Uygulamalar Web of Science [v.5...] Plagiarism Detectio... Search Results - Spr... ASM Single Sign On food microbiology X » Diğer yer işaretleri Okuma listesi

RID: [C0YV7UMB016](#) Search expires on 06-10 16:27 pm [Download All](#)

Program: BLASTN [Citation](#)

Database: nt [See details](#)

Query ID: IctQuery_46057

Description: None

Molecule type: dna

Query Length: 1061

Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Organism: only top 20 will appear ☐ exclude
Type common name, binomial, taxid or group name
[+ Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to
[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Reports Lineage Organism Taxonomy

10 sequences selected

Organism	Blast Name	Score	Number of Hits	Description
Pediococcus acidilactici	firmicutes	1917	10	Pediococcus acidilactici hits

Aramak için buraya yazın

26°C Güneşli 11:30 9.06.2021

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Melda Onur
Uyruğu :
Doğum Yeri ve Tarihi :
Telefon :
Faks :
e-mail :

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	
Üniversite	:	
Yüksek Lisans	:	
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
-----	-------	--------

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR